

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ  
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ



РЕПУБЛИКА СРПСКА  
УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ  
ПРИРОДНО-МАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ  
Број: 19-3065/16  
Датум: 01.11.2016. год.  
БАЊА ЛУКА

**ИЗВЈЕШТАЈ**  
*о оијени подобности теме и кандидата за израду докторске тезе*

**ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ**

Odlukom Nastavno-naučnog vijeća Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci sa 179. sjednice održane 07. 09. 2016. godine, broj 19/3.2465/16, a na osnovu člana 149. Zakona o visokom obrazovanju imenovana je Komisija za ocjenu podobnosti teme za izradu doktorske teze pod naslovom

**„Određivanje specija arsena u morskim plodovima metodom ETAAS uz upotrebu različitih matriks modifikatora“**

i uslova kandidata mr Dinaide Tahirović za njenu izradu, u sljedećem sastavu:

1. Dr Dragan Manojlović, redovni profesor, uža naučna oblast *Analitička hemija*, Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu, **predsjednik**
2. Dr Tidža Muhić-Šarac, redovni profesor, uža naučna oblast *Analitička hemija*, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Sarajevu, **član**
3. Dr Milica Balaban, docent, uža naučna oblast *Organska hemija*, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, **član**
4. Dr Saša Zeljković, vanredni profesor, uža naučna oblast *Neorganska i nuklearna hemija*, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, **član**

Состав Комисије са назнаком имена и презимена сваког члана, звање, назив уже научне области за коју је изабран у звање, назив универзитета и факултета у којем је члан комисије стално запослен.

**1. БИОГРАФСКИ ПОДАЦИ, НАУЧНА И СТРУЧНА ДЈЕЛАТНОСТ КАНДИДАТА**

Kandidat, mr Dinaida Tahirović, rođena je u Tešnju 06.05.1978. godine, gdje je završila osnovnu školu i gimnaziju. Na Prirodno-matematičkom fakultetu u Sarajevu diplomirala 2006. godine - Odsjek za hemiju - Opšti smjer. Diplomski rad odbranila na Katedri za analitičku hemiju pod mentorstvom prof. dr. Tidže Muhić-Šarac. Takođe, na Prirodno-matematičkom fakultetu u Sarajevu - smjer Analitička hemija, magistrirala je 2015. godine. Magistarski rad pod nazivom „Komparacija matriks modifikatora kod određivanja olova i kadmija u mišićnom tkivu goveda metodom GF-AAS“ odbranila na Katedri za analitičku hemiju pod mentorstvom prof. dr Tidže Muhić-Šarac.

Od oktobra 2006. godine radi na Veterinarskom fakultetu u Sarajevu kao stručni saradnik u Laboratoriji za analize stočne hrane. Od 2011. do 2013. godine je šef Laboratorije za analize stočne hrane i šef Laboratorije za ispitivanje bioloških i hemijskih rezidua i kvalitet namirnica. Od 2013. godine do danas je šef Laboratorije za analize stočne hrane, koja je akreditovana 2012. godine po zahtjevima standarda ISO 17025. Od maja 2016. godine, osim mjesto šefa laboratorije, u zvanju je višeg stručnog saradnika u Centru za kontrolu namirnica, stočne hrane i zaštitu životne sredine na Veterinarskom fakultetu Univerziteta u Sarajevu. Govori i piše engleski jezik, a služi se i francuskim jezikom.

Učestvovala je kao u izradi tri naučnoistraživačka projekta:

1. Projekat "Sarajevo Tempus II: Curriculum and Teacher Update – ECTS";
2. Projekat „Strengthening of Centres for Aquaculture production and Safety surveillance in Adriatic Crossborder Countries“ CAPS 2;
3. Projekat „Očuvanje genoma autohtonih biljaka i životinja“ (Federalno ministarstvo poljoprivrede, vodoprivrede i šumarstva)

Nakon završetka studija kandidatkinja kontinuirano radi na stručnom usavršavanju i unapređenju znanja, posebno iz oblasti uvođenja metoda i aplikacije instrumentalnih metoda u analizi namirnica i hrane za životinje, o čemu svjedoče brojni uspješno završeni treninzi i edukacije:

1. *Septembar 2014* - Heavy metals AAS detection; Benzopyrene and PAH HPLC detection (Istituto Zooprofilattico sperimentale dell Abruzzo e del Molise "G. Caporale" Teramo (Italija)
2. *Septembar 2014* - Atomska apsorpaciona spektrometrija - Trening za plamenu, grafitnu i hidridnu tehniku - rad na instrumentu PinAAcle 900T i FIAS 100, Veterinarski fakultet Sarajevo
3. *April-Maj 2014* - Benzopyrene and PAH HPLC detection (Istituto Zooprofilattico sperimentale dell Abruzzo e del Molise "G. Caporale" Teramo (Italija))
4. *Februar 2014* - Heavy metals AAS determination; (Istituto Zooprofilattico sperimentale dell Abruzzo e del Molise "G. Caporale" Teramo (Italija))
5. *Decembar 2013* - Waters educational service Wienna (Austrija), Advanced coccidiostats MS application training
6. *April 2013* - Training in residue analysis B3d group of substances (Aflatoxin M1 and Aflatoksins B and G) (Fostering agricultural markets activity (FARMA)); Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu
7. *Maj 2013* - Veterinarski fakultet Univerziteta u Sarajevu; Određivanje kokcidiostatika u namirnicama i hrani za životinje (Eksterna obuka Waters, dr. Thorsten Ullrich)
8. *Oktobar 2012* - Center for European Perspective CEP, Mostar, Bosnia and Herzegovina European affairs training for government officials of Bosnia and Herzegovina Module: Agriculture, Improving analytical methods for veterinary laboratories; Zavod za javno zdravstvo FBiH, Mostar
9. *Maj 2011* - Vertikalni trening za laboratorije iz oblasti hemije – određivanje teških metala (Pb, Cd i Hg) u namirnicama i hrani za životinje (Mostar)
10. *Novembar 2010* - Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd (Srbija) - Analiza namirnica na sadržaj rezidua lijekova tehnikom LC – MS/MS
11. *Oktobar 2010* – Institut za akreditaciju BiH, „BATA“, Sarajevo - Trening o validaciji analitičkih metoda ispitivanja
12. *Juni 2010* - Institut za akreditaciju BiH, „BATA“, Sarajevo - Trening o mjernoj

- nesigurnosti analitičkih metoda ispitivanja
13. April 2010 – „TrainMiC“, Training in Metrology in Chemistry, „Principles and Applications of Metrology in Chemistry“, University of Sarajevo, Faculty of Science, Department of Chemistry and European Commission Joint Research Centre, IRMM – Institute for Reference Materials and Measurements, Belgium, Sarajevo
14. Januar 2010 - Hrvatski veterinarski Institut, Zagreb (Hrvatska), Primjena grafitne i hidridne tehnike u analizi teških metala; Tekućinska hromatografija sa masenom detekcijom- osnove
15. Juni 2009 - Universitas degli studi di Milano (Italija); Određivanje sirovih hranjivih materija u hrani za životinje klasičnom i NIR tehnikom; Određivanje masnih kiselina gasnom hromatografijom; Određivanje teških metala na instrumentu ICP
16. Decembar 2006 - Određivanje sadržaja teških metala u namirnicama i hrani za životinje, Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Beograd (Srbija)

#### **Bibliografija:**

##### **Naučni radovi objavljeni u časopisima**

1. Alibegović-Zečić Fahira, Gagić A., Piplica Slavica, Crnkić Ć., Tahirović Dinaida, Kavazović Aida, Kvalitet stočne krede u odnosu na važeći Pravilnik o kvalitetu stočne krede, *Veterinaria* **60** (3-4) (2011) 121-125
2. Nesina Avdagić, Nermina Babić, Dinaida Tahirović, Mensura Šeremet, Amela Dervišević, Emin Nakaš-Ićindić, Predictive power of neutrophil-lymphocyte ratio in distinguishing active from inactive ulcerative colitis, *Medicinski žurnal* **19** (3) (2013)187-191

##### **Naučni radovi objavljeni u zbornicima apstrakata**

1. Crnkić Ć., Čaklovica F., Vegara M., Alibegović-Zečić F., Hodžić A., Tahirović D., Šakić V., Conjugated linoleic acids in milk from cows fed balanced or unbalanced diet at three levels of production, II International VETistanbul Group Congress Russia, 07-09 April 2015, Saint Petersburg, Russia
- a) Навести неопходне биографске податке: школовање, успех у току школовања, кретање у служби, резултати научно-истраживачког или стручног рада, јавна признања, друштвене активности и познавање страних језика;
- б) У прилогу биографије доставити списак објављених научних радова.

## **2. ЗНАЧАЈ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА**

#### **a) Značaj istraživanja**

Brojna su istraživanja registrovana za praćenje sadržaja ukupnog arsena u uzorcima iz životne sredine i hrane, ali, analitički znatno zahtjevnije utvrđivanje sadržaja pojedinih pojavnih specija arsena u ovakvim uzorcima, malobrojno je i, istovremeno, značajnije za utvrđivanje njegovog djelovanja kao polutanta.

