

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Марија С. Лагерхолм

**ХЕМИЈСКА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА ЕСЕНЦИЈАЛНИХ
УЉА И ПРИМЕНА МАШИНСКОГ УЧЕЊА У
АНАЛИЗИ МОЛЕКУЛСКИХ ПОДСТРУКТУРА
ПОВЕЗАНИХ СА АНТИМИКРОБНОМ АКТИВНОШЋУ
ПРЕМА *SALMONELLA* TYPHIMURIUM ЗА ПОТРЕБЕ
ПРЕХРАМБЕНЕ ИНДУСТРИЈЕ**

докторска дисертација

Београд, 2026.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF AGRICULTURE

Maria S. Lagerholm

**CHEMICAL CHARACTERISATION OF ESSENTIAL
OILS AND MACHINE LEARNING ANALYSIS OF
MOLECULAR SUBSTRUCTURES ASSOCIATED WITH
ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST *SALMONELLA*
TYPHIMURIUM FOR FOOD INDUSTRY APPLICATIONS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2026

МЕНТОРИ:

Проф. др Виктор Недовић

Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Наука о очувању и ферментацији

Проф. др Мирјана Пешић

Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Биохемија

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

др Ивана Средовић Игњатовић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Хемија

др Стева Левић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Биохемија

др Милена Пантић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Технолошка микробиологија

др Наташа Милосављевић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет
Ужа научна област: Математика и информатика

др Милош Јовановић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Факултет организационих наука
Ужа научна област: Организационе науке

Датум одбране: _____

Захвалница

Желим да изразим захвалност својим менторима, јер мој допринос овој области не би био могућ без њиховог вођства. Такође желим да се захвалим свима који су подржавали и охрабривали мој развој, и као човека и као научника.

Списак скраћеница

AA	Антимикробна активност
AAPH	2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride
ABTS	2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)
ACT	Комбинована терапија заснована на артемисинину
ADMET	Апсорпција, дистрибуција, метаболизам, елиминација и токсичност
AI	Вештачка интелигенција (artificial intelligence)
AI-2	Аутоиндуцер-2 (молекула за кворум-сигнализацију)
ANOVA	Анализа варијансе
ATCC	Америчка колекција типских култура
AUC	Површина испод ROC криве
B2B	Пословање-према-пословању
BCE	Пре нове ере
BHA	Butylated hydroxyanisole
BHT	Butylated hydroxytoluene
C3G	Суанидин-3-glucoside (антоцијанин)
CAS	Сервис "Chemical Abstracts"
CBD	Cannabidiol
CBG	Cannabigerol
CDC	Центри за контролу и превенцију болести
CFU	Јединице које формирају колоније
CHO	Ћелијска линија јајника кинеског хрчка
CK	Ginsenoside Compound K
CO ₂	Угљен-диоксид
COVID-19	Коронавирусна болест 2019
CRISPR	Кластерисани, регуларно размакнута кратка палиндромска понављајућа низови
CRISPRi	CRISPR интерференција (dCas-посредована транскрипциона репресија)
CUPRAC	Редукциони капацитет јона бакра(II)
DHAA	Dihydroartemisinic acid (прекурсор артемисинина)
DMSO	Dimethylsulfoxide
DL	Дубоко учење (deep learning)
DNA	Дезоксирибонуклеинска киселина
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ECFP	Проширени конективити фингерпринт
ECFR1982	Електронски код федералних прописа, 1982
EGCG	Epigallocatechin gallate
EУ	Етерично уље

EPA	Агенција за заштиту животне средине (САД)
EU	Европска унија
F ₁	Хармонијска средина прецизности и одзива
FDA	Агенција за храну и лекове (САД)
F&F	Индустрија укуса и мириса
FEMA	Удружење произвођача арома и екстраката
FID	Пламено-јонизациони детектор
FP-GNN	Фингерпринт-граф неуронска мрежа
FPR	Стопа лажно позитивних
FRAP	Ферик-редукујућа антиоксидативна моћ
FTIR	Фурјеова трансформна инфрацрвена спектроскопија
GCD	Детектор гасног хроматографа
GC-HRMS	Гасна хроматографија-масена спектрометрија високе резолуције
GC-MS	Гасна хроматографија-масена спектрометрија
GGPP	Geranylgeranyl pyrophosphate
GMM	Генетички модификован микроорганизам
GNN	Граф неуронска мрежа
GPU	Графички процесор
GRAS	Опште признато као безбедно
НАССР	Анализа опасности и критичне контролне тачке
НАТ	Пренос водониковог атома
HIV/AIDS	ХИВ вирус / синдром стечене имунодефицијенције
HP-5	Hewlett-Packard 5% phenyl methyl siloxane (GC колона)
HP-5MS	Hewlett-Packard 5% phenyl methyl siloxane (MS-GC колона)
IC ₅₀	Полумаксимална инхибиторна концентрација
IARC	Међународна агенција за истраживање рака
IFRA	Међународна асоцијација за мирисе
ISO	Међународна организација за стандардизацију
IUPAC	Међународна унија за чисту и примењену хемију
JSON	JavaScript Object Notation
LB	Лурија-Бертани (бујон)
MACCS	Molecular ACCess System (фингерпринт)
МБК	Минимална бактерицидна концентрација
MCC	Метјузов коефицијент корелације
MDR	Вишеструко резистентан на лекове
MEO	<i>Melaleuca</i> етерично уље
MFAGCN	Multi-Feature Attention Graph Convolutional Network

МИК	Минимална инхибиторна концентрација
ML	Машинско учење (machine learning)
MVA	Мевалонатни пут (биосинтеза изопреноида)
NIST	Национални институт за стандарде и технологију
NLC	Наноструктурисани липидни носач
NMDA	N-метил-D-аспартат (рецептор)
NPASS	Natural Product Activity & Species Source база података
NPV	Негативна предиктивна вредност
NTS	Нетифоидна салмонелоза
ORAC	Апсорпциони капацитет за радикале кисеоника
PCA	Анализа главних компоненти
PET	Полиетилентерефталат
PLSR	Парцијална регресија најмањих квадрата
PPV	Позитивна предиктивна вредност
PR	Прецизност-одзив (крива)
PUVA	Псорален + УВА (терапија)
QSAR	Квантитативна зависност структура-активност
RA	Rosmarinic acid (контекст-специфично)
RDKit	Отворени хемиинформатички алат
RI	Индекс задржавања
ROC	Крива оперативних карактеристика пријемника
ROC-AUC	Површина испод ROC криве
ROS	Реактивне врсте кисеоника
SAR	Зависност структура-активност
SET	Трансфер једног електрона
SF	Фактор сферичности
SHR	Спонтано хипертензивни пацов
SLN	Чврста липидна наночестица
SMILES	Једноставан систем линијског уноса молекула
t-SNE	t-дистрибуирано стохастичко уграђивање суседа
TB	Туберкулоза
TBHQ	tert-Butylhydroquinone
TE	Trolox еквиваленти
TEAC	Антиоксидативни капацитет еквивалентан Trolox-у
TEM	Трансмисиона електронска микроскопија
TF/PF	Тифусна и паратифусна грозница
TLC	Танкослојна хроматографија

TPR	Стопа истински позитивних
TRIPOD	Транспарентно извештавање за индивидуалну прогнозу или дијагнозу
UDC	Универзална децимална класификација
UFA/SFA	Незасићене / засићене масне киселине
UGT	UDP-гликозилтрансфераза
UKHSA	Агенција за здравствену безбедност УК
USA	Сједињене Америчке Државе
UV-Vis	Ултраљубичасто-видљива спектроскопија
UVA	Ултраљубичаста А
VCCs	Испарљива хемијска једињења
VIF	Фактор инфлације варијансе
WHO	Светска здравствена организација
XGBoost	eXtreme Gradient Boosting (алгоритам)

**ХЕМИЈСКА КАРАКТЕРИЗАЦИЈА ЕСЕНЦИЈАЛНИХ УЉА И ПРИМЕНА
МАШИНСКОГ УЧЕЊА У АНАЛИЗИ МОЛЕКУЛСКИХ ПОДСТРУКТУРА
ПОВЕЗАНИХ СА АНТИМИКРОБНОМ АКТИВНОШЋУ ПРЕМА
SALMONELLA TYPHIMURIUM ЗА ПОТРЕБЕ ПРЕХРАМБЕНЕ
ИНДУСТРИЈЕ**

Сажетак

Природни конзерванси могу представљати безбеднији приступ контроли патогена који се преносе храном. Међутим, разумевање хемијских основа њихове ефикасности, као и развој скалабилних метода производње, кључни су за њихову успешну примену. Ова докторска дисертација интегрише лабораторијске анализе, хемијоинформатику и машинско учење ради свеобухватног испитивања потенцијала етеричних уља (ЕУ) и њихових састојака као конзерванаса у храни, и пружа методу за подацима вођену идентификацију антимикробних агенаса. Оцењују се антимикробна и антиоксидативна својства ЕУ, идентификују се молекулске особине које могу допринети њиховој ефикасности, и развија се скалабилна метода енкапсулације за потенцијалне прехранбене примене. Четири комерцијална ЕУ - од лаванде, бергамота, чајевца и пеперминта - анализирана су GC-MS методом, тестирана на капацитет хватања радикала (ABTS, DPPH), и испитана микродилуцијском методом у бујону ($0,078-10 \mu\text{g mL}^{-1}$) против *Salmonella enterica* серовара Typhimurium ATCC 14028. Удео терпинен-4-ола у уљу чајевца износио је 44,7%, док је уље пеперминта садржало углавном изоментол (49,3%). Хемотипови лаванде и бергамота били су богати линалолом и линалил-ацетатом, који чине приближно 78% и 80% њихових профила. Етерично уље пеперминта показало је најјачу антиоксидативну активност ($23,3 \pm 1,0$) mmol TE L⁻¹, док су лаванда и бергамот имали најниже инхибиторне концентрације ($5 \mu\text{g mL}^{-1}$). Ради бољег разумевања односа структура-активност, примењена је анализа машинским учењем на скупу од 171 ЕУ, где су главне компоненте (концентрација > 10%) представљене као Морганови отисци. Пермутациона важност карактеристика, примењена на L1-регуларизовани модел логистичке регресије и оцењена 5×100 -струком стратификованом унакрсном валидацијом, идентификовала је десет молекулских подструктура предиктивних за анти-*Salmonella* активност. Хидроксилна група (-OH) везана за фенилни прстен - као у карвакролу, тимолу и еугенолу - била је најјачи позитивни предиктор. Насупрот томе, бицикличне структуре (нпр. α -пинен и β -пинен) усмеравале су модел ка негативној класи, тј. одсуству анти-*Salmonella* активности. Тако је модел омогућио боље разумевање разлике у јачини између наша четири ЕУ, која нису садржала бензенско језгро са додатним функционалним групама, у односу на примере из литературе за врсте рода *Origanum* и *Thymus* које су богате фенолним једињењима и имају ниже инхибиторне концентрације. Да би се превазишла испарљивост ЕУ и омогућила њихова практична примена, примењен је метод електростатичке екструзије ради енкапсулације сваког уља у калцијум-алгинатну матрицу. Морфолошка анализа показала је да капсуле са инкорпорираним ЕУ задржавају готово сферичан облик након сушења, са фактором облика SF_{dry} < 0,55. Ова карактеристика потврђује њихову потенцијалну примену као носача, односно система за испоруку погодног за употребу у храни.

Кључне речи: антибактеријска активност; Морганови отисци; феноли; логистичка регресија; алгинат; етерична уља; енкапсулација; природни конзерванси

Научна област: Биотехничке науке

Научна ужа област: Технологија хране

УДК: 665.52:[004.852:579.67:664.8.038](043.2)

CHEMICAL CHARACTERISATION OF ESSENTIAL OILS AND MACHINE LEARNING ANALYSIS OF MOLECULAR SUBSTRUCTURES ASSOCIATED WITH ANTIMICROBIAL ACTIVITY AGAINST *SALMONELLA* TYPHIMURIUM FOR FOOD INDUSTRY APPLICATIONS

Abstract

Natural preservatives can offer a safer approach to controlling foodborne pathogens. However, a better understanding of the chemistry that underpins their effectiveness, as well as scalable production methods, is crucial for their successful implementation. This doctoral dissertation integrates laboratory assays, chemoinformatics, and machine learning to comprehensively investigate the potential of essential oils (EO) and their constituents as food preservatives and to provide a method for data-driven search of antimicrobial agents. It assesses both the antimicrobial and antioxidant properties of EOs, identifies the molecular features that may contribute to their antimicrobial efficacy, and develops a scalable encapsulation method for potential food applications. Four commercial EOs from lavender, bergamot, tea tree and peppermint were profiled by GC-MS, tested for radical-scavenging capacity (ABTS, DPPH) and screened in a broth microdilution assay ($0,078$ - $10 \mu\text{g mL}^{-1}$) against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028. Tea tree oil was dominated by terpinen-4-ol (44,7%), while peppermint oil consisted mainly of iso-menthol (49,3%). Lavender and bergamot chemotypes were rich in linalool + linalyl acetate, contributing approximately 78% and 80% of their respective profiles. Peppermint EO showed the strongest antioxidant activity ($23,3 \pm 1.0 \text{ mmol TE L}^{-1}$), whereas lavender and bergamot achieved the lowest minimum inhibitory concentrations ($5 \mu\text{g mL}^{-1}$). To better understand structure-activity relationships, a machine learning analysis was used on a set of 171 EOs, with their main constituents (concentration > 10%) represented as Morgan fingerprints. Feature permutation importance, applied to an L1-regularised logistic regression model and evaluated with 5×100 -fold stratified inner cross-validation, identified ten molecular substructures predictive of anti-*Salmonella* activity. A hydroxyl group ($-\text{OH}$) bound to a phenyl ring - as present in carvacrol, thymol, and eugenol - emerged as the strongest positive predictor. In contrast, bicyclic structures (e.g., α -pinene and β -pinene) pushed the model towards negative class predictions - absence of anti-*Salmonella* activity. Thus, the model provided a better understanding of the difference in potency between our four EOs, which did not contain a benzene ring modified with additional functional groups, compared to the literature examples of *Origanum* and *Thyme* species that were rich in phenolic compounds and thus had lower minimum inhibitory concentrations. To overcome the volatility of EOs and facilitate their practical use, we employed an electrostatic extrusion method to encapsulate each oil within a calcium-alginate matrix. The morphological analysis indicated that the beads with incorporated EOs maintained a near-spherical shape after drying, with a dry shape factor of $\text{SF}_{\text{dry}} < 0,55$. This characteristic confirms their potential suitability as carriers offering a delivery system that may be suitable for food applications.

Keywords: antibacterial activity; Morgan fingerprints; phenols; logistic regression; alginate; essential oils; encapsulation; natural preservatives

Scientific field: Biotechnical sciences

Scientific subfield: Food technology

UDC: 665.52:[004.852:579.67:664.8.038](043.2)

Садржај

1. Увод	1
2. Преглед литературе	5
2.1. Етерична уља	8
2.1.1. Лаванда (<i>Lavandula angustifolia</i> Mill.)	9
2.1.2. Бергамот (<i>Citrus bergamia</i> Mill.)	10
2.1.3. Чајно дрво (<i>Melaleuca alternifolia</i> (Maiden & Betche) Cheel)	11
2.1.4. Нана (<i>Mentha × piperita</i> L.)	12
2.2. Гасна хроматографија са масеном спектрометријом (GC-MS) етеричних уља	13
2.3. Честе фитохемикалије у етеричним уљима	14
2.3.1. Терпени и терпеноиди	16
2.3.1.1. Монотерпени (C ₁₀)	17
2.3.1.2. Ароматични монотерпеноиди и алкилбензени	18
2.3.1.3. Сесквитерпени (C ₁₅)	18
2.3.1.4. Дитерпени и дитерпеноиди (C ₂₀)	19
2.3.2. Фенилпропаноиди	19
2.3.2.1. Фенилпропени	19
2.3.2.2. Ароматични алдехиди и кетони	20
2.3.2.3. Кумарини и фурокумарини	20
2.3.3. Бензеноиди	20
2.3.3.1. Бензеноидни алкохоли, алдехиди и естри	21
2.3.4. Алифатични деривати	21
2.3.4.1. Угљоводоници, алдехиди, алкохоли и масне киселине	21
2.3.5. Сумпорна једињења	22
2.3.5.1. Органосулфиди и изотиоцијанати	22
2.3.6. Азотна једињења	22
2.3.6.1. Индоли и ароматични амини	22
2.4. Енкапсулација етеричних уља	23
2.5. Примена етеричних уља у очувању хране и фармацеутским формулацијама	27
2.6. Напредак биотехнологије за одрживу производњу биоактивних производа	28
2.7. <i>Salmonella</i> Typhimurium: епидемиологија и стратегије контроле	31
2.8. <i>In silico</i> методе за откривање биљних антимикробних једињења	33
2.9. Празнине у знању и истраживачке прилике	35

3. Материјали и методе	37
3.1. Експерименталне методе	37
3.1.1. Етерична уља	37
3.1.2. GC-MS анализа	37
3.1.3. Електростатска екструзиона енкапсулација у алгинатним матрицама	37
3.1.3.1. Лиофилизација енкапсулата етеричних уља	38
3.1.3.2. Морфолошка анализа	38
3.1.4. Антимикробни тест	39
3.1.5. Антиоксидативни тестови	39
3.1.5.1. DPPH активност хватања слободних радикала	39
3.1.5.2. ABTS капацитет хватања радикала	40
3.2. Рачунарске методе	40
3.2.1. Прикупљање података	40
3.2.2. Генерисање Морган отисака	41
3.2.3. Протокол машинског учења	41
3.2.3.1. Пермутациона важност карактеристика (PFI)	42
3.2.3.2. Обука модела	42
3.2.3.3. Унутрашња, унакрсно валидирана процена калибрације	45
3.2.3.4. Анализа утицаја карактеристика	45
3.2.3.5. Декодирате отисака на хемијски тумачиве подструктуре	46
4. Резултати и дискусија	47
4.1. Експериментални резултати	47
4.1.1. GC-MS анализа	47
4.1.2. Физичко-хемијска карактеризација енкапсулираних уља	51
4.1.3. Антиоксидативна ефикасност	52
4.1.4. Антимикробна ефикасност против <i>S. Typhimurium</i>	53
4.2. Резултати компјутерске анализе	56
4.2.1. Калибрационо заснован избор параметра C	56
4.2.2. Избор карактеристика	56
4.2.3. Метрике перформанси модела	59
4.2.4. Анализа утицаја карактеристика	60
4.2.5. Мапирање битова на мотиве	61
4.2.5.1. Коефицијенти модела	61
4.2.5.2. Пирсонова корелациона матрица	66

4.2.5.3.	Предиктори високе анти <i>Salmonella</i> активности у ЕУ	67
4.2.5.4.	Предиктори ниске анти- <i>Salmonella</i> активности у етар-ским уљима	70
5.	Закључци	75
5.1.	Налази	75
5.2.	Ограничења	78
5.3.	Правци будућих истраживања	79
6.	Списак литературе	82
7.	Биографија аутора	118
	Објављени и саопштени резултати	119
8.	Прилози	122
	Прилог 1. Експлораторна анализа података	122
	Прилог 2. Решавање мултиколинеарности	126
	Прилог 3. Пермутациона важност карактеристика и обука модела	127
	Прилог 4. Калибрациона крива	131
	Прилог 5. ROC AUC и криве прецизности-подсетљивости	134
	Прилог 6. Корелациона матрица	137
	Прилог 7. Графици парцијалне зависности	139
	Прилог 8. Поновно узорковање са враћањем: процене и 95% интервалима по- узданости	141
	Прилог 9. Преглед карактеристика	147
	Прилог 10. Репозиторијум кода и доступност података	154
	Прилог 11. Изјава аутора	155
	Прилог 12. Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада	156
	Прилог 13. Изјава о коришћењу	157

Списак слика

1.1. Број Scopus-индексираних докумената о антимикуробној активности етеричних уља (2005-2024). Просечна годишња стопа раста је приближно 13%	3
2.1. Масени спектар тимола (база NIST Chemistry WebBook): базни пик на $m/z = 135$ и карактеристични фрагменти (National Institute of Standards and Technology, 2025a)	15
2.2. Примери фитохемикалија које се често налазе у етеричним уљима (Dassanayake et al., 2021)	16
2.3. Припрема алгинатних гел-куглица са етеричним уљем електростатичном екструзијом (Manojlovic et al., 2006)	26
4.1. Алгинатне куглице са етеричним уљима пре (1 = празне, 2 = лаванда, 3 = бергамот, 4 = чајево дрво, 5 = пеперминт) и после (1* до 5* редом) лиофилизације	52
4.2. Крива калибрације: предиктоване вероватноће модела у односу на посматране исходе; испрекидана линија означава савршену калибрацију, а плава линија учинак у 20 бинова вероватноће	56
4.3. Расподела проређености карактеристика (процент нула) међу 682 бинарна дескриптора отисака	57
4.4. ROC и криве прецизности и подсетљивости из поновљене стратификоване унакрсне валидације са k поделама преко 500 модела	60
4.5. PD: маргинални ефекат сваке карактеристике на предвиђања логистичке регресије	62
4.6. Bootstrap-овани коефицијенти логистичке регресије са 95% CI	65
4.7. Парне Пирсонове корелације за десет коначних дескриптора отисака	67
4.8. Релативна учесталост једињења чије потструктуре су повезане са предиктивним битовима за активност против <i>S. Typhimurium</i>	69
4.9. Релативна учесталост једињења чије потструктуре су повезане са ниском активношћу против <i>S. Typhimurium</i>	71

Списак табела

2.1. Комерцијално скалабилна производња биљних биоактивних једињења у генетски модификованим микроорганизмима (2015-2025)	30
2.2. Годишњи број смртних случајева од одабраних заразних болести у свету	31
4.1. Једињења идентификована GC-MS анализом уља чајног дрвета, лаванде, бергамота и нане	49
4.2. Морфолошке карактеристике куглица	52
4.4. Капацитет хватања слободних радикала етеричних уља мерен DPPH и ABTS тестовима	53
4.6. Антимикробна активност етеричних уља против <i>S. Typhimurium</i>	55
4.8. Метрике обуке и теста коначног модела логистичке регресије	59
4.10. Коефицијенти модела и 95% CI за карактеристике логистичког модела	64
4.12. Молекулски фрагменти најјаче повезани са активношћу против <i>S. Typhimurium</i>	68
4.14. Молекулске подструктуре повезане са <i>ниском</i> активношћу против <i>S. Typhimurium</i>	72

1. Увод

Иако се биљни лекови и фармацеутици често доживљавају као одвојени светови, њихова разграничења су знатно суптилнија него што се обично претпоставља. Од 1981. године, више од половине маломолекулских лекова одобрених за употребу јесу природни производи или њихови непосредни деривати (Newman & Cragg, 2020). Тако је, на пример, 1928. године Александер Флеминг из колоније буђи *Penicillium notatum* изоловао пеницилин - откриће које је инфекције, некада фаталне, претворило у стања којима се може ефикасно управљати. Други пример је артемизинин, главни лек за маларију, изолован из кинеске биљке *Artemisia annua*, за шта је Tu Youyou 2015. године добила Нобелову награду (Tu, 2011). Паклитаксел, кључни хемотерапијски лек, потиче из коре пацифичког тиса *Taxus brevifolia* (Wani et al., 1971).

О мноштву још неоткривених природних биоактивних једињења можемо тек наслућивати. Она нуде широк простор за истраживања и увиде који могу довести до нових терапијских примена и конзерванаса. Недавни напредак у истраживањима заснованим на подацима снажно истиче тај потенцијал. He и сар. (2022) су, користећи Морган отиске и мрежу хемијског простора, класификовали 104 компоненте из рецептакула сунцокрета у девет структурних породица; обрнутим доковањем и квантно-хемијским прорачунима истакли су α -пинен и окоснице засноване на d-лимонену као потенцијалне регулаторе ацетилхолинестеразе и ксантин оксидазе (He et al., 2022b). Ragno и сар. (2021) применили су модел случајне шуме (*Random Forest*) на скупу од 61 етеричног уља и утврдили да лимонен, тимол, линалоол и α -мууролен значајно доприносе инхибицији *Microsporum*, док p-цимен-8-ол и *cis*-гераниол испољавају антагонистичке ефекте (Ragno et al., 2021). Patsilnakos и сар. (2019) су, користећи градијентно-појачане класификаторе на скупу од 89 етеричних уља, идентификовали d-лимонен и 3-октанол као ефикасне антибиофилмске агенсе против врста *Staphylococcus*, док су o-цимен и β -феландрен били повезани са појачаним формирањем биофилма (Patsilnakos et al., 2019). Ови примери показују да методе засноване на подацима унапређују наше разумевање природних система повезивањем молекуларне структуре са биолошком функцијом и усмеравају дизајн нових, природом инспирисаних биоактивних агенаса.

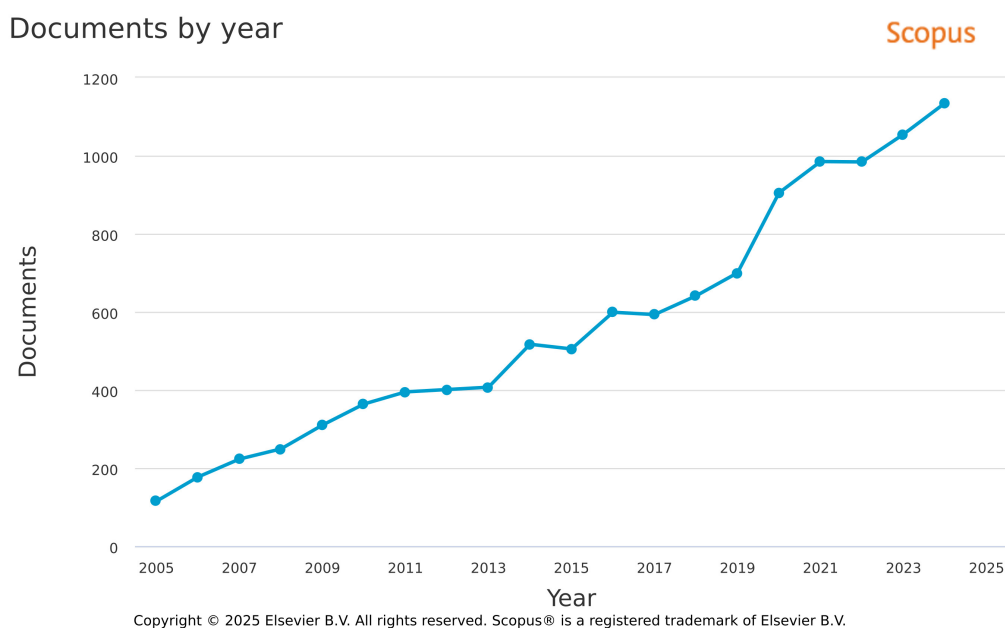
Низ хемијских конзерванаса који се данас рутински користе у прехранбеној индустрији - натријум-нитрит/нитрат, бутиловани хидроксианизол (ВНА), бутиловани хидрокситолуен (ВНТ), терт-бутилхидрохинон (ТВНҚ), калијум-бромат, натријум-бензоат и пропил-парабен - повезује се са здравственим ризицима као што су карциногеност, алергијске реакције или ендокрини поремећаји (Dewan et al., 2024; Gultekin & Doguc, 2013; Picetti et al., 2022). Стога потрошачи све више преферирају

природне алтернативе које перципирају као безбедније и транспарентније (Morrison, 2024). Екстракти рузмарина (*Rosmarinus officinalis*), богати карнозном и розмаринском киселином, већ се користе као природни конзерванси. Други примери су бактериоцин нисин из *Lactococcus lactis* и катехини из зеленог чаја, са доказаним антиоксидативним и антимикуробним својствима (Ibarra-Sánchez et al., 2020; C. Liu et al., 2024; Nieto et al., 2018).

Последњих деценија бележи се глобални помак ка природним производима у свакодневици, при чему се етерична уља (ЕУ) посебно истичу. ЕУ су високо концентроване, хидрофобне течности екстраховане из различитих биљака, које одликују изражена хемијска и физичка својства. Обимна истраживања показала су широк спектар њихових ефеката - антимикуробних, антихелминтских, антивирусних, антиулцеративних, антиоксидативних, антиинфламаторних, инсектицидних, ларвицидних, имуно-модулаторних и антиноцицептивних - што указује на њихову свестраност у бројним применама.

Етерична уља из ароматичних биљака данас се интензивно истражују као конзерванси са *clean-label* ознаком, захваљујући комбинованом антимикуробном и антиоксидативном потенцијалу. Практична употреба ЕУ није новост: древни египатски текстови, попут *Ebers Papyrus*, помињу кедрове и смиренне балзаме за очување ткива; пупољци каранфилића стари око 3700 година пронађени у домаћинству у Турској (данашња Сирија) и класични грчко-римски извори бележе уља зачина као средство за продужавање квалитета хране (Essential Oil Sage, 2015; Onmanorama Staff, 2025; Yoo, 2024). Ипак, изазови остају - испарљивост, токсичност при високим концентрацијама и непожељан сензорни утицај (Ribeiro-Santos & Andrade, 2022). Сходно томе, научно интересовање за ЕУ и даље расте. *Scopus* упит са кључним речима „етерично уље” and „антимикуробна активност” дао је више од 10000 радова објављених између 2005. и 2024. године, што одговара просечној годишњој стопи раста од **13%** (Слика 1.1). Иако раст интересовања потврђује потенцијал ЕУ, он истовремено открива критичан јаз: потребни су робусни формулациони приступи како би се лабораторијска ефикасност превела у комерцијално одрживе производе.

Биоактивност етеричних уља произилази из сложених смеша терпена и фенилпропаноида, али само део конституената заиста доприноси антимикуробним својствима. Модели машинског учења (енг. *machine learning*, ML) који кодирају конституенте ЕУ као кружне (Морганове) отиске релативно су нов алат у откривању природних производа, али већ прецизирају подструктурне мотиве одговорне за антимикуробну активност (He et al., 2022b). Додатне методе засноване на подацима оснажују ве-



Слика 1.1. Број Scopus-индексираних докумената о антимикробној активности етеричних уља (2005-2024). Просечна годишња стопа раста је приближно 13%

зу структура-активност: ансамбл модели пондерисани сличношћу који комбинују *Cell-Painting* морфологију са хемијским отисцима шире хемијски простор доступан предикторима биоактивности (Seal et al., 2023); сурогат-модели логистичке регресије обучени на високодимензионим отисцима убрзавају итеративне кампање доковања у размери милијарди уз очување тачности (Martin, 2023); а хибридне мреже граф-отисак (нпр. *FP-GNN*) заједнички уче молекуларне графове и отиске и постижу најсавременије перформансе у предвиђању својстава (Cai et al., 2022). Заједно, ови напредци наглашавају снагу ML-а заснованог на отисцима у мапирању биоактивности на молекуларну структуру све већом резолуцијом. Спој *in silico* анализа са *in vitro* испитивањима нуди рационалан пут ка дизајну ефикасних, стабилних, *clean-label* конзерванаса.

Нетифоидне *Salmonella* (NTS) и даље су један од водећих узрока болести преносивих храном у свету. Процењује се да NTS изазивају приближно 94 милиона случајева гастроентеритиса и 150000 смртних исхода годишње, при чему *Salmonella enterica* серовар *Typhimurium* чини значајан удео инфекција (Gong et al., 2022). Како се мултирезистентни (MDR) сојеви *S. Typhimurium* умножавају - подстакнути прекомерном употребом антибиотика - хитно су потребне нове, неантибиотичке интервенције (Y. Wang et al., 2022).

Електростатичка екструзија емулзија уља у води у калцијум-алгинатне куглице представља методу без растварача, скалабилну и способну да "зароби" високо испарљиви

ве терпеноиде, уз контролисано ослобађање (Nedović et al., 2013). Претходни рад је показао да алгинатне куглице задржавају способност уклањања слободних радикала током складиштења и могу да смање минималну инхибиторну концентрацију енкапсулираног уља против патогена који се преносе храном (Lević et al., 2015). Ова студија има за циљ да допринесе открићу нових, природом инспирисаних антими-кробних агенаса.

Циљеви:

1. Сачинити квантитативне GC-MS профиле за одабрана комерцијална етерична уља.
2. Одредити МИК и МБК против *Salmonella enterica* серовар Typhimurium и измерити антиоксидативне капацитете (DPPH, ABTS).
3. Развити модел машинског учења (ML) са Моргановим отисцима као карактеристикама и антими-кробном активношћу против *S. Typhimurium* као циљном променљивом, ради повезивања молекуларних подструктура са антими-кробном потентношћу.
4. Произвести калцијум-алгинатне куглице одабраних уља електростатичком екструзијом и, лиофилизацијом, потврдити изводљивост енкапсулације.

2. Преглед литературе

Практика лечења вероватно датира од самих почетака људског постојања. Више од два миленијума мислиоци се питају *зашто* болест постоји и зашто организми оболе. Хипократ је у делу *On the Sacred Disease* (око 400. п. н. е.) одбацио натприродне узроке и болест схватио као природну неравнотежу унутар виталних телесних супстанци (Hippocrates, 2022). Хиљаду година касније, лекар и филозоф Авицена је у Књизи I свог *Canon of Medicine* (1025. н. е.) класификовао болести, спајајући Аристотелове четири узрока са клиничким посматрањем (Avicenna, 1999). Аристотел држи да свако објашњење почива на четири узрока: материјалном (од чега је нешто сачињено), формалном (његовој одређујућој форми), делатном (извор постајања) и сврховном (сврха ради које постоји) (Aristotle, 1984). У двадесетом веку француски епистемолог Жорж Кангијем је у делу *Le Normal et le pathologique* (1943; Eng. trans. 1991) преосмислио патологију као одступање од сопствених, еволуирајућих норми организма, тврдећи да је "болест нова животна норма", а не пуки изостанак здравља (Canguilhem, 1991). Данас еволуциона медицина иде корак даље: Нес и Вилијамс предлажу да су бројне подложности болестима еволутивни компромиси, одбрамбени механизми или неусклађености између савремених окружења и "генома из каменог доба" (Nesse, 2005; Nesse & Williams, 1996).

Док филозофи расправљају о онтолошком питању *зашто* болест постоји, научници му приступају прагматично: траже начине да болести идентификују, спрече и лече. Болести су вероватно пратиле сам настанак живота, подстичући ране људе да ублажавају патњу. Ова способност није својствена само људима; многе животиње и биљке такође поседују средства за борбу против болести.

Тако, дивљи шимпанзе намерно гутају храпаве листове врста *Aspilia* богате трихомима како би избацили цревне паразите (Wrangham & Nishida, 1983). Уочено је да шимпанзе уснама и језиком пажљиво одвајају појединачне листове, савијају их као хармонику и гутају без жвакања. Листови пролазе кроз дигестивни тракт неварени и излучују се у измету; показано је да овај механички механизам уклања одрасле црве из дебелог црева - у наборима и на површини листова нађено је и до 21 црв (Huffman & Group, 1996).

Забележено је и да неки сисари и птице споља наносе на покров листове, зглавкаре или друге миришљаве супстанце. Неотропски мајмуни капуцини трљају по крзну стоноге које луче бензукиноне, преузимајући њихове хемикалије као природни репелент против комараца (Weldon et al., 2003).

Лефевр *и сар.* су истраживали монарх лептира (*Danaus plexippus*) и њихове вирулентне протозоарне паразите, показавши да ни гусенице ни одрасли лептири не могу да се самоизлече (Lefèvre et al., 2010). Ипак, одрасли лептири преферирају полагање јаја на токсичним биљкама, чиме се смањује раст паразита у гусеницама потомака - пример трансгенерацијског посредовања у природи.

Инсекти бирају домаћине, док биљке, као непокретни организми, морају да трпе нападе разноврсних биљоједа током читавог животног циклуса. Развиле су рецепторе за детекцију сигнала биљоједа, осетљиве на промене у екстрацелуларној хемији; по препознавању таквих сигнала - додир, оштећење ткива, лучевине инсеката, измет, сигнали везани за јаја, ендосимбионти и феромони - активирају фитохормонске путеве и синтетишу одбрамбене метаболите (X. Li et al., 2021). На пример, када се чен белог лука згњечи, алиназа тренутно претвара алиин у алицин - испарљиво сумпорно једињење које може за неколико секунди убити бактерије и гљиве (Borlinghaus et al., 2014). Код купусњача "бомба" глукозинолата се активира при оштећењу ткива: глукозинолати долазе у контакт са мирозиназом и ослобађају изотиоцијанате који одбијају инсекте и инхибирају микробе (Halkier & Gershenzon, 2006). Глукозинолати су постали и значајан део људске исхране због карактеристичних укуса поврћа рода *Brassica* (нпр. купус, броколи) и потенцијалних улога у превенцији рака, заштити усева и као биофумиганти. Четинари се, пак, суочавају са биљоједима и патогенима; штеточине попут поткорњака, дрвенара и гусеница пупољака нарочито су деструктивне. Четинари производе разноврсне терпеноиде и фенолике који обезбеђују отпорност према многим биљоједима и микроорганизмима. Тако бор муника засити повреду коре смолом богатом монотерпенима (нпр. (α) -pinene), истовремено заптивајући рану и делујући антимикробно против гљива и бактерија (Keeling & Bohlmann, 2006). Листови пиринча синтетишу фитоалексин *sakuranetin*; осетљиве линије са ниским нивоима брже напада пламеница, док отпорни култивари повећавају синтезу како би спречили инвазију *Magnaporthe oryzae* (Du et al., 2024). Биљке чаја (*Camellia sinensis*) производе катехине попут (+)-катехина, епикатехина и EGCG при нападу гусеница; ови флаван-3-оли успоравају раст ларви и кључни су за одбрану (X. Li et al., 2021). Дрвеће ораха испушта нафтохинон југлон из корена и оштећене коре, трујући микробе и суседне биљке ради заштите ткива и ресурса (Medic et al., 2021).

С обзиром на наведено, није изненађујуће што биљни лекови прате људска друштва од праисторије до данас. Традиционална медицина - корпус знања, вештина и пракси развијен у различитим културама ради очувања здравља и превенције, дијагнозе и лечења болести - и даље има истакнуто место у глобалној здравственој заштити

(WHO, 2025). Људски имунски систем је сложена мрежа која обухвата бела крвна зрна (лимфоците, моноците, неутрофиле и макрофаге) и специфичне имунске супстанце (антитела, протеине и цитокине) које обезбеђују заштиту и отпорност против различитих инфекција и болести (Behl et al., 2021). Иако људи поседују снажне унутрашње одбране - физичке баријере, фагоците, антимицробне пептиде, комплемент и адаптивни одговор антителима - ови механизми могу бити надјачани брзо еволуирајућим патогенима или ослабљени неухрањеношћу, стресом и коморбидитетима (Medzhitov, 2015; Netea et al., 2016). У таквим околностима егзогени биоактивни молекули - често фенолици, терпеноиди или алкалоиди биљног порекла - пружају комплементарна антимицробна, антиинфламаторна или имуномодулаторна дејства која помажу домаћину да поврати физиолошку равнотежу (Behl et al., 2021; Newman & Cragg, 2020). Стога биљни лекови опстају не као историјске куриозитете, већ као важна карика примарне и адјувантне терапије у условима нових инфекција и растуће антибиотске резистенције.

Клиноформне медицинске табле из Нипура (око 2200. п. н. е.) већ наводе конкретне биљне рецептуре - најстарију познату писану фармакопеју (Salem, 2016). *Ebers Papyrus* из Египта (око 1550. п. н. е.) бележи више од 800 биљних лекова из приближно 700 врста, укључујући алоју, шипак и бели лук, што сведочи о развијеној фитотерапијској традицији дуж Нила (Metwaly et al., 2021). Рани египатски лекари примењивали су софистициране методе, са ширим знањем из анатомије и хирургије: лечили су стоматолошке, гинеколошке, пробавне и уринарне проблеме и препознавали болести попут дијабетеса и тумора; третмани су комбиновали биљке - многе и данас у употреби - са животињским производима и минералима. У источне традиције у темељ је уткан *Shen Nong Ben Cao Jing* (*Materia Medica* Божанског Патара, 1-2. век н. е.), који систематизује 365 лековитих биљака у горњу, средњу и доњу категорију и поставља дуготрајну таксономију источњоазијске биљне праксе (Nugent-Head, 2014).

И данас се биљке интензивно користе за развој делотворних и безбедних лекова. Разноврсност биљака у природи представља главни извор природних лекова за превенцију и лечење болести, а многе традиционалне праксе широм света и даље се у великој мери ослањају на производе биљног порекла (Singh et al., 2020). Традиционални лекови најчешће су сирови препарати - декокти, тинктуре, инфузије, купке и сирупи - док се савремена медицина фокусира на употребу активних биљних састојака уместо целих делова биљке.

Документовано знање о биљкама од медицинске вредности подстакло је откривање

бројних биоактивних једињења, од којих многа данас напредују као потенцијални лекови. Добро познати примери су винкрестин, винбластин, паклитаксел, камптотецин, артемизинин и подофилотоксин - све молекуле биљног порекла које су фармацевтске компаније развиле у лекове. Биљни биоактиви често служе и као полазишта за дизајн, синтезу и развој нових молекула; бројни су значајно модификовани ради боље ефикасности и мање токсичности. Пример је аспирин, настао модификацијом салицилне киселине, природног биљног метаболита, и данас широко коришћен као антиинфламаторно средство.

Од 1981. године регулаторне агенције широм света одобриле су 1881 нови хемијски ентитет (NCEs) (Newman & Cragg, 2020). Од 1394 маломолекулска лека, 441 (32%) су природни производи или њихови директни деривати. Просечни годишњи допринос ове класе износио је $32 \pm 9\%$ током скоро четири деценије. Антиинфективи то најјасније илуструју: од 126 антибактеријских малих молекула одобрених између 1981. и 2019, 78 (48%) засновано је на структурама природних производа. Онкологија је друго доминантно подручје: у истом периоду 62 од 185 антитуморских малих молекула (33,5%) потичу директно из природних производа, а тај удео расте на 64,9% када се урачунају полусинтетички и миметички деривати. Ови бројеви потврђују да се откривање маломолекулских лекова и даље у великој мери ослања на хемију природних производа.

2.1. Етерична уља

Антисептичка својства ароматичних и лековитих биљака и њихових екстраката позната су од антике, док лабораторијска истраживања датирају из раног 20. века (Hoffman & Evans, 1911; Martindale, 1910). Биљна испарљива уља обично се добијају из нездрвенастог материјала парном или хидродестилацијом. Реч је о сложеним смешама терпеноида - првенствено монотерпена (C_{10}) и сесквитерпена (C_{15}), уз могуће присуство дитерпена (C_{20}) - са додатком разноврсних нискомолекулских алифатичних угљоводоника (линеарних/разгранатих, засићених/незасићених), киселина, алкохола, алдехида, ацикличних естара или лактона. Ређе се јављају једињења са азотом или сумпором, кумарини и хомолози фенилпропаноида. Терпени су првенствено одговорни за лековита, кулинарска и ароматична својства ових биљака; типично настају главо-реп кондензацијом разгранатих петоугљеничних изопренских јединица и класификују се према броју изопренских јединица у угљеничном скелету (Dorman & Deans, 2000).

Етерична уља су концентровани биљни екстракти који задржавају природни мирис и укус, односно "суштину", свог ботаничког извора. Према ISO, ЕУ се добијају из

биљног материјала пресовањем или дестилацијом (Dajić Stevanović et al., 2020). Први јасан опис изолације ових испарљивих супстанци парном дестилацијом приписује се Авицени, који је око 11^в. н. е. конструисао казан са калемним кондензатором за добијање ружиног атра у медицинске сврхе (Schlosser, 2011). И после миленијума, парна/хидродестилација остаје доминантан индустријски метод - због једноставности, водене природе и лакоће скалирања (Machado et al., 2024). Напредак у технологијама екстракције кора цитруса и листова пачулија (већа ефикасност, одрживост) детаљно је разматран у (Kusuma & Mahfud, 2017; Suetsugu et al., 2013). Механичко хладно цеђење погодно је за осетљиве коре, микроталасно асистирана хидродестилација скраћује време и благо повећава принос за листове пачулија, а суперкритична екстракција CO₂ даје више и квалитетније уље из кора у односу на традиционалне методе. Ово показује континуиране напоре да се производња ЕУ модернизује у складу са растућом потражњом.

У ЕУ, VCCs чине више од 95% масеног удела (Bakkali et al., 2008) и превасходно су одговорна за биолошке активности које се у овој дисертацији испитују. Терпинен-4-ол, на пример, ремети микробне ћелијске мембране, нарушава њихов интегритет и изазива цурење унутарћелијских супстанци. Фенолни монотерпени попут тимола и карвакрола уграђују се у бактеријске мембране, повећавају пропустљивост и доводе до губитка есенцијалних унутарћелијских компоненти. Прецизно профилисање ових испарљивих материја (нпр. GC-MS резултати интерпретирани помоћу библиотеке индекса задржавања (Adams, 2007; Joulain et al., 2001)) даје хемијски "отисак прста" који подупире контролу квалитета и квантитативну анализу. Ови саставни подаци затим се могу трансформисати у Морганове дескрипторе отисака, погодне за хеминформатичку анализу и ML моделе (Lagerholm et al., 2025), што омогућава прецизније утврђивање који мотиви VCC конкретно корелирају са антимикуробном активношћу.

2.1.1. Лаванда (*Lavandula angustifolia* Mill.)

Лаванда је вишегодишњи полужбун из породице уснатица (Lamiaceae). Иако род *Lavandula* обухвата више од четрдесет цветних врста, индустријски су значајне углавном три за производњу етеричног уља: права/енглеска лаванда (*L., angustifolia*), шпанска лаванда (*L., latifolia*) и хибрид лавандин (*L., ×, intermedia*).

Етерично уље *L., angustifolia* доминирао је линалолом и линалилацетатом и показује широк спектар биоактивности - од антимикуробне и антифунгалне до антиоксидативне, антиинфламаторне, анксиолитичке и седативне. Због дуге историје безбедне употребе, FDA га сврстава у GRAS.

Захваљујући пријатној ароми и функционалним својствима, уље лаванде налази примену у парфимерији, козметици и производима за личну негу, фармацеутици, ароматерапији, као и као природни ароматик и конзерванс у храни.

Пореклом из Медитерана, лаванда се данас гаји широм света, а Бугарска, Француска и Уједињено Краљевство предњаче у производњи уља. Квалитет уља обликују генотип, географија, клима, агрономске праксе, фаза жетве, доба дана, постжетвено руковање и одабрана технологија екстракције (Shellie et al., 2002).

Традиционалне технике - хидродестилација, парна дестилација и екстракција растварачем - и даље су најраспрострањеније, али нови "зелени" приступи, пре свега суперкритична екстракција CO₂ и суб-/суперкритична екстракција флуороугљоводоникима, могу дати уља другачијег хемијског и сензорског профила. Третман свежих цветова неполарним растварачем даје воштаности "конкре"; поновна екстракција тог конкреа етанолом даје концентрованији "апсолут". Око 130 kg цветова потребно је за 1 kg апсолута, који је обично слађи и мање изразито цветан од одговарајућег дестилованог уља (Nedeltcheva-Antonova et al., 2022; Shellie et al., 2002).

GC-MS испитивања широм култивара и региона узгоја доследно потврђују линалол и линалилацетат као главне испарљиве компоненте, мада њихови удели широко варирају (≈10-50% и 7-45%, респективно). Недавна профилисања фокусирали су се и на мање, али биоактивне састојке - оксиде терпена и сесквитерпене - и нагласила утицај параметара екстракције и на принос и на арому (Hossain et al., 2017; Hudz et al., 2023).

2.1.2. Бергамот (*Citrus bergamia* Mill.)

Бергамот, ендемичан за јужну Калабрију, препознатљив је по издуженим зеленим листовима и жутим плодовима киселог и горкастог укуса. Етерично уље и сок бергамота значајни су у парфимерији, козметици и фармацеутици.

