

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

Датум и орган који је именовао комисију:

На 125. редовној седници Наставно-научног већа Универзитета EDUCONS –Факултета заштите животне средине, одржаној 20.04.2022. године, прихваћен је извештај ментора проф. др Мире Пуцаревић и др Татјана Поповић Миловановић и о урађеној докторској дисертацији Зорана Д. Милићевића, под називом „Капсулација етарског уља каранфилића (*Syzygium aromaticum L.*) и биолошка активност формулација“, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације.

Састав комисије:

1. Проф. др Мира Пуцаревић, редовни професор (у.н.о. биотехничке науке од 10.09.2008. године и у.н.о. примењена хемија од одлуком бр Н.З. 52/20 од 05.08.2020.
Универзитет Едуконс, Факултет заштите животне средине
2. Др Татјана Поповић Миловановић, научни саветник (у.н.о. биотехничке науке од 26.01.2021.)
Институт за заштиту биља и животну средину
3. Проф. др Наташа Стојић, ванредни професор (у.н.о. примењена хемија од 10.12.2021. године)
Универзитет Едуконс, Факултет заштите животне средине
4. Доц. др Љиљана Ђурчић, доцент (у.н.о. управљање заштитом животне средине, од 10.12.2021. године)
Универзитет Едуконс, Факултет заштите животне средине
5. Др Слободан Крњајић, виши научни сарадник (у.н.о. биологија)
Универзитет у Београду, Институт за Мултидисциплинарна истраживања

2. ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Име, име једног родитеља, презиме:

Милићевић (Драгослав) Зоран

Датум рођења, општина, република:

03.08.1960., Београд, Република Србија

Датум и место одбране, назив мастер рада (или магистарске тезе):

08.07.1996. године, Универзитет у Београду, Хемијски Факултет

Назив магистарског рада:

Одређивање фенола и његових хлорних деривата у води деривативном спектрофотометријом

Научна област из које је стечено академско звање мастер (или магистар наука):

Природно-математичке науке

Објављени научни радови (са категоријом публикације Р или М):

Stankov, M., Stankov, D., Milićević, Z., Veselinović, D., & Djurdjević, P. (1993). Fluorometric and derivative spectrophotometric determination of norfloxacin. *Spectroscopy letters*, 26(9), 1709-1714. (M23)

Smit, Z. K., Indjic, D., Milicevic, Z., & Orbovic, B. (1993). Insecticide effects on sugar beet seed and B. punctiventris. *MEDEDELINGEN-FACULTEIT LANDBOUWWETENSCHAPPEN UNIVERSITEIT GENT*, 58, 607-607. M

Todorović M., Milićević Z., Milićević V., Đurđević P. (1996): The Determination of phenol and its derivates in waters by UV spectrophotometry. *J.Serb.Chem.Soc.*, 61(2), 113-118.
Nikolić B., Milićević Z., Poštić D., Dodig D., Jovanović V., Janjić V. (2007): Influence of annual changes of temperature and light (PAR) on induction of Chla fluorescence in situ in *Plantago lanceolata* (L.). *Zaštita bilja*, 58 (1-4), 79-88.

Nikolić B., Milićević Z., Đurović S., Drinić G., Jovanović V., Janjić V. (2007): Different aspects of inhibition of growth and photosynthesis by the phosphonate herbicide sulphosate in maize (*Zea mays* L.), 4: Influence on plants grown in controlled environment. *Zaštita bilja*, 58 (1-4), 105-121.

Nikolić B., Dodig D., Jovanović V., Janjić V., Milićević Z. (2008): Uticaj godišnjih promena temperature i svetlosti (PAR) na indukciju fluorescencije Chla in situ kod *Stellaria media* (L.) i *Plantago major* (L.). *Acta herbol.*, 17(1), 147-153.

Nikolić B., Drinić G., Stojaković S., Jovanović V., Đalović I., Milićević Z. (2010): Različiti aspekti inhibicije rastenja i fotosinteze kukuruza (*Zea mays* L.) uzrokovanih fosfonatnim herbicidom sulfosatom. 5. Manipulacija statusom korena biljaka raslih u kontrolisanim uslovima / Different aspects of inhibition of growth and photosynthesis. *Acta herbologica*. Aleksić, G., Milićević Z., Popović, T., Starović, M., Kuzmanović, S., Poštić, D., Gavrilović, V. (2013): Uticaj bakar-citrata na porast kolonija *Venturia inaequalis*. *Zaštita bilja*, 64 (4), 286: 205-211.

