

ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

-обавезна садржина- свака рубрика мора бити попуњена

(сви подаци уписују се у одговарајућу рубрику, а назив и место рубрике не могу се мењати или изоставити)

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију 17.01.2014., Наставно-научно веће Технолошког факултета, Универзитет 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 Биљана Шкрбић, редовни професор, Хемијско инжињерство, 18.03.1996., изабрана на Технолошком факултету, Универзитета у Новом Саду. Запослена на Технолошком факултету у Новом Саду.</p> <p>Др Ивана Иванчев-Тумбас, редовни професор, Заштита животне средине, 01.12.2008., изабрана на Природно-математичком факултету, Универзитета у Новом Саду. Запослена на Природно-математичком факултету у Новом Саду.</p> <p>Др Јелена Цвејанов, ванредни професор, Хемијско инжињерство, 01.08.2012., изабрана на Технолошком факултету, Универзитета у Новом Саду. Запослена на Технолошком факултету у Новом Саду.</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме: Јелена, Радован, (рођ. Шаровић), Живанчев</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава: 04.04.1981. Сарајево, Босна и Херцеговина</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија – мастер и стечени стручни назив Технолошки Факултет, Универзитет у Новом Саду, Конзервисана храна, Дипломирани инжењер технологије</p> <p>4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија 2007., Хемијско-технолошке науке</p> <p>5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:</p> <p>6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:</p>
III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ: <i>Напредне спрегнуте технике у анализи ксенобиотика</i>
IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ: Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикона и сл.
Докторска дисертација Јелене Живанчев, дипл.инж. написана је прегледно и изложена је у седам поглавља:
1. УВОД (стр.1-2); Циљ рада (стр. 2-4)

2. ТЕОРИЈСКИ ДЕО (стр. 5-44)
3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛНИ ДЕО (стр. 45-66)
4. РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА (стр. 67-119)
5. ЗАКЉУЧАК (стр. 120-122)
6. ЛИТЕРАТУРА (стр. 123-135)
7. ПРИЛОГ (стр. 136-181)

Дисертација садржи 181 страна А4 формата, 22 слика, 28 табела, и 6 једначина. Цитирана су 263 рада. Кључна документација са изводом на српском и енглеско језику дати су на почетку дисертације.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

У **УВОДУ** је дат преглед и истакнут значај и примена напредних спрегнутих техника за анализу органских и неорганских загађујућих супстанци у узорцима животне средине и намирницама. Такође, истакнута је потреба развоја, унутрашње („*in-house*“) контроле квалитета и поузданости аналитичких метода заснованих на примени напредних спрегнутих техника нарочито у домену испитивања „ново“ откривених загађујућих једињења за које до сада у Србији нису постојали подаци као и процени изложености. У оквиру овог поглавља представљен је и **ЦИЉ РАДА**, који је у потпуности у складу са циљем дефинисаним у пријави докторске тезе.

У поглављу **ТЕОРИЈСКИ ДЕО**, дат је јасан и сажет преглед испитиваних органских и неорганских загађујућих супстанци, њихових особина и понашања у узорцима животне средине и намирницама. Разматране загађујуће супстанце органског порекла су: „ново“ откривена загађујућа једињења - фармацеутски активне компоненте и природни токсини (микотоксини); док су од неорганских загађујућих једињења разматрани тешки елементи. У овом поглављу дат је кратак увод у развој напредних спрегнутих техника, њихов почетак и значај који имају због поузданости и прецизности добијања података за испитиване анализе присутне у траговима или тзв. ултратраговима у веома сложеним матриксама. Објашњене су предности коришћења брзих и ефикасних метода припреме различитих узорака, које омогућавају издвајање загађујућих једињења различитих физичко-хемијских особина у једном кораку. Представљене су најсавременије коришћене хроматографске и спектрометријске технике анализе на једноставан и лако разумљив начин, које су истовремено и аналитичке технике коришћене у експерименталном делу дисертације: ултра-притисна течна хроматографија у комбинацији са масеном спектрометријом (троструким квадруполним и хибридном троструким „ion trap“ анализатором) и атомска апсорпциона спектрометрија са графитном киветом. Дат је исцрпан преглед објављених радова у којима су предмет испитивања загађујуће супстанце од интереса и примена различитих напредних аналитичких техника, табеларно је представљен број испитиваних анализа, врста узорака, метода припреме и анализе. На основу „цитираних“ радова може се закључити да су у протеклој деценији, нове аналитичке методе базиране на развоју и примени „мулти-резидуалних/мулти-токсин“ метода у циљу истовременог одређивања или испитивања великог броја компонента како квалитативно, тако и квантитативно, применом брзих, осетљивих метода идентификације/квантификације заснованих на напредним спрегнутим техникама. Преглед истовремено указује на широко распрострањену примену напредних спрегнутих техника које су на европском нивоу постале референтне за одређивање загађујућих једињења у различитим матриксама животне средине (земљишту, води, седименту), као и у биолошким узорцима и намирницама.