Етерично уље бергамота показује терапијска својства - убрзава зарастање рана и ублажава неуропатски бол; испољава антимикробно дејство преко реактивних врста кисеоника које инхибирају раст микроорганизама. Полифенолна фракција бергамота пружа кардиопротекцију (снижење липида, антиоксидативно и антиинфламаторно дејство) (Maiuolo et al., 2021). Додатно, уље може допринети смањењу телесне масе кроз регулацију адипонектина, лептина и грелина, побољшати осетљивост на инсулин и потенцијално синергизовати са статинима у модулацији липидног профила (Cicero et al., 2019; Grusa et al., 2024). Поред тога, повољно утиче на неуротрансмитерске функције у хипокамфусу, синаптичку пластичност и опстанак неурона;

истраживања наводе и модулацију бола и смањење ћелијске смрти изазване активацијом NMDA рецептора. Главне компоненте уља - лимонен, γ -терпинен, β -пинен, линалол и линалилацетат - чине >90% састава и значајно доприносе терапијским ефектима (Cicero et al., 2019). Ипак, присуство фурукумарина бергаптена носи фототоксични и фотомутагенски ризик са потенцијалом за тешке булозне кожне реакције након UV излагања; два пријављена случаја - један после директног контакта са кожом, други након инхалације испарења у сауни - подсећају да уља богата псораленима и даље носе реалан здравствени ризик (Kaddu et al., 2001).

Вонг *и сар.* описују бергамот као високо мирисни цитрус чије се хладно цеђено уље из коре цени у ароматерапији, нези коже, ароматизовању хране (Earl Grey чај) и као природни репелент против инсеката (захваљујући линалолу/линалилацетату) (Wong et al., 2024). Међутим, слаба растворљивост у води и тенденција ка фототоксичности ограничавају ширу употребу, нарочито на кожи изложеној сунцу. Да би се то превазишло, уље је енкапсулирано у нано-емулзију на бази ксантан-гуме путем ултразвучне обраде: биокompatibilна матрица диспергује липофилно уље у води, повећава стабилност и шири безбедну употребу у прехрани, козметици и системима за достављање лекова.

2.1.3. Чајно дрво (*Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel)

Melaleuca alternifolia L. (чајно дрво) је аустралијски жбун из породице Myrtaceae који се данас култивише од Јужне Азије до тропске Америке и, у новије време, на вијетнамским висоравнима. Његови уски, уљем богати листови дају сложено етерично уље у којем доминира монотерпен терпинен-4-ол (35-48% према ISO 4730-2025 (International Organization for Standardization, 2025)), уз друге моно-и сесквитерпене. Географско порекло, сезона бербе, техника екстракције и услови складиштења значајно утичу на профил, а тиме и на антибактеријску, антифунгалну и антивирусну потенцију. У технологији хране, уље чајног дрвета побољшава антиоксидативна својства хитозанских филмова и сузбија плесни кварења на месним производима (Quoc & Quyen, 2024).

Недавна студија формулисала је крему са 2% уља чајног дрвета и потврдила њену физичко-хемијску стабилност (pH, густина, органолептика, микробиолошка чистоћа). У *ex vivo* свињској кожи и у мишијем моделу инфициране ране са *Staphylococcus aureus*, дневна топикална примена креме са 2% уља значајно је снизила бактеријско оптерећење и величину лезија у року од 48-72 h, превасходно захваљујући терпинен-4-олу (Alves et al., 2024).

Према (Lima et al., 2025), желатински филмови са етеричним уљем *Melaleuca alter-*

nifolia (МЕО) представљају ефикасно, обновљиво решење за паковање живинског меса. Чист МЕО је показао снажну антимикуробну активност (дијаметри зона инхибиције: 17 mm за *Pseudomonas aeruginosa*, 9 mm за *Salmonella* sp.; МИК 10% и 15%, респективно) и изражен антиоксидативни потенцијал (АВТS = $1309 \pm 18 \mu\text{M}$ Trolox g^{-1} ; FRAP = $446 \pm 6 \mu\text{M FeSO}_4 \text{g}^{-1}$). GC-MS је идентификовао терпинен-4-ол, 2-карен, γ -терпинен и α -терпинеол као главне компоненте. Додавање 10-15% уља желатину повећало је дебљину филма (0,059 \rightarrow 0,127 mm), пропустљивост за водену пару и униформност (без пукотина), уз појачану антиоксидативну активност. На расхлађеним пилећим грудима, МЕО филмови су смањили губитак масе (\approx 10% према 90% у контролама) и ограничили деградацију текстуре на 8% (према 19,6%), продужавајући рок трајања комбинацијом баријерног, антиоксидативног и антимикуробног деловања.

2.1.4. Нана (*Mentha* \times *piperita* L.)

Етерично уље нане, добијено из култивисаног хибрида *Mentha piperita* L. (Lamiaceae), одавно је цењено у аромама, мирисима и медицинским применама. Високо је вредновано због антисептичних, стимулативних и карминативних својстава и широко се користи као ароматик у козметици и фармацеутици. Растућа база доказа подржава његов широк антимикуробни спектар: уље и етанолни екстракти инхибирају врсте *Candida*; уље потискује фитопатогене (*Aspergillus niger*, *Rhizopus solani*, *Alternaria alternata*) и разне бактеријске патогене (*Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*) (Mahboubi & Kazempour, 2014).

Shalayel et al. (2017) су испитивали антимикуробне ефекте екстракта нане *Mentha piperita* против 10 MDR клиничких изолата бактерија: етил-ацетатни екстракт је показао најјаче ефекте, са најнижом МИК од $1,25 \text{ mg mL}^{-1}$ за *Streptococcus pyogenes*. Резултати указују на значајан антибактеријски потенцијал, нарочито етил-ацетатног екстракта.

У студији Işcan et al. (2002), микродилуција, агар-дифузија и TLC-биоаутографија коришћене су за тестирање уља против 21 људског и биљног патогена. Сва тестирана уља нане значајно су инхибирала раст биљних патогених гљива и бактерија, док су ефекти на људске патогене били умерени. GC-MS је указао да се антимикуробна активност превасходно приписује ментолу - доминантном монотерпеноиду - док ментон има мању улогу.

Недавна студија El Omari et al. (2024) карактерисала је уље *Mentha piperita* L. из Уезана (СЗ Мароко). Главна једињења била су пулегон (17%), ментон (10-20%), карвон

(9%), еукалиптол (7%) и тимол (6%). Утврђен је широк биолошки профил: антиоксидативни капацитет (FRAP, DPPH, ABTS), антибактеријско дејство и инхибиција ензима (α -амилаза/ α -глукозидаза, еластаза/тирозиназа, АСhЕ/ВСhЕ). Молекулско доковање је показало јак афинитет пулегона и ментона ка ензимима повезаним са метаболизмом глукозе и пигментацијом. Ови налази истичу потенцијал уља нане као природног фунгицида/бактерицида у пољопривреди и очувању хране, посебно у доба растуће резистенције на синтетичка средства.

2.2. Гасна хроматографија са масеном спектрометријом (GC-MS) етеричних уља

Испарљива органска једињења најчешће се анализирају гасном хроматографијом (GC) у комбинацији са различитим детекторима. Ова техника је кључна за процену етеричних уља јер ефикасно раздваја сложене смеше на компоненте у колони. На улазу у колону убризгава се врло мала количина уља, а инертни гас (најчешће азот или хелијум) потискује смешу кроз колону. На излазу компоненте сусрећу детектор - најчешће масени спектрометар (MS) или пламено-јонизациони детектор (FID). Колонa се загрева контролисано: полази се од ниске температуре (типично 40-60 °C) која се затим повећава брзином 3-5 °C у минути до вршне температуре 280-300 °C. Честа је заблуда да се компоненте крећу кроз колону у гасовитом стању: назив "гасна хроматографија" пре свега се односи на употребу инертног гаса, а не на физичко стање компонената током проласка кроз колону.

Конституенти ЕУ расподељују се између стационарне фазе и носећег гаса унутар GC колоне, те елуирају много пре него што достигну температуре неопходне за кључање на атмосферском притиску. Тимол, чија је нормална тачка кључања ≈ 232 °C на 1 атм, почиње да излази са неполарне HP-5/ZB-1 колоне већ при 150-170 °C. Насупрот томе, лакши монотерпен α -пинен (нормална тачка кључања ≈ 156 °C) базно је раздвојен док је рерна још увек 60-90 °C током типичног нагиба од 3 °C мин⁻¹ који почиње на 60 °C на DB-5 колони. Ова термодинамичка "несагласја" - високе тачке кључања на отвореној атмосфери наспрам знатно нижих GC температура елуције - одражавају смањене захтеве парног притиска које стварају проточни носећи гас и притисак у капилару, па анализи испаравају и мигрирају далеко испод својих нормалних тачака кључања (Babushok et al., 2011; da Silva et al., 1999; National Institute of Standards and Technology, 2025a, 2025b). Супротно томе, крупнија једињења попут испарљивих дитерпена и кумарина имају тачке кључања изнад уобичајених GC подешавања; инцензол-ацетат кључа на 420 °C и елуира уз продужено задржавање (Sadgrove et al., 2022).

Физичко стање компонената ЕУ (и њихових испарљивих деривата) током пута кроз колону зависи од улазног притиска гаса, међумолекулских интеракција са стационарном фазом, температуре, концентрације и парног притиска сваке молекуле. Компоненте углавном бораве у парној фази; на излазу се адсорбују на матрицу колоне и постају течност. Како температура расте и савладава интеракције са стационарном фазом, ова течност поново испарава и пара излази из колоне до детектора (Adams, 2007; Sadgrove et al., 2022).

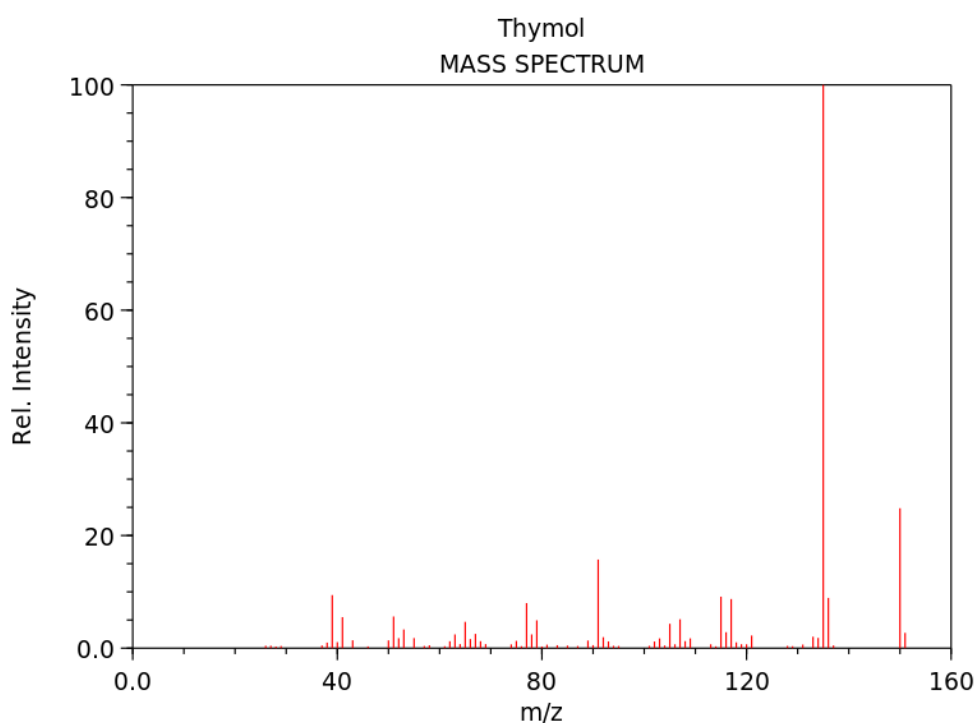
Компоненте ЕУ идентификују се двама главним стратегијама. Прва је анализа "отиска прста" фрагмената које генерише масени спектрометар. У комбинацији са GC, техника је GC-MS: сноп електрона јонизује молекуле електрон-ударном јонизацијом (најчешће 70 eV), а затим се детектују масе фрагмената.

На пример, електрон-ударни масени спектар тимола на Слици 2.1 има молекулски јон на $m/z = 150$ (M^+ , $C_{10}H_{14}O$), уз интензиван базни пик на $m/z = 135$ ($M - 15$) настао хомолитичким губитком метил-групе са изопропилног супституента. Даље дијагностичке фрагментације јављају се на $m/z = 121$ ($M - 29$, накнадни губитак C_2H_5), $m/z = 107$ ($M - 43$, губитак целог изопропилног бочног ланца) и $m/z = 91$ (тропилијум-јон из реаранжмана алкил-супституисаног ароматичног прстена), уз фенолне фрагменте ниже масе на $m/z = 77$ и 65 (National Institute of Standards and Technology, 2025a).

2.3. Честе фитохемикалије у етеричним уљима

Фитохемикалије су природна једињења која се превасходно налазе у воћу, поврћу и разним биљкама. Лековите биљке садрже бројне фитохемикалије - каротеноиде, фенолне киселине, флавоноиде и лигнани - са различитим биолошким активностима (антиоксидативним, антибактеријским, антиканцерогеним, антиинфламаторним, неуропротективним). Иако нису есенцијални за исхрану, ови секундарни метаболити имају кључну улогу у расту и одбрани биљака од инсеката, патогена и других микроорганизама. Такође утичу на боју, мирис, укус и текстуру намирница. Бројна пића и намирнице на бази орашастих плодова, трава и поврћа садрже ова једињења. Истраживачи траже начине да их искористе у превенцији и лечењу појединих хроничних болести, попут дијабетеса и карцинома (Behl et al., 2021).

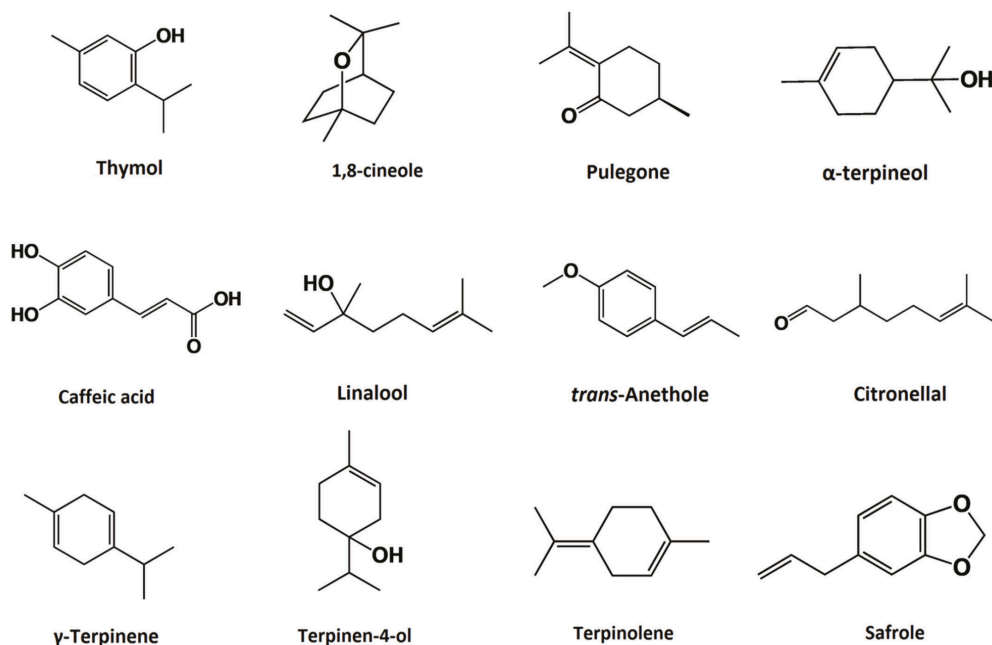
Испарљива органска једињења (VCCs) су мале молекуле које лако испаравају на собној температури и дају карактеристичне ароме и укусе биљкама, намирницама и напцима (Baldwin et al., 2000; Dudareva et al., 2004). Обухватају терпеноиде, фенолпропаноиде, кратколанчане алдехиде, кетоне и естре. Већина има молекулске масе



NIST Chemistry WebBook (<https://webbook.nist.gov/chemistry>)
Слика 2.1. Масени спектар тимола (база NIST Chemistry WebBook): базни пик на $m/z = 135$ и карактеристични фрагменти (National Institute of Standards and Technology, 2025a)

испод 300 Da и високе парцијалне притиске паре, што омогућава брз прелаз у гасну фазу (Bakkali et al., 2008). У биљкама, VCCs делују као семиохемикалије: привлаче опрашиваче, одбијају фитофаге и инхибирају раст микроорганизама (Freeman & Beattie, 2008). Из индустријске перспективе, кључни су за сензорска својства трава, зачина и чајева и снажно утичу на прихватљивост прерађене хране, козметике и фармацеутика (Burt, 2004). Управљање ослобађањем и стабилношћу VCCs од суштинске је важности у науци о храни и природним производима, јер испарљивост убрзава оксидативну деградацију и истовремено утиче и на очување укуса и на антимикробну ефикасност (Huldgaard et al., 2012; Nedović et al., 2013).

Слика 2.2 приказује избор од дванаест представничких фитохемикалија типичних за ЕУ, који илуструју разнолике структурне класе и њихов допринос сензорним и функционалним особинама. Панел обухвата монотерпенске угљоводонике, као што су γ -терпинен (γ -terpinene) и терпинолен (terpinolene), као и оксигенисане монотерпеноиде - 1,8-цинеол (1,8-cineole), α -терпинеол (α -terpineol), линалоол (linalool), терпинен-4-ол (terpinen-4-ol), пулегон (pulegone) и цитронелал (citronellal). Приказани су и фенолна и фенолпропаноидна једињења - тимол (thymol), кафеична киселина (caffeic acid), транс-анетол (trans-anethole) и сафрол (safrole).



Слика 2.2. Примери фитохемикалија које се често налазе у етеричним уљима (Dassanayake et al., 2021)

Разумевање суптилних разлика у оксидационим стањима, супституцији на прстену и дужини бочних ланаца је пресудно, јер управо оне условљавају специфична својства. Тако тимол даје топлу, биљну оштрину, 1,8-цинеол хладну ментол-евкалиптус ноту, транс-анетол слadak анисан мирис, а цитронелал лимунску свежину.

Поред улоге у мирису и укусу, многа од ових једињења испољавају значајна антимикробна, антиоксидативна или инсектицидна својства - што наглашава њихове вишефункционалне еколошке улоге и значај у храни, козметици и терапеутицима.

2.3.1. Терпени и терпеноиди

Међу компонентама етеричних уља, управо су терпени и терпеноиди највише проучавани и најчешће се доводе у везу са кључним ефектима по људско здравље (Masuyita et al., 2022). Терпени су чисти угљоводоници, док су терпеноиди њихови модификовани деривати са додатним функционалним групама. Обе класе испољавају антимикробна дејства: терпени делују и на осетљиве и на резистентне сојеве, ремете ћелијску мембрану и инхибирају синтезу протеина и ДНК. Међу једињењима са доказаним дејством против *Staphylococcus aureus* и *Salmonella Typhimurium* издвајају се карвакрол (carvacrol), карвон (carvone), еугенол (eugenol), гераниол (geraniol) и тимол (thymol) (Dong et al., 2024; Gallucci et al., 2009).

Терпени (изопреноиди) граде се од изопренских јединица (2-метилбута-1,3-диен) које се могу и циклизовати (Hyldgaard et al., 2012). Разноврсност потиче од броја изопренских јединица: хемитерпени (C_5), монотерпени (C_{10}), сесквитерпени (C_{15}), дитерпени (C_{20}), тритерпени (C_{30}) и тетратерпени (C_{40}) (Masyita et al., 2022). Хемитерпени (нпр. изопрен) су ретки у етеричним уљима; доминирају монотерпени и сесквитерпени ($\approx 90\%$), док се више хомолога (ди-/три-/тетратерпени) и њихови оксигенисани деривати јављају у мањим уделима (de Oliveira et al., 2020).

Терпеноиди су терпени са уграђеним атомима кисеоника - настају биохемијским модификацијама (де/метилација, оксидација...). Разврставају се на алкохоле, алдехиде, естре, етере/епоксиде, кетоне и феноле. Примери су карвакрол, цитронелал, гераниол, линалоол, линалилацетат, пиперитон (piperitone), ментол и тимол (Hyldgaard et al., 2012). Многи од њих испољавају антиканцерна, антиалергијска, антибактеријска и антиоксидативна дејства (Carvalho et al., 2016; de Oliveira et al., 2020; Joulain et al., 2001).

2.3.1.1. Монотерпени (C_{10})

Монотерпени потичу од две "глава-реп" повезане изопренске јединице које биљке синтетишу као секундарне метаболите. Када садрже кисеоник или им недостаје метил-група, говоримо о монотерпеноидима. Селективна функционализација омогућава "подешавање" биолошке активности - што је широко искоришћено у истраживању лекова (Zielińska-Błajet & Feder-Kubis, 2020).

Једна од чешћих класификација дели их на ацикличне, моноцикличне и бицикличне:

Ациклични угљоводоници: мирцен (myrcene; хмељ - *Humulus lupulus*; ловор - *Laurus nobilis*), (E/Z)- β -оцимен ((E/Z)- β -ocimene; босиљак - *Ocimum basilicum*; нана - *Mentha spicata*), ало-оцимен (allo-ocimene; *Tagetes minuta*).

Моноциклични угљоводоници: лимонен (limonene; кора поморанце - *Citrus sinensis*), γ -терпинен (γ -terpinen; ким - *Cuminum cyminum*; чајно дрво - *Melaleuca alternifolia*), β -феландрен (β -phellandrene; еукалиптус - *Eucalyptus globulus*; мирођија - *Anethum graveolens*).

Бициклични угљоводоници: α -пинен (α -pinene; бор - *Pinus sylvestris*; рузмарин - *Salvia rosmarinus*), β -пинен (β -pinene; хмељ - *Humulus lupulus*), камфен (camphene; јела - *Abies alba*; камфоровац - *Cinnamomum camphora*), сабинен (sabinene; бибер - *Piper nigrum*; семе шаргарепе - *Daucus carota* subsp. *sativus*).

Оксигенисани монотерпени - алкохоли: линалоол (linalool; лаванда - *Lavandula*

angustifolia; коријандер - *Coriandrum sativum*), гераниол (geraniol; палмароса - *Symbopogon martinii*; ружа - *Rosa × damascena*), нерол (nerol; нероли - *Citrus × aurantium* fl. var. *amara*), терпинен-4-ол (terpinen-4-ol; чајно дрво - *Melaleuca alternifolia*), α -терпинеол (α -terpineol; бор - *Pinus roxburghii*; петитгрен - листови *Citrus × aurantium*), борнеол (borneol; *Artemisia argyi*).

Оксигенисани монотерпени - алдехиди/кетони: цитрал (citral; лимунска трава - *Symbopogon citratus*; литсеа - *Litsea cubeba*), цитронелал (citronellal; цитронела - *Symbopogon winterianus*; еукалиптус - *Corymbia citriodora*), карвон (carvone; кумин/мирођија - *Carum carvi*; нана - *Mentha spicata*), ментон (menthone; пеперминт - *Mentha × piperita*), тујон (thujone; жалфија - *Salvia officinalis*; пелин - *Artemisia absinthium*), пулегон (pulegone; риганта - *Mentha pulegium*).

Оксигенисани монотерпени - естри: линалилацетат (linalyl acetate; лаванда - *Lavandula angustifolia*; кадуља - *Salvia sclarea*), геранилацетат (geranyl acetate; палмароса - *Symbopogon martinii*; цитронела - *Symbopogon winterianus*), цитронелилацетат (citronellyl acetate; цитронела; ружа - *Rosa × damascena*), борнилацетат (bornyl acetate; кедр/бор - *Pinus koraiensis*; рузмарин - *Salvia rosmarinus*).

Оксиди: 1,8-цинеол (1,8-cineole; еукалиптус - *Eucalyptus globulus*; рузмарин - *Salvia rosmarinus*), роуз-оксид (rose oxide; ружа - *Rosa × damascena*; личи - *Litchi chinensis*), оксиди линалоола (linalool oxides; лаванда; коријандер).

2.3.1.2. Ароматични монотерпеноиди и алкилбензени

Ове групе деле мотив: ароматични прстен C_6 са изопропилом C_3 ; разликују се по степену оксигенације и реактивности. **Алкилбензени** (нпр. *n*-цимен, *p*-сумене) су угљоводоници и често делују као инертни носачи/синергисти. Увођењем хидроксилне, метокси или друге О-функционалности у истом скелету настају високо биоактивни феноли попут карвакрола и тимола - кључних носилаца антимикуробности у тимијану и оригану (Soković et al., 2010; Zielińska-Błajet & Feder-Kubis, 2020).

p-цимен (*p*-сумене; ким - *Cuminum cyminum*; тимијан - *Thymus vulgaris*), карвакрол (carvacrol; оригано - *Origanum vulgare*; тимијан), тимол (thymol; тимијан - *Thymus vulgaris*; аджвајн - *Trachyspermum ammi*).

2.3.1.3. Сесквитерпени (C_{15})

Сесквитерпени (C_{15}) настају из фарнезил-дифосфата (FPP) и обухватају линеарне, моно-, би-и трицикличне скелете; оксидацијом/реаранжманима дају алкохоле, кетоне и лактоне.

Угљоводоници: β -кариофилен (β -caryophyllene; каранфилић - *Syzygium aromaticum*; бибер - *Piper nigrum*), α -хумулен (α -humulene; хмель - *Humulus lupulus*), гермакрен D (germacrene D; иланг-иланг - *Cananga odorata*; пачули - *Pogostemon cablin*), δ -кадинен (δ -cadinene; кедр - *Cedrus deodara*; пачули), β -фарнезен (β -farnesene; камилица - *Matricaria recutita*), α -бергамотен (α -bergamotene; бергамот - *Citrus × bergamia*), β -бисаболен (β -bisabolene; ђумбир - *Zingiber officinale*; пачули).

Оксигенисани сесквитерпени: фарнезол (farnesol; цитронела - *Symbopogon winterianus*; палмароса), неролидол (nerolidol; нероли; чајно дрво - *Melaleuca alternifolia*), бисаболол (bisabolol; камилица - *Matricaria recutita*), спатуленол (spathulenol; еукалиптус - *Eucalyptus globulus*; мирта - *Myrtus communis*), оксид кариофилена (caryophyllene oxide; каранфилић; оригано), τ -кадинол (τ -cadinol; кедр - *Cedrus atlantica*), пачули-алкохол (patchouli alcohol; *Pogostemon cablin*).

2.3.1.4. Дитерпени и дитерпеноиди (C₂₀)

Дитерпени/дитерпеноиди (C₂₀) потичу из геранилгеранил-дифосфата (GGPP) и граде линеарне, би-, три-и тетрацикличне скелете (гиберелини, фитокасани, таксани) (Saha et al., 2021).

склареол (sclareol; *Salvia sclarea*), маноол (manool; тиса - *Taxus brevifolia*; шпанска кадуља - *Salvia lavandulifolia*), цембрен А (cembrene A; дуван - *Nicotiana tabacum*), абиетинска киселина (abietic acid; *Pinus pinaster*).

2.3.2. Фенилпропаноиди

Фенилпропаноиди настају шикиматним путем; базни мотив је ароматични прстен C₆ повезан са пропен-сегментом C₃ (од циннамичне киселине), често оксигенисан у 3/4/5-позицији, обично са C=C везом (Dajic Stevanovic et al., 2020). Примери: анетол (anethole), цинамалдехид (cinnamaldehyde), еуенол (eugenol), изоеуенол (isoeugenol), миристицин (myristicin), сафрол (safrole), ванилин (vanillin). Анетол показује антикарциногена својства (Masyita et al., 2022).

2.3.2.1. Фенилпропени

Фенилпропени имају фенил-пропен мотив (алил на бензенском прстену; родитељско једињење: алилбензен). Биљни су метаболити са улогама у одбрани, парфимерији, аромама и антисептицима (Chemler & Koffas, 2008; Soković et al., 2010).

еуенол (eugenol; каранфилић - *Syzygium aromaticum*; лист цимета - *Cinnamomum verum*), изоеуенол (isoeugenol; иланг-иланг - *Cananga odorata*), чавикол (chavicol; бетел - *Piper betle*; тајландски босиљак - *Ocimum basilicum* var. *thyrsiflora*), естра-

гол / метил-чавикол (estragole; естрагон - *Artemisia dracunculus*), анетол (anethole; анис - *Pimpinella anisum*; коморач - *Foeniculum vulgare*), сафрол (saffrole; сасафрас - *Sassafras albidum*; камфоровац - *Cinnamomum camphora*).

2.3.2.2. Ароматични алдехиди и кетони

То су фенил-карбонилна једињења (-CHO или >C=O директно на прстену), честа у аромама/зачинима и често веома реактивна (конјуговани електрофили) (Aljaafari et al., 2022).

цинамалдехид (cinnamaldehyde; кора цејлонског цимета - *Cinnamomum verum*), ванилин (vanillin; *Vanilla planifolia*), кониферил-алдехид (coniferyl aldehyde; смола бора - *Pinus sylvestris*).

2.3.2.3. Кумарини и фурукумарини

Кумарини (и фотореактивни фурукумарини) су бензопиран-деривати широко распрострањени у биљкама. Историјски, кумарин је изолован из тонка пасуља (*Dipteryx odorata*) 1820; значајни извори су и медунка (*Melilotus*), мирисница, ванила, касија, лаванда и перу-балзам. Биосинтеза иде преко фенилпропаноидног пута (орто-хидроксилација и лактонизација *p*-кумароил-СоА → умбелиферон, скополетин, ескулетин; додавањем фуранског прстена → псорален, бергаптен, анђелицин). Иако су у уљима обично у ppm траговима, снажно утичу на антиоксидативност и фототоксичност (PUVA контекст; упозорења за бергамот, лимету и руту) (IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2000).

кумарин (coumarin; *Dipteryx odorata*), бергаптен (bergapten; кора бергамота - *Citrus × bergamia*), псорален (psoralen; лист смокве - *Ficus carica*; семе целера - *Apium graveolens*).

2.3.3. Бензеноиди

Мањи, али значајан део арома-профила чине **бензеноиди** (C₆-C₁) настали скраћивањем бочног ланца L-фенилаланина (шикиматни/фенилпропаноидни пут). Примери: бензалдехид (benzaldehyde), бензил-алкохол (benzyl alcohol), бензил-ацетат (benzyl acetate), салицилалдехид, метил-салицилат, анисалдехид и ванилин. Иако су најчешће у траговима, дају "високоударне" мирисне ноте (вишња/горки бадем, "винтергрин", цветно-слатко, "ванила") и снажно утичу на дифузивност мириса (логP ≈ 2-3; ниски прагови мириса) (Cui, 2013; Dudareva et al., 2004). Регулаторно: бензалдехид и метил-салицилат су FEMA-GRAS; бензен мора бити строго контролисан.

2.3.3.1. Бензеноидни алкохоли, алдехиди и естри

Кључни мириси у парфимерији/ароматерапији; нпр. 2-фенилетанол (phenethyl alcohol) у ружи настаје из L-фенилаланина преко фенил-ацеталдехида (ензим RhPAAS) (Roccia et al., 2019; L. Zeng et al., 2019). У јасмину, екстракти (absolute) су богати бензилним дериватима: бензил-ацетат (често 20-40%), бензил-бензоат (20-35%) (ScenTree SAS, 2025). Токсиколошки профили ових алкохола се битно разликују од бензена; употребу регулишу IFRA/GRAS (Benkhedja et al., 2017).

бензалдехид (benzaldehyde; горки бадем - *Prunus dulcis*), бензил-алкохол (benzyl alcohol; јасмин - *Jasminum grandiflorum*; иланг-иланг - *Cananga odorata*), бензил-ацетат (benzyl acetate; јасмин; иланг-иланг), анисалдехид (anisaldehyde; анис - *Pimpinella anisum*).

2.3.4. Алифатични деривати

Алифатични деривати - праволанчани угљоводоници, алдехиди, алкохоли и масне киселине - потичу углавном из разградње/продужења масних киселина и из деградације терпена. Утичу на растварачка својства и кинетику ослобађања сложенијих терпеноида (Husnu Can Baser & Buchbauer, 2009). Истовремено су и носиоци препознатљивих мирисних нота ("зелено" 1-хексанола, цитрусна свежина нонанала, кремасте ноте палмитинске киселине) и корисни маркери аутентичности/оксидативне деградације у јестивим уљима.

2.3.4.1. Угљоводоници, алдехиди, алкохоли и масне киселине

Угљоводоници: н-нонан (n-nonane; кора цитруса - *Citrus sinensis*), н-декан (n-decane; кедр - *Cedrus deodara*), н-додекан (n-dodecane; коријандер - *Coriandrum sativum*).

Алдехиди: хексанал (hexanal; зелени лист), нонанал (nonanal; грејпфрут - *Citrus × paradisi*), (E)-2-хексенал ((E)-2-hexenal; кора јабуке - *Malus domestica*), 2,4-декадиенал (2,4-decadienal; пржени коријандер; шафран - *Crocus sativus*).

Алкохоли: 1-хексанол (1-hexanol; "свеже покошена трава"), 1-октен-3-ол (1-octen-3-ol; "печурка"; чајно дрво - *Melaleuca alternifolia*), (E)-2-хексен-1-ол ((E)-2-hexen-1-ol; зелени чај - *Camellia sinensis*).

Масне киселине: палмитинска киселина (palmitic acid; *Helianthus annuus*), олеинска киселина (oleic acid; *Olea europaea*), линолна киселина (linoleic acid; *Carthamus tinctorius*).

2.3.5. Сумпорна једињења

Сумпорна летљива дају јединствену оштрину бројним кулинарским и лековитим биљкама. У етеричним уљима јављају се као органосулфиди (моно/ди/трисулфиди) настали из S-алкил-L-цистеин-сулфоксида, и као изотиоцијанати настали хидролизом глукозинолата (ензим мирозиназа). Примери: алил-и диалил-сулфиди из белог лука, диметил-трисулфид из лука и изотиоцијанати горушице, рена и водене крес (Husnu Can Baser & Buchbauer, 2009). Поред изразите ароме (ниски прагови мириса), показују антибактеријска/антифунгална и антиоксидативна дејства; изотиоцијанати активирају NRF2-KEAP1 путању.

2.3.5.1. Органосулфиди и изотиоцијанати

алил-сулфид (allyl sulphide; бели лук - *Allium sativum*), диалил-дисулфид (diallyl disulphide; бели лук), диметил-трисулфид (dimethyl trisulphide; црни лук - *Allium cepa*), алил-изотиоцијанат (allyl isothiocyanate; горушица - *Brassica juncea*; рен - *Armoracia rusticana*), бензил-изотиоцијанат (benzyl isothiocyanate; настурцијум - *Tropaeolum majus*), фенетил-изотиоцијанат (phenethyl isothiocyanate; водена крес - *Nasturtium officinale*).

2.3.6. Азотна једињења

Иако су често у траговима, азотна летљива снажно обликују простор арома. Индоли - индол и 3-метилиндол (скатол) - потичу из триптофана и ослобађају се у цветовима (нпр. јасмин) или микробном трансформацијом у животињским секрецијама (нпр. цвет). На суб-ppb нивоу, индол даје карактеристичну "белу цветну" мекоћу; нешто виши скатол - топле мошусне нијансе. Ароматични амини и њихови естри, нпр. метил-антранилат (methyl anthranilate) из цвета поморанце и β -фенетиламин (β -phenethylamine) из какаоа, настају декарбоксилацијом фенилаланина/естерификацијом и дају воћно-грожђасте, "чоколадне" или балзамичне тонове (Southwell & Núñez, 2023). Поред сензорике, индол/скатол испољавају антифунгална/антибактеријска дејства; метил-антранилат се користи као одвраћајуће средство за птице; β -фенетиламин може модулати неуротрансмитерске путање (Husnu Can Baser & Buchbauer, 2009; Southwell & Núñez, 2023).

2.3.6.1. Индоли и ароматични амини

индол (indole; јасмин - *Jasminum grandiflorum*), скатол \equiv 3-метилиндол (skatole; цвет - *Civettictis civetta*), метил-антранилат (methyl anthranilate; цвет поморанце - *Citrus × aurantium* fl.; "Конкорд" грожђе - *Vitis labrusca*), β -фенетиламин (β -phenethylamine; какао - *Theobroma cacao*).

2.4. Енкапсулација етеричних уља

Упркос предностима, физичко-хемијска осетљивост VCCs ограничава њихову примену у сложеним прехранбеним матрицама. Услови прераде као што су високе температуре, смично оптерећење или прооксидативни јони могу деградирати кључне терпеноиде, што доводи до смањења интензитета укуса и антимикуробне ефикасности (Lević et al., 2015).

Практична решења за превазилажење ове осетљивости испарљивих једињења:

1. **Наноенкапсулација и наноемулзије.** Субмикронске емулзије и нанокапсуле стабилисане прехранбено дозвољеним сурфактантима или полимерима побољшавају дисперзију у воденим системима, повећавају термичку отпорност и успоравају испаравање кључних терпеноида (Pateiro et al., 2021).
2. **Микроенкапсулација у биополимерним матрицама.** Технике попут сушења распршивањем, комплексне коацервације или јонског гелирања са зидним материјалима (арапска гума, малтодекстрин, алгинат, желатин) дају микрокапсуле које штите језгро испарљивих материја од термичког и механичког стреса, уз контролисано ослобађање (Lević et al., 2015; Nedovic et al., 2011; Parente et al., 2022).
3. **Ко-енкапсулација са антиоксидансима или синергистичким биоактивима.** Истовремена енкапсулација етеричних уља са антиоксидансима (нпр. аскорбинска киселина, токофероли) или другим активним једињењима у заједничкој матрици смањује оксидативну деградацију и може дати синергију у антимикуробном ефекту (Chawda et al., 2017).
4. **Липозомска енкапсулација.** Фосфолипидни везикули инкорпорирају хидрофобне терпеноиде у своје двослојеве, побољшавајући дисперзију у води, штитећи од оксидације и омогућавајући контролисано ослобађање у прехранбеним системима (Akram et al., 2023).
5. **Чврсте липидне наночестице (SLN) и наноструктурисани липидни носачи (NLC).** Колоидне честице састављене од чврстих или мешовитих чврстотечних липида обезбеђују висок капацитет утовара, смањују испарљивост и омогућавају продужено ослобађање испарљивих компонената (Naseri et al., 2015).
6. **Пикеринг-емулзије.** Емулзије стабилисане честицама погодним за храну формирају круте интерфејсне слојеве који физички штите испарљиве конститу-

енте и значајно повећавају оксидативну и термичку стабилност у односу на емулзије засноване на сурфактантима (Y. Yang et al., 2017).

7. **Активна амбалажа.** Филмови на бази биополимера са инкорпорираним ароматичним једињењима омогућавају споро, континуирано ослобађање током складиштења (Wicochea-Rodríguez et al., 2019).
8. **"Паметни" системи испоруке.** Носачи осетљиви на стимулусе ослобађају VCCs на основу окидача као што су рН или температура (Fleige et al., 2012).
9. **Инклузиони комплекси са циклодекстрином.** Формирање комплекса домаћин-гост са α -, β -или γ -циклодекстрином енкапсулира терпеноиде у шупљинама циклодекстрина (Cid-Samamed et al., 2022).

Ниједан појединачан метод не испуњава све индустријске захтеве. Сушење распршивањем је економично, али често даје ниско задржавање уља. Липозоми пружају јаку заштиту, али могу бити нестабилни у киселим и сланим срединама. Инклузиони комплекси са циклодекстрином побољшавају растворљивост, али понекад ослобађају испарљиве материје сувише споро за ефикасну антимицробну акцију (Majeed et al., 2015).

Поред утврђених техника капљања и електростатичне екструзије, појављују се нови приступи за алгинатну енкапсулацију у облику куглица етеричних уља. Прво, микрофлуидичка пико-инјекција омогућава гелацију (Ca^{2+}) без хелатора на чипу унутар капљица и даје високо монорасподељене алгинатне микрогелове уском распонном величине (Ahmed & Stokke, 2021). Друго, термоконтролисана микрофлуидичка спољна гелација користи желатин као жртвени, на температуру осетљив адитив да би спречила запушење на чипу, а истовремено производила уједначене алгинатне микросфере изван чипа (S. Chen et al., 2024). Треће, облоге мрежа метал-фенола састављене од танинске киселине и (Fe^{3+}) на наночестицама од епсилон-полилизина и пектина оптерећених етеричним уљем обезбеђују рН-одзивно ослобађање и појачано антибактеријско дејство, што указује на баријерне омотаче нове генерације за очување хране (Zhao et al., 2024).

У овој дисертацији алгинат је изабран као матрица за енкапсулацију ради смањења испарљивости и нестабилности етеричних уља - због свог GRAS статуса (ECFR, 1982), биокомпатибилности и погодности за прехранбене примене. Алгинат омогућава благе, водене услове и ионотропно гелирање помоћу јона калцијума на собној температури, чиме се умањује термичка деградација испарљивих терпеноида (Hu et

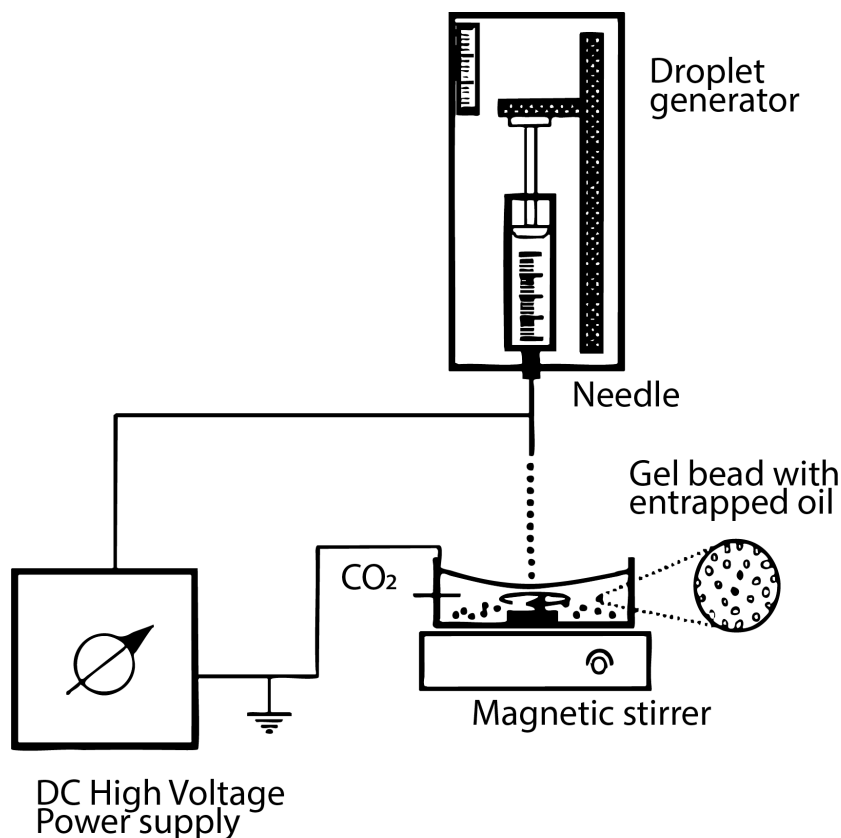
al., 2021). Постижу се високе ефикасности енкапсулације (60-90%) за хидрофобна етерична уља, уз потискивање испаравања током прераде и складиштења (Soliman et al., 2013). Поред тога, алгинатне куглице показују рН-одзивно бубрење и контролисано ослобађање: стабилне су у киселим срединама, а ослобађање се појачава у интестиналним условима (L. Wu et al., 2024). Те особине, уз биоразградивост и ниску цену, чине алгинат широко прихваћеним и ефикасним носачем за енкапсулацију испарљивих једињења (Lević et al., 2022; Nedović et al., 2013).

Неколико техника - гравитационо капљање/екструзија млазницом, вибрационо прилинг-распршивање, резање млаза, коаксијални проток ваздуха/атомизација ротирајућим диском, микрофлуидичко генерисање капљица, електропрскање и високонпонска електростатична екструзија - може производити алгинатне куглице. Међу њима се електростатична екструзија издваја комбинацијом благе водене прераде и прецизне контроле распада капљица помоћу електричног поља. Овом техником добијају се готово уједначене сферичне куглице пречника $\approx 300-1000 \mu\text{m}$ у широком опсегу вискозности (Hosseini et al., 2013; Lević et al., 2015; L. Wu et al., 2024). Недавне студије показују да електростатична екструзија алгинатних емулзија може задржати 59% испарљивих материја уља коморача после лиофилизације, уз ефикасности енкапсулације $>50\%$ и капацитете утовара до 78% (Dobroslavić et al., 2024); може се добити и конзистентна величина куглица ($450 \mu\text{m}$) са 10% w/w етил-ванилина које задржавају аромат при симулираним условима прехранбене прераде (Manojlović et al., 2008).

Односи између мера деформабилности куглица (нпр. фактор сферичности, скупљање) и кинетике ослобађања испарљивих материја остају недовољно квантитативно описани (Yammine et al., 2024). Показано је да куглице неправилног облика услед лиофилизације убрзавају дифузију етеричних уља у поређењу са влажним куглицама; међутим, механизам тог ефекта је и даље нејасан (Gallo et al., 2020). Додатно, радови о електростатичној екструзији истичу потребу за оптимизацијом и састава носача и параметара процеса, како би се минимизовала деформација после сушења и побољшало задржавање испарљивих материја - што указује на потребу за сложенијим формулацијама изван базног система алгинат/етерично уље који је овде проучаван (Dobroslavić et al., 2024).

Да би се VCCs претворили у стабилне, потрошачима прихватљиве формулације, ова студија примењује електростатичну екструзију емулзија уља у води у калцијум-алгинатне куглице. Овај приступ спаја прехранбену безбедност алгината са благим условима који су неопходни за очување интегритета конституената етеричних

уља (Nedović et al., 2013). У процесу, емулзија се протискује кроз високонапонску млазницу, стварајући уједначене капљице које одмах гелирају при контакту са раствором калцијум-хлорида и тако ефикасно "заробљавају" уље у тродимензионалној јонској мрежи (Lević et al., 2015).



Слика 2.3. Припрема алгинатних гел-куглица са етеричним уљем електростатичном екструзијом (Manojlovic et al., 2006)

Креирање кинетички стабилне емулзије уља у води је суштинско за сваки процес енкапсулације заснован на екструзији. Студије указују да нејонски сурфактанти, попут Tween 80 у концентрацијама 0,5-1% (w/w), значајно снижавају интерфејсни напон без интеракције са јонима калцијума, што подстиче доследно формирање капљица (Majeed et al., 2015). Напони на млазници од 4-6 kV типично дају пречнике капљица 2-4 mm; прекорачење 6 kV може довести до стварања сателитских куглица и веће варијабилности величине (Lević et al., 2015). Купке за очвршћавање са 100-200 mM CaCl₂, током 5-15 min, оптимизују густину укрштања уз очуван интегритет површине куглица, а ефикасности енкапсулације често прелазе 85% (Holkem et al., 2016). Укратко, избор емулгатора, вискозности алгината, електростатичких услова и концентрације калцијума кључан је за добијање механички робусних куглица које задржавају испарљиве терпеноиде и омогућавају контролисано ослобађање - принципи који воде експериментални приступ изложен касније у тези.

2.5. Примена етеричних уља у очувању хране и фармацеутским формулацијама

Потражња за етеричним уљима и њиховим конституентима расте брже него што пољопривредна производња може да испрати. Традиционална производња природних једињења осетљива је на сезонске, географске и развојне факторе биљака, што отежава одржање конзистентног приноса, састава и биоактивности (Singh et al., 2020). Та варијабилност компликује формулацију, осигурање квалитета и регулаторну усаглашеност у фармацеутској, козметичкој и прехранбеној индустрији, те може условити реформулацију серија и више трошкове производње. Ипак, на тржишту већ постоји низ производа: антимикробне креме, мешавине за ароматерапију, козметичке формулације и конзерванси за храну. Често се ослањају на уље чајног дрвета, лаванде, нане или бергамота, цењених и због биоактивности и због прихватљивости код потрошача.

