

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU
HEMIJSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nastavno-naučnog veća Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, održanoj 09. juna 2016. godine, prihvaćen je pozitivan izveštaj komisije o podobnosti kandidata mr Violete Stefanović za izradu doktorske disertacije. U istom sastavu je imenovana Komisija za pregled, ocenu i odbranu njene doktorske disertacije prijavljene pod naslovom

Određivanje sadržaja makroelemenata i mikroelemenata u uzorcima pečurke *Macrolepiota procera* i zemljišnim supstratima iz Rasinskog okruga

sa mentorima dr Živoslavom Tešićem, redovnim profesorom Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i dr Jelenom Mutić, docentom Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Komisija je pregledala doktorsku disertaciju i podnosi Nastavno-naučnom veću sledeći

IZVEŠTAJ

A) Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija Violete Stefanović pod navedenim naslovom napisana je na 133 strane kucanog teksta A4 formata (prored 1,5) i podeljena na šest poglavlja: Uvod (3 strane), Opšti deo (32 strane), Eksperimentalni deo (7 strana), Rezultati i diskusija (72 strane), Zaključak (2 strane) i Literatura (17 strana, 184 literaturnih navoda). Rad takođe sadrži izvod na srpskom i engleskom jeziku, 34 tabele, 13 slika, sadržaj, zahvalnicu, biografiju kandidata, bibliografiju sa spiskom radova i saopštenja, kao i izjavu o autorstvu, izjavu o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada i izjavu o korišćenju.

U **Uvodu** je dat kraći osvrt na oblast istraživanja, temu i cilj rada. Kao osnovni cilj ove doktorske disertacije navedeno je određivanje ukupno 20 elemenata - makroelemenata (Ca, Mg, Na, K) i mikroelemenata (Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Sr, Ti, Zn, Ag, As, Se) u uzorcima pečurke *Macrolepiota procera* i zemljišnim supstratima sa pet lokacija u Rasinskom okrugu, kako bi se procenila bioakumulaciona sposobnost *Macrolepiota procera*. Kada su toksični metali u pitanju, odnos između njihovih koncentracija u uzorcima pečuraka i zemljišta, može dati odgovore na pitanja da li ova vrsta pečurke može služiti kao bioindikator zagađenja životne sredine metalima i da li postoji mogućnost njene upotrebe u procesu mikoremedijacije. Pored toga, primena BCR ekstrakcione procedure omogućava ispitivanje mobilnosti i biodostupnosti elemenata iz zemljišnih supstrata. Kao ciljevi ove disertacije postavljeni su: evaluacija razlika između sadržaja elemenata u uzorcima sa različitih lokacija primenom hemometrijskih metoda i ispitivanje mogućih korelacija između sadržaja Ag, Se, As, Cd i Pb u pečurkama. Posebna pažnja je usmerena na sadržaj elemenata u određenim delovima pečurke, kao i na raspodelu tih elemenata u plodonosnom telu pečurke, što pruža podatke o zadržavanju i transportu istih, od stabljike do jestivog šešira. Nakon određivanja sadržaja elemenata u uzorcima pečurke *Macrolepiota procera*, koja je vrlo zastupljena u ishrani lokalnog stanovništva, izvodi se zaključak o njenoj nutritivnoj vrednosti i doprinosu dnevnom unosu esencijalnih elemenata, u zavisnosti od lokacije sa koje je uzorkovana. S druge strane, izvodi se zaključak o unosu toksičnih elemenata i riziku po zdravlje konzumenata.

U **Opštem delu** kandidat je opisao ulogu pečuraka u životnoj sredini, kao i procese koji se odvijaju pri njihovom kontaktu sa zemljištem. Zemljišni supstrat predstavlja glavni izvor makroelemenata i mikroelemenata koje pečurke mogu apsorbovati. Opisana su dosadašnja istraživanja koja su imala za cilj pronalaženje jestivih vrsta koje akumuliraju velike količine nekih elemenata u tragovima, radi procene uticaja prisustva elemenata u pečurkama na ljudsko zdravlje i mogućnost korišćenja plodonosnog tela pečuraka, kao bioindikatora zagađenja životne sredine metalima. Pritom su navedeni faktori koji utiču na apsorpciju elemenata od strane pečuraka. Opisana je pečurka *Macrolepiota procera* i dat je prikaz literaturnih podataka o sadržaju elemenata u njoj. Istaknuta je nutritivna vrednost pečuraka, kao i rizik od trovanja toksičnim mikroelementima prilikom njihove konzumacije. Osim toga, prikazane su procedure prilikom određivanja elemenata u zemljištu, sa posebnim osvrtom na BCR sekvencijalnu ekstrakciju. Objasnjeni su osnovni principi indukovano spregnute plazme – optičke emisije spektrometrije (ICP–OES) i indukovano spregnute

plazme – masene spektrometrije (ICP–MS). Opisane su hemometrijske metode - analiza glavnih komponenata (principal component analysis - PCA) i klsterska analiza.