У **ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОМ ДЕЛУ** описано је узимање узорака, методе припреме и анализе коришћене за добијање резултата о присуству изабраних загађујућих супстанци у разматраним матриксама. Загађујуће супстанце које су идентификоване и квантификоване у траговима у узорцима животне средине, биљног и животињског порекла су:

- 81 фармацеутски активна компонента (PhAC),
- 8 до 11 микотоксина у зависности од врсте анализираних узорака,
- тешки елементи – арсен (As), кадмијум (Cd) и олово (Pb).

У овом делу дисертације, детаљно је описан начин провере квалитета и поузданости примењених „мулти-резидуалних/мулти-токсин“ метода за одређивање органских загађујућих супстанци као и атомске апсорпционе спектрометрије за одређивање неорганских загађујућих једињења.

У поглављу **РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА** дат је детаљан опис резултата добијених применом „мулти-резидуалних/мулти-токсин“ метода заснованих на напредним спрегнутим техникама, уз табеларни и графички приказ добијених резултата. Поглавља у овом делу су у складу са поглављима ЕКСПЕРИМЕНТАЛНОГ ДЕЛА дисертације.

Мулти-резидуална метода за одређивање 81 фармацеутски активне компоненте (PhAC) које припадају различитим терапеутским класама примењена је за анализу различитих типова воде (подземне, површинске, отпадне и воде за пиће). За припрему 25

компаративних узорак коришћена је екстракција на чврстој фази, а присуство PhAC компоненти од интереса у добијеним екстрактима анализирано је ултра-притисним течним хроматографом са хибридним троструким (трипл) квадруполним линеарним „ion trap“ масеним анализатором (UHPLC–QqLIT–MS/MS). „Мулти-резидуална“ метода је проверена кроз унутрашњу („in-house“) процедуру контроле квалитета и поузданости. Калибрационе криве за анализиране компоненте биле су линеарне у примењеном радном опсегу са коефицијентима детерминације (R^2) већим од 0,9900. Границе детекције (LOD), квантификације (LOQ), ефикасност тј. „recovery“ и прецизност (изражена као % релативне стандардне девијације, %RSD) примењене методе одређени су на три различита типа воде: површинској, отпадној и води за пиће. Вредности LOD биле су најниже у води за пиће (0,01-4,7 ng/l), затим у површинској води (0,03-12 ng/l), док су највеће вредности добијене за отпадну воду (0,2-26 ng/l) за све компоненте од интереса. Добијене „recovery“ вредности биле су веома различите за анализиране компоненте у три изабрана типа воде, односно за већину компонената биле су изнад 50%. Међутим, добијене „recovery“ вредности испод 50% за салбутамол и лозартан у сва три типа воде, ронидазол, надолол, циметидин, аторвастатин и диметридазол у води за пиће, ранитидин, хидрохлоротијазид и тразодон у површинској и води за пиће, указују на различит утицај испитиваних матрикса на анализиране компоненте. „Мулти-резидуална“ метода примењена је за различите узорке воде; највеће концентрације одређене су за ибупрофен (20,1 µg/l), 10,11-епоксикарбамазепин (16,2 µg/l), 2-хидроксикарбамазепин (15,9 µg/l) и ацетаминофен (15,7 µg/l) у отпадној води са подручја Новог Сада. Треба истаћи да су добијени резултати у оквиру дисертације први подаци објављени до сада о присуству 81 фармацеутски активне компоненте у различитим типовима воде у Србији. Додатно, добијени резултати упоређени су са релевантним резултатима доступним у литератури.