Пример је антисептичка крема са чајним дрветом, са стандаризованим садржајем терпинен-4-ола, намењена за мање посекотине, огреботине и уједе инсеката (Plantation, 2025). Други пример је спреј за јастук са лавандом и камилицом - мешавина етеричних уља за постељину, намењена ублажавању стреса и ароматерапији (Flower, 2025). Иако су сировине природно варијабилне, поједини произвођачи обезбеђују стандардан садржај активних једињења и циљану функционалност, чиме испоручују конзистентне комерцијалне формулације.

Када је реч о изолованим конституентима етеричних уља, фокус се често помера на појединачна биоактивна једињења - нпр. линалол, тимол или терпинен-4-ол - која се могу пречистити и користити самостално или као стандаризовани адитиви. Такви производи су одавно присутни у фармацеутици, личној нези и прехрани: ментол у топикалним аналгетицима и оралној нези, линалол/линалилацетат у парфемима и нези коже, еугенол у стоматологији. Еугенол-цинк-оксид цементи су индустријски стандард за привремене стоматолошке надокнаде (ISO 3107:2022 (International Organization for Standardization, 2022)). Природна једињења попут карвакрола (FL 04,031) и тимола (FL 04,006) налазе се на Јединственој листи ароматичних супстанци у оквиру Регулative (ЕЗ) бр. 1334/2008, што омогућава њихову употребу у храни и оралној нези широм ЕУ (European Commission, 2025). Ово се одражава и у свакодневним производима: Thymotabs Nature® нуди пастиле од тимијана са тимолом богатим екстрактима за болно грло, док је Thymospray® спреј за брзо ублажавање иритације грла (Laboratoires Tilman, 2025a, 2025b). Збирно, ови примери показују како се лабораторијски потврђена антимикробност преноси у стоматолошке мате-

ријале и ОТС препарате за грло.

Растући тренд је интеграција природних конзерванаса и антимикуробних агенаса у полимерне матрице. Тако су Peng и сарадници развили антимикуробне амбалажне филмове од агара, конач глуманана и карвакрола; филм са 2% карвакрола био је најделотворнији у очувању свежине и продужио је рок трајања замрзнуте пилетине са 5 на 9 дана, ефикасно контролишући *S. Typhimurium* (Peng et al., 2022).

2.6. Напредак биотехнологије за одрживу производњу биоактивних производа

Да би се задовољила растућа потражња за биљним биоактивима, уз очување аутохтоних врста, неопходан је напредак у биотехнологији. Недоследности у цени и квалитету биљних екстраката - због климатских екстрема, штеточина или конкуренције за земљиште - могу се ублажити увођењем генетички инжењерисаних микробних "фабрика ћелија" за производњу циљних молекула. Неколико успешних примера у Табели 2.1 илуструје како ферментација доноси сигурност снабдевања, стабилније цене и контролисан квалитет. Полусинтетички артемизинин из *Saccharomyces cerevisiae* већ амортизује глобално АСТ тржиште од осцилација у приносима *Artemisia annua* (В.-Х. Zeng et al., 2020). Артемизинин - сесквитерпен-лактон - камен је темељац АСТ терапија против *Plasmodium falciparum*. Међутим, екстракцију из *A. annua* отежавају низак/варијабилан принос и сезонскост. Ферментација квасца за прекурсор (дихидроартемизинска киселина) обезбеђује одржив, скалабилан и сезонски независан извор, држећи лек доступним и приступачним.

Ферментативни процес компаније Cargill за ребаудиозиде D и M раздваја снабдевање стевиол-гликозидима од поља и сезоне (Xu et al., 2022). Ови високо пожељни гликозиди (200-350× слађи од сахарозе, са чистијим "шећероликим" профилем од Reb A) присутни су у листу у траговима; ферментација у инжењерисаном квасцу обезбеђује стабилно, скалабилно и исплативо снабдевање, независно од пољопривредних ограничења.

Потпуно биосинтетички канабиноиди (CBD, CBG и ређи аналози) произведени у квасцу обезбеђују конзистентан, фармацеутски чист материјал за епилепсију и бол - без агрономског "отиска" култивације канабиса (Luo et al., 2019). Тако се добијају високо чисти канабиноиди у великом обиму, заобилазећи правна и производна ограничења традиционалне екстракције.

Микробни путеви ка гинзенозиду Compound K, ресвератролу и атаксантину сада обезбеђују количине од килограма до тона за нутрацеутику, здравог старења и аква-

културу, са уједначеним профилима чистоће (Ibrahim et al., 2021; Nan et al., 2020; Zhu et al., 2022). Слично, новије платформе постижу грам-по-литар титрове сложенијих фенолпропаноида (куркумин, кемпферол, нарингенин) и антоцијанина из боровнице уз динамичку контролу пута и појачано снабдевање прекурсорима у квасцу или *E. coli* (Gomes et al., 2024; Mei et al., 2024; Rainha et al., 2024; Tartik et al., 2023).

Оријентисано ка мирисима, пачулол - сесквитерпенски алкохол и главна мирисна компонента уља пачули - данас се производи у платформи квасца са појачаним мевалонатним путем и инкорпорира у ароматичне и дермокозметичке мешавине (Тао et al., 2024). Микробна ферментација нуди конзистентан, скалабилан и одржив извор високочистог пачулола, стабилишући цене и снабдевање, уз смањену зависност од пољопривреде.

CRISPR/Cas алати служе за брисање конкурентских реакција, уметање мулти-kb оперона и фино подешавање јачине промотора (Horwitz et al., 2015; Јакоћиūнас et al., 2015). У платформама фенолпропаноида, CRISPRi је преусмерио малонил-CoA ка синтези стилбена/флавоноида у *E. coli* (J. Wu et al., 2017). У рути еугенола, Hanko и сар. постигли су високе титрове (1,61 mM; 264 mg L⁻¹) путем пута зависног од карбоксилне киселине редуктазе и балансирања флукса (Hanko et al., 2023); за румаринску киселину пријављени су титрови > 5 g L⁻¹ (L. Wang et al., 2023), а преглед (J. Li et al., 2024) истиче CRISPR-вођено балансирање флукса у платформама фенола.

Комплементарне стратегије укључују суспензионе културе биљних ћелија и експлоатацију ендофита, али метаболичко инжењерство у добро карактерисаним домаћинима тренутно је најзрелија скалабилна рута (Manina & Forlani, 2023). У поређењу са теренском култивацијом, ферментација заснована на шећеру омогућава целогодишњу употребу постојећих капацитета, уз мањи угљенични отисак (при обновљивим изворима угљеника) и модуларне кораке дораде (касностепенна хидроксилација/гликозилација). Скупно, студије случаја у Табели 2.1 показују да континуирано истраживање природног хемијског простора, у комбинацији са скалабилном микробном производњом, представља одржив пут ка производњи биоактивних фитохемикалија.

Табела 2.1. Комерцијално скалабилна производња биљних биоактивних једињења у генетски модификованим микроорганизмима (2015-2025)

Фитохемикалија	Здравствени фокус	Инжењерисани микроб и пут	Комерцијални статус	Кључне студије
Артемизинин (DHAА, прекурсор)	Антималаријски	<i>S. cerevisiae</i> са MVA и DHAА модулима	Sanofi/PATH АСТ комбинација	(B.-X. Zeng et al., 2020)
Канабиноиди (CBD, CBG)	Епилепсија, бол, добробит	Канабиноидни пут у квасцу (индукција галактозом)	Hyasynth Bio, пилот 2020	(Luo et al., 2019)
Стевиол-гликозиди (Reb D/M)	Заслађивач без шећера	Дитерпенски пут + UGT у квасцу	<i>EverSweet</i> ® (2018)	(Xu et al., 2022)
Гинзенозид Compound K (СК)	Антиинфламаторни нутрацеутик	Квасац - тритерпенски скелет; појачање UDP-глукозе	>1 g L ⁻¹ СК (2020)	(Nan et al., 2020)
Ресвератрол	Кардиометаболно, здраво старење	Фенилпропаноидни пут у квасцу/ <i>E. coli</i>	<i>Veri-te</i> ™ (2017)	(Ibrahim et al., 2021)
Астаксантин	Антиоксиданс, пигмент за храну	Итеративни пут у <i>Y. lipolytica</i> (3,3 g L ⁻¹)	Храна/додатак исхрани (2023)	(Zhu et al., 2022)
Куркумин	Антиинфламаторно; здравље црева	<i>E. coli de novo</i> ; појачање малонил-CoA	Пилот GRAS досије (2025)	(Rainha et al., 2024)
Кемпферол / кверцетин	Антиоксиданс, антивирусно	Квасац као фабрика флавонола (0,95 g L ⁻¹)	Conagen, B2B (2022)	(Tartik et al., 2023)
(2S)-нарингенин	Прекурсор флаванона	Оптимизован пут у <i>E. coli</i> (0,77 g L ⁻¹)	F&F састојак (2024)	(Gomes et al., 2024)
Антоцијанини (C3G итд.)	Природно бојило; васкуларно здравље	10-гени пут боровнице у ко-култури квасца	Прва индустријска производња у тонама (2025)	(Mei et al., 2024)
Розмаринска киселина	Антимикробно; козметика	Кафеични и салвијански модули у <i>E. coli</i> (5,8 g L ⁻¹)	Регулаторно одобрење у козметици (2023)	(L. Wang et al., 2023)
Пачулол	Мирис; антисептик	Квасац са појачаним мевалонатним путем (1,6 g L ⁻¹)	Ароматичне/козметичке мешавине (2024)	(Tao et al., 2024)

2.7. *Salmonella* Typhimurium: епидемиологија и стратегије контроле

Идентификовано је више од 2500 серотипова рода *Salmonella*, али мање од стотину узрокује већину обољења код људи (CDC, 2024). Табела 2.2 показује да NTS доводи до приближно 69 000 смртних исхода годишње (2021), што је сврстава међу водеће узрочнике смрти од инфективних болести на глобалном нивоу. Када се томе дода процењених 51 000 смртних исхода од гастроентеритиса повезаног са NTS (2019) (Troeger et al., 2019) и још 69 000 смртних случајева од инвазивне NTS бактерије (2021) (He et al., 2025), укупан годишњи терет смртности од NTS приближава се оптерећењу које изазивају други главни патогени. У САД се процењује око 1,35 милиона обољења и 420 смртних исхода годишње услед инфекција *Salmonella*, при чему је Typhimurium доследно међу три најзаступљенија серовара (Shaji et al., 2023). Европски One Health извештај о зоонозама за 2023. ставља *Salmonella* Typhimurium (укључујући монофазну варијанту) на друго место као узрок људске салмонелозе (18,4% потврђених случајева) (EFSA & ECDC, 2024; UK Health Security Agency, 2024). У подсахарској Африци, инвазивна NTS је 2017. проузроковала приближно 622 000 случајева и 68 000 смртних исхода (Steele, 2019).

Табела 2.2. Годишњи број смртних случајева од одабраних заразних болести у свету

Болест	Смртни случајеви (n)	Референтна година	Референца
Туберкулоза ^a	1,30 милиона	2022	(WHO, 2023a)
ХИВ/СИДА ^b	630 000	2023	(UNAIDS, 2024)
Маларија	608 000	2022	(WHO, 2023c)
Тифусна и паратифусна грозница ^c	110 000	2019	(WHO, 2023b)
Инвазивне нетифоидне салмонеле (iNTS) ^d	69 000	2021	(He et al., 2025)

^a Узрочник: *Mycobacterium tuberculosis*; често се користи и скраћеница ТБ (ТВ).

^b ХИВ = вирус хумане имунодефицијенције; СИДА = синдром стечене имунодефицијенције (HIV/AIDS).

^c Узрочници: *Salmonella enterica* serovar Typhi и Paratyphi (TF/PF).

^d Нетифоидне салмонеле (углавном *S. Typhimurium* и *S. Enteritidis*); овде је реч о инвазивној болести (iNTS).

Главни резервоари су живина, свиње и говеда. Хоризонтални пренос на фармама, вертикални пренос преко инкубационих јаја и контаминација у млиновима за храну

доприносе колонизацији јата (Shaji et al., 2023). Епидемије преносиве храном повезују се са широким спектром намирница, од живинског и свињског меса до свежих производа, па чак и производа од чоколаде дистрибуисаних у више од 100 земаља (WHO, 2022). Ниска инфективна доза за осетљиве групе ($< 10^2$) CFU додатно наглашава потребу за строгом контролом дуж целог ланца хране.

MDR сојеви *Typhimurium* - нарочито монофазна варијанта са резистенцијом на ампицилин, стрептомицин, сулфонамиде и тетрациклин - све чешће се бележе у Европи, Северној Америци и Азији (EFSA & ECDC, 2024; Shaji et al., 2023). Резистенција на флуорохинолоне и цефалоспорине треће генерације такође је у порасту, ограничавајући терапијске опције за инвазивне облике болести (Cuypers et al., 2018). У 2024. СЗО је *Salmonella* spp. резистентне на флуорохинолоне задржала на листи приоритетних патогена за развој нових антимикуробних лекова (WHO, 2024).

Камен темељац контроле чине интегрисане биосигурносне мере на фармама (строга хигијена објеката, систем истовременог увођења и извођења јата, *all-in/all-out*, контрола штеточина), вакцинација матичних и носиљских јата и препарати за конкурентну ексклузију. Живе атенуисане и инактивисане вакцине усмерене на *Typhimurium* и *Enteritidis* смањују цекалну колонизацију и контаминацију јаја, иако покривеност појединих серотипова остаје непотпуна (Boltz et al., 2023). У производњи хране примењују се термичке обраде (пелетирање, кондиционирање) и адитиви као што су органске киселине, масне киселине средњег ланца или једињења која ослобађају формалдехид; ове интервенције уобичајено смањују присуство *Salmonella* у храни за животиње за 1-2 лог јединице (Obe et al., 2023).

Даље низ ланац, примена НАССР система, деконтаминација површине трупова (органске киселине, перасирћетна киселина), термичка обрада, обрада високим притиском и зрачење представљају одобрене мере које, уз правилну валидацију, могу постићи редукције > 5 логаритама. Континуирано праћење серотипова током прераде омогућава процену ефикасности интервенција и прилагођавање антимикуробних испирања (Obe et al., 2023).

Коктели бактериофага усмерени на *S. Typhimurium* донели су 1-3 логаритма редукције на труповима бројлера у комерцијалним испитивањима и у САД су доступни као GRAS процесна помоћна средства (Atterbury et al., 2020; Food & Administration, 2016). Биљни антимикуроби и етерична уља (нпр. тимол, карвакрол) испитују се као адитиви у храни или спрејеви за површине; ефикасност им варира по производу и може бити ограничена сензорским факторима.

И поред бројних интервенција, *S. Typhimurium* остаје водећи узрок салмонелозе и наставља да стиче виши степен антимикробне резистенције. Најделотворнији је интегрисан, мултибарјерни приступ - од вакцинације матичних јата до постжетвене деконтаминације. Кључни су континуирани надзор и усвајање нових алата као што су фаг-биоконтрола и подацима вођено праћење циркулишућих серотипова.

2.8. *In silico* методе за откривање биљних антимикробних једињења

Спојем савремених рачунарских метода и традиционалних извора знања, откривање лекова се помера од приступа "покушај-и-грешка" ка доследној, подацима вођеној методологији. То омогућава бржу идентификацију и рационалан дизајн перспективних молекула, уз ефикасније доношење одлука.

Рачунарски приступи - пре свега технике вештачке интелигенције (енг. *artificial intelligence*, AI), као што су машинско учење (енг. *machine learning*, ML) и дубоко учење (енг. *deep learning*, DL) - значајно су унапредили развој лекова кроз бољу анализу података и предиктивно моделирање. Паралелно, обogaћене базе природних производа олакшавају шире AI истраживање. Употреба AI у откривању лекова из природних извора убрзава проналажење делотворних једињења и открива нове молекуле који би традиционалним методама могли остати непримећени (Gangwal & Lavecchia, 2025).

Савремени предиктивни токови за испитивање фитохемикалија користе графичке неуронске мреже и самонадзиране "молекулске језичке" моделе. Напредне GNN архитектуре, нпр. MFAGCN, интегришу више отисака путем механизма пажње, подижући тачност на великим, курираним скуповима података биљка-једињење и истичући подструктуре кључне за биоактивност (Lin et al., 2025b). Паралелно, супервизована мрежна анализа традиционалних фармако-ботаничких рецептура (нпр. ајурведске "Јати" формуле) у комбинацији са класификаторима случајне шуме или градијентног подизања указала је на десетине до тада неиспитаних антибактеријских биљака, показујући како се етнофармакологија може проширити помоћу ML (Gao et al., 2025). Већина радова обучава моделе на отвореним ресурсима као што су NPASS, ChEMBL-NP или COCONUT и примењује их у оквирима RDKit + DeepChem, што олакшава транспарентно поређење и брзо усвајање (X. Zeng et al., 2018).

Генеративни модели се користе не само за класификацију постојећих хемотипова већ и за стварање нових, "биљкама налик" једињења. Трансформерски модел NI-MO, на пример, гради молекуле из фрагмената природних производа уз уважавање стереохемије, дајући аналоге који се лакше синтетишу, а задржавају кључне фито-

хемијске одлике (Shen et al., 2024). Шири прегледи показују да се варијациони ауто-енкодери, дифузиони модели и појачано учење рутински спарују са предикторима антибактеријске активности (АА), планерима ретросинтезе и *in silico* ADMET филтерима, како би се у једном GPU пролазу генерисале библиотеке спремне за претрагу. Хибридне петље - у којима предиктивна GNN усмерава генеративни модел - убрзавају откривање биљних антимикуробних једињења (Gangwal & Lavecchia, 2025).

Скупови података засновани на хемијском саставу етеричних уља покрећу читав спектар ML задатака: од откривања и контроле квалитета до оптимизације процеса. Класификатори засновани на графичким уграђивањима (*graph embeddings*) изграђеним из интеракционих мрежа 270 парова етеричних уља већ могу да предвиде синергистичке антибактеријске комбинације са ROC-AUC > 0,80 - далеко пре лабораторијске потврде (Yabuuchi, Hayashi, Shigemoto, Miyazaki, et al., 2023). Брзи метаболички "отисци", добијени из GC-MS или FTIR спектра и анализирани ансамбл методама (случајне шуме, XGBoost), у стању су да за мање од пет минута на стоним рачунару разликују аутентична уља родова *Mentha* и *Ocimum* од фалсификата биљним уљима (Ch et al., 2025). Модели усмерени на компоненте додатно побољшавају могућности: вишеслојне неуронске мреже са унапредним пролазом, обучене на >150 серија дестилација, тачно предвиђају три примарне испарљиве компоненте у уљу *Laurus nobilis* из процесних променљивих и сирових хроматограма, омогућавајући прилагођавање дестилационих параметара у реалном времену (Uzun & Saltan, 2024).

Морганов кружни отисак, уведен 1965. као CAS алгоритам за нумерисање атома, постао је темељ за ML засновано на структури и спада међу водеће методе за почетну идентификацију водећих активних једињења (J. Yang et al., 2022). Током последње деценије, модели који користе кружне отиске - проширене отиске конективности (ECFP) - били су кључни у повезивању хемијске структуре са биолошком активношћу. ECFP код представља тополошко окружење сваког атома бинарним вектором фиксне дужине. Генерација је итеративна: атомима се најпре доделе идентификатори (елемент, валенца, наелектрисање итд.), који се затим у свакој итерацији конкатенишу са идентификаторима суседа у радијусу 2-3 везе и хеширају у нове идентификаторе. По достизању задатог радијуса, јединствени идентификатори пројектују се на позиције бита; бит је 1 ако дата подструктура постоји. ECFP са радијусом 2, на пример, обухвата окружења до четири везе, кодирајући мотиве попут хидроксилованих ароматичних прстенова (фенолни терпеноиди) и бицикличних оквира монотерпена унутар 1024-или 2048-битних вектора. Због компактности и информативности, ECFP је постао стандард у 2D-QSAR-у, *ligand-based* виртуелном скринингу

и *in-silico* предвиђањима (Riniker & Landrum, 2013; Rogers & Hahn, 2010).

У домену испарљивих смеша, ECFP је поједноставио анализу хемијског простора сунцокретових терпеноида (He et al., 2022a). Тамо је 104 SMILES низова добијених GC-MS-ом кластеровано и доковано помоћу 1024-битних Морганових вектора уз t-SNE пројекцију. Када се GC-MS пикови из серија етеричних уља повежу са структуром, свака компонента може се претворити у Морганов бит-низ; ти низови се организују у матрицу узорак-бит, што омогућава дрволиким и логистичким класификаторима да предвиде ботаничко порекло, открију фалсификовање или процене биоактивност (Lagerholm et al., 2025).

2.9. Празнине у знању и истраживачке прилике

Широка доступност рачунарске моћи омогућила је систематичне прегледе великог броја радова о антимикуробним ефектима етеричних уља. Ипак, интеграција података из различитих извора захтева опрез: различити протоколи доводе до несагласја у мерним јединицама и начину извештавања, што може унети неизвесност приликом обуке ML модела (Hulankova, 2024). Зато се многе студије ослањају на мале, лабораторијски специфичне скупове (60-100 уља), па су њихови налази ограничени на конкретне услове (de O. Miranda et al., 2025). Студија која намерава да обједини резултате више лабораторија мора, сходно томе, да усклади различите начине извештавања - и у квантитативном и у интерпретативном смислу.

Преглед Scopus, PubMed и Google Scholar база (јануар 2025) открио је упадљив недостатак радова који применом ML мапирају хемијске структуре етеричних уља на антибактеријску ефикасност према *Salmonella enterica*. Yabuuchi и сар. (Yabuuchi, Hayashi, Shigemoto, Fujiwara, et al., 2023) показали су да ML алгоритми могу издвојити биоактивне конституенте уља активних према *Staphylococcus aureus* (нпр. верперил-алкохол, дафноретин, ксантохумол). Artini и сар. (Artini et al., 2018) применили су ML за процену утицаја уља на формирање биофилма *Pseudomonas aeruginosa*, идентификујући естрагол и феландрал као примарне инхибиторе, док су d-лимонен и пулегон били повезани с појачаним биоформирањем. Недавни рад Barros de Menezes и сар. (Barros de Menezes et al., 2022) илуструје примену ML и у проналажењу анти-протозоарних компоненти из етеричних уља кубанских биљака.

Иако је објављено преко десет хиљада студија које показују да етерична уља имају антимикуробна и антиоксидативна својства, мало њих се бави практичним, примењивим формулацијама. Највећи део лабораторијских радова фокусира се на МИК вредности, док стабилност, контролисано ослобађање и сензорски ефекти често остају

у другом плану (Fernandes et al., 2024; Reis et al., 2022). Тренутно је сушење распршивањем доминантна индустријска технологија енкапсулације, док су новије технике формирања куглица (електростатична/млазна екструзија) углавном у пилот-фази. Екструзија, међутим, заслужује више пажње: безрастворачка је, економична, лако се аутоматизује и даје уједначене алгинатне куглице при брзинама погодним за континуирану производњу (Emon et al., 2025). Студије случаја показују да електро-статична екструзија може сачувати близу 60% испарљивих материја уља коморача после лиофилизације, уз ефикасности енкапсулације >50% (Dobroslavić et al., 2024). Стога је прелаз са лабораторијске ефикасности на скалабилне системе испоруке од пресудног значаја за претварање биоактивности етеричних уља у комерцијално одрживе конзервансе.

Да би се ове празнине адресирале, дисертација је осмишљена у две фазе. Прво се спроводе стандардне GC-MS анализе састава, одређивање МИК/МБК и DPPH/ABTS антиоксидативни асај за четири комерцијална етерична уља: *Lavandula angustifolia*, *Citrus bergamia*, *Melaleuca alternifolia* и *Mentha piperita*. Ови резултати се спајају са подацима састав-биоактивност из литературе у скуп од 171 уља. Сваки конституент се кодира као 2048-битни Морганов отисак, а логистичка регресија се прилагођава за класификацију антимикуробне активности (АА) према *Salmonella enterica* серовару Турхинијум и за рангирање подструктура које највише доприносе активности. У другој фази, уља се енкапсулирају у калцијум-алгинатне куглице електро-статичном екструзијом; ефикасност енкапсулације, задржавање испарљивих материја и морфологија куглица бележе се као функције процесних променљивих. Коначни исход је модел структура-активност за анти-*Salmonella* дејство и протокол енкапсулације погодан за континуирану производњу конзерванаса на бази етеричних уља.

3. Материјали и методе

3.1. Експерименталне методе

3.1.1. Етерична уља

Етерична уља лаванде (*Lavandula angustifolia* Mill.), чајног дрвета (*Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel), бергамота (*Citrus bergamia* Risso & Poit.) и нане (*Mentha × piperita* L.) набављена су од компаније Aura Casia (Norway, IA, USA).

3.1.2. GC-MS анализа

Хемијски састав сваког уља анализиран је GC-MS методом. Анализе су спроведене на систему HP G 1800C Series II GCD (Hewlett-Packard) са капиларном колоном HP-5MS дужине 30 m, унутрашњег пречника 0,25 mm и дебљине филма 0,25 μ m, што обезбеђује ефикасно раздвајање испарљивих компоненти. Стационарну фазу колоне чини 5% дифенил / 95% диметилполисилоксан.

Као носећи гас коришћен је хелијум (1,0 mL min⁻¹). Температуре ињектора и трансфер-линије биле су 260 °C како би се обезбедило потпуно испаравање без термичке деградације. Електронска јонизација вршена је на 70 eV. Масени спектри снимани су у опсегу од 40 до 450 m/z у SCAN моду.

За припрему узорака 20 μ L уља растворено је у 2 mL етанола; убризгавано је 1 μ L у split-режиму 1:10. Идентификација компоненти заснована је на поређењу масених спектра и ретенционих индекса (RI) са референтним библиотекама и подацима из литературе, чиме су осигурани тачност и репродуктивност (Adams, 2007; Joulain et al., 2001).

3.1.3. Електростатска екструзиона енкапсулација у алгинатним матрицама

Захваљујући нетоксичности, биоразградивости и биокомпатибилности, алгинати су широко примењени у биомедицини, заштити животне средине, индустрији и прехранбеном сектору. У овом раду куглице са етеричним уљима добијане су методом екструзије емулзије.

Припремљен је 2% (m/V) раствор натријум-алгината (Carl Roth, Karlsruhe, Germany) у дестилованој води и мешан магнетном мешалицом (300 rpm; Isolab Laborgeräte GmbH, Eschau, Germany). Етерично уље је инкорпорирано у алгинат у масеном уделу 4%, а емулзија стабилисана хомогенизатором (Ultra-Turrax T25; IKA-Labortechnik, Staufen, Germany) при 10 000 rpm током 5 min.

Емулзија алгинат/етерично уље затим је екструдирана кроз тупу иглу од нерђају-

ћег челика (пречник 1,1 mm) у гелујући раствор калцијум-хлорида, уз шприц-пумпу (Model 11; Harvard Apparatus, Cambridge, MA, USA) при 40 mL h^{-1} . Сферичне капљице формирале су се под дејством електростатског поља (6 kV; VAR V1, Nisco Encapsulation Unit, Zürich, Switzerland) и јонске гелације.

За довршетак формирања, куглице су држане у раствору калцијум-хлорида (Acros Organics, Morris Plains, NJ, USA) 60 min, затим испране дестилованом водом (30 mL воде на 0,6 g куглица) и чуване на собној температури.

3.1.3.1. Лиофилизација енкапсулата етеричних уља

Кључни изазов приликом сушења алгинатних куглица са етеричним уљем јесте очување уља, које је знатно испарљивије од воде; у литератури је описано више стратегија за минимизацију губитака (Kalušević et al., 2012; Lević et al., 2015; Nedovic et al., 2011). Куглице су лиофилизоване у стоном лиофилизатору (Alpha 1-4 LSC-plus, Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz, Germany) по следећем режиму: -25°C при 7,6 Pa током 22 h, затим 20°C при 7,6 Pa током 2 h, а потом стабилизација на 25°C под истим притиском још 2 h. Након циклуса сушења, куглице су одмах складиштене у чврсто затвореним бочицама како би се спречила реадсорпција влаге и очувала интегритет енкапсулираних компоненти.

3.1.3.2. Морфолошка анализа

Морфологија куглица процењена је стерео-зум микроскопом SMZ18 (Nikon, Coventry, UK) са камером високе резолуције (SHR Plan Apo $1\times$ WD60; Nikon), што је омогућило прецизна мерења димензија. Пречник сваке куглице израчунат је као просек највеће (d_{\max}) и најмање (d_{\min}) димензије (Lević et al., 2015). Одступање од идеалне сфере квантификовано је фактором сферичности:

$$\text{SF} = \frac{d_{\max} - d_{\min}}{d_{\max} + d_{\min}},$$

где су d_{\max} и d_{\min} највећа и најмања измерена димензија куглице; вредност $\text{SF} = 0$ одговара идеалној сфери. Скупљање услед сушења изражено је фактором

$$k_{\text{SF(drying)}} = \frac{d_c - d_{c(\text{dry})}}{d_c},$$

где су d_c и $d_{c(\text{dry})}$ пречници влажних, односно лиофилизованих куглица. Анализе су урађене у три понављања и приказане као средња вредност \pm стандардна девијација. Статистичка значајност процењена је једнофакторском ANOVA; сматрало се значајним када је $p \leq 0,05$.

3.1.4. Антимикробни тест

Антимикробна активност етеричних уља испитивана је *in vitro* на чистој култури *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 микродилуционом методом у бујону (*broth microdilution*), уз мање измене у односу на метод описан у литератури (Klancnik et al., 2010). Почетни раствори уља припремљени су на $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ у 10% диметилсулфоксиду (DMSO, Centrohem). На микротитарским плочама тестиране су концентрације $0,078\text{-}10 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Бактеријска суспензија добијена је инкубацијом преко ноћи на 37°C у Mueller-Hinton бујону (HiMedia, Mumbai, India), након чега је инокулум стандардизован на приближно 10^5CFU mL^{-1} . Као индикатор раста додавана је натријумова со резазурина ($6,75 \text{mg mL}^{-1}$ у дестилованој води; Sigma-Aldrich, Merck, St. Louis, MO, USA). У сваку дупљу додавано је по $50 \mu\text{L}$ бактеријске суспензије уз одговарајућа разблажења уља. Позитивне контроле садржале су само бактеријску суспензију, а негативне контроле само разблажења узорка без микроорганизама.

Плоче су инкубирале 24 h на 37°C . Минимална инхибиторна концентрација (МИК) дефинисана је као најнижа концентрација уља без видљивог раста. Минимална бактерицидна концентрација (МБК) одређена је субкултивацијом садржаја из бунарића који одговарају утврђеној МИК на Mueller-Hinton агар (HiMedia) и накнадном инкубацијом 24 h на 37°C ; концентрација без раста на агару означена је као МБК.

3.1.5. Антиоксидативни тестови

Антиоксидативни тестови мере способност хватања слободних радикала и/или редукуиону моћ узорка богатих полифенолима, флавоноидима и другим редокс-активним компонентама. Већина протокола почива на механизму преноса једног електрона (SET) или преноса водониковог атома (HAT). У SET методама (DPPH•, FRAP) обојени радикал или метални комплекс се стехиометријски редукује антиоксидантом, што доводи до пада апсорбансе (DPPH• на 517nm , FRAP на 593nm) (Benzie & Strain, 1996; Brand-Williams et al., 1995). HAT тестови (нпр. ORAC) мере способност узорка да конкурише флуоресцентној проби за пероксил радикале генерисане термичким разлагањем ААРН; резултати се изражавају као еквиваленти Тролокса (Prior et al., 2005). ABTS•⁺ тест комбинује карактеристике оба механизма и погодан је за хидрофилне и липофилне узорке у широком рН опсегу (Re et al., 1999). У овој студији примењени су DPPH и ABTS.

3.1.5.1. DPPH активност хватања слободних радикала

Стабилни радикал 2,2-дифенил-1-пикрилхидразил (DPPH) редукује се донаторима водоника из узорка, што се прати падом апсорбансе. За тест је мешано $0,2 \text{mL}$ узорка

уља са 2,8 mL етанолног раствора DPPH (Sigma-Aldrich Chemie, Merck, Steinheim, Germany). Етанол (Vrenje Spiritana, Београд, Србија) коришћен је као бланк. Апсорбанса је мерена на 525 nm после 40 min инкубације на собној температури у мраку, UV-Vis двоканалним спектрофотометром (HALO DB-20; Dynamica GmbH, Salzburg-Mautweg, Austria). Резултати су изражени као еквиваленти Тролокса (mmol TE L^{-1}).

3.1.5.2. ABTS капацитет хватања радикала

ABTS катјон-радикал генерисан је реакцијом воденог ABTS (Sigma-Aldrich Chemie, Merck) са калијум-персулфатом (Centrohem, Београд, Србија) и инкубацијом у мраку најмање 12 h (Re et al., 1999). Након калибрације апсорбансе матичног раствора на $(0,70 \pm 0,02)$ на 734 nm (фосфатни пуфер), 30 μL разблаженог узорка мешано је са 3 mL ABTS раствора и апсорбанса мерена након 10 min на 734 nm (HALO DB-20). Антиоксидативна активност неенкапсулираних уља процењена је пре и после 12 месеци складиштења; активност алгинатних куглица са уљима мерена је након истог периода. Сва мерења рађена су у три понављања, са Тролоксом као стандардом, а резултати изражени у mmol TE L^{-1} уља.

3.2. Рачунарске методе

Савремени, на подацима засновани поступци и AI све чешће се користе за анализу састава и биоактивности етеричних уља. Lin et al. (2025a) представили су MFAGCN, оквир који комбинује три скупа молекулских отисака (MACCS, PubChem, ECFP) са графичким информацијама о функционалним групама; механизам пажње додељује адаптивне тежине околним атомима и побољшава предикцију. Вишедименциони скупови података добијени високорезолуционом GC-MS анализом деконволуишу се хемометријом (PCA, PLSR) ради дискриминације хемотипова и повезивања маркерских терпеноида са биоактивношћу (Zhang & Chen, 2025). Паралелно, доковање лиганд-рецептор и *in silico* ADMET радни токови служе за претскрининг главних конституената пре лабораторијске валидације (Nguyen et al., 2024). На тим основама, у овој студији помоћу модела машинског учења (ML) анализирамо анти-*Salmonella* активност етеричних уља, повезујући структурне мотиве са делотворношћу у контексту растуће резистенције.

3.2.1. Прикупљање података

Прорачуни су рађени у Python-у 3.9 (python.org) у Jupyter Notebook-у 6.5.6. Подаци о хемијском саставу уља преузети су из базе отвореног приступа (essentialoils.org). Одабране биљке су уобичајени извори уља од значаја у ботаници и фармакологији. Преглед литературе идентификовао је 87 узорака са израженом анти-*S. Typhimurium* активношћу ($\text{МИК} < 10 \mu\text{g mL}^{-1}$ или зона инхибиције при $\leq 1 \mu\text{g}$), док је преосталих

84 показало минималну/никакву активност или није било пријављено.

Како уља често садрже више од 100 компоненти (многе у траговима), у анализу су укључене само супстанце са квантитативним значајем већим од 10%, чиме је елиминисано 3056 једињења у траговима и задржано 568 квантитативно значајних једињења. Свака ознака је била подвргнута ASCII-folding поступку, уклањању заграда и корекцији обрасца (нпр. „01-2" у „2-01") пре претраге у хемијским базама података. За 502 једињења (88,4%) добијени су канонични SMILES, док 66 назива није имало покривеност у регистрима Gaulton et al. (2012); Hastings et al. (2016); Kim et al. (2023). SMILES су у RDKit-у конвертовани у 2048-битне Морганове отиске (радијус 2) Landrum (2024); Morgan (1965a); Weininger (1988). Након уклањања 1366 колона са свим нулама, табела карактеристика скупљена је на 171×682 бинарну матрицу. Густина активних битова је

$$\rho = \frac{\sum_{i=1}^{171} \sum_{j=1}^{682} x_{ij}}{171 \times 682} \approx 5,6\%,$$

са $x_{ij} \in \{0, 1\}$ који означава присуство/одсуство подструктуре j у узорку i . Проређеност снижава меморијске захтеве и убрзава рачун, али повећава ризик од претренирања, па се преферирају модели који је експлоатишу (нпр. L1-регуларизирана логистичка регресија) Tibshirani (1996). Скуп података (са референцама) доступан је на Zenodo-у: doi:10.5281/zenodo.12684760 (Lagerholm, 2025). За детаље кода видети Прилог 1.

3.2.2. Генерисање Морган отисака

Канонични називи конституената мапирани су у SMILES (IUPAC-InChI; ChEMBL/ChEBI/PubChem) (Gaulton et al., 2012; Hastings et al., 2016; Kim et al., 2023; Weininger, 1988). Затим су генерисани проширени конективни (Морган) отисци дужине 2048 бита и радијуса 2 у RDKit-у (Landrum, 2024; Morgan, 1965b). Колоне сачињене само од нула уклоњене су, па је добијена матрица од 682 бинарне карактеристике. Бинарна ознака анти-S. Турхимигиум активности придодата је као циљна променљива, дајући коначну табелу величине 171×683 .

3.2.3. Протокол машинског учења

С обзиром на однос броја узорака (171) и карактеристика (682), примењена је *регуларизирана логистичка регресија* са L1 казном ("lasso") како би се добио компактан и интерпретабилан скуп предиктора и умањило претренирање (Агаџо et al., 2023; Dudek et al., 2024). Користили смо сада оптимизатор, погодан за L1 и проређене

матрице.

3.2.3.1. Пермутациона важност карактеристика (PFI)

За обучени модел, PFI процењује пад F_1 након насумичног пермутирања једне карактеристике, чиме се прекида њена веза са циљем (A. Fisher et al., 2019). Задржаване су карактеристике са пермутационим скором $> 0,01$, што се показало као праг који чува сигнал, а смањује варијансу у проређеним, високодимензионим поставкама (Kuhn & Johnson, 2019; Molnar, 2022).

3.2.3.2. Обука модела

Пошто је скуп података био мали (< 200 опажања), вредновање модела ослањало се на унутрашње поновно узорковање уместо на издвајање јединственог задржаног или независног спољашњег тест-скупа. Разлог је што код малих скупова једна подела на тест даје веома нестабилне процене перформанси и расипа оскудне информације за обуку. Чак и уобичајена k -струка унакрсна валидација може показати велику варијансу и оптимизам у малим узорцима. Скорашња студија показала је да су унакрсна валидација и задржани скуп дале сличну средњу перформансу, али је неизвесност била знатно већа за задржани скуп (Прилог 3). Аутори су закључили: "У случају малих скупова података, 'holdout' или ситни спољашњи скупови нису препоручљиви; пожељна је поновљена унакрсна валидација над целим скупом за обуку" (Eertink et al., 2022). И актуелне смернице за извештавање и валидацију наглашавају да се унутрашња валидација (нпр. унакрсна валидација, bootstrap) користи за мале скупове, али да је, кад је изводљиво, потребна и спољашња валидација ради генерализабилности (Collins et al., 2015; Steyerberg & Vergouwe, 2014; Van Calster et al., 2019).

Имајући ово у виду, развој модела спроведен је поновљеном стратификованом петоструком унакрсном валидацијом (100 понављања) тако да је свако опажање кроз итерације служило и за обуку и за валидацију. Овај дизајн смањује варијансу у односу на једну поделу и пружа расподеле вансклопних процена перформанси које су стабилније у малим скуповима. Метрике перформанси рачунате су у сваком валидационом склопу и агрегиране преко свих понављања. Вансклопне предиктоване вероватноће су такође удружене ради процене калибрације. Главни инференцијални циљ у овој студији био је да се идентификују и протумаче карактеристике које доприносе сигналу у логистичком моделу, а не да се распореди алат за предвиђање; сходно томе, унутрашње унакрсно валидиране процене сматране су довољним за истраживачке циљеве и идентификацију карактеристика, док је пуна спољашња валидација остављена за будући рад када постану доступни додатни подаци (Collins et al., 2015; Steyerberg & Vergouwe, 2014; Van Calster et al., 2019).

Свака итерација је производила стандардни скуп метрика дискриминације и калибрације:

- **Тачност (Accuracy):** укупни удео тачних предвиђања. На основу матрице конфузије, предвиђања се класификују у четири категорије: стварно позитивни (TP), стварно негативни (TN), лажно позитивни (FP) и лажно негативни (FN). Тачност се рачуна као:

$$\text{Accuracy} = \frac{TP + TN}{TP + FP + TN + FN},$$

где је TP (*true positive*) - број тачно класификованих позитивних случајева, TN (*true negative*) - број тачно класификованих негативних случајева, FP (*false positive*) - број лажно позитивних (негативни узорци погрешно предвиђени као позитивни), FN (*false negative*) - број лажно негативних (позитивни узорци погрешно предвиђени као негативни), а $n = TP + TN + FP + FN$ укупан број опажања (величина узорка). Ова нотација примењује се на све метрике дискриминације дефинисане у наставку.

- **Осетљивост (sensitivity, recall, true positive rate) и специфичност (specificity, true negative rate):** први пут формализоване за бинарно дијагностичко тестирање у (Yerushalmy, 1947).

$$\text{Sensitivity} = \frac{TP}{TP + FN}, \quad \text{Specificity} = \frac{TN}{TN + FP},$$

где TP , TN , FP , FN имају значење дато горе; осетљивост мери удео исправно препознатих позитивних случајева, а специфичност удео исправно препознатих негативних.

- **Прецизност (precision, positive predictive value) и негативна предиктивна вредност (NPV):** дефиниције потичу из (Altman, 1994).

$$\text{Precision} = \frac{TP}{TP + FP}, \quad \text{NPV} = \frac{TN}{TN + FN},$$

где прецизност представља удео стварно позитивних међу свим узорцима предвиђеним као позитивни, а NPV удео стварно негативних међу свим узорцима предвиђеним као негативни.

- F_1 **скор:** хармонијска средина прецизности и подсетљивости (одзива), уведен у (Van Rijsbergen, 1979).

$$F_1 = \frac{2 \cdot \text{Precision} \cdot \text{Recall}}{\text{Precision} + \text{Recall}} = \frac{2TP}{2TP + FP + FN},$$

где је $\text{Recall} = \text{Sensitivity} = TP/(TP + FN)$, тј. подсетљивост (одзив).

- **Метјузов коефицијент корелације** (енг. *Matthews correlation coefficient*, MCC): уравнотежена корелациона мера погодна и за неуравнотежене класе (Matthews, 1975).

$$\text{MCC} = \frac{TP \cdot TN - FP \cdot FN}{\sqrt{(TP + FP)(TP + FN)(TN + FP)(TN + FN)}},$$

где MCC узима вредности од -1 (потпуно погрешна класификација) до $+1$ (савршена класификација); вредност 0 одговара насумичном предвиђању.

- **ROC AUC**: површина испод ROC криве; нумерички, то је вероватноћа да насумично изабран позитиван узорак добије већи скор од насумично изабраног негативног (Hanley & McNeil, 1982). Рачуна се као

$$\text{AUC} = \int_0^1 \text{TPR}(\text{FPR}) d(\text{FPR}) \approx \sum_k \frac{1}{2} (\text{TPR}_{k+1} + \text{TPR}_k)(\text{FPR}_k - \text{FPR}_{k+1}),$$

где је $\text{TPR} = TP/(TP + FN)$ стопа тачно позитивних (*true positive rate*, односно осетљивост), а $\text{FPR} = FP/(FP + TN)$ стопа лажно позитивних (*false positive rate*), тј. трапезна површина испод емпиријских ROC тачака. Ради тумачења усвајамо скалу из (Hosmer et al., 2013):

$$\begin{aligned} \text{AUC} = 0,5 & \quad \rightarrow \text{ без дискриминације,} \\ 0,5 < \text{AUC} < 0,7 & \quad \rightarrow \text{ слабо,} \\ 0,7 \leq \text{AUC} < 0,8 & \quad \rightarrow \text{ прихватљиво,} \\ 0,8 \leq \text{AUC} < 0,9 & \quad \rightarrow \text{ одлично,} \\ \text{AUC} \geq 0,9 & \quad \rightarrow \text{ изванредно.} \end{aligned}$$

За сваки регресиони коефицијент неизвесност је квантификована непараметарским bootstrap-ом. Укупно $B = 1000$ репликаат скупова величине n (где је n величина оригиналног узорка) извучено је са враћањем из оригиналних података, модел је поново фитован на сваком репликату и процена $\hat{\theta}_b$ (оцена параметра из b -тог репликата) је сачувана. Расподела $\{\hat{\theta}_1, \dots, \hat{\theta}_B\}$ потом даје перцентилске границе поузданости; двострани 95% интервал је

$$[\hat{\theta}_{(\lceil 0.025B \rceil)}, \hat{\theta}_{(\lceil 0.975B \rceil)}].$$

Избор $B = 1000$ прати практично правило Ефрона и Тибшаранија, који су показали да је Монте Карло грешка узорковања на крајњој перцентилској тачки приближно $\frac{1}{2\sqrt{B}}$ и да зато пада испод једног процентног поена када је $B \geq 1000$ (Efron & Tibshirani, 1994). Овде се под Монте Карло грешком мисли искључиво на случајну варијацију уведена коришћењем коначног броја поновних узорака уместо пуног

(неизводљивог) скупа свих n^n bootstrap "светова" (Davison & Hinkley, 1997). Променљиве чији интервали поузданости (CI) нигде не пресецају нулу означене су као конзистентно неопходне.

3.2.3.3. Унутрашња, унакрсно валидирана процена калибрације

Примењен је логистички модел са L_1 регуларизацијом (`solver=saga`), а инверзна константа регуларизације C ручно је варирана од јаког до слабог скупљања коефицијената. За сваки C перформансе су тестиране са 100 понављања стратификоване петоструке унакрсне валидације, а предиктоване вероватноће позитивне класе из свих склопова су удружене. Калибрација је испитана у 20 бинова вероватноће помоћу `sklearn.calibration.calibration_curve`, која даје средњу предиктовану вероватноћу и посматрану стопу догађаја у сваком интервалу. Крива калибрације је затим сажета регресијом најмањих квадрата посматране стопе на предиктовану вероватноћу преко интервалних група (Прилог 4). Нагиб < 1 сигнализира пренаглашене ризике (претренирање), нагиб > 1 сигнализира потцењене ризике (недовољно прилагођавање), а ненулти слободни члан сигнализира систематски помак у просечном предиктованом ризику. Вредност C изабрана је тако да ове статистике остану што ближе својим идеалним циљевима, обезбеђујући добро калибрисане процене вероватноће (Collins et al., 2015; *scikit-learn: Probability calibration (User Guide)*, 2025; Šinkovec et al., 2021; Steyerberg & Vergouwe, 2014; Van Calster et al., 2019; Yan et al., 2022).

3.2.3.4. Анализа утицаја карактеристика

Графици парцијалне зависности (PD) приказују маргинални ефекат једног предиктора на предиктовану вероватноћу (Friedman, 2001; Molnar, 2022). За сваку могућу вредност посматране карактеристике, PD вредност добија се тако што се та карактеристика фиксира на задату вредност, а затим се предвиђање модела усредњи преко свих опажања у тренинг скупу, узимајући тако у обзир емпиријску расподелу преосталих карактеристика (за формалну дефиницију в. Friedman, 2001; Molnar, 2022). PD криве су израчунате за десет Morgan битова изабраних пермутацијом, користећи `sklearn.inspection.PartialDependenceDisplay`. Равне криве указују на мали маргинални утицај, док стрми монотони трендови означавају битове чије активирање снажно повећава или смањује вероватноћу активности против *Salmonella*. Ове дијагностике допуњују глобалне скореве важности откривањем смера и јачине сваког ефекта (Прилог 7).

