

UNIVERZITET U BANJOJ LUCI  
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET



РЕПУБЛИКА СРПСКА  
УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊА ЛУЦИ  
Природно-математички факултет  
Број: 19/4.493/22  
Датум: 26.05.2022 100  
Б А Њ А Л У К А

## IZVJEŠTAJ o ocjeni urađene doktorske disertacije

### I PODACI O KOMISIJI

1) Naučno-nastavno vijeće Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci je na 248. sjednici održanoj 16.05.2022. godine donijelo Odluku broj 19/3.1136/22 kojom je imenovalo Komisiju za pregled, ocjenu i odbranu urađene doktorske disertacije. Komisija je dužna da u roku od 60 dana napiše Izvještaj o ocjeni urađene doktorske disertacije pod nazivom **“Određivanje specija arsena u morskim plodovima metodom ETAAS uz upotrebu različitih matriks modifikatora”**, kandidatkinje mr Dinaide Tahirović

2) Komisija:

- Dr Dragan Manojlović, redovni profesor, *uža naučna oblast Analitička hemija*, Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu, **predsjednik**
- Dr Tidža Muhić Šarac, redovni profesor u penziji, *uža naučna oblast Analitička hemija*, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Sarajevu, mentor, **član**
- Dr Milica Balaban, vanredni profesor, *uža naučna oblast Organska hemija*, Prirodno-matematički fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, mentor, **član**
- Dr Vesna Antić, redovni profesor, *uža naučna oblast Hemija*, Poljoprivredni fakultet Univerziteta u Beogradu, **član**
- Dr Saša Zeljković, redovni profesor, *uža naučna oblast Neorganska hemija*, Prirodno-matematički fakultet u Banjoj Luci, **član**

1) Navesti datum i organ koji je imenovao komisiju;

2) Navesti sastav komisije sa naznakom imena i prezimena svakog člana, naučno-nastavnog zvanja, naziva uže naučne oblasti za koju je izabran u zvanje i naziva univerziteta/fakulteta/instituta na kojem je član komisije zaposlen.

### II PODACI O KANDIDATU

- 1) Dinaida, Osman, Tahirović
- 2) 06.05.1978, Tešanj, Bosna i Hercegovina
- 3) Univerzitet u Sarajevu, Prirodno-matematički fakultet, Odsjek za hemiju, magistar hemijskih nauka-smjer Analitička hemija
- 4) Prirodno-matematički fakultet, „Komparacija matriks modifikatora kod određivanja sadržaja olova i kadmija u mišićnom tkivu goveda metodom GF-AAS“, Hemijske nauke, 18.05.2015. godine
- 5) Hemijske nauke
- 6) Postupak za sticanje naučnog stepena doktora nauka započet je 2016. godine, prema odredbama

Člana 148. Zakona o visokom obrazovanju, *Studijski program hemija*

- 1) Ime, ime jednog roditelja, prezime;
- 2) Datum rođenja, opština, država;
- 3) Naziv univerziteta i fakulteta i naziv studijskog programa akademskih studija II ciklusa, odnosno poslijediplomskih magistarskih studija i stečeno stručno/naučno zvanje;
- 4) Fakultet, naziv magistarske teze, naučna oblast i datum odbrane magistarskog rada;
- 5) Naučna oblast iz koje je stečeno naučno zvanje magistra nauka/akademsko zvanje mastera;
- 6) Godina upisa na doktorske studije i naziv studijskog programa.

### III UVODNI DIO OCJENE DOKTORSKE DISERTACIJE

1) „Određivanje specija arsena u morskim plodovima metodom ETAAS uz upotrebu različitih matriks modifikatora”

2) 22.12.2016. Senat Univerziteta u Banjoj Luci (Odluka broj: 02/04-3.3829-58/16)

3) Poglavlje „**UVOD**” je napisan na tri stranice (str. 1-3) i opisuje arsen, njegovu pojavu u prirodi, klasifikaciju, dospijevanje u žive organizme, načine deponovanja u istim, sa posebnim osvrtom na vodu i morske organizme i maksimalno dozvoljene količine arsena u njima.

Poglavlje „**CILJ ISTRAŽIVANJA**” je napisan na jednoj stranici (str. 4) i sadrži jasno formulisan cilj sa zadacima istraživanja.

Kandidatkinja je u poglavlju „**TEORIJSKI DIO**” (40 stranica; str. 5-45), jasno opisala karakteristike arsena, specije u kojima se pojavljuje s obzirom na njegovo kruženje u životnoj sredini i lancima ishrane (str. 5-9), te organske i neorganske specije arsena (str. 10-13). Predstavljen je sveobuhvatan literaturni pregled i detaljan opis matriks modifikatora, važnost korištenja istih prilikom elektrotermalne atomske apsorpcione spektrometrije (ETAAS) analiza teških metala, posebno arsena, kao i podjela matriks modifikatora na klase, sa posebnim osvrtom na razloge takve podjele (str. 13-18). Jasno su predstavljeni parametri mjeriteljstva u hemiji, čijim proračunima je realizovana tačnost i istinitost istraživanjem dobijenih rezultata (str. 18-21).

Zatim, opisani su morski plodovi, njihova podjela, kao i važnost uzorkovanja, skladištenja i pripreme ovakve vrste uzoraka u kojima će biti odredivan arsen i njegove specije (str. 21-23). Jasno i detaljno su opisani uticaj i načini pripreme uzoraka putem mikrotalasne digestije, načini ekstrakcije arsenovih specija za različite matrikse uz sveobuhvatan literaturni pregled i detaljniji opis za uzorke u kojima su rađene analize arsena i njegovih specija (str. 23-31). Tehnike determinacije arsena i njegovih specija su opisane uz navođenje prednosti i nedostatke pojedinih tehnika (str. 31-34). Elektrotermalna atomizacija–ETAAS je detaljno opisana kao jednostavna, dostupna i često korištena tehnika za određivanje teških metala, prvenstveno arsena, ali i tehnika koja pruža mogućnost određivanja arsenovih specija uz adekvatnu pripremu uzoraka u svrhu jedne takve analize. Vrlo jasno i detaljno je opisan način apliciranja uzorka i rada sa ETAAS, prolazak ispitnog uzorka kroz sve faze od sušenja do samog trenutka atomizacije i na kraju proces čišćenja grafitne kivete AAS-a. Detaljno su navedene sve performanse ETAAS, zatim njene prednosti, ali i neki nedostaci, vrste interferencija koje se javljaju i način uklanjanja istih pomoću deuterijumske lampe i *Zeemanovog* efekta. (str. 34-45).