U **Eksperimentalnom delu** dat je opis uzorkovanja pečuraka i zemljišta, detaljan opis pripreme uzoraka, kao i eksperimentalni uslovi određivanja primenom ICP–OES i ICP–MS. Pored toga, detaljno je opisana primenjena modifikovana BCR sekvencijalna ekstrakciona procedura. Prikazana je i kontrola kvaliteta, odnosno preduzete mere za obezbeđenje poverenja rezultata ispitivanja.

U poglavlju **Rezultati i diskusija** dat je prikaz dobijenih rezultata. U tabelama su prikazani sadržaji 20 ispitivanih elemenata u šuširima i stabljikama, njihova koncentracija u zemljišnim supstratima, nakon razaranja sa carskom vodom, kao i rezultati BCR sekvencijalne ekstrakcije za sve 4 faze. Na slikama je prikazana raspodela elemenata po fazama BCR ekstrakcije za svaku lokaciju posebno. Dobijeni rezultati su diskutovani i obrazloženi. Izračunati su i prikazani biokoncentracioni faktori (BCF) u odnosu na koncentraciju elemenata u zemljištu nakon ekstrakcije sa carskom vodom, kao i u odnosu na zbir prve tri faze BCR ekstrakcije, koje se smatraju najmobilnijim i biodostupnim pečurkama. Osim toga, izračunati su translokacioni faktori (TF) koji ukazuju na raspodelu usvojenih elemenata u određenim delovima plodonosnog tela pečurke. Za statističku evaluaciju razlika između uzoraka različitog geografskog porekla, kao i razlike u sadržaju elemenata u šuširima i stabljikama, kao i elemenata u pečurkama i zemljištu, korišćeni su neparametarski testovi. Rezultati različitih testova prikazani su u tabelama. Posebno su diskutovani rezultati dobijeni primenom analize glavnih komponenata (principal component analysis – PCA), koja je razdvojila uzorke pečuraka sa različitih lokacija, što je prikazano graficima. Za dobijanje potvrde da su prve tri ekstrakcione faze najvažnije za apsorpciju elemenata od strane pečuraka iz zemljišta poslužila je hijerarhijska klsterska analiza. Diskutovani su dobijeni korelacioni koeficijenti između sadržaja Ag, As, Se, Cd i Pb u šuširima i stabljikama na različitim lokacijama. Pored toga, detaljno su diskutovani zdravstveni aspekti konzumacije *Macrolepiota procera*, kako njena nutritivna vrednost zbog prisustva makroelemenata i esencijalnih mikroelemenata (Cu, Zn, Fe, Mn, Co i Se), tako i zdravstveni rizik usled prisustva toksičnih mikroelemenata (olova, kadmijuma, arsena i srebra).

U **Zaključku** je ukratko, na osnovu analiziranih i prodiskutovanih rezultata, kandidat predstavio najznačajnije rezultate do kojih je došao u toku realizacije doktorske disertacije u vidu zaključaka.

Navedena **Literatura** sadrži listu od 184 literaturnih navoda.