Cilj istraživanja je razvijanje i optimizacija pouzdane metode, koja bi bila praktična za laboratorije i primjenu, kao što je **elektrotermalna atomska apsorpciona spektrometrija (ETAAS)** uz primjenu različitih matriks modifikatora za utvrđivanje sadržaja ukupnog arsena, ali i različitih specija arsena: arsenat ( $\text{As}^{5+}$ ), arsenit ( $\text{As}^{3+}$ ), ukupnog arsena ( $\text{As}^0$ ), te arsina ( $\text{As}^{3-}$ ) iz morskih plodova, s obzirom na njegovo štetno djelovanje na zdravlje ljudi.

### b) Pregled istraživanja

Specije se definišu kao identifikacione i kvantifikacione pojedinačne fizičko-hemijske forme jednog elementa u uzorku. Ove hemijske forme uključuju neorganske forme elementa u različitim oksidacionim stanjima i organometalne forme. Proučavanje specija može da pomogne boljoj procjeni uticaja pojedinih elemenata na zdravstveni rizik, s obzirom da njihova toksičnost zavisi od hemijskog oblika (specije) u kome je prisutan. Arsen je tipični primjer ovakvog ponašanja. Ovdje je dat kratak pregled dosadašnjih istraživanja ove teme.

Voda za piće i hrana su primarni izvori izloženosti ljudi arsenu. Međutim, putem kože i udisanjem, izloženost arsenu je veća u radnoj sredini [1,2].

Efekti pH vrijednosti, adsorptivne površine, biološkog medijuma, organske materije i neorganskih supstanci, kao što su sulfidi i fosfati, kombinovani u kompleksna jedinjenja, koja su isprepletena na dinamičan način, učinili su da nastane jedinstven sklop arsenovih specija [3]. Arsen se pojavljuje u četiri oksidaciona stanja:

- arsenat,  $(As^{5+})$
- arsenit ( $As^{3+}$ )
- arsen ( $As^0$ )
- arsin ( $As^{3-}$ )

Neorganska jedinjenja arsena su veoma toksična, mnogo više nego organska jedinjenja [4,5,6]. Prepostavlja se da se u vodi za piće arsen nalazi samo u neorganskoj formi, i to kao  $As^{3+}$  i  $As^{5+}$  [7]. Neorganske trovalentne i petovalentne forme arsena koje dospiju u organizam čovjeka brzo se apsorbuju u gastrointestinalnom traktu, pri čemu se  $As^{5+}$  redukuje do  $As^{3+}$  veoma brzo nakon ingestije [8].

Metabolizam arsena u organizmu rezultira nastajanjem grupe metilovanih metabolita arsena:

- MMA - monometilarsonske kiseline
- DMA - dimetilarsinske kiseline

koji se u ovim jedinjenjima nalazi u trovalentnom i petovalentnom oksidacionom stanju. Petovalentni metilovani metaboliti smatraju se višestruko toksičnijim od trovalentnih [8]. Organska jedinjenja arsena, kao što su:

- Arsenobetain
- Arsenošećeri
- Arsenoholin,

su mnogo složenija i stabilna su u organizmu, a smatra se da se iz organizma izlučuju se urinom znatno brže nego neorganske forme.

Izuzev ribe i školjki, hrana generalno sadrži nizak sadržaj ukupnog arsena. Hrana kao što su žitarice, meso, povrće, voće i proizvodi koji se upotrebljavaju svakodnevno sadrže koncentracije manje od 0,1 mg/kg. Riba i školjke sadrže najviše ukupnog arsena (2-60 mg/kg suve materije [9].

Pri tome su manje toksične organske forme arsena, posebno arsenobetain, češće zastupljene [10].

Arsenobetain koji je dosta zastupljen u morskim organizmima ovi organizmi ne proizvode direktno, nego ga ustvari akumuliraju putem lanca ishrane. Kada je morska hrana u pitanju, izuzetak predstavljaju neke morske alge koje mogu da sadrže komponente neorganskog arsena, u koncentraciji više i od 60 mg/kg [11].

U uzorcima škampa identifikovane su četiri vrste specija arsena: DMA, arsenat ( $As^{5+}$ ), i dva derivata arsеноšećera ( $As^{1+}$  i  $As^{2+}$ ). Analize su uradene hidridnom tehnikom - HGAAS u uzorcima koji su pripremljeni sa i bez mikrotalasne digestije [12].

Mnoge konvencionalne analitičke tehnike kao što su: indukovano kuplovana plazma sa

atomskom emisionom spektrometrijom - ICP-AES, hidridna tehnika sa atomskom fluorescentnom spektroskopijom – HGAFS, ETAAS, HGAAS, katodna i anodna striping voltametrija, neutron aktivacione analize, fotometrijska analiza i energetski disperzivna rendgenska fluorescentna spektrometrija se koriste za određivanje veoma niskih koncentracija arsena. Neke kombinovane tehnike kao što su jonska hromatografija sa ICP-AES, zatim jonska hromatografija ili HPLC sa indukovano kuplovanom plazmom i masenom spektrometrijom - ICP-MS, takođe su pogodne za određivanje  $\text{As}^{3+}$  i  $\text{As}^{5+}$  u različitim uzorcima.