Poglavlje „**MATERIJAL I METODE RADA**” (9 stranica; str. 46-55) sadrži: opis uzoraka, metode pripreme uzoraka morskih plodova (rakovi, školjke i lignje) (str. 46), navedene su korištene hemikalije, instrumenti i pribor (str. 46-48). Također, detaljno je opisana priprema uzoraka za analizu ukupnog arsena, zatim, način rada, odnosno, mjerenje ukupnog arsena u uzorcima morskih plodova na ETAAS bez matriks modifikatora i uz dodatak različitih matriks modifikatora:  $Mg(NO_3)_2$ ,  $Ni(NO_3)_2$ ,  $Pd(NO_3)_2$  i smjese  $Pd(NO_3)_2+Mg(NO_3)_2$ .

Poglavlje koje se odnosi na materijale i metode rada sadrži i odjeljak koji opisuje metode osiguranja kvaliteta rezultata ispitivanja prilikom određivanja ukupnog arsena, a koji je rađen pomoću sertifikovanog referentnog materijala (ERM-CE278k - tkivo školjki).

Određivanje specija arsena uz ekstrakciju vodom, metanolom, kiselinama i bazama je vrlo detaljno opisano, količina analiziranog uzorka, temperatura ekstrakcija, proces centrifugiranja i mjerenja koncentracije ekstrahovanih arsenovih specija na ETAAS (str. 51-54).

Metoda ekstrakcije vodenih specija arsena iz sertifikovanih referentnih materijala tkivo školjki - ERM-CE278k, tkivo ribe - BCR 627 i ekstrakcija vodenih arsenovih specija iz uzoraka morskih plodova (rakovi, školjke i lignje) detaljno je opisana na str. 52. (Leufroy i sar, 2011; Wahlen i sar, 2004; Wolle i Conklin, 2018a; Francesconi i Kuehnelt, 2004).

Metoda ekstrakcije specija arsena metanolom, kiselinama i bazama iz sertifikovanih referentnih materijala tkivo školjki - ERM-CE278k, tkivo ribe - BCR 627 i ekstrakcija arsenovih specija rastvorivih u metanolu, kiselinama i bazama iz uzoraka morskih plodova (rakovi, školjke i lignje) detaljno je opisana na str. 53.

Posljednji odjeljak u poglavlju „Materijal i metode rada“ opisuje program za statističku obradu dobijenih rezultata (str. 54-55).

Poglavlje „**REZULTATI I DISKUSIJA**” (40 stranica; str. 56-96) sadrži pregled dobijenih rezultata predstavljenih u tabelama i grafički. Prvi odjeljak prikazuje rezultate uticaja matriks modifikatora na atomizaciju arsena mjerenjem u sertifikovanom referentnom materijalu i dobijenim iskorištenjem u odnosu na sertifikovanu vrijednost (str. 56). Zatim je prikazana statistička obrada sadržaja ukupnog arsena, odnosno, srednja vrijednost mjerenja, urađenih ETAAS metodom, zatim statistički podaci: medijana, raspon i  $p$  vrijednost u morskim plodovima. Srednje vrijednosti ukupnog arsena su prikazane pojedinačno za svaku vrstu uzoraka: rakova, školjki i lignji bez dodatka i uz dodatak različitih matriks modifikatora (str. 57). Pojedinačni rezultati sadržaja ukupnog arsena dobijeni u svakom uzorku rakova, školjki i lignji bez dodatka i uz dodatak različitih matriks modifikatora uz diskusiju i poređenje relevantnih literaturnih izvora prikazani su tabelarno i grafički na str. 58-67.

Na stranama 67 i 68 je opisano uz adekvatne literaturne izvore kako je izvršen konačan odabir matriks modifikatora za daljnju analizu arsenovih specija metodom ETAAS.

U sljedećem odjeljku predstavljeni su rezultati o sadržaju specija arsena u sertifikovanim referentnim materijalima BCR 627 i ERM-CE278k uz efikasnost ekstrakcije sa različitim rastvaračima dobijeni nakon mjerenja ETAAS metodom (str. 69). Dobijeno iskorištenje uticaj i efikasnost ekstrahovanih specija vodom iz sertifikovanih referentnih materijala i uzoraka morskih plodova (rakova, školjki i lignji) opisana je i upoređena sa odgovarajućom literaturom (str. 70-72). Takođe je opisan uticaj i efikasnost ekstrahovanih specija metanolom, odnosno, dobijeno iskorištenje iz sertifikovanih referentnih materijala i uzoraka morskih plodova (rakova, školjki i lignji), prilikom čega su dobijeni rezultati upoređeni sa literaturom autora koji su radili sa istim sertifikovanim referentnim materijalima (BCR 627 i ERM-CE278k) (str. 72-75). Sve navedeno je urađeno i prilikom ekstrakcije kiselinama (str. 75-78). Ekstrakcija bazama je opisana na str. 78-80 prilikom čega je opisana ekstrakcija bazama takođe u navedenim CRM materijalima.

U ovom poglavlju prikazani su i rezultati sadržaja arsena nakon različitih ekstrakcija u rakovima (str. 80-87), školjkama (str. 87-92) i lignjama (str. 92-96), zatim uticaj ekstrakcionog sredstva i matriks modifikatora na određivanje koncentracije arsenovih specija metodom ETAAS. Analize su rađene bez matriks modifikatora i uz dodatak dva matriks modifikatora, sa tri različita ekstrakciona sredstva, te su vrijednosti statistički upoređene i prikazane tabelarno i grafički.