Gavrilović, V., Milićević, Z., Aleksić, G., Starović, M., Živković, S., Stošić, S., Kuzmanović, S. (2017): Effect of copper citrate as a defoliant in nursery fruit stock production. *Pestic.& Phytomed*, 32(3-4), 231-236.

Popović, T., Milićević, Z., Oro, V., Kostić, I., Radović, V., Jelušić, A., Krnjajić, S. (2018): A preliminary study of antibacterial activity of thirty essential oils against several important plant pathogenic bacteria. *Pesticides and Phytomedicine*, 33(3-4), 185-195.

3. ДОКТОРСКА ДИСЕРТАЦИЈА

Наслов дисертације:

Kapsulacija etarskog ulja karanfilića (*Syzygium aromaticum* L.) i biološka aktivnost formulacija

Encapsulation of clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L.) and biological activity of formulations

ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација садржи: насловну страну на српском и енглеском језику, податке о менторима и члановима комисије, изјаву захвалности, сажетак са кључним речима на српском и енглеском језику, садржај, текст по поглављима, списак литературе и прилоге. Докторска дисертација је написана на 80 страна и подељена је на осам потглавља: Увод (3 стране), Преглед литературе (22 стране), Радна хипотеза (1 страна), Материјал и методе (7 страна), Резултати (19 стране), Дискусија (6 страна), Закључци (2 стране) и Ј литература (20 страна). Докторска дисертација садржи 15 слика, 12 табела и 209 библиографских јединица. Теза такође садржи и Биографију аутора.

ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Поглавље „Увод“ докторске дисертације пружа увид у примену етарских уља, са посебним освртом у делу заштите биља. На крају поглавља наведени су циљеви истраживања и то: (1)-анализа састава етарског уља каранфилића и садржаја компоненти у уљу; (2) капсулација етарског уља каранфилића коришћењем зеолита (природног и синтетичког) и желатина као носача у ЕС формулатији (концентрат за емулзију) са циљем побољшања растворљивости у води и омогућавања продуженог деловања уља; (3) испитивање инсектицидне активности чистог етарског уља каранфилића и новосинтетисаних формулација на тест организам (кромпиров мољац, *Phthorimaea operculella*); (4) испитивање антимикробне активности чистог етарског уља каранфилића и новосинтетисаних формулација на тест организме (фитопатогена гљива *Botrytis cinerea*, проузроковач сиве трулежи и фитопатогене бактерије проузроковачи влажне трулежи: *Pectobacterium carotovorum*, *Dickeya dianthicola*).

Поглавље „Преглед литературе“ докторске дисертације је подељено на три потпоглавља, а у оквиру сваког од њих су наведени литературни подаци који су битни за разумевање теме докторске дисертације и који указују на њен значај. У потпоглављу „*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M.Perry (karanfilic)“ говори се о еволуцији, пореклу и географском распрострањењу ове биљне врсте, као и о њеном значају и вишеструком примени у различитим гранама индустрије. Такође је описан хемијски састав уља каранфилића, методе екстракције као и његова примена (инсектицидна, антимикробна и бактерицидна активност). Значај капсулације, а посебно у домену етарских уља обrazložen је у потпоглављу „Капсулација“. У потпоглављу „Тест организми“ описаны су економски штетни организми који се редовно јављају у пољопривредној производњи и праве значајне губитке у квалитету производа и укупном приносу.

У поглављу „Радна хипотеза“ описан је изазов превазилажење негативног утицаја синтетичких пестицида са којима се суочавамо у области заштите биља кроз понуду алтернативног еколошки безбедног биопроизвода. Полази се од претпоставки да: (1) тренутни начин заштите биља применом синтетичких пестицида има негативан утицај на животну средину и људско здравље, (2) научна достигнућа у одабиру природних супстанци који служе као алтернатива примени хемијских мера заштите биља репидно напредују, (3) етарска уља су позната по биолошкој активности, (4) примена капсулираних етарских уља има за циљ продужено деловање на објекат примене, што значајно унапређује досадашње сазнање о примени ових уља у пољопривредној производњи, (5) примена капсулираних уља има за циљ унапређење досадашњег, традиционалног начина заштите биља (хемијски, применом пестицида) у смислу смањења негативног утицаја на животну средину и људско здравље и (6) одабир и препорука формулације капсулираног етарског уља који може наћи примену у пољопривредној производњи, као вредним ресурсом у даљем развоју и примени биопестицида.