U mnogim slučajevima separacione i prekoncentracione tehnike su dosta zahtjevne za određivanje arsena pri vrlo niskim koncentracijama. Iako osjetljivost instrumenta u ICP-MS tehnički je obično veća nego kod ETAAS tehnike, ukupna koncentracija elemenata koji koegzistiraju mora biti veća od 100 mg/L. Predhodno element koji se određuje mora biti odvojen od drugih elemenata u rastvoru uzorka. Zatim, analitička tehnika kod ICP-MS mjerena je dosta specifična i kompleksna, cijena instrumenta i ostale dodatne opreme, dijelova i održavanja opreme su dosta veće nego kod ETAAS tehnike.

S obzirom na visok nivo osjetljivosti i jednostavno korištenje, ETAAS je jedna od najpopularnijih tehnika danas za određivanje količine arsena u različitim uzorcima.

U analizi specija arsena u vodi uzorci se tretiraju tako što se vrši koprecipitacija korištenjem organskih kompleksnih agenasa kao što su hidroksihinolin i pirolidinditiokarbamat (PDC). Koncentracioni faktor koprecipitacije ovih agenasa kreće se u opsegu 5000-40000, pa se se najčešće koriste za prekoncentraciju elemenata u tragu u prirodnim vodama, ali i u drugim vrstama uzorka kada se oni prevedu u vodenim rastvorima. Koprecipitacioni uslovi za determinaciju  $\text{As}^{3+}$  i  $\text{As}^{5+}$  na ETAAS, su sljedeći: koprecipitacija se vrši sa Ni-pirolidin-ditiokarbamat-kompleksom. Pri tome se  $\text{As}^{3+}$  kvantitativno koprecipitira sa PDC kompleksom u području pH vrijednosti 2-3, ali može doći i do izražene koprecipitacije  $\text{As}^{5+}$  pod istim uslovima. Natrijum-tiosulfat i kalijum-jodid (KI) se koriste za redukciju  $\text{As}^{5+}$  u  $\text{As}^{3+}$  da bi se odredio ukupni arsen. Koncentracija  $\text{As}^{5+}$  u rastvoru uzorka se obično određuje izračunavanjem razlike u koncentraciji između  $\text{As}^{3+}$  i ukupnog arsena [13].

U mišićnom tkivu ribe specije arsena su određivane pomoću ETAAS, uz predhodnu ekstrakciju hloroformom, praćenu mikrotalasnog digestijom uzorka koncentrovanim perchlornom kiselinom i rastvorom  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  [14].

Za određivanje specija arsena u povrću, redukcija se radi sa KI, a zatim se koncentracija  $\text{As}^{5+}$  izračunava kao razlika od ukupnog neorganskog arsena [15].

Nadeno je da se sadržaj specija arsena povećavao sa sadržajem željeza u uzorcima koji sadrže prirodna organska jedinjenja. Tako nastaju kompleksne anjonske specije arsena sa anjonskim dijelom prirodne organske materije (karboksilne i fenolne anjonske grupe), što je detaljno objašnjeno kod kompleksiranja metalnog jona kao što je željezo [16].

Neki autori navode pripremu uzorka riže za određivanje specija arsena sa mikrotalasnog digestijom uz dodatak nitratne kiseline, kada je u pitanju određivanje ukupnog arsena. Međutim, kada se uzorak priprema za određivanje ukupnog neorganskog arsena potrebno je homogenizovati  $0,5 \pm 0,1$  g uzorka i nakon dodatka nitratne kiseline centrifugirati uzorak na 4000 rpm 15 min, a potom dodati 15 mL EDTA (etilendiamintetrasaćetna kiselina) 0,1% i ponovo centrifugirati 15 min na 4000 rpm i bez mikrotalasne digestije ići sa analizom supernatanta na ETAAS.

Određivanje  $\text{As}^{3+}$  i  $\text{As}^{5+}$  u riži vrši se tako što se odmjeri određena količina homogenizovanog uzorka u PTFE (politetrafluoretilenske, Teflon<sup>®</sup>) posude i doda se nitratna kiselina ( $\text{HNO}_3$ ). Ekstrakcija se vrši mikrotalasnog digestijom i uzorak se nakon digestije razblaži sa  $\text{HNO}_3$ . Supernatant se uzme i na njega se doda EDTA, i pH rastvora se podesi na 4,8-4,9. Nakon toga se doda APDC (amonijum-pirolidin-ditiokarbamat).