„Мулти-токсин“ метода примењена је за одређивање осам *Fusarium* микотоксина тј. трихотецена типа А (HT-2 и Т-2 токсин) и типа Б (деоксиниваленол (DON), деоксиниваленол-3-глукозид (DON-3-Glc), 3- и 15-ацетилдеоксиниваленол (ADON), фузаренон-Х (FUS-X), ниваленол (NIV)) и зеараленона (ZON) у узорцима озиме пшенице. Узорци су припремљени једностапеном екстракцијом и добијени сирови екстракт анализиран је високо-притисним течним хроматографом са троструким (трипл) квадруполним масеним анализатором (HPLC–QqQ–MS/MS). „Мулти-токсин“ метода проверена је кроз унутрашњу („in-house“) процедуру контроле квалитета и поузданости. Калибрационе криве за све анализиране токсине биле су линеарне са R^2 од 0,9991-0,9999. LOD вредности примењене методе за токсине од интереса су у распону од 0,3-5 µg/kg. Добијене LOD вредности за DON (0,3 µg/kg) и ZON (1 µg/kg) су знатно ниже од максимално дозвољених вредности дефинисаних Регулатором Европске уније. Добијене „recovery“ вредности за све испитиване микотоксине су у распону од 69-87%, осим за NIV (43%) указујући да метода може успешно да се примени за мулти-токсин анализу *Fusarium* микотоксина. Резултати добијени примењеном методом указали су на доминантно присуство DON у пшеници северних региона Србије (Војводине), чије средње вредности су представљене по опадајућем редоследу: Јужна Бачка > Северна Бачка > Београд = Северни Банат > Средњи Банат; док у региону Зајечара и Топлице садржај DON је био испод границе детекције примењене методе. Идентификоване разлике у садржају DON северних и јужних региона у истој жетвеној години последица су различитих климатских услова, а самим тим и периода жетве. Добијени резултати упоређени су са релевантним резултатима из литературе за земље из окружења које имају сличне временске прилике и агротехничке мере, при чему је закључено и да узорци пшенице различитих сорти имају различиту отпорност на контаминацију *Fusarium* токсинима. Треба истаћи да су добијени резултати, применом напредне спрегнуте технике HPLC–QqQ–MS/MS, први репрезентативни подаци који се односе на истовремено присуство *Fusarium* токсина у озимој пшеници Србије.

Резултати одређивања присуства 11 (афлатоксини: B1 (AFB1), B2 (AFB2), G1 (AFG1), G2 (AFG2), охратоксин А (OTA), DON, HT-2 и Т-2 токсин, ZON, фумонизин: B1 (FB1) и B2 (FB2)) микотоксина у пшеничном брашну добијени су применом „мулти-токсин“ методе базиране на ултра-притисној течной хроматографији са троструким (трипл) квадруполним масеним анализатором (UHPLC–QqQ–MS/MS). Испитивани микотоксини екстраховани су из узорак смесом ацетонитрила/воде (84/16, v/v) и добијени сирови екстракт коришћен је за анализу. „Мулти-токсин“ метода проверена је кроз унутрашњу („in-house“) процедуру контроле квалитета и поузданости, као и

интерлабораторијско поређење. Добијени параметри провере били су прихватљиви за већину микотоксина од интереса и указали су да су за примењену методу:

- R^2 у опсегу од 0,9913-0,9990 потврђујући добру линеарност за све калибрационе криве;
- LOD вредности мање од максимално дозвољених вредности дефинисаних Регулацивом Европске уније за испитиване микотоксине, што указује на поузданост развијене и примењене методе за истовремено одређивање токсина присутних у траговима;
- „recovery“ вредности добијене су у распону од 72-130% за већину испитиваних токсина, осим за фумонизин В1 и В2 чије „recovery“ вредности су биле <60% указујући на слабију изолацију ових токсина примењеном екстракционом методом и потребу за њеном модификацијом.

Сличне „recovery“ вредности добијене су кроз унутрашњу („in-house“) процедуру контроле квалитета и интерлабораторијско поређење свих испитиваних токсина, осим НТ-2 и Т-2 токсина, што је последица различитог утицаја матрикса (пшенично и кукурузно брашно) током процеса јонизације. „Мулти-токсин“ метода примењена је за узорке пшеничног брашна и DON је био најдоминантнији микотоксин за све анализиране узорке, потом ZON и Т-2 токсин, са учесталошћу присуства: 88,7%, 33,3% и 26,7%, редом. Додатно, добијени резултати за одређене токсине представили су основу за процену њиховог штетног утицаја на здравље популације.