Поглавље „Материјал и методе“ подељено је на пет потпоглавља. У потпоглављу „Гасна хроматографија са масеном спектрометријом (GC-MS)“ наведена је метода аализе хемијског састава уља каранфилића коришћеног у раду. Подпоглавље „Капсулација“ описује методу капсулације етарског уља каранфилића коришћењем различитих носача (синтетички и природни зеолит, желатин), као и методе за одређивање физичких особина готових формулација. У подпоглављуима „Инсектицидна активност“ и „Антимикробна активност“ описане су методе анализе активности новодизајнираних формулација на тест организме (*Phthorimaea operculella*, *Botrytis cinerea*, *Pectobacterium carotovorum*, *Dickeya dianthicola*). У последњем поглављу је описан начин статистичке обраде података добијених у истраживању. Поглавље Резултати је подељено на 4 потпоглавља, која прате методологију рада. Приказани су резултати хемијске анализе коришћеног уља каранфилића, са еугенолом као главном компонентом, као и физичке особине три новодизајниране ЕС формулације са зеолитима и желатином као носачима. Такође су приказани резултати биолошке ефикасности новодизајнираних формулација (инсектицидна и антимикробна активност) кроз серију огледа и оцену параметара који се користе за оваква истраживања.

Поглавље Дискусија чини једну целину у којој аутор детаљно анализира добијене резултате и пореди их са доступним литературним подацима. На самом почетку поглавља истакнут је значај спроведених истраживања и образложена је постављена хипотеза која је била основа за почетак истраживања. У даљем тексту су истакнуте предности добијених формулација за примену у заштити биља. Добијени резултати су упоређени са сличним доступним истраживањима, чиме је омогућено боље разумевање резултата о примени етарских уља у заштити биља. На самом крају овог поглавља, дат је предлог примене капсулираних формулација као природних и еколошки прихватљивих биопестицида као саставног дела новог интегративног приступа у контроли штетних инсекатских врста као и болести односно биљних патогена.

У поглављу Закључци изнето је 9 закључка, која су произтекла из резултата истраживања ове докторске дисертације, а који су у складу са изнесеним циљевима докторске дисертације, као и са постављеном хипотезом истраживања.

У поглављу Литература наведено је 209 библиографских јединица. Сви цитирани литературни извори су адекватно назначени у тексту и омогућавају стицање шире слике о значају теме докторске дисертације, као и лакше разумевање и тумачење добијених резултата.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

1. Milićević, Z., Krnjajić, S., Stević, M., Ćirković, J., Jelušić, A., Pucarević, M., Popović, T. (2022): Encapsulated Clove Bud Essential Oil: A New Perspective as an Eco-Friendly Biopesticide. Agriculture, 12(3), 338. M21 (IF: 2.925) <https://www.mdpi.com/2077-0472/12/3/338>
2. Popović Milovanović, T., Milićević, Z., Krnjajić, S., Milovanović, P., Iličić, R., Zečević, K. (2023): Nova formulacija ulja karanfilića (*Syzygium aromaticum* L.) u kontroli brojnosti krompirovog moljca (*Phthorimaea operculella*). Predlog Matičnog naučnog odbora za biotehnologiju i poljoprivredu, 16. sednica, 25.04.2023. M82
3. Popović, T., Milićević, Z., Iličić, R., Marković, S., Oro, V., Jelušić, A., Krnjajić, S. (2019): Antibacterial activities of essential oils of wild oregano, clove bud, rosemary, peppermint, basil and lemongrass against growth of soft rot bacteria. 1st International Symposium: Modern Trends in Agricultural Production and Environmental Protection, July 02–05th, Tivat, Montenegro, 230–242. M33
4. Popović, T.; Kostić, I.; Milićević, Z.; Gašić, K.; Kostić, M.; Dervišević, M.; Krnjajić, S. Essential oils as an alternative bactericides against soft-rot bacteria, *Pectobacterium carotovorum* subsp.*carotovorum*. In Proceedings of the VIII International Scientific Agriculture Symposium Agrosym 2017, Jahorina, Bosnia and Herzegovina, 5–8 October 2017; pp. 1377–1383. M34

РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА И ЗАКЉУЧЦИ:

У оквиру докторске дисертације спроведена су испитивања примене етарског уља каранфилића (*Syzygium aromaticum*) као и капсулираних ЕС формулација уља у области заштити биља. На основу добијених резултата, из рада су произишли следећи закључци:

- Поступком анализе гасне хроматографије са масеном спектрометријом (GC-MS) етарског уља каранфилића (Probotanic) детектовано је десет компоненти које чине 98,98% састава уља, међу којима је еugenол утврђен као главна компонента са садржајем од 79.70%.
- Капсулацијом етарског уља каранфилића дизајниране су нове формулације у облику концентрата за емулзију (ЕС), коришћењем три различита носача активне материје: синтетички зеолит (формулација F-CSZ), природни зеолит (формулација F-CNZ) и говеђи желатин (формулација F-G).
- Физичке особине новодизајнираних ЕС формулација етарског уља каранфилића: боја, pH, густина, постојаност пене, стабилност емулзије и тачка палвења, одговарају детерминисаним особинама за тип ЕС формулација.
- Примена чистог етарског уља каранфилића резултирала је леталном концентрацијом од $0,225 \mu\text{L L}^{-1}$ ваздуха која узрокује смртност од 50% (LC_{50}) и $0,536 \mu\text{L L}^{-1}$ ваздуха која изазива смртност од 95% (LC_{95}) јединки имага *P. operculella* након излагања у трајању од 24 h, чиме је потврђена инсектицидна активност уља. Морталитет није утврђен после 48 h, односно, етарско уље каранфилића је изгубило инсектицидну активност.
- Третманима новодизајнираних капсулираних ЕС формулација етарског уља каранфилића у концентрацији емулзија од $40 \mu\text{L L}^{-1}$ ваздуха, постигнуто је продужено деловање на морталитет имага кромпировог мольца, *P. operculella*. Током излагања имага морталитет се постепено смањивао, од 100% након прва 24 h до 50% након 5 дана код примене F-CSZ формулације или после 4 дана код F-CNZ и F-CG формулација.
- Највиша ефикасност у сузбијању кромпировог мольца, *P. operculella* постигнута је применом формулације F-CSZ чијом применом је омогућено деловање уља током 14 дана изложености, док је ефикасност друге две формулације (F-CNZ и F-CG) трајала 10 дана. Код све три формулације етарског уља каранфилића бележен је морталитет јединки имага *P. operculella* виши од 50% и након четири дана од извођења третмана.
- Антимикробна активност новодизајнираних ЕС формулација етарског уља каранфилића доказана је у сузбијању фитопатогене гљиве *B. cinerea* (сива трулеж) *in planta*. Бележена је ефикасност 100% у редукцији инфекције плодова малине коришћењем формулација са 5% етарског уља каранфилића код све три формулације (F-CSZ, F-CNZ и F-CG). Највиша ефикасност постигнута је применом формулације F-CSZ, јер је чак и при најникој тестираној концентрацији активног састојка (0,5% етарског уља каранфилића) постигнута 100% ефикасност.
- Антибактеријска активност новодизајнираних ЕС формулација етарског уља каранфилића утврђена је *in vitro* према бактеријама проузроковачима мрког трулежа (*P. carotovorum* subsp., *D. dianthicola*). Концентрација 1% активног чистог етарског уља каранфилића је утврђена као минимална инхибиторна концентрација (MIC). Више концентрације чистог етарског уља каранфилића су показале врло сличну ефикасност примењене у неразређеном облику као и у смањеним концентрацијама све до концентрације од 5%, чиме је показано да повећање концентрације чистог етарског уља каранфилића није у корелацији са ефикасношћу.
- Новодизајниране ЕС формулације етарског уља каранфилића могу наћи потенцијалну примену у пољопривредној производњи односно заштити биља, као вредан ресурс у даљем развоју и примени биопестицида.

ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА:

Комисија једногласно даје позитивну оцену за начин приказа и тумачење резултата истраживања. На основу цитираних рада публикованог из теме докторске дисертације, тј. 9 хетероцитата (SCOPUS) у међународним часописима са SCI листе, може се закључити да резултати рада већ имају интернационални значај. Кандидат је дуги низ година успешан истраживач у пољу истраживања везаном за примену пестицида и нових формулација у биљној производњи. Овоме у прилог иде и да кандидат поседује један патентирани производ за заштиту биља.

КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

- Дисертација је написана у складу са образложењем у пријави теме.
- Дисертација садржи све битне елементе.
- Дисерација истиче еколошки значај новодизајнираних производа, као биопестицида који су добијени овим истраживањем.
- Нема недостатака у дисертацији.

Главни научни допринос дисертације (до 100 речи) - на српском и енглеском језику

СРП.

Развојем новог приступа у примени етарских уља, тј. капсулацији, добијене су новодизајниране формулације биопестицида са контролисаним отпуштањем уља из капсула. Формулације добијене капсулацијом етарског уља (у виду концентраћа за емулзију) представљају решење за производњу здраве хране и имају потенцијал да се сигурно уклопе у потребе модерних друштвених трендова за здравље и безбедност хране. Примену могу наћи у сектору пољопривредне производње, а испуњаваће следеће: (1) једноставне су за руковање и примену; (2) имају високу биолошку ефикасност; (3) безбедне су по здравље људи и животну средину; (4) нема нежељених нуспојава; (5) не утиче на биодиверзитет; (6) нема развоја резистентности код циљаних организама.

ЕНГ.

By developing a new approach in the application of essential oils, i.e. encapsulation, newly synthesized formulations of biopesticides, which posses controlled release of oil from the capsules, were obtained. Formulations obtained by encapsulation of essential oil (in the form of emulsion concentrate) represent a solution for the production of healthy food and have the potential to safely fit into the needs of modern social trends for health and food safety. They can be used in the agricultural production sector, and will fulfill the following: (1) they are easy to handle and apply; (2) have high biological efficacy; (3) they are safe for human health and the environment; (4) no unwanted side effects; (5) does not affect biodiversity; (6) no development of resistance in target organisms.

ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ:

Докторска дисертација Зорана Милићевића под насловом „Капсулација етарског уља каранфилића (*Syzygium aromaticum* L.) и биолошка активност формулација“ представља оригинални научно-истраживачки рад који се бави капсулацијом етарског уља каранфилића и могућностима примене новосинтетисаних формулација у области заштите биља. Резултати представљени у овој докторској дисертацији представљају прве детаљне податке код нас о развоју нових, алтернативних биопестицида. Истраживања спроведена у овој дисертација су успешно реализована, а добијени резултати су допринели решавању задатака постављених у циљевима.

Комплетна теза је проверена на присуство плагијаризма и добијени резултат за „similarity index“ је 8%, од чега је 2% цитирано са сајта „scindeks-clanci.ceon.rs“ док су остали цитати из других извори заступљени са ≤1%.

Резултати из докторске дисертације су објављени у четири научна рада, од којих је један објављен у међународном часопису изузетних вредности, а други као техничко решење, и два рада објављена у целости и као абстракт на скуповима међународног значаја, што потврђује актуелност и значајност добијених резултата. Имајући у виду изнесено, Комисија једногласно предлаже да се прихвати позитивна оцена докторске дисертације и да се кандидату одобри јавна одбрана.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ



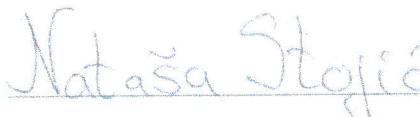
Проф. др Мира Пушаревић, редовни професор,

Educons Универзитет, Факултет заштите животне средине



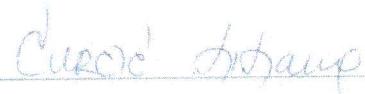
Др Татјана Поповић Јиловановић, научни саветник

Институт за заштиту биља и животну средину



Проф. др Наташа Стојић, ванредни професор

Educons Универзитет, Факултет заштите животне средине



Доц. др Љиљана Ђурчић, доцент

Educons Универзитет, Факултет заштите животне средине



Др Слободан Крњајић, висши научни сарадник

Универзитет у Београду, Институт за
Мултидисциплинарна истраживања