Dobijeni rastvor se razblaži ultra-čistom vodom. Tube sa supernatantom i  $\text{HNO}_3$  se stave na vorteks i centrifugiraju. Odgovarajući volumen gornjeg sloja služi za analizu  $\text{As}^{3+}$  na ETAAS.

I u ovoj analizi,  $\text{As}^{5+}$  se određuje izračunavanjem na taj način što se od dobijene vrijednosti za ukupni neorganski arsen oduzme vrijednost dobijena za  $\text{As}^{3+}$ . Kod elektrotermalne atomizacije korišteni su različiti matriks modifikatori, kao što su Pd-nanočestice, Pd-Mg, kao i permanentni modifikator Zr-Ir koji je ovdje imao ulogu potencijalnog hemijskog modifikatora. Iskoristivost metode je iznosila 101% [17].

Pojedine specije arsena u morskim plodovima su utvrđene na taj način da su uzorci pripremljeni ekstrakcijom sa teterametil-amonijum-hidroksidom (TMAH) i metanolom, a što se tiče modifikatora za određivanje ETAAS korišteni su Zr-Ir,  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ , a dobijeni rezultati sadržaja arsena su imali iskoristivost u opsegu 72-101% [18].

Za direktno i simultano određivanje As, Bi, Pb Sb i Se u mlijeku preporučuje se permanentni modifikator, a to je kombinacija W-Pd za određivanje metodom ETAAS [19]. Najveći broj dostupnih radova govori o određivanjima sadržaja ukupnog arsena u hrani. Na osnovu toga možemo reći da je područje istraživanja specija arsena još uvek veoma aktuelno i neistraženo. Analize specija mogu dati bolji uvid o hemijskim formama, odnosno specijama arsena, a samim tim i hemijskom ponašanju arsena, kako u prirodi, tako i u svim živim organizmima. Međutim, s obzirom da se radi o vrlo kompleksnoj oblasti, analiza specija je teško realizuje, jer zahtijeva veoma sofisticiranu i skupu opremu, kao i delikatan analitički rad [11].

Elektrotermalna atomizacija velikog broja elemenata se vrši uz dodatak različitih matriks modifikatora. Za arsen tu je najčešće po preporuci proizvođača instrumenta kombinacija modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  i  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . S obzirom da je svaki matriks uzorka vrlo kompleksan, ne može se tvrditi da postoji jedan ili nekoliko univerzalnih modifikatora za sve uzorce. Samim tim potrebno je za svaku vrstu uzorka uraditi validaciju, odnosno potvrđivanje metode koja će, zbog upotrebe specifičnog i optimalnog modifikatora, biti specifična samo za takvu vrstu uzorka.

Predložena i citirana literatura:

1. *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. A review of human carcinogens: Arsenic, metals, fibers and dusts.* IARC International Agency for Research on Cancer, Vol. 100C pp. 41-93 (2012) Lyon, France
2. *Guidelines for drinking-water quality* (4th edition), WHO, World health organization (2011)
3. Sharma V. K., Sohn M., Aquatic arsenic. Toxicity, speciation, transformation, and remediation. *Journal of Environmental Science*, **35** (2009) 743-759
4. Hughes M., Beck D., Chen Y., Lewis A., Thomas D., Arsenic Exposure and toxicology: A historical perspective. *Toxicological Sciences*, **123** (2011) 305-332.
5. *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans, Arsenic and inorganic arsenic compounds. In Some inorganic and organometallic compounds.* IARC International Agency for Research on Cancer, Vol. 2, pp. 48-73 (1973) Lyon, France
6. Leermakers, M., Baeyens, W., De Gieter, M., Smedts, B., Meert, C., De Bisschop, H. C., Quevauviller, Ph. (2006), Toxic arsenic compounds in environmental samples: Speciation and Validation et al.. *Trends in Analytical Chemistry*, **25** (2006) 1-10.
7. Smedley, P., Kinniburgh, D. A review of the source, behavior and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, **17** (2002) 517-568
8. Cohen, S., Arnold, L., Beck, B., Lewis, A., Eldan, M., Evaluation of the

