

Универзитет у Београду – Хемијски факултет

Наставно-научно веће

ПРЕДМЕТ: Извештај Комисије за преглед и оцену докторске дисертације **Весне П. Васић, мастер хемичара**

На редовној седници Наставно-научног већа Хемијског факултета Универзитета у Београду, одржаној 11.10.2018. године, одређени смо у Комисију за преглед и оцену докторске дисертације **Весне П. Васић, мастер хемичара**, под насловом:

„Корелација физичко-хемијских параметара и фитохемијског профила медљиковаца са њиховим биљним пореклом”

Комисија је докторску дисертацију прегледала и подноси Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Хемијског факултета следећи:

ИЗВЕШТАЈ

А. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДИСЕРТАЦИЈЕ

Докторска дисертација Весне П. Васић написана је на 89 страна А4 формата (фонт Times New Roman величине 12 pt, са проредом 1) и садржи 28 слика (од тога 1 у Прилогу), 23 табеле (од тога 2 у Прилогу) и 163 литературна навода. Дисертација се састоји из 7 поглавља: 1. Увод (1 страна), 2. Општи део (14 страна), 3. Експериментални део (10 страна), 4. Наши радови (48 страна), 5. Закључак (1 страна), 6. Литература (8 страна, 163 цитата), 7. Прилог (5 страна). Поред тога, дисертација садржи: Захвалницу, Изводе на српском и енглеском језику, Садржај, Биографију кандидата, Списак радова и саопштења, Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу.

У **Уводу** је дат краћи осврт на област истраживања и тему рада. Кандидаткиња истиче проблем кривотворења меда, природног производа велике нутритивне вредности, а посебна пажња посвећена је методама за одређивање аутентичности. Мед произведен од медљике или медне росе у највећем броју публикација се наводи као медљиковац, без дефинисања његовог биљног порекла, стога се као основни циљ ове докторске дисертације наводи успостављање јасних критеријума за диференцијацију и класификацију пет биљних врста медљиковаца, јеле (*Abies alba* Mill.), приморског

храста (*Quercus ilix* L.), храста сладуна (*Quercus frainetto* Ten.), приморског јавора (*Acer monspessulanum* L.) и црногорице (углавном врста из фамилије Pinaceae, род *Abies*, *Pinus*, *Picea* и *Cedrus*).

У Општем делу кандидаткиња укратко описује две врсте меда, цветни мед и медљиковац, и дефинише појам аутентичности меда са два аспекта (аутентичност везана за производњу меда и аутентичност која подразумева одређивање биљног и географског порекла меда), као и поступке за процену аутентичности меда. Кандидаткиња затим наводи физичко-хемијске параметре који се најчешће одређују приликом провере квалитета меда, као и хемијски састав меда. Поред тога, наводи карактеристике хроматографских метода, принципе дводимензионалне гасне, високоефикасне течне и високоефикасне јоноизмењивачке хроматографије, затим принцип методе масене спектрометрије стабилних изотопа, ултраљубичасте спектроскопије, цикличне волтаметрије, као и индуковано купловане плазме са оптичком емисионом спектроскопијом и индуковано купловане плазме са масеном спектрометријом, као основних метода за анализу и раздвајање различитих узорака, идентификацију и квантификацију појединачних компонената смеше. Развој, примена и комбинација различитих аналитичких техника разматране су у циљу контроле квалитета, безбедности и оригиналости хране. Посебна пажња је посвећена хемометријским методама које се могу користити за идентификацију специфичних маркера који би били доведени у везу са врстом биљака од које потичу што би послужило за дефинисање параметара квалитета испитиваних врста (Анализа главних компонената – *Principal Component Analysis* (PCA), Метода делимичних најмањих квадрата са дискриминантним приступом – *Partial Least Square Discriminant Analysis* (PLS-DA), Нелинеарна анализа главних компонената – *Nonlinear Principal Component Analysis* (NPCA)).

У оквиру поглавља **Експериментални део** кандидаткиња наводи биљно порекло анализираних узорака као и број узорака по годинама прикупљања, детаљан опис реагенаса, стандардних једињења, инструмената, експерименталних и статистичких процедура коришћених у оквиру докторске дисертације.