3.2.3.5. Декодирање отисака на хемијски тумачиве подструктуре

За сваки Morgan бит изабран пермутацијом изоловани су сви узорци етеричних уља у којима је бит имао вредност 1. Табела је затим унутрашње спојена са курираним SMILES каталогом тако да сваки ред носи четири кључна поља: назив врсте, канонски SMILES, концентрацију и JSON-кодирани bitInfo мап који је генерисао RDKit током отискивања (Landrum, 2024). Молекули који се јављају само једном у датом скупу бита одбачени су ради смањења шума и фокусирања тумачења на рекурентне мотиве. За сваки задржани SMILES позван је Draw.DrawMorganBit да исцрта атомско окружење које активира циљни бит (радијус 2, хеш од 2048 бита), при чему је истакнути фрагмент сачуван као PNG. Пошто bitInfo говори који атоми укључују дати хеш, сваки PNG истиче прецизан фрагмент који покреће бит. То значи да хемијску групу коју модел повезује са активношћу против *Salmonella* можемо видети директно, без додатних објашњења дубоким учењем (Morgan, 1965a; Riniker & Landrum, 2013).

4. Резултати и дискусија

4.1. Експериментални резултати

4.1.1. GC-MS анализа

У Табели 4.1 приказан је хемијски састав четири испитана етерична уља (чајно дрво, лаванда, бергамот и нана) одређен GC-MS анализом, при чему су вредности изражене као процентуални удео сваке компоненте у укупној површини пикова.

Према Табели 4.1, уље *Melaleuca alternifolia* доминира трима монотерпенским C₁₀ састојцима: терпинен-4-олом (44,72%), који је оксигенисани монотерпенски алкохол, и паром моноцикличних угљоводоника, γ -терпиненом (19,47%) и α -терпиненом (7,84%). Заједно, ова једињења чине више од 70% укупне GC-MS површине пикова, што потврђује да уље чајевог дрвета припада хемотипу богатом терпинен-4-олом, како је прописано у ISO 4730:2025 (International Organization for Standardization, 2025). Антибактеријски и противупални ефекти уља превасходно се приписују терпинен-4-олу, док терпиненски угљоводоници дају значајан део антиоксидативне активности, односно неутралисања слободних радикала (Carson et al., 2006). Ови налази су у складу са ранијим студијама које показују да је терпинен-4-ол главна компонента уља *Melaleuca alternifolia*, често изнад 40% (Hart et al., 2000; Ninomiya et al., 2012). Недавна GC-MS контрола квалитета аутентичних аустралијских уља дала је веома сличне вредности: терпинен-4-ол 40,3%, γ -терпинен, 1,8-цинеол и *p*-цимен 11,7%, 7,0% и 6,2%, редом, што потврђује да и наш узорак испуњава ISO 4730 (Borotová et al., 2022). Чајево дрво (*Melaleuca alternifolia*) је мало, аутохтоно аустралијско дрво; уље показује три главна хемотипа: терпинен-4-ол, терпинолен и 1,8-цинеол. Хемотип богат терпинен-4-олом доминира и клинички је најзначајнији (акне, контактни дерматитис, зарастање рана) (Padovan et al., 2017). Ипак, антимицробни скрининг исте серије показао је само слабу до умерену ефикасност према већини тест организама: на агару је зона инхибиције за *Salmonella enterica* износила $7,3 \pm 1,3$ mm, знатно ниже од $25 \pm 1,5$ mm за цефокситин, у "умереном" интервалу од 5 до 10 mm (Borotová et al., 2022). Микродилуција у бујону потврдила је ограничену потенцију: МИК₅₀ и МИК₉₀ износиле су 11,8 и 16,4 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Поређењем, сличне или више МИК вредности забележене су за друге Грам-негативне сојеве, док су нешто нижи прагови уочени код Грам-позитивних врста као што је *Staphylococcus aureus*, што наглашава баријеру пропустљивости спољашње мембране Грам-негативаца. Дакле, иако хемотип богат терпинен-4-олом испуњава ISO 4730, активност према *S. enterica* и сродним патогенима је умерена и може захтевати формулационе стратегије (нпр. наноемулзификација или комбинациона терапија) за практичне ефекте.

И лаванда (*Lavandula angustifolia*) и бергамот (*Citrus × bergamia*) припадају оксигенисаном монотерпеноидном хемотипу којим доминира пар линалоол/линалилацетат: лаванда садржи 35,68% линалоола и 42,25% линалилацетата (заједно 77,93%), а бергамот 22,93% линалоола и 57,51% линалилацетата (укупно 80,44%). Линалоол је монотерпенски алкохол, а линалилацетат монотерпенски естар; оба припадају терпеноидима. Разликују се у секундарним компонентама: лаванда има нешто мање оксигенисаних монотерпена (1,8-цинеол, борнеол, лавандулилацетат) и тек трагове сесквитерпена; бергамот садржи више лимонена, као и монотерпенске естере (нерил-и геранилат) и сесквитерпенске угљоводонике попут β -бисаболена. Доминантни пар линалоол/линалилацетат објашњава ароматску сродност и многа преклапајућа биолошка дејства. Подаци из литературе показују да се удео у лаванди обично креће од 25 до 45% за линалоол и од 25 до 38% за линалилацетат (Shellie et al., 2002); за бергамот је 5 до 13% за линалоол и 20 до 27% за линалилацетат (Furneri et al., 2012). Лаванда је важна ароматична и лековита култура великог комерцијалног значаја; мирисне компоненте добијају се и као "конкрет" и као "апсолут". Nedeltcheva-Antonova et al. (2022) су у бугарском апсолуту нашли 27 до 38% линалоола и 26 до 37% линалилацетата, упоредиво са нашим 35,7% и 42,3%, што указује да профил испуњава ISO 3515:2002. Нови рад о хладно цеђеном калабријском бергамоту (2025) пријављује да је у монотерпенским угљоводоницима лимонен главни (38,24%), затим γ -терпинен (6,58%) и β -пинен (5,76%); међу естарима и оксигенисаним монотерпенима доминирају линалилацетат (30,50%) и линалоол (14,45%), што наглашава висок удео естара, карактеристичан за прави бергамот (Barbarossa et al., 2025). Исти рад је показао релативно високе МИК вредности за Грам-негативне бактерије као што су *E. coli* и *K. pneumoniae* (2 и 4 $\mu\text{L mL}^{-1}$, редом), што одражава ниску осетљивост на бергамотово уље вероватно услед спољашње мембране као баријере за хидрофобне молекуле.

Пеперминт (*Mentha piperita*) у Табели 4.1 показује класичан "ментол" хемотип: доминира изо-ментол (49,3%), који је оксигенисани монотерпенски алкохол, уз секундарни допринос ментил-ацетата (5,6%; монотерпенски естар). Мањи оксигенисани монотерпени, ментфуран (7,2%), ментол (3,4%), ментонон/ментон (3,4%) и неоизо-ментол (1,0%), додатно појачавају "хладни", аналгетски профил типичан за пеперминт; трагови сесквитерпена (нпр. транс-кариофилен 1,8%) дају балзамичну дубину (Işcan et al., 2002; Mahboubi & Kazempour, 2014). Тако пеперминт карактеришу преваходно засићени C_{10} монотерпеноидни алкохоли и њихови ацетил-естри. Скорашња истраживања комерцијалних уља налазе ментол/изо-ментол у опсегу од 35 до 46%, а естаре попут ментил-ацетата испод 10%, што потврђује "високоментолни" хемотип (Hudz et al., 2023). Раније објављени тестови против *S. enterica* сер. Typhimurium показују умерену активност: зоне од 6 до 7 mm на Mueller-Hinton агару и

МИК₉₀ око 16 $\mu\text{L mL}^{-1}$. Штавише, сублеталне дозе 1,25 $\mu\text{L mL}^{-1}$ омогућавају перзистентним ћелијама да поврате функције мембране, што подвлачи ограничену самосталну ефикасност према овом Грам-негативцу (Ashrafudoulla et al., 2023; Ferreira de Melo et al., 2020).

Табела 4.1. Једињења идентификована GC-MS анализом уља чајног дрвета, лаванде, бергамота и нане

Једињење	RI ^a	Чајно дрво (%)	Лаванда (%)	Бергамот (%)	Нана (%)
α -Тујен	924,9	0,86	0,16	-	0,83
α -Пинен	930,3	2,57	-	0,15	1,15
Камфен	944,5	-	0,13	-	-
β -Пинен	972,9	0,70	-	0,78	-
Сабинен	973,2	-	0,14	-	0,51
Мирцен	992,5	0,75	0,19	0,37	-
α -Феландрен	1003,7	0,33	0,26	-	-
н.и. ^b	1011,1	-	-	-	0,17
α -Терпинен	1015,5	7,84	0,75	-	-
<i>p</i> -Цимен	1024,4	5,15	0,21	1,03	0,19
β -Феландрен	1027,4	1,54	-	-	-
Лимонен	1028,4	-	-	6,67	-
1,8-Цинеол	1028,6	3,15	1,88	-	1,71
Силвестрен	1029,0	-	0,67	-	-
γ -Терпинен	1058,1	19,47	0,15	1,39	0,13
артемизија-кетон	1063,8	-	0,21	-	0,34
цис-Сабинен хидрат	1070,2	-	0,10	-	0,87
цис-Линалоол-оксид	1073,2	-	0,65	0,26	-
Терпинолен	1087,7	3,21	-	-	-
транс-Линалоол-оксид	1089,8	-	0,61	0,23	-
транс-Сабинен хидрат	1102,0	-	-	-	0,11
Линалоол	1105,0	-	35,68	22,93	0,38
1-Октен-3-ил ацетат	1116,5	-	0,66	-	-
н.и.	1121,3	-	-	-	0,08
Камфор	1141,8	-	0,64	-	-
Ментофуран	1162,8	-	-	-	7,16

Наставак на следећој страници

Табела 4.1 (наставак)

Једињење	RI ^a	Чајно дрво (%)	Лаванда (%)	Бергамот (%)	Нана (%)
Ментол	1166,8	-	-	-	3,39
Борнеол	1167,4	-	1,75	-	-
Изоментол	1176,6	-	-	-	49,30
Терпинен-4-ол	1178,5	44,72	3,94	0,49	-
Неоизоментол	1184,6	-	-	-	0,99
α -Терпинеол	1194,6	3,11	0,44	0,33	-
Пулегон	1240,9	-	-	-	1,57
Аскаридол	1241,0	-	-	0,24	-
Хексил-изовалерат	1245,1	-	0,32	-	-
линалил-ацетат	1258,6	0,24	42,25	57,51	-
н.и.	1258,7	-	-	0,33	-
Пиперитон	1259,6	-	-	-	0,29
н.и.	1264,6	-	-	0,41	-
Неоментил ацетат	1276,8	-	-	-	0,23
Лавандулил ацетат	1294,8	-	1,72	-	-
Ментил ацетат	1295,4	-	-	-	5,63
Изоментил ацетат	1309,4	-	-	-	0,17
Хексил тиглат	1337,9	-	0,17	-	-
н.и.	1348,2	-	0,20	-	-
н.и.	1356,4	-	0,28	-	-
н.и.	1362,2	-	0,34	-	-
Терпинил ацетат	1351,6	-	-	0,71	-
Нерил ацетат	1369,3	-	0,52	1,87	-
β -Бурбонен	1381,6	-	-	-	0,29
Геранил ацетат	1388,6	-	0,85	0,72	-
н.и.	1405,2	-	-	0,62	-
Сесквитујен	1405,7	-	0,12	-	-
α -Гурјунен	1406,3	0,32	-	-	-
Транс-кариофилен	1416,4	0,35	0,91	0,47	1,79
α -Транс-бергамотен	1434,6	-	-	0,39	-
Аромадендрен	1435,5	1,25	-	-	-

Наставак на следећој страници

Табела 4.1 (наставак)

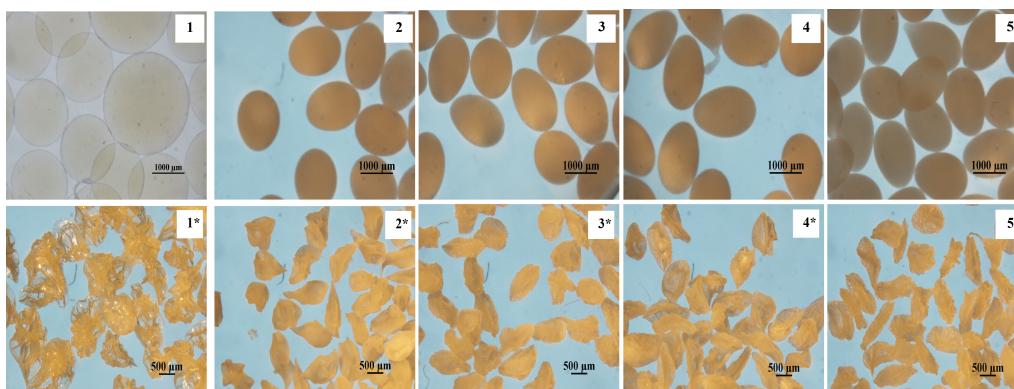
Једињење	RI ^a	Чајно дрво (%)	Лаванда (%)	Бергамот (%)	Нана (%)
α -Хумулен	1451,3	0,50	0,13	-	-
Алоаромадендрен	1458,2	0,30	-	-	-
Транс- β -фарнезен	1459,1	-	0,04	-	-
Транс-кадина-1(6),4-диен	1472,4	1,31	-	-	-
Цис-муурола-4(14),5-диен	1479,8	-	0,11	-	-
Гермакрен D	1479,8	-	-	-	1,00
Валенцен	1493,2	1,51	-	-	-
β -Бисаболен	1510,7	-	-	2,08	-
Лавандулил изовалерат	1512,6	-	0,42	-	-
γ -Кадинен	1513,2	-	0,21	-	-
<i>d</i> -Кадинен	1523,1	0,44	-	-	-
Транс-кадина-1,4-диен	1531,9	0,39	-	-	-
Оксид кариофилена	1580,9	-	1,31	-	-
Збир идентификованих		100,00	98,30	98,64	99,72

^a RI = ретенциони индекс релативно према *n*-алканима на НР-5 капиларној колони; "-" = није детектовано.

^b н.и. = није идентификовано.

4.1.2. Физичко-хемијска карактеризација енкапсулираних уља

Празне алгинатне куглице су у мокром стању у просеку имале пречник 2,0 mm и скупиле су се за $\sim 30\%$ после лиофилизације (Слика 4.1 и Табела 4.2). Празне алгинатне куглице мериле су $2,00 \pm 0,04$ mm у мокром стању и, након лиофилизације, смањиле се на $1,40 \pm 0,20$ mm, при чему је $k_{SF(drying)} = 0,302$; фактор сферичности је порастао са 0,233 на 0,391. Додавање етеричних уља снизило је мокре пречнике на 1,46-1,60 mm и појачало скупљање на $k_{SF(drying)} = 0,331 - 0,397$. Највеће скупљање показала је лаванда $k_{SF(drying)} = 0,397$, док је чајево дрво имало највећи пораст сферичности ($0,238 \rightarrow 0,541$); бергамот ($0,294 \rightarrow 0,407$) и пеперминт ($0,225 \rightarrow 0,402$) били су између. Слични трендови су објављени за алгинатне куглице са уљем коморача, где је лиофилизација давала мање скупљање него сушење ваздухом, типичних



Слика 4.1. Алгинатне куглице са етеричним уљима пре (1 = празне, 2 = лаванда, 3 = бергамот, 4 = чајево дрво, 5 = пеперминт) и после (1* до 5* редом) лиофилизације

губитака пречника ≈ 21 до 53% (фактор скупљања 0,21-0,53, зависно од формулације) (Dobrosłavić et al., 2024). Ранији рад о d-лимонен алгинатним куглицама добијеним електростатичном екструзијом пријавио је мокре пречнике $\approx 0,96$ до 1,45 mm и суве сферичности 0,003 до 0,21 после сушења ваздухом, са мањим скупљањем при већем садржају лимонена (Lević et al., 2015). Наше вредности 0,302 – 0,397 тако падају у средину опсега за лиофилизоване узорке, што указује да сва четири уља појачавају компресију, али ипак дају скоро сферичне куглице $SF_{dry} < 0,55$ погодне за контролисано ослобађање.

Табела 4.2. Морфолошке карактеристике куглица

Узорак	d_{wet} (mm)	d_{dried} (mm)	SF_{wet}	SF_{dried}	$k_{SF(drying)}$
Празне	$2,00 \pm 0,04$	$1,40 \pm 0,20$	0,233	0,391	0,302
Лаванда	$1,51 \pm 0,07$	$0,90 \pm 0,20$	0,241	0,521	0,397
Бергамот	$1,60 \pm 0,09$	$1,20 \pm 0,10$	0,294	0,407	0,367
Чајно дрво	$1,58 \pm 0,08$	$1,10 \pm 0,10$	0,238	0,541	0,331
Нана	$1,46 \pm 0,09$	$1,00 \pm 0,10$	0,225	0,402	0,348

SF = фактор сферичности; $k_{SF(drying)}$ = фактор скупљања након лиофилизације. Вредности су средња \pm стандардна девијација (SD), $N = 15$.

4.1.3. Антиоксидативна ефикасност

Сва испитивана етерична уља ефикасно су редуковала DPPH и ABTS слободне радикале, и пре и после складиштења (Табела 4.4). Резултати DPPH теста показују да је уље пеперминта показало највећу антиоксидативну активност од ($23,3 \pm 1,0$) mmol L^{-1} , док су уља лаванде, бергамота и чајевог дрвета имала ниже вредности, са најнижом ($7,6 \pm 0,1$) mmol L^{-1} . Упоредиве способности неутрализације радикала код лаванде и бергамота могу се повезати са њиховим сличним GC-MS профилима (Табела 4.1). Скорашни радови потврђују да релативни пласман у Табели 4.4 одго-

вара литератури. Chen *и сар.* (2023) су пријавили DPPH IC₅₀ вредност 0,81 mg mL⁻¹ за уље пеперминта (≈ 21 mmol TE L⁻¹), али 1,9-2.2 mg mL⁻¹ за уља лаванде и бергамота, чиме је пеперминт постављен на врх у оквиру породице *Lamiaceae*, у складу са (23,3 \pm 1,0) mmol TE L⁻¹ у овој студији (X. Chen et al., 2023). Истраживање из 2024. на цветном уљу *C. bergamia* дало је изразито ниску DPPH IC₅₀ вредност 0,65 mg mL⁻¹ (≈ 17 mmol TE L⁻¹), што је приписано лимонен-*p*-мент-1-ол-8-ол хемотипу (Aziz et al., 2024). Насупрот томе, (Moirangthem et al., 2024) су измерили знатно слабију активност уља чајевог дрвета (DPPH IC₅₀ 12,7 μ g mL⁻¹; ABTS IC₅₀ 15,4 μ g mL⁻¹ ≈ 8 mmol TE L⁻¹), што је у складу са умереним (7,6 \pm 1,0) mmol TE L⁻¹ у овој студији и одражава низак садржај фенола. Повећана ефикасност пеперминта и бергамота корелира са већим уделом ментола, изоментола и деривата линалил-ацетата, док је уље чајевог дрвета, са терпинен-4-олом као главном компонентом, најслабији хватач радикала. Према Hudz et al. (2023), пеперминт показује изражен антиоксидативни капацитет: уље добијено суперкритичним CO₂ постигло је 52% инхибиције DPPH радикала са IC₅₀ од 15,6 μ g mL⁻¹, што се повезује са способношћу донације водоника ментола и присуством фенола као што су розмаринска киселина и ериоцитрин.

Табела 4.4. Капацитет хватања слободних радикала етеричних уља мерен DPPH и ABTS тестовима

Биљни извор	$c(\text{DPPH})$ (mmol L ⁻¹) ^a	$c(\text{ABTS})$ (mmol L ⁻¹) ^a
Лаванда	(18,9 \pm 0,2) ^a	(48,6 \pm 0,7) ^a
Бергамот	(17,0 \pm 0,4) ^a	(99,0 \pm 1,0) ^b
Чајно дрво	(7,6 \pm 1,0) ^b	(168,7 \pm 1,4) ^c
Пеперминт	(23,3 \pm 1,0) ^c	(190,9 \pm 2,5) ^d

^a c означава Тролох-еквивалентну концентрацију која је потребна да произведе исти ефекат хватања радикала као раствор етеричног уља. Вредности су средња \pm SD ($N = 3$). Унутар колоне, средине које не деле заједничко надскриптно слово значајно се разликују (Tukey-Kramer, $p < 0,05$).

Треба нагласити да се процене антиоксидативног капацитета етеричних уља знатно разликују у зависности од примењеног теста, вероватно због специфичних интеракција компонената уља са DPPH или ABTS радикалима. Слична запажања изнео је и (Olszowy & Dawidowicz, 2016). Њихови налази указују да на антиоксидативну снагу ЕУ утичу једињења са конјугованим двоструким везама која делују као доноси водоника или електрона, као и укупни садржај тих једињења у уљима.

4.1.4. Антимикробна ефикасност против *S. Typhimurium*

S. Typhimurium спада у патогене преносиве храном који све више показују резистенцију на антибиотике (Gong et al., 2022). Антимикробна активност (АА) етерич-

них уља против овог серовара документована је у бројним независним студијама (Hyldgaard et al., 2012; Nieto et al., 2018; Purkait et al., 2020). Значајна варијабилност пријављених МИК вредности може се приписати природним разликама у саставу уља и интеракцијама (синергистичким или антагонистичким) које потичу од минорних компонената, еколошких утицаја и метода екстракције (Khan et al., 2022; Orchard & van Vuuren, 2017). Ова студија је одредила МИК и МБК вредности уља лаванде, бергамота, чајевог дрвета и пеперминта против *S. Typhimurium* у опсегу 0,078-10 $\mu\text{g mL}^{-1}$. На 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ ниједан узорак није показивао видљив раст. Према Табели 4.6, лаванда и бергамот у потпуности су инхибирали раст на 5 $\mu\text{g mL}^{-1}$, док су чајево дрво и пеперминт захтевали 10 $\mu\text{g mL}^{-1}$ за еквивалентну инхибицију. Студије показују да су уља лаванде и бергамота ефикасна и против квасаца и филаментозних гљива (Andrys et al., 2017; Furneri et al., 2012). Ова широкоспектарна активност углавном се приписује повишеним концентрацијама и потенцијалној синергији линалоола и линалил-ацетата у њиховим GC-MS профилима (Табела 4.1), што подупиру претходна истраживања (K. Fisher & Phillips, 2006; Mandalari et al., 2007). Ментол је главни носилац антимикуробног дејства пеперминта (Işcan et al., 2002), док ефикасност уља чајевог дрвета углавном потиче од терпинен-4-ола и других монотерпена (Carson et al., 2006). Иако се саставом разликују, сва тестирана уља показала су значајна анти-*Salmonella* својства, што указује на њихов потенцијал као природних конзерванаса у храни, козметици или фармацеутским производима.

Иако потпуни консензус још изостаје, мултиомикс студије последњих година знатно су унапредиле разумевање начина на који ЕУ испољавају бактерицидно дејство. Квантитативна протеомика без ознака показала је да рузмариново уље урушава протон-моторну силу *S. Typhimurium* дефицитом подјединица АТР-синтазе, даун-регулацијом порина спољашње мембране и оксидацијом незасићених фосфолипида, што доводи до значајног цурења K^+ /АТР и лизе ћелије (Hao et al., 2022). Паралелни метаболомски и транскриптомски експерименти на сојевима третираним тиммијаном и циметом потврдили су заједнички потпис: репресију циклуса лимунске киселине и гена биосинтезе нуклеотида, акумулацију маркера реактивних врста кисеоника и активацију путева поправке ДНК (L. Chen et al., 2022). Студије појединачних компоненти валидирају ова запажања. Терпинен-4-ол, главна компонента уља чајевог дрвета, убацује се у унутрашњу мембрану грам-негативаца, повећава флуидност, дисипира ΔpH и омета формирање биофилма пригушивањем "quorum-sensing" регулатора (Bose et al., 2020; Cox et al., 2000; Touati et al., 2025; C. Wang et al., 2025). Тимол и карвакрол додатно инхибирају полимеризацију FtsZ и ометају транспорт металних јона, блокирајући бинарну деобу (Cid-Pérez et al., 2024). Недавни радови на ЕУ *Litsea cubeba* и магнолије визуализовали су изражена оштећења омотача

ТЕМ микрографијама и квантитативно показали тренутно ослобађање материје која апсорбује на 260 nm (вероватно нуклеинске киселине), потврђујући тешке промене пропустљивости (Y. Liu et al., 2025; C. Wang et al., 2025). Протеомско мапирање уља органа против MDR сојева даље је показало супресију компоненти еффлукс-пумпи (AcrAB-TolC) и шаперона за оксидативни стрес, што сугерише да ЕУ ослабљују и урођене механизме отпора (Barbosa et al., 2020; Touati et al., 2025). На крају, прегледи усмерени на контролу биофилма наглашавају да многа ЕУ даун-регулишу гене за синтезу екзополисахарида и ремете AI-2 сигнализацију, чиме ћелије постају подложније традиционалним дезинфицијенсима (Touati et al., 2025). У целини, налази конвергирају ка мултифакторном механизму деловања: примарна инсерција липофилних терпеноида у цитоплазматску мембрану изазива биоенергетски колапс, накупљање ROS и метаболичко изгладњивање; секундарни ефекти обухватају инхибицију апарата за деобу, еффлукс-пумпи и "quorum sensing"-а, што резултира смрћу *S. Typhimurium*.

Табела 4.6. Антимикробна активност етеричних уља против *S. Typhimurium*

Биљни извор	МИК ^a ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	МБК ^b ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Лаванда	5	10
Бергамот	5	> 10
Чајно дрво	10	10
Нана	10	10

^a МИК = минимална инхибиторна концентрација (*minimum inhibitory concentration*).

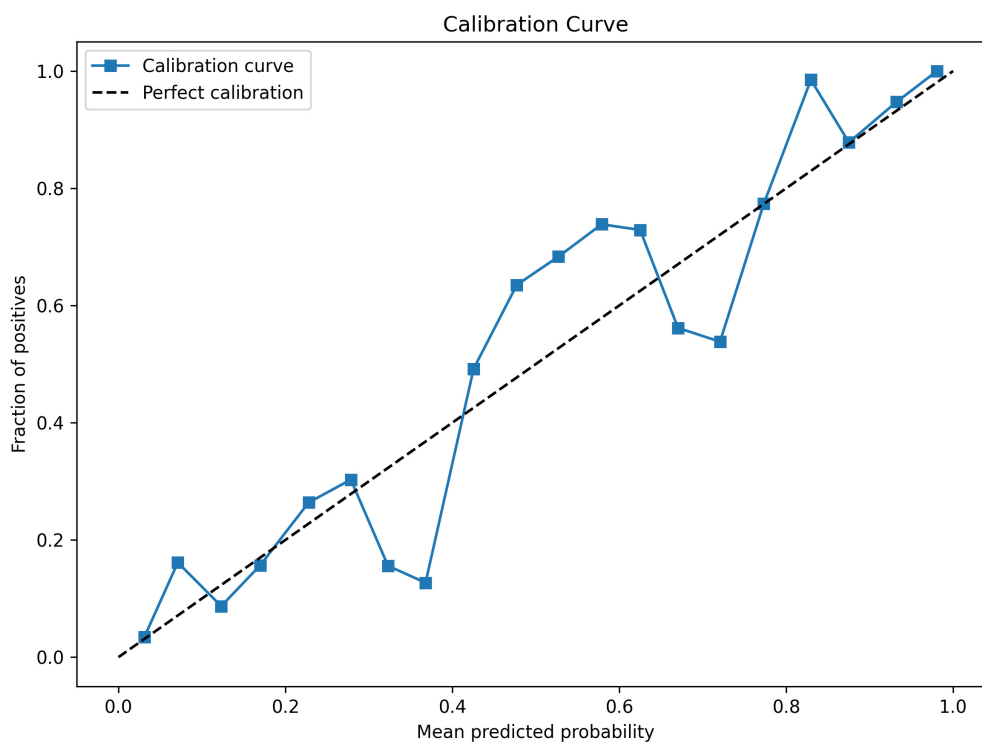
^b МБК = минимална бактерицидна концентрација (*minimum bactericidal concentration*).

МИК вредности појединачних ЕУ могу се значајно разликовати, обухватајући више редова величина, због разлика у ботаничком пореклу, хемотипу и формулацији. Док су у нашој студији лаванда и бергамот били најпотентнији са МИК од $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Табела 4.6), Sateriale et al., 2023 су известили да уља тимијана инхибирају *S. Typhimurium* при 0,25 до $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. Поред тога, Соковић *и сар.* су учили потпуну инхибицију већ при $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ уља *O. vulgare* богатог карвакролом (Soković et al., 2010). За уља *T. vulgaris* са високим садржајем тимола документовани су МИК у опсегу 0,25 до $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Sateriale et al., 2023). Још један скорашњи рад је показао да наноемулзификовано уље *Origanum vulgare* (nOVEO) инхибира *S. Typhimurium* при 0,59 до $0,60 \text{ mg mL}^{-1}$ (Ramos et al., 2025). Ови уједначени налази подвлаче значај анализе односа између структуре и активности; стога наредно поглавље примењује хеминформатички ML како би повезало структурне мотиве који могу објаснити десетоструку разлику у потенцији између наших ЕУ и потенције органо/тимијан уља пријављених у литератури.

4.2. Резултати компјутерске анализе

4.2.1. Калибрационо заснован избор параметра C

У регуларизованој логистичкој регресији у `scikit-learn`-у, C је инверзна мера јачине регуларизације која се примењује на вектор коефицијената (мања вредност C значи јачу регуларизацију (веће "скупљање" коефицијената), док већа вредност C слабију). Одабрана поставка $C = 1,75$ резултирала је унакрсно валидираним калибрационим пресеком -0.0041 и калибрационим нагибом $1,0324$, што указује на одсуство систематског прецењивања или потцењивања (Слика 4.2). Ови резултати потврђују да изабрани ниво регуларизације даје добро калибрисане процене вероватноће за овај скуп података (*scikit-learn: LogisticRegression API Reference*, 2025; *scikit-learn: Probability calibration (User Guide)*, 2025; Van Calster et al., 2019; Yan et al., 2022).

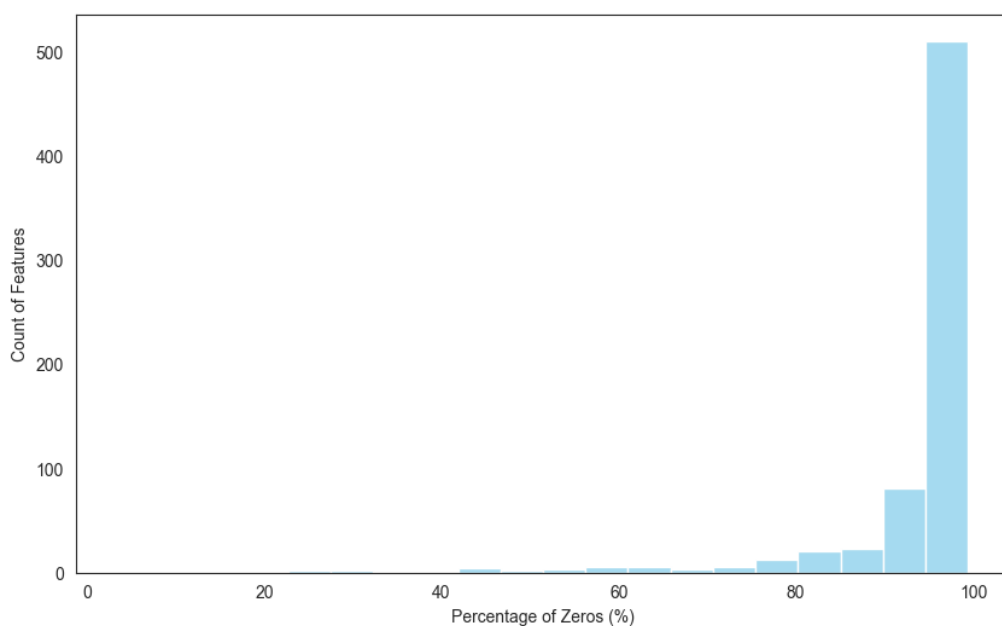


Слика 4.2. Крива калибрације: предиктоване вероватноће модела у односу на посматране исходе; испрекидана линија означава савршену калибрацију, а плава линија учинак у 20 бинова вероватноће

4.2.2. Избор карактеристика

У експлораторном прегледу потврђено је да радна матрица садржи 171 опажање, уз једну бинарну одзивну колону која означава да ли је раст *Salmonella* *Typhimurium* инхибиран (1 = инхибирано, 0 = није). Након уклањања колоне чије су вредности биле искључиво нуле (одсуство потструктуре у свим опажањима), остала су 682 бинарна "фингерпринт" предиктора. Дистрибуција циља била је скоро уравнотежена, са 87

активних у односу на 84 неактивна опажања. Процена проређености показала је да су отисци веома проређени; медијанска карактеристика имала је нулу у 98% узорака (средња вредност = 94%, опсег \approx 3% до 99%). Овај образац додатно је илустрован хистограмом процента нула. Важно је да ниједна колона није била састављена у потпуности од нула и да нигде у скупу података нису уочене NaN вредности. Слика 4.3 илуструје профил проређености 682 бинарна дескриптора отисака. Уочена је изражена десна асиметрија: више од три четвртине битова садржало је нулу у најмање 94% од 171 спектра, а више од половине карактеристика било је неактивно у приближно 98% случајева. Само је неколицина битова имала стопу ненула вредности нижу од 60%, што потврђује да су информативне потструктуре ретки догађаји у претежно "празној" дизајн-матрици. Оваква изражена проређеност имала је две методолошке импликације. Прво, ефективна величина узорка по активној карактеристици знатно је смањена, што увећава варијансу коефицијената и оправдава накнадни bootstrap за стабилизацију процена. Друго, јако проређени, али савршено колинеарни, парови битова могу надувати стандардне грешке; сходно томе, карактеристике са парним корелацијама $|r| > 0,95$ уклоњене су пре обуке модела како би се ублажила мултиколинеарност (Прилог 2).



Слика 4.3. Расподела проређености карактеристика (процент нула) међу 682 бинарна дескриптора отисака

Фактор повећања варијансе (VIF) употребљен је као теоријски мост између парне корелације и мултиколинеарности. За i карактеристику, VIF је дефинисан као

$$\text{VIF}_i = \frac{1}{1 - R_i^2},$$

где је R_i^2 коефицијент детерминације из регресије тог предиктора на све остале; назив потиче отуда што је $1 - R_i^2$ удео варијансе предиктора који *није* заједнички са преосталим коваријатама, па његова реципрочна вредност квантификује за колики фактор се варијанса узорка $\hat{\beta}_i$ повећава у односу на идеалан, међусобно ортогоналан случај (O'Brien, 2007). У специјалном случају са два предиктора, вишеструка корелација се своди на Пирсонову, $R^2 = r^2$, па је $VIF = 1/(1 - r^2)$. Сходно томе, апсолутна корелација $r = 0,95$ имплицира $VIF \approx 10,3$; вредности око 10 одавно се наводе као праг после кога повећане стандардне грешке почињу да подривају инференцију (Pennsylvania State University Department of Statistics, 2025). Иако О'Брајен упозорава да се такви прагови тумаче у контексту величине узорка и јачине сигнала, у овој студији је $|r| > 0,95$ коришћен као прагматичан филтер за уклањање дескриптора који преноси готово идентичну структурну информацију. Елиминација једне променљиве из сваког пара који је прелазио овај лимит преполовила је скуп отисака са 682 на 337 карактеристика, чиме је осигурано да се сви преостали коефицијенти процењују са повећањем варијансе далеко испод уобичајене ризичне зоне, уз очување максималне хемијске разноврсности за даљу анализу.

У другој филтрационој фази, $k = 337$ посткорелационих дескриптора рангирано је PFI методом користећи већ припремљени регуларизовани L_1 логистички модел на развојном скупу. За сваки дескриптор x_j рачунат је скор

$$I_j = \frac{1}{R} \sum_{=1}^R (\text{AUC}_{\text{base}} - \text{AUC}_{j_i}), \quad R = 100,$$

где је AUC_{base} ROC површина добијена без пермутације, AUC_{j_i} ROC након независног пермутовања колоне j у понављању, а R број понављања. Како пермутација разара стварну везу између x_j и одзива, I_j процењује очекивани пад дискриминације (у апсолутним AUC јединицама) који се може приписати том дескриптору (Breiman, 2001; scikit-learn developers, 2025). Примењен је праг задржавања $\tau = 0,01$, тј.

$$S = \{j : I_j \geq \tau\},$$

тако да се карактеристика задржава само ако њено насумично мешање снизи AUC најмање за 0,01 (један процентни поен). Ова величина ефекта је довољно велика да превазиђе узорковни шум при $R = 100$, а довољно мала да сачува маргиналне, али корисне сигнале у веома проређеним хеометријским подацима. Тачно десет дескриптора испунило је $I_j \geq \tau$; преосталих 327 је одбачено, остављајући сажет, нередундантан скуп за даље тумачење и спољашњу валидацију.

4.2.3. Метрике перформанси модела

Модел поново обучен на ових десет карактеристика постигао је средњу унакрсно валидирану тест тачност 0,81, са осетљивошћу 0,83 и специфичношћу 0,80, просечно преко 100 понављања стратификоване петоструке унакрсне провере. Баланс између осетљивости и специфичности указује да модел равноправно предвиђа активне и неактивне класе, што је повољно за виртуелни скрининг где су трошкови лажно позитивних и лажно негативних слични (Chicco & Jurman, 2020). Средњи унакрсно валидиран ROC AUC износио је 0,88; видети Табелу 4.8. Према смерницама (Hosmer et al., 2013), вредности између 0,80 и 0,90 означавају *одличну* дискриминацију. Метрике обуке у Табели 4.8 су унутарсклопне (привидне) оцене на подацима коришћеним за фитовање сваког склопа, док метрике теста одговарају вансклопним оценама за опажања која нису коришћена у том фиту. Дакле, обе колоне настају унутрашњим репсемплингом истог развојног скупа; независан спољни валидациони скуп није био доступан. Разлика између обука-валидација метрика (јаз у генерализацији) била је мања од 3%, без назнака пренаучавања. Ипак, спољашња валидација на другом скупу је неопходна за општу применљивост (Bishop, 2006; Collins et al., 2015; Eertink et al., 2022; Kohavi, 1995). Циљ овог рада био је пре свега да идентификује и разуме карактеристике које додају сигнал логистичком моделу, а не да креира алат за предвиђање; због ограничене величине скупа, интерне унакрсно валидиране процене су довољне за почетну анализу, док је пуна спољна валидација планирана за будући рад.

Табела 4.8. Метрике обуке и теста коначног модела логистичке регресије

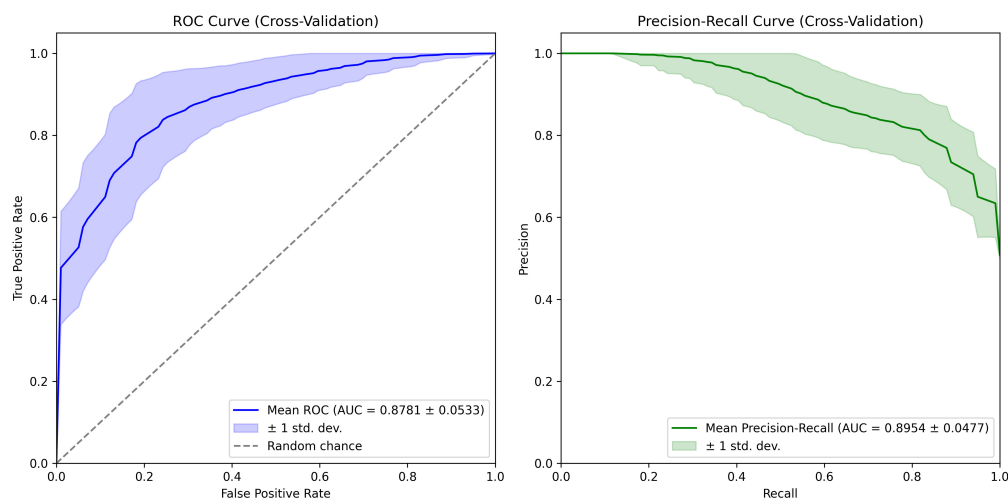
Скуп	Acc	Sens	Spec	PPV	NPV	F_1	MCC	AUC
Обука	0,84	0,87	0,82	0,83	0,86	0,85	0,69	0,91
Тест	0,81	0,83	0,80	0,81	0,82	0,82	0,63	0,88

Acc = тачност; Sens = осетљивост; Spec = специфичност; PPV = позитивна предиктивна вредност; NPV = негативна предиктивна вредност; F_1 = F1-скор; MCC = Метјузов коефицијент корелације; AUC = површина под ROC кривом.

Унутрашња неизвесност полазног скупа произилази из агрегирања антибактеријских тестова из више од стотину независних истраживања, са различитим густинама инокулума, медијумима и протоколима инкубације. Поред тога, при генерисању проширених конективних (Morgan) отисака понекад се различита атомска окружења мапирају на исти бит ("колизије"). Ринекер и Ландрум су показали да стопе колизија расту са дужином отиска, али се стабилизују на 2048 битова (Riniker & Landrum, 2013). На уоченом нивоу проређености (5,6%) вероватноћа да две неповезане потструктуре колидирају у свих 171 узорак уља мала је, али се ефекат не може у потпуности искључити и вероватно доприноси преосталој калибрационој грешци.

Упркос овим ограничењима, добијени резултати у складу су са новијим хеминформатичким студијама природних производа. Barros de Menezes *и сар.* навели су тачност 0,84 за самоорганизујућу мапу и 0,71 за модел случајне шуме у предвиђању антипаразитске активности етеричних уља, уз сличан компромис између сложености и генерализације (Barros de Menezes et al., 2022).

Унакрсно валидиране ROC и криве прецизности и подсетљивости (PR) на Слици 4.4 показују да модел са 10 битова стабилно разликује активна од неактивних уља. ROC крива (лево) илуструје дискриминацију, са сенчењем које представља варијабилност TPR (± 1 SD). PR крива (десно) приказује однос прецизности и подсетљивости за позитивну класу. За пет стратификованих склопова, просечна ROC крива лежи изнад дијагонале, са средњим AUC $0,88 \pm 0,05$. Сенчено подручје (± 1 SD) не тежи случајној линији, што указује на робусност кроз поделе. PR крива има средњу површину $0,90 \pm 0,05$ са малом варијансом, потврђујући високу подсетљивост и прецизност иако је баланс класа око 50%. Заједно, ове криве потврђују табеларне метрике и показују поуздано рангирање активних уља уз минималну варијацију међу склоповима (Прилог 5).



Слика 4.4. ROC и криве прецизности и подсетљивости из поновљене стратификоване унакрсне валидације са k поделама преко 500 модела

4.2.4. Анализа утицаја карактеристика

`sklearn.inspection.PartialDependenceDisplay` коришћен је за испитивање десет, пермутацијом изабраних, Morgan битова. PD (Слика 4.5) визуелизују маргинални утицај предиктора на излазну вероватноћу, односно начин на који промене у датом карактеристици утичу на предвиђену вероватноћу позитивне класе док се просечно "уклањају" ефекти свих осталих (Friedman, 2001; Molnar, 2022). Равне криве указују на мали допринос, док нагло растуће или опадајуће криве означавају фрагменте

чије присуство снажно помера вероватноћу предвиђања високе активности против *Salmonella*. Слика 4.5 показује да пет битова (75, 787, 835, 1607 и 1754) повећава вероватноћу позитивне класе: када је бит присутан, шанса расте са 0,45 на 0,65-0,95. Других пет (549, 1017, 1143, 1604 и 1969) снижава ту шансу за око 0,20-0,30. Битови 787 и 1607 дају највећи позитиван помак, док 1143 има најслабији ефекат. Слично је (Shin et al., 2023) PD анализом рационализовао модел заснован на стаблима где је разликовао активне од неактивних терпеноида против *Listeria* spp.

Како PD криве просечно фиксирају заједничку расподелу свих нефокусних променљивих, оне изолују маргинални, смерно специфичан утицај сваког бита, допуњујући глобалне пермутационе скореве информацијом о знаку и величини ефекта.

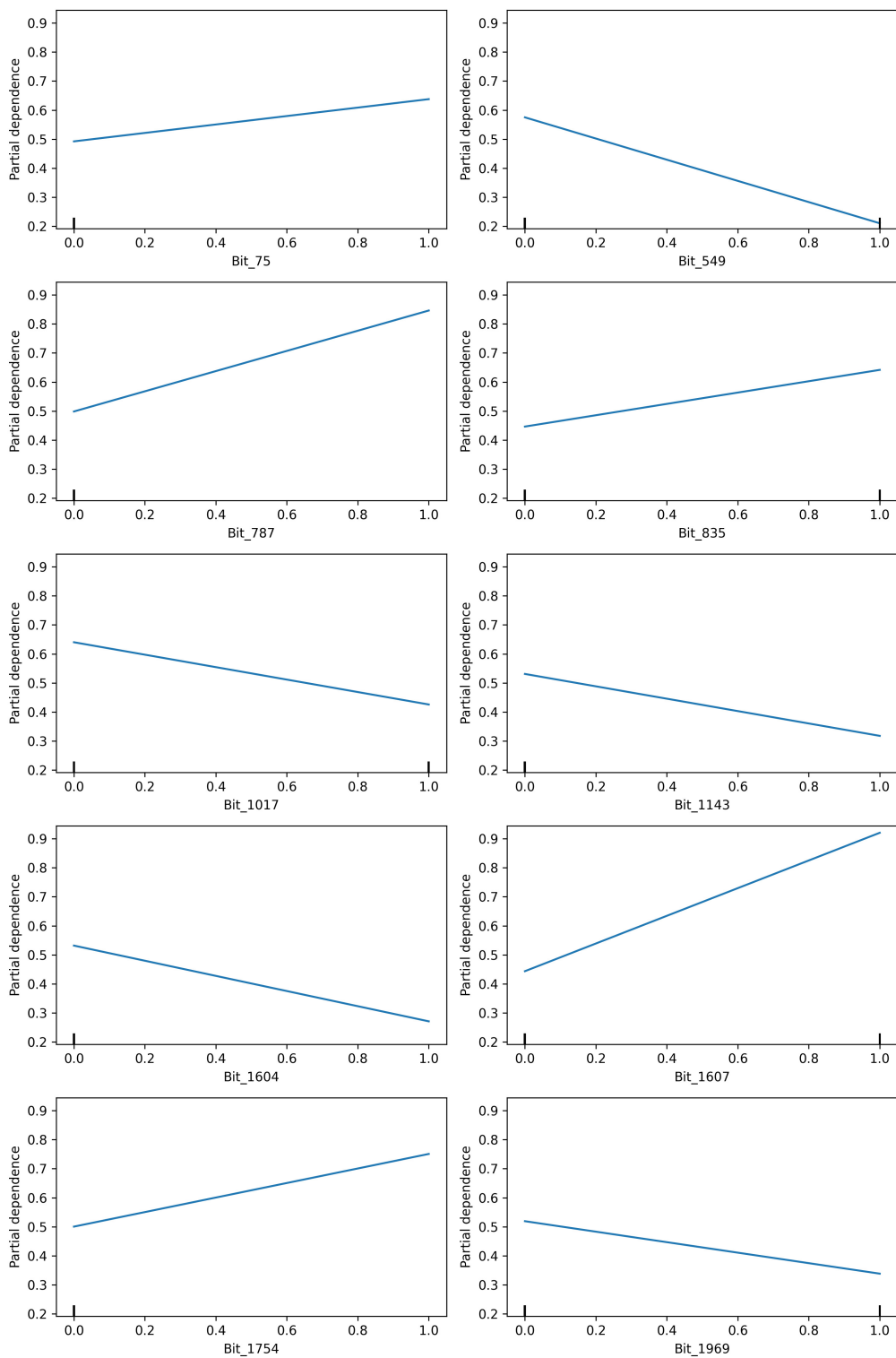
Morgan бит је индекс у hash-вектору дужине 2048; сам по себи показује само да неко атомско окружење радијуса 2 постоји. Да бисмо открили конкретну хемију иза бита, потребно је декодирање преко RDKit bitInfo мапе да се види који атоми у молекулу постављају тај бит.