Поуздана, брза и једноставна метода заснована на ултра-притисној течној хроматографији са троструким (трипл) квадруполним масеним анализатором (UHPLC–QqQ–MS/MS) развијена је за истовремено одређивање AFB1, AFB2, AFG1, AFG2, OTA, ZON, НТ-2 и Т-2 токсина, и FB1 и FB2 у сировим екстрактима различитих типова коштуничавог воћа. Микотоксини од интереса екстраховани су из узорака у једном кораку са смесом ацетонитрила/воде/сирћетне киселине (79/20/1, v/v/v), а корак одмашћивања добијених сирових екстраката са хексаном уведен је у циљу уклањања липида који потичу из узорака. Добијени резултати провере квалитета и поузданости указали су да анализа различитих типова сирових екстраката коштуничавог воћа је могућа и довољно осетљива за већину испитиваних микотоксина. Ефикасност методе тј. „recovery“ вредности за испитиване узорке биле су у распону од 71-140% са релативном стандардном девијацијом мањом од 12%. Прихватљиве „recovery“ вредности добијене су за већину микотоксина у односу на орах матрикс стандард калибрацију што указује на мулти-матрикс особине примењене методе. Метода је успешно примењена на 17 узорака са српског тржишта, а учесталост присуства детектованих токсина била је 12%.

Садржај три веома токсична тешка елемента арсена (As), кадмијума (Cd) и олова (Pb) одређен је у 114 различитих узорака узетих са српског тржишта. Након киселинске дигестије узорака у микроталасном систему, извршена је анализа добијених раствора атомским апсорпционим спектрометром са графитном киветом. Развијена метода проверена је кроз: унутрашњу („in-house“) процедуру контроле квалитета и поузданости, интерлабораторијско поређење и анализу сертификованог референтног материјала. Добијени R^2 су већи од 0,9950 указујући на добру линеарност калибрационих кривих одређиваних елемената. LOD вредности примењене методе за As, Cd и Pb су 0,03 mg/kg, 0,0003 mg/kg и 0,003 mg/kg, редом. „Recovery“ вредности за анализиране елементе добијене кроз: а) унутрашњу („in-house“) контролу квалитета су у распону од 60-132% са RSD до 20%, б) анализу сертификованог референтног материјала од 92-113% са RSD до 12% и ц) интерлабораторијско поређење за Pb – 80% са RSD до 4%. Резултати провере указали су на поузданост примењене методе за одређивање трагова As, Cd и Pb у узорцима са српског тржишта. Добијени резултати упоређени су са релевантним резултатима доступним у литератури за друге Европске земље. Додатно, резултати садржаја испитиваних елемената чинили су основу за процену изложености популације овим неорганским загађујућим супстанцама.

ЗАКЉУЧЦИ су правилно, јасно и сажето изведени на основу добијених резултата истраживања и њихове дискусије, те се могу сматрати поузданим, дајући допринос дисертације изучавању присуства органских и неорганских загађујућих једињења у узорцима животне средине и намирницама применом „мулти-резидуалних/мулти-токсин“ метода базираних на напредним спрегнутим техникама.

Поглавље **ЛИТЕРАТУРА** садржи списак од 263 референце, релеватних и актуелних за

област истраживања у оквиру дисертације.

У ПРИЛОГУ су дати радови са SCI листе, који представљају основу ове дисертације.

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

M21 – Рад у врхунском међународном часопису

1. Petrović, M., Škrbić, B., Živančev, J., Ferrando-Climent, L., Barcelo, D. Determination of 81 pharmaceutical drugs by high performance liquid chromatography coupled to mass spectrometry with hybrid triple quadrupole-linear ion trap in different types of water in Serbia. *Science of the Total Environment* 468–469 (2014) 415–428. (ИФ=3,258)
2. Škrbić, B., Živančev, J., Godula, M. Multimycotoxin analysis of crude extracts of nuts with ultra-high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of food composition and analysis* (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2014.03.002> (ИФ=2,088)
3. Škrbić, B., Živančev, J., Mrmoš, N. Concentrations of arsenic, cadmium and lead in selected foodstuffs from Serbian market basket: Estimated intake by the population from the Serbia. *Food and Chemical Toxicology* 58 (2013) 440–448. (ИФ=3,010)
4. Škrbić, B., Živančev, J., Đurišić-Mladenović N., Godula, M. Principal mycotoxins in wheat flour from the Serbian market: Levels and assessment of the exposure by wheat-based products. *Food Control* 25 (2012) 389-396. (ИФ=2,738)
5. Škrbić, B., Malachova, A., Živančev, J., Veprikova, Z., Hajšlová, J. Fusarium mycotoxins in wheat samples harvested in Serbia: A preliminary survey. *Food Control* 22 (2011) 1261-1267. (ИФ=2,738)

M51 – Рад у водећем часопису националног значаја

1. B. Škrbić, M. Godula, N. Đurišić-Mladenović, J. Živančev, Multi-mycotoxin analysis by UHPLC-HESI-MS/MS: A preliminary survey of Serbian wheat flour, *Agronomy Research*, 9, 461-468, 2011.