Поглавље **Наши радови** подељено је на две целине у којима је кандидаткиња детаљно приказала и продискутовала добијене резултате. Прва целина посвећена је изоловању и идентификацији специфичних хемијских маркера за одређивање биљног порекла медљиковаца. У том смислу, одређени су физичко-хемијски параметри, садржај појединачних шећера применом јонске хроматографије, садржај фенолних

једињења применом течне хроматографије спрегнуте са масеном спектрометријом, садржај елемената применом индуковано купловане плазме са масеном спектрометријом, профил испарљивих једињења применом свеобухватне дводимезионалне гасне хроматографије са масеном спектрометријом (GC^ꞤGC/MS), као и однос стабилних изотопа угљеника применом методе масене спектрометрије стабилних изотопа. Посебна пажња посвећена је развоју нових и модификацији постојећих аналитичких метода.

Друга целина поглавља **Наши радови** посвећена је хеометријској обради добијених резултата. Анализа скупова података извршена је кроз обраду основних статистичких параметара, уочавање одговарајућих образаца препознавања и конструисање регресионих модела. У циљу одређивања аутентичности медљиковаца у смислу њиховог биљног порекла, од хеометријских метода је за диференцијацију коришћена метода анализа главних компонената, док је као класификациона техника примењена линеарна дискриминантна анализа.

У поглављу **Закључак** сумирани су и прокоментарисани резултати добијени у оквиру докторске дисертације.

Наведена **Литература** (163 цитата) обухвата радове из области истраживања и покрива све делове дисертације.

У **Прилогу** су дати неки од експерименталних података добијени у оквиру истраживања описаних у поглављу **Наши радови**.

Б. КРАТАК ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

У циљу дефинисања аутентичности медљиковаца у погледу начина производње и биљног порекла у оквиру ове докторске дисертације одређени су јасни критеријуми за диференцијацију и класификацију пет биљних врста медљиковаца, јеле (*Abies alba* Mill.), приморског храста (*Quercus ilex* L.), храста сладуна (*Quercus frainetto* Ten.), приморског јавора (*Acer monspessulanum* L.) и црногорице (углавном врсте из фамилије Pinaceae, родови *Abies*, *Pinus*, *Picea* и *Cedrus*). Применом осетљивих и прецизних хроматографских и спектроскопских метода са ниским границама детекције и квантификације, омогућено је систематско испитивање фитохемијског састава, пре свега садржај фенолних једињења, појединачних елемената, шећера и испарљивих једињења, као и однос стабилних изотопа угљеника. У комбинацији са савременим хеометријским методама идентификовани су потенцијални биомаркери аутентичности поједини биљних врста медљиковаца.

У раду је потврђена аутентичност узорака медљиковаца у погледу начина производње на основу вредности физичко-хемијских параметара и анализом односа стабилних изотопа угљеника. Вредности физичко-хемијских параметара биле су у оквиру прописаних вредности према националним и међународним стандардима, при чему су вредности електричне проводљивости и специфичне оптичке ротације потврдиле да су узорци добијени из секреције коју производе биљке или излучевине инсеката који сишу биљке. Додатно, на основу $\delta^{13}\text{C}$ вредности протеина изолованих из медљиковаца и $\delta^{13}\text{C}$ вредности самих медљиковаца, потврђено је да у узорцима није било додатог шећера пореклом из C4 биљака.

Аутентичност пет врста медљиковаца према биљном пореклу, окарактерисана је на основу шећерног и фенолног профила, $\delta^{13}\text{C}$ вредности медљиковаца и протеина изолованих из медљиковаца, садржаја есенцијалних и токсичних елемената, као и садржаја испарљивих једињења. За дефинисање биљног порекла коришћена је и антиоксидативна способност узорака која је процењена применом спектроскопског и електрохемијског приступа. Јединствени маркер порекла није пронађен на основу садржаја шећера услед високог степена варијабилитета унутар сваке врсте меда. Са друге стране, уочено је да вредности $\delta^{13}\text{C}$ протеина изолованих из медљиковаца могу бити добар показатељ биљног порекла медљиковаца.

