

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ

Број захтева: 461/8-5.1.

Датум: 24.05.2017.

ВЕЋЕ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ
БИОТЕХНИЧКИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на предлог теме докторске дисертације
за кандидата на докторским студијама**

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 3. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12, 172/13 и 178/14), дате сагласност на предлог теме докторске дисертације: насловом: **„Истовремено одређивање охратоксина А и остатака пестицида у грожђу и вину LC-MS/MS техником”**.

Научна област: Фитомедицина

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

БОЈАНА (Драган) ШПИРОВИЋ ТРИФУНОВИЋ

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета, студијски програм):

Универзитет у Београду – Хемијски факултет

Студијска група Дипломирани хемичар

3. Година дипломирања:

2005. година

4. Година уписа на докторске студије:

2010/2011.

5. Назив студијског програма докторских студија:

Пољопривредне науке, модул Фитомедицина

ПОДАЦИ О ПРВОМ МЕНТОРУ

Име и презиме: **др Драгица Бркић**

Звање: **ванредни професор**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Tunić, T., Knežević, V., Kerkez, Đ., Tubić, A., Šunjka, D., Lazić, S., **Brkić, D.**, Teodorović, I. (2015): Some arguments in favour of *Myriophyllum aquaticum* growth inhibition test in water - sediment system as an additional test in risk assessment of herbicides. Environ. Toxicol. Chem., **34**(9), 2104-2115.
2. **Brkić, D.**, Szakonyne-Pasics, I., Gašić, S., Teodorović, I., Rašković, B., Brkić, N., Nešković, N. (2015): Subacute and Subchronic Toxicity of Avalon[®] Mixture (Bentazon + Dicamba) to Rats. Environ. Toxicol. Pharmacol., **39**(3), 1057-1066.
3. Nešković, N., Gašić, S., **Brkić, D.**, Pavlovski, Z., Cmiljanić, R. (2013): Effects of Dietary Cypermethrin on Chickens. Acta Vet, **63**(2-3), 325-335.
4. **Brkić, D.**, Vitorović, S., Gašić, S., Nešković, N. (2008): Carbofuran in Water: Subchronic Toxicity to Rats. Environ. Toxicol. Pharmacol., **25**(3), 334-341.
5. Gašić, S., Budimir, M., **Brkić, D.** i N. Nešković (2002): Residues of Atrazine in Agricultural Areas of Serbia. J. Serb. Chem. Soc., **67**(12), 887-892.

ПОДАЦИ О ДРУГОМ МЕНТОРУ

Име и презиме: **др Горица Вуковић**

Звање: **научни сарадник**

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Gvozdenac S., Bursic V., **Vukovic G.**, Djuric S., Goncalves C., Jovicic D., Tanaskovic S. (2016): Phytotoxic effects of irrigation water depending on the presence of organic and inorganic pollutants. Environmental Science and Pollution Research 23(18): 18596 - 18608.
2. Malencic D., Kiproviski B., Bursic V., **Vukovic G.**, Hristov N., Kondic-Spika A. (2016): Whole grain phenolics and antioxidant activity of Triticum cultivars and wild accessions. Journal of the Serbian Chemical Society 81(5): 499 - 508.

3. Stojanovic Z., Djurovic A., Kravic S., Grahovac N., Suturovic Z., Bursic V., **Vukovic G.**, Brezo T. (2016): A simple and rapid electrochemical sensing method for metribuzin determination in tap and river water samples. *Analytical Methods* 8(12): 2698 - 2705.
4. **Vukovic G.**, Shtereva D., Bursic V., Mladenova R., Lazic S. (2012): Application of GC-MSD and LC-MS/MS for determination of priority pesticides in baby foods in Serbian market. *LWT-Food Science and Technology* 49(2): 312 - 319.
5. **Vukovic G.**, Pavlovic S., Ristic M. (2009): Comparison of two sample preparation procedures for HPLC determination of ochratoxin A. *Archives of Biological Sciences* 61(4): 639 - 644.