- carcinogenicity of inorganica arsenic. *Critical Reviews in Toxicology*, **43** (2013) 711-752.
9. EFSA, European Food safety Authority Panel on contaminants in the food chain (CONTAM). Scientific opinion in arsenic in food, *EFSA Journal*, **7** (2009) 1352.
  10. Francesconi K., Kuehnelt D., Determination of arsenic species: A critical review of methods and application, *Analyst*, **129** (2004) 373-395.
  11. Sigrist M., Hilbe N., Brusa L., Campagnoli D., Boldemenico H., Total arsenic in selected food samples from Argentina Estimation of their contribution to inorganic arsenic dietary intake. *Food Chemistry*, **210** (2016) 96-101.
  12. Le X. C. S., Cullen W. R., Reimer J. K., Speciation of arsenic compounds in some marine organisms; *Environ. Sci. Technol.*, **28** (1994) 1598-1604.
  13. Q. Zzhang, H. Minami, S. Inoue, I. Atsuya: Differential determination of trace amounts of arsenic (III) and arsenic (V) in seawater by solid sampling atomic absorption spectrometry after preconcentration by coprecipitation with a nickel-pyrrolidine dithiocarbamate complex. *Analytica Chimica Acta*, **508** (2004) 99-105.
  14. Shah A. Q., Kazi T. G., Baig J. A., Arain B. M., et al; Determination of inorganic arsenic species ( $\text{As}^{3+}$  and  $\text{As}^{5+}$ ) in muscle tissue of fish species by ETAAS spectrometry, *Food Chemistry*, **119** (2010) 840-844.
  15. Sanchez-Rodas D., Corn W.T., Chen B. f and Stockwell P. B.: Atomic fluorescence spectrometry: a suitable detection technique in speciation studies for arsenic, selenium, antimony and mercury. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **25** (2010) 933-946.
  16. Virender K. Sharma, Mary Sohn: Aquatic arsenic. Toxicity, speciation, transformation, and remediation. *Journal of Environmental Science*, **35** (2009) 743-759
  17. Pasias I. N., Thomaidis N. S., Piperaki E. A.: Determination of total arsenic, total inorganic arsenic and inorganic species in rice and rice flour by electrothermal atomic absorption spectrometry. *Microchemical Journal*, **108** (2013) 1-6.
  18. Karadjova I. B., Petrov P. K., Serafimovski I., Stafilov T., Tsalev D. L.; Arsenic in marine tissue – The challenging problems to electrothermal and hydride generation atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B*, **62** (2007) 258-268.
  19. Freschi G.P.G., Fortunato F. M., Freschi C. D., Neto J. A. G.; Simultaneous and Direct Determination of As, Bi, Pb, Sb and Se and Co, Cr, Cu, Fe and Mn in Milk by Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry. *Food Analytical Methods*, **5** (2012) 861-866

#### c) Materijal i metod rada

Za izradu ovog rada će se koristiti sljedeća oprema:

- Atomski apsorpcioni spektrometar PinAAcle 900T Perkin Elmer, THGA AS 900 sa element specifičnom lampom za arsen, što je EDL lampa visoke osjetljivosti;
- Peć za mikrotalasnu digestiju uzoraka - Berghof sa PTFE posudama;
- Analitička vaga sa tačnošću od 0,01 mg;
- vortex, centrifuga, digestor visokih performansi, aparat za vodu visoke čistoće - Mili Q Direct 8;
- Ostala standardna oprema i posude u hemijskoj laboratoriji

### Hemikalije koje će se koristiti:

- Standardni rastvor arsena 1000 mg/kg sa sertifikatom za AAS određivanja;
- Nitratna kiselina 65% visoke čistoće za određivanje elemenata u tragu;
- Matriks modifikatori: Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> i Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> za AAS analize;
- Kompleksirajući organski agensi APDC, PDC, TMAH, MIBK, sa HPLC stepenom čistoće.

U BiH dozvoljene količine arsena u morskim plodovima su regulisane *Pravilnikom o maksimalno dozvoljenim količinama za određene kontaminante u hrani*, (Sl. Gl. BiH 68/2014). Tako za morskou i riječnu ribu je maksimalno dozvoljena količina 2 mg/kg, za tunu, sabljarku, školjke i glavonošce je to 8 mg/kg, a za rakove 15 mg/kg.

Kao što je navedeno u cilju istraživanja, kao uzorci će se uzeti morski plodovi, jer je konzumacija tih proizvoda prilično rasprostranjena na ovim prostorima, a dozvoljena koncentracija arsena po BiH regulativi predstavlja relativno visoku vrijednost, što implicira da je arsen prisutan u ovim vrstama proizvoda. Tehnika ETAAS na kojoj će biti uradene planirane analize može da pokrije ovo područje osjetljivosti.

Uzorci će biti tretirani u skladu sa važećom standardnom metodom BAS EN 13 804 i BAS EN 13 805 - Određivanje elemenata u tragu - priprema uzorka uz digestiju pod pritiskom. Za analizu na instrumentu koristiće se standardna metoda - Određivanje arsena u morskoj hrani grafitnom atomskom spektrometrijom nakon spaljivanja u mikrotalasnoj peći – BAS EN 14 332.

Za određivanje specija arsena u morskim plodovima, uz ekstrakciju sa organskim kompleksirajućim agensima biće primijenjena metoda određivanja specija arsena u riži gdje su *Pasić i saradnici* [17] određivali specije arsena i dobili rezultat sa 101% iskorištenja.