Макро- и микроелементи (Ba, Ca, Mg, Sr, Mn, Al, Co, Ni и Se) у медљиковцима од врсте *Abies alba* и рода *Quercus spp.* (*Quercus frainetto* и *Quercus ilex*), како је процењено на основу регресионог модела, могу се сматрати маркерима биљног порекла и користити за тачније означавање поменутих врста. Поред тога, добијени подаци указују на добар квалитет свих испитиваних узорака медљиковаца с обзиром на ниску концентрацију токсичних елемената у траговима и релативно велику количину нутритивно важних минерала, као што су Mn и S, између осталих.

Параметри антиоксидативне активности заједно са садржајем укупних фенола, као и појединачних фенолних једињења (кверцетин, нарингенин, кверцетин 3-О-рамнозид, рутин, кемпферол, кемпферид), карактеришу узорке из рода *Quercus spp.* С друге стране, најутицајнији параметри који разликују узорке меда од јеле и црногорице од других биљних врста су апигенин, 5-О-кафеоилфинска киселина, генистеин и *p*-хидроксифенил-сирћетна киселина.

Резултати добијени свеобухватном GC/MS анализом у комбинацији са мултиваријантном анализом указују на значај коришћења категоријских података, тј.

профила дефинисаних само присуством, односно одсуством одређеног једињења у узорку, без њиховог квантитативног одређивања.

Добијени резултати у оквиру ове дисертације потврђују могућност процене аутентичности медљиковца према биљном пореклу само на основу фенолног профила и антиоксидативног капацитета, са једне стране, и елементалног састава, са друге. Ипак најбољи резултати у класификацији медљиковаца према биљном пореклу су добијени комбиновањем више параметара, односно посматрањем комплетног хемијског профила. Међу испитиваним биљним врстама медљиковца, медљиковци из рода *Quercus spp.*, *Quercus frainetto* и *Quercus ilex*, показали су јединствен хемијски профил. С обзиром да медљиковац до сада није систематски испитиван, резултати добијени у оквиру ове докторске дисертације су од посебног значаја за успостављање стандарда квалитета медљиковца и његову промоцију на тржишту.

В. УПОРЕДНА АНАЛИЗА РЕЗУЛТАТА КАНДИДАТА СА РЕЗУЛТАТИМА ИЗ ЛИТЕРАТУРЕ

Поуздане аналитичке методе и јасно дефинисани критеријуми и стандарди у области квалитета хране су неопходно и једино сигурно оруђе у борби против фалсификата. Европска комисија је дефинисала основне параметре квалитета меда који морају бити задовољени да би се мед сматрао аутентичним у погледу начина производње, али исти не дефинише критеријуме на основу којих би се разликовале појединачне биљне врсте меда (1,2). На основу ових параметара могуће је разликовати нектарски мед од медљиковца (2). Међутим, систематско испитивање медљиковаца које би обухватило комплетну анализу хемијског састава дефинисаних биљних врста до сада није описано у расположивој литератури. У највећем броју радова специфична врста меда добијеног од слатког сока који луче биљке или инсекти који живе на биљкама, означава се само као медљиковац или шумски мед, без наглашене биљне врсте као његовог доминантног извора. У поменутих радовима се хемијска својства медљиковца упоређују са нектарским медом, најчешће према физичко-хемијским параметрима, садржају нижих шећера, садржају елемената и антиоксидативној активности (3). У радовима у којима је биљно порекло испитиваних узорака дефинисано, анализиран је мањи број најзаступљенијих врста које су најчешће окарактерисане одређеном класом хемијских једињења (4). Такође, у већини студија број анализираних узорака, као и број идентификованих и квантификованих параметара, је недовољан да би се поуздано окарактерисала поједина биљна врста

медљиковца (4). С обзиром на чињеницу да је испитивање хемијског састава медљиковца у повоју и да је у бази података који дефинишу параметре квалитета најзаступљенијих европских медова ова врста наведена као јединствена група без дефинисаног биљног порекла (5), резултати добијени у оквиру ове докторске дисертације доприносе дефинисању параметара квалитета испитиваних врста меда. Треба истаћи и да је, према доступној литератури, по први пут употребљена свеобухватна GC^{MS}GC/MS за квалитативну анализу узорака медљиковца.