Svi dobijeni rezultati su upoređeni sa relevantnim literaturnim podacima.

Poglavlje „**ZAKLJUČAK**” (2 stranice; str. 97-98) sadrži koncizno i sistemski navedene zaključke ovog istraživanja, uz jasno navođenje njihovog teorijskog i praktičnog značaja za ispitivanu oblast.

Poglavlje „**LITERATURA**” (20 stranica; str. 99-119) sadrži 191 abecedno navedenu referencu.

4) Disertacija sadrži 119 numerisanih stranica računarski obrađenog teksta, 18 tabela i 22 slike. Citirana je 191 referenca. Disertacija obuhvata sedam poglavlja: Uvod, Cilj istraživanja, Teorijski dio, Materijal i metode rada, Rezultati i diskusija, Zaključak i Literatura.

- 1) Naslov doktorske disertacije;
- 2) Vrijeme i organ koji je prihvatio temu doktorske disertacije
- 3) Sadržaj doktorske disertacije sa straničenjem;
- 4) Istaći osnovne podatke o doktorskoj disertaciji: obim, broj tabela, slika, šema, grafikona, broj citirane literature i navesti poglavlja.

#### IV UVOD I TEORIJSKI DIO

1) Arsen i njegove neorganske komponente su po klasifikaciji Međunarodne agencije za istraživanje raka (eng. *International Agency for Research on Cancer – IARC*) svrstane u grupu jedinjenja koji su karcinogeni za ljude. Utvrđeno je da mogu izazvati različite vrste raka poput raka pluća, mokraćne bešike, kože, budući da se dugotrajnom izloženosti arsen akumulira u tkivima kože, kose i noktiju. Organske spojeve arsena IARC klasificira kao moguće karcinogene za ljude (IARC, 1973). Osim toga, dugotrajna izloženost arsenu može uticati na pojavu neurološke i kognitivne disfunkcije kod djece i odraslih (Tyler i Allan, 2014). Morski organizmi, zbog bioakumulacije i biomagnifikacije, predstavljaju jedan od potencijalno najvećih izvora izloženosti arsena za čovjeka. Naime, iako koncentracija arsena u morskoj vodi nije velika, značajno veće koncentracije se mogu naći u morskim organizmima (Sloth i sar, 2003). Organizmi na najnižem mjestu u lancu ishrane apsorbiraju neorganski arsen iz morske vode i prevode ga u organsku formu koja se kao takva zadržava. Obim i brzina biotransformacije arsena zavise prvenstveno od unosa neorganskog arsena i mehanizma transformacije specifičnog za pojedinu vrstu (Santos i sar, 2013).

Posmatrajući neke činjenice vezane za morske organizme, njihovu izloženost uticaju okoline u kojoj se nalaze, bioakumulaciju različitih oblika arsena sa biomagnifikacijom koja je različita za različite organizme, od velikog značaja je imati jednostavnu i dostupnu metodu kontrole nivoa specija arsena u morskim organizmima. U stvari uloga ovog rada je bila razvijanje i optimizacija pouzdane metode, sa praktičnim načinom pripreme uzoraka za laboratorije i aplikaciju tehnikom ETAAS.

2) Na istraživanje specija arsena veliki uticaj ima razvoj analitičkih metoda, što podrazumijeva bolje razdvajanje komponenata i niži detekcioni limit za njihovo određivanje. Jako važni faktori prilikom analize As specija su kontrolisanje redoks potencijala i pH vrijednosti (Anawar, 2012). Upravo su efekti pH vrijednosti, zatim uticaj adsorptivne površine, biološkog medija, te organske materije i neorganskih supstanci (npr. sulfidi i fosfati) kombinovani u kompleksna jedinjenja, koja su isprepletana na dinamičan način, učinili da nastane jedinstven sklop arsenovih specija (Sharma i Sohn, 2009). Prilikom pripreme uzoraka za analizu specija arsena elektrotermalnom atomizacijom (ETAAS) u vodi i drugim vrstama uzoraka, uzorci su od strane različitih autora tretirani različito. Elci i saradnici (2008) su opisali određivanje As (III) na ETAAS, pri čemu je As (III) pripremljen metodom koprecipitacije, uz dodatak rastvora Ce (IV) (koji je pripremljen sa nitratnom kiselinom i amonijakom). Konvencionalnim ekstrakcijama u urinu su određene i organske i neorganske specije arsena na ETAAS. U mišićnom tkivu riba specije arsena su određene sa ETAAS, As (III) uz ekstrakciju sa hloroformom, a As (V) mikrovalnom digestijom uzoraka sa koncentrovanom perhlornom kiselinom i  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ , uz ekstrakciju sa hloroformom (Shah i sar, 2010). Sa sadržajem željeza u uzorku, koji je prirodna organska materija, sadržaj specija arsena se povećava. Tako nastaju kompleksne anionske specije arsena sa anionskim dijelom prirodne organske materije (karboksilne i fenolne anionske grupe), što je detaljno objašnjeno kod kompleksiranja metalnog jona kao što je željezo (Sharma i Sohn, 2009). U radu Lopez-Garcia i saradnika (2011) opisano je određivanje specija arsena u dječijoj hrani koja je napravljena na bazi ribe. Priprema uzoraka je rađena ekstrakcijom sa 0,01 mol/L tetrametilamonijum-hidroksidom (TMAH) uz zagrijavanje uzoraka i sonifikaciju, te analizu na ETAAS uz dodatak različitih matriks modifikatora Ni i Ce. Isto ekstrakciono sredstvo, TMAH, koristili su Nascimento i saradnici (2020) prilikom ekstrakcije teških metala između ostalog i arsena iz kanabidiola koji se koristi u terapeutske svrhe, te određivanje teških metala su vršili na grafitnoj peći. Posljednjih godina sveobuhvatan pregled je objavljen posmatrajući arsenove specije i

analize istih u različitim matriksima (Akter i sar, 2005; Ammann, 2011; Chen i sar, 2014; Leermakers, 2006; Llorente-Mirandes i sar, 2017; Nearing i sar, 2014; Radke i sar, 2012; Rajaković i sar, 2013; Sadee i sar, 2015; Tyson, 2013).

