

## ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Јована Кос, дипл. инж. технологије

<b>I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ</b>	
1.	Датум и орган који је именовео комисију  <b>19.09.2014.</b> Наставно-научно веће Технолошког факултета, Универзитета у Новом Саду.
2.	Састав комисије са знаком 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:  1. <b>др Марија Шкрињар</b> , редовни професор, Прехрамбена микробиологија, изабрана 31.10.1996. године и запослена на Технолошком факултету у Новом Саду. 2. <b>др Јасна Мاستиловић</b> , научни саветник, Квалитет и безбедност хране биљног порекла, изабрана 15. јуна 2006. године и запослена на Научном институту за прехрамбене технологије у Новом Саду. 3. <b>др Ева Лончар</b> , редовни професор, Примењене и инжењерске хемије, изабрана 11.01.2002. године и запослена на Технолошком факултету у Новом Саду. 4. <b>др Војислава Бурсић</b> , доцент, Фитомедицина, изабрана 16.05.2012. године и запослена на Пољопривредном факултету у Новом Саду.
<b>II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ</b>	
1.	Име, име једног родитеља, презиме:  <b>Јована (Јован) Кос</b>
2.	Датум рођења, општина, држава:  <b>25.12.1981., Нови Сад, Република Србија</b>
3.	Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив  <b>Технолошки факултет, Универзитет у Новом Саду, Конзервисана храна, Дипломирани инжењер технологије</b>
4.	Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија  <b>2008, Прехрамбено инжењерство</b>
5.	Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:  /
6.	Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:  /
<b>III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:</b>	
<b>Афлатоксини: анализа појаве, процена ризика и оптимизација методологије одређивања у кукурузу и млеку</b>	

#### **IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

Докторска дисертација дипл. инж. Тамаре Дапчевић Хаднађев је изложена у осам поглавља:

- Увод (стр. 1 - 2),
- Преглед литературе (стр. 3 - 56),
- Циљ рада (стр. 57 - 58 ),
- Материјал и методе (стр. 59- 82),
- Резултати и дискусија (стр.83 - 176),
- Закључак (стр. 177 - 179),
- Литература (стр 180 - 208).

Дисертација је написана на 208 страница А4 формата, са 44 слике, 79 табела и 256 литературних навода, а на почетку дисертације су дате кључне документацијске информације са кратким изводом на српском и енглеском језику.

#### **V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:**

У поглављу **УВОД** аутор указује на важност производње здравствено безбедне хране, али уједно указује и на све чешћу појаву микотоксина-високотоксичних контаминената. Аутор наводи да учестала појава микотоксина поред вишеструког негативног утицаја на здравље људи и животиња узрокује и велике економске губитке. Аутор посебно истиче афлатоксине, који са аспекта учесталости појаве и негативног утицаја на здравље, представљају најпознатију и најризичнију групу микотоксина. Посебно се истиче важност анализе појаве афлатоксина у кукурузу и млеку. Због напред наведеног, у **УВОДУ** се даље истиче важност спровођења систематске контроле присуства афлатоксина засноване на савременим аналитичким методама. На крају поглавља аутор указује да доступна научна и стручна литература из Србије указује на недостатак систематски спроведених мониторинга учесталости појаве афлатоксина, као и на недостатак података који обједињују резултате анализе климатских услова на појаву афлатоксина у Србији.

У поглављу **ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ** аутор веома студиозно обрађује досадашње литературне податке о афлатоксинима. У првом делу аутор указује на податке који се односе на услове који доводе до појаве *Aspergillus* плесни и синтезе афлатоксина. Посебан акценат дат је на обрађивање података у вези утицаја суше на појаву наведених контаминената у кукурузу. Такође, посебно су истакнути афлатоксин Б1 и М1 (АФМ1), као најзаступљенији афлатоксини који контаминирају кукуруз, односно млеко. Аутор велику пажњу посвећује и прегледу литературе о афлатоксикозама, великој групи различитих обољења, до којих долази након уноса афлатоксина у организам људи и животиња. На крају првог дела приказане су законске регулативе које прописују контролу афлатоксина. У другом делу дат је приказ техника које се користе за анализу афлатоксина у узорцима кукуруза и млека. Као прилог чињеници да анализа афлатоксина представља аналитички изазов наведене су и детаљно описане све фазе које је неопходно спровести у току анализе.