4.2.5. Мапирање битова на мотиве

Десет битова које је изабрао логистички модел са L_1 казном, оптимизован помоћу *saga*, прво је евидентирано преко $\{j : \hat{\beta}_j \neq 0\} \rightarrow [\text{Bit}_{75}, \dots, \text{Bit}_{1969}]$. За сваку такву колону, главна матрица отисака филтрирана је на $\{x_i : x_{ij} = 1\}$; све преостале Bit_* колоне су затим одбачене, а редови записани у *features/Bit_j.csv*. За придруживање структуре, свака датотека је унутрашње спојена (кључ: *Plant_Species*, SMILES) са курираном хемотаксономском табелом која чува канонске SMILES записе (кодирање Daylight) и количинске концентрације. Поље BitInterpretations је рашчлањено Python-овом `ast.literal_eval`; унос речника чији се кључ поклапа са индексом бита дао је текстуални опис потструктуре (нпр. Bit_1607 → фенолна хидроксилна група на ароматичном прстену). На крају, хемијска имена су пронађена у консолидованој референтној листи, и креиран је уредан лист са $\langle \text{SMILES}, \text{хемијско име}, \text{концентрација}, \text{биљна врста и интерпретација бита} \rangle$ за сваки појавни облик предиктивног фрагмента (Прилог 9). Ово детерминистичко мапирање враћа структурни контекст сваке статистичке карактеристике и пружа транспарентну везу између битова отисака и конкретних молекулских јединица, олакшавајући SAR анализу (Landrum, 2024; Weininger, 1988).

4.2.5.1. Коефицијенти модела

Слика 4.6 и Табела 4.10 приказују bootstrap-оване процене коефицијената за карактеристике логистичког модела, укључујући 95% CI. Средња процена (тачке) представља просечан ефекат сваке карактеристике, док линије грешке (траке) указују



Слика 4.5. PD: маргинални ефекат сваке карактеристике на предвиђања логистичке регресије

на неизвесност засновану на 1000 bootstrap итерација. Карактеристике са коефицијентима удаљенијим од нуле дају снажнији допринос. Интеграција *Morgan* отисака (Табела 4.1) са логистичким коефицијентима (Слика 4.6) објашњава десетоструку разлику између уља тестираних у овој студији у погледу антимицробне активности (најбољи МИК $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ за лаванду) и МИК вредности пријављених за оригано и тимијан (Ramos et al., 2025; Sateriale et al., 2023; Soković et al., 2010). Кључни дискриминативни мотив, хидроксил на бензеновом прстену, доминирао је у литературним узорцима захваљујући тимолу или карвакролу, често чинећи између 50 и 80% укупних волатила, али је у нашим лавандинама (78% линалилацетат + линалол) и бергамоту (80% линалилацетат + линалол) био готово одсутан. Ове естерске и терцијарни алкохоли рангирани су неутрално или негативно, у складу са слабијом анти *Salmonella* активношћу у односу на фенолне хидроксиле (Di Pasqua et al., 2006; Dogman & Deans, 2000). Слично, уље чајевог дрвета преовлађује терпинен-4-ол (45%), а пеперминт изоментол (49%); оба су без ароматичног ОН фрагмента, па показују ограничену потенцију. Ове саставне разлике, посебно нижи удели ароматичних фенола у лаванди и бергамоту, знатно доприносе уоченој десетострукој разлици у потенцији, што подвлачи вредност структурно активносних анализа.

Табела 4.10. Коефицијенти модела и 95% CI за карактеристике логистичког модела

Карактеристика	Интерпретација	Средња вредност	Доња граница CI	Горња граница CI
Bit_1607	хидроксилна група везана за бензенов прстен	3,85	2,93	4,76
Bit_549	разграната алкил бочна грана на бицикличном скелету	-3.08	-4.84	-1.32
Bit_787	део фуранског прстена	2,48	-0.09	5,05
Bit_1604	хидроксил везан за терцијарни угљеник	-2.14	-3.74	-0.54
Bit_1143	део угљоводоничног ланца	-1.69	-3.28	-0.10
Bit_1754	пропенилна група на бензену	1,64	0,08	3,20
Bit_1017	етилна група на цикличној структури	-1.57	-2.53	-0.61
Bit_835	алкенска група на бензену/циклогексену	1,42	0,44	2,39
Bit_1969	део бицикличне структуре	-1.19	-2.57	0,20
Bit_75	ацетатна група	1,06	-0.28	2,39

CI = 95% интервал поузданости на основу 1000 bootstrap реплика. Коефицијенти су изражени у јединицама логаритамског односа вероватноћа за предвиђање активног стања ($y = 1$) насупрот неактивног ($y = 0$) према *S. Typhimurium*. Позитивне вредности повећавају, а негативне снижавају предвиђену вероватноћу биоактивности.

Табела 4.10 сумира bootstrap анализу (1000 итерација) логистичког модела над молекулским отисцима. За сваку задржану карактеристику колона "Средња вредност" приказује просечни коефицијент, док "Доња/Горња граница CI" представљају 2,5. и 97,5. перцентил, чиме се формира емпиријски интервал поузданости од 95%.

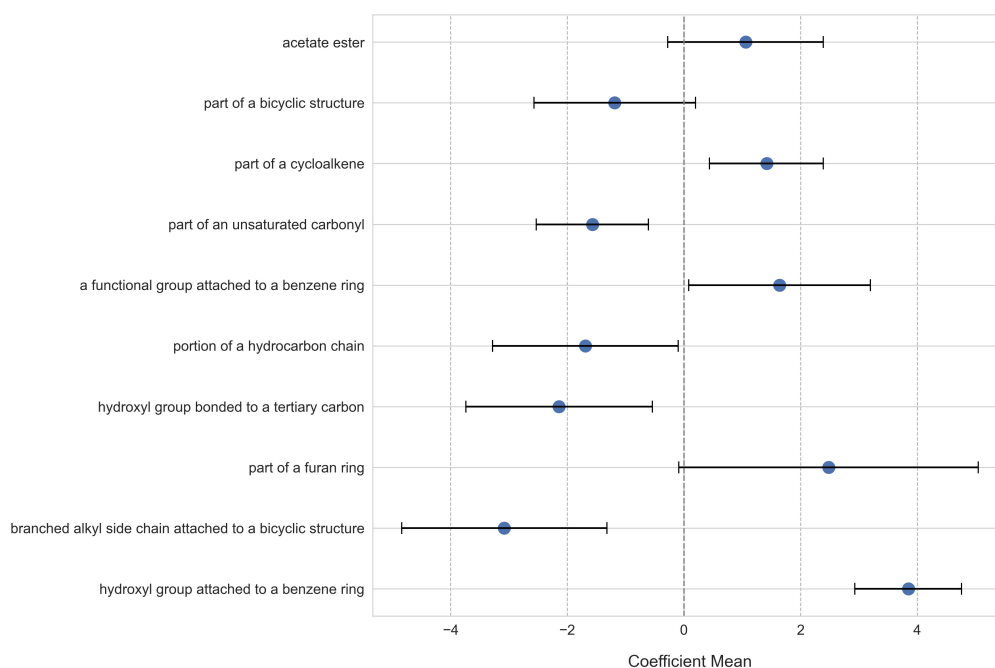
Како логистичка регресија повезује бинарни исход "инхибиран раст *Salmonella*" ($y = 1$) насупрот "није инхибиран" ($y = 0$) преко logit функције, сваки коефицијент β_j је изражен у јединицама логаритамског односа вероватноћа:

$$\text{logit}[p(y = 1 | \mathbf{x})] = \log\left(\frac{p}{1-p}\right) = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j,$$

где је $p = p(y = 1 | \mathbf{x})$ предвиђена вероватноћа позитивног исхода за вектор карактеристика \mathbf{x} , β_0 је слободни члан (интерцепт), β_j коефицијент за j -ту карактеристику, x_j вредност j -те карактеристике, а k укупан број карактеристика у моделу. Јединич-

но повећање x_j мења логаритам односа шанси за β_j ; експоненцирањем се добија однос шанси $\exp(\beta_j)$, који је често интуитивнији (Payong & Mukherjee, 2025; Pedregosa et al., 2011). Логит трансформација мапира $(0, 1)$ на цео \mathbb{R} , обезбеђујући да предвиђене вероватноће остану строго између 0 и 1, уз погодну конкавну лог-вероватноћу за нумеричку оптимизацију (Hosmer et al., 2013; Pedregosa et al., 2011).

У Табели 4.10, карактеристике чији CI не обухвата нулу - посебно снажно позитивни Bit_1607 (фенолни прстен са OH) и изразито негативни Bit_549 (разграната алкил грана на бицикличној основи) - представљају статистички робусне покретаче који подижу, односно снижавају вероватноћу антимикуробне активности (AA). Насупрот томе, интервали који обухватају нулу (Bit_787, Bit_1969) указују на несигуран или од контекста зависан допринос. Додатна колона "Интерпретација" преводи сваки криптични идентификатор у препознатљив мотив, повезујући статистички доказ са хемијски смисленим обрасцима.



Слика 4.6. Bootstrap-овани коефицијенти логистичке регресије са 95% CI

Уочљиво је да су CI релативно уски за фенолне и бицикличне карактеристике (стабилна селекција), што указује на стабилну селекцију ових обележја кроз поновљена узорковања, док шири CI за фурански прстен упућују на контекстуално зависно понашање (Слика 4.6). Ово се поклапа са експерименталним резултатима: лимонен, чије циклоалкенско језгро утиче на флуидност мембране и убрзава улаз фенола, испољава сличне синергистичке профиле (Di Pasqua et al., 2006; Tak & Isman, 2017). Резултати bootstrap-а подржавају класичне корелације између молекулске структуре

и активности: при чему ароматични фенолни хидроксили носе примарни бактерицидни ефекат, док гломазни разгранати терпени модификују ефекат, што потврђује интерпретабилност модела (Soković et al., 2010). Као што се види из Табела 4.12 и 4.14, разлагање сваког једињења на Morgan битове открило је преклапања потструктура у групама високе и ниске активности, јер молекули често садрже и активне и неактивне мотиве. На пример, код еугенил ацетата, фенолно језгро носи потенцију, а не његови СС сегменти. Додатно, синергија је честа у смешама етеричних уља: непенолни терпени као *p*-цимен, γ -терпинен или лимонен сами су слаби, али повећавају флуидност и убрзавају дифузију фенолних протонофора (карвакрол, тимол, еугенол) у липидни двослој, при чему цела мешавина постаје јача од збирног ефекта (Bassolé & Juliani, 2012; Hyldgaard et al., 2012; Ultee et al., 1999). Како Morgan хеширање независно кодира потструктуре, угљоводонични битови који само *помажу* уносу добијају негативне или нулте коефицијенте када се појаве без фенолног партнера (нискоактивна уља), али се и даље јављају у високоактивном скупу тамо где коегзистирају са активним фенолом. Преклапање је стога хемијски реалитет: ефикасност често настаје из интеракција, а не из простих збирова.

4.2.5.2. Пирсонова корелациона матрица

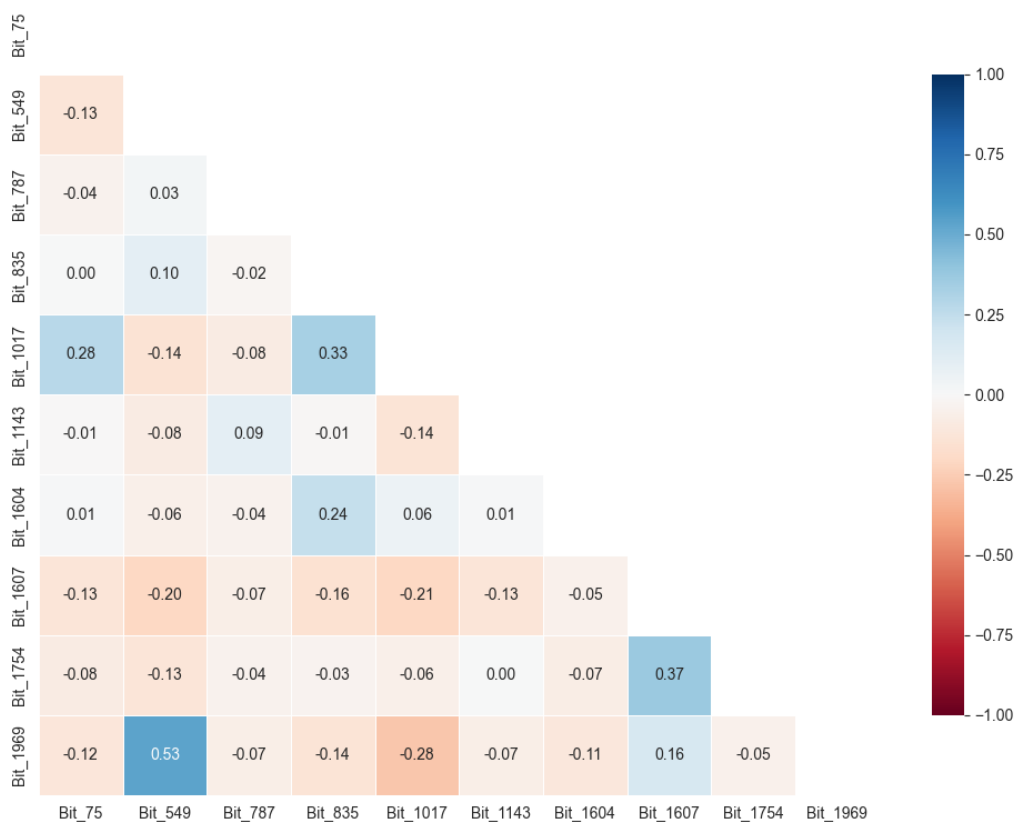
Слика 4.7 приказује доњу троугаону Пирсонову корелациону матрицу за коначних десет битова након филтера 0,95 и PFI прага 0,01 (Прилог 6). Апсолутне корелације нису прелазиле 0,53, што потврђује практичну ортогоналност. Једина умерена позитивна асоцијација, $r = 0,53$, јавила се између Bit_549 (разграната алкил бочна грана на бицикличном скелету) и Bit_1969 (генерички бициклични фрагмент); истовремено јављање хемијски је очекивано (нпр. β -кариофилен) (Di Sotto et al., 2020). Слабија, али уочљива корелација $r = 0,37$ повезала је Bit_1607 (фенолни прстен са ОН) са Bit_1754 (пропенил на ароматичном прстену), што одражава фенилпропаноиде попут еугенола (Haro-González et al., 2021). Остали коефицијенти су били $|r| \leq 0,33$; најнегативнији ($r = -0,28$ између Bit_1969 и Bit_1604) сугерише да бициклични секвитерпени ретко носе терцијарне ОН, у складу са ниском поларношћу скелета (Di Sotto et al., 2020). Како је $|r| < 0,55$ за све парове, имплицирани VIF остају испод 2, па мултиколинеарност неће надувати стандардне грешке. За два предиктора

$$\text{VIF} = \frac{1}{1 - r^2},$$

па за најгори случај ($|r| = 0,55$)

$$\text{VIF}_{\max} = \frac{1}{1 - 0,55^2} = \frac{1}{1 - 0,3025} \approx 1,43 < 2.$$

Како се VIF између 5 и 10 обично наводи као праг за проблеме колинеарности, вредности испод 2 су занемарљиве.

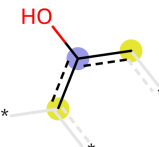
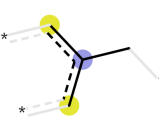
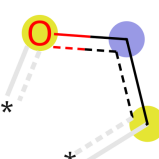
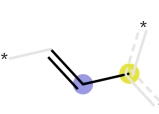
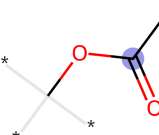


Слика 4.7. Парне Пирсонове корелације за десет коначних дескриптора отисака

4.2.5.3. Предиктори високе анти *Salmonella* активности у ЕУ

Morgan битови идентификовани као дискриминативни за активност против *Salmonella* (1607, 1754, 787, 835 и 75) враћени су на своје потструктуре и даље на именоване конституенте у GC-MS библиотекама. Ове потструктуре углавном одговарају терпеноидима и фенилпропаноидима.

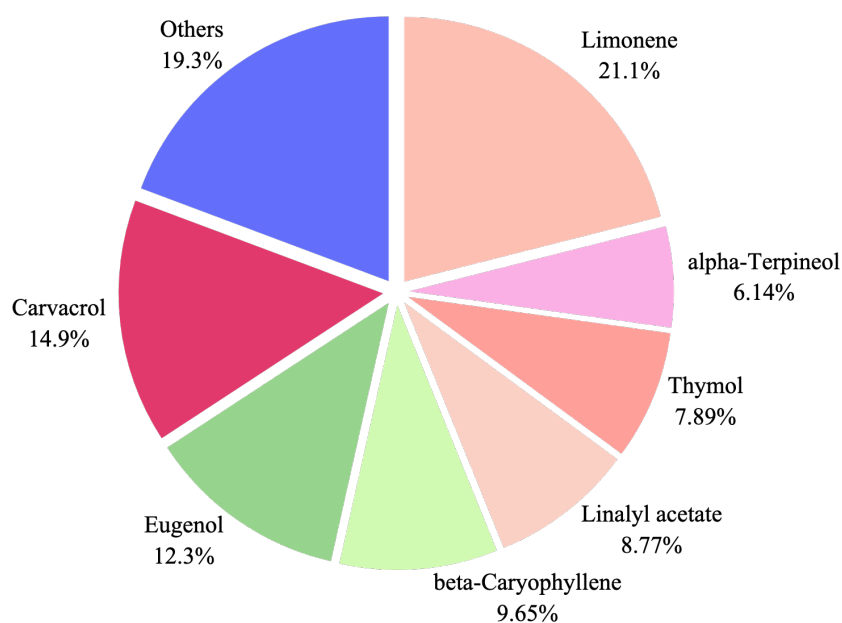
Табела 4.12. Молекулски фрагменти најјаче повезани са активношћу против *S. Typhimurium*

SMILES	Фрагмент	Илустрација ^а	Бит	Хемијска једињења	Поткрепљујуће студије
<chem>cC(C)O</chem>	алкил фенол (мотив карвакрола/тимола)		1607	карвакрол, еуенол, тимол	(Helander et al., 1998; Rota et al., 2004; Trevisan et al., 2018)
<chem>cC(C)C</chem>	алкилароматик (изопропил/етил на бензену)		1754	2-фенилетанол, еуенол, еугенил ацетат	(Bakkali et al., 2008; Dorman & Deans, 2000; Ulanowska & Olas, 2021)
<chem>cCO</chem>	фуранил/фенил алкоксил мотив		787	фурфурал	(Chai et al., 2013; Youssef Kh. M and Shatta A.A., 2006)
<chem>C=Cc</chem>	алилни или винил ароматични мотив		835	(<i>E</i>)-анетол, бис-клогермакрен, етилцинамат, гермакрен D, лимонен, α-терпинеол, α-терпинил ацетат, β-бизаболен, β-кариофилен	(Burt, 2004; Fink, 2023; Hyldgaard et al., 2012)
<chem>COC(C)=O</chem>	ацетатни естар (линалилацетат/терпинил ацетат)		75	линалилацетат, α-терпинил ацетат	(Burt, 2004; Dorman & Deans, 2000)

^а Централни атом је плав; ароматични су жути, а алифатични сиви.

Слика 4.8 приказује релативну учесталост појединачних једињења повезаних са предиктивним битовима у свим анализираним спектрима. Лимонен је најучесталији (21,1%), затим карвакрол (14,9%), еуенол (12,3%), β-кариофилен (9,7%), линалилацетат (8,8%), тимол (7,9%) и α-терпинеол (6,1%). Сегмент "Остали" обухвата преосталих 19,3%. Ови удели истичу доминацију одређених терпена и фенилпропаноида

(нпр. лимонен и карвакрол) и хемијску разноликост ређих волатила.



Слика 4.8. Релативна учесталост једињења чије потструктуре су повезане са предиктивним битовима за активност против *S. Typhimurium*

Доминација фенолних ароматика у складу је са обимним доказима о њиховој улози у антибактеријској ефикасности многих ЕУ. Карвакрол и тимол, феноли изведени из *p*-цимена, разликују се само по оријентацији ОН и показују МИК до $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ против *S. Typhimurium*; уље *O. vulgare* (карвакрол као главна компонента) има МИК $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, док *T. vulgaris* (тимол) има $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ (Soković et al., 2010).

Еугенол, алилфенолни фенилпропаноид који, као и карвакрол или тимол, има слободан фенолни ОН (хеширан у бит 1607; Таб. 4.12, Слика 4.8), циља цитоплазматску мембрану, а бактерицидност је посредована ROS продукцијом: 1% (v/v; $\approx 10,6 \text{ mg mL}^{-1}$) еугенела смањио је вијабилност *S. Typhimurium* за $> 80\%$ у LB на $37 \text{ }^\circ\text{C}$; ко-третман тиоуреом (150 mM) или 2,2'-дипиридилном (500 μM) значајно је умањио убијање, што потврђује ROS-зависни механизам (Aljuwayd et al., 2024).

Синергија фенола и терпенских угљоводоника квантификована је у наноемулзији тимијан+клинчић+цимет+бели лук, где су мешовите капљице (тимол, карвакрол, кариофилен, циннамалдеhid, сумпорни деривати) снизиле МИК за *S. Typhimurium* са $0,625$ на $0,312 \text{ mg mL}^{-1}$ (Jamir et al., 2024).

Слично, лимонен и β -кариофилен сами имају умерену активност, али значајно појачавају феноле мењајући мембрану. Подинхибиторни лимонен мења незасићене ма-

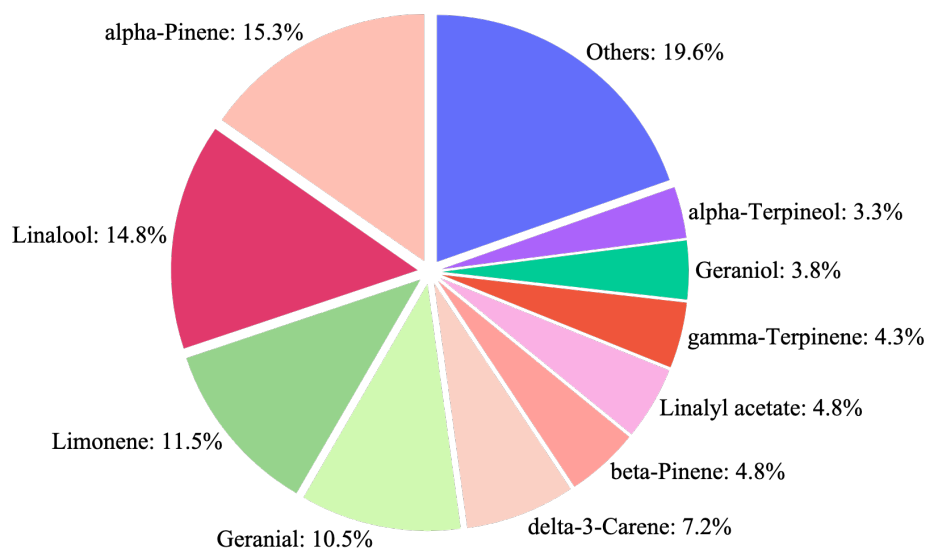
сне киселине у мембрани *E. coli* и *Salmonella*, олакшавајући улаз фенола (Di Pasqua et al., 2006). Так и Isman су показали пораст интрацелуларног тимола кад је ко-примењен са лимоненом (снижење површинског напона, убрзана дифузија) (Tak & Isman, 2017). Најјачи појачивачи тимола били су угљоводоници (3-карен, *p*-цимен, лимонен, α -и γ -терпинен).

У нашем скупу, *Satureja thymbra* и *Thymus zygis* имали су највише тимола (66,0%, 51,65%), док *Origanum syriacum* и *O. onites* доминира карвакрол (88,3%, 75,0%); оба деле фенолни бензенски нуклеус који омогућава протонофорске ефекте (Gören et al., 2004; Mohamad et al., 2021; Peñalver et al., 2005). *Pimenta dioica* садржи 87% еу-генола; у *Mimusops elengi* 2-фенилетанол достиже 37,8%; *Tamarindus indica* богат је фурфуралом (72,4%); *Mentha* \times *citrata* има 66,2% линалилацетата и пријављена је као снажан инхибитор *S. Typhimurium* (Verma et al., 2016); естар повећава липофилност и пенетрацију, надмашујући матични алкохол линалол (Dorman & Deans, 2000). Ове врсте представљају богате изворе биоактивних конституената, у складу са прегледима потенцијала ЕУ (Almuzaini, 2023; Escalona-Arranz et al., 2010; Gündüz et al., 2010). Табела 4.12, уз базу Essential Oils Database (<http://essentialoils.org/db>), омогућава циљано бирање уља богатих мотивима који управљају високим АА против *S. Typhimurium*.

4.2.5.4. Предиктори ниске анти-*Salmonella* активности у етарским уљима

Слика 4.9 приказује релативну учесталост конституената у узорцима које логистички модел предвиђа као нискоактивне против *S. Typhimurium*. Графикон претежно приказује монотерпенске угљоводонике и њихове нефенолне оксигенисане деривате: α -пинен (15,3%), линалол (14,8%), лимонен (11,5%), геранијал (10,5%), δ -3-карен (7,2%); мањи удели β -пинен (4,8%), линалил-ацетат (4,8%), γ -терпинен (4,3%), гераниол (3,8%), α -терпинеол (3,3%). Додатно, хетерогена категорија "Остали" (19,6%) обухвата више од двадесет неуобичајених молекула, при чему сваки појединачно доприноси са мање од 3%.

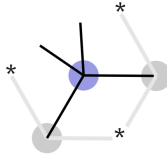
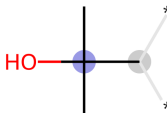

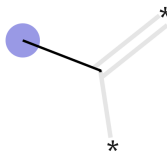
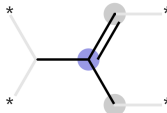
Логистички модел је рангирао бицикличне угљоводонике и дуге алифатичне ланце као најјаче негативне предикторе антимицробне активности (Таб. 4.14 и Слика 4.9). Познато је да дуголанчане масне киселине слабо пенетрирају кроз спољну мембрану Грам-негативних бактерија, док кратколанчане и средњеланчане масне киселине лакше продиру и нарушавају интегритет липидног двослоја (López-Colom et al., 2019). У нашем скупу података, *Catharanthus roseus* садржи 64,9% хексадеканске киселине, док *Osmanthus fragrans* 17,4% линоленске. Иако недостају подаци о антимицробној активности за њихова ЕУ, етанолни и метанолни екстракти *C. roseus*



Слика 4.9. Релативна учесталост једињења чије потструктуре су повезане са ниском активношћу против *S. Typhimurium*

показују умерену инхибицију раста *S. Typhimurium* (Patil & Ghosh, 2010). *Pinus nigra* J.F. Arnold и *P. pinaster* Aiton (49% и 71% α -пинена) показују слабу активност према *S. Typhimurium* (Keeratirathawat et al., 2013). Више студија извештава да оксигенисани монотерпеноиди, као што су карвакрол и тимол, доследно показују јачу активност у поређењу са монотерпенским угљоводоницима, будући да фенолне хидроксилене групе појачавају водоничне везе, хидрофобне интеракције и π - π слагање са компонентама мембране (Guimarães et al., 2019; Soković et al., 2010; Zhuang et al., 2019).

Табела 4.14. Молекулске подструктуре повезане са *ниском* активношћу против *S. Typhimurium*

SMILES	Фрагмент	Илустрација ^a	Бит	Хемијска једињења	Студије
<chem>CC(C)(C)C</chem>	разграната алкил грана на бицикличној структури		549	α -пинен, β -пинен, δ -3-карен	(Soković et al., 2010)
<chem>CC(C)(C)O</chem>	терцијарни алкохол (ОН на терцијарном C)		1604	α -терпинеол	(Fink, 2023)
<chem>CCCCC</chem>	део угљоводоничног ланца		1143	хексадеканска киселина, линоленска киселина	(López- Colom et al., 2019)
<chem>CC</chem>	део незасићеног карбонила		1017	(<i>E</i>)- β -оцимен, карвон, цитронелал, цитронелол, еугенил ацетат, геранијал, гераниол, геранил ацетат, лимонен, линалол, линалил ацетат, мирцен, α -фарнезен, α -терпинил ацетат, β -бизаболен, β -елемен	(Burt, 2004; He- lander et al., 1998)
<chem>CCC1CCC1(C)C</chem>	део бицикличне структуре		1969	α -пинен	(Soković et al., 2010)

^a Централни атом је плав; ароматични жути, алифатични сиви.

Претходне SAR студије указују да нефенолни терпени могу утицати на флуидност мембране, али им недостају ароматични ОН или конјуговани карбонили за ефикасно протонско цурење, индукцију оксидативног стреса и брзу бактерицидност. Класична студија Хеландера показала је да фенолни монотерпеноиди карвакрол и тимол пермеабилушу спољну мембрану *S. Typhimurium*, ослобађају ЛПС и троше АТФ при концентрацијама од 1 до 3 mM, док (+)-карвон има мале ефекте и на 10 mM, а цин-

намалдехид инхибира раст без видног поремећаја мембране (Helander et al., 1998). Дорман и Динс су у систематском прегледу методом агар бунара показали да су тимол и карвакрол дали најшире зоне (26-53 mm) и инхибирали све тест сојење, док су нефенолни алкохоли (нпр. линалол и његов ацетат) давали и до ред величине мање зоне и често нису инхибирали поједине таксоне (Dorman & Deans, 2000). Овај ранг подржава наш логистички модел у коме битови за ароматични ОН носе највеће позитивне тежине, а јединице за терцијарни алкохол и ацетате негативне (Табеле 4.12-4.14).

Di Pasqua *u cap.* су изложили *E. coli* O157:H7, *S. enterica* Typhimurium, *P. fluorescens*, *B. thermosphacta* и *S. aureus* 0,2 М тимолу, карвакролу, еугенолу, лимонену и цинамалдехиду и пратили деградацију мембране GC-MS липидним профилисањем и SEM-ом. Сваки третман изазвао је нагли пад удела незасићених масних киселина, док је истовремено дошло до пораста удела њихових засићених хомолога. Ово указује на промену бактеријске мембране и то у погледу веће крутости и мање флуидности. Незасићени ланци масних киселина формирају прегибе који онемогућавају густо паковање фосфолипида. Губитак ових компоненти, уз повећање удела праволинијских, засићених ланаца, појачава Van der Waals-ове силе, што доводи до компресије липидног двослоја и смањене латералне дифузије. У практичном смислу, хелијски омотач постаје чвршћи, што смањује пурење протона и нарушава функцију трансмембранских транспортера који за конформационе промене зависе од мобилности липида. Уочено бактерицидно дејство састојака ЕУ стога је засновано на физичко-хемијском колапсу функционалности мембране, а не на једној специфичној реакцији типа рецептор-лиганд. Посебно је значајно да је циметалдехид усмерио профил ка хептадеканској киселини, чији је удео порастао са трагова ка више од 70% укупних липида, што указује на то да су хелије прешле на инкорпорацију хептадеканоата са непарним бројем угљеника (C17:0), иницираног пропионил-СоА, као подразумеваног крајњег продукта. Овако "поремећен" липидни профил се уобичајено тумачи као биохемијска "слепа улица": синтаза масних киселина типа II зауставља се након ограниченог броја кондензационих корака, десатуразе остају неактивне, а мембрана се поново изграђује готово искључиво од праволинијских, засићених C17 ланаца. Настали липидни двослој постаје изузетно компактан, латерална дифузија се драстично успорава, а витални енергетски повезани процеси, попут транслокације протона, уноса хранљивих материја и рада ефлукс пумпи, механички су онемогућени. Другим речима, пораст удела хептадеканске киселине представља липидомски "отисак прста" терминалног отказивања мембране. Фенолни терпеноиди су такође претежно повећали фракцију палмитинске киселине и снизили однос незасићених и засићених масних киселина (UFA/SFA) до 40 процентних поена. Ове

промене у саставу подударале су се са видљивим деформацијама ћелијског омотача: фенолна једињења и циметалдехид изазвали су појаву удубљења (blebbing-a) и, код *S. aureus*, потпуну лизу ћелија, док је лимонен изазвао умерено омекшање које је дисипирало протон-моторну силу без катастрофалног пуцања. Збирно посматрано, подаци потврђују да лимонен сам по себи чини структуру мембране растреситијом (лабавијом), због чега је за потпуну бактерицидност неопходна његова истовремена примена са фенолним једињењима, што је у складу са негативним коефицијентима додељеним нефенолним терпенским битовима (дескрипторима) у нашем моделу (Di Pasqua et al., 2006).

Управљање биофилмовима изазов је у медицини, прехранбеној технологији и хигијени због повећане толеранције (Fink, 2023). Иако су класични дезинфицијенси ефикасни, њихова појачана употреба има еколошке и токсиколошке последице и потенцијал за унакрсну резистенцију (Dewey et al., 2021; Lobie et al., 2021). Стога се терпеноиди поново разматрају као биоразградиве алтернативе са GRAS статусом и са више мета деловања (Burt, 2004; Gupta et al., 2021). Fink (2023) су систематски упоредили еугенол, α -терпинеол и (*R*)-(+)-лимонен са хлорхексидином у *E. coli*, *S. aureus* и *S. Typhimurium*: МИК је потврдио еугенол као најпотентнији ($0,10 \text{ mg mL}^{-1}$), затим α -терпинеол ($0,10$ до $0,20$), па лимонен ($0,9$ до $1,9$), док је хлорхексидин био наномоларни еталон (Fink, 2023). На 24 h биофилмовима (15 min контакт), еугенол је уклонио до 67% *E. coli* биомасе; α -терпинеол је постигао највеће смањење вијабилности ($3,8 \text{ log}$) на $3 \times$ МИК; лимонен је захтевао милимоларне дозе. Ови налази подржавају тезу да изабрани терпеноиди могу парирати или надмашити катионске антисептике у кратком контакту, уз мањи еколошки терет; уједно упозоравају да је лимонен сам недовољан против зрелих *Salmonella* биофилмова (Condell et al., 2012). Преваленца ових слабијих угљоводоника и терцијарних алкохола објашњава негативне регресионе тежине њихових Morgan битова (Таб. 4.14) и делимично разјашњава ограничене антибактеријске перформансе лаванде, бергамота, чајевог дрвета и пеперминта у овој студији.

5. Закључци

5.1. Налази

Четири комерцијална етерична уља - чајевца (*Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel), лаванде (*Lavandula angustifolia* Mill.), бергамота (*Citrus bergamia* Risso & Poit.) и пеперминта (*Mentha × piperita* L.) - анализирана су GC-MS методом, при чему су добијени хроматограми са више од 80 раздвојених испарљивих конституената. Свако уље се поклопило са очекиваним хемотипом. Уље чајевца је показало класичан образац са терпинен-4-олом, при чему је овај једини оксигенисани монотерпен доминирао спектром са 44,7%. Поред тога, угљоводонични пар γ -терпинен (19,5%) и α -терпинен (7,8%) повећао је удео C_{10} монотерпена на преко седамдесет процената укупне површине пикова. Насупрот томе, и лаванда и бергамот су показали оксигенисани монотерпеноидни потпис карактерисан паром линалоол/линалил-ацетат, али им се квантитативни однос разликовао. Лаванда је садржала 35,7% линалоола и 42,3% линалил-ацетата, док је бергамот имао 22,9% линалоола и знатно више линалил-ацетата (57,5%), уз цитрусни тон лимонена. Пеперминт је показао профил са високим садржајем ментола, при чему је сам изоментол чинио 49,3%. Ово је праћено ментил-ацетатом (5,6%) и неколицином мање заступљених оксигенисаних монотерпена, укључујући ментофуран, ментол и ментон. Значајно је да је збирни удео идентификованих испарљивих једињења премашио 98% у свим случајевима, што указује на аналитичку потпуност и аутентичност серија. У целини, ови подаци потврђују да сва четири уља задовољавају одговарајуће ISO спецификације и истичу значајне квантитативне разлике међу доминантним конституентима. Те разлике објашњавају варијације у биолошким активностима ових уља.

Применом електростатичке екструзије, емулзија типа уље-у-води и калцијум-алгинатне матрице, ефикасно су енкапсулирана сва четири етерична уља, уз очување интегритета куглица након лиофилизације. Празне хидрогел куглице имале су просечан пречник 2,00 mm и изгубиле су око 30% величине током дехидратације (на $1,40 \pm 0,20$ mm; $k = 0,302$). Насупрот томе, присуство 4% (m/m) диспергованог уља смањило је почетни пречник куглица на 1,46-1,60 mm и повећало скупљање на $k = 0,331-0,397$. Међу добијеним куглицама, *Lavandula angustifolia* је показала највеће скупљање ($k = 0,397$) и највећи пораст сферичности ($0,241 \rightarrow 0,521$). Бергамот, чајевац и пеперминт пратили су исти образац уз боље задржавање облика у сувом стању ($SF_{dry} < 0,55$), што указује да је јонска мрежа задржала довољну механичку чврстоћу упркос додатној компресији. Све формулације су показале смањење пречника које је упоредиво са литературним подацима, или мање у односу на литературне наводе за аналоге са коморачем или d-лимоненом у сличним условима. Добијени

подаци указују да комбинација 2% алгинатне матрице и електростатског напона од 6 kV представља добар компромис између благих услова екструзије и димензионе стабилности куглица. У целини, физичко-хемијски подаци потврђују да је алгинатна електростатичка екструзија вишенаменски, прехранбено прихватљив метод за енкапсулацију терпеноидно богатих волатила, док специфични профили скупљања по уљима упућују да даља оптимизација носача или кондиционирања после сушења може прецизније подесити кинетику ослобађања у прехранбеним системима.

Антиоксидативни капацитет је квантификован DPPH• и ABTS⁺ тестовима за свако уље, пре и после дванаестомесечног складиштења. Сви узорци су очували мерљиву способност хватања радикала током целог периода; међутим, ефикасности су се значајно разликовале. Пеперминт се издвојио као најбољи, ефикасно гасећи DPPH радикале на $23,3 \pm 1,0 \text{ mmol TE L}^{-1}$ и ABTS радикале на $190,9 \pm 2,5 \text{ mmol TE L}^{-1}$. Лаванда и бергамот су показали средње нивое активности, што одражава њихов заједнички хемотип линалоол/линалил-ацетат, док је уље чајевца показало најнижу јачину са DPPH вредношћу од свега $7,6 \pm 1,0 \text{ mmol TE L}^{-1}$. Ова стабилна ранг-листа у оба теста истиче предности профила богатих ментолом и линалоолом за донацију електрона/водоника, док терпинен-4-ол има слабију редукујућу моћ. Значајно је да су Trolox-еквивалентне вредности остале релативно стабилне након складиштења, што сугерише да примарне антиоксидативне особине опстају након 12 месеци у запечаћеним посудама, подупирући претпоставку да алгинатна енкапсулација може очувати ове редокс карактеристике током рока трајања.

Вредности МИК и МБК одређене за *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 показале су комплементаран образац активности. Лаванда и бергамот су у потпуности инхибирани видљив раст на $5 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, док су чајевцу и пеперминту били потребни $10 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ за исти ефекат; бактерицидни прагови су се поклапали или незнатно премашивали те вредности. Повећане перформансе пара линалоол/линалил-ацетат стоје у контрасту са умеренијом ефикасношћу уља у којима доминирају терпинен-4-ол или ментол, што учвршћује тезу да су молекулска поларност и пенетрација кроз ћелијски зид кључни фактори осетљивости грам-негативних бактерија на ЕУ. Иако су одређени МИК-еви за ред величине виши од оних пријављених за високо фенолна уља тимијана или оригана, они и даље позиционирају сва четири узорка у практичан опсег за примену као природни конзерванси, нарочито када се примене технике формулисања као што су нано-емулзификација или испорука у алгинатним куглицама, које повећавају локалну концентрацију и продужавају време контакта. Сходно томе, антиоксидативни и антимицробни подаци потврђују да ова уља поседују комплементарне биоактивности чија величина и стабилност снажно зависе од хемотипа,

чиме се усмерава потенцијална оптимизација композитних система конзервације.

Применом логистичког регресионог модела обученог на *Morgan fingerprint*-овима једињења из ЕУ идентификоване су молекулске подструктуре повезане са високом антимикробном активношћу (АА) против *S. Typhimurium*, чиме се нуди приступ заснован на подацима у дизајну потенцијалних нових антимикробних агенаса. Занимљиво је да је ова фаза потврдила да чак и умерена, из литературе изведена матрица од 171 профила ЕУ може дати статистички солидан SAR модел када се сваки конституент кодира као 2048-битни, радијус-2 *Morgan fingerprint*-а. Након редукције димензија са 2048 на 682 карактеристике, L1-регуларизована логистичка регресија калибрисана на $C = 1,75$ постигла је унакрсно валидиране метрике: тачност 0,81 и ROC AUC 0,88. Само десет битова је прошло PFI праг. Позитивни коефицијенти су се груписали око подструктура као што су фенолна хидроксилна група везана за ароматични прстен, ацетатни естар, фурански хетеропрстен и циклоалкенска структура, док су негативне тежине додељене разгранатим бицикличним угљоводонцима, терцијарним алкохолима и дугим алифатичним ланцима. Запажено је да је сам хидроксиловани ароматични фрагмент подигао предвиђену вероватноћу активности против *Salmonella* приближно са 0,45 на 0,95. То показује да су бензенови прстенови супституисани хидроксилном групом, уобичајени у фенолним једињењима као што су карвакрол, тимол и еугенол, најпоузданији предиктори антимикробне активности (АА) против *S. Typhimurium* међу конституентима ЕУ. Ово математички појашњава јаз у потенцији од једног реда величине између уља оригана/тимијана богатих тимолом и карвакролом из литературе и серија лаванде и бергамота испитаних у овом раду, у којима доминира линалил-ацетат.

Стога, модел не само да разликује активна и неактивна уља са одличном унутрашњом валидношћу, већ и открива интерпретабилне подструктуре које могу усмерити будуће формулације и развој ка хемијским композицијама обогаћеним фенолима. Поред истицања различите токсичности конституената ЕУ на Грам-негативне бактерије, наши резултати наглашавају улогу липофилних терпеноида. Иако нису високо растворљиви у води, они могу пенетрирати Грам-негативне бактерије и потенцијално утицати на раст појединих патогених или кварљивих сојева у прехранбеним производима. Наша истраживања показују како експерименталне методе, удружене са окретним, транспарентним ML процесима, могу премостити јаз између аналитике састава и биолошких перформанси, пружајући брз алат за скрининг који допуњује лабораторијске тестове и информисе рационалан дизајн антимикробних система заснованих на етеричним уљима. Штавише, показали смо да интеграција напредних рачунарских метода са ботаничким истраживањем наглашава потенцијал локалне и

регионалне флоре у убрзању открића антимикуробика. Наш комбиновани приступ - хеминформатика, микробиологија, ML и наука о биљкама - илуструје обећање рачунарске фитохемије за будуће пробоје.

5.2. Ограничења

Генерализабилност ове студије ограничена је низом фактора. У експерименталном делу коришћена су само четири комерцијална ЕУ, чиме није покривена целокупна хемотипска разноврсност испитиваних врста, нити међусеријска варијабилност условљена агрономским и процесним факторима. Поред тога, физичко-хемијска карактеризација алгинатних енкапсулата фокусира се искључиво на морфологију и скупљање, занемарујући дугорочно задржавање испарљивих једињења, кинетику ослобађања, сензорни утицај, антимикуробну активност и економику производње.

Антиоксидативна ефикасност је оцењена помоћу само два хемијска радикал-теста, који не одражавају тачно ћелијску редокс биологију. Тестови као FRAP, CUPRAC, ORAC и TEAC се често користе заједно са DPPH и ABTS-ом како би се боље уочила способност преноса електрона и водоника у сложеним смешама, будући да сваки тест циља различите механизме и радикале.

Даље, антимикуробна активност је тестирана на једном лабораторијском соју *Salmonella enterica* серотип Typhimurium ATCC 14028 под једним протоколом културе, па активности према другим патогенима, клиничким изолатима и у сложеним прехранбеним матрицама остају непознате.

У рачунарској фази, студија је агрегирала минималне МИК вредности из литературе, добијене у хетерогеним медијумима, са различитим инокулумима и крајњим тачкама. Агрегација је сузила хемијски простор на конституенте изнад 10% концентрације, занемарујући трагове и матрикс ефекте који највероватније утичу на биоактивност. Штавише, *Morgan fingerprint*-ови радијуса 2 не кодирају стереохемију ни дугодометни контекст и показују колизије хеша које замагљују атрибуцију подструктура.

Иако је логистичка регресија интерпретабилна, она претпоставља линеарне адитивне ефекте и даје само бинарне класификације. Валидирана је искључиво кроз поновљену унутрашњу унакрсну валидацију, што значи да је њена спољашња перформанса на новим уљима и даље неизвесна. Крива калибрације (Слика 4.2) показује да се предиктоване вероватноће модела у целини добро слажу са посматраним исходима, што указује на задовољавајућу калибрацију. Ипак, мала величина узорка (171

уље) и густина карактеристика од 5,6% повећавају ризик од оптимистичних вредности метрика и нестабилних процена коефицијената.

Коначно, ML резултати нису поткрепљени механистичким лабораторијским испитивањима, попут мерења биофизичких својстава мембране, транскриптомских анализа или огледа у реалним прехранбеним матрицама. Узрочно-последичне везе између идентификованих подструктура и биолошких ефеката стога за сада остају на нивоу хипотезе.

5.3. Правци будућих истраживања

Ови резултати отварају више праваца за даља истраживања. Најпре, будуће студије треба да прошире профилисање састава и биоактивности изван четири комерцијална уља анализирана у овом раду, систематским узорковањем различитих хемотипова, сезона бербе и поступака прераде. Такав приступ би обухватио варијабилност по серијама, омогућио статистичке корелације између састава и функције и подстакао развој референтних библиотека за наредне хеометријске моделе. Примена високорезолуционих техника, као што су *headspace GC-HRMS*, дводимензионална GC и нециљани LC-MS, допунила би класичну GC-MS анализу прецизнијим детектовањем компонената присутних у траговима, које могу деловати синергистички са доминантним терпенима.

У области антиоксидативних испитивања, потребно је применити комплетан скуп комплементарних тестова преноса електрона и водоника - FRAP, CUPRAC, ORAC, TEAC - уз постојеће DPPH и ABTS. Комбинација са тестовима пероксидације липида или гашења ROS у липозомним моделима повезаће *in vitro* хемијске тестове са биолошким контекстом.

Што се тиче енкапсулације, оптимизација алгинатне електростатичке екструзије треба да циља формулацију, процес и обим производње. У погледу формулације, вреди истражити вишеслојне/комполитне носаче (алгинат-хитозан, протеин сурутке-алгинат, *Pickering* премази) ради пермеабилности, механичке отпорности и сензорне неутралности. Интензификација процеса (вишеструке млазнице, *spinning-disk* екструзија, континуирана лиофилизација) треба да се процени у погледу индустријске изводљивости. *Inline* NIR или Raman могу омогућити праћење влаге у куглицама и задржавања испарљивих једињења у стварном времену. Посебно је важно да се кинетика ослобађања, антимикробна/антиоксидативна активност, оксидативна стабилност и утицај ароме мере у сложеним прехранбеним матрицама и стварним условима складиштења и термичке обраде.