Izbor metode za determinaciju arsena i njegovih specija ovisi o nekoliko faktora uključujući: detekcioni limit, preciznost, selektivnost, cijenu same metode. Postoji čitav niz analitičkih metoda pomoći kojih je moguće precizno odvajanje i kvantificiranje specija arsena uključujući tečnu hromatografiju sa detekcijom induktivno spojenom plazma-atomskom emisionom spektrometrijom (ICP-AES), induktivno spojenom plazma-masenom spektrometrijom (ICP-MS), hidridno generisanom atomskom apsorpcionom spektrometrijom ili hidridno generisanom atomskom fluorescentnom spektrometrijom (Shah i sar, 2010). Nažalost, navedene tehnike nisu široko dostupne što svakako povećava interes za adekvatnim procedurama primjenjivim na instrumentima koji su dostupni u većini hemijskih laboratorija. Kao moguće rješenje posebno se ističe metoda elektrotermalne atomske apsorpcione spektrometrije (ETAAS).

Raspoložive su mnoge metode za određivanje arsena i njegovih specija koje daju pouzdane rezultate, a postoje metode pogodne za monitoring arsena koje je objavila i odobrila U.S. EPA (eng. *U.S. Environmental Protection Agency*): Indukovano kuplovana masena spektrometrija (ICP-MS); Indukovano kuplovana atomska emisiona spektrometrija (ICP-AES); Hidridna generacija atomske apsorpcione spektrofotometrije (HG-AAS); Grafitna peć atomske apsorpcione spektrofotometrije (GFAAS ili ETAAS) jer ove metode imaju detekcioni limit od 0,5 – 50 µg/L.

**Literatura citirana u doktorskoj disertaciji a navedena u ovom dijelu izvještaja:**

IARC (1973) Arsenic and inorganic arsenic compounds. In: IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans; Some inorganic and organometallic compounds. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. ISBN: 978-92-832-1202-7; <https://publications.iarc.fr/Book-And-Report-Series/Iarc-Monographs-On-The-Identification-Of-Carcinogenic-Hazards-To-Humans/Some-Inorganic-And-Organometallic-Compounds-1973>. Tyler, C.R., Allan, A.M. (2014). The Effects of Arsenic Exposure on Neurological and Cognitive Dysfunction in Human and Rodent Studies: A Review. *Curr Environ Health Rep*, 1:132-147. <https://doi.org/10.1007/s40572-014-0012-1>. Sloth, J. J., Larsen, E. H., Julshamn, K. (2003). Determination of organoarsenic species in marine samples using gradient elution cation exchange HPLC-ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 18(5):452-459. <https://doi.org/10.1039/B300508A>. Santos, C. M., Nunes, M. A., Barbosa, I. S., Santos, G. L., Peso-Aguiar, M. C., Korn, M. G., Flores, E. M. M., Dressler, V. L. (2013). Evaluation of microwave and ultrasound extraction procedures for arsenic speciation in bivalve mollusks by liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 86:108-114. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2013.05.029>. Anawar H.M. (2012) Arsenic speciation in environmental samples by hydride generation and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta*, 88:30-42. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.11.068>. Sharma, V.K., Sohn, M. (2009) Aquatic arsenic: toxicity, speciation, transformations, and remediation. *Environ Int*, 35(4):743-759. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2009.01.005>. Elci, L., Divrikli, U., Soylak, M. (2008). Inorganic arsenic speciation in various water samples with GFAAS using coprecipitation. *International Journal of Environmental and Analytical Chemistry*, 88(10):711-723. <https://doi.org/10.1080/03067310802094984>. Shah, A. Q., Kazi, T. G., Baig, J. A., Arain, M. B., Afridi, H. I., Kandhro, G. A., Wadhwa, S.K., Kolachi, N. F. (2010). Determination of inorganic arsenic species (As<sup>3+</sup> and As<sup>5+</sup>) in muscle tissues of fish species by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS). *Food chemistry*, 119(2):840-844. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.041>. Lopez-Garcia, I., Briceno, M., Hernandez-Cordoba, M. (2011). Non-chromatographic screening procedure for arsenic speciation analysis in fish-based baby foods by using electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analytica chimica acta*, 699(1):11-17. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2011.05.005>. Nascimento, P. A., Schultz, J., Gonzalez, M. H., Oliveira, A. (2020). Simple GFAAS method for determination of Pb, As, and Cd in

cannabidiol extracts used for therapeutic purposes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 31:894-903. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190252>. Akter, K. F., Chen, Z., Smith, L., Davey, D., & Naidu, R. (2005). Speciation of arsenic in ground water samples: A comparative study of CE-UV, HG-AAS and LC-ICP-MS. *Talanta*, 68(2):406-415. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2005.09.011>. Ammann, A. A. (2011). Arsenic speciation analysis by ion chromatography-a critical review of principles and applications. *American Journal of Analytical Chemistry*, 2(01):27-45. <https://doi.org/10.4236/ajac.2011.21004>. Chen, M. L., Ma, L. Y., Chen, X. W. (2014). New procedures for arsenic speciation: A review. *Talanta*, 125:78-86. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.02.037>.

Leermakers, M., Baeyens, W., De Gieter, M., Smedts, B., Meert, C., De Bisschop, H.C., Morabito, R., Quevauviller, P. (2006). Toxic arsenic compounds in environmental samples: Speciation and validation. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 25(1):1-10. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2005.06.004>.