M53 – Рад у научном часопису

1. B. Škrbić, J. Živančev, Gasno-hromatografska analiza prirodnog gasa: prednosti i nedostaci kalibracije sa jednom standardnom smesom, *Gas*, 16(1), 11-15, 2011.

M32 – Уводно предавање по позиву на скупу међународног значаја, штампано у изводу

1. Škrbić, B., Hajšlová, J., Živančev, J., Koprivica, S. Determination of mycotoxins in wheat samples and related commodities, International seminar of EU FP7 project FLAVOURE, New methods in assessment of food/feed quality and safety, Saku (Harjumaa), Estonia, 17-18.01.2012.
2. Škrbić, B., Đurišić-Mladenović, N., Zorić, M., Živančev, J., Milovac, S., Evaluation of heavy elements distribution in surface soils of Novi Sad, Book of abstracts of the Pre10 Conference, Protection and Restoration of the Environment X, p.144, Corfu, Greece, July 05-09, 2010.

M33 – Радови саопштени на скупу међународног значаја, штампано у целини

1. E. Sajben-Nagy, L. Manczinger, B. Škrbić, J. Živančev, I. Antić, J. Krisch, Cs. Vágvölgyi, Isolation of laccase producing fungal strains, Proceedings of 15th Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregion Conference on Environment and Health with satellite event LACREMED Conference “Sustainable agricultural production: restoration of agricultural soil quality by remediation“, p. 21-26,

Novi Sad, Serbia, 16-17 May 2013.

2. M. Petrović, B. Škrbić, **J. Živančev**, D. Barcelo, Occurrence and distribution of pharmaceutical in environmental waters, in northern part of Serbia, Proceedings of 15th Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregion Conference on Environment and Health with satellite event LACREMED Conference “Sustainable agricultural production: restoration of agricultural soil quality by remediation“, p. 205-209, Novi Sad, Serbia, 16-17 May 2013.
3. B. Škrbić, **J. Živančev**, M. Godula, Multi-mycotoxins method based on UHPLC-HESI-MS/MS for the quantitative determination of mycotoxins in different types of nuts, Proceedings of Abstracts of 15th Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Euroregion Conference on Environment and Health with satellite event LACREMED Conference “Sustainable agricultural production: restoration of agricultural soil quality by remediation“, p. 256-260, Novi Sad, Serbia, 16-17 May 2013.
4. B. Škrbić, N. Đurišić-Mladenović, **J. Živančev**, Occurrence of pharmaceuticals in environmental, drinking and waste waters in northern part of Serbia, Proceedings of International Science Conference Reporting for Sustainability, p.167-171, Bečići, Montenegro, 7-10 May 2013.
5. B. Škrbić, **J. Živančev**, N. Mrmoš, Chemical safety of major food items in the Serbian market basket: heavy elements and mycotoxins, Proceedings of International Scientific-Practical Conference Food, Technologies and Health, p. 101-107, Plovdiv, Bulgaria, 8th November 2012.
6. B. Škrbić, **J. Živančev**, N. Đurišić-Mladenović, M. Godula, J. Cvejanov, Mycotoxins in wheat flour and related products: levels and intakes in Serbia, Proceeding of Joint Events - 2nd CEFSEER (Center of Excellence for Food Safety and Emerging Risks) Workshop “*Persistent organic pollutants in food and environment*”, 26th Symposium on Recent Developments in Dairy Technology, BIOXEN seminar “*Novel approaches for environmental protection*”, p.250-256, Novi Sad, Serbia, 8-10 September, 2011.