Priprema uzorka će se vršiti u sjeckalici od nerđajućeg čelika, a potom će se uzorci vagati na analitičkoj vagi. Uzimaće se 0,5 g uzorka, na to će se dodati 6 mL HNO<sub>3</sub> i vršiti mikrotalasna digestija za određivanje ukupnog arsena.

Za određivanje specija, na ovako pripremljene uzorke biti će dodat ekstraktioni kompleksirajući agens, u zavisnosti od specije arsena koja se određuje. Za određivanje As<sup>3+</sup> i As<sup>5+</sup> vagaće se 0,5 ± 0,1 g homogenizovanog uzorka u PTFE posude i dodati 10 mL HNO<sub>3</sub>. Ekstrakcija će se vršiti mikrotalasnom digestijom i uzorak će se nakon digestije razblažiti do 15 mL sa 1 M HNO<sub>3</sub>. Alikvot od 10 mL supernatanta će se uzeti i na to će dodati 5 ml EDTA 5%, a pH rastvora podesiti na 4,8-4,9 pomoću HCl (1 M) i NaOH (4 M). Nakon toga dodavaće se APDC (amonijum-pirolidinditiokarbamat, 1% rastvor). Dobijeni rastvor će biti razblažen do 30 mL sa ultra čistom vodom i tube će se staviti na vortex 2-3 min sa 3 mL organskog rastvarača metilizobutilketona (MIBK) i centrifugirati na 4000 rpm u vremenu od 15 min. Alikvot od 2 mL supernatanta i 2 mL HNO<sub>3</sub> 2%, dodaće se u tube koje će se staviti na vorteks 1-2 minute i centrifugirati se na 4000 rpm 6 min. Odgovarajuća zapremina gornjeg sloja će služiti za analizu As<sup>3+</sup> na ETAAS.

Ovako će se dobiti uzorci As<sup>3+</sup> i ukupnog arsena za ETAAS analizu. Nakon toga uzorak će se staviti u AAS autosampler i odrediće se sadržaj arsena, uz dodatak matriks modifikatora, najprije Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, zatim će se vršiti analiza uz dodatak Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, te analiza sa smješom Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> i Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.

Analiza As<sup>5+</sup> određivati će se računskim putem, na taj način što će se od dobijene vrijednosti ukupnog neorganskog arsena oduzeti dobijena vrijednost As<sup>3+</sup>.

#### d) Radna hipoteza sa ciljem istraživanja

Hipoteze od kojih se polazi u objašnjenju problema istraživanja su:

1. Upotrebom različitih ekstrakcionih sredstava (organских rastvarača) kao što su: APDC, PDC, TMAH, MIBK, mogu se selektivno iz ispitanih uzoraka hrane izdvojiti različite hemijske forme (specije) arsena, tj. oblici arsena u različitim oksidacionim stanja
2. Upotrebom različitih matriks modifikatora kao što su:  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$ ,  $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  i  $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$  ostvaruje se bolja selektivnost i osjetljivost pri mjerenu koncentracija arsena metodom ETAAS

Navedene hipoteze treba potvrditi kroz neophodne korake istraživanja: obrada dostupne literature i postojeće legislative, uzorkovanja morskih plodova (kao ciljanog ispitnog medijuma), obrade uzoraka i eksperimenta sa svim navedenim ekstrakcionim sredstvima i matriks modifikatorima i statističkom obradom rezultata.

Pri tome će se utvrditi koje je najpogodnije ekstrakcionalo sredstvo i matriks modifikator za određivanje svake od pojedinih specija arsena, dakle za sve gore navedene pojavnne hemijske forme arsena sa ciljem potvrđivanja hipoteza.

Cilj ovog istraživanja je razvijanje i optimizacija pouzdane metode, koja je praktična za laboratorije i aplikaciju, kao što je ETAAS, uz primjenu različitih matriks modifikatora za utvrđivanje sadržaja ukupnog arsena, ali i različitih specija arsena: arsenat ( $\text{As}^{5+}$ ), arsenit ( $\text{As}^{3+}$ ), ukupnog arsena ( $\text{As}^0$ ), te arsina ( $\text{As}^3$ ) iz morskih plodova, obzirom na njegovo štetno djelovanje na zdravlje ljudi.

Metoda će se razvijati pripremom uzoraka morskih plodova ekstrakcijom specija As sljedećim organskim kompleksirajućim agensima: APDC (amonijum-pirolidinditiokarbamat), EDTA (etilendiamintetrasirčetna kiselina), MIBK (metilizobutil keton), PDC (pirolidinditiokarbamat), TMAH (tetrametilamonijum-hidroksid) i metanol.