На основу проучене и систематизоване литературе, докторант је био у могућности да правилно анализира и објасни добијене резултате и да их упореди са резултатима других аутора који су радили на истој или сличној проблематици.

У поглављу **ЦИЉ РАДА** истакнуто је да ће дисертација обухватити два сегмента истраживања. Први сегмент истраживања инициран је чињеницом да је услед недостатака података неопходно почети континуирано пратити појаву афлатоксина у Србији. У овом делу образложен је и одабир кукуруза и млека као сировина за испитивање. Кукуруз је одабран јер представља једну од најзаступљенијих врста жита у Србији, и евентуална појава афлатоксина у великој мери би утицала на смањење квалитета кукуруза и економског профита земље. Са друге стране, највећа количина кукуруза у Србији се користи за исхрану животиња и уколико је кукуруз контаминиран може доћи и до појаве афлатоксина у млеку. Важност контроле присуства појаве афлатоксина у млеку проистиче из чињенице да оно представља основну животну намирницу. Други сегмент истраживања обухватиће испитивања у вези примене различитих поступака припреме узорака кукуруза и млека, као и примене ELISA методе и метода течне хроматографије високих перформанси са различитим

детекторима за анализу афлатоксина. У овом поглављу указано је и на актуелност теме дисертације, као и њен научни допринос.

У поглављу **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ** наведене су сировине коришћене у експериментима, као и број анализираних узорака. Дат је приказ свих хемикалија, реагенса и опреме коришћене у извођењу експерименталног рада. Описани су поступци припреме узорака кукуруза: МусоСер и имуноафинитетне колоне, QuEChERS-и и поступак екстракције; и узорака млека са имуноафинитетним колонама. Такође је дат и опис ELISA метода које су примењене на основу препорука датих од произвођача тест китова. Примењене методе течне хроматографије високих перформанси са различитим детекторима (HPLC-FLD, HPLC-UV light-FLD, LC-MS/MS) пре примене на реалним узорцима су развијене и оптимизоване, а сви хроматографски параметри су приказани. Детаљно су описани и поступци валидације за све примењене методе. На крају поглавља приказана је и анкета на основу које су обезбеђени подаци за процену ризика уноса АФМ1 у организам људи, преко млека.

Резултати претходно описаних испитивања приказани су у поглављу **РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА**. Аутор је прво приказао резултате везане за анализу појаве афлатоксина у узорцима кукуруза сакупљених у периоду од 2009. до 2012. године. Добијени резултати указали су да сушни временски услови условљавају појаву афлатоксина у кукурузу. Затим је испитана појава афлатоксина М1 у узорцима млека и установљено је да је појава афлатоксина у кукурузу условила висок степен контаминације млека. На основу анализе појаве АФМ1 у млеку и спроведене анкете процењен је ризик од уноса контаминираниог млека у организам људи у зависности од пола и старосне категорије. Утврђено је да постоји велик ризик од конзумирања млека са детектованим концентрацијама АФМ1, као и да се ризик повећава са смањењем старосне категорије. У другом делу приказани су резултати валидације и анализе природно контаминираних узорака кукуруза добијени применом различитих метода анализе. Резултати валидације указали су да све примењене методе задовољавају важеће прописе, док су анализе реалних узорака указале да изузетно велики утицај на резултат има неравномерна расподела афлатоксина унутар природно контаминираних узорака кукуруза. Са тим у вези испитана је и расподела укупног броја плесни, плесни *Aspergillus flavus* и афлатоксина у узорцима из истих и различитих складишта. Установљена је веома неравномерна расподела анализираних плесни и афлатоксина. Такође, приказани су и резултати валидације и анализе природно контаминираних узорака млека који су добијени применом различитих метода анализе. Сви резултати за природно контаминиране узорке кукуруза и млека, добијени применом различитих поступака припреме узорака и метода одређивања, међусобно су и упоређени.

У поглављу **ЗАЉУЧАК**, закључци су јасно и концизно изведени из резултата и њихове дискусије, те се могу сматрати поузданим и одговарајућим у односу на постављени циљ дисертације.

У последњем поглављу, **ЛИТЕРАТУРА**, наводи се 256 референци. Избор референци је актуелан и примерен тематици која је проучавана.