M34 – Радови саопштени на скупу међународног значаја, штампани у изводу

1. B. Škrbić, J. Cvejanov, Z. Predojević, M. Mrmoš, **J. Živančev**, Estimation of dietary intakes of Pb, Cd and As through consumption of major food items of Serbian market, International Symposium for Agriculture and Food, XXXVII Faculty-Economy Meeting; IV Macedonian Symposium for Viticulture and Wine Production; VII Symposium for Vegetable and Flower Production, p. 189, Skopje, Macedonia, 12-14 December, 2012.
2. B. Škrbić, **J. Živančev**, Estimation of dietary intake of arsenic, cadmium and lead through infant and baby foods marketed in the Vojvodina Province, Serbia, Book of abstracts of 22nd Congress of Chemists and Technologists of Macedonia, p.98, Ohrid, Republic of Macedonia, 05-09 September, 2012.
3. B. Škrbić, **J. Živančev**, J. Cvejanov, Health assessment of arsenic, cadmium and lead in different foodstuffs consumed in Vojvodina, Book of abstracts of 14th Danube-Kris-Mures-Tisa (DKMT) Conference on Environment and Health, Szeged, Hungary, 18-19 May, 2012.
4. J. Hajšlova, B. Škrbić, **J. Živančev**, M. Godula, N. Đurišić-Mladenović, Development and simple preparation method for determination ochratoxin A in cereals and green coffee by ultra-high performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry, Book of abstracts of 1st FCUB ERA Workshop, Food Safety and Health Effects of Food, p.35, Belgrade, Serbia, January 31-February 1, 2011.

M63 – Радови саопштени на скупу националног значаја, штампани у целини

1. **J. Živančev**, B. Škrbić, J. Cvejanov, Z. Predojević, The content of As, Cd and Pb in main food items of the Serbian market basket, Zbornik radova Prve konferencije mladih hemičara Srbije, st.40-44, Beograd, 19-20. oktobar, 2012.

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

На основу постављених циљева у дисертацији, спроведених истраживања и постигнутих резултата, закључци до којих се дошло су:

- Брза и једноставна мулти-резидуална метода базирана на примени напредне спрегнуте технике тј. ултра-притисне течне хроматографије са хибридним троструким (трипл) квадруполним „ion trap“ масеним анализатором (UHPLC–QqLIT–MS/MS) успешно је проверена кроз унутрашњу („in-house“) процедуру контроле квалитет и поузданости и примењена за одређивање 81 фармацеутски активне компоненте (PhAC) у различитим типовима воде. Постигнуте су високе вредности коефицијента детерминације изнад 0,99 за све испитиване компоненте. Границе детекције су у распону од 0,01-26 ng/l. Ефикасност методе тј. „recovery“ вредности биле су веће од 50% за већину PhAC од интереса. Само, за неке компоненте добијене су ниже „recovery“ вредности, и то у појединим матриксама као што је вода за пиће. Ово се може објаснити чињеницом да примењени експериментални услови нису одговарајући за све компоненте од интереса што представља и један од недостатака „мулти-резидуалних“ метода, јер се не могу постићи оптимални услови за све циљане анализите, те се стога, мале „recovery“ вредности за поједине компоненте прихватају као компромис између примењених аналитичких услова и броја анализита. Дакле, мале „recovery“ вредности за поједине PhAC компоненте не могу се сматрати недостатком за њихово одређивање у испитиваним узорцима, нарочито због тога што су границе детекције и квантификације примењене методе прилично ниске. Четрдесет седам од укупно 81 испитиване компоненте одређено је у испитиваним узорцима површинске, подземне, пијаће и отпадне воде. Испитиване фармацеутски активне компоненте одређене су у испитаним узорцима воде у концентрационом распону од неколико ng/l до више од 1 µg/l. Веће концентрације ибупрофена, диклофенака, кодеина, валсартана, ацетаминофена, 2-хидроксикарбамазепина и 10,11-епоксикарбамазепина одређене су у градској отпадној води. Добијени резултати упоређени су са релевантним подацима у доступној литератури, на основу чега се може закључити да су одређене концентрације за већину испитиваних компонента у различитим типовима воде у распону концентрационих вредности карактеристичних за анализиране типове воде, осим у случају метаболита карбамазепина тј. 2-хидроксикарбамазепина и 10,11-епоксикарбамазепина чије високе концентрације су одређене у отпадној води са подручја Новог Сада. Добијени резултати представљају прве податке до сада објављене о садржају 81 фармацеутски активне компоненте у различитим типовима вода са подручја Србије.
- Мулти-токсин метода базирана на напредној спрегнутој техници тј. ултра-притисној течној хроматографији са троструким (трипл) квадруполним масеним анализатором (UHPLC–QqQ–MS/MS) развијена је за одређивање природних микотоксина у сировим екстрактима различитих узорака. Развијена метода проверена је кроз унутрашњу („in-house“) процедуру контроле квалитета и поузданости њене примењивости, као и кроз интерлабораторијско поређење. Параметри провере били су прихватљиви ($R^2 > 0,99$; LOD је у опсегу од 0,01-5 µg/kg; „recovery“ је у опсегу од 69-130% за већину микотоксина од интереса у узорцима пшенице и брашна) и у складу са захтевима релевантне Европске Регулative за већину микотоксина од интереса. У случају фумонизина метода екстракције је била модификована закишљавањем екстракционе смесе при чему је добијена задовољавајућа ефикасност методе (77-140%); у супротном фумонизини се не могу издвојити. С обзиром да при анализи сировог екстракта ради идентификације и квантификације испитиваних микотоксина, а услед утицаја компоненти из матрикса може доћи до „лажно-позитивних“ или „лажно-негативних“ резултата, коришћена је калибрација применом тзв. матрикс стандарда. Модификација методе екстракције је уведена за узорке са већим уделом масноћа тј. уведен је корак одмашћивања

