

**UNIVERZITET CRNE GORE
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET
DOKTORSKE STUDIJE**

VIJEĆU PRIRODNO-MATEMATIČKOG FAKULTETA

Predmet: Prijava teme doktorske disertacije i predlog Komisije za ocjenu podobnosti teme

U skladu sa članom 33, stav 4, Pravila doktorskih studija, doktorand **mr Alma Kurtiš** je 22. 03. 2021. god. Vijeću Prirodno-matematičkog fakulteta podnijela **Prijavu teme doktorske disertacije (PD Obrazac** sa pratećom dokumentacijom) pod naslovom **Biološki potencijal i fitohemijska karakterizacija ekstrakata odabranih vrsta roda *Pinus* L. (Pinaceae) sa područja Crne Gore.**

Komisija za doktorske studije PMF-a je na elektronskoj sjednici održanoj 22. 03. 2021. god. razmatrala formalne uslove dostavljene prijave sa stanovišta neophodnih podataka i ispunjavanja uslova za prijavu teme i podnosi Vijeću

P R E D L O G

sastava **Komisije za ocjenu podobnosti teme:**

1. **Dr Jelena Antić Stanković**, redovni profesor Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (naučna oblast: mikrobiologija i imunologija)
2. **Dr Slađana Krivokapić**, vanredni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta Crne Gore, (naučna oblast: fiziologija biljaka i ekologija)
3. **Dr Svetlana Perović**, redovni profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta Crne Gore, mentor (naučna oblast: mikrobiologija i zaštita životne sredine)

Podgorica, 22. 03. 2021. god.

ZA KOMISIJU ZA DOKTORSKE STUDIJE

Doc. dr Goran Popivoda

PRIJAVA TEME DOKTORSKE DISERTACIJE

OPŠTI PODACI O DOKTORANDU	
Titula, ime i prezime	Msc Alma Kurtiš
Fakultet	Prirodno-matematički fakultet, Podgorica
Studijski program	Biologija
Broj indeksa	4/2019
Ime i prezime roditelja	Sead Kurtiš
Datum i mjesto rođenja	29.01.1994. g., Pljevlja, Crna Gora
Adresa prebivališta	Podgorička 52
Telefon	068/807-824
E-mail	kurtisalma@gmail.com
BIOGRAFIJA I BIBLIOGRAFIJA	
Obrazovanje	Alma Kurtiš je rođena 29.01.1994. godine u Pljevljima, gdje je završila osnovnu školu „Boško Buha“ i gimnaziju „Tanasije Pejatović“ sa odličnim uspjehom. Dobitnica je diplome Luča II. Školske 2013/2014 godine upisala je osnovne studije Biologije na Prirodno-matematičkom fakultetu u Podgorici. Osnovne studije završila je 2016. godine sa prosječnom ocjenom 8,56 i stekla zvanje BSc Biologije. Dobitnica je stipendije Ministarstva prosvjete Crne Gore za najboljeg studenta, za akademsku 2014/2015 godinu. Specijalističke studije upisala je 2016/2017. godine, smjer Biologija - Ekologija, na Prirodno-matematičkom fakultetu u Podgorici, a završila ih 2018. godine sa prosječnom ocjenom 8,13 i stekla zvanje Spec Sci Biologije-Ekologije. Master studije, smjer Biologija II ciklus - Mikrobiologija upisala je 2018. godine na Prirodno-matematičkom fakultetu u Sarajevu. Master tezu pod nazivom: „Antimikrobna rezistencija sojeva <i>Escherichia coli</i> iz kliničkih i ambulantnih uzoraka urina“ odbranila je 10.12.2019. godine i stekla zvanje Msc Biologije-Mikrobiologija.