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

Истраживања урађена у оквиру докторске дисертације, верификована су у следећим часописима:

### **M21 – Рад у врхунском међународном часопису**

1. Kos, J., Mastilović, J., Janić-Hajnal, E., Šarić, B. (2013): Natural occurrence of aflatoxins in maize harvested during 2009-2012, Food Control, 34, 31-34.
2. Kos, J., Lević, J., Đuragić, O., Kokić, B., Miladinović, I. (2014): Occurrence and estimation of aflatoxin M1 exposure in milk in Serbia, Food Control, 38, 41-46.

## M51 –Рад у водећем националном часопису

1. Kos, J., Janić Hajnal, E., Mastilović, J., Milovanović, I., Kokić, B. (2013): The influence of drought on the occurrence of aflatoxins in maize, *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke*, 124, 59-65.

## VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу резултата испитивања кандидаткиња Јована Кос извела је следеће закључке:

1. Анализом појаве афлатоксина у узорцима кукуруза из четири производне године (2009-2012.) утврђено је да ниједан од 300 узорака кукуруза из 2009., 2010. и 2011. године није био контаминиран афлатоксинима. Насупрот томе, од 700 анализираних узорака кукуруза из 2012. године, 553 (79%) узорака било је контаминирано афлатоксинима. На основу добијених резултата може се закључити да су климатски услови у великој мери утицали на висок ниво појаве афлатоксина у узорцима кукуруза из 2012. године, као и одсуство афлатоксина у анализираним узорцима из периода 2009-2011. године. Наиме, забележени климатски услови од априла до септембра (2009-2011.) нису погодовали развоју *Aspergillus* плесни и синтези афлатоксина. Међутим, сушни услови забележени током 2012. године у великој мери су утицали на појаву *Aspergillus* плесни и висок ниво контаминације кукуруза афлатоксинима. Такође, анализом по 100 узорака кукуруза у периоду од седам месеци, утврђено је да током периода складиштења долази до повећања броја контаминираних узорака кукуруза.
2. Анализом 200 узорака, различитих категорија, крављег млека установљено је да само 2 (1%) узорка нису била контаминирана са АФМ1. Осталих 198 узорака садржало је АФМ1 у концентрационом интервалу од 0,005 до 1,200  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Такође, на основу добијених резултата може се закључити да је највећа средња вредност концентрације АФМ1 ( $0,372 \pm 0,308 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) одређена код узорака пастеризованих млека произведених у мањим погонима, док је најмања средња концентрација АФМ1 ( $0,080 \pm 0,073 \mu\text{g}/\text{kg}$ ) пронађена у узорцима органског млека. Добијени резултати указују да се појава АФМ1 у анализираним узорцима крављег млека из 2012. године може довести у везу са климатским условима и појавом афлатоксина у кукурузу. Чињеница да је 79% анализираних узорака кукуруза из 2012. године било контаминирано афлатоксинима и да се највећи део произведеног кукуруза (80-90%) у Србији користи за исхрану животиња, додатно потврђује претходно дефинисан узрок појаве АФМ1 у млеку.
3. Ризик од појаве АФМ1 у млеку процењен је на основу анализе 200 узорака крављег млека и анализе анкете која је обухватила 1500 испитаника. Анализом млека одређене су најмања, средња и највећа концентрација АФМ1 у контаминираним узорцима млека, док су резултати анкете указали на просечан унос млека у зависности од старосне категорије и пола испитаника. Добијени резултати у вези са проценом ризика указују да се израчунате вредности процењеног дневног уноса (ЕДИ) за АФМ1 повећавају са смањењем старосне категорије, услед знатно већег уноса млека у односу на телесну масу (ТМ). При анализи ризика од уноса млека које је садржало најмању концентрацију АФМ1 од  $0,010 \mu\text{g}/\text{kg}$ , уочава се да постоји ризик само код старосне категорије деце од прве до пете године, док остале старосне категорије не уносе АФМ1 у количини изнад вредности за дозвољени дневни унос (ТДИ) од  $0,2 \text{ ng}/\text{kg ТМ}/\text{дан}$ . За млеко са средњом и највећом концентрацијом АФМ1, израчуната ЕДИ вредност је знатно изнад ТДИ вредности за све испитане старосне категорије. Услед доказаног канцерогеног, мутагеног, тератогеног и имуносупресивног ефекта АФМ1 на организам људи као и на основу израчунатих вредности индекса опасности (ХИ), може се закључити да је појава АФМ1 у млеку условила постојање изузетног ризика од конзумирања млека које је контаминирано АФМ1.
4. Оптимизацијом методологије одређивања афлатоксина у кукурузу утврђено је да примењене ELISA методе, као и развијене и оптимизоване HPLC-FLD, HPLC-UV light-FLD и LC-MS/MS методе са различитим поступцима припреме узорака, задовољавају критеријуме о валидацији метода прописане одговарајућих европским Регулативама.

5. Применом наведених метода за анализу афлатоксина у природно контаминираним узорцима кукуруза, уочено је да су поједини добијени резултати изван претходно дефинисаног опсега концентрација афлатоксина. Наведена појава објашњена је на основу резултата добијених испитивањем расподеле укупног броја плесни, врсте *Aspergillus flavus* и афлатоксина у узорцима кукуруза из истих и различитих складишта. На основу добијених резултата може се закључити да неравномерна расподела испитиваних плесни и афлатоксина, унутар реалних узорака кукуруза у великој мери утиче на добијени резултат, без обзира на примењену методу анализе.

6. Оптимизацијом методологије одређивања АФМ1 у млеку утврђено је да примењене ELISA методе, као и развијене и оптимизоване HPLC-FLD и LC-MS/MS методе, задовољавају критеријуме о валидацији метода прописане одговарајућих европским Регулативама. Примена наведених метода за анализу АФМ1 у природно контаминираним узорцима млека довела је до закључка да равномернија расподела токсина унутар течног узорка у мањој мери утиче на резултат, као и да постоји добра корелација између концентрација АФМ1 одређених применом различитих метода

### **VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА**

Кандидаткиња Јована Кос, дипл. инж., у својој докторској дисертацији под насловом "Афлатоксини: анализа појаве, процена ризика и оптимизација методологије одређивања у кукурузу и млеку" систематично и прегледно приказује резултате који су добијени применом савремених и адекватних техника за испитивани матрикс. Бројни резултати истраживања поткрепљени су детаљном дискусијом заснованом на добром познавању истраживане научне области и на најновијим научним сазнањима. Стога се начин приказа и тумачења резултата истраживања оцењује позитивно.

### **IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ**

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Дисертација је написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Дисертација садржи све битне елементе.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Наведена истраживања значајно доприносе надоградњи постојећих сазнања у оквиру науке о афлатоксинима. Пре свега проширују се сазнања у вези са појавом афлатоксина у кукурузу и млеку, чиме се даје велики допринос повећању доступних (тренутно малобројних) података о појави афлатоксина на територији Србије.

Поред тога, добијена сазнања се могу имплементирати у светске званичне базе података о појави афлатоксина, и на тај начин допринети проширењу глобалних сазнања о појави афлатоксина.

Добијени подаци о процени ризика указали су на постојање високог ризика од појаве афлатоксина у млеку, а уједно су указали и на важност контроле појаве афлатоксина у целом ланцу исхране, од кукуруза до млека.

Сазнања о различитим методама одређивања афлатоксина у природно контаминираним узорцима такође су од великог значаја, јер дају увид лабораторијама да у зависности од својих могућности и потреба одаберу најбољу методу у погледу њених карактеристика. Сви добијени подаци у овој докторској дисертацији могу се имплементирати у протоколе постојећих и развој нових контролних стратегија у циљу превенције појаве афлатоксина и метода за њихово одређивање.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања
Недостаци дисертације нису уочени.
X ПРЕДЛОГ:
На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:
Полазећи од позитивне оцене докторске дисертације дипл. инж. Јоване Кос, Комисија са задовољством предлаже да се прихвати ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ, а кандидаткињи одобри одбрана дисертације.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

---

**др Марија Шкрињар**, редовни професор,  
Технолошки факултет, Нови Сад

---

**др Јасна Масгиловић**, научни саветник,  
Технолошки факултет, Нови Сад

---

**др Ева Лончар**, редовни професор,  
Технолошки факултет, Нови Сад

---

**др Војислава Бурсић**, доцент,  
Пољопривредни факултет, Нови Сад