одговарајућих сирових екстраката са хексаном. Ефикасност модификоване методе је од 71-140%. На тај начин, применом одговарајућих модификација у зависности од врсте узорка и циљаних микотоксина показано је да развијена мулти-токсин метода је примењива на различите матриксе доказујући истовремено и њену мулти-матрикс примену. Развијена метода примењена је на различите узорке са српског тржишта, омогућавајући по први пут у Србији поуздано, поновљиво и селективно одређивање токсина од интереса присутних у траговима у анализираним узорцима. Присуство микотоксина од интереса у већини испитаних узорка је било испод одређених граница детекције, док су позитивни узорци били испод максимално дозвољених вредности дефинисаних постојећим европским или српским регулативама.

- Метода коришћена за одређивање садржаја тешких елемената применом атомског апсорпционог спектрометра са графитном киветом проверена је кроз унутрашњу („in-house“) контролу квалитета и поузданости, интерлабораторијско поређење и анализу сертификованог референтног материјала и добијени параметри провере потврдили су њену примењивост. Опсег концентрација у испитиваним узорцима је: < LOD-0,43 mg/kg за арсен, < LOD-0,118 mg/kg за кадмијум и < LOD-0,150 mg/kg за олово. Резултати анализе садржаја арсена, олова и кадмијума у различитим узорцима са српског тржишта, послужили су за процену изложености српске популације токсичним тешким елементима. Добијени резултати указали су на могућ повећан процењени унос олова (72,30 µg/дану) у организам човека, што је последица доскорашње употребе оловног бензина у Србији, чија употреба је забрањена 2010. год. процењени унос арсена (21,89 µg/дану) и кадмијума (11,51 µg/дану) добијен у овој дисертацији нижи је или сличан у поређењу са уносом ових елемената у доступним европским студијама. Добијени резултати представљају прве до сада објављене податке који се односе на процену изложености српске популације уносом арсена, олова и кадмијума кроз конзумиране намирнице заступљене у просечној потрошачкој корпи Србије.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Докторска дисертација кандидата Јелене Живанчев, дипл. инж., под насловом "Напредне спрегнуте технике у анализи ксенобиотика" је успешно и у целости реализована, и базира се на лабораторијским истраживањима и првим резултатима ове врсте добијеним у Србији, а и шире у региону западног Балкана, како оних реализованих у 7ОП ЕУ Центру изврности за безбедност хране и процену ризика, Технолошки факултет, Универзитет у Новом Саду и у „Catalan Institute for Water Research (ICRA)“ Ђирона, Шпанија, тако и оних објављених у литератури. Добијени резултати приказани у дисертацији су јасно и прегледно објашњени и представљени у табелама и дијаграмима поглавља **Резултати и дискусија**. Јасно су назначена достигнућа и закључци дисертације, а значај резултата остварених у раду потврђен је објављивањем радова, првенствено у престижним међународним часописима са SCI листе (5).