(1) Directive 2014/63/EU of the European Parliament and of the Council amending Council Directive 2001/110/EC relating to honey. *Official Journal of the European Communities*, 2014; L164/1.

(2) Bogdanov S., Harmonized Methods of the International Honey Commission, International Honey Commission (IHC responsible for the methods: Stefan Bogdanov, Bee Product Science), 2011.

(3) Pita-Calvo, C., Vázquez, M. (2018) Honeydew honeys: A Review on the Characterization and Authentication of Botanical and Geographical Origins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66, 2523-2537.

(4) Pita-Calvo, C., Vázquez, M. (2017) Differences between honeydew and blossom honeys: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 59, 79-87.

(5) Persano Oddo, L., Piro, R. (2004) Main European unifloral honeys: Descriptive sheets 1. *Apidologie*, 35, S38–S81.

Г. РАДОВИ И САОПШТЕЊА КОЈИ СУ ДЕО ДИСЕРТАЦИЈЕ

Резултати испитивања у оквиру ове докторске дисертације објављени су у 2 научна рада, оба у међународном часопису изузетних вредности (M21a). Поред тога, резултати су презентовани у облику 7 саопштења, на научним скуповима међународног и националог значаја, која су штампана у изводу.

Научни радови објављени у међународним часописима изузетних вредности (M21a)

- 1) **Vesna Vasić**, Slađana Đurđić, Tomislav Tosti, Aleksandra Radoičić, Dražen Lušić, Dušanka Milojković-Opsenica, Živoslav Tešić, Jelena Trifković, "Two aspects of honeydew honey authenticity: application of advance analytical methods and chemometrics", *Food Chemistry*, 305 (2020) 125457.
<http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125457> (M21a, IF₂₀₁₈ = 5,399; Chemistry,

Applied 5/71; Food Science & Technology 7/135)

- 2) **Vesna Vasić**, Uroš Gašić, Dalibor Stanković, Dražen Lušić, Darija Lukić-Lušić, Dušanka Milojković-Opsenica, Živoslav Tešić, Jelena Trifković, "Towards better quality criteria of European honeydew honey: Phenolic profile and antioxidant capacity", *Food Chemistry*, 247 (2019) 629-641.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.045> (M21a, IF₂₀₁₈ = 5,399; Chemistry, Applied 5/71; Food Science & Technology 7/135)

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34)

- 1) **Vesna Vasić**, Slađana Đurđić, Jelena Mutić, Dražen Lušić, Dušanka Milojković-Opsenica, Živoslav Tešić, Jelena Trifković, *Authenticity assesment and quality control of Croatian honeydew honeys on the basis of multi-element analysis with chemometric approach*, 25th Congress of SCTM, Ohrid, Macedonia, September 2018., Book of Abstracts, page 113.
- 2) **Vesna P. Vasić**, Tomislav B. Tosti, Dražen Lušić, Dušanka M. Milojković-Opsenica, Jelena Đ. Trifković and Živoslav Lj. Tešić, *Honeydew honey: carbohydrate profile as a tool for determination of natural and botanical origin*, World Conference on Analytical and Bioanalytical Chemistry, Barcelona, Spain, July 2018.
- 3) **Vesna Vasic**, Vladimir Beskoski, Kristina Dacic, Drazen Lusic, Dusanka Milojkovic Opsenica, Jelena Trifkovic, *VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS AS MARKER OF AUTHENTICITY OF HONEYDEW HONEY*, 15th GCxGC Symposium, Riva del Garda, Italy, May 2018., Book of Abstracts, page 312.
- 4) **Vesna Vasić**, Uroš Gašić, Jelena Trifković, Dražen Lušić, Darija Vukić-Lušić, Dušanka Milojković Opsenica, Živoslav Tešić, *Authenticity assesment of honeydew honey: phenolicprofile and antioxidativ activity*, Euroanalysis 2017, Stockholm, Sweden, August 2017, Poster presentation abstracts, Poster No 161.