B) Kratak opis postignutih rezultata

U cilju dobijanja adekvatnih podataka potrebnih za ispunjenje postavljenih ciljeva ove doktorske disertacije, primenjena je modifikovana BCR sekvencijalna ekstrakciona procedura za pripremu zemljišta. Sadržaj makroelemenata (Ca, Mg, Na, K) i mikroelemenata - ukupno 20 elemenata u delovima pečuraka, nakon mikrotalasne digestije, i u zemljišnim ekstraktima određeni su ICP-OES i ICP-MS metodom. Rezultati ovog istraživanja pokazali su da divlja jestiva pečurka *Macrolepiota procera* može sadržati visoke koncentracije esencijalnih i toksičnih elemenata, čak i u nezagađenim područjima. Složeni mehanizmi akumulacije elemenata zavise od više faktora, pri čemu su primarni sastav i karakteristike zemljišta. Pretpostavljeno je da broj plodonosnih tela na određenoj površini može imati značajnu ulogu jer je gustina plodonosnih tela ove pečurke značajno uticala na sadržaj Ag u *M. procera*. Na osnovu izračunatih BCF vrednosti zaključeno je da ova vrsta pečurke ima visok potencijal akumulacije Cd, Cu, Ag i K iz zemljišnog supstrata. Ovo pruža mogućnost korišćenja *M. procera* kao bioindikatora zagađenja životne sredine, naročito kadmijumom, srebrom i bakrom, kao i njenu upotrebu u procesu mikoremedijacije, kada su ovi elementi u pitanju. Različite hemometrijske metode, poput analize glavnih komponenata (principal component analysis – PCA) i klusterske analize, primenjene su za dobijanje modela koji je omogućio razdvajanje uzoraka pečuraka različitog geografskog porekla i ukazao na uticaj sastava zemljišta na sadržaj elemenata u pečurkama. Klusterska analiza je primenjena u cilju boljeg povezivanja prirode veza između elemenata u pečurkama i zemljišnim supstratima. U šesirima i stabljikama sa različitih lokacija postoje značajne korelacije između sadržaja Ag, Cd, Se, Pb i As, koje ukazuju na određene mehanizme između pojedinih parova elemenata. Procena nutritivne vrednosti *M. procera* sa ispitivanih područja i rizika po zdravlje konzumenata pokazuje da ova vrsta može služiti kao dobar izvor esencijalnih elemenata, posebno Zn, Mn, Fe, K, Mg i Se, ali njena konzumacija, usled povećanog sadržaja Cd i u manjoj meri olova, može predstavljati rizik po zdravlje konzumenata.

C) Uporedna analiza rezultata kandidata sa rezultatima iz literature

Kandidat Violeta Stefanović je u okviru ove doktorske disertacije odredio sadržaje makroelemenata i mikroelemenata u šesirima i stabljikama pečurke *Macrolepiota procera*, sakupljene na pet lokacija u Rasinskom okrugu. Koliko je nama poznato, nema podataka u literaturi o sadržaju elemenata u ovoj vrsti prikupljenoj u pomenutom regionu, kao ni o sastavu zemljišta, pa su rezultati ove disertacije popunili prazninu u bazi svetskih podataka o

ovom području. Potvrđena je, u literaturi navedena, visoka akumulaciona sposobnost *M. procera* za kadmijumom, bakrom, srebrom i kalijumom. Rezultati su pokazali da *M. procera*, sakupljena na Rasinskom okrugu, nije tako bogata selenom, iako se smatra vrstom koja ima relativno visok sadržaj ovog elementa. Nema podataka u literaturi da su zaključci o mobilnosti i biodostupnosti ispitivanih elemenata, dobijeni primenom BCR sekvencijalne ekstrakcije na zemljišne supstrate, povezani sa njihovim sadržajem u uzorcima pečuraka *M. procera*. Kada je u pitanju srebro, broj plodonosnih tela na određenoj površini, odnosno njihova gustina, može imati značajan uticaj na sadržaj Ag u *M. procera*, što su neki istraživači sugerisali. Dobijeni visoki korelacioni koeficijenti između pojedinih parova iz grupe elemenata (Ag, Cd, Se, Pb i As) ukazuju na do sada neistražene mehanizme i stvaraju dobru polaznu osnovu za dalja istraživanja. Zdravstveni aspekti konzumacije *M. procera* razrađeni su detaljno, u pogledu nutritivne vrednosti i rizika po zdravlje, čime su dopunjeni podaci iz literature, pogotovo kada je u pitanju srebro, jer zdravstvene posledice visokog nivoa srebra u pečurkama nisu do sada detaljno prikazane.

O aktuelnosti proučavane problematike i njenom širem značaju, kao i aktuelnosti u svetu relevantno govore dva naučna rada u vrhunskim međunarodnim časopisima (M21) koji su publikovani na osnovu rezultata prezentovanih u ovoj doktorskoj disertaciji kao i 3 naučna saopštenja na međunarodnim naučnim skupovima i na skupovima nacionalnog značaja.