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

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

Докторска дисертација под насловом "Напредне спрегнуте технике у анализи ксенобиотика" кандидата Јелене Живанчев, дипл. инж., у потпуности је написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Докторска дисертација садржи све елементе битне за овакав облик научно истраживачког рада.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Присуство органских загађујућих супстанци (фармацеутски активних компонената и природних токсина - микотоксина) у узорцима животне средине и намирницама је у порасту као последица нових индустријских процеса и осталих антропогених активности, као и климатских промена. Такође велику пажњу јавности привлаче и неорганске загађујуће супстанце као што су тешки елементи. С обзиром да загађујуће супстанце имају негативан утицај на животну средину и здравље људи, у свету се предузимају мере у циљу смањења степена изложености токсичним једињењима и последицама излагања. Тренутно, један од највећих изазова, јесте процена ризика повезана са присуством великог броја загађујућих супстанци у траговима или чак и у тзв. ултратраговима, укључујући и „ново“ откривена загађујућа једињења а један од основних трендова је развој и примена брзих и ефикасних метода за њихову анализу у испитиваним узорцима на бази напредних хроматографских и спектрометријских техника.

Управо у оквиру докторске дисертације Јелене Живанчев, дипл. инж., представљени су резултати неколико истраживања признатих на међународном нивоу у виду радова објављених у часописима са SCI листе, чији је коаутор Ј. Живанчев, у којима је и учињен је први покушај да се применом брзих и ефикасних метода припреме и анализе дође до сазнања и информација о истовременом присуству већег броја загађујућих супстанци у различитим матриксама у што краћем времену (чинећи ове методе и економски оправданим). Како, органске загађујуће супстанце имају различите физичко-хемијске особине, развијене су једноставне методе припреме истовремене екстракције свих супстанци од интереса; тј. једноставна екстракција узорака у циљу изоловања микотоксина и добијање „сировог екстракта“ и екстракција на чврстој фази карактеристична за фармацеутски активне компоненте. Ове методе припреме представљају апсолутни тренд у релевантним истраживањима доступним у литератури, а примена најсавременијих хроматографских метода у комбинацији са масеном спектрометријом омогућила је поуздану идентификацију и квантификацију анализата од интереса и потврду идентитета испитиваних узорака. Изабрани узорци за анализу неорганских загађујућих једињења (тешких елемената) припремљени су микроталасном дигестијом, а за квантификацију

њиховог садржаја примењена је атомска апсорпциона спектрометрија са графитном киветом.

Дакле, докторска дисертација представља оригинални допринос науци, јер су развијене и примењене методе за одређивање загађујућих супстанци у узорцима животне средине и намирницама проверене кроз унутрашњу („*in-house*“) процедуру контроле квалитета и поузданости и у складу са европским директивама омогућавајући добијање прецизних и поузданих резултата како за анализе чији садржај је регулисан постојећим регулативама, тако и за анализе који нису обухваћени европским или домаћим законодавством, а информације о њиховом присуству/одсуству су значајне. Резултати садржаја испитиваних микотоксина и тешких елемената послужили су као подлога за процену изложености становништва ризику у Србији и упоређени су са постојећим токсиколошким подацима. Додатно, резултати одређени у дисертацији представљају податке први пут добијене и објављене за присуство 81 фармацеутски активне компоненте у различитим типовима воде са подручја Војводине као и истовременом присуству микотоксина у различитим врстама намирница који су последица различитих временских услова у Србији. Показан је значај примене напредних спрегнутих техника за анализу трагова и ултратрагова загађујућих супстанци у одабраним испитиваним матриксама животне средине и намирницама и процењен је ризик испитиваних загађујућих супстанци на здравље популације у Србији. Постигнути резултати научно су верификовани кроз објављивање 5 радова у водећим међународним часописима са SCI листе.

4. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Докторска дисертација нема недостатака.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

- да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана

На основу свега изложеног, ценећи рад уложен у експериментална истраживања, обимни преглед релевантне литературе и примену напредних спрегнутих техника, Комисија даје позитивну оцену докторске дисертације Јелене Живанчев под насловом "Напредне спрегнуте технике у анализи ксенобиотика". Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Технолошког факултета да се докторска дисертација Јелене Живанчев прихвати, а кандидату одобри одбрана.

КОМИСИЈА

др Биљана Шкрбић, редовни професор,
Технолошки факултет, Нови Сад, ментор

др Ивана Иванчев Тумбас, редовни професор,
Природно-математички факултет, Нови Сад, председник

др Јелена Цвејанов, ванредни професор,
Технолошки факултет, Нови Сад, члан