Llorente-Mirandes, T., Rubio, R., Lopez-Sanchez, J. F. (2017). Inorganic arsenic determination in food: a review of analytical proposals and quality assessment over the last six years. *Applied spectroscopy*, 71(1):25-69. <https://doi.org/10.1177/0003702816652374>.

Nearing, M. M., Koch, I., Reimer, K. J. (2014). Complementary arsenic speciation methods: A review. *Spectrochimica acta part B: atomic spectroscopy*, 99:150-162. <https://doi.org/10.1016/j.sab.2014.07.001>.

Radke, B., Jewell, L., Namieśnik, J. (2012). Analysis of arsenic species in environmental samples. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 42(2):162-183. <https://doi.org/10.1080/10408347.2011.634637>.

Rajaković, L. V., Todorović, Ž., Rajaković-Ognjanović, V. N., Onjia, A. E. (2013). Analytical methods for arsenic speciation analysis. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 78(10):1461-1479. <https://doi.org/10.2298/JSC130315064R>.

Sadee, B., Foulkes, M. E., Hill, S. J. (2015). Coupled techniques for arsenic speciation in food and drinking water: a review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 30(1):102-118. <https://doi.org/10.1039/C4JA00269E>.

Tyson, J. (2013). The determination of arsenic compounds: a critical review. *International Scholarly Research Notices*, 1-24. <https://doi.org/10.1155/2013/835371>.

3) Uz primjenu različitih matriks modifikatora metodom ETAAS u uzorcima morskih plodova (rakovi, školjke i lignje) utvrđene su sljedeće specije: arsena ekstraktibilnog toplom vodom, rastvorom metanola (smjese metanola i vode u omjeru 1:1), kiselinskom (2% nitratna kiselina, HNO<sub>3</sub> i 3% vodonik-peroksida, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) i baznom ekstrakcijom (0,1% TMAH-tetrametilamonijum-hidroksid). Analizom uzoraka rakova metodom ETAAS na sadržaj ekstrahovanih specija arsena, utvrđeno je da matriks modifikator ima značajan uticaj na zabilježene vrijednosti specija arsena u odnosu na rezultate kada matriks modifikator nije dodavan. Nije utvrđena značajna razlika između rezultata dobijenih mjerenjem sa Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> i smjesom Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>+Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> kao matriks modifikatorima, bez obzira koje je ekstrakciono sredstvo korišteno u analizi. U uzorcima školjki metodom ETAAS potvrđena je značajna uloga matriks modifikatora u mjerenju vrijednosti ekstrahovanih arsenovih specija. U tom kontekstu jasno se izdvajaju rezultati dobijeni sa korištenjem smjese Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> kao matriks modifikatora i statistički je potvrđeno u odnosu na druge ispitivane uzorke. Prilikom analiza uzoraka lignji sa ETAAS utvrđeno je da je za dobijanje validnih rezultata neophodna upotreba matriks modifikatora, a smjesa Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>+Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ima značajnu, statistički potvrđenu, prednost u odnosu na ostale ispitivane matriks modifikatore. Prilikom analize specija arsena, razlike u efikasnosti između pojedinih ekstrakcionih sredstava, korištenih prilikom ekstrakcije arsenovih specija iz tkiva lignji, su uglavnom male i bez statistički potvrđene značajnosti da bi se bilo koje od njih mogle posebno izdvojiti ili odbaciti.

4) Očekivani naučni doprinos ove disertacije se odnosi na izvršenu optimizaciju metode određivanja ukupnih količina arsena, kao i separacije i mjerenja sadržaja pojedinih specija arsena u morskim plodovima (rakovi, školjke i lignje) metodom ETAAS, uz dodatak matriks modifikatora, koji su se istraživanjem iskazali efektivnim.

- 1) Ukratko istaći razlog zbog kojih su istraživanja preduzeta i predstaviti problem, predmet, ciljeve i hipoteze;
- 2) Na osnovu pregleda literature sažeto prikazati rezultate prethodnih istraživanja u vezi problema koji je istraživan (voditi računa da obuhvata najnovija i najznačajnija saznanja iz te oblasti kod nas i u svijetu);
- 3) Navesti doprinos teze u rješavanju izučavanog predmeta istraživanja;
- 4) Navesti očekivane naučne i pragmatične doprinose disertacije.

## V MATERIJAL I METODE RADA

1) Imajući u vidu postavljeni cilj i zadatke rada primjenom odgovarajućih eksperimentalnih metoda kandidatkinja je uzorke morskih plodova (rakovi, školjke i lignje), odnosno dio, kupila zaleđen, a drugi dio uzoraka je kupljen svjež. Uglavnom do analize svi uzorci su bili zaleđeni na temperaturi  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Eksperimentalni dio je urađen na Veterinarskom fakultetu u Sarajevu u Laboratoriji za kontrolu hemijskih i bioloških rezidua i kvaliteta namirnica. Nakon odmrzavanja uzoraka, priprema je vršena na način da su odstranjeni nejestivi dijelovi (utrobe, ljuske, glave i kosti), a ostavljeni su samo jestivi dijelovi koji su korišteni za daljnju analizu, a potom je izvršena homogenizacija uzoraka. Raščinjavanje uzoraka (prevođenje u rastvor) za određivanje ukupnog arsena realizovana je mikrotalasnom digestijom (Berghof MW3). U ovako pripremljenim uzorcima određen je ukupni arsen metodom elektrotermalne atomizacije (ETAAS) (PinAAcle 900T, THGA, Graphite furnace AS 800, Perkin Elmer). Putem određivanja iskoristivosti (*recovery*-faktora) izvršena je kontrola kvaliteta dobijenih rezultata ispitivanja, a pri tom je korišten sertifikovani referentni materijal ERM-CE278k - tkivo školjki.