Антимикробна процена такође захтева проширење: тестирање против ширег спектра патогена из хране, клиничких изолата и зрелих биофилмова, уз варирање рН, соли и масти, разјасниће ширину и робусност ефеката. Криве преживљавања, тестови интегритета мембране и мулти-омикс анализе (транскриптомика, протеомика, липидомика) могу да расветле узрочно-последичне механизме - од уградње терпеноида у мембрану до ћелијске смрти - и тиме омогуће рационалан дизајн синергистичких комбинација са конвенционалним конзервансима.

У погледу рачунарских приступа, тренутни полазни логистички модели могу се заменити графичким неуронским мрежама, молекулским *transformer* моделима и *diffusion* генераторима који узимају у обзир стереохемију и проширени хемијски контекст, ради откривања интеракција вишег реда. Активно учење (алгоритам → лабораторија → поврат у модел) убрзаће развој побољшаних формулација. Интеграција отисака састава са резултатима молекулског докинга, симулираним ADMET особинама и транскрипционим потписима може створити скрининг-процес заснован на механизмима деловања.

Даље, садашњи оквир отисак-логистичка регресија може се проширити на графички приступ у ком је сваки GC-MS идентификовани конституент представљен молекулским графом (чворови=атоми, ивице=везе). *Message passing* или пажњом вођене GNN се могу обучити на постојећем скупу да предвиде јачину против *Salmonella* директно из структуре, задржавајући детаљнију топологију него кружни отисци и омогућавајући моделу да ухвати нелокалне интеракције (нпр. фенолни прстен поред изопренског ланца). *Integrated gradients* може истакнути подграфове који покрећу активност. Након валидације, GNN може *in silico* проскенирати стотине комерцијалних уља; најбоље рангирани кандидати прослеђују се у лабораторију. Радни ток захтева једну GPU станицу и отворени софтвер (RDKit, PyTorch), што га чини одмах изводљивим.

Кључни методолошки приоритет је темељита спољашња валидација сваког предиктивног модела који повезује састав ЕУ са антибактеријским исходима. Овде разматрани логистички класификатор оцењен је унутрашњим, поновљеним стратификованим унакрсним валидацијама. Ипак, TRIPOD смернице и касније методолошке рецензије наглашавају да се тврдње о клиничкој или индустријској вредности могу износити тек након верификације перформанси на независном скупу података прикупљеном у другачијим лабораторијским или теренским условима, уз поновљиво потврђивање дискриминације и калибрације. То ће претворити доказ концепта у корисан алат за научнике који се баве формулацијама.

На основу López-Colom *et al.* (2019) и наших налаза, предлаже се синтетско једињење које комбинује остатак масне киселине средње дужине ланца (из кокосовог уља) са хидроксилованим ароматичним прстеновима типичним за фенолне терпеноиде, за даља испитивања. Овакво једињење може ефикасно деловати на широк спектар патогена, укључујући антибиотик-резистентну *Salmonella*. Равнотежа хидрофилних и хидрофобних својстава је кључна: продужење алкилног ланца (C7-C12) повећава липофилност и олакшава продирање кроз мембрану, док увођење халогена или додатних функционалних група може ојачати водоничне везе са циљним структурама микроорганизама. Оптимизација ових модификација неопходна је ради постизања ефикасности, уз истовремено решавање питања безбедности, као што су цитотоксичност и утицај на животну средину (López-Colom *et al.*, 2019).

Четири уља анализирана у овој студији лишена су фенолне ароматичне -ОН структуре који наш модел идентификује као најјачи предиктор анти-*Salmonella* активности, што помаже да се објасне умерено-виши МИК-еви у поређењу са фенолно богатим ориганом или тимијаном (Soković *et al.*, 2010). Стога, за контролу Грам-негативних бактерија као што је *S. Typhimurium*, лаванда или бергамот и даље се могу користити у комбинацији са фенолно богатим ЕУ ради синергије. Стратегије испоруке, попут алгинатних куглица, могу повећати локалну концентрацију, продужити контакт и смањити утицај на укус. За антиоксидативну заштиту у липидним намирницама и емулзијама, пеперминт - који је показао највише DPPH и ABTS вредности - може бити снажнији кандидат од осталих и вреди га проценити у ниским концентрацијама (ppm) у преливима, емулзијама напитака или површинским третманима. Чајевац и пеперминт могу бити прикладнији као појачивачи пермеабилности и ароме него као самостални инхибитори Грам-негативних бактерија. Уопштено, антимикробна конзервација може имати користи од комбинација обогаћених фенолима, док антиоксидативну функцију боље пружају пеперминт или бергамот, пожељно у енкапсулисаном облику.

Коначно, даља истраживања треба да размотре транслационе и друштвене аспекте. Приоритетне теме укључују сензорне прагове прихватљивости у циљним намирницама, регулаторну токсикологију високих доза фенола, анализе животног циклуса извора ЕУ и техно-економску одрживост електростатичке енкапсулације у поређењу са постојећим спреј-сушењем или нано-емулзијама. Такав мултидисциплинарни рад ће коначно одредити могу ли антимикробици богати терпеноидима, испоручени путем алгината, прећи од обећавајућих лабораторијских прототипова до комерцијално одрживих решења прихватљивих за потрошаче у области природне конзервације хране која се интензивно развија.

6. Списак литературе

Adams, R. P. (2007). *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. Allured Publishing Corporation.

Ahmed, H., & Stokke, B. T. (2021). Fabrication of monodisperse alginate microgel beads by microfluidic picoinjection: A chelate free approach. *Lab on a Chip*, 21(11), 2232–2243. <https://doi.org/10.1039/d1lc00111f>

Akram, N., Afzaal, M., Saeed, F., Shah, Y. A., Faisal, Z., Asghar, A., Ateeq, H., Nayik, G. A., Wani, S. H., Hussain, M., Asif Shah, M., & Khaneghah, A. M. (2023). Liposomes: A promising delivery system for active ingredients in food and nutrition. *International journal of food properties*, 26(1), 2476–2492. <https://doi.org/10.1080/10942912.2023.2247578>

Aljaafari, M. N., Alkhoori, M. A., Hag-Ali, M., Cheng, W.-H., Lim, S.-H.-E., Loh, J.-Y., & Lai, K.-S. (2022). Contribution of aldehydes and their derivatives to antimicrobial and immunomodulatory activities. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 27(11), 3589. <https://doi.org/10.3390/molecules27113589>

Aljuwayd, M., Olson, E. G., Abbasi, A. Z., Rothrock, M. J., Ricke, S. C., & Kwon, Y. M. (2024). Potential involvement of reactive oxygen species in the bactericidal activity of eugenol against *Salmonella typhimurium*. *Pathogens*, 13(10), 899. <https://doi.org/10.3390/pathogens13100899>

Almuzaini, A. M. (2023). Phytochemicals: Potential alternative strategy to fight *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Frontiers in veterinary science*, 10, 1188752. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1188752>

Altman, D. G. (1994). *Practical statistics for medical research*. Chapman & Hall.

Alves, L. G. S., Vila Nova, B. G., Assunção, R. G., da Silva, L. C. T., Sá, G. C., Silva, L. D. S., Silva, M. A., de Santana, A. V. S., de Jesus, T. R., Lucena, F. R. C., da Silva, M. A. D. S., da Silva, L. C. N., Serra, I. C. P. B., & Abreu, A. G. (2024). Melaleuca alternifolia essential oil in a natural product-based formulation: Antimicrobial and healing effects in staphylococcus aureus-infected wounds. *European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics: official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, 202(114416), 114416. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2024.114416>

Andrys, D., Kulpa, D., Grzeszczuk, M., Bihun, M., & Dobrowolska, A. (2017). Antioxidant and antimicrobial activities of *lavandula angustifolia* mill. field-grown and propagated in vitro. *Folia Horticulturae*, 29(2), 161–180. <https://doi.org/10.1515/fhort-2017-0016>

Araújo, S. O., Peres, R. S., Ramalho, J. C., Lidon, F., & Barata, J. (2023). Machine learning applications in agriculture: Current trends, challenges, and future perspectives. *Agronomy (Basel, Switzerland)*, 13(12), 2976. <https://doi.org/10.3390/agronomy13122976>

Aristotle. (1984). *Physics: Books i and ii* (1st ed.). Clarendon Press.

Artini, M., Patsilinakos, A., Papa, R., Božović, M., Sabatino, M., Garzoli, S., Vrenna, G., Tilotta, M., Pepi, F., Ragno, R., & Selan, L. (2018). Antimicrobial and antibiofilm activity and machine learning classification analysis of essential oils from different mediterranean plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules*, 23(2), 482. <https://doi.org/10.3390/molecules23020482>

Ashrafudoulla, M., Mevo, S. I. U., Song, M., Chowdhury, M. A. H., Shaila, S., Kim, D. H., Nahar, S., Toushik, S. H., Park, S. H., & Ha, S. D. (2023). Antibiofilm mechanism of peppermint essential oil to avert biofilm developed by foodborne and food spoilage pathogens on food contact surfaces. *Molecules*, 88(9), 3935–3955. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16712>

Atterbury, R. J., Gigante, A. M., Rubio Lozano, M. S., Méndez Medina, R. D., Robinson, G., Alloush, H., Barrow, P. A., & Allen, V. M. (2020). Reduction of *Salmonella* contamination on the surface of chicken skin using bacteriophage. *Virology Journal*, 17, 98. <https://doi.org/10.1186/s12985-020-01368-0>

Avicenna. (1999). *Canon of medicine. volume 1* (Illustrated). Kazi Publications, Inc.

Aziz, M. I., Hasan, M. M., Ullah, R., Bari, A., Khan, M. A., Hasnain, S. Z. U., Baloch, R., Akram, M., Obaid, A., & Amin, A. (2024). Potential role of *Citrus bergamia* flower essential oil against oral pathogens. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 24, 157. <https://doi.org/10.1186/s12906-024-04457-7>

Babushok, V. I., Linstrom, P. J., & Zenkevich, I. G. (2011). Retention indices for frequently reported compounds of plant essential oils. *Journal of physical and chemical reference data*, 40(4), 043101. <https://doi.org/10.1063/1.3653552>

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>

Baldwin, E. A., Scott, J. W., Shewmaker, C. K., & Schuch, W. (2000). Flavor trivia and tomato aroma: Biochemistry and possible mechanisms for control of important aroma components. *HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science*, 35(6), 1013–1022. <https://doi.org/10.21273/hortsci.35.6.1013>

Barbarossa, A., Mallamaci, R., Spinozzi, E., Maggi, F., Sgobba, M. N., Rosato, A., Carocci, A., & Meleleo, D. (2025). Investigating bergamot essential oil properties: Cytoprotection in neuronal cells exposed to heavy metals and antibacterial activities. *Antioxidants*, 14(4), 400. <https://doi.org/10.3390/antiox14040400>

Barbosa, L. N., Alves, F. C. B., Andrade, B. F. M. T., Albano, M., Rall, V. L. M., Fernandes, A. A. H., Buzalaf, M. A. R., Leite, A. d. L., de Pontes, L. G., dos Santos, L. D., & Fernandes Junior, A. (2020). Proteomic analysis and antibacterial resistance mechanisms of *Salmonella Enteritidis* submitted to the inhibitory effect of *Origanum vulgare* essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Proteomics*, 214, 103625. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103625>

Barros de Menezes, R. P., Scotti, L., Scotti, M. T., García, J., González, R., Monzote, L., & Setzer, W. N. (2022). Machine learning analysis of essential oils from Cuban plants: Potential activity against protozoa parasites. *Molecules*, 27(4), 1366. <https://doi.org/10.3390/molecules27041366>

Bassolé, I. H. N., & Juliani, H. R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 17(4), 3989–4006. <https://doi.org/10.3390/molecules17043989>

Behl, T., Kumar, K., Brisc, C., Rus, M., Nistor-Cseppento, D. C., Bustea, C., Aron, R. A. C., Pantis, C., Zengin, G., Sehgal, A., Kaur, R., Kumar, A., Arora, S., Setia, D., Chandel, D., & Bungău, S. (2021). Exploring the multifocal role of phytochemicals as immunomodulators. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 133, 110959. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110959>

Benkhedja, H., Canselier, J. P., Gourdon, C., & Haddou, B. (2017). Phenol and benzenoid alcohols separation from aqueous stream using cloud point extraction:

- Scaling-up of the process in a mixer-settler. *Journal of water process engineering*, 18, 202–212. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2017.06.016>
- Benzie, I., & Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (frap) as a measure of “antioxidant power”: The frap assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- Bishop, C. M. (2006). *Pattern recognition and machine learning*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-45528-0>
- Boltz, T., Obe, T., Ricke, S. C., & Peterson, A. (2023). Vaccines to control *Salmonella* in poultry. *Avian Diseases*, 67, 427–440. <https://doi.org/10.1637/aviandiseases-D-23-99988>
- Borlinghaus, J., Albrecht, F., Gruhlke, M. C. H., Nwachukwu, I. N., & Slusarenko, A. J. (2014). Allicin: Chemistry and biological properties. *Molecules*, 19, 12591–12618. <https://doi.org/10.3390/molecules190812591>
- Borotová, P., Galovičová, L., Vukovic, N. L., Vukic, M., Tvrdá, E., & Kačániová, M. (2022). Chemical and biological characterization of *Melaleuca alternifolia* essential oil. *Plants*, 11(4), 558. <https://doi.org/10.3390/plants11040558>
- Bose, S. K., Chauhan, M., Dhingra, N., Chhibber, S., & Harjai, K. (2020). Terpinen-4-ol attenuates quorum sensing–regulated virulence factors and biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Future Microbiology*, 15, 127–142. <https://doi.org/10.2217/fmb-2019-0204>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Breiman, L. (2001). Random forests. *Machine Learning*, 45(1), 5–32. <https://doi.org/10.1023/A:1010933404324>
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>

- Cai, H., Zhang, H., Zhao, D., Wu, J., & Wang, L. (2022). Fp-gnn: A versatile deep learning architecture for enhanced molecular property prediction. *arXiv preprint*. <https://doi.org/10.48550/arXiv.2205.03834>
- Canguilhem, G. (1991). *The normal and the pathological* (First American Edition). Zone Books.
- Carson, C. F., Hammer, K. A., & Riley, T. V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: A review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical microbiology reviews*, 19(1), 50–62. <https://doi.org/10.1128/cmr.19.1.50-62.2006>
- Carvalho, I. T., Estevinho, B. N., & Santos, L. (2016). Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products - a review. *International journal of cosmetic science*, 38(2), 109–119. <https://doi.org/10.1111/ics.12232>
- CDC. (2024, October). About salmonella infection [Accessed: 2025-7-11].
- Ch, R., Khan, S., Rai, A. K., et al. (2025). Rapid metabolic fingerprinting meets machine learning models to identify authenticity and detect adulteration of essential oils with vegetable oils: Mentha and ocimum study. *Food Chemistry*, 471, 142709. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.142709>
- Chai, W.-M., Liu, X., Hu, Y.-H., Feng, H.-L., Jia, Y.-L., Guo, Y.-J., Zhou, H.-T., & Chen, Q.-X. (2013). Antityrosinase and antimicrobial activities of furfuryl alcohol, furfural and furoic acid. *International journal of biological macromolecules*, 57, 151–155. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2013.02.019>
- Chawda, P. J., Shi, J., Xue, S., & Young Quek, S. (2017). Co-encapsulation of bioactives for food applications. *Food quality and safety*, 1(4), 302–309. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx028>
- Chemler, J. A., & Koffas, M. A. G. (2008). Metabolic engineering for plant natural product biosynthesis in microbes. *Current opinion in biotechnology*, 19(6), 597–605. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2008.10.011>
- Chen, L., Wang, Y., Zhang, Q., Xu, X., & Zhou, S. (2022). Integrated metabolomics and transcriptomics reveal the adaptive responses of *Salmonella enterica* serovar typhimurium to thyme and cinnamon oils. *Food Research International*, 157, 111241. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111241>

Chen, S., Shahar, T., & Cohen, S. (2024). Thermo-controlled microfluidic generation of monodisperse alginate microspheres based on external gelation [PMID: 39391621; PMCID: PMC11465424]. *RSC Advances*. <https://doi.org/10.1039/d4ra07049f>

Chen, X., Shang, S., Yan, F., Jiang, H., Zhao, G., Tian, S., Chen, R., Chen, D., & Dang, Y. (2023). Antioxidant activities of essential oils and their major components in scavenging free radicals, inhibiting lipid oxidation and reducing cellular oxidative stress. *Molecules*, 28(11), 4559. <https://doi.org/10.3390/molecules28114559>

Chicco, D., & Jurman, G. (2020). The advantages of the matthews correlation coefficient over f1 score and accuracy in binary classification evaluation. *BMC Genomics*, 21, 6. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6413-7>

Cicero, A. F. G., Fogacci, F., Bove, M., Giovannini, M., & Borghi, C. (2019). Three-arm, placebo-controlled, randomized clinical trial evaluating the metabolic effect of a combined nutraceutical containing a bergamot standardized flavonoid extract in dyslipidemic overweight subjects: Bergamot extract for dyslipidemia. *Phytotherapy research: PTR*, 33(8), 2094–2101. <https://doi.org/10.1002/ptr.6402>

Cid-Pérez, T. S., Munguía-Pérez, R., Nevárez-Moorillón, G. V., Ochoa-Velasco, C. E., Navarro-Cruz, A. R., & Avila-Sosa, R. (2024). Carvacrol and thymol in the vapour phase inhibit *Escherichia coli* and *Salmonella* serovar typhimurium on fresh salad. *Heliyon*, 10(9), e29638. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29638>

Cid-Samamed, A., Rakmai, J., Mejuto, J. C., Simal-Gandara, J., & Astray, G. (2022). Cyclodextrins inclusion complex: Preparation methods, analytical techniques and food industry applications. *Food chemistry*, 384(132467), 132467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132467>

Collins, G. S., Reitsma, J. B., Altman, D. G., & Moons, K. G. M. (2015). Transparent reporting of a multivariable prediction model for individual prognosis or diagnosis (tripod): The tripod statement. *Annals of Internal Medicine*, 162(1), 55–63. <https://doi.org/10.7326/M14-0697>

Condell, O., Iversen, C., Cooney, S., Power, K. A., Walsh, C., Burgess, C., & Fanning, S. (2012). Efficacy of biocides used in the modern food industry to control *Salmonella enterica*, and links between biocide tolerance and resistance to clinically relevant antimicrobial compounds. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(9), 3087–3097. <https://doi.org/10.1128/AEM.07534-11>

- Cox, S. D., Mann, C. M., Markham, J. L., Bell, H. C., Gustafson, J. E., Warmington, J. R., & Wyllie, S. G. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, 88(1), 170–175. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00943.x>
- Cui, X. (2013). Cellular dynamics: Seeing is believing. *Molecular plant*, 6(2), 239–241. <https://doi.org/10.1093/mp/sst016>
- Cuyper, W. L., Jacobs, J., Wong, V., Klemm, E. J., Deborggraeve, S., & Van Puyvelde, S. (2018). Fluoroquinolone resistance in salmonella: Insights by whole-genome sequencing. *Microbial Genomics*, 4(7). <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/mgen.0.000195>
- da Silva, M. H. L., Andrade, E. H. A., & Zoghbi, M. G. B. (1999). The essential oils of *Lantana camara* l. occurring in north brazil. *Flavour and Fragrance Journal*, 14(4), 208–210. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199907/08\)14:4<208::AID-FFJ811>3.0.CO;2-F](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199907/08)14:4<208::AID-FFJ811>3.0.CO;2-F)
- Dajic Stevanovic, Z., Sieniawska, E., Glowniak, K., Obradovic, N., & Pajic-Lijakovic, I. (2020). Natural macromolecules as carriers for essential oils: From extraction to biomedical application. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, 563. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00563>
- Dassanayake, M. K., Chong, C. H., Khoo, T.-J., Figiel, A., Szumny, A., & Choo, C. M. (2021). Synergistic field crop pest management properties of plant-derived essential oils in combination with synthetic pesticides and bioactive molecules: A review. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(9), 2016. <https://doi.org/10.3390/foods10092016>
- Davison, A. C., & Hinkley, D. V. (1997). *Bootstrap methods and their application*. Cambridge University Press.
- de O. Miranda, D., Ferreira, M. S., & Katchborian-Neto, A. (2025). Machine learning decision tree-based models for predicting the antibacterial activity of lamiaceae essential oils against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, 140, 109116. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2025.109116>
- de Oliveira, M. S., Silva, S., & Da Costa, W. A. (2020). *Essential oils: Bioactive compounds, new perspectives and applications*. BoD-Books on Demand.

- Dewan, M. F., Islam, M. N., & Azam, M. S. (2024, April). Food additives/preservatives and their implications for human health. In *Food safety* (pp. 155–184). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781003333913-10>
- Dewey, H. M., Jones, J. M., Keating, M. R., & Budhathoki-Uprety, J. (2021). Increased use of disinfectants during the covid-19 pandemic and its potential impacts on health and safety. *ACS Chemical Health & Safety*, 29, 27–38. <https://doi.org/10.1021/acs.chas.1c00053>
- Di Pasqua, R., Hoskins, N., Betts, G., & Mauriello, G. (2006). Changes in membrane fatty acids composition of microbial cells induced by addition of thymol, carvacrol, limonene, cinnamaldehyde, and eugenol in the growing media. *J. Agric. Food Chem.*, 54(7), 2745–2749. <https://doi.org/10.1021/jf0527221>
- Di Sotto, A., Mancinelli, R., Gulli, M., Eufemi, M., Mammola, C. L., Mazzanti, G., & Di Giacomo, S. (2020). Chemopreventive potential of caryophyllane sesquiterpenes: An overview of preliminary evidence. *Cancers*, 12(10), 3034. <https://doi.org/10.3390/cancers12103034>
- Dobrosłavić, E., Cegledi, E., Robić, K., Elez Garofulić, I., Dragović-Uzelac, V., & Repajić, M. (2024). Encapsulation of fennel essential oil in calcium alginate microbeads via electrostatic extrusion. *Applied sciences (Basel, Switzerland)*, 14(8), 3522. <https://doi.org/10.3390/app14083522>
- Dong, H., You, Y., Wang, N., Wang, M., Song, T., He, Y., Zou, Y., He, Y., Peng, T., & Mei, L. (2024). Development of amphipathic derivatives of thymol and carvacrol as potent broad-spectrum antibacterial agents. *European journal of medicinal chemistry*, 276(116716), 116716. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2024.116716>
- Dorman, H. J., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308–316. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>
- Du, Y., Friml, J., Zhu, Y., Zheng, J., Zeng, L., Ma, J., Wang, D., Song, F., Zhang, F., Dan, Z., Lu, G., Wen, W., Zhang, D., & Chen, Z. (2024). Phytoalexin sakuranetin attenuates endocytosis and enhances resistance to rice blast. *Nature Communications*, 15, 2357. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-47746-y>

Dudareva, N., Pichersky, E., & Gershenzon, J. (2004). Biochemistry of plant volatiles. *Plant physiology*, *135*(4), 1893–1902. <https://doi.org/10.1104/pp.104.049981>

Dudek, N. K., Chakhvadze, M., Kobakhidze, S., Kantidze, O., & Gankin, Y. (2024). Supervised machine learning for microbiomics: Bridging the gap between current and best practices. *Machine Learning and Applications An International Journal*, *18*, 100607. <https://doi.org/10.1016/j.mlwa.2024.100607>

ECFR. (1982). 21 CFR 184.1724 sodium alginate [Accessed: 2025-7-11].

Eertink, J. J., Heymans, M. W., Zwezerijnen, G. J. C., Zijlstra, J. M., de Vet, H. C. W., & Boellaard, R. (2022). External validation: A simulation study to compare cross-validation versus holdout or external testing to assess the performance of clinical prediction models using PET data from DLBCL patients. *EJNMMI research*, *12*(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s13550-022-00931-w>

Efron, B., & Tibshirani, R. J. (1994). *An introduction to the bootstrap*. Chapman; Hall/CRC.

EFSA & ECDC. (2024). The European Union One Health 2023 Zoonoses Report. *EFSA Journal*, *22*(1), e09106. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2024.9106>

El Omari, N., Chamkhi, I., Balahbib, A., Benali, T., Akhazzane, M., Ullah, R., Alotaibi, A., Elouafy, Y., Elhrech, H., & Bouyahya, A. (2024). GC-MS-MS analysis and biological properties determination of mentha piperita L., essential oils. *Biochemical systematics and ecology*, *116*(104875), 104875. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2024.104875>

Emon, D. D., Islam, M. S., Mazumder, M. A. R., Aziz, M. G., & Rahman, M. S. (2025). Recent applications of microencapsulation techniques for delivery of functional ingredients in food products: A comprehensive review. *Food Chemistry Advances*, *6*, 100923. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2025.100923>

Escalona-Arranz, J., Péres-Roses, R., Urdaneta-Laffita, I., Camacho-Pozo, M., Rodríguez-Amado, J., & Licea-Jiménez, I. (2010). Antimicrobial activity of extracts from *Tamarindus indica* L. leaves. *Pharmacognosy magazine*, *6*(23), 242. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.66944>

- Essential Oil Sage. (2015). *Essential oils in the ancient world* [Accessed 10 Jul 2025]. <https://essentialoilsage.com/?p=9653>
- European Commission. (2025). *Eu lists of flavouring substances (regulation (ec) no 1334/2008)* [Accessed 19 July 2025]. https://food.ec.europa.eu/food-safety/food-improvement-agents/flavourings/eu-lists-flavourings_en
- Fernandes, B., Oliveira, M. C., Marques, A. C., dos Santos, R. G., & Serrano, C. (2024). Microencapsulation of essential oils and oleoresins: Applications in food products. *Foods*, *13*(23), 3873. <https://doi.org/10.3390/foods13233873>
- Ferreira de Melo, A. N., Targino de Souza Pedrosa, G., Tayse da Cruz Almeida, E., Cao, G., Macarisin, D., Schaffner, D. W., de Souza, E. L., & Magnani, M. (2020). Successive exposure to mentha piperita l. essential oil affects the culturability and induces membrane repair in a persister epidemic *Salmonella typhimurium* pt4. *Microbial Pathogenesis*, *149*, 104264. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104264>
- Fink, R. (2023). Terpenoids as natural agents against food-borne bacteria-evaluation of biofilm biomass versus viability reduction. *Processes (Basel, Switzerland)*, *11*(1), 148. <https://doi.org/10.3390/pr11010148>
- Fisher, A., Rudin, C., & Dominici, F. (2019). All models are wrong, but many are useful: Learning a variable's importance by studying an entire class of prediction models simultaneously. *Journal of Machine Learning Research*, *20*(177), 1–81. <https://doi.org/10.48550/arXiv.1801.01489>
- Fisher, K., & Phillips, C. A. (2006). The effect of lemon, orange and bergamot essential oils and their components on the survival of campylobacter jejuni, escherichia coli O157, listeria monocytogenes, bacillus cereus and staphylococcus aureus in vitro and in food systems. *Journal of applied microbiology*, *101*(6), 1232–1240. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03035.x>
- Fleige, E., Quadir, M. A., & Haag, R. (2012). Stimuli-responsive polymeric nanocarriers for the controlled transport of active compounds: Concepts and applications. *Advanced drug delivery reviews*, *64*(9), 866–884. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.01.020>

- Flower, L. (2025). *Lavender chamomile pillow mist: Essential oil linen spray*. Retrieved July 22, 2025, from <https://littleflowersoap.com/products/lavender-chamomile-pillow-mist-essential-oil-linen-spray>
- Food, U., & Administration, D. (2016). Gras notice no. 630: *Salmonella*-specific bacteriophage preparation (salmonexTM) [Accessed 10 Jul 2025].
- Freeman, B., & Beattie, G. (2008). An overview of plant defenses against pathogens and herbivores. *Plant Health Instructor*. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2008-0226-01>
- Friedman, J. H. (2001). Greedy function approximation: A gradient boosting machine. *Annals of statistics*, 29(5), 1189–1232. <https://doi.org/10.1214/aos/1013203451>
- Furneri, P. M., Mondello, L., Mandalari, G., Paolino, D., Dugo, P., Garozzo, A., & Bisignano, G. (2012). In vitro antimycoplasmal activity of citrus bergamia essential oil and its major components. *European journal of medicinal chemistry*, 52, 66–69. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.03.005>
- Gallo, T. C. B., Cattelan, M. G., Alvim, I. D., & Nicoletti, V. R. (2020). Oregano essential oil encapsulated in alginate beads: Release kinetics as affected by electrostatic interaction with whey proteins and freeze-drying. *Journal of food processing and preservation*, 44(12), e14947. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14947>
- Gallucci, M. N., Oliva, M., Casero, C., Dambolena, J., Luna, A., Zygadlo, J., & Demo, M. (2009). Antimicrobial combined action of terpenes against the food-borne microorganisms *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus*. *Flavour and fragrance journal*, 24(6), 348–354.
- Gangwal, A., & Lavecchia, A. (2025). Artificial intelligence in natural product drug discovery: Current applications and future perspectives. *Journal of Medicinal Chemistry*, 68(4), 3948–3969. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.4c01257>
- Gao, P., Nasution, A. K., Ono, N., Kanaya, S., & Altaf-Ul-Amin, M. (2025). Investigating potential anti-bacterial natural products based on ayurvedic formulae using supervised network analysis and machine learning approaches. *Pharmaceuticals*, 18(2), 192. <https://doi.org/10.3390/ph18020192>

- Gaulton, A., Bellis, L. J., Bento, A. P., Chambers, J., Davies, M., Hersey, A., Light, Y., McGlinchey, S., Michalovich, D., Al-Lazikani, B., & Overington, J. P. (2012). ChEMBL: A large-scale bioactivity database for drug discovery. *Nucleic acids research*, *40*(Database issue), D1100–7. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr777>
- Gomes, D., Rodrigues, J. L., & Rodrigues, L. R. (2024). Step-by-step optimization of a heterologous pathway for de novo naringenin production in *Escherichia coli*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *108*, 435. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13271-7>
- Gong, B., Li, H., Feng, Y., Zeng, S., Zhuo, Z., Luo, J., Chen, X., & Li, X. (2022). Prevalence, serotype distribution and antimicrobial resistance of non-typhoidal *Salmonella* in hospitalized patients in conghua district of guangzhou, china. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *12*, 805384. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.805384>
- Gören, A. C., Topçu, G., Bilsel, G., Bilsel, M., Wilkinson, J. M., & Cavanagh, H. (2004). Analysis of essential oil of *Satureja thymbra* by hydrodistillation, thermal desorber, and headspace GC/MS techniques and its antimicrobial activity. *Natural product research*, *18*(2), 189–195. <https://doi.org/10.1080/14786410310001608145>
- Gruca, D., Wais, M., Zajać, M., Zalewski, P., Wróblewski, W., & Raabe, A. (2024). Bergamot polyphenols: Promising agents for health and wellness. *Journal of Education, Health and Sport*, *65*, 49852. <https://doi.org/10.12775/jehs.2024.65.009>
- Guimarães, A. C., Meireles, L. M., Lemos, M. F., Guimarães, M. C. C., Endringer, D. C., Fronza, M., & Scherer, R. (2019). Antibacterial activity of terpenes and terpenoids present in essential oils. *Molecules (Basel, Switzerland)*, *24*(13), 2471. <https://doi.org/10.3390/molecules24132471>
- Gultekin, F., & Doguc, D. K. (2013). Allergic and immunologic reactions to food additives. *Clinical reviews in allergy & immunology*, *45*(1), 6–29. <https://doi.org/10.1007/s12016-012-8300-8>
- Gündüz, G. T., Gönül, Ş. A., & Karapınar, M. (2010). Efficacy of oregano oil in the inactivation of *salmonella typhimurium* on lettuce. *Food control*, *21*(4), 513–517. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.016>

- Gupta, A., Jeyakumar, E., & Lawrence, R. (2021). Journey of limonene as an antimicrobial agent. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, *15*(3), 1094–1110. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.3.01>
- Halkier, B. A., & Gershenzon, J. (2006). Biology and biochemistry of glucosinolates. *Annual Review of Plant Biology*, *57*, 303–333. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105228>
- Hanko, E. K. R., Valdehuesa, K. N. G., Verhagen, K. J. A., Chromy, J., Stoney, R. A., Chua, J., Yan, C., Roubos, J. A., Schmitz, J., & Breitling, R. (2023). Carboxylic acid reductase-dependent biosynthesis of eugenol and related allylphenols. *Microbial Cell Factories*, *22*, 238. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02246-4>
- Hanley, J. A., & McNeil, B. J. (1982). The meaning and use of the area under a receiver operating characteristic (roc) curve. *Radiology*, *143*(1), 29–36. <https://doi.org/10.1148/radiology.143.1.7063747>
- Hao, Y., Guo, X., Zhang, W., Xia, F., Yang, E., Li, H., Bai, H., & Shi, L. (2022). Label-free quantitative proteomics reveals the antibacterial mechanism of rosemary essential oil against *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Industrial Crops and Products*, *189*, 115757. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115757>
- Haro-González, J. N., Castillo-Herrera, G. A., Martínez-Velázquez, M., & Espinosa-Andrews, H. (2021). Clove essential oil (*Syzygium aromaticum* L., myrtaceae): Extraction, chemical composition, food applications, and essential bioactivity for human health. *Molecules*, *26*(21), 6387. <https://doi.org/10.3390/molecules26216387>
- Hart, P. H., Brand, C., Carson, C. F., Riley, T. V., Prager, R. H., & Finlay-Jones, J. J. (2000). Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of *melaleuca alternifolia* (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes. *et al [Inflammation research]*, *49*(11), 619–626. <https://doi.org/10.1007/s000110050639>
- Hastings, J., Owen, G., Dekker, A., Ennis, M., Kale, N., Muthukrishnan, V., Turner, S., Swainston, N., Mendes, P., & Steinbeck, C. (2016). ChEBI in 2016: Improved services and an expanding collection of metabolites. *Nucleic acids research*, *44*(D1), D1214–9. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1031>

- He, Y., Liu, K., Han, L., & Han, W. (2022a). Clustering analysis, structure fingerprint analysis, and quantum chemical calculations of compounds from essential oils of sunflower (*Helianthus annuus* L.) receptacles. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(17), 10169. <https://doi.org/10.3390/ijms231710169>
- He, Y., Liu, K., Han, L., & Han, W. (2022b). Clustering analysis, structure fingerprint analysis, and quantum chemical calculations of compounds from essential oils of sunflower (*helianthus annuus* L.) receptacles. *International journal of molecular sciences*, 23(17), 10169. <https://doi.org/10.3390/ijms231710169>
- He, Y., Jia, Q., Cai, K., Yu, S., Chen, X., Ma, J., Wu, W., Yang, B., Li, L., Wu, J., Liu, S., Lu, H., Yu, J., Zhu, L., Wang, S., Wang, J., Zhang, Y., Liu, G., Zhong, N., ... He, G. (2025). Global burden of invasive non-typhoidal *Salmonella* disease, 1990-2021 [GBD 2021 estimate: ≈63,000 deaths in 2021]. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 19, e0012960. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0012960>
- Helander, I. M., Alakomi, H.-L., Latva-Kala, K., Mattila-Sandholm, T., Pol, I., Smid, E. J., Gorris, L. G. M., & von Wright, A. (1998). Characterization of the action of selected essential oil components on gram-negative bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(9), 3590–3595. <https://doi.org/10.1021/jf980154m>
- Hippocrates. (2022). *Ancient medicine. airs, waters, places. epidemics 1 and 3. the oath. precepts. nutriment*. Harvard University Press.
- Hoffman, C., & Evans, A. C. (1911). The uses of spices as preservatives. *Journal of Indian Engineering and Chemistry*, 3, 835–838.
- Holkem, A. T., Raddatz, G. C., Nunes, G. L., Cichoski, A. J., Jacob-Lopes, E., Ferreira Grosso, C. R., & de Menezes, C. R. (2016). Development and characterization of alginate microcapsules containing bifidobacterium BB-12 produced by emulsification/internal gelation followed by freeze drying. *LWT - Food Science and Technology*, 71, 302–308. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.04.012>
- Horwitz, A. A., Walter, J. M., Schubert, M. G., Kung, S. H., Hawkins, K., Platt, D. M., Hernday, A. D., Mahatdejkul-Meadows, T., Szeto, W., Chandran, S. S., & Newman, J. D. (2015). Efficient multiplexed integration of synergistic alleles and metabolic pathways in yeasts via crispr–cas. *Cell Systems*, 1(1), 88–96. <https://doi.org/10.1016/j.cels.2015.02.001>

- Hosmer, D. W., Lemeshow, S., & Sturdivant, R. X. (2013). *Applied logistic regression* (3rd). John Wiley & Sons.
- Hossain, S., Heo, H., De Silva, B. C. J., Wimalasena, S. H. M. P., Pathirana, H. N. K. S., & Heo, G.-J. (2017). Antibacterial activity of essential oil from lavender (*lavandula angustifolia*) against pet turtle-borne pathogenic bacteria. *Laboratory animal research*, 33(3), 195–201. <https://doi.org/10.5625/lar.2017.33.3.195>
- Hosseini, S. F., Zandi, M., Rezaei, M., & Farahmandghavi, F. (2013). Two-step method for encapsulation of oregano essential oil in chitosan nanoparticles: Preparation, characterization and in vitro release study. *Carbohydrate polymers*, 95(1), 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.02.031>
- Hu, C., Lu, W., Mata, A., Nishinari, K., & Fang, Y. (2021). Ions-induced gelation of alginate: Mechanisms and applications. *International journal of biological macromolecules*, 177, 578–588. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.02.086>
- Hudz, N., Kobylinska, L., Pokajewicz, K., Horčinová Sedláčková, V., Fedin, R., Voloshyn, M., Myskiv, I., Brindza, J., Wieczorek, P. P., & Lipok, J. (2023). *Mentha piperita* essential oil and extracts: Biological activities and perspectives on the development of new medicinal and cosmetic products. *Molecules*, 28(21), 7444. <https://doi.org/10.3390/molecules28217444>
- Huffman, M. A., & Group, T. C. (1996). The medicinal use of plants by chimpanzees in the wild [May 1996. Permission required for citation.]. <https://jinrui.zool.kyoto-u.ac.jp/CHIMPP/CHIMPP.html>
- Hulankova, R. (2024). Methods for determination of antimicrobial activity of essential oils *In Vitro*-a review. *Plants*, 13(19), 2784. <https://doi.org/10.3390/plants13192784>
- Husnu Can Baser, K., & Buchbauer, G. (2009, March). *Handbook of essential oils: Science, technology, and applications* (K. H. Baser & G. Buchbauer, Eds.; 1st Edition). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420063165>
- Hyldgaard, M., Mygind, T., & Meyer, R. L. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in microbiology*, 3, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00012>

IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (2000). *Some industrial chemicals* (Vol. 77). International Agency for Research on Cancer. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK390898/>

Ibarra-Sánchez, L. A., El-Haddad, N., Mahmoud, D., Miller, M. J., & Karam, L. (2020). Invited review: Advances in nisin use for preservation of dairy products. *Journal of dairy science*, *103*(3), 2041–2052. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17498>

Ibrahim, G. G., Yan, J., Xu, L., Yang, M., & Yan, Y. (2021). Resveratrol production in yeast hosts: Current status and perspectives. *Biomolecules*, *11*(6), 830. <https://doi.org/10.3390/biom11060830>

International Organization for Standardization. (2022). *Dentistry-zinc oxide–eugenol cements and non-eugenol zinc oxide cements* (ISO Standard No. ISO 3107:2022). International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland.

International Organization for Standardization. (2025). *Essential oil of Melaleuca, terpinen-4-ol type (tea tree oil)* (ISO Standard No. ISO 4730:2025). International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland.

Işcan, G., Kirimer, N., Kürkcüoğlu, M., Başer, K. H. C., & Demirci, F. (2002). Antimicrobial screening of mentha piperita essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, *50*(14), 3943–3946. <https://doi.org/10.1021/jf011476k>

Jakočiūnas, T., Bonde, I., Herrgård, M., Harrison, S. J., Kristensen, M., Pedersen, L. E., Jensen, M. K., & Keasling, J. D. (2015). Multiplex metabolic pathway engineering using crispr/cas9 in *Saccharomyces cerevisiae*. *Metabolic Engineering*, *28*, 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2015.01.008>

Jamir, Y., Raj Kumari, S., Das, S., Bhushan, M., & Singh, L. R. (2024). Enhanced synergistic antioxidant and antibacterial effects of stable nanoemulsions prepared from blends of thyme, black pepper, cinnamon, and garlic essential oils. *BioNanoScience*, *15*, 70. <https://doi.org/10.1007/s12668-024-01718-0>

Joulain, D., König, W. A., & Hochmuth, D. H. (2001). Terpenoids and related constituents of essential oils. *Acta pharmaceutica (Zagreb, Croatia)*, *57*, 90–123.

- Kaddu, S., Kerl, H., & Wolf, P. (2001). Accidental bullous phototoxic reactions to bergamot aromatherapy oil. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 45(3), 458–461. <https://doi.org/10.1067/mjd.2001.116226>
- Kalušević, A., Lević, S., Đorđević, V., Beatović, D., Jelačić, S., Bugarski, B., et al. (2012). Encapsulation of basil (*Ocimum basilicum*) essential oil [May 23-26, 2012]. *Proceedings of the 6th European Congress on Food (CEFood)*, 1087–1092.
- Keeling, C. I., & Bohlmann, J. (2006). Genes, enzymes and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defence of conifers against insects and pathogens. *New Phytologist*, 170, 657–675. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2006.01716.x>
- Keerathirathawat, S., Nair, J., & Levitan, J. (2013). The antibacterial efficacy of pine oils on pathogens commonly found in biosolids applied to pine plantations. *International journal of environment and waste management*, 12(2), 146. <https://doi.org/10.1504/ijewm.2013.055590>
- Khan, F. A., Khan, N. M., Ahmad, S., Nasruddin, Aziz, R., Ullah, I., Almeahmadi, M., Allahyani, M., Alsaiani, A. A., & Aljuaid, A. (2022). Phytochemical profiling, antioxidant, antimicrobial and cholinesterase inhibitory effects of essential oils isolated from the leaves of artemisia scoparia and artemisia absinthium. *Pharmaceuticals*, 15(10). <https://doi.org/10.3390/ph15101221>
- Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B. A., Thiessen, P. A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., & Bolton, E. E. (2023). PubChem 2023 update. *Nucleic acids research*, 51(D1), D1373–D1380. <https://doi.org/10.1093/nar/gkac956>
- Klancnik, A., Piskernik, S., Jersek, B., & Mozina, S. S. (2010). Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of microbiological methods*, 81(2), 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2010.02.004>
- Kohavi, R. (1995). A study of cross-validation and bootstrap for accuracy estimation and model selection. *Proceedings of the 14th International Joint Conference on Artificial Intelligence (IJCAI-95)*, 1137–1143. <https://dl.acm.org/doi/10.5555/1643031.1643047>

- Kuhn, M., & Johnson, K. (2019). *Feature engineering and selection: A practical approach for predictive models*. CRC Press. <https://doi.org/10.1080/00031305.2020.1790217>
- Kusuma, H. S., & Mahfud, M. (2017). Microwave-assisted hydrodistillation for extraction of essential oil from patchouli (*Pogostemon cablin*) leaves. *Periodica Polytechnica Chemical Engineering*, 61(2), 82–92. <https://doi.org/10.3311/PPch.8676>
- Laboratoires Tilman. (2025a). *Thymospray-thyme throat spray* [Accessed 19 July 2025]. <https://www.tilman.be/en/produit/thymospay/>
- Laboratoires Tilman. (2025b). *Thymotabs nature-traditional thyme throat lozenges* [Accessed 19 July 2025]. <https://www.tilman.be/en/produit/thymotabs-nature/>
- Lagerholm, M. (2025). Dataset for essential oil machine learning analysis. <https://doi.org/10.5281/zenodo.12684760>
- Lagerholm, M., Pesic, M., Jovanovic, M., Kuzmanovic, M., & Nedovic, V. (2025). A machine learning-assisted analysis of essential oil constituents targeting salmonella typhimurium. *Comprehensive Plant Biology*, 49(1), 87–100. <https://doi.org/10.2298/cpb2501087l>
- Landrum, G. (2024). Rdkit/rdkit: Release_2023.09.5. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10633624>
- Lefèvre, T., Oliver, L., Hunter, M. D., & de Roode, J. C. (2010). Evidence for trans-generational medication in nature. *Ecology Letters*, 13, 1485–1493. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01537.x>
- Lević, S., Nedović, V., & Bugarski, B. (2022, June). *Encapsulation in food processing and fermentation*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780429324918>
- Lević, S., Pajić Lijaković, I., Đorđević, V., Rac, V., Rakić, V., Šolević Knudsen, T., Pavlović, V., Bugarski, B., & Nedović, V. (2015). Characterization of sodium alginate/d-limonene emulsions and respective calcium alginate/d-limonene beads produced by electrostatic extrusion. *Food hydrocolloids*, 45, 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.10.001>

- Li, J., Lu, X., Zou, X., & Ye, B.-C. (2024). Recent advances in microbial metabolic engineering for production of natural phenolic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *72*(8), 3567–3585. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.3c07658>
- Li, X., Zhang, J., Lin, S., Wang, J., Wang, Q., An, X., Chen, L., Zeng, L., Zhang, S., & Liu, C. (2021). (+)-catechin, epicatechin and epigallocatechin are important inducible defensive compounds against *Ectropis griseascens* in tea plants. *Plant, Cell & Environment*, *44*, 3125–3141. <https://doi.org/10.1111/pce.14216>
- Lima, R. P. d., Carrea, D. d. A., Garcia, V. A. D. S., Tostes Filgueiras, C., Matta Fakhouri, F., & Velasco, J. I. (2025). Development of gelatin-based renewable packaging with melaleuca alternifolia essential oil for chicken breast preservation. *Polymers*, *17*(5), 646. <https://doi.org/10.3390/polym17050646>
- Lin, B., Yan, S., & Zhen, B. (2025a). A machine learning method for predicting molecular antimicrobial activity. *Scientific Reports*, *15*, 6559. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-91190-x>
- Lin, B., Yan, S., & Zhen, B. (2025b). A machine learning method for predicting molecular antimicrobial activity. *Scientific Reports*, *15*, 6559. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-91190-x>
- Liu, C., Gan, R.-Y., Chen, D., Zheng, L., Ng, S. B., & Rietjens, I. M. C. M. (2024). Gut microbiota-mediated metabolism of green tea catechins and the biological consequences: An updated review. *Critical reviews in food science and nutrition*, *64*(20), 7067–7084. <https://doi.org/10.1080/10408398.2023.2180478>
- Liu, Y., Han, N., & Meng, F. (2025). Magnolia essential oil: A preliminary exploration of chemical composition and its antimicrobial and antioxidant potential [Sec. Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy; Research Topic: Navigating Challenges and Innovations in Antimicrobial Resistance, Environmental Microbiology, and Industrial Solutions]. *Frontiers in Microbiology*, *16*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1509796>
- Lobie, T. A., Roba, A. A., Booth, J. A., Kristiansen, K. I., Aseffa, A., Skarstad, K., & Bjørås, M. (2021). Antimicrobial resistance: A challenge awaiting the post-covid-19 era. *International Journal of Infectious Diseases*, *111*, 322–325. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2021.08.011>

López-Colom, P., Castillejos, L., Rodríguez-Sorrento, A., Puyalto, M., Mallo, J. J., & Martín-Orúe, S. M. (2019). Efficacy of medium-chain fatty acid salts distilled from coconut oil against two enteric pathogen challenges in weanling piglets. *Journal of animal science and biotechnology*, *10*(1), 89. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0393-y>

Luo, X., Reiter, M. A., d'Espaux, L., & et al. (2019). Complete biosynthesis of cannabinoids and their unnatural analogues in yeast. *Nature*, *567*, 123–126. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-0978-9>

Machado, C. A. T., Hodel, K. V. S., Lepikson, H. A., & Machado, B. A. S. (2024). Distillation of essential oils: An innovative technological approach focused on productivity, quality and sustainability. *PloS one*, *19*(2), e0299502. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0299502>

Mahboubi, M., & Kazempour, N. (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of peppermint (*mentha piperita* l.) essential oil. *Songklanakarin J. Sci. Technol*, *36*(1), 83–87.