	Doktorske studije upisala je u decembru 2019. godine na Studijskom programu Biologija na Prirodno-matematičkom fakultetu Univerziteta Crne Gore.
Radno iskustvo	Januar 2017- oktobar 2017: Pripravnički rad na Prirodno-matematičkom fakultetu (Odsjek Biologija), Univerzitet Crne Gore
Popis radova	
NASLOV PREDLOŽENE TEME	
Na službenom jeziku	Biološki potencijal i fitohemijska karakterizacija ekstrakata odabranih vrsta roda <i>Pinus</i> L. (Pinaceae) sa područja Crne Gore
Na engleskom jeziku	Biological potential and phytochemical characterization of extracts of the species genus <i>Pinus</i> L. (Pinaceae) from Montenegro
Obrazloženje teme	
Primjena biljaka u prevenciji i liječenju mnogih bolesti ljudi, vodi porijeklo još iz daleke prošlosti. Arheološke iskopine pokazuju da su neke biljke bile poznate Vaviloncima još 6000 prije nove ere (Bakkali et al., 2007). Uzimajući u obzir da biljke mogu proizvoditi stotine ili čak i hiljade metabolita, koji predstavljaju izvor biološki aktivnih supstanci i lijekova, postoji veliko naučno interesovanje za njihovu fitohemijsku karakterizaciju i ispitivanje biološkog potencijala, odnosno antioksidativne, antimikrobne, antiinflamatorne, antimutagene i antikancerogene aktivnosti. Osnovni izvori bioaktivnosti kod biljaka su uglavnom polifenoli (fenolne kiseline, flavonoidi, antocijani, lignani i stilbeni) i karotenoidi koji ostvaruju protektivan efekat jer imaju antioksidantnu aktivnost, djeluju stimulativno na imuni sistem, regulišu ekspresiju gena u procesima ćelijske proliferacije i apoptoze, utiču na metabolizam hormona, djeluju antiviralno, antibakterijski i dr. (Dillard i German, 2000). Upravo zbog toga se potencijali bioloških resursa danas intenzivno istražuju za dobrobit čovječanstva, te za poboljšanje kvaliteta života ljudi na održiv način. Crna Gora posjeduje 1,2 % ukupne svjetske flore što je svrstava u vodeće regije u Evropi po broju biljnih vrsta na jedinici površine. Dakle, postoji znatan prirodni potencijal koji treba naučno istražiti u cilju procjene kvaliteta produkcije prirodnih supstanci, njihove biološke aktivnosti sve u cilju njihove primjene i valorizacije u biljnom inženjeringu i farmaceutskoj i poljoprivrednoj industriji.	

Istraživanja biološke aktivnosti četinarara, a naročito vrsta u okviru roda *Pinus* u Crnoj Gori su prilično oskudna. Rod *Pinus* (Fam. *Pinaceae*), sa preko 100 poznatih vrsta, najveći je recentni rod četinarara (Price et al., 1998; Farjon, 2001).

Glavni cilj u okviru ove doktorske disertacije biće ispitivanje biološkog potencijala (antimikrobnog, antioksidativnog, citotoksičnog na kancer ćelijskim linijama i uticaja na ćelijski ciklus i apoptozu) i fitohemijska karakterizacija ekstrakata odabranih vrsta bora sa područja Crne Gore: *Pinus sylvestris* (bijeli bor), *Pinus heldreichii* (munika) i *Pinus halepensis* (alepski bor), *Pinus pinea* (pinjol) i *Pinus pinaster* (primorski bor).

Pregled istraživanja

Biološka aktivnost biljnih ekstrakata može se pripisati sekundarnim metabolitima kao što su fenolne kiseline, flavonoidi i druga fenolna jedinjenja. Popularnost ovih ekstrakata povezana je s njihovim biološkim svojstvima, poput antioksidansa, protivupalnog, antimikrobnog, antikancerogenog itd.

U Evropi su borove šume jedna od najrasprostranjenijih šumskih formacija, čineći borove ostatke i nusproizvode važnim izvorom jedinjenja s velikim industrijskim interesom, kao i za proizvodnju bioenergije. Rod *Pinus*, uključujući približno 110 vrsta (Gernandt et al., 2005) važan je s ekološkog i ekonomskog gledišta. Različite vrste bora poznate su kao izvor antioksidansa, uglavnom fenolnih jedinjenja, uključujući procijanidine i druge flavonoide i fenolne kiseline, koji su već dostupni na tržištu kao dodaci prehrani ili fitohemijski lijekovi s izvanrednim nizom bioloških aktivnosti (Packer et al., 1999). Iz literaturalnih navoda ekstrakti primorskog bora iz mediteranskih zemalja bogati su fenolnim kiselinama, flavanolima i flavonoidima (npr. cimetna kiselina, hidroksibenzoeva kiselina, katehin, kvercetin i taksifolin) s snažnim antioksidativnim djelovanjem (Salehi et al., 2019). Ti su ekstrakti pokazali korisne učinke za liječenje nekoliko bolesti, poput kardiovaskularnih, metaboličkih, neuroloških itd (Maimoona et al., 2011). U posljednjih 25 godina, razni ekstrakti i pripravci borova pokazali su značajne aktivnosti koje promovišu zdravlje, npr. zaštitnu aktivnost protiv bolesti jetre izazvane alkoholom ili protiv upale izazvane lipopolisaharidima, aktivnost jačanja pamćenja hipokampusa i aktivnost za rano liječenje dislipidemije, koji mogu biti potencijalno korisni u industriji hrane, funkcionalne hrane i dodataka prehrani (Ferreira et al., 2020). Različite vrste borova imaju različite biološke potencijale.