D) Objavljeni ili saopšteni radovi koji čine deo teze

Radovi objavljeni u vrhunskim časopisima međunarodnog značaja (M21)

1. Violeta Stefanović, Jelena Trifković, Jelena Mutić, Živoslav Tešić, “Metal accumulation capacity of Parasol Mushroom (*Macrolepiota procera*) from Rasina region (Serbia)” *Environmental Science Pollution Research*, 23 (2016) 13178–13190. (IF2015=2,760)
2. Violeta Stefanović, Jelena Trifković, Sladjana Djurdjić, Vesna Vukojević, Živoslav Tešić, Jelena Mutić, “Study of silver, selenium and arsenic concentration in wild edible mushroom *Macrolepiota procera*, benefit and health risk”, *Environmental Science Pollution Research*, 2016, DOI: 10.1007/s11356-016-7450-2. (IF2015=2,760)

Radovi saopšteni na naučnim skupovima štampani u izvodu

1. Jelena Mutić, Zivoslav Tesić, Gordana Popović, **Violeta Stefanović**, Trace metal contents in wild edible mushroom *Macrolepiota procera*, 8th International Conference on Instrumental Methods of Analysis: Modern Trends and Applications (IMA), 15-19 September 2013, Thessaloniki, Greece.
2. Jelena Mutić, Zivoslav Tesić, **Violeta Stefanović**, Gordana Popović, Sandra Škrivanj, Uptake of Cadmium, Copper, Iron, Manganese, and Zinc in some wild edible Mushrooms from Serbian Forest, 8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries (ICOSEC) June 27-29, 2013, Belgrade, Serbia
3. **Violeta Stefanović**, Jelena Mutić, Živoslav Tešić, Sandra Škrivanj, Investigation of trace elements in forest soils by BCR sequential extraction method and its transfer to *Macrolepiota procera*, 6th Symposium Chemistry and Environmental Protection (EnviroChem) 21 - 24. maj 2013, Vršac, Serbia.

E) Zaključak

Komisija je na osnovu detaljnog pregleda doktorske disertacije Violete Stefanović, magistra hemijskih nauka, pod naslovom „**Određivanje sadržaja makroelemenata i mikroelemenata u uzorcima pečurke *Macrolepiota procera* i zemljišnim supstratima iz Rasinskog okruga**” zaključila da je kandidat kvalitetnim definisanjem teme, savremenim eksperimentalnim pristupom, kao i detaljnim teorijskim razmatranjima dobijenih rezultata, realizovao postavljene ciljeve ove disertacije. Eksperimentalni pristup je sistematično obuhvatio sve faze, počev od uzorkovanja pečuraka i zemljišta, pripreme uzoraka, primene savremenih instrumentalnih analitičkih metoda (ICP-OES i ICP-MS), kao i sistematsko tumačenje rezultata. Ispitani su i određeni ukupni sadržaji 20 makroelemenata i mikroelemenata u uzorcima pečurke *Macrolepiota procera* i zemljišnim supstratima, uzorkovanih na pet lokacija u Rasinskom okrugu. Primenom BCR sekvencijalne ekstrakcione procedure kandidat je dao prikaz mobilnosti i biodostupnosti ispitivanih elemenata. Izračunati su biokoncentracioni i translokacioni faktori koji su dali kvantitativnu informaciju o biodostupnosti, načinu usvajanja i akumulaciji mikro- i makroelemenata u *M. procera*. Rezultati ove doktorske disertacije predstavljaju značajan naučni doprinos istraživanjima u oblasti hemije životne sredine, u pogledu mobilnosti toksičnih mikroelemenata iz zemljišta u

M. procera. Sposobnost ove vrste pečurke za akumulacijom, posebno Cd, Cu i Ag, čini je dobrim potencijalnim bioindikatorom zagađenja životne sredine ovim metalima. Osim toga, pruža mogućnost njene upotrebe u procesu mikoremedijacije. Proučeni zdravstveni aspekti usled konzumacije *M. procera* sa ispitivanog područja pokazuju da ona može služiti kao dobar izvor esencijalnih mikroelemenata, ali postoji rizik po zdravlje konzumenata, usled povećane koncentracije kadmijuma, i u manjoj meri olova.

Rezultati proistekli iz ove disertacije su publikovani u dva rada u vrhunskom međunarodnom časopisu, kategorije M21.

Na osnovu svega izloženog Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, da podnetu doktorsku disertaciju mr Violete Stefanović, diplomiranog hemičara pod naslovom **Određivanje sadržaja makroelemenata i mikroelemenata u uzorcima pečurke *Macrolepiota procera* i zemljišnim supstratima iz Rasinskog okruga** prihvati i odobri njenu odbranu za sticanje zvanja doktora hemijskih nauka.

Beograd,
06.10. 2016.

Komisija:

Dr Živoslav Tešić, redovni profesor, mentor
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Dr Jelena Mutić, docent, mentor
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Dr Dragan Čakmak, viši naučni saradnik, član komisije
Institut za zemljište, Beograd