Maiuolo, J., Carresi, C., Gliozzi, M., Musolino, V., Scarano, F., Coppoletta, A. R., Guarnieri, L., Nucera, S., Scicchitano, M., Bosco, F., Ruga, S., Zito, M. C., Macri, R., Cardamone, A., Serra, M., Mollace, R., Tavernese, A., & Mollace, V. (2021). Effects of bergamot polyphenols on mitochondrial dysfunction and sarcoplasmic reticulum stress in diabetic cardiomyopathy. *Nutrients*, *13*(7), 2476. <https://doi.org/10.3390/nu13072476>

Majeed, H., Bian, Y.-Y., Ali, B., Jamil, A., Majeed, U., Khan, Q. F., Iqbal, K. J., Shoemaker, C. F., & Fang, Z. (2015). Essential oil encapsulations: Uses, procedures, and trends. *RSC advances*, *5*(72), 58449–58463. <https://doi.org/10.1039/C5RA06556A>

Mandalari, G., Bennett, R. N., Bisignano, G., Trombetta, D., Saija, A., Faulds, C. B., Gasson, M. J., & Narbad, A. (2007). Antimicrobial activity of flavonoids extracted from bergamot (*citrus bergamia* risso) peel, a byproduct of the essential oil industry. *Journal of applied microbiology*, *103*(6), 2056–2064. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03456.x>

Manina, A. S., & Forlani, F. (2023). Biotechnologies in perfume manufacturing: Metabolic engineering of terpenoid biosynthesis. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(9), 7874. <https://doi.org/10.3390/ijms24097874>

- Manojlovic, V., Djonlagic, J., Obradovic, B., Nedovic, V., & Bugarski, B. (2006). Immobilization of cells by electrostatic droplet generation: A model system for potential application in medicine. *International journal of nanomedicine*, *1*(2), 163–171. <https://doi.org/10.2147/nano.2006.1.2.163>
- Manojlovic, V., Rajic, N., Djonlagic, J., Obradovic, B., Nedovic, V., & Bugarski, B. (2008). Application of electrostatic extrusion - flavour encapsulation and controlled release. *Sensors (Basel, Switzerland)*, *8*(3), 1488–1496. <https://doi.org/10.3390/s8031488>
- Martin, L. J. (2023). State of the art iterative docking with logistic regression and morgan fingerprints. *ChemRxiv*. <https://doi.org/10.26434/chemrxiv.14348117.v1>
- Martindale, W. H. (1910). Essential oils in relation to their antiseptic powers as determined by their carbolic coefficients. *Perfumery and Essential Oil Research*, *1*, 266–296.
- Masyita, A., Mustika Sari, R., Dwi Astuti, A., Yasir, B., Rahma Rumata, N., Emran, T. B., Nainu, F., & Simal-Gandara, J. (2022). Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives. *Food chemistry: X*, *13*(100217), 100217. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100217>
- Matthews, B. W. (1975). Comparison of the predicted and observed secondary structure of T4 phage lysozyme. *Biochimica et Biophysica Acta*, *405*, 442–451. [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(75\)90109-9](https://doi.org/10.1016/0005-2795(75)90109-9)
- Medic, A., Zamljen, T., Slatnar, A., Hudina, M., & Veberic, R. (2021). Is juglone the only naphthoquinone in *Juglans regia* l. with allelopathic effects? *Agriculture*, *11*(8), 784. <https://doi.org/10.3390/agriculture11080784>
- Medzhitov, R. (2015). Innate immunity: Quo vadis? *Nature Immunology*, *16*, 105–109. <https://doi.org/10.1038/ni0710-551>
- Mei, X., Hua, D., Liu, N., Zhang, L., Zhao, X., Tian, Y., Zhao, B., Huang, J., & Zhang, L. (2024). De novo biosynthesis of anthocyanins in *Saccharomyces cerevisiae* using metabolic pathway synthases from blueberry. *Microbial Cell Factories*, *23*, 228. <https://doi.org/10.1186/s12934-024-02500-3>

- Metwaly, A. M., Ghoneim, M. M., Eissa, I. H., Elsehemy, I. A., Mostafa, A. E., Hegazy, M. M., Afifi, W. M., & Dou, D. (2021). Traditional ancient egyptian medicine: A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(10), 5823–5832. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.044>
- Mohamad, R., Mussa, R., & Suslina, S. N. (2021). Prospects for using *Origanum Syriacum* (L.) as a source of antimicrobial agents. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 12(4), 340–344. https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_106_21
- Moirangthem, S., Patra, G., Biswas, S., Das, A., Nath, S., Verma, A. K., Pal, S., Chatterjee, N., Bandyopadhyay, S., Nanda, P. K., & Sharma, G. (2024). Effect of nutmeg (*Myristica fragrans*) and tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oils on the oxidative and microbial stability of chicken fillets during refrigerated storage. *Foods*, 13(24), 4139. <https://doi.org/10.3390/foods13244139>
- Molnar, C. (2022). *Interpretable machine learning - a guide for making black box models explainable* (2nd ed.) [<https://christophm.github.io/interpretable-ml-book/>]. Lulu Press.
- Morgan, H. L. (1965a). The generation of a unique machine description for chemical structures-a technique developed at chemical abstracts service. *Journal of Chemical Documentation*, 5(2), 107–113. <https://doi.org/10.1021/c160017a018>
- Morgan, H. L. (1965b). The generation of a unique machine description for chemical structures-a technique developed at chemical abstracts service. *Journal of chemical documentation*, 5(2), 107–113. <https://doi.org/10.1021/c160017a018>
- Morrison, K. (2024). Industry insights: Consumers seek clean-label ingredients, reliable quality and taste [Accessed 15 May 2025]. *Food Industry Executive*. <https://foodindustryexecutive.com/2024/12/industry-insights-consumers-seek-clean-label-ingredients-reliable-quality-and-taste>
- Nan, W., Zhao, F., Zhang, C., Ju, H., & Lu, W. (2020). Promotion of compound k production in *Saccharomyces cerevisiae* by glycerol. *Microbial Cell Factories*, 19, 41. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01306-3>
- Naseri, N., Valizadeh, H., & Zakeri-Milani, P. (2015). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers: Structure, preparation and application. *Advanced pharmaceutical bulletin*, 5(3), 305–313. <https://doi.org/10.15171/apb.2015.043>

National Institute of Standards and Technology. (2025a). *Thymol*, NIST Chemistry WebBook (*normal boiling point data*) [Accessed 22 July 2025]. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C89838&Type=TBOIL>

National Institute of Standards and Technology. (2025b). *A-pinene*, NIST Chemistry WebBook (*normal boiling point data*) [Accessed 22 July 2025]. <https://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?ID=C80568&Type=TBOIL>

Nedeltcheva-Antonova, D., Gechovska, K., Bozhanov, S., & Antonov, L. (2022). Exploring the chemical composition of bulgarian lavender absolute (*Lavandula angustifolia* mill.) by gc/ms and gc-fid. *Plants*, *11*(22), 3150. <https://doi.org/10.3390/plants11223150>

Nedovic, V., Kalusevic, A., Manojlovic, V., Levic, S., & Bugarski, B. (2011). An overview of encapsulation technologies for food applications. *Procedia food science*, *1*, 1806–1815. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2011.09.265>

Nedović, V., Kalušević, A., Manojlović, V., Petrović, T., & Bugarski, B. (2013). Encapsulation systems in the food industry. In *Food engineering series* (pp. 229–253). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-7906-2_13

Nesse, R. M. (2005). Natural selection and the regulation of defenses: A signal detection analysis of the smoke detector principle. *Evolution and Human Behavior*, *26*(1), 88–105. <https://doi.org/10.1016/j.evolhumbehav.2004.08.002>

Nesse, R. M., & Williams, G. C. (1996). *Why we get sick: The new science of darwinian medicine* (First Edition). Vintage.

Netea, M. G., Joosten, L. A. B., Latz, E., Mills, K. H. W., Natoli, G., Xavier, R. J., Dinarello, C. A., Mandrup-Poulsen, T., van der Meer, J. W. M., Miossec, P., & O'Neill, L. A. J. (2016). Trained immunity: A program of innate immune memory in health and disease. *Science*, *352*, aaf1098. <https://doi.org/10.1126/science.aaf1098>

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural products as sources of new drugs, 1981-2019. *Journal of Natural Products*, *83*(3), 770–803. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01285>

- Nguyen, V. H., Osei, E., & Lee, S. Y. (2024). Chemical composition, molecular docking, and admet evaluation of leaf essential oils from *Melaleuca* species. *Chemistry & Biodiversity*, 21, e202401466. <https://doi.org/10.1002/cbdv.202401466>
- Nieto, G., Ros, G., & Castillo, J. (2018). Antioxidant and antimicrobial properties of rosemary (*rosmarinus officinalis*, L.): A review. *Medicines (Basel, Switzerland)*, 5(3), 98. <https://doi.org/10.3390/medicines5030098>
- Ninomiya, K., Maruyama, N., Inoue, S., Ishibashi, H., Takizawa, T., Oshima, H., & Abe, S. (2012). The essential oil of *melaleuca alternifolia* (tea tree oil) and its main component, terpinen-4-ol protect mice from experimental oral candidiasis. *Biological & pharmaceutical bulletin*, 35(6), 861–865. <https://doi.org/10.1248/bpb.35.861>
- Nugent-Head, J. (2014). The first *Materia Medica*: The *Shen Nong Ben Cao Jing*. *Journal of Chinese Medicine*, (104), 24–33.
- Obe, T., Boltz, T., Kogut, M., & Ricke, S. C. (2023). Controlling *Salmonella*: Strategies for feed, the farm, and the processing plant. *Poultry Science*, 102(12), 102603. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.103086>
- O'Brien, R. M. (2007). A caution regarding rules of thumb for variance inflation factors. *Quality & Quantity*, 41(5), 673–690. <https://doi.org/10.1007/s11135-006-9018-6>
- Olszowy, M., & Dawidowicz, A. L. (2016). Essential oils as antioxidants: Their evaluation by DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, and β -carotene bleaching methods. *Monatshefte fur chemie*, 147(12), 2083–2091. <https://doi.org/10.1007/s00706-016-1837-0>
- Onmanorama Staff. (2025). *The 3,700-year-old spice jar that rewrote food trade history* [Accessed 10 Jul 2025]. <https://www.onmanorama.com/food/features/2025/06/19/cloves-in-ancient-syria-insights-into-spice-trade.html>
- Orchard, A., & van Vuuren, S. (2017). Commercial essential oils as potential antimicrobials to treat skin diseases. *Evidence-based complementary and alternative medicine: eCAM*, 2017, 4517971. <https://doi.org/10.1155/2017/4517971>
- Padovan, A., Keszei, A., Hassan, Y., Krause, S. T., Köllner, T. G., Degenhardt, J., Gershenzon, J., Külheim, C., & Foley, W. J. (2017). Four terpene synthases con-

- tribute to the generation of chemotypes in tea tree (*Melaleuca alternifolia*). *BMC plant biology*, 17(1), 160.
- Parente, J. F., Sousa, V. I., Marques, J. F., Forte, M. A., & Tavares, C. J. (2022). Biodegradable polymers for microencapsulation systems. *Advances in polymer technology*, 2022(1), 1–43. <https://doi.org/10.1155/2022/4640379>
- Pateiro, M., Gómez, B., Munekata, P. E. S., Barba, F. J., Putnik, P., Kovačević, D. B., & Lorenzo, J. M. (2021). Nanoencapsulation of promising bioactive compounds to improve their absorption, stability, functionality and the appearance of the final food products. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(6), 1547. <https://doi.org/10.3390/molecules26061547>
- Patil, P. J., & Ghosh, J. (2010). Antimicrobial activity of *Catharanthus roseus* - a detailed study. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 1(1), 40–44.
- Patsilinakos, A., Artini, M., Papa, R., Sabatino, M., Božović, M., Garzoli, S., Vrenna, G., Buzzi, R., Manfredini, S., Selan, L., & Ragno, R. (2019). Machine learning analyses on data including essential oil chemical composition and in vitro experimental antibiofilm activities against staphylococcus species. *Molecules*, 24(5). <https://doi.org/10.3390/molecules24050890>
- Payong, A., & Mukherjee, S. (2025, March). *Mastering logistic regression with scikit-learn: A complete guide* [Tutorial article]. DigitalOcean. <https://www.digitalocean.com/community/tutorials/logistic-regression-with-scikit-learn>
- Pedregosa, F., Varoquaux, G., Gramfort, A., Michel, V., Thirion, B., Grisel, O., Blondel, M., Prettenhofer, P., Weiss, R., Dubourg, V., Vanderplas, J., Passos, A., Cournapeau, D., Brucher, M., Perrot, M., & Duchesnay, E. (2011). Scikit-learn: Machine learning in Python. *Journal of Machine Learning Research*, 12, 2825–2830.
- Peñalver, P., Huerta, B., Borge, C., Astorga, R., Romero, R., & Perea, A. (2005). Antimicrobial activity of five essential oils against origin strains of the enterobacteriaceae family. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 113(1), 1–6. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2005.apm1130101.x>
- Peng, S., Zhang, J., Zhang, T., Hati, S., Mo, H., Xu, D., Li, H., Hu, L., & Liu, Z. (2022). Characterization of carvacrol incorporated antimicrobial film based on

agar/konjac glucomannan and its application in chicken preservation. *Journal of Food Engineering*, 330, 111091.

Pennsylvania State University Department of Statistics. (2025). *Detecting multicollinearity using variance inflation factors (vif)* [STAT 462: Applied Regression Analysis, Lesson 10.7. Accessed 29 July 2025]. <https://online.stat.psu.edu/stat462/node/180/>

Picetti, R., Deeney, M., Pastorino, S., Miller, M. R., Shah, A., Leon, D. A., Dangour, A. D., & Green, R. (2022). Nitrate and nitrite contamination in drinking water and cancer risk: A systematic review with meta-analysis. *Environmental Research*, 210, 112988.

Plantation, T. (2025). *Tea tree antiseptic cream (100 g)*. Retrieved July 22, 2025, from <https://natonic.com.au/en/thursday-plantation-tea-tree-antiseptic-cream-100g>

Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>

Purkait, S., et al. (2020). *A comprehensive review on essential oils and their antimicrobial potential in food systems*. *Journal of Food Science and Technology*, Vol. 57, 278–295. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04195-6>

Quoc, L. P. T., & Quyen, P. T. (2024). Chemical composition and biological evaluation of tea tree (*Melaleuca alternifolia* L.) leaves essential oils. *Revista Facultad Nacional De Agronomia Medellin*, 77(2), 10743–10750. <https://doi.org/10.15446/rfnam.v77n2.109468>

Ragno, A., Baldisserotto, A., Antonini, L., Sabatino, M., Sapienza, F., Baldini, E., Buzzi, R., Vertuani, S., & Manfredini, S. (2021). Machine learning data augmentation as a tool to enhance quantitative composition-activity relationships of complex mixtures. a new application to dissect the role of main chemical components in bioactive essential oils. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(20), 6279. <https://doi.org/10.3390/molecules26206279>

Rainha, J., Rodrigues, J. L., & Rodrigues, L. R. (2024). De novo biosynthesis of curcumin in *Saccharomyces cerevisiae*. *ACS Synthetic Biology*, 13, 1727–1736. <https://doi.org/10.1021/acssynbio.4c00059>

- Ramos, C., Mutz, Y., da Silva, B. D., Ochioni, A. C., Amaral, A. J. B., & Conte-Junior, C. A. (2025). Comparative analysis of the effects of *Origanum vulgare* essential oil and carvacrol nanoemulsified and non-nanoemulsified forms against *Salmonella Typhimurium* strains. *International Journal of Food Microbiology*, 440, 111273. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2025.111273>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- Reis, D. R., Ambrosi, A., & Luccio, M. D. (2022). Encapsulated essential oils: A perspective in food preservation. *Future Foods*, 5, 100126. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2022.100126>
- Ribeiro-Santos, R., & Andrade, M. (2022). *Challenges of using essential oils in foods: Volatility, oxidation and sensory impact*. *Trends in Food Science & Technology*, Vol. 119, 676–687. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.012>
- Riniker, S., & Landrum, G. A. (2013). Similarity maps - a visualization strategy for molecular fingerprints and machine-learning methods. *Journal of cheminformatics*, 5(1), 43. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-5-43>
- Roccia, A., Hibrand-Saint Oyant, L., Cavel, E., Caissard, J.-C., Machenaud, J., Thouroude, T., Jeauffre, J., Bony, A., Dubois, A., Vergne, P., Szécsi, J., Foucher, F., Bendahmane, M., & Baudino, S. (2019). Biosynthesis of 2-phenylethanol in rose petals is linked to the expression of one allele of RhPAAS. *Plant physiology*, 179(3), 1064–1079. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01468>
- Rogers, D., & Hahn, M. (2010). Extended-connectivity fingerprints. <https://doi.org/10.1021/ci100050t>
- Rota, C., Carramiñana, J. J., Burillo, J., & Herrera, A. (2004). *In vitro* antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *Journal of food protection*, 67(6), 1252–1256. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-67.6.1252>

- Sadgrove, N. J., Padilla-González, G. F., & Phumthum, M. (2022). Fundamental chemistry of essential oils and volatile organic compounds, methods of analysis and authentication. *Plants*, *11*(6), 789. <https://doi.org/10.3390/plants11060789>
- Saha, P., Rahman, F. I., Hussain, F., Rahman, S. M. A., & Rahman, M. M. (2021). Antimicrobial diterpenes: Recent development from natural sources. *Frontiers in pharmacology*, *12*, 820312. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.820312>
- Salem, S. I. (2016). Medicine in ancient mesopotamia. In H. Selin (Ed.), *Encyclopaedia of the history of science, technology, and medicine in non-western cultures* (pp. 2970–2974). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-7747-7_9273
- Sateriale, D., Forgione, G., De Cristofaro, G. A., Pagliuca, C., Colicchio, R., Salvatore, P., Paolucci, M., & Pagliarulo, C. (2023). Antibacterial and antibiofilm efficacy of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil against *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *Antibiotics*, *12*(3), 485. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030485>
- ScenTree SAS. (2025). *Benzyl acetate (cas no. 140-11-4): General presentation, uses, physico-chemical data, regulations & ifra* [Site copyright 2019-2025. ScenTree indicates the database integrates IFRA 51st standards.]. ScenTree SAS. Retrieved July 28, 2025, from https://www.scentree.co/en/Benzyl_acetate.html
- Schlosser, Š. (2011). Distillation - from bronze age till today. In J. Markoš (Ed.), *Proceedings of the 38th international conference of slovak society of chemical engineering* (pp. 1–12). Slovak Society of Chemical Engineering, Slovak University of Technology in Bratislava.
- Scikit-learn: Logisticregression api reference* [Version 1.7.0, accessed July 17, 2025]. (2025). scikit-learn Developers. https://scikit-learn.org/stable/modules/generated/sklearn.linear_model.LogisticRegression.html
- Scikit-learn: Probability calibration (user guide)* [Version 1.7.0, accessed July 17, 2025]. (2025). scikit-learn Developers. <https://scikit-learn.org/stable/modules/calibration.html>
- scikit-learn developers. (2025). *Permutation feature importance* [Accessed 29 July 2025]. https://scikit-learn.org/stable/modules/permutation_importance.html

Seal, S., Yang, H., Trapotsi, M.-A., Singh, S., Carreras-Puigvert, J., Spjuth, O., & Bender, A. (2023). Merging bioactivity predictions from cell morphology and chemical fingerprint models using similarity to training data. *Journal of Cheminformatics*, *15*, 56. <https://doi.org/10.1186/s13321-023-00723-x>

Shaji, S., Selvaraj, R. K., & Shanmugasundaram, R. (2023). Salmonella infection in poultry: A review on the pathogen and control strategies. *Microorganisms*, *11*, 2814. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112814>

Shalayel, M. H. F., Asaad, A. M., Qureshi, M. A., & Elhoussein, A. B. (2017). Antibacterial activity of peppermint (mentha piperita) extracts against some emerging multi-drug resistant human bacterial pathogens. *Journal of herbal medicine*, *7*, 27–30. <https://doi.org/10.1016/j.hermed.2016.08.003>

Shellie, R., Mondello, L., Marriott, P., & Dugo, G. (2002). Characterisation of lavender essential oils by using gas chromatography-mass spectrometry with correlation of linear retention indices and comparison with comprehensive two-dimensional gas chromatography. *Journal of chromatography. A*, *970*(1-2), 225–234. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(02\)00653-2](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(02)00653-2)

Shen, X., Zeng, T., Chen, N., Li, J., & Wu, R. (2024). NIMO: A natural product-inspired molecular generative model based on conditional transformer. *Molecules*, *29*(8), 1867. <https://doi.org/10.3390/molecules29081867>

Shin, M.-J., Park, J.-H., & Lee, S.-H. (2023). Interpretable machine learning reveals key terpenoid motifs suppressing *Listeria monocytogenes*. *Food Chemistry*, *414*, 135693. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.135693>

Singh, K., Kaloni, D., Sehgal, K., Pan, S., & Sarethy, I. P. (2020). Essential oils: An update on their biosynthesis and genetic strategies to overcome the production challenges. In *Plant-derived bioactives* (pp. 33–60). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1761-7_2

Šinkovec, H., Heinze, G., Blagus, R., & Geroldinger, A. (2021). To tune or not to tune: A case study of ridge logistic regression in small or sparse datasets. *BMC Medical Research Methodology*, *21*, 199. <https://doi.org/10.1186/s12874-021-01374-y>

Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P. D., Brkić, D., & van Griensven, L. J. L. D. (2010). Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal

herbs using an in vitro model. *Molecules*, 15(11), 7532–7546. <https://doi.org/10.3390/molecules15117532>

Soliman, E. A., El-Moghazy, A. Y., El-Din, M. S. M., & Massoud, M. A. (2013). Microencapsulation of essential oils within alginate: Formulation and *in vitro* evaluation of antifungal activity. *Journal of encapsulation and adsorption sciences*, 03(01), 48–55. <https://doi.org/10.4236/jeas.2013.31006>

Southwell, I., & Núñez, O. (Eds.). (2023). *Chemistry of essential oils and food flavours*. MDPI. <https://doi.org/10.3390/books978-3-0365-5872-1>

Steele, D. (2019). Update on ints disease burden and vaccine development. *WHO PDVAC Meeting*. https://cdn.who.int/media/docs/default-source/immunization/pdvac/pdvac-2019/day-2_update-on-ints-vaccine-development-and-outcomes-of-bmgf_wt-consultation_duncan-steele.pdf

Steyerberg, E. W., & Vergouwe, Y. (2014). Towards better clinical prediction models: Seven steps for development and an ABCD for validation. *European Heart Journal*, 35(29), 1925–1931. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu207>

Suetsugu, T., Tanaka, M., Iwai, H., Sugimoto, J., Oka, M., Nakamura, K., Katayama, Y., Kakuta, N., Sato, T., & Kumazawa, H. (2013). Supercritical CO₂ extraction of essential oil from kabosu (*Citrus sphaerocarpa*) peel. *Flavour*, 2, 18. <https://doi.org/10.1186/2044-7248-2-18>

Tak, J.-H., & Isman, M. B. (2017). Penetration-enhancement underlies synergy of plant essential-oil terpenoids as insecticides in the cabbage looper. *Sci. Rep.*, 7, 42432. <https://doi.org/10.1038/srep42432>

Tao, Q., Du, G., Chen, J., Zhang, J., & Peng, Z. (2024). Metabolic engineering for efficient synthesis of patchoulol in *Saccharomyces cerevisiae*. *Fermentation*, 10, 211. <https://doi.org/10.3390/fermentation10040211>

Tartik, M., Liu, J., Tous Mohedano, M., Mao, J., & Chen, Y. (2023). Optimizing yeast for high-level production of kaempferol and quercetin. *Microbial Cell Factories*, 22, 74. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02084-4>

Tibshirani, R. (1996). Regression shrinkage and selection via the lasso. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B*, 58(1), 267–288.

- Touati, A., Mairi, A., Ibrahim, N. A., & Idres, T. (2025). Essential oils for biofilm control: Mechanisms, synergies, and translational challenges in the era of antimicrobial resistance. *Antibiotics*, *14*(5), 503. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14050503>
- Trevisan, D. A. C., Silva, A. F. d., Negri, M., Abreu Filho, B. A. d., Machinski Junior, M., Patussi, E. V., Campanerut-Sá, P. A. Z., & Mikcha, J. M. G. (2018). Antibacterial and antibiofilm activity of carvacrol against salmonella enterica serotype typhimurium. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *54*(1). <https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000117229>
- Troeger, C., Khalil, I. A., & Collaborators, G. 2. S. (2019). The global burden of non-typhoidal *Salmonella* enterocolitis: A systematic analysis for the global burden of disease study 2017. *The Lancet Infectious Diseases*, *19*(12), 1312–1324. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(19\)30418-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(19)30418-9)
- Tu, Y. (2011). The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from chinese medicine. *Nature medicine*, *17*(10), 1217–1220. <https://doi.org/10.1038/nm.2471>
- UK Health Security Agency. (2024). *Non-typhoidal salmonella data 2015–2024* [Accessed 10 Jul 2025]. <https://www.gov.uk/government/publications/salmonella-national-laboratory-and-outbreak-data/non-typhoidal-salmonella-data-2015-to-2024>
- Ulanowska, M., & Olas, B. (2021). Biological properties and prospects for the application of eugenol-a review. *International journal of molecular sciences*, *22*(7). <https://doi.org/10.3390/ijms22073671>
- Ultee, A., Kets, E. P., & Smid, E. J. (1999). Mechanisms of action of carvacrol on the food-borne pathogen bacillus cereus. *Applied and environmental microbiology*, *65*(10), 4606–4610. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.10.4606-4610.1999>
- UNAIDS. (2024). *Global hiv & aids statistics-fact sheet 2024* [AIDS-related deaths in 2023: 630 000]. <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>
- Uzun, Y., & Saltan, F. Z. (2024). Use of machine learning methods in predicting the main components of essential oils: *Laurus nobilis* l. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, *27*(5), 1302–1318. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2024.2334383>

Van Calster, B., McLernon, D. J., van Smeden, M., Wynants, L., & Steyerberg, E. W. (2019). Calibration: The achilles heel of predictive analytics. *BMC Medicine*, *17*(1), 230. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1466-7>

Van Rijsbergen, C. J. (1979). *Information retrieval* (2nd ed.). Butterworths.

Verma, S. K., Goswami, P., Verma, R. S., Padalia, R. C., Chauhan, A., Singh, V. R., & Darokar, M. P. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of bergamot-mint (*Mentha citrata* ehrh.) essential oils isolated from the herbage and aqueous distillate using different methods. *Industrial crops and products*, *91*, 152–160. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.07.005>

Wang, C., Chen, X., Liu, M., Tang, X., Li, Y., Zhan, Y., & Hao, Z. (2025). Antibacterial activity and mechanism of *Litsea cubeba* essential oil against *Salmonella typhimurium*. *Plants*, *14*(9), 1343. <https://doi.org/10.3390/plants14091343>

Wang, L., Wang, H., Chen, J., Qin, Z., Yu, S., & Zhou, J. (2023). Coordinating caffeic acid and salvianic acid pathways for efficient production of rosmarinic acid in *Escherichia coli*. *Metabolic Engineering*, *76*, 29–38. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2023.01.002>

Wang, Y., Ge, H., Wei, X., & Zhao, X. (2022). Research progress on antibiotic resistance of *Salmonella*. *Food quality and safety*, *6*. <https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyac035>

Wani, M. C., Taylor, H. L., Wall, M. E., Coggon, P., & McPhail, A. T. (1971). Plant antitumor agents. VI. the isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *taxus brevifolia*. *Journal of the American Chemical Society*, *93*(9), 2325–2327. <https://doi.org/10.1021/ja00738a045>

Weininger, D. (1988). SMILES, a chemical language and information system. 1. introduction to methodology and encoding rules. *Journal of chemical information and computer sciences*, *28*(1), 31–36. <https://doi.org/10.1021/ci00057a005>

Weldon, P. J., Aldrich, J. R., Klun, J. A., Oliver, J. E., & Debboun, M. (2003). Benzoquinones from millipedes deter mosquitoes and elicit self-anointing in capuchin monkeys (*Cebus* spp.) *Naturwissenschaften*, *90*, 301–304. <https://doi.org/10.1007/s00114-003-0427-2>

WHO. (2022). *Multi-country outbreak of Salmonella typhimurium linked to chocolate products* [Accessed 10 Jul 2025]. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON369>

WHO. (2023a). *Global tuberculosis report 2023* (tech. rep.) (Global deaths in 2022: 1.3 million (1.13 million HIV-negative + 0.17 million HIV-positive)). World Health Organisation. <https://www.who.int/publications/i/item/9789240083851>

WHO. (2023b). *Typhoid - fact sheet (updated 2023)* [Global deaths (2019 baseline): 110 000]. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/typhoid>

WHO. (2023c). *World malaria report 2023* (tech. rep.) (Estimated malaria deaths in 2022: 600 000). World Health Organisation. <https://www.who.int/teams/global-malaria-programme/reports/world-malaria-report-2023>

WHO. (2024). Who updates list of drug-resistant bacteria most threatening to human health. *News Release*. <https://www.who.int/news/item/17-05-2024-who-updates-list-of-drug-resistant-bacteria-most-threatening-to-human-health>

WHO. (2025). *Traditional, complementary and integrative medicine* [Accessed 19 Jul 2025]. https://www.who.int/Health-Topics/Traditional-Complementary-and-Integrative-Medicine#tab=tab_1

Wicochea-Rodríguez, J. D., Chalier, P., Ruiz, T., & Gastaldi, E. (2019). Active food packaging based on biopolymers and aroma compounds: How to design and control the release. *Frontiers in chemistry*, 7, 398. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00398>

Wong, S. T. S., Kamari, A., Abdullah, N. N. A., Yusof, N., & Wayan Sutapa, I. (2024). Preparation and characterization of bergamot essential oil nanoemulsion. *IOP conference series. Earth and environmental science*, 1425(1), 012031. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1425/1/012031>

Wrangham, R. W., & Nishida, T. (1983). *Aspilia spp.* leaves: A puzzle in the feeding behavior of wild chimpanzees. *Primates*, 24, 276–282. <https://doi.org/10.1007/BF02381090>

Wu, J., Zhou, P., Zhang, X., & Dong, M. (2017). Efficient *de novo* synthesis of resveratrol by metabolically engineered *Escherichia coli* using crispr interference to redi-

rect malonyl-coa. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 44(7), 1083–1096. <https://doi.org/10.1007/s10295-017-1937-9>

Wu, L., Schroën, K., & Corstens, M. (2024). Structural stability and release properties of emulsion-alginate beads under gastrointestinal conditions. *Food hydrocolloids*, 150(109702), 109702. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109702>

Xu, Y., Wang, X., Zhang, C., & et al. (2022). De novo biosynthesis of rubusoside and rebaudiosides in engineered yeasts. *Nature Communications*, 13, 3040. <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30826-2>

Yabuuchi, H., Hayashi, K., Shigemoto, A., Fujiwara, M., Nomura, Y., Nakashima, M., Ogusu, T., Mori, M., Tokumoto, S.-I., & Miyai, K. (2023). Virtual screening of antimicrobial plant extracts by machine-learning classification of chemical compounds in semantic space. *PloS one*, 18(5), e0285716. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285716>

Yabuuchi, H., Hayashi, K., Shigemoto, A., Miyazaki, N., Harada, T., Tanaka, Y., Araki, S., Kida, H., Koyama, R., Ohara, K., Takagi, H., Hirose, S., & Kawaguchi, A. (2023). Prediction of antibacterial interaction between essential oils via a graph embedding approach. *Scientific Reports*, 13, 18947. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-46377-5>

Yammine, J., Chihib, N.-E., Gharsallaoui, A., Ismail, A., & Karam, L. (2024). Advances in essential oils encapsulation: Development, characterization and release mechanisms. *Polymer Bulletin*, 81(5), 3837–3882.

Yan, Y., Yang, Z., Semenkovich, T. R., Kozower, B. D., Meyers, B. F., Nava, R. G., Kreisel, D., & Puri, V. (2022). Comparison of standard and penalized logistic regression in risk model development. *JTCVS Open*, 9, 303–316. <https://doi.org/10.1016/j.xjon.2022.01.016>

Yang, J., Cai, Y., Zhao, K., Xie, H., & Chen, X. (2022). Concepts and applications of chemical fingerprint for hit and lead screening. *Drug Discovery Today*, 27(11), 103356. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.103356>

Yang, Y., Fang, Z., Chen, X., Zhang, W., Xie, Y., Chen, Y., Liu, Z., & Yuan, W. (2017). An overview of pickering emulsions: Solid-particle materials, classification,

- morphology, and applications. *Frontiers in pharmacology*, 8, 287. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00287>
- Yerushalmy, J. (1947). Statistical problems in assessing methods of medical diagnosis, with special reference to x-ray techniques. *Public Health Reports*, 62(40), 1432–1449. <https://doi.org/10.2307/4586294>
- Yoo, G. (2024). *Cloves: The spice that enriched empires* [Accessed 10 Jul 2025]. <https://daily.jstor.org/cloves-the-spice-that-enriched-empires/>
- Youssef Kh. M and Shatta A.A. (2006). Effect of acrylamide, amygdalin, capsicum, furfural and vanillin on some food borne pathogenic bacteria. *The Journal of Agricultural Science, Mansoura University*, 31(4), 2179–2191.
- Zeng, B.-X., Yao, M.-D., Wang, Y., Xiao, W.-H., & Yuan, Y.-J. (2020). Metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae* for enhanced dihydroartemisinic acid production. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 152. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00152>
- Zeng, L., Wang, X., Dong, F., Watanabe, N., & Yang, Z. (2019). Increasing postharvest high-temperatures lead to increased volatile phenylpropanoids/benzenoids accumulation in cut rose (*rosa hybrida*) flowers. *Postharvest biology and technology*, 148, 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.10.012>
- Zeng, X., Zhang, P., He, W., Qin, C., Chen, S., Tao, L., Wang, Y., Tan, Y., Gao, D., Wang, B., & Chen, Y. Z. (2018). NPASS: Natural product activity and species source database for natural product research, discovery and tool development. *Nucleic Acids Research*, 46, D1217–D1222. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1026>
- Zhang, L., & Chen, Y. (2025). Gc–ms and chemometric contrastive analysis of *Cistus* essential oils from different chinese provenances. *Natural Product Communications*, 20(4), 1–10. <https://doi.org/10.1177/1934578X251333914>
- Zhao, P., Cui, R., Li, W., Zhang, F., Meng, X., & Liu, B. (2024). Self-assembly metal phenolic network coating improves the controlled release and bacteriostatic properties of *Litsea cubeba* essential oil-loaded ϵ -polylysine–pectin nanoparticles. *Food Bioscience*, 104756. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2024.104756>

Zhu, H., Jiang, S., Wu, J.-J., Zhou, X.-R., Liu, P.-Y., Huang, F.-H., & Wan, X. (2022). Production of high levels of (3s,3's)-astaxanthin in *Yarrowia lipolytica* via iterative metabolic engineering. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(8), 2673–2683. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c08072>

Zhuang, W.-R., Wang, Y., Cui, P.-F., Xing, L., Lee, J., Kim, D., Jiang, H.-L., & Oh, Y.-K. (2019). Applications of π - π stacking interactions in the design of drug-delivery systems. *Journal of controlled release: official journal of the Controlled Release Society*, 294, 311–326. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.12.014>

Zielińska-Błajet, M., & Feder-Kubis, J. (2020). Monoterpenes and their derivatives—recent development in biological and medical applications. *International journal of molecular sciences*, 21(19), 7078. <https://doi.org/10.3390/ijms21197078>

7. Биографија аутора

Марија Лагерхолм (рођ. Кокина) дипломирала је са похвалама на Државном техничком универзитету у Санкт Петербургу, где је стекла звање дипломираног инжењера хемијске технологије (2016) и мастер индустријске биотехнологије (2018). Током мастер студија била је на Еразмус размени на Универзитету "Лучан Блага" у Сибињу (ULBS, Румунија) од 6. марта до 2. августа 2017. Додатно, уз подршку Владе Руске Федерације, реализовала је међународну мобилност у Србији, где је сарађивала са проф. др Виктором Недовићем и радила у Институту за истраживање лековитог биља "Др Јосиф Панчић" (15. новембар - 6. децембар 2017. и 10. април - 31. мај 2018).

Након завршетка мастер студија, Марија је добила стипендију Владе Републике Србије за докторске студије на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду. Има просек 9,7 од 10 на докторским предметима. Њена истраживања усмерена су на примену машинског учења у проучавању природних биоактивних једињења из етеричних уља и њихове биоактивности, са посебним фокусом на прехранбено индустрију. У периоду 2019-2021. била је гостујући истраживач на Чалмерс технолошком универзитету у Шведској, где се бавила масеном спектрометријом, метаболомиком и рачунарском биологијом. Свака њена међународна размена резултирала је коауторским радовима објављеним у међународним рецензираним часописима. Од септембра 2024. до маја 2026. студирала је на програму Науке о подацима у Гетеборгу, који је завршила са одличним просеком. Од августа 2025. године ради као стручњак за науку о подацима у приватном сектору у Шведској, а током 2026. године планира да настави академску каријеру као истраживач на постдокторским студијама на Чалмерс технолошком универзитету.

Објављени и саопштени резултати

У сарадњи са другим ауторима кандидат је објавио следеће научне радове:

Научни радови објављени у међународном часопису M21 = 1:

1. Zrimec, J., Kokina, M., Jonasson, S., Zorrilla, F., & Zelezniak, A. (2021). Plastic-degrading potential across the global microbiome correlates with recent pollution trends. *mBio*, 12(5), e0215521. <https://doi.org/10.1128/mBio.02155-21>

Научни радови објављени у међународном часопису M22 = 2:

1. Kokina, M., Salević, A., Kalušević, A., Lević, S., Pantić, M., Pljevljakušić, D., Šavikin, K., Shamtsyan, M., Nikšić, M., & Nedović, V. (2019). Characterization, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils and their encapsulation into biodegradable material followed by freeze-drying. *Food Technology and Biotechnology*, 57(2). <https://doi.org/10.17113/ftb.57.02.19.5957>
2. Zrimec, J., Buric, F., Kokina, M., Garcia, V., & Zelezniak, A. (2021). Learning the regulatory code of gene expression. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 8, 673363. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2021.673363>

Научни радови објављени у међународном часопису M23 = 1:

1. Lagerholm, M., Jovanović, M., Kuzmanović, M., Pešić, M., & Nedović, V. (2025). A machine learning-supported analysis of essential oil constituents targeting *Salmonella Typhimurium*. *Comprehensive Plant Biology (Botanica Serbica)* (прихваћен за објављивање).

Научни радови објављени у индексираним међународним часописима који нису категорисани у КОБСОН-у = 3:

1. Kokina, M., Shamtsyan, M., Georgescu, C., Mironescu, M., & Nedović, V. (2019). Essential oil/alginate microcapsules: Obtaining and applying. *Immunopathologia Persa*, 5(1), e04-e04.
2. Kokina, M., Shamtsyan, M., Georgescu, C., & Mironescu, M. (2018). Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected microorganisms. *Journal of Medical Bacteriology*, 7(1-2), 44-49.
3. Kokina, M., Frioui, M., Shamtsyan, M., Sibirtsev, V., Krasnikova, L., Konusova, V., & Simbirtsev, A. (2018). Influence of *Pleurotus ostreatus* β -glucans on the growth and activity of certain lactic acid bacteria. *Scientific Study & Research Journal*, 19(4), 465-471.

Научна саопштења са међународних скупова штампана у изводу (М34) = 11:

1. Kokina, M., Shamtsyan, M., Frioui, M., Sibirtsev, V., Krasnikova, L., & Konusova, V. (2018). Influence of *Pleurotus ostreatus* β -glucans on the growth and activity of specific lactic acid bacteria. 9th Central European Congress on Food (CEFood), Sibiu, Romania.
2. Kokina, M., Shamtsyan, M., Salević, A., Kalušević, A., Lević, S., Despotović, S., Pantić, M., Pljevljakušić, D., Šavikin, K., Nikšić, M., & Nedović, V. (2018). Characterization, antioxidant and antimicrobial activity of essential oils and embedding them into biodegradable material followed by freeze-drying. 9th Central European Congress on Food (CEFood), Sibiu, Romania.
3. Kokina, M., Shamtsyan, M., Georgescu, C., & Mironescu, M. (2017). Essential oils from several plants as antimicrobial agents against pathogenic microorganisms. Conference "Traditions and Innovations", Saint Petersburg, Russia.
4. Kokina, M., Shamtsyan, M. (2018). Plant essential oils as natural food preservatives. Conference "Innovative Materials and Technologies", Saint Petersburg, Russia.
5. Kokina, M., Shamtsyan, M., Georgescu, C., & Mironescu, M. (2017). Encapsulation of volatile oil by using an alginate coating method. NeeFood Congress, Kaunas, Lithuania.
6. Kokina, M., Shamtsyan, M., Georgescu, C., & Mironescu, M. (2017). Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected microorganisms. Nutricon 2017, Skopje, Macedonia.
7. Kokina, M., & Koleva, V. (2016). The probiotic activity against obesity. New Science - Experiences, Traditions, and Innovations, Omsk, Russia.
8. Kokina, M., Yasnogorodskaya, O., Sivtsov, E., & Malov, V. (2015). Surface activity of acrylic substances in aqueous solutions. Baltic Polymer Symposium, Sigulda, Latvia.
9. Kokina, M., Sivtsov, E., & Malov, V. (2015). The surface activity of acrylic monomers. Conference "Science Week", Saint Petersburg, Russia.
10. Kokina, M., & Sivtsov, E. (2015). Innovation in chemical technology as a factor of professional qualification specialists. Conference "Innovative Science and Contemporary Society", Ufa, Russia.

11. Kokina, M., Sivtsov, E., & Malov, V. (2015). The surface activity in aqueous solutions of some acrylic monomers. Surface Active Agents - 2015, Saint Petersburg, Russia.

8. Прилози

Прилог 1. Анализа података

```
In [ ]: import numpy as np
import pandas as pd
import time
import matplotlib.pyplot as plt
from sklearn.model_selection import cross_validate, \
    StratifiedKFold, learning_curve
from sklearn.metrics import (
    accuracy_score, recall_score, precision_score, \
    matthews_corrcoef,
    f1_score, make_scorer, confusion_matrix, roc_auc_score
)
from sklearn.linear_model import LogisticRegression
from sklearn.utils import resample
from sklearn.inspection import permutation_importance

import seaborn as sns

# Ensure plots display correctly in Jupyter notebooks
%matplotlib inline
```

```
In [217... import pandas as pd

# Load the dataset
df = pd.read_csv('aggregated_plants.csv')

# Dropping non-relevant columns
df = df.drop(columns=['Plant_Species', 'Reference', 'BitInterpretations'])

# Handle missing values if necessary
df = df.dropna()

# Separating features and target
features = df.drop('Salmonella Typhimurium', axis=1)
target = df['Salmonella Typhimurium']

X = features
y = target

print(f"Total dataset size: {X.shape[0]} samples")
print(f"Number of features: {X.shape[1]}")

df.head()
```

```
Total dataset size: 171 samples
Number of features: 682
```

```
Out [217...
      Salmonella
      Typhimurium Bit_1 Bit_2 Bit_4 Bit_8 Bit_9 Bit_11 Bit_12 Bit_13 Bit_14 ... |
0      0      0      0      0      0      0      0      0      0      0 ...
1      0      0      0      0      0      0      0      0      0      0 ...
2      0      1      0      0      0      0      0      0      0      0 ...
3      0      0      0      0      0      0      0      0      0      0 ...
4      0      0      0      0      0      0      0      0      0      0 ...
```

5 rows × 683 columns

```
In [ ]: # Data Overview
print("\n--- Data Overview ---")
# Summary of data types and non-null values
print(df.info())

# Sparsity Check
print("\n--- Sparsity Check ---")
# Percentage of zeros in each feature
sparsity = (X == 0).mean() * 100
# Summary of sparsity across all features
print(sparsity.describe())
plt.figure(figsize=(10, 6))
sns.histplot(sparsity, kde=False, bins=20, color='skyblue')
plt.title('Distribution of Sparsity in Features', fontsize=16)
plt.xlabel('Percentage of Zeros (%)')
plt.ylabel('Count of Features')
plt.show()

# Target Distribution
print("\n--- Target Distribution ---")
# Distribution of target classes
print(target.value_counts())

# Check for missing values (NaN)
print("\n--- Missing Values Check ---")
missing_values = df.isnull().sum()
if missing_values.sum() == 0:
    print("No missing values found in the dataset.")
else:
    print(f"Columns with missing values:\n
          \n{missing_values[missing_values > 0]}")

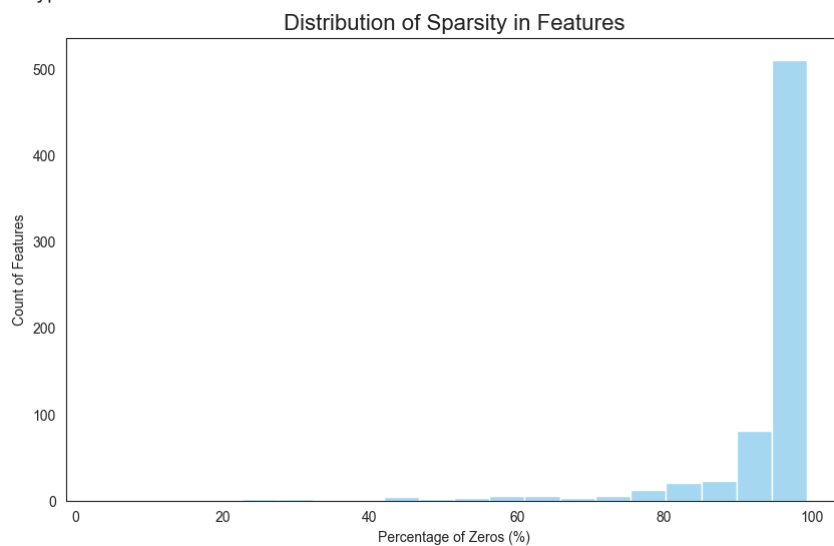
# Check for empty cells
print("\n--- Empty (Zero) Cells Check ---")
# Count of zero cells in each feature
empty_cells = (X == 0).sum()
print(f"Number of features with all zero \
      values:\n{(empty_cells == X.shape[0]).sum()}")

# Check for missing values in the target variable
```

```
print("\n--- Missing Values in Target ---")
if target.isnull().sum() == 0:
    print("No missing values found in the target variable.")
else:
    print(f"Missing values in target: {target.isnull().sum()}")
```

```
--- Data Overview ---
<class 'pandas.core.frame.DataFrame'>
RangeIndex: 171 entries, 0 to 170
Columns: 683 entries, Salmonella Typhimurium to Bit_2044
dtypes: int64(683)
memory usage: 912.6 KB
None
```

```
--- Sparsity Check ---
count    682.000000
mean     94.232649
std      10.893300
min       3.508772
25%      94.152047
50%      98.245614
75%      99.415205
max       99.415205
dtype: float64
```



```
--- Target Distribution ---  
Salmonella Typhimurium  
1      87  
0      84  
Name: count, dtype: int64  
  
--- Missing Values Check ---  
No missing values found in the dataset.  
  
--- Empty (Zero) Cells Check ---  
Number of features with all zero values:  
0  
  
--- Missing Values in Target ---  
No missing values found in the target variable.
```

Прилог 2. Мултиколинеарност

```
In [ ]: # Define the correlation threshold
correlation_threshold = 0.95

import pandas as pd
import numpy as np

# X is a pandas DataFrame
if not isinstance(X, pd.DataFrame):
    X = pd.DataFrame(X, columns=feature_names)

# Compute the pairwise correlation matrix (absolute values)
corr_matrix = X.corr().abs()

# Select the upper triangle of
# the correlation matrix without the diagonal
upper_triangle = corr_matrix.where(
    np.triu(np.ones(corr_matrix.shape), k=1).astype(bool)
)

# Identify feature pairs with correlation
# above the threshold
features_to_remove = set()

for column in upper_triangle.columns:
    # Find features with correlation
    # greater than the threshold
    high_corr_features = upper_triangle[column] \
        [upper_triangle[column] \
         > correlation_threshold].index.tolist()
    features_to_remove.update(high_corr_features)

# Convert to a list
features_to_remove = list(features_to_remove)

# Remove the identified features
# from X and update feature_names
if features_to_remove:
    X.drop(columns=features_to_remove, inplace=True)
    # Overwrite feature_names to match X
    feature_names = X.columns.tolist()
    print(f"Number of remaining features: {len(feature_names)}")
else:
    print(f"No features found with correlation greater than \
        {correlation_threshold}. No features removed.")
```

Number of remaining features: 337

Прилог 3. Пермутациона важност карактеристика и обука модела

```
In [ ]: # Define the estimator with specified parameters
estimator = LogisticRegression(
    penalty='l1',
    solver='saga',
    C=1.75,
    max_iter=5000,
    random_state=111
)

# Fit the estimator
estimator.fit(X, y)

# Compute permutation feature importance
perm_importance = permutation_importance(
    estimator, X, y, n_repeats=100, random_state=111, \
    scoring='roc_auc', n_jobs=-1
)

# Get feature names from X
feature_names = X.columns

# Create a DataFrame to hold permutation importance results
perm_importance_df = pd.DataFrame({
    'Feature': feature_names,
    'Importance Mean': perm_importance.importances_mean,
    'Importance Std': perm_importance.importances_std
})

# Sort features by importance
perm_importance_df = perm_importance_df.sort_values\
    (by='Importance Mean', ascending=False)

print("\nPermutation Feature Importance:")
print(perm_importance_df)
```

```
Permutation Feature Importance:
   Feature  Importance Mean  Importance Std
63  Bit_549         0.088050         0.018289
223 Bit_1607         0.084801         0.019266
248 Bit_1754         0.019974         0.007741
312 Bit_1969         0.018628         0.007751
11   Bit_75          0.018393         0.005039
..      ...              ...           ...
115 Bit_934         0.000000         0.000000
114 Bit_932         0.000000         0.000000
155 Bit_1182        -0.000016         0.000138
96   Bit_807        -0.000099         0.001730
183 Bit_1366        -0.000112         0.000666
```

```
[337 rows x 3 columns]
```

```
Remove Redundant Features and Overwrite X and feature_names
```

```
In [ ]: # Define the threshold for feature importance
importances_threshold = 0.01

import pandas as pd

# Ensure 'feature_names' is defined
feature_names = X.columns.tolist()

# Identify features to remove based on the threshold
features_to_remove = perm_importance_df[
    perm_importance_df['Importance Mean'] < importances_threshold
]['Feature'].tolist()

print(f"\nNumber of features to remove: \
      {len(features_to_remove)}")

# Ensure X is a DataFrame
if not isinstance(X, pd.DataFrame):
    X = pd.DataFrame(X, columns=feature_names)

# Remove the specified features from X
X = X.drop(columns=features_to_remove, errors='ignore')

# Update 'feature_names' and 'feature_names_filtered'
feature_names = X.columns.tolist()
feature_names_filtered = feature_names

print(f"\nNumber of remaining features after \
      removal: {X.shape[1]}")
```

Number of features to remove: 327

Number of remaining features after removal: 10

```
In [ ]: # Initialize estimator and Cross-Validation.
# Check model performance after feature removal

import numpy as np
from sklearn.linear_model import LogisticRegression
from sklearn.model_selection \
    import RepeatedStratifiedKFold, cross_validate
from sklearn.metrics import (
    make_scorer,
    confusion_matrix,
    matthews_corrcoef,
    precision_score,
    recall_score,
    f1_score,
    roc_auc_score,
    accuracy_score
)

def specificity_score(y_true, y_pred):
    """
    Calculate specificity: TN / (TN + FP)
    """
```

```
tn, fp, fn, tp = confusion_matrix(y_true, y_pred).ravel()
if (tn + fp) == 0:
    return 0.0
return tn / (tn + fp)

def npv_score(y_true, y_pred):
    """
    Calculate Negative Predictive Value (NPV): TN / (TN + FN)
    """
    tn, fp, fn, tp = confusion_matrix(y_true, y_pred).ravel()
    if (tn + fn) == 0:
        return 0.0
    return tn / (tn + fn)

def mcc_score(y_true, y_pred):
    """
    Calculate Matthews Correlation Coefficient (MCC)
    """
    return matthews_corrcoef(y_true, y_pred)

# Define the scoring metrics dictionary, \
# using make_scorer for custom scorers
scoring = {
    'accuracy': make_scorer(accuracy_score),
    'roc_auc': 'roc_auc',
    'sensitivity': make_scorer(recall_score),
    'specificity': make_scorer(specificity_score),
    'precision': make_scorer(precision_score),
    'npv': make_scorer(npv_score),
    'mcc': make_scorer(mcc_score),
    'f1': make_scorer(f1_score)
}

# Set up repeated stratified k-fold cross-validation
from sklearn.model_selection import RepeatedStratifiedKFold

cv = RepeatedStratifiedKFold(n_splits=5, \
    n_repeats=100, random_state=111)

# Perform cross-validation on the training data
cv_results = cross_validate(
    estimator, X, y,
    cv=cv,
    scoring=scoring,
    n_jobs=-1,
    return_train_score=True
)

# Output cross-validation metrics
print("\nCross-validation metrics for \
    Logistic Regression on training set:")
for scorer in scoring.keys():
    train_scores = cv_results['train_' + scorer]
    test_scores = cv_results['test_' + scorer]
```

```
mean_train_score = np.mean(train_scores)
std_train_score = np.std(train_scores)
mean_test_score = np.mean(test_scores)
std_test_score = np.std(test_scores)
print(f" {scorer}:")
print(f"   Training: {mean_train_score:.4f} \
      (+/- {std_train_score:.4f})")
print(f"   Testing: {mean_test_score:.4f} \
      (+/- {std_test_score:.4f})")
```

Cross-validation metrics for Logistic Regression on training set:

```
accuracy:
  Training: 0.8433 (+/- 0.0146)
  Testing: 0.8123 (+/- 0.0624)
roc_auc:
  Training: 0.9144 (+/- 0.0109)
  Testing: 0.8804 (+/- 0.0533)
sensitivity:
  Training: 0.8672 (+/- 0.0309)
  Testing: 0.8284 (+/- 0.0948)
specificity:
  Training: 0.8185 (+/- 0.0311)
  Testing: 0.7952 (+/- 0.0956)
precision:
  Training: 0.8328 (+/- 0.0218)
  Testing: 0.8129 (+/- 0.0723)
npv:
  Training: 0.8573 (+/- 0.0261)
  Testing: 0.8246 (+/- 0.0824)
mcc:
  Training: 0.6879 (+/- 0.0292)
  Testing: 0.6305 (+/- 0.1247)
f1:
  Training: 0.8490 (+/- 0.0148)
  Testing: 0.8167 (+/- 0.0636)
```

Прилог 4. Калибрациона крива

```
In [ ]: from sklearn.calibration import calibration_curve
from sklearn.model_selection import RepeatedStratifiedKFold
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from sklearn.linear_model import LinearRegression

# Convert X and y to numpy arrays
X_np = X.values if hasattr(X, "values") else X
y_np = y.values if hasattr(y, "values") else y

# Create a list to store probabilities
y_probs = []
y_trues = []

# Initialize RepeatedStratifiedKFold with random_state
cv = RepeatedStratifiedKFold(
    n_splits=5,
    n_repeats=100,
    random_state=111
)

# Perform cross-validation and collect probabilities
for train_idx, test_idx in cv.split(
    X_np,
    y_np
):
    estimator.fit(
        X_np[train_idx],
        y_np[train_idx]
    )
    y_prob_fold = estimator.predict_proba(
        X_np[test_idx]
    )[:, 1]
    y_true_fold = y_np[test_idx]
    y_probs.extend(y_prob_fold)
    y_trues.extend(y_true_fold)

# Convert lists to numpy arrays
y_probs = np.array(y_probs)
y_trues = np.array(y_trues)

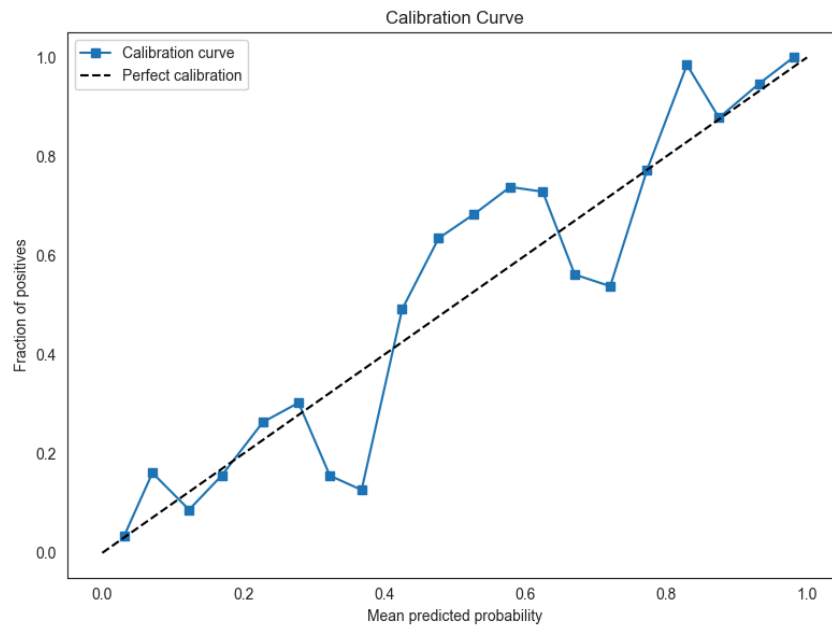
# Compute the calibration curve
fraction_of_positives, mean_predicted_value = \
    calibration_curve(
        y_trues,
        y_probs,
        n_bins=20
    )

# Fit a linear regression model
lin_reg = LinearRegression()
lin_reg.fit(
    mean_predicted_value.reshape(-1, 1),
    fraction_of_positives
)
```

```
)
calibration_slope = lin_reg.coef_[0]
calibration_intercept = lin_reg.intercept_

# Plot the calibration curve
plt.figure(figsize=(8, 6))
plt.plot(
    mean_predicted_value,
    fraction_of_positives,
    "s-",
    label="Calibration curve"
)
plt.plot(
    [0, 1],
    [0, 1],
    "k--",
    label="Perfect calibration"
)
plt.xlabel("Mean predicted probability")
plt.ylabel("Fraction of positives")
plt.title("Calibration Curve")
plt.legend()
plt.tight_layout()
plt.savefig(
    "charts/calibration_curve.png"
)
plt.show()

# Output the calibration slope and intercept
print(
    f"Calibration Slope: {calibration_slope:.4f}"
)
print(
    f"Calibration Intercept: {calibration_intercept:.4f}"
)
```



Calibration Slope: 1.0324
 Calibration Intercept: -0.0041

Прилог 5. ROC AUC и криве прецизности-подсетљивости

```
In [ ]: import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from sklearn.model_selection import RepeatedStratifiedKFold
from sklearn.linear_model import LogisticRegression
from sklearn.metrics import roc_curve, auc, precision_recall_curve

# Set up the repeated stratified k-fold cross-validation
cv = RepeatedStratifiedKFold(n_splits=5, n_repeats=100, random_state=111)

# Initialize lists to store the metrics for plotting
tprs = []
aucs = []
mean_fpr = np.linspace(0, 1, 100)

precisions = []
aucs_pr = []
mean_recall = np.linspace(0, 1, 100)

# Start cross-validation
for train_idx, test_idx in cv.split(X, y):
    # Correctly assign training and testing data
    X_train_cv, X_test_cv = X.iloc[train_idx], X.iloc[test_idx]
    y_train_cv, y_test_cv = y.iloc[train_idx], y.iloc[test_idx]

    # Fit the model on the training data
    estimator.fit(X_train_cv, y_train_cv)

    # Predict probabilities on the test data
    y_proba_test = estimator.predict_proba(X_test_cv)[:, 1]

    # ROC curve
    fpr, tpr, _ = roc_curve(y_test_cv, y_proba_test)
    roc_auc = auc(fpr, tpr)
    aucs.append(roc_auc)

    # Interpolate TPR for consistent plotting
    interp_tpr = np.interp(mean_fpr, fpr, tpr)
    interp_tpr[0] = 0.0 # Ensure the start point is at zero
    tprs.append(interp_tpr)

    # Precision-Recall curve
    precision, recall, _ = \
        precision_recall_curve(y_test_cv, y_proba_test)
    pr_auc = auc(recall, precision)
    aucs_pr.append(pr_auc)

    # Interpolate Precision for consistent plotting
    # Reverse recall and precision to ensure increasing order
    interp_precision = np.interp(mean_recall, \
        recall[::-1], precision[::-1])
    precisions.append(interp_precision)

# Plot ROC and Precision-Recall curves
```

```
plt.figure(figsize=(12, 6))

# Plot ROC Curve
plt.subplot(1, 2, 1)
mean_tpr = np.mean(tprs, axis=0)
mean_tpr[-1] = 1.0 # Ensure the end point is at one
mean_auc = auc(mean_fpr, mean_tpr)
std_auc = np.std(aucs)

std_tpr = np.std(tprs, axis=0)
tprs_upper = np.minimum(mean_tpr + std_tpr, 1)
tprs_lower = np.maximum(mean_tpr - std_tpr, 0)

plt.plot(mean_fpr, mean_tpr, color='blue',
         label=f'Mean ROC (AUC = {mean_auc:.4f} ± {std_auc:.4f})')
plt.fill_between(mean_fpr, tprs_lower, tprs_upper, color='blue', alpha=0.2,
                label='± 1 std. dev.')
plt.plot([0, 1], [0, 1], linestyle='--', color='gray', label='Random chance')
plt.xlim([0.0, 1.0])
plt.ylim([0.0, 1.05])
plt.xlabel('False Positive Rate')
plt.ylabel('True Positive Rate')
plt.title('ROC Curve (Cross-Validation)')
plt.legend(loc="lower right")

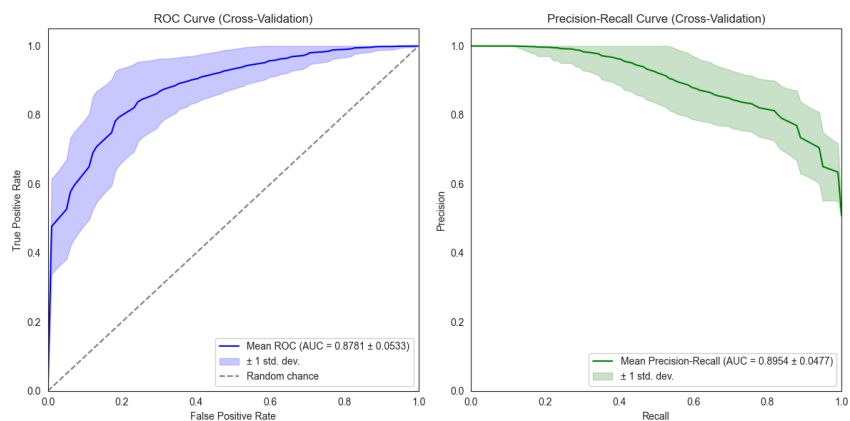
# Plot Precision-Recall Curve
plt.subplot(1, 2, 2)
mean_precision = np.mean(precisions, axis=0)
mean_pr_auc = auc(mean_recall, mean_precision)
std_pr_auc = np.std(aucs_pr)

std_precision = np.std(precisions, axis=0)
precisions_upper = np.minimum(mean_precision + std_precision, 1)
precisions_lower = np.maximum(mean_precision - std_precision, 0)

plt.plot(mean_recall, mean_precision, color='green',
         label=f'Mean Precision-Recall \
              (AUC = {mean_pr_auc:.4f} ± {std_pr_auc:.4f})')
plt.fill_between(mean_recall, precisions_lower, \
                 precisions_upper, color='green', alpha=0.2,
                 label='± 1 std. dev.')
plt.xlim([0.0, 1.0])
plt.ylim([0.0, 1.05])
plt.xlabel('Recall')
plt.ylabel('Precision')
plt.title('Precision-Recall Curve (Cross-Validation)')
plt.legend(loc="lower right")

plt.tight_layout()

# Save and display the plot
plt.savefig('charts/roc_pr.png')
plt.show()
```



Прилог 6. Корелациона матрица

```
In [ ]: import numpy as np
import pandas as pd
import seaborn as sns
import matplotlib.pyplot as plt

# Convert X to a DataFrame for easier handling
X_df = pd.DataFrame(X, columns=feature_names_filtered)

# Calculate the correlation matrix
corr_matrix = X_df.corr()

# Create a mask to display only the lower triangle
mask = np.triu(np.ones_like(corr_matrix, dtype=bool))

# Set up the matplotlib figure
plt.figure(figsize=(10, 8))

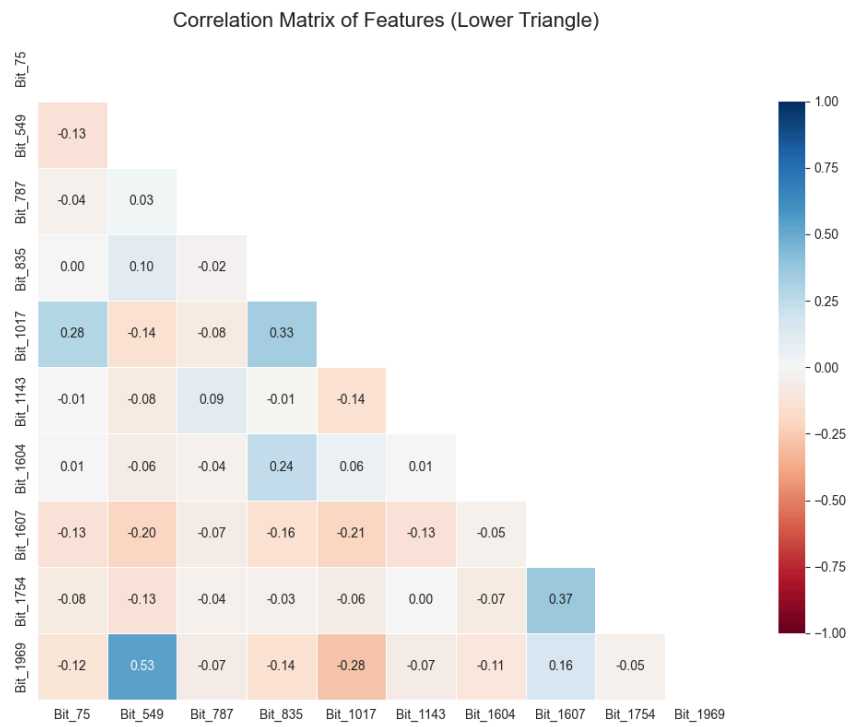
# Use the royal blue color scheme
cmap = sns.color_palette("RdBu", as_cmap=True)

# Draw the heatmap with the mask and correct aspect ratio
sns.heatmap(
    corr_matrix,
    mask=mask,
    cmap=cmap,
    annot=True,
    fmt=".2f",
    linewidths=0.5,
    cbar_kws={"shrink": 0.8},
    vmin=-1,
    vmax=1,
    center=0
)

# Add title
plt.title('Correlation Matrix of Features (Lower Triangle)', fontsize=16)

# Adjust the layout for better visualization
plt.tight_layout()

# Save and display the plot
plt.savefig('charts/cm_log_reg.png')
plt.show()
```



Прилог 7. Графици парцијалне зависности

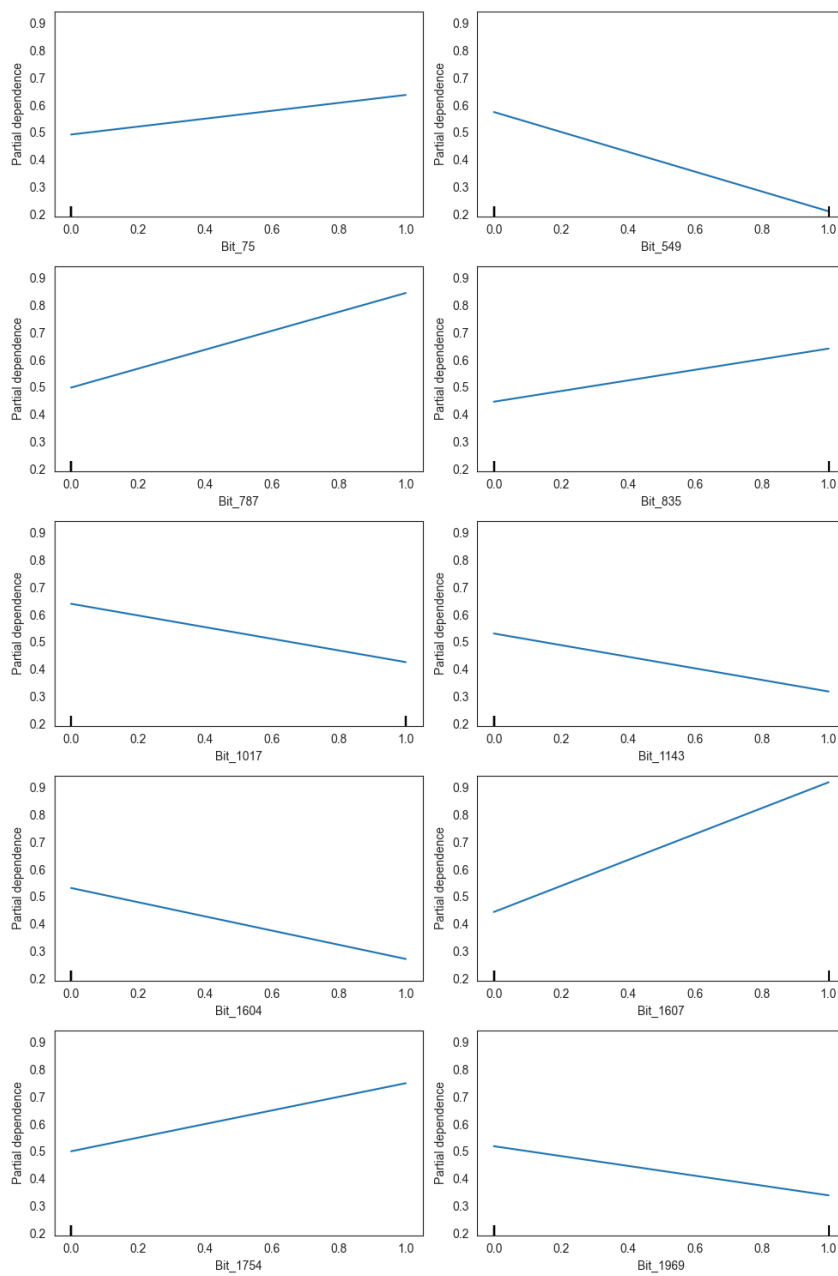
```
In [226... import matplotlib.pyplot as plt
from sklearn.inspection import PartialDependenceDisplay
from sklearn.linear_model import LogisticRegression

estimator.fit(X, y)

# Generate the Partial Dependence Plots
fig, ax = plt.subplots(5, 2, figsize=(10, 15))
pdp_disp = PartialDependenceDisplay.from_estimator(
    estimator,
    X,
    features=feature_names_filtered,
    ax=ax.ravel()[:10]
)

plt.tight_layout()

# Save and display the plot
plt.savefig('charts/pdp_log_reg.png')
plt.show()
```



Прилог 8. Поновно узорковање са враћањем: процене и 95% интервалима поузданости

```
In [ ]: import numpy as np
import pandas as pd
import matplotlib.pyplot as plt
import seaborn as sns
from sklearn.utils import resample
from sklearn.linear_model import LogisticRegression

# -----
# Bootstrap estimation of coefficients
# -----
n_iterations = 1000 # Number of bootstrap samples
coefficients_bootstrap = np.zeros(
    (n_iterations, X.shape[1])
)

# Bootstrapping loop
for i in range(n_iterations):
    X_resampled, y_resampled = resample(
        X, y, replace=True, random_state=i
    )
    estimator.fit(X_resampled, y_resampled)
    coefficients_bootstrap[i, :] = estimator.coef_[0]

# Calculate statistics
coef_mean = np.mean(coefficients_bootstrap, axis=0)
coef_std = np.std(coefficients_bootstrap, axis=0)
lower_ci = coef_mean - 1.96 * coef_std
upper_ci = coef_mean + 1.96 * coef_std

# Results DataFrame
coef_bootstrap_df = pd.DataFrame({
    'Feature': feature_names_filtered,
    'Coefficient Mean': np.round(coef_mean, 2),
    'Lower CI': np.round(lower_ci, 2),
    'Upper CI': np.round(upper_ci, 2)
})

coef_bootstrap_df['Absolute Mean Coefficient'] = (
    coef_bootstrap_df['Coefficient Mean'].abs()
)
coef_bootstrap_df = coef_bootstrap_df.sort_values(
    by='Absolute Mean Coefficient', ascending=False
).reset_index(drop=True)

# Print summary
print("Logistic regression coefficients (95% CI):")
print(coef_bootstrap_df[[
    'Feature', 'Coefficient Mean', 'Lower CI', 'Upper CI'
]])

# Save to CSV
coef_bootstrap_df[[
    'Feature', 'Coefficient Mean', 'Lower CI', 'Upper CI'
]].to_csv()
```

```

    'charts/coef_log_reg.csv', index=False
)

# -----
# Visualize coefficients and intervals
# -----
plt.figure(figsize=(10, 6))
sns.set_style("white")
ax = sns.barplot(
    x='Coefficient Mean',
    y='Feature',
    data=coef_bootstrap_df,
    orient='h',
    color='royalblue',
    errorbar=None
)

# Add custom error bars
for i, row in coef_bootstrap_df.iterrows():
    lower_error = row['Coefficient Mean'] - row['Lower CI']
    upper_error = row['Upper CI'] - row['Coefficient Mean']
    ax.errorbar(
        x=row['Coefficient Mean'],
        y=i,
        xerr=np.array([[lower_error], [upper_error]]),
        fmt='none',
        ecolor='black',
        capsize=5
    )

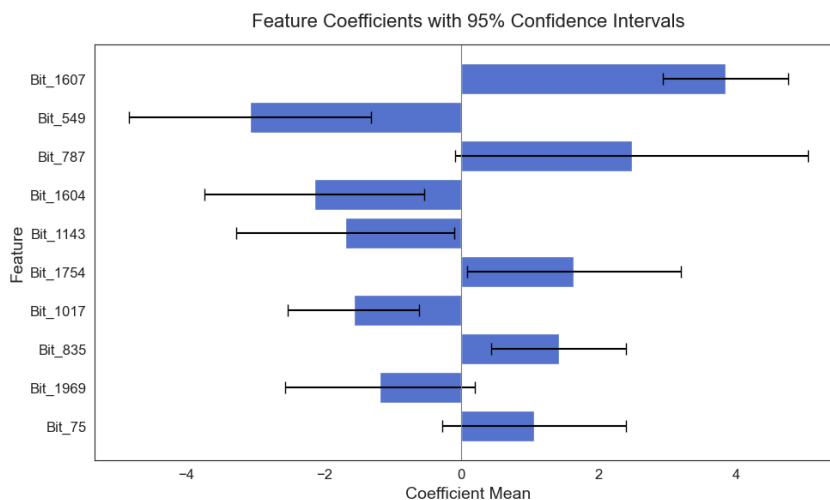
plt.title(
    'Feature Coefficients with 95% Confidence Intervals',
    fontsize=16, pad=15
)

plt.xlabel('Coefficient Mean', fontsize=14)
plt.ylabel('Feature', fontsize=14)
plt.axvline(x=0, color='grey', linewidth=0.8)
plt.tick_params(axis='both', which='major', labelsize=12)
plt.tight_layout()
plt.savefig('charts/coef_log_reg.png')
plt.show()

```

Coefficients with 95% Confidence Intervals (rounded to 2 decimals):

	Feature	Coefficient Mean	Lower CI	Upper CI
0	Bit_1607	3.85	2.93	4.76
1	Bit_549	-3.08	-4.84	-1.32
2	Bit_787	2.48	-0.09	5.05
3	Bit_1604	-2.14	-3.74	-0.54
4	Bit_1143	-1.69	-3.28	-0.10
5	Bit_1754	1.64	0.08	3.20
6	Bit_1017	-1.57	-2.53	-0.61
7	Bit_835	1.42	0.44	2.39
8	Bit_1969	-1.19	-2.57	0.20
9	Bit_75	1.06	-0.28	2.39



```
In [ ]: import numpy as np
import pandas as pd
import matplotlib.pyplot as plt
import seaborn as sns
from sklearn.utils import resample
from sklearn.linear_model import LogisticRegression

# -----
# Map bit numbers to fragment descriptions
# -----
bit_to_fragment = {
    'Bit_1607': 'hydroxyl group attached to a benzene ring',
    'Bit_549': 'branched alkyl side chain attached to a bicyclic structure',
    'Bit_787': 'part of a furan ring',
    'Bit_1604': 'hydroxyl group bonded to a tertiary carbon',
    'Bit_1143': 'portion of a hydrocarbon chain',
    'Bit_1754': 'propenyl group attached to a benzene ring',
    'Bit_1017': 'an ethyl group attached to a cyclic structure',
    'Bit_835': 'alken group attached to a benzene or cyclohexene ring',
    'Bit_1969': 'part of a bicyclic structure',
    'Bit_75': 'acetate group'
}

# Optionally split long labels for y-axis
coef_bootstrap_df['Feature'] = coef_bootstrap_df['Feature'].apply(
    lambda x: '\n'.join(x.split(' ', 4))
)

# -----
# Bootstrapping parameters
# -----
n_iterations = 1000
coefficients_bootstrap = np.zeros(
```

```
(n_iterations, X.shape[1])
)

# -----
# Bootstrapping loop
# -----
for i in range(n_iterations):
    X_resampled, y_resampled = resample(
        X, y, replace=True, random_state=i
    )
    estimator.fit(X_resampled, y_resampled)
    coefficients_bootstrap[i, :] = estimator.coef_[0]

# -----
# Calculate statistics
# -----
coef_mean = np.mean(coefficients_bootstrap, axis=0)
coef_std = np.std(coefficients_bootstrap, axis=0)
lower_ci = coef_mean - 1.96 * coef_std
upper_ci = coef_mean + 1.96 * coef_std

# -----
# Assemble results DataFrame
# -----
coef_bootstrap_df = pd.DataFrame({
    'Feature': feature_names_filtered,
    'Coefficient Mean': np.round(coef_mean, 2),
    'Lower CI': np.round(lower_ci, 2),
    'Upper CI': np.round(upper_ci, 2)
})

# Replace feature names with fragment descriptions
coef_bootstrap_df['Feature'] = coef_bootstrap_df['Feature'].replace(
    bit_to_fragment
)

# Sort by absolute coefficient mean
coef_bootstrap_df['Absolute Mean Coefficient'] = (
    coef_bootstrap_df['Coefficient Mean'].abs()
)
coef_bootstrap_df = coef_bootstrap_df.sort_values(
    by='Absolute Mean Coefficient', ascending=False
).reset_index(drop=True)

# -----
# Print summary
# -----
print("Coefficients with 95% Confidence Intervals:")
print(coef_bootstrap_df[[
    'Feature', 'Coefficient Mean', 'Lower CI', 'Upper CI'
]])

# Save to CSV
coef_bootstrap_df[[
    'Feature', 'Coefficient Mean', 'Lower CI', 'Upper CI'
]].to_csv()
```

```
    'charts/coef_log_reg_with_fragments.csv', index=False
)

# -----
# Dot plot visualization
# -----
plt.figure(figsize=(12, 8))
sns.set_style("whitegrid")
plt.scatter(
    x='Coefficient Mean',
    y='Feature',
    data=coef_bootstrap_df,
    color='#4c72b0',
    s=100
)

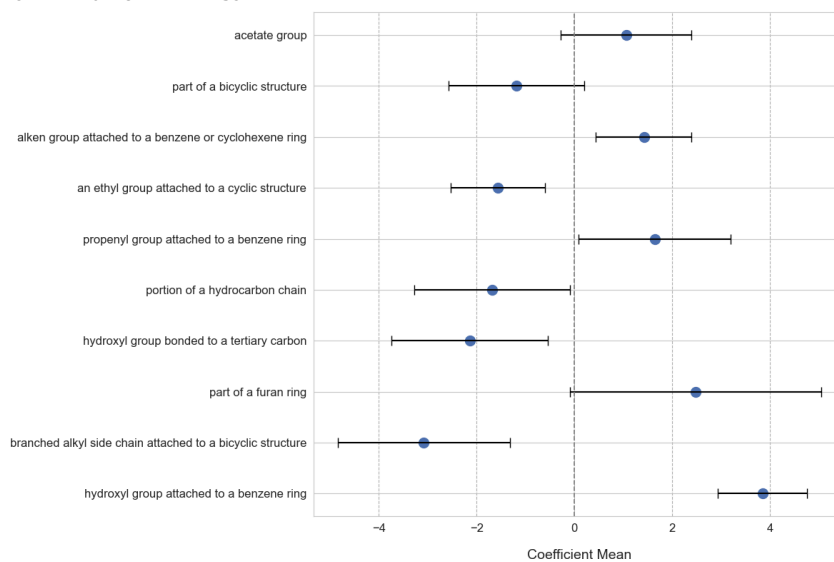
# Add error bars for 95% CI
for i, row in coef_bootstrap_df.iterrows():
    lower_error = row['Coefficient Mean'] - row['Lower CI']
    upper_error = row['Upper CI'] - row['Coefficient Mean']
    plt.errorbar(
        x=row['Coefficient Mean'],
        y=i,
        xerr=np.array([[lower_error], [upper_error]]),
        fmt='none',
        ecolor='black',
        capsize=5,
        elinewidth=1.5
    )

plt.xlabel('Coefficient Mean', fontsize=14, labelpad=15)
plt.axvline(x=0, color='grey', linewidth=1.2, linestyle='--')
plt.tick_params(axis='both', which='major', labelsize=12)
plt.grid(True, which='major', axis='x', linestyle='--',
        color='grey', alpha=0.6)
plt.tight_layout()
plt.savefig('charts/coef_log_reg_dot_plot.png')
plt.show()
```

Coefficients with 95% Confidence Intervals (rounded to 2 decimals):

Feature	Coefficient Mean
0 hydroxyl group attached to a benzene ring	3.85
1 branched alkyl side chain attached to a bicycl...	-3.08
2 part of a furan ring	2.48
3 hydroxyl group bonded to a tertiary carbon	-2.14
4 portion of a hydrocarbon chain	-1.69
5 propenyl group attached to a benzene ring	1.64
6 an ethyl group attached to a cyclic structure	-1.57
7 alken group attached to a benzene or cyclohexe...	1.42
8 part of a bicyclic structure	-1.19
9 acetate group	1.06

Lower CI	Upper CI
0 2.93	4.76
1 -4.84	-1.32
2 -0.09	5.05
3 -3.74	-0.54
4 -3.28	-0.10
5 0.08	3.20
6 -2.53	-0.61
7 0.44	2.39
8 -2.57	0.20
9 -0.28	2.39



Прилог 9. Преглед карактеристика

```
In [ ]: # 'X' is a feature matrix with columns as feature names
```

```
import numpy as np
import pandas as pd
import os

# Get feature names from the dataset
feature_names = X.columns

# Find indices of non-zero coefficients
important_feature_indices = np.where(
    estimator.coef_[0] != 0
)[0]

# Get the feature names for these indices
important_features = feature_names[
    important_feature_indices
].tolist()

# Print important features in required format
print("Important features extracted from the model:")
print("important_features = [")
for feature in important_features:
    print(f"    '{feature}',")
print("]")
```

Important features extracted from the model:

```
important_features = [
    'Bit_75',
    'Bit_549',
    'Bit_787',
    'Bit_835',
    'Bit_1017',
    'Bit_1143',
    'Bit_1604',
    'Bit_1607',
    'Bit_1754',
    'Bit_1969',
]
```

```
In [ ]: # Load the data
file_path = 'aggregated_plants.csv'
df = pd.read_csv(file_path)

# Use the dynamically extracted list of important features
# 'important_features' comes from previous output
save_dir = './features/'

# Check if directory exists, create if not
if not os.path.exists(save_dir):
    os.makedirs(save_dir)

# Iterate through each important feature
for feature in important_features:
    # Filter rows where the feature is present (1)
```

```
feature_present_df = df[df[feature] == 1]

# Drop other 'Bit_' columns except the current one
columns_to_drop = [
    col for col in df.columns
    if col.startswith('Bit_') and col != feature
]
feature_present_df = feature_present_df.drop(
    columns=columns_to_drop
)

# Define the output file path
new_file_path = os.path.join(
    save_dir, f"{feature}.csv"
)

# Save the filtered rows to a new CSV file
feature_present_df.to_csv(
    new_file_path, index=False
)

print(
    f"Rows where {feature} is present and all other "
    f"Bit_ columns are removed have been saved to "
    f"'{new_file_path}'"
)
```

```
In [ ]: # Add SMILES strings and chemical names to feature files

import pandas as pd
import os
import ast
from collections import Counter
import glob

def safe_literal_eval(s):
    dict_strings = [
        d.strip() for d in s.split(';') if d.strip()
    ]
    all_dicts = {}
    for dict_str in dict_strings:
        try:
            all_dicts.update(ast.literal_eval(dict_str))
        except Exception as e:
            print(f"Failed to parse part: {dict_str}\n"
                  f"Error: {e}")
    return all_dicts

def preprocess_bit_name(bit_name):
    bit_number = (
        bit_name.replace('Bit_', '').replace('.csv', '')
    )
    return int(bit_number)

features_dir = 'features/'
reorganized_plants_path = 'reorganized_plants_filtered.csv'
```

```
combined_chemicals_path = (
    '../initial_data/matched_chemicals_final_manual.csv'
)

reorganized_plants_df = pd.read_csv(reorganized_plants_path)
combined_chemicals_df = pd.read_csv(combined_chemicals_path)

reorganized_plants_df = reorganized_plants_df.drop_duplicates(
    subset=['Plant_Species', 'Chemical']
)

assert 'Concentration' in reorganized_plants_df.columns, (
    "Concentration column not found!"
)

bit_files = glob.glob(
    os.path.join(features_dir, 'Bit_*.csv')
)

for bit_file in bit_files:
    bit_name = os.path.basename(bit_file)
    bit_name = bit_name.replace('.csv', '')
    new_bit_file = os.path.join(
        features_dir, f"{bit_name}_updated.csv"
    )
    bit_df = pd.read_csv(bit_file)
    bit_df['BitInterpretations'] = bit_df[
        'BitInterpretations'
    ].apply(safe_literal_eval)

    # Ensure the columns exist
    if 'SMILES' not in bit_df.columns:
        bit_df.insert(3, 'SMILES', '')
    if 'Chemical' not in bit_df.columns:
        bit_df.insert(4, 'Chemical', '')
    if 'Chemical_name' not in bit_df.columns:
        bit_df.insert(5, 'Chemical_name', '')

    expanded_rows = []

    for index, row in bit_df.iterrows():
        plant_species = row['Plant_Species']
        bit_interpretations = row['BitInterpretations']
        bit_number = preprocess_bit_name(bit_name)
        if bit_number in bit_interpretations:
            interpreted_bit = str(
                bit_interpretations[bit_number]
            )
        else:
            interpreted_bit = ''

        matching_rows = reorganized_plants_df[
            (reorganized_plants_df['Plant_Species'].str.lower()
             == plant_species.lower()) &
            (reorganized_plants_df[bit_name] == 1)
        ]
```

```
for _, match in matching_rows.iterrows():
    new_row = row.copy()
    new_row['SMILES'] = match['SMILES']
    new_row['Chemical'] = match['Chemical']
    new_row['BitInterpretations'] = interpreted_bit
    # Add chemical name
    chem_match = combined_chemicals_df[
        combined_chemicals_df['SMILES'] == match['SMILES']
    ][['Chemical Name']]
    if not chem_match.empty:
        new_row['Chemical_name'] = chem_match.iloc[0]
    else:
        new_row['Chemical_name'] = ''

    # Add concentration value
    concentration_match = reorganized_plants_df[
        (reorganized_plants_df['SMILES'] == match['SMILES']) &
        (reorganized_plants_df['Plant_Species'].str.lower()
         == plant_species.lower())
    ][['Concentration']]
    new_row['Concentration'] = (
        concentration_match.iloc[0]
        if not concentration_match.empty else None
    )

    expanded_rows.append(new_row)

expanded_bit_df = pd.DataFrame(expanded_rows)

# Remove the 'Chemical' column if it exists
if 'Chemical' in expanded_bit_df.columns:
    expanded_bit_df = expanded_bit_df.drop(
        columns=['Chemical']
    )
expanded_bit_df = expanded_bit_df.sort_values(
    by='Chemical_name', ascending=True
)
expanded_bit_df.to_csv(new_bit_file, index=False)

print(
    f"Updated {bit_name} with SMILES and chemical names "
    f"saved to {new_bit_file}"
)

print(
    "All Bit files updated with SMILES, chemical names, and "
    "concentrations."
)
```

```
In [ ]: # Remove rare chemicals (appear only once per file)
```

```
import pandas as pd
import os
import glob
```

```
features_dir = 'features/'

# Gather all updated CSV files
updated_files = glob.glob(
    os.path.join(features_dir, '*_updated.csv')
)

# Process each CSV file
for file in updated_files:
    df = pd.read_csv(file)
    # Count each chemical name
    chem_counts = df['Chemical_name'].value_counts()
    # Keep names that appear more than once
    keep_chems = chem_counts[chem_counts > 1].index
    # Filter to only those chemicals
    filtered_df = df[
        df['Chemical_name'].isin(keep_chems)
    ]
    # Save filtered dataframe
    filtered_df.to_csv(file, index=False)
    print(f"Filtered data saved back to {file}")

print(
    "All updated CSV files have been re-processed to "
    "exclude unique chemical names."
)
```

Visualisation of molecular features

```
In [ ]: # Visualisation of molecular features as SVGs

from rdkit.Chem import rdMolDescriptors, Draw
from rdkit.Chem.rdFingerprintGenerator import (
    GetMorganGenerator, AdditionalOutput
)
import pandas as pd
import os

# Use 'important_features' from the previous step

output_folder = 'visualizations'
os.makedirs(output_folder, exist_ok=True)

morgan_gen = GetMorganGenerator(radius=2, fpSize=2048)

for feature in important_features:
    bit_number = feature.split('_')[1]
    updated_file_path = f'features/{feature}_updated.csv'
    try:
        df = pd.read_csv(updated_file_path)
    except FileNotFoundError:
        print(f"File {updated_file_path} not found, skipping.")
        continue

    bit_to_visualize = int(bit_number)
```

```
for idx, row in df.drop_duplicates(
    subset='SMILES'
).iterrows():
    smiles = row['SMILES']
    chemical_name = row.get(
        'Chemical_name', 'Unnamed_Chemical'
    )
    plant_species = row.get(
        'Plant_Species', 'UnknownSpecies'
    ).split()[:2]
    concentration = row.get('Concentration', 0)
    mol = Chem.MolFromSmiles(smiles)
    if not mol:
        continue

    additional_output = AdditionalOutput()
    additional_output.AllocateBitInfoMap()
    fp = morgan_gen.GetFingerprint(
        mol, additionalOutput=additional_output
    )
    bit_info = additional_output.GetBitInfoMap()
    if bit_to_visualize in bit_info:
        whichExample = 0
        img = Draw.DrawMorganBit(
            mol, bit_to_visualize, bit_info,
            whichExample=whichExample, useSVG=True
        )
        safe_chemical_name = ''.join(
            e for e in chemical_name if e.isalnum()
        )
        safe_plant_species = '_'.join(
            ''.join(e for e in word if e.isalnum())
            for word in plant_species
        )
        safe_concentration = ''.join(
            e for e in str(concentration)
            if e.isdigit() or e == '.'
        )
        svg_file_path = os.path.join(
            output_folder,
            f"bit_{bit_to_visualize}_{safe_chemical_name}_"
            f"{safe_plant_species}_conc_{safe_concentration}.svg"
        )
        with open(svg_file_path, "w") as svg_file:
            svg_file.write(img.data)
        print(
            f"Saved SVG image to {svg_file_path}"
        )
    )
```

```
In [ ]: # For the report get the unique names of
# the chemicals containing the feature
import pandas as pd

# Load the CSV file into a DataFrame
df = pd.read_csv('features/Bit_1969_updated.csv')
```

```
# Convert all names in 'Chemical name' to lowercase  
lowercase_names = df['Chemical_name'].str.lower()  
  
# Get unique names  
unique_names = lowercase_names.unique()  
  
# Join the unique names into a comma-separated string  
names_string = ', '.join(unique_names)  
  
# Print the result  
print(names_string)
```

alpha-pinene, gamma-terpinene

Прилог 10. Репозиторијум кода и доступност података

Сви скриптови, код и рачунарски токови послова развијени и коришћени у овој дисертацији доступни су у јавно архивираном GitHub репозиторијуму, депонованом на Zenodo:

Репозиторијум кода: <https://doi.org/10.5281/zenodo.12684760> (Lagerholm, 2025)

Скупови података анализирани и представљени у овом раду такође су јавно доступни преко Zenodo:

Скуп података: <https://doi.org/10.5281/zenodo.12684760> (Lagerholm, 2025)

И код и скуп података обезбеђени су под лиценцама отвореног приступа. За више детаља, укључујући упутства за инсталацију и коришћење, погледати документацију унутар репозиторијума.

Истраживачи који желе да понове анализе или да поново употребе код и податке за сродне пројекте охрабрују се да наведу горње DOI референце у сваком изведеном делу или публикацији.

Прилог 11. Изјава аутора

Пуно име аутора: Марија Лагерхолм

Број индекса: ТХ180035

Изјава

Овим изјављујем да је докторска дисертација под насловом

"Хемијска карактеризација есенцијалних уља и примена машинског учења у анализи молекулских подструктура повезаних са антимикуробном активношћу према *Salmonella Typhimurium* за потребе прехранбене индустрије"

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени;
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

У Београду, _____

Потпис аутора

**Прилог 12. Изјава о истоветности штампане и електронске верзије
докторског рада**

Име аутора: Maria Lagerholm

Број индекса: ТН180035

Студијски програм: Прехрамбена технологија

Наслов дисертације: "Хемијска карактеризација есенцијалних уља и примена машинског учења у анализи молекулских подструктура повезаних са антимикробном активношћу према *Salmonella Typhimurium* за потребе прехрамбене индустрије"

Ментори: проф. др Виктор Недовић и проф. др Мирјана Пешић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањења у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду. Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада. Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

У Београду, _____

Потпис аутора

Прилог 13. Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку "Светозар Марковић" да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

"Хемијска карактеризација есенцијалних уља и примена машинског учења у анализи молекулских подструктура повезаних са антимицробном активношћу према *Salmonella Typhimurium* за потребе прехранбене индустрије"

- која је моје ауторско дело. - Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање. - Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство - некомерцијално (CC BY-NC)
- ③ Ауторство - некомерцијално - без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство - без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство - делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци. Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве.)

У Београду, _____

Потпис аутора

1. **Ауторство.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство - некомерцијално.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство - некомерцијално - без прерада.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство - без прерада.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство - делити под истим условима.** Дозвољава се умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.