Za ekstrakciju antioksidativnih i antimikrobnih jedinjenja iz biljaka dostupne su mnoge konvencionalne tehnike ekstrakcije (digestija, maceracija i ekstrakcija Soxhlet-om) koje mogu prouzrokovati razgradnju nekih željenih bioaktivnih jedinjenja. Kako ove tehnike uključuju velike količine rastvarača koja doprinose zagađenju okoline, ekološki sve više razvijaju postupci ekstrakcije potpomognute ultrazvukom (UAE). Primjena UAE nudi brojne prednosti, uključujući: manju količinu rastvarača, niže temperature i kratko vrijeme ekstrakcije, što je vrlo korisno za ekstrakciju termolabilnih i nestabilnih jedinjenja, a takođe i povećani prinos ekstrakcije.

Cilj i hipoteze

Glavni cilj ove doktorske disertacije je ispitivanje biološkog potencijala i fitohemijska karakterizacija ekstrakata iglica odabranih vrsta bora sa područja Crne Gore: *Pinus sylvestris* (bijeli bor), *Pinus heldreichii* (munika), *Pinus halepensis* (alepski bor), *Pinus pinaster* (primorski bor) i *Pinus pinea* (pinjol). Podciljevi istraživanja su:

- ispitivanje antimikrobnog potencijala ekstrakata iglica odabranih vrsta bora
- ispitivanje antioksidativne aktivnosti ekstrakata iglica odabranih vrsta bora
- ispitivanje citotoksičnog efekta ekstrakata iglica odabranih vrsta bora na humane kancer ćelijske linije HeLa, LS-174T, A549, MDA-MB-231, K562 i MRC-5.
- ispitivanje uticaja ekstrakata iglica odabranih vrsta bora na na ćelijski ciklus i ćelijsku apoptozu
- hemijsko identifikovanje aktivnih supstanci iz ekstrakata iglica odabranih vrsta bora
- determinacija hemijskog profila fenola i flavonoida iz ekstrakata iglica odabranih vrsta bora
- komparativna analiza dobijenih rezultata sa podacima iz dostupnih literaturnih izvora

Osnovne hipoteze su:

H1: Sadržaj biološko aktivnih supstanci u ekstraktima iglica odabranih vrsta bora uticaće na njihov biološki potencijal: antioksidativni, antimikrobni i citotoksični.

H2: Različiti postupci pri dobijanju ekstrakata iglica odabranih vrsta bora uticaće na kvalitet ekstrakata, a samim tim i na determinaciju njihovog biološkog potencijala

H3: Ekstrakti iglica odabranih vrsta bora sa različitih geografskih lokaliteta pokazaće različiti fitohemijski profil i biološke potencijale zbog kompleksnog uticaja različitih ekoloških faktora na biljke

H4: Ekstrakti iglica različitih vrsta bora pokazaće različite biološke potencijale i fitohemijske profile

Materijali, metode i plan istraživanja

Terenska istraživanja, prikupljanje materijala i skladištenje podataka:

Terenska istraživanja i prikupljanje biljnog materijala odabranih vrsta roda *Pinus*, započeta su u januaru 2021. godine. Biljke su sakupljene sa sljedećih lokaliteta : Kosanica-Đurđevića Tara (Pljevlja), brdo Gorica (Podgorica), Orjen sedlo (Herceg Novi), Župa, Bonići, Mirišta, Luštica (Tivat).

Obrada prikupljenih uzoraka:

Prikupljeni materijal različitih vrsta bora (*Pinus sylvestris*, *P. heldreichii*, *P. halepensis*, *P. pinaster* i *P. pinea*) će biti predat na uvid, identifikaciju i potvrdu od strane stručnog lica. Nomenklatura i klasifikacija će biti usaglašena sa listom Euro+Med (2006).

Ekstrakcija biljnog materijala

Za dobijanje ekstrakata koriste se različite vrste ekstrakcija, a tradicionalne ekstrakcije (maceracija, digestija i Sokslet ekstrakcija) sve više se zamjenjuju savremenim, kao što je ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom (Veljković V. i Milenović D., 2002). Ispitivanjem uticaja ultrazvuka na ekstrakciju bioaktivnih materija iz biljnog materijala, pokazan je pozitivan efekat koji se pripisuje kavitacionim događajima koji utiču na razaranje ćelijskog zida, hidrataciju biljnog materijala, smanjenje veličine biljnih čestica i ubrzanje prenosa mase ekstraktivnih supstanci (Vinatoru et al., 1997; Toma et al., 2001). Pozitivan uticaj ultrazvuka dokazan je kod ekstrakcije farmakološki aktivnih materija (Paniwnyk et al., 2001; Sališová et al., 1997; Valachovič et al., 2001) i polisaharida (Hromádková et al., 1999) iz mnogih biljaka. Ekstrakti dobijeni konvencionalnom maceracijom i ekstrakcijom potpomognutom ultrazvukom biće podvrgnuti hemijskim analizama i ispitivanju biološkog potencijala.

Određivanje antimikrobnog potencijala biljnih ekstrakata

Za procjenu antimikrobnog potencijala ekstrakata iglica bora koristiće se standardna mikrodiluciona metoda. Za određivanje vijabilnosti ćelija koristiće se oksidoredukciona boja rezasurin. Za ispitivanje antimikrobnog potencijala koristiće se Gram pozitivne i Gram negativne bakterije iz ATCC kolekcije i klinički sojevi izolovani iz humanog materijala.

Određivanje antioksidativne aktivnosti biljnih ekstrakata

Procjena antioksidativne aktivnosti ekstrakata iglica bora biće upoređena sa antioksidativnom aktivnošću komercijalnih sintetskih antioksidanata: 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol (BTH), propil-galat (PG) i (1,1-dimetiletil)-4-metoksifenol (BHA). Kapacitet hvatanja slobodnih radikala ispitivanih ekstrakata biće određen mjerenjem njihove sposobnosti da neutrališu DPPH radikale (DPPH test). Metoda se zasniva na praćenju transformacije ljubičasto obojenog, stabilnog, azot-centriranog DPPH radikala (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) u redukovanu, žuto obojanu formu DPPH-H. Za spektrofotometrijska mjerenja biće korišćen UV/VIS spektrofotometar CECIL CE 7200.

Određivanje citotoksičnog efekta biljnih ekstrakata na kancer ćelijskim linijama

Ćelijske suspenzije pripremaju se u potpunom hranljivom medijumu sa 10% FBS-om. HeLa (2000 ćelija/100 µl po bunaru), LS-174T (7000 ćelija/100 µl po bunaru), A549 (5000 ćelija/100 µl po bunaru), MDA-MB-231 (5000 ćelija/100 µl po bunaru), EA.hy926 (5000 ćelija/100 µl po bunaru) i MRC-5 (5000 ćelija/100 µl po bunaru) se zasijavaju u mikrotitarske ploče, nakon inkubacije od 24 h, tokom koje dolazi do adhezije ćelija, ćelije se tretiraju sa po 50 µl rastvora ispitivanih ekstrakata u pet različitih koncentracija. Pet različitih koncentracija uzoraka (12.5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml i 200 µg/ml) pripremaju se u hranljivom medijumu sa 10% FBS-om iz štokova rastvora koncentracije 50 mg/ml u dimetil sulfoksidu (DMSO).

Inkubacija HeLa, LS-174T, A549, MDA-MB-231, K562 i MRC-5 ćelija traje 72 h, dok EA.hy926 ćelije inkubiraju se 24 h i 48 h. Vijabilnost ćelija ispituje se MTT testom.

Određivanje uticaja biljnih ekstrakata na ćelijski ciklus i apoptozu

Za ispitivanje uticaja ekstrakata iglica bora na ćelijski ciklus koristiće se HeLa ćelije (200

000 ćelija/2 ml po bunaru) zasijane u hranljivom medijumu (RPMI 1640) sa 10% FBS-om u pločama sa 6 bunara. Nakon 24 h medijum se uklanja i ćelije se tretiraju rastvorima vodenog i etanolnog ekstrakta u koncentracijama IC50 i 2IC50. U kontrolni uzorak dodaje se samo medijum. Nakon inkubacije od 24 i 48 h kontrolni i tretirani uzorci HeLa ćelija se sakupljaju nakon tripsinizacije (Trypsin 0.25%), isprani PBS-om i prebačeni u epruvete za citometar. Uzorci se analiziraju na FACSCalibur protočnu citometriju (BD Biosciences, Sjedinjene Američke Države). Detektuje se po 10 000 događaja u svakom uzorku. Na osnovu dobijenih DNK histograma (broj događaja u odnosu na FL2-A (engl. FL2-area)) određuje se procenat ciljnih HeLa ćelija u subG1, G1, S i G2/M fazi ćelijskog ciklusa. Podaci se analiziraju uz pomoć CELLQuest softvera (BD Biosciences, San Hose, CA, Sjedinjene Američke Države).