Саопштења са скупова националног значаја штампана у изводу (M64)

- 1) **Vesna Vasić**, Vladimir Beškoski, Kristina Dacić, Dražen Lušić, Dušanka Milojkovic Opsenica, Jelena Trifković, *Different approaches for multivariate data analysis in GC×GC-MS fingerprinting of honeydew honey*, UNIFood, Belgrade, Serbia, October 2018., Book of abstracts, OHP44/FCHP44, page 282.
- 2) Aleksandra Radoičić, Jelena Trifković, **Vesna Vasić**, Dražen Lušić, Darija Lukić Lušić, Živoslav Tešić, *Botanical discrimination of honeydew honey by stable carbon isotope ratio analysis*, UNIFood, Belgrade, Serbia, October 2018., Book of abstracts, BKHP57/FQSP57, page 211.

3) **Vesna Vasić**, Aleksandra Dramićanin, Petar Ristivojević, Dražen Lušić, Darija Vukić-Lušić, Dušanka Milojković Opsenica, Živoslav Tešić, *Authenticity assessment of honeydew honey*, 54. Meeting of the Serbian Chemical Society, Belgrade, Serbia, September 2017, Book of Abstracts, page 7.

Д. ПРОВЕРА ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Оригиналност ове докторске дисертације је проверена на начин прописан Правилником о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду (Гласник Универзитета у Београду, бр. 204/22.06.2018). Помоћу програма iThenticate, утврђено је да количина подударача текста износи 13%. Овај степен подударности последица је цитата, личних имена, библиографских података коришћених у литератури, тзв. општих места и података у вези са темом дисертације, као и претходно публикованих резултата истраживања проистеклих из дисертације, што је у складу са чланом 9. поменутог Правилника.

На основу свега изложеног Комисија сматра да је докторска дисертација Весне П. Васић оригинална, као и да су у потпуности поштована академска правила цитирања.

Е. ЗАКЉУЧАК

Комисија је на основу детаљног прегледа докторске дисертације под насловом „Корелација физичко-хемијских параметара и фитохемијског профила медљиковаца са њиховим биљним пореклом” закључила да је кандидаткиња Весна Васић успешно одговорила на постављене задатке везане за дефинисање аутентичности медљиковаца у погледу начина производње и биљног порекла кроз јасно одређене критеријуме за диференцијацију и класификацију пет биљних врста медљиковаца. С обзиром да медљиковац до сада није систематски испитиван, резултати добијени у оквиру ове докторске дисертације су од посебног значаја за успостављање стандарда квалитета ове специфичне врсте меда.

Резултати истраживања проистеклих из ове дисертације публиковани су у оквиру два научна рада у међународном часопису изузетних вредности (*Food Chemistry*), четири саопштења на скуповима међународног значаја штампаних у изводу (категирија М34) и три саопштења на скуповима националног значаја штампаних у изводу (категирија М64). Комисија је мишљења да резултати објављени у поднетој докторској дисертацији представљају значајан допринос анализи квалитета хране и дефинисању основних параметара квалитета меда.

На основу свега изложеног, а у складу са Законом о високом образовању и Статутом Хемијског факултета, Комисија сматра да су испуњени услови за одбрану докторске дисертације и предлаже Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Хемијског факултета да прихвати поднету докторску дисертацију Весне П. Васић, мастер хемичара, под насловом „**Корелација физичко-хемијских параметара и фитохемијског профила медљиковаца са њиховим биљним пореклом**” и одобри њену јавну одбрану за стицање академског звања доктора хемијских наука.

У Београду, 15. децембра 2019. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

др Јелена Трифковић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Хемијски факултет

др Душанка Милојковић-Опсеница, редовни професор
Универзитет у Београду - Хемијски факултет

др Живослав Тешић, професор у пензији
Универзитет у Београду - Хемијски факултет

др Владимир Бешкоски, ванредни професор
Универзитет у Београду - Хемијски факултет

др Дражен Лушић, ванредни професор
Медицински факултет Универзитета у Риједи, Хрватска