S obzirom na postavljeni cilj, odnosno analiza različitih uzoraka na prisustvo arsena i kvantifikacija specija arsena uz dodatak različitih matriks modifikatora metodom ETAAS, sastoji se od nekoliko ključnih koraka od kojih prvi predstavlja ekstrakcija. Korištena ekstrakciona sredstva su odabrana kao predstavnici različitih grupa u zavisnosti od poznatih fizičko-hemijskih karakteristika ekstrakcije: ekstrakcija vodom, vodeno-organska ekstrakcija, kiselinska ekstrakcija i bazna ekstrakcija.

Ekstrakcija arsenovih specija rastvorljivih u vodi iz CRM materijala rađena je na taj način da je odvagano 0,2 g tkiva školjki - ERM-CE278k, a 0,3 g je vagano tkiva ribe-BCR 627. Na to je dodano 10 mL vode te vršena ekstrakcija u vodenom kupatilu zagrijanom na  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 10 minuta. Nakon ekstrakcije rađeno je centrifugiranje ovih referentnih materijala 15 min na 4000 obrtaja. Potom je supernatant prenešen u posude od 10 mL te vršena analiza na sadržaj specija arsena rastvorljivih u vodi metodom ETAAS bez dodatka matriks modifikatora i uz dodatak matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  i smjese matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . Ekstrakcija arsenovih specija rastvorljivih u vodi iz uzoraka rađena je na taj način da je odvagano 0,5 g uzorka i na to dodano 10 mL vode te vršena ekstrakcija u vodenom kupatilu zagrijanom na  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 10 minuta. Nakon ekstrakcije rađeno je centrifugiranje uzoraka 15 min na 4000 obrtaja. U dobijenom supernatantu je vršena analiza na specije arsena rastvorive u vodi metodom ETAAS uz dodatak matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  i smjese matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ .

Ekstrakcija organskih specija arsena rastvorljivih u metanolu iz CRM materijala je rađena na taj način da je vagano 0,2 g tkiva školjki - ERM-CE278k, 0,3 g tkiva ribe - BCR 627. Na to je dodano po 10 mL smjese metanola i vode u omjeru 1:1 te je vršena ekstrakcija u vodenom kupatilu zagrijanom na  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ , u trajanju od 10 minuta. Nakon ekstrakcije referentni materijali su centrifugirani 15 min na 4000 obrtaja. Potom je supernatant prenešen u posude od 10 mL te vršena analiza na specije arsena metodom ETAAS uz dodatak matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  i smjese matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . Ekstrakcija organskih specija arsena u metanolu u uzorcima je rađena tako da je odvagano 0,5 g uzorka i na to dodano 10 mL smjese rastvora metanola i vode u omjeru 1:1 te je vršena ekstrakcija na sobnoj temperaturi, u trajanju od 10 minuta. Poslije je u supernatantu određen sadržaj organskih specija arsena rastvorljivih u metanolu metodom ETAAS u referentnim materijalima i uzorcima bez dodatka matriks modifikatora i uz dodatak matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  i smjese matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  i u referentnim materijalima i u uzorcima.

Ekstrakcija specija arsena kiselinskom digestijom, odnosno primjenom 2% nitratne kiseline  $\text{HNO}_3$  i 3% vodonik-peroksida  $\text{H}_2\text{O}_2$  iz CRM materijala je rađena na taj način da je izvagano 0,2 g tkiva školjki - ERM-CE278k, 0,3 g tkiva ribe - BCR 627. Na to je dodano 10 mL smjese 2%  $\text{HNO}_3$  i 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ekstrakcija specija arsena kiselinama je rađena na vodenom kupatilu na temperaturi od  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$  u

trajanju od 10 minuta. Nakon ekstrakcije referentni materijali su centrifugirani 15 min na 4000 obrtaja. Potom je supernatant prenesen u posude od 10 mL te vršeno mjerenje na specije arsena nakon kiselinske digestije metodom ETAAS bez matriks modifikatora i sa dodatkom matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  i smjese matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ . Ekstrakcija specija arsena kiselinskom digestijom u uzorcima je rađena tako što je odvagano 0,5g uzorka i na to je dodano 10 mL smjese 2%  $\text{HNO}_3$  i 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Ekstrakcija je rađena na vodenom kupatilu na temperaturi od 90 °C u trajanju od 10 minuta. Nakon ekstrakcije rađeno je centrifugiranje uzoraka 15 min na 4000 obrtaja. Poslije su uzorci ohlađeni, a supernatant odvojen i u istom je rađeno mjerenje specija arsena dobijenih nakon kiselinske digestije metodom ETAAS. Mjerenje je rađeno bez matriks modifikatora i sa dodatkom matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  i smjese matriks modifikatora  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$  i u referentnim materijalima i u uzorcima

Kao jedan od najpouzdanijih postupaka u provjeri tačnosti korištenih metoda je svakako upotreba sertifikovanih referentnih materijala (tkivo školjki - ERM-CE278k i tkivo ribe - BCR 627). Upravo je na ovaj način provjerena efikasnost ekstrakcije ekstrahovanih specija kod svakog od upotrijebljenih ekstrakcionih sredstava te dobijene vrijednosti upoređene sa literaturnim izvorima.

Svi dobijeni rezultati obrađeni su pomoću softverskog paketa SPSS 23.0 (IBM Corp, Armonk, NY, USA) i predstavljeni su tabelarno, grafički u vidu slika.

2) Primijenjene metode istraživanja su adekvatne, dovoljno precizne i tačne i savremene ako se uzmu u obzir dostignuća u ovom polju istraživanja na globalnom nivou, uz aplikaciju postavki mjeriteljstva u hemiji. Poštovan je plan istraživanja, koji je dat prilikom prijave doktorske teze. Ispitivani parametri daju dovoljno elemenata za pouzdano istraživanje, a statistička obrada podataka je adekvatna.