У случају менторства дисертације на докторским студијама у групацији техничко-технолошких, природно-математичких и медицинских наука ментор треба да има најмање пет радова са SCI, SSCI, AHCI или SCIE листе, као и Math-Net.Ru лист

Обавештавамо вас да је Наставно-научно веће Пољопривредног факултета на седници одржаној 24.05.2017. године размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације, јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Милица Петровић

Универзитет у Београду
ПОЉОПРИВРЕДНИ ФАКУЛТЕТ
Број: 461/8-5.1.
Датум: 24.05.2017. године
БЕОГРАД-ЗЕМУН

На основу Закона о високом образовању, члана 34. став 2. Правилника о правилима академских студија другог и трећег степена и члана 44. став 15. Статута Пољопривредног факултета, Наставно-научно веће факултета на седници одржаној 24.05.2017. године, донело је

О Д Л У К У

ПРИХВАТА СЕ извештај о позитивној оцени пријаве теме докторске дисертације коју је поднела **БОЈАНА ШПИРОВИЋ ТРИФУНОВИЋ, спец.** и одобрава израда дисертације по добијању сагласности од Универзитета под насловом: **«ИСТОВРЕМЕНО ОДРЕЂИВАЊЕ ОХРАТОКСИНА А И ОСТАКА ПЕСТИЦИДА У ГРОЖЉУ И ВИНУ LC-MS/MS ТЕХНИКОМ».**

За првог ментора се именује др Драгица Бркић, ванредни професор.

За другог ментора се именује др Горица Вуковић, научни сарадник Градског завода за јавно здравље у Београду.

**ПРЕДСЕДНИК
НАСТАВНО-НАУЧНОГ ВЕЋА
ДЕКАН**

(Проф. др Милица Петровић)

Доставити: кандидату, менторима, Институту за фитомедицину, Студентској служби и архиви.

**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ
ПОЉОПРИВРЕДНОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

03.05.2017. године

Предмет: Извештај Комисије за оцену пријаве теме докторске дисертације кандидата
Бојане Шпировић Трифуновић, специјалисте хемијских наука

Одлуком Наставно-научног већа Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, бр. 461/6-3.2. од 29.03.2017. године, именовани смо у Комисију за оцену пријаве докторске дисертације Бојане Шпировић Трифуновић, специјалисте хемијских наука, под насловом: „Развој методе за истовремено одређивање присуства **охратоксина А и остатака пестицида у грожђу и вину LC-MS/MS техником**“.

На основу увида у садржај пријаве докторске дисертације, Комисија у саставу др Драгица Бркић, ванредни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, др Горица Вуковић, научни сарадник Градског завода за јавно здравље, Београд и др Сања Лазић, редовни професор Пољопривредног факултета Универзитета у Новом Саду, подносимо Наставно-научном већу Пољопривредног факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

ПРИКАЗ И АНАЛИЗА ПРИЈАВЕ

1. Наслов дисертације

Комисија предлаже малу корекцију наслова: „**Истовремено одређивање охратоксина А и остатака пестицида у грожђу и вину LC-MS/MS техником**“.

2. Предмет и програм истраживања

У пријави докторске дисертације кандидат указује на чињеницу да је, према подацима из 2016. године, за примену у Србији регистровано 69 активних супстанци фунгицида и зооцида, који су формулисани у 203 различита средстава за заштиту биља за примену у виновој лози (Спасић, 2016). За примену фунгицида је веома битно да имају широк спектар деловања и дуг период стабилности, чиме се обезбеђује боља ефикасност и мања учесталост примене. Због различитих механизма деловања, пестициди се везују за различите делове грозда, па се за контактне пестициде очекује већа количина остатака на pokožици, док се већа количина остатака у пулпи очекује за системичне (González-Rodríguez et al., 2009). Да би били сигурни да присутна количина остатака пестицида не представља ризик по здравље људи, односно да су производи здравствено безбедни, неопходно је вршити сталну контролу њиховог присуства у гајеним биљкама. Због тога је потребно развијати поуздане, осетљиве и селективне методе за њихово одређивање.