Nakon završenih mjerena uporediće se izmjerene koncentracije specija arsena poslije dodavanja pojedinih modifikatora, te utvrditi uticaj različite klase matriks modifikatora ili kompleksirajućeg agensa na otklanjanje interferencija matrice u istim uzorcima i pri istim uslovima mjerena. Pri tome će se identifikovati postojanje statistički značajnih razlika u rezultatima dobijenim sa različitim ekstrakcionim sredstvima i različitim modifikatorima.

#### e) Naučni doprinos istraživanja

Naučni doprinos, izradom ove doktorske radnje, ogleda se u teorijskom i praktičnom istraživanju (u konkretnim uslovima laboratorije Veterinarskog fakulteta u Sarajevu) specija arsena u morskim plodovima obzirom na različit nivo toksičnog djelovanja, različitih hemijskih formi arsena i optimizaciji analitičke metode za determinaciju njihovog sadržaja metodom ETAAS. Kako se slična istraživanja kod nas nisu provodila, a u svijetu ograničeno, pored naučnog doprinosa, rezultati ovog istraživanja trebali bi postati i aplikativni. Svaka nova kombinacija analita i prisutnog matriksa je novi izazov za analitičara koji radi na razvoju novih, pouzdanih i široko primjenjivih analitičkih metoda ispitivanja.

- a) Значај истраживања;
- б) Преглед истраживања;
- в) Радна хипотеза са циљем истраживања;
- г) Материјал и метод рада;
- д) Научни допринос истраживања.

### 3. ОЦЈЕНА И ПРИЈЕДЛОГ

Kandidatkinja mr Dinaida Tahirović je u toku izrade magistarskog rada savladala osnovne metode planiranja i izvođenja eksperimenata, analize podataka, kao i izvođenja zaključaka na osnovu novih podataka, analize naučne literature i pisanja naučnog rada.

Pored ovoga, u okviru izrade magistarskog rada kandidatkinja je imala priliku da analizira i poredi uticaj različitih matriks modifikatora pri određivanju sadržaja metala u uzorcima životinjskog porijekla, te se detaljno upoznala sa naučnom literaturom iz ove oblasti. Kandidatkinja je objavila dva naučna rada u časopisima. Osim toga, kao zaposlena u Laboratoriji za analizu stočne hrane i Laboratoriji za analizu rezidua Veterinarskog fakulteta u Sarajevu, imala je priliku da učestvuje u uvođenju, primjeni i akreditaciji velikog broja savremenih analitičkih metoda, o čemu svjedoči učešće u brojnim međunarodnim obukama i radionicama.

Značaj predložene teme se ogleda i u mogućnosti primjene dobro istražene analitičke metode za utvrđivanje sadržaja specija arsena iz morskih plodova, za koju se tokom eksperimenata utvrdi da je optimalna. Predložena metodologija istraživanja odgovara standardima moderne analitičke hemije, primjenjene na uzorke životinjskog porijekla.

Na osnovu svega izloženog Komisija smatra da predloženo istraživanje **zadovoljava sve uslove** koji se očekuju od doktorske teze i smatra da kandidatkinja **mr Dinaida Tahirović, magistar hemijskih nauka, ispunjava** sve Zakonom predvidene uslove za prijavu i izradu doktorskog rada pod nazivom: „**Određivanje specija arsena u morskim plodovima metodom ETAAS uz upotrebu različitih matriks modifikatora**“

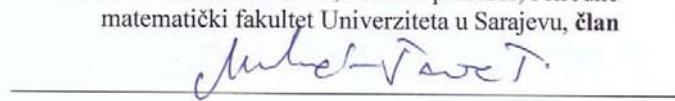
Komisija smatra da izradom ove doktorske disertacije postoje realni uslovi da se očekivani ciljevi ostvare i da se dode do originalnih naučnih rezultata.

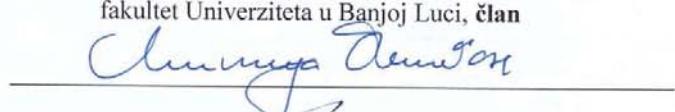
#### POTPIS ČLANOVA KOMISIJE:

U Beogradu, Sarajevu i  
Banjoj Luci,  
oktobra 2016. godine

1. Dr Dragan Manojlović, redovni profesor, Hemski fakultet Univerziteta u Beogradu, **predsjednik**

  
\_\_\_\_\_  
2. Dr Tidža Muhić-Šarac, redovni profesor, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Sarajevu, **član**

  
\_\_\_\_\_  
3. Dr Milica Balaban, docent, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, **član**

  
\_\_\_\_\_  
4. Dr Saša Zeljković, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, **član**

---

**ИЗДВОЈЕНО МИШЉЕЊЕ:** Члан комисије који не жели да потпише извјештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извјештај образложење, односно разлоге због којих не жели да потпише извјештај.