1) Objasniti materijal koji je obrađivan, kriterijume koji su uzeti u obzir za izbor materijala;

2) Dati kratak uvid u primijenjeni metod istraživanja pri čemu je važno ocijeniti sljedeće:

1. Da li su primijenjene metode istraživanja adekvatne, dovoljno tačne i savremene, imajući u vidu dostignuća na tom polju u svjetskim nivoima;
2. Da li je došlo do promjene u odnosu na plan istraživanja koji je dat prilikom prijave doktorske teze, ako jeste zašto;
3. Da li ispitivani parametri daju dovoljno elemenata ili je trebalo ispitivati još neke, za pouzdano istraživanje;
4. Da li je statistička obrada podataka adekvatna.

## VI REZULTATI I NAUČNI DOPRINOS ISTRAŽIVANJA

U okviru ovog rada posmatran je uticaj dodatka različitih matriks modifikatora na rezultate ukupnog arsena u morskim plodovima (rakovi, školjke i lignje), a potom uticaj dodatka različitih matriks modifikatora na specije arsena ovisno o ekstrakcionom sredstvu i matriksu uzorka i određivanjem metodom ETAAS.

Prilikom ekstrakcija specija arsena različitim ekstrakcionim sredstvima i nakon evaluacije dobijenih rezultata i podataka prikupljenih iz literature zaključeno je da korištenje vode kao ekstrakcionog sredstva, na temperaturi od 90 °C u trajanju od 10 minuta, daje pouzdane rezultate ekstrakcije specija arsena topivih u vodi te da je iste preporučljivo koristiti u daljnjim analizama navedene grupe arsenovih specija. Dobijeni rezultati i navedeni literaturni podaci jasno govore u prilog tvrdnji da organskim specijama arsena, najviše pogoduje ekstrakcija metanolom. Povećanje temperature i koncentracije metanola u rastvoru povećati će i efikasnost omogućavajući dodatno ekstrakciju i drugih specija izuzev navedenih. Samim tim može se zaključiti da rastvor umjerene koncentracije metanola (50%) korišten pri sobnoj temperaturi predstavlja optimalan izbor za ekstrakciju organskih specija arsena, pa je odlučeno da će se isti koristiti u navedenu svrhu u daljnjim analizama u ovom radu. Korištenje otopina neorganskih kiselina jasan je izbor ukoliko se želi postići efikasna ekstrakcija neorganskih specija arsena. S obzirom da na opisane razlike u efikasnosti između kiselina i uticaj koje vrsta uzorka, koncentracija kiseline, temperatura i vrijeme ekstrakcije mogu imati, odlučeno je da se daljnje ispitivanje uzoraka može nastaviti sa 2%  $\text{HNO}_3$  u 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  kao odabranim ekstrakcionim sredstvom za dobijanje arsenovih specija nakon kiselinske digestije.

Korištenje matriks modifikatora ima značajan uticaj na zabilježene vrijednosti specija arsena u tkivu rakova u odnosu na rezultate kada modifikator nije dodavan. S druge strane, nije utvrđena značajna razlika između  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2$  i smjese  $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 + \text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ , bez obzira koje je ekstrakciono sredstvo



korišteno u analizi. Upotreba različitih ekstrakcionih sredstava također ima značajan uticaj na zabilježene vrijednosti specija arsena u tkivu rakova. Korištenjem 2% HNO<sub>3</sub> u 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dobija se u prosjeku od 11 do 13% veća efikasnost ekstrakcije u odnosu na 50% metanol, te od 35 do 42% veća efikasnost u odnosu na ekstrakciju vodom, bez obzira na korišteni matriks modifikator.

U tkivu školjki prilikom korištenja Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> najefikasnija ekstrakcija je postignuta vodom, ali opet sa veoma malom razlikom od 1,62 i 2,25%, te bez utvrđene statističke značajnosti u odnosu na ekstrakcije sa nitratnom kiselinom i metanolom, respektivno. Najveće koncentracije arsenovih specija su zabilježene nakon ekstrakcije nitratnom kiselinom, veće za 33,80 i 38,85% u odnosu na ekstrakcije metanolom i vodom. Dobijeni rezultati jasno govore u prilog značajne uloge matriks modifikatora u mjerenju vrijednosti arsenovih specija u tkivu školjki. U tom kontekstu jasno se odvajaju rezultati dobijeni korištenjem smjese Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> sa izraženim i statistički potvrđenim razlikama u odnosu na druge ispitivane opcije. S druge strane nisu primjećene razlike u rezultatima na osnovu kojih bi se mogla napraviti jasna distinkcija između ispitivanih ekstrakcionih sredstava.

U tkivu lignji, opisani trend gradacije efikasnosti u skladu sa primjenom različitih ekstrakcionih sredstava, nije više toliko jasno i stepenasto ograničen kao kod školjki, već su promjene puno blaže i postepenije. Najniža efikasnost ponovo je zabilježena u analizama u kojima nisu korišteni matriks modifikatori, a kretala se u rasponu od 32,83% za ekstrakcije vodom, do 34,89% za ekstrakcije nitratnom kiselinom. Vrijednosti dobijene nakon korištenja Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> su se ponovo našle u sredini sa efikasnošću od oko 50%. Kao po pravilu najveća efikasnost se pojavljuje u analizama kada se koristi smjesa Pd(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> + Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Kod lignji se ona kreće u rasponu od 63,37% za metanol, do 76,34% za nitratnu kiselinu.

Izvršena je optimizacija ekstrakcije i mjerenja sadržaja pojedinih specija arsena odabirom pogodnog ekstrakcionog sredstva, temperature i vremena ekstrakcije i korištenog matriks modifikatora. Utvrđene su sljedeće specije: arsena ekstraktibilnog toplom vodom, rastvorom metanola (smjese metanola i vode u omjeru 1:1), kiselinskom (2% nitratna kiselina, HNO<sub>3</sub> i 3% vodonik-peroksida, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) i baznom ekstrakcijom (0,1% TMAH- tetrametilamonijum-hidroksid).

2) Dobijeni rezultati su jasno prikazani, pravilno, logično i jasno tumačeni i poređeni sa rezultatima drugih autora.