Кандидат у наставку текста указује на чињеницу да се, због све веће заинтересованости потрошача за храну из органске производње, јавила потреба и за испитивањем разлике у садржају микотоксина у тако добијеној храни и храни из

конвенционалне производње. Наиме, због специфичности органске производње, и готово потпуног искључења пестицида, повећан је ризик од контаминације плодова микотоксинима. Резултати испитивања аутора широм света указују на чињеницу да се у храни произведеној по принципима органске пољопривреде могу наћи микотоксини, док се у производима из конвенционалне пољопривреде могу наћи повећане количине остатака синтетичких супстанци - пестицида (Elmholt and Rasmussen, 2005; Jorgensen, 2005; Juan et al., 2008). С друге стране, постоје и аутори који тврде да не постоји јасна веза између органске производње и присуства микотоксина (Czerwiecki et al., 2002a; Czerwiecki et al., 2002b; Chiodini et al., 2006; Pussemier et al., 2006), а постоје и истраживања којима је утврђено присуство микотоксина и у храни произведеној на конвенционалан начин и у храни из органске производње (Biffi et al., 2004; Juan et al., 2008). Због свега реченог, потребно је вршити сталну контролу присуства микотоксина и остатака пестицида и упознати потрошаче са ризицима по здравље који могу бити последица и једног и другог начина производње.

Докторанд указује на чињеницу да произвођачи грожђа у органској производњи, да би спречили повећан развој гљива које производе микотоксине, бирају сорте које су отпорније на болести јер се квалитет органске производње, због могућности појаве микотоксина, може довести у питање. Један од веома значајних микотоксина је охратоксин А (ОТА), токсични метаболит који продукују гљиве из родова *Aspergillus* (као што су *A. ochraceus*, *A. carbonarius*, *A. niger* или *A. flavus*) и *Penicillium* (*P. verrucosum*), а среће се, између осталог, у грожђу и вину (Zimmerli and Dick, 1996). Међународна агенција за испитивање канцера (IARC - International Agency for Research on Cancer) га је класификовала у групу 2Б, групу могућих карциногена за људе, јер постоји довољно података који потврђују његову карциногеност за експерименталне животиње (IARC, 2017). Поред карциногеног деловања, литературни подаци на експерименталним животињама указују на његово нефротоксично, имunosупресивно, репротоксично и токсично деловање на раст и развој. Такође, делује и генотоксично, што је потврђено у експериментима *in vivo* и *in vitro*. Токсичност ОТА зависи од дозе, а за процену ризика је врло важно знати која количина овог микотоксина се може наћи у грожђу и вину, јер је њихова конзумација, значајан пут изложености људи охратоксину А (Zimmerli and Dick, 1996; Valero et al., 2008). Изложеност охратоксину А путем исхране се може пратити анализом његовог присуства у намирницама или индиректно анализом његових маркера у биолошком материјалу (урин, крв, млеко) (Ghali et al., 2008; Ali et al. 2017).

Најефикаснији начин анализе остатака пестицида је употребом мултирезидуалних метода (MRM) (Economidou et al., 2009). Захтеви које мора испунити MRM метода, у смислу селективности и осетљивости, као и потврда резултата, успешно се постижу течном (LC) или гасном (GC) хроматографијом куплованом са масеним спектрометром (MS или MS/MS) (Alder et al., 2006). Међутим, одређивање остатака пестицида, који имају различиту хемијску структуру и различита физичко-хемијска својства, захтева припрему узорака која није једноставна и лако примењива на различита једињења. То се постиже различитим поступцима екстракције, као што су течно-течна екстракција (LLP), дисперзиона екстракција на чврстој фази (dSPE), течна микроекстракција на влакну (LPME), микроекстракција на чврстој фази (SPME) или QuEChERS (Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe) метода (Anastassiades et al., 2003; Payá et al., 2007).

Такође, кандидат наводи да постоји неколико различитих метода за екстракцију охратоксина А из различитих намирница. Ове методе углавном укључују екстракцију растварачима, као што су смесе дихлорметана са натријум бикарбонатним пуфером (Ghali et al., 2008), ацетонитрил - вода, метанол - фосфорна и метанол - мравља киселина, хлороформ и раствор фосфатног пуфера (PBS). За пречишћавање се најчешће користи екстракција на чврстој фази преко анјон-измењивачких колона (SAX), силика гела, C8 и имуноафинитетних колона (Tam et al., 2011). Детекција и одређивање количине ОТА се

врше помоћу течне хроматографије са флуоресцентним детектором (LC-FLD) (Juan et al., 2008), течне хроматографије са масеним спектрометром (са једним квадруполом „Single Quadrupole“ LC-MS, или троструким квадруполом, „Triple Quad“ LC-MS/MS) (Tam et al., 2011). За потврду присуства охратоксина А се користи LC-MS/MS техника, или се охратоксин А преводи у метил охратоксин А и одређује течноом хроматографијом са флуоросцентним детектором (HPLC-FLD).

Кандидат наводи да је планом ове докторске дисертације предвиђен развој и оптимизација методе за истовремену анализу остатака пестицида и присуства охратоксина А у грожђу и вину из конвенционалне и органске производње. Наводи се да ће испитивања обухватити седам активних супстанци фунгицида, из шест различитих хемијских група, које се користе у заштити винове лозе: азоксистробин (стробилурин), боскалид (карбоксиамид), цимоксанил (карбамид), ципродинил и пириметанил (анилинпиримидини), флудиоксонил (фенилпирол), металаксил-М (ацилаланин) и један зооцид из групе мети акарицида - пиридабен. Остаци пестицида и ОТА у грожђу и вину ће се одређивати применом течне хроматографије купловане са масеним спектрометром (LC-MS/MS). У Републици Србији, нема података о остацима пестицида нити ОТА у грожђу и вину, из конвенционалне и органске производње.

3. Научни циљ истраживања

Циљ истраживања у оквиру ове докторске дисертације је развој и оптимизација мултирезидуалне инструменталне методе која је осетљива и селективна за истовремено испитивање остатака активних супстанци пестицида и ОТА у грожђу и вину.

Такође, циљ рада је и избор методе за истовремену екстракцију остатака пестицида и ОТА из истог узорка грожђа, односно вина. Поредиће се методе екстракције ОТА QuEChERS китовима и помоћу BondElut Micotoxin китова, као и пречишћавање преко dSPE колоне за воће и поврће, пигментисане и масне узорке. Припрема узорка, мора да буде брза и ефикасна и да задовољи параметре неопходне за оптимизацију аналитичке методе дефинисане у европском законодавству [SANTE/11945/2015 и Comm. Reg. (EC) No 401/2006]. Пажња је посвећена прилагођавању примене QuEChERS методе за екстракцију ОТА, чиме би се избегла употреба имуноафинитетних колоне и знатно смањила цена анализе, а да се при том не изгуби на осетљивости методе. Циљ је, такође, и да принос екстракције, за што већи број анализе, буде близу 100%, а и да се припремом узорка у задовољавајућој мери уклоне нечистоће, како би се повећала селективност и избегао нежељени утицај матрикса. Поступак пречишћавања, у исто време, мора у довољној мери да концентрује узорак у циљу повећања осетљивости методе.

Циљ рада је и практична примена развијене и оптимизоване MRM методе за одређивање количине остатака активних супстанци пестицида и ОТА у реалним узорцима грожђа и вина, из конвенционалне и органске производње. На тај начин ће се у узорцима из конвенционалне производње проверити да ли су средства за заштиту биља примењена у складу са добром пољопривредном праксом, односно да ли су њихови остаци у складу са прописаним максимално дозвољеним количинама остатака (МДК вредности). На узорцима из производње по органским принципима ће се проверити да ли је било недозвољене примене пестицида.

Поређењем добијених резултата присуства ОТА у грожђу и вину из конвенционалне и органске производње видеће се да ли примена пестицида има утицаја на његово настајање. Такође, утврдиће се да ли постоји зависност између сорте грожђа и појаве ОТА. Развијена и оптимизована MRM метода, допринеће рутинској контроли узорака на тржишту, ради праћења изложености потрошача како остацима пестицида, тако и микотоксинима.

4. Основне хипотезе од којих се полази

Полази се од следећих хипотеза:

- 1) Када је у питању органска производња контролишу се остаци пестицида, али не и присуство микотоксина.
- 2) Истовремена екстракција остатака пестицида и ОТА из истог узорка грозђа, односно вина, је изводљива.
- 3) Истовремено одређивање остатака пестицида и ОТА у узорцима грозђа и вина је могуће.
- 4) Применом QuEChERS-методе за екстракцију ОТА може се избећи употреба имуноафинитетних колона и знатно смањити цена анализе, а да се при томе не изгуби на осетљивости методе.
- 5) Принос екстракције применом QuEChERS методе ће за већину анализата бити у опсегу 70-120% (захтев регулативе за оптимизацију аналитичке методе).
- 6) Биће задовољени сви критеријуми неопходни за оптимизацију MRM методе.
- 7) Припремом узорака ће бити уклоњене примесе и смањен утицај матрикса.
- 8) Пречишћавање узорка ће у довољној мери концентровати узорак и повећати осетљивост методе.
- 9) MRM метода ће бити примењива у рутинској контроли узорака на тржишту, за праћење изложености потрошача остацима пестицида и ОТА.

5. Материјал и методе рада

5.1. Материјал

У изради ове докторске дисертације користиће се активне супстанце: азоксистробин (чистоћа аналитичког стандарда 99,7%), боскалид (99,0%), цимоксанил (97,5%), ципродинил (99,9%), флудиоксонил (99,9%), металаксил-М (99,1%), пириметанил (100%), пиридабен (99,9%), охратоксин А (концентрације 10,13 µg/ml) и интерни стандард карбофуран-D3 (99,7%).

5.2. Методе

5.2.1. Узорковање

Узорци грозђа из конвенционалне производње ће бити прикупљени са седам локалитета и обухватиће 23 винске сорте (11 црних и 12 белих). Локалитети са којих ће бити прикупљани узорци се налазе у различитим виногорјима Србије. Списак примењених средстава за заштиту биља на сваком локалитету ће бити достављен пре почетка узорковања. Узорковање грозђа ће се вршити 2016. године, а вина 2017. године и то са локалитета: Сремски Карловци, Радмиловац, Голобок, Заклопача, Топола, Доње Злегиње и Мала Сугубина. Укупно ће бити испитано 25 узорака грозђа из конвенционалне производње. Двадесет узорака вина произведених од грозђа из конвенционалне производње биће, такође, прикупљени из ових седам локалитета. Узорковање грозђа из органске производње ће бити изведено на 2 локалитета. Укупно ће бити испитани узорци грозђа 4 различите сорте и 4 врсте вина из истих локалитета. Остаци пестицида и присуство ОТА биће испитани у свих 29 узорака грозђа и 24 узорка вина, који ће се узорковати у по пет подузорака (укупно 145 узорака грозђа и 120 узорака вина). Лабораторијски узорци за анализу ће бити припремани у два понављања.

Узорковање, односно добијање репрезентативног узорка је од велике важности за добијање поузданих резултата. Такође, неопходно је водити рачуна о даљем руковању, чувању, припреми и узимању узорака за анализу. Према Уредби Европске уније 63/2002,

приликом одређивања садржаја пестицида у грожђу као матриксу, потребно је формирати репрезентативни почетни узорак од минимум 2 килограма, који се у полиетиленским кесама транспортује до лабораторије и чува у замрзивачу до момента анализе. Код анализе грожђа користи се цео плод. Хомогенизовањем узорка, добија се смеша од које се узима лабораторијски узорак, из кога се формира аналитички узорак за анализу. Количина аналитичког узорка, који се узима за анализу је 10 грама према методи Anastassiades et al. (2003).

5.2.2. Припрема узорака

За припрему узорака за анализу остатака пестицида ће се користити QuEChERS метода (Anastassiades et al., 2003). Екстракција се изводи употребом ацетонитрила као екстракционог растварача у присуству соли магнезијум сулфата и натријум хлорида. Други корак је пречишћавање екстракта које се врши методом дисперзионе екстракције на чврстој фази помоћу магнезијум сулфата и примарних-секундарних амина. За екстракцију ће се користити QuEChERS Extract Tubes китови (EN Method, 5982-5650, USA), а за пречишћавање узорака Dispersive SPE, 2 ml, Pigment Samples (5982-5221, USA) и Dispersive SPE, 2 ml, Fruits and Veg (EN, 5982-5021, USA).

Поред испитивања остатака пестицида, предмет истраживања докторске дисертације биће и развој методе за екстракцију, пречишћавање и одређивање садржаја ОТА у грожђу и вину и његова детекција течноом хроматографијом са масеном спектрометријом (LC-MS/MS).

Испитаће се могућност примене QuEChERS методе за припрему узорака за одређивање присуства ОТА, као знатно јефтиније и брже у односу на припрему помоћу имуноафинитетних колона.

Поредиће се методе екстракције ОТА QuEChERS китовима и помоћу BondElut Micotoxin китова, као и пречишћавање преко dSPE колона за воће и поврће, пигментисане и масне узорке.

5.2.3. Развој методе

Како бисмо са сигурношћу могли да одредимо остатке пестицида и присуство ОТА у узорцима грожђа и вина, оптимизација методе је први корак у добијању поузданих резултата. Типични параметри оптимизације аналитичких метода су: линеарност одзива детектора, граница одређивања (LOD), граница мерења (LOQ), селективност, прецизност, опсег мерења, тачност (одређена преко приноса екстракције, *recovery*), истинитост и утицај матрикса у складу са смерницама SANTE/11945/2015 документа. Сви ови параметри ће бити одређени приликом оптимизације методе.

5.2.4. Одређивање концентрације остатака пестицида и ОТА

Концентрације остатака активних супстанци пестицида и ОТА биће испитиване методом течне хроматографије (Agilent 1260 Infinity) са троструким квадруполом (Agilent 6460 Triple Quad LC/MS).

5.2.5. Статистичка обрада резултата

Од статистичких анализа биће рађено одређивање средње вредности, стандардне девијације и релативне стандардне девијације коришћењем Microsoft Excel програма. За формирање квалитативног и квантитативног извештаја испитивања користиће се одговарајући програми - Agilent MassHunter Workstation Qual и Quant.

6. Списак литературе која ће се користити: Прилог 1

7. Списак саопштених и објављених научних радова кандидата Бојане Шпировић Трифуновић: Прилог 2

8. Биографија кандидата

Бојана Шпировић Трифуновић је рођена 17.02.1980. године у Краљеву, Република Србија. Гимназију, природно-математички смер, завршила је у Трстенику 1999. године. Хемијски факултет, Универзитета у Београду (смер дипломирани хемичар, група Органска хемија), завршила је 2005. године. Дипломски рад под називом: „Изоловање и одређивање антиоксидативне активности флавона из биљке *Centaurea glaberrima*“, одбранила је на Катедри за органску хемију, са оценом 10. Специјалистичке студије, на истом факултету, завршила је 2008. године. На претходним нивоима студија стекла је просечну оцену 8,11. Резултате из специјалистичког рада „Бисфрагментационе реакције холестеранског и андростанског 5 α ,8 α -ендопероксида под условима микроталасног озрачивања“ објавила је на међународном научном скупу.