U toku istraživanja planiran je boravak doktoranta, na Farmaceutskom fakultetu, Univerziteta u Beogradu. U laboratoriji za mikrobiologiju i imunologiju planirano je da se ispita citotoksični efekat ekstrakata iglica bora na kancer ćelijskim kulturama i uticaj ekstrakata iglica bora na ćelijski ciklus i apoptozu.

Određivanje ukupnih fenola i flavonoida

Ukupan fenolni sadržaj biljnog ekstrakta mjeri se spektrofotometrijskom metodom Folin-Ciocalteu. Ukratko, 20 µL biljnog ekstrakta miješa se s 0,2 ml Folin-Ciocalteu reagensa i 2 ml dejonizirane vode. Nakon 3 minute dodaje se 1 ml 20% rastvora Na₂CO₃. Smješa se inkubira 30 minuta na temperaturi od 50 ° C u vodenom kupatilu (VIMS elektrik, Srbija), a zatim se mjeri apsorbancija na talasnoj dužini od 765 nm. Rezultati ukupnog sadržaja fenola (TPC) izražavaju se u miligramima ekvivalenata galne kiseline (GAE) / g suvog uzorka na osnovu standardne krive galne kiseline ($Y = 0,0057 x + 0,1203$, $R^2 = 0,9913$). Mjerenja se ponavljaju tri puta.

Ukupan sadržaj flavonoida u biljnom ekstraktu mjeri se metodom aluminij-hlorida. U epruvetu se dodaje 0,6 ml biljnog ekstrakta i miješa s 0,6 ml 2% rastvor AlCl₃. Smješa se inkubira 60 minuta na sobnoj temperaturi. Nakon inkubacije mjeri se apsorbancija rastvora na talasnoj dužini od 420 nm spektrofotometrom. Rezultati se izražavaju u miligramima ekvivalenta kvercetina QE / g suvog uzorka na temelju standardne krive kvercetina ($Y =$

$0,0115 X + 0,8753, R^2 = 0,9694$). Mjerenja se ponavljaju tri puta.

Plan istraživanja:

1. Prikupljanje literature iz oblasti istraživanja, prikupljanje baze podataka; Odabir taksona, bilnog materijala za istraživanje
2. Uzorkovanje bilnog materijala-terenska istraživanja; determinacija bilnog materijala prema ključu
3. Ekstrakcija bilnog materijala
4. Ispitivanje hemijskog sastava biljnih ekstrakata
 - 4.1. Određivanje ukupnih fenola i flavonoida
 - 4.2. Određivanje HPLC fenolnih jedinjenja
5. Ispitivanje biološkog potencijala biljnih ekstrakata
 - 5.1. Ispitivanje antimikrobnog potencijala
 - 5.2. Ispitivanje antioksidativnog potencijala
 - 5.3. Ispitivanje citotoksičnog efekta na kancer ćelijskim kulturama
 - 5.4. Ispitivanje uticaja biljnih ekstrakata na ćelijski ciklus i apoptozu
6. Statistička obrada podataka
7. Publikacija rezultata istraživanja

Očekivani naučni doprinos

O hemiji i biološkoj aktivnosti crnogorskih vrsta roda *Pinus* L. vrlo se malo zna. S toga rezultati ovih istraživanja, određivanja biološkog potencijala i fitohemijska karakterizacija biljnih ekstrakata odabranih vrsta bora mogu pospiješiti pronalaženje novih i efikasnijih biološki aktivnih agenasa i njihovu primjenu u farmaceutskoj i poljoprivrednoj industriji. Saznanja o antioksidativnoj aktivnosti biljnih ekstrakata mogu doprinijeti u prevenciji i terapiji bolesti nastale usled oksidativnog stresa. Takođe, saznanja o antimikrobnom potencijalu biljnih ekstrakata mogu dati doprinos u borbi protiv mnogih patogenih

mikroorganizama, kao i antibiotski rezistentnih vrsta, imajući u vidu da se mikrobna rezistencija na biljne metabolite teže stiče zbog njihovog kompleksnog sadržaja u odnosu na antibiotike. Citotoksični efekat biljnih ekstrakata na kancer ćelijske kulture produbiće saznanaja o mogućoj iskoristljivosti prirodnih resursa u prevenciji i tretmanu kancera.

Spisak objavljenih radova kandidata

Popis literature

1. Euro+Med (2006): Euro+Med PlantBase - the information resource for EuroMediterranean plant diversity. Published on the Internet <http://ww2.bgbm.org/EuroPlusMed/> [accessed DATE].
2. Farjon, A. (2001): World Checklist and Bibliography of Conifers, ed. 2. Royal Botanic Gardens, Kew.
3. Ferreira-Santos P., Zanuso E., Genisheva Z., Rocha C.M.R., Teixeira J.A. (2020): Green and sustainable valorization of bioactive phenolic compounds from Pinus by-products. *Molecules*. 25:2931.
4. Gernandt D.S., Geada López G., Ortiz García S., Liston A. (2005): Phylogeny and classification of Pinus. *Taxon*. 54:29–42
5. Hromádková, Z., Ebringerová, A., Valachovič, P. (1999): Comparison of classical and ultrasound-assisted extraction of polysaccharides from *Salvia officinalis* L. *Ultrason. Sonochem*. 5: 163–168.
6. Maimoona, A., Naeem, I., Saddiqe, Z., Jameel, K. (2011): A review on biological, nutraceutical and clinical aspects of French maritime pine bark extract. *J. Ethnopharmacol*. 133: 261–277
7. Price, R. A., Liston, A. & Strauss, S. H. (1998): Phylogeny and systematics of Pinus. Pp. 49-68 in: Richardson, D. M. (ed.), *Ecology and Biogeography of Pinus*. Cambridge.
8. Paniwnyk, L., Beaufoy, E., Lorimer, J.P., Mason, T.J. (2001): The extraction of rutin from flower buds of *Sophora Japonica*, *Ultrason. Sonochem*. 8: 299–301.
9. Packer L., Rimbach G., Virgili F. (1999): Antioxidant activity and biologic properties of a procyanidin-rich extract from pine (*Pinus maritima*) bark, *Pycnogenol*. *Free Radic. Biol. Med*. 27:704–724

10. Salehi, B., Vlaisavljevic, S., Adetunji, C.O., Adetunji, J.B., Kregiel, D., Antolak, H., Pawlikowska, E., Uprety, Y., Mileski, K.S., Devkota, H.P., et al. (2019): Plants of the genus Vitis: Phenolic compounds, anticancer properties and clinical relevance. Trends Food Sci. Technol. 91: 362–379
11. Sališová, M., Toma, Š., Mason, T.J. (1997): Comparison of conventional and ultrasonically assisted extractions of pharmaceutically active compounds from Salvia officinalis Ultrason. Sonochem. 4:131–134.
12. Toma, M., Vinatoru, M., Paniwnyk, L., Mason, T.J. (2001): Investigation of the effects of ultrasound on vegetal tissues during solvent extraction, Ultrason. Sonochem. 8: 137–142.
13. Valachovič, P., Pechova, A., Mason, T.J. (2001): Towards the industrial production of medicinal tincture by ultrasound assisted extraction, Ultrason. Sonochem. 8: 111–117.
14. Veljković V., Milenović D. (2002): Analiza ekstrakcije rezinoida kantariona (Hypericum perforatum L.) II. Poređenje modela kinetike ekstrakcije. Hem. Ind. 56: 60–67.
15. Vinatoru, M. Toma, M., Radu, O., Filip, P.I., Lazurca, D., Mason, T.J. (1997): The use of ultrasound for the extraction of bioactive principles from plant materials, Ultrason. Sonochem. 4: 135–139.

SAGLASNOST PREDLOŽENOG/IH MENTORA I DOKTORANDA SA PRIJAVOM

Odgovorno potvrđujem da sam saglasan sa temom koja se prijavljuje.

Prvi mentor	Prof. Dr Svetlana Perović	(Potpis) <i>S Perovic</i>
Drugi mentor		(Potpis)
Doktorand	MSc Alma Kurtiš	(Potpis) <i>Alma Kurtiš</i>

IZJAVA

Odgovorno izjavljujem da doktorsku disertaciju sa istom temom nisam prijavio/la ni na jednom drugom fakultetu.

U Podgorici,

22.03.2021.

Alma Kurtiš

Alma Kurtiš