3) Praktični doprinos ovih istraživanja je moguća aplikacija optimizirane metode određivanja sadržaja ukupnih količina i različitih specija arsena u morskim plodovima, obzirom na vrlo toksično djelovanje arsena na zdravlje ljudi i obavezu analize navedenih medija (rakovi, školjke i lignje), prije njihovog davanja na tržište.

Originalnost doktorske disertacije provjerena je programom za plagijatorstvo, čiji rezultat je pokazao **indeks sličnosti od 0%**. Takođe, mr Dinaida Tahirović u proteklom periodu je koautor dva originalna naučna rada iz uže naučne oblasti doktorske teze, u međunarodnim časopisima indeksiranim u *Web of Science* citatnoj bazi:

1. D. Hajrić, M. Smajlović, B. Antunović, A. Smajlović, D. Alagić, **D. Tahirović**, D. Brenjo, E. Članjak-Kudra, J. Djedjibegović, A. Porobić, V. Poljak, Risk assessment of heavy metal exposure via consumption of fish and fish products from the retail market in Bosnia and Herzegovina, *Food Control*, Volume 133, Part B, 2022, 108631, <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108631> (IF 5,548).
2. J. Djedjibegović, A. Marjanović, **D. Tahirovic**, K. Čaklovica, A. Turalic, A. Lugusić, E. Omeragić, M. Sober, F. Čaklovica, Heavy metals in commercial fish and seafood products and risk assessment in adult population in Bosnia and Herzegovina, *Scientific Reports*, Volume 10, 2020, 13238, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70205-9> (IF 4,380).

Trenutno se još jedan rad, takođe u časopisu sa SCI-E liste, pod nazivom: „Arsenic in seafood from the market of Sarajevo, Bosnia and Herzegovina - influence of different matrix modifiers on the measured concentration” autora **D. Tahirović**, M. Balaban, T. Muhić Šarac, E. Članjak, M. Smajlović, F. Čaklovica, V. Antić nalazi na recenziji (od 31.01.2022. godine).

- 1) Ukratko navesti rezultate do kojih je kandidat došao;
- 2) Ocijeniti da li su dobijeni rezultati jasno prikazani, pravilno, logično i jasno tumačeni, upoređujući sa rezultatima drugih autora i da li je kandidat pri tome ispoljavao dovoljno kritičnosti;
- 3) Posebno je važno istaći do kojih novih saznanja se došlo u istraživanju, koji je njihov teorijski i praktični doprinos, kao i koji novi istraživački zadaci se na osnovu njih mogu utvrditi ili nazirati.

## VII ZAKLJUČAK I PRIJEDLOG

1) Doktorska disertacija mr Dinaide Tahirović pod nazivom „Određivanje specija arsena u morskim plodovima metodom ETAAS uz upotrebu različitih matriks modifikatora” urađena je prema pravilima naučnoistraživačkog rada i rezultat je originalnog naučnog rada kandidata. Pored toga, kandidatkinja je precizno i logički analizirala predloženu temu istraživanja i podatke dovela u vezu sa postavljenom hipotezom.

Dobijeni rezultati jasno su ukazali da je optimizirana metoda ETAAS za određivanja arsena (ukupnog oblika i različitih specija) iz morskih plodova, adekvatna, precizna i tačna na nivou zahtjevanih koncentracija relevantnom međunarodnom legislativom koja se bavi sigurnošću hrane.

2) Na osnovu ukupne ocjene disertacije Komisija predlaže Naučno-nastavnom vijeću da prihvati doktorsku disertaciju pod nazivom “Određivanje specija arsena u morskim plodovima metodom ETAAS uz upotrebu različitih matriks modifikatora”, **prihvati**, i da kandidatkinji mr Dinaidi Tahirović odobri odbranu.

1) Navesti najznačajnije činjenice što tezi daje naučnu vrijednost, ako iste postoje dati pozitivnu vrijednost samoj tezi;

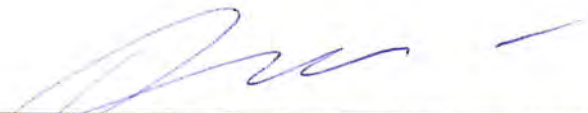
2) Na osnovu ukupne ocjene disertacije komisija predlaže:

- da se doktorska disertacija prihvati, a kandidatu odobri odbrana,
- da se doktorska disertacija vraća kandidatu na doradu (da se dopuni ili izmijeni) ili
- da se doktorska disertacija odbija.

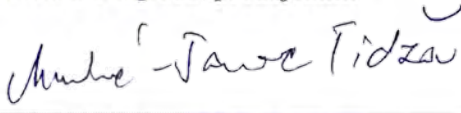
Datum: maj, 2022. godine

## POTPIS ČLANOVA KOMISIJE


1.

  
Dr-Đragan Manojlović, redovni profesor, Hemijski fakultet  
Univerziteta u Beogradu, **predsjednik**

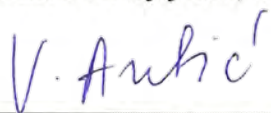
2.

  
Dr Tidža Muhić Šarac, redovni profesor u penziji, Prirodno-  
matematički fakultet Univerziteta u Sarajevu, mentor-**član**

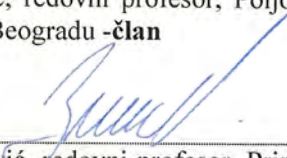
3.

  
Dr Milica Balaban, vanredni profesor, Prirodno-matematički  
fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, mentor-**član**

4.

  
Dr Vesna Antić, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet  
Univerziteta u Beogradu -**član**

5.

  
Dr Saša Zeljković, redovni profesor, Prirodno-matematički  
fakultet u Banjoj Luci -**član**

IZDVOJENO MIŠLJENJE: Član komisije koji ne želi da potpiše izvještaj jer se ne slaže sa mišljenjem većine članova komisije, dužan je da unese u izvještaj obrazloženje, odnosno razlog zbog kojih ne želi da potpiše izvještaj.