У периоду од октобра 2006. до марта 2007. године хонорарно је била ангажована на Пољопривредном факултету Универзитета у Београду, на Катедри за пестициде. Од марта 2007. запослена је као сарадник без сарадничког звања, на истом факултету на Катедри за пестициде. Бави се одређивањем остатака пестицида у различитим матриксама, као и одређивањем садржаја активних супстанци и анализом физичко-хемијских својстава средстава за заштиту биља.

Похађала је више курсева и обука за рад на гасном и течном хроматографу. Усавршила је рад на гасном хроматографу са пламено-јонизујућим (FID), детектором са захватом електрона (ECD), пламено фотометријским (FPD) и азот-фосфорним (NPD) детекторима и течном хроматографу са детектором са диодним зрацима (DAD) и масеним спектрометром (MS/MS). Поседује сертификате са курсева за Процену мерне несигурности, који је организовао Савез хемијских инжењера, 2009. године. Такође је учествовала и на обукама „Capabilities of U-HPLC-MS/MS analysis of contaminants and pharmaceutical compounds in food and the environment“ и „Quality assurance (QA) and quality control (QC) procedures in analysis of contaminants and pharmaceutical compounds in food and the environment“, у организацији EU FP7 CEFSEr, у Новом Саду 2010. године.

Докторске студије на Пољопривредном факултету, Универзитета у Београду, студијски програм Фитомедицина је уписала школске 2010/2011. Објавила је **76** научних радова, уз остварени коефицијент научне компетентности, према критеријумима Министарства науке **46,2**. Члан је Српског хемијског друштва од 2005. и Друштва за заштиту биља Србије од 2007. године.

ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ

На основу чињеница изнетих у пријави докторске дисертације, а које се односе на научни и стручни значај изабране проблематике, актуелност теме, полазних хипотеза, предложеног материјала и метода рада и очекиваних резултата, може се закључити да ће се, у току израде ове дисертације, извршити оптимизација мултирезидуалне инструменталне методе која је осетљива и селективна за испитивање остатака пестицида и ОТА у грозђу и вину. Такође, биће развијена метода за истовремену екстракцију остатака пестицида, синтетичких супстанци неопходних у конвенционалној биљној производњи и ОТА, микотоксина из истог узорка грозђа, односно вина, чиме ће припрема узорака бити брза и ефикасна и задовољиће параметре неопходне за оптимизацију аналитичке методе. Употребом QuEChERS методе за екстракцију ОТА знатно ће се смањити цена анализе, а осетљивост методе ће остати иста. Добијени

резултати ће омогућити проверу правилне примене средства за заштиту биља у складу са добром пољопривредном праксом, односно проверу усклађености нивоа остатака са прописаним МДК вредностима, као и разлику у присуству ОТА у грозђу и вину из конвенционалне и органске производње. На крају, развијена и оптимизована MRM метода допринеће рутинској контроли узорака на тржишту, ради праћења изложености потрошача како остацима пестицида, тако и ОТА.

Истовремено одређивање остатака активних супстанци примењених пестицида и присуства ОТА у грозђу и вину из конвенционалне са једне, и органске производње, са друге стране, врло је важно не само у домену научних истраживања већ и са аспекта практичне примене. По први пут у нашој земљи биће извршено истовремено испитивање великог броја узорака грозђа и вина, из конвенционалне и органске производње, са различитих локалитета, на присуство остатака пестицида и ОТА. Биће утврђено и да ли начин производње утиче на појаву микотоксина, односно да ли постоји веза између примене пестицида и појаве ОТА у конвенционалној и органској производњи. Такође, биће утврђено да ли се количина остатака пестицида и ОТА повећава или смањује процесом производње вина. Са аспекта практичне примене биће омогућен увид у изложеност потрошача и пестицидима и микотоксину из грозђа и вина. На крају, биће могуће и дати препоруку како смањити могућност појаве ОТА у грозђу и у вину.

Полазећи од наведених констатација, Комисија позитивно оцењује поднету пријаву и предлаже Наставно-научном већу Пољопривредног факултета Универзитета у Београду да прихвати и одобри израду докторске дисертације Бојане Шпировић Трифуновић, специјалисте хемијских наука, под насловом „**Истовремено одређивање охратоксина А и остатака пестицида у грозђу и вину LC-MS/MS техником**“. Комисија предлаже за првог ментора при изради ове докторске дисертације др Драгицу Бркић, ванредног професора Пољопривредног факултета Универзитета у Београду, а за другог ментора др Горицу Вуковић, научног сарадника Градског завода за јавно здравље из Београда.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

др Драгица Бркић, ванредни професор Универзитет
у Београду - Пољопривредни факултет
(ужа научна област - Пестициди)

др Горица Вуковић, научни сарадник
Градски завод за јавно здравље, Београд
(ужа научна област - Прехрамбено ижењерство)

др Сања Лазич, редовни професор
Универзитет у Новом Саду - Пољопривредни
факултет
(ужа научна област - Фитофармација)

Прилог 1.

6. Spisak literature koja će se koristiti:

- Alder L., Greulich K., Kempe G., Vieth B. (2006): Residue analysis of 500 high priority pesticides: better by GC-MS or LC-MS/MS? *Mass Spectrometry Reviews* 25(6): 838 - 865.
- Ali N., Muñoz K., Degen H.G. (2017): Ochratoxin A and its metabolites in urines of German adults - An assessment of variables in biomarker analysis. *Toxicology Letters* 275: 19 - 26.
- Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D., Schenck F.J. (2003): Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International* 86(2): 412 - 431.
- Biffi R., Munari M., Dioguardi L., Ballabio C., Cattaneo A., Galli C.L., Restani P. (2004): Ochratoxin A in conventional and organic cereal derivatives: a survey of the Italian market, 2001-02. *Food Additives and Contaminants* 21(6): 586 - 591.
- Chiodini A.M., Scherpenisse P., Bergwerff A.A. (2006): Ochratoxin A content in wine: comparison of organically and conventionally produced products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54: 7399 - 7404.
- Czerwiecki L., Czajkowska D., Witkowska-Gwiazdowska A. (2002a): On ochratoxin A and fungal flora in Polish cereals from conventional and ecological farms. Part 1: occurrence of ochratoxin A and fungi in cereals in 1997. *Food Additives and Contaminants* 19(5): 470 - 477.
- Czerwiecki L., Czajkowska D., Witkowska-Gwiazdowska A. (2002b): On ochratoxin A and fungal flora in Polish cereals from conventional and ecological farms. Part 2: occurrence of ochratoxin A and fungi in cereals in 1998. *Food Additives and Contaminants* 19(11): 1051 - 1057.
- EC (2002): Commission Directive 2002/63/EC. *Official Journal of the European Communities* L187/30: 1 - 14.
- EC (2006): Commission Regulation (EC) 401/2006. Laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs. *Official Journal of the European Union* L70/12: 1 - 23.
- Economou A., Botitsi H., Antoniou S., Tsiipi D. (2009): Determination of multi-class pesticides in wines by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216: 5856-5867.
- Elmholt S., Rasmussen P.H. (2005): *Penicillium verrucosum* occurrence and ochratoxin A contents in organically cultivated grain with special reference to ancient wheat types and drying practice. *Mycopathologia* 159: 421 - 432.
- Ghali R., Hmaissia-khlifa K., Ghorbel H., Maaroufi K., Hedili A. (2008): Incidence of aflatoxