

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ МР САНДРЕ ЈАКШИЋ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовео комисију 16.10.2014. Наставно-научно веће Природно-математичког факултета у Новом Саду</p> <p>2. Састав комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>др Љиљана Јовановић, редовни професор, научна област: хемија, уже научне области физичка хемија и аналитичка хемија, датум избора 16.10.1997, Природно-математички факултет, Нови Сад, председник</p> <p>др Биљана Абрамовић, редовни професор, научна област: хемија, предмет: Микроанализа, датум избора, 06.03.1995, Природно-математички факултет, Нови Сад, ментор</p> <p>др Зоран Машић, научни саветник, научна област: биотехнолошке науке, грана науке: ветеринарска медицина, научна дисциплина: исхрана домаћих животиња, микотоксикологија и нутритивна патологија, датум избора 04.02.1998, Научни институт за ветеринарство «Нови Сад», члан</p> <p>др Игор Јајић, ванредни професор, научна област: исхрана животиња, предмет: Основи исхране животиња, датум избора: 23.06.2014, Пољопривредни факултет, Нови Сад, члан</p> <p>др Милица Живков-Балош, виши научни сарадник, научна област: биотехничке науке-ветерина, научна дисциплина: исхрана домаћих животиња, датум избора 30.01.2013, Научни институт за ветеринарство «Нови Сад», члан</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Сандра (Милан) Јакшић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 02.12.1974. Нови Сад, Република Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив –</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија –</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране: Природно-математички факултет, Нови Сад, „Прилог хроматографском одређивању фумонизина Б1 и Б2 у кукурузу“, научна област хемија, датум одбране 01.11.2004.</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука: Хемија</p>
III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:
<p>„ПРИЛОГ ОДРЕЂИВАЊУ И РАСПРОСТРАЊЕНОСТ ФУМОНИЗИНА У ЖИТАРИЦАМА И ЛЕКОВИТОМ БИЉУ У СРБИЈИ“</p>

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Докторска дисертација Сандре Јакшић написана је на 204 стране, садржи 48 слика, 51 табелу и 319 литературних навода. Састоји се од следећих поглавља: Увод (4 стране), Теоријски део (60 страна), Експериментални део (11 страна), Резултати и дискусија (77 страна), Извод (5 страна), Summary (5 страна), Литература (29 страна), Кратка биографија кандидата уз неопходну Кључну документацију на српском и енглеском језику. На почетку дисертације налази се захвалница, садржај и листа скраћеница.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов докторске дисертације је јасно и прецизно формулисан, одражава текст и садржај истраживања.

У **Уводу** докторске дисертације је указано на важност одређивања фумонизина. У овом одељку је такође дефинисан предмет изучавања докторске дисертације, а то су проучавање ефикасности екстракције фумонизина без органских растварача, испитивање садржаја фумонизина у узорцима кукуруза, пшенице и хране на бази кукуруза, затим развој методе и испитивање садржаја фумонизина у лековитом биљу, испитивање могућности коришћења инфрацрвене спектрометрије са Фуријеовим трансформом (FTIR) за одређивање фумонизина у кукурузу, као и развој експертног система за избор методе за одређивање фумонизина.

Теоријски део обухвата кратак преглед литературе о фумонизинима као посебној и значајној групи микотоксина, која је детаљније проучавана у дисертацији. Посебна поглавља су посвећена њиховим особинама, токсичности, продукцији, и присуству у житарицама и лековитом биљу као и законској регулативи. Описане су методе одређивања фумонизина са посебно представљеним свим појединим фазама, али и техникама одређивања. Посебна пажња је посвећена фази екстракције, обзиром да је у дисертацији рађено на унапређењу ове фазе одређивања. Такође су представљене основе експертних система са прегледом развијених и коришћених система у хемији и анализи хране.

У **Експерименталном делу** су наведене коришћене хемикалије, раствори, узорци, а затим је описана апаратура и сами аналитички поступци. За испитивање ефикасности екстракције фумонизина са различитим екстракционим средствима, као и за развој методе за испитивање фумонизина у лековитом биљу коришћена је течна хроматографија са флуоресцентном детекцијом. У исте сврхе, али и за испитивање садржаја фумонизина у великом броју узорака кукуруза и пшенице коришћена је имунохемијска метода (ЕЛИСА). У циљу изналажења бржег начина детекције фумонизина у кукурузу коришћена је FTIR анализа. На крају су наведене коришћене статистичке методе.

У поглављу **Резултати и дискусија** након испитивања оптималних услова рада и валидације методе течне хроматографије са флуоресцентном детекцијом и ЕЛИСА тестова за одређивање фумонизина, ове методе су коришћене за поређење екстракционих метода неорганским растварачима са, до сада коришћеним, органским растварачима. У наредним поглављима су дати резултати одређивања фумонизина поред других микотоксина у узорцима житарица у Србији. Испитан је утицај традиционалног складиштења кукуруза у Србији на продукцију фумонизина. Резултати одређивања садржаја фумонизина и других микотоксина су коментарисани са аспекта важећих Правилника као и могућег синергистичког и адитивног токсичног деловања. Добијени резултати су такође дискутовани након анализе климатских услова у појединим производним годинама. Испитан је садржај фумонизина у житарицама за исхрану људи у Србији. Такође су развијене методе за одређивање фумонизина у лековитом биљу и испитане су три врсте биља. Приказани су резултати примене FTIR анализе за одређивање фумонизина у кукурузу. Такође је развијен експертни систем за избор методе за одређивање фумонизина у кукурузу на основу задате границе детекције и расположиве опреме и времена за анализу.

У **Изводу** и **Summary-у** дат је пресек постигнутих резултата.

У **Литератури** су наведени радови са актуелним методолошким приступима и принципима одређивања везаним за ову област.

VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Рад у тематском зборнику међународног значаја M14

1. Abramović B., Jakšić S., Jajić I., Despotović V., Šojić D., Jovanović Lj., Čosić J., Vrandečić K., Jurković D., Co-occurrence of Fumonisin and Deoxynivalenol in Wheat and Corn Harvested in Serbia, Chapter 5, E. Alexa, B. Abramović, J. Čosić, (Eds.), Occurrence of Fungi and Mycotoxins in Cereals and Medicinal Plants from Romania-Serbia-Croatia Area, EUROBIT Publishing House, Timisoara, 2012, str. 123–142.

Rad u istaknutom međunarodnom časopisu M22

2. Jakšić S., Živkov-Baloš M., Mihaljev Ž., Mašić Z., Jajić I., Banić N., Abramović B. (2014) Extraction without Organic Solvents in the Determination of Fumonisin B₁, B₂ and B₃ in Maize by HPLC–FLD and ELISA tests, Food Anal. Meth. DOI 10.1007/s12161-014-0030-5, Published on line 31 October 2014. IF 1,932

Rad u međunarodnom časopisu M23

3. Jakšić S., Abramović B., Jajić I., Živkov-Baloš M., Mihaljev Ž., Despotović V., Šojić D. (2012) Co-occurrence of Fumonisin and Deoxynivalenol in Wheat and Maize Harvested in Serbia, Bull. Environ. Contam. Toxicol., 89: 615–619. IF 1,216

Rad saopšten na skupu međunarodnog značaja štampan u izvodu M34

4. Jakšić S.M., Abramović B.F., Prunić B.Z., Mihaljev Ž.A., Živkov Baloš M.M., Jajić I.M., Despotović V.N., Bjelica L.J. Incidence of aflatoxins and fumonisins in cereal food from Serbian market, The 2nd International Conference on Food Chemistry & Technology, Temišvar, 2011, P3.
5. Abramović B., Jakšić S., Jajić I., Živkov-Baloš M., Mihaljev Ž., Despotović V., Šojić D. Natural contamination and co-occurrence of fumonisins and deoxynivalenol in wheat and corn samples. Abstract book of 6th Central European Congress on Food, Novi Sad, Serbia, 23-26 May, 2012, 274.

Rad u vodećem časopisu nacionalnog značaja M51

6. Jakšić S., Prunić B., Milanov D., Jajić I., Bjelica L., Abramović B. (2011) Fumonisin and co-occurring mycotoxins in north Serbian corn, Jour. Nat. Sci. Matica srpska, Novi Sad, 120: 49–59.

Rad u naučnom časopisu M53

7. Abramović B., Abramović B., Jakšić S. (2005) Expert system for determination of fumonisins in corn samples, Jour. Nat. Sci. Matica srpska, Novi Sad, 108: 109–119.
8. Jakšić S., Abramović B., Prunić B., Mihaljev Ž., Živkov-Baloš M., Jajić I., Despotović V., Bjelica L. (2011) Incidence of aflatoxins and fumonisins in cereal food from Serbian market, J. Agroalim. Processes Technol., 17: 108–112.

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u celini M63

9. Abramović B., Abramović B., Jakšić S.: Object-oriented approach in the development of an expert system on example of the determination of fumonisins. Zbornik radova, Eight national conference with international participation – ETAI 2007, Ohrid, Republika Makedonija, 19-21. september, 2007, II-2, 6.

VII ZAKLJUČICI ODNOSNO REZULTATI ISTRAŽIVAŃA

С обзиром да су фумонизини група фузаријумских микотоксина који најчешће контаминирају кукуруз, а сврстани су у групу потенцијално канцерогених једињења веома је важно унапређење метода за одређивање фумонизина.

У овој докторској дисертацији, екстракционе методе неорганским растварачима су примењене за одређивање ФБ₁, ФБ₂ и ФБ₃ применом HPLC–FLD методе, као и укупних фумонизина помоћу ELISA. Принос HPLC–FLD методе одређен на основу резултата анализе два референтна материјала на бази кукуруза, након екстракције дестилованом водом је износио 99±5,6% и 86±3,9% за ФБ₁; односно, 111±5% и 81±1% за ФБ₂. Након екстракције фосфатним пуфером (ФП), принос за ФБ₁ је износио 104±20,2% и 92±8,6%, а за ФБ₂ 149±13% и 100±5,8%. За ФБ₃ принос је био 118±0,5% након екстракције са водом и 131±8,8% са ФП. Коришћењем две ELISA методе добијен је принос од 100±0,6% и 133±0,7% након екстракције са водом, док је применом екстракције са ФП принос износио 92±2,2% и 123±5,4%. Границе детекције и одређивања ФБ₁, ФБ₂, и ФБ₃ након екстракције неорганским растварачима и одређивања са HPLC–FLD су биле на нивоу µg/kg и нешто више него применом екстракције органским растварачима. Нађено је да нема значајне разлике ($p > 0,05$) између резултата одређивања индивидуалних и укупних фумонизина у референтном материјалу применом екстракције са неорганским растварачима и АОАС методе, односно метода произвођача ELISA китова. Резултати одређивања свих фумонизина у свим природно контаминираним узорцима након екстракције са ФП су у сагласности са резултатима АОАС методе ($p > 0,05$). Такође је нађено да се FumonitTest™WB колоне могу користити још једном након регенерације, уколико садржај фумонизина у узорцима није већи од 1 mg/kg укупних фумонизина.

Због чињенице да су фумонизини често присутни у узорцима житарица широм света, проучавана је распрострањеност контаминације у нашој земљи. Испитани су узорци кукуруза, сакупљени током вишегодишњег периода (2005. и 2009–2013. године) и пшенице рода 2010. и 2012. године, са подручја северне Србије. Испитивана је контаминираност кукуруза са подручја северне Србије фумонизинима, другим микотоксинима (афлатоксинима, охратоксином А и зеараленоном) и плеснима, као и могући утицај климатских фактора на степен контаминације. Тако је испитивање складиштених узорака рода 2005. године показало да традиционални начин складиштења у чардацима не утиче на значајну продукцију фумонизина у кукурузу. Утврђено је да је у односу на остале одређиване микотоксине, 2009. године највећи проценат узорака био контаминиран фумонизинима, што је вероватно последица присуства плесни рода *Fusarium* као најзаступљенијих. У контаминираним узорцима је утврђена концентрација фумонизина у интервалу од 0,030–1,52 mg/kg. Садржај испитиваних микотоксина (фумонизина, афлатоксина, охратоксина А и зеараленона) у 5 од 34 узорка рода 2009. је био нижи од граница детекције примењених метода, а 13 од 29 позитивних узорака су садржали више од једног токсина. Садржај афлатоксина није био виши од прописаних максималних количина у исхрани животиња, док садржај осталих токсина није био виши од прописаних/предложених вредности у Европској Унији. Од 24 испитана узорка кукуруза рода 2010. године један је садржавао фумонизине а три деоксиниваленол изнад максимално дозвољене концентрације прописане за исхрану људи. Међутим, у периоду од 2011. до 2013. године појава фумонизина је била врло изражена. Тако је 2011. 88% (од анализираних 17 узорака), 2012. 97% (анализирано 78 узорака), а 2013. године чак 98% (од анализираних 47) узорака кукуруза било контаминирано фумонизинима, а средње вредности су износиле 1,492 mg/kg, 2,229 mg/kg, односно 0,672 mg/kg, са највишом забележеном концентрацијом од 20,34 mg/kg 2012. године. Испитивање садржаја укупних фумонизина у пшеници рода 2010. године је показало да је 52% од 75 испитаних узорака садржавало фумонизине у концентрацији 0,027 до 0,614 mg/kg, док су у свега једном од 8 испитаних узорака пшенице рода 2012. били детектовани.

Сумирајући све резултате, од укупно 235 анализираних узорака кукуруза, 83% је било контаминирано фумонизинима, а средња вредност концентрације је износила 1,009 mg/kg. У знатно мањем броју анализираних узорака пшенице (83) је утврђена нижа фреквенција контаминираних узорака од 48%. Резултати контаминираности усева фумонизинима за сваку годину појединачно, су повезивани са временским приликама које су пратиле исту. Тако су, према извештају Републичког хидрометеоролошког завода Србије количина падавина и просечне температуре ваздуха 2005. и 2009. године биле у нивоу вишегодишњег просека, што је вероватно допринело сличном резултату контаминираности кукуруза фумонизинима у опсегу од 33–35%. Међутим, 2010. година је била изразито влажна, док су 2011. и 2013. биле сушне и топле, а 2012. година изразито сушна. Ако се подаци о климатским условима упореде са концентрацијама и фреквенцијом позитивних узорака на фумонизин, може се закључити да све чешће суше и високе температуре погодују расту плесни, развоју биљних болести и штеточина, а тиме и продукцији токсина.

Од укупно 235 анализираних узорака кукуруза, у свега 8 узорака кукуруза су одређене количине фумонизина које су веће од максимално дозвољених количина прописаних важећим регулативама у Србији и Европској унији (4 mg/kg), а ниједан узорак није имао садржај већи од 60 mg/kg колико је максимално препоручено у кукурузу који се користи за исхрану животиња. Нивои контаминације пшенице су били знатно нижи у односу на кукуруз, са максималном концентрацијом од 0,614 mg/kg. Различита контаминираност кукуруза и пшенице фумонизинима у анализираним узорцима, може се објаснити пре свега различитом осетљивошћу анализираних усева према *Fusarium* врстама, односно различитом погодношћу матрикса за продукцију фумонизина.

Да би се испитало присуство фумонизина и афлатоксина, различита храна на бази житарица је анализирана ELISA методама. У узорцима из 2010. године, садржај афлатоксина је у свим узорцима био испод границе детекције, а у четири од пет анализираних узорака хране на бази кукуруза, садржај фумонизина је био изнад границе детекције, али испод максимално дозвољених вредности прописаних за исхрану људи. Резултати испитивања узорака из 2012. године су показали да су сви испитани узорци били контаминирани фумонизинима, а 55% афлатоксинима. Садржај фумонизина није прелазео максимално дозвољену границу прописану важећим Правилником, док су 3 узорка била неисправна због вишег садржаја афлатоксина. Добијен је висок линеарни коефицијент корелације ($r = 0,947$; $p < 0,005$), између садржаја фумонизина и афлатоксина у производима од кукуруза. Добијени резултати испитивања хране за људе показују неопходност

оваквих контрола.

Након примене развијене методе која подразумева екстракцију фумонизина из лековитог биља помоћу ФП, пречишћавање имуноафинитетним колонама и одређивање HPLC–FLD методом, фумонизини нису детектовани ни у једном анализираном узорку лековитог биља у Србији

У циљу развоја брзе, јефтине, а у исто време поуздане методе анализе плесни рода *Fusarium* као индикатора присуства фумонизина у узорцима кукуруза, испитана је могућност примене инфрацрвене спектроскопије са Фуријеовим трансформом. За одређивање фумонизина у узорцима кукуруза је примењена АТР техника. Од 16 анализираних узорака кукуруза коректно је класификован једино јако контаминиран кукуруз са 190 mg/kg у односу на остале са садржајем мањим од 10 mg/kg. За процену садржаја фумонизина у кукурузу овом техником, потребно је даље испитивање снимањем спектра контаминираног кукуруза али истог генотипа, како би се избегао могући утицај различитих хибрида на изглед спектра.

У оквиру ове дисертације је реализован експертни систем за решавање проблема избора оптималног поступка одређивања фумонизина у кукурузу. На максимално поједностављен начин за кориснике, на основу захтеване границе детекције методе, расположиве опреме, хемикалија, као и времена које експериментатор има на располагању за одређивање, експертни систем даје предлог оптималног поступка одређивања фумонизина у кукурузу почевши од узимања узорка за анализу, припремања свих потребних раствора, поступка одређивања, израчунавања резултата, па до прегледа релевантне литературе.

На основу прегледа контаминираности фумонизинима у нашој земљи закључује се о потреби за редовном анализом хране и применом напредних технологија у производњи хране и хране за животиње у циљу смањења штетних утицаја фумонизина. Такође се на основу добијених резултата даје предлог о усаглашавању законске регулативе која се тиче максимално дозвољених вредности фумонизина у храни за животиње са Европском Унијом.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

У овој докторској дисертацији мр Сандра Јакшић је коришћењем већег броја савремених аналитичких метода дала вредан прилог проучавању фумонизина. Наведена испитивања су резултовала обиљем података који су приказани систематично у одговарајућим таблицама и илустровани мноштвом слика. За све резултате су дата аргументована објашњења, која су, тамо где је то било могуће, поткрепљена и одговарајућим литературним наводима.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме
Комисија оцењује да је ова докторска дисертација урађена и написана у складу са образложењима наведеним у пријави теме. Већина добијених резултата била је саопштена на научним скуповима и објављена у часописима са SCI листе.
2. Да ли дисертација садржи све битне елементе
Докторска дисертација садржи све битне елементе истраживачког рада.
3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци
Оригинални допринос науци предметне дисертације огледа се у следећем:
 - у овој дисертацији, екстракционе методе неорганским растварачима су примењене за одређивање ФБ₁, ФБ₂ и ФБ₃ методом течне хроматографије са флуоресцентним детектором, као и укупних фумонизина помоћу имунохемијске методе;
 - испитан је садржај фумонизина у великом броју узорака житарица и дато тумачење повезаности продукције и присуства токсина са климатским условима;
 - развијена је методе екстракције и припреме узорка за одређивање фумонизина у лековитом биљу течном хроматографијом са флуоресцентном детекцијом као и ELISA методом;
 - испитана је могућност примене FTIR-а за одређивање присуства фумонизина у узорцима кукуруза и
 - развијен је експертни систем за избор методе за одређивање фумонизина у кукурузу.
4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
Нису уочени битни недостаци дисертације.

X ПРЕДЛОГ:

да се докторска дисертација под насловом „**ПРИЛОГ ОДРЕЂИВАЊУ И РАСПРОСТРАЊЕНОСТ ФУМОНИЗИНА У ЖИТАРИЦАМА И ЛЕКОВИТОМ БИЉУ У СРБИЈИ**“ прихвати и да се кандидату мр Сандри Јакшић одобри одбрана.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

др Љиљана Јовановић

редовни професор, председник

др Биљана Абрамовић

редовни професор, ментор

др Зоран Машић

научни саветник, члан

др Игор Јајић

ванредни професор, члан

др Милица Живков-Балош

виши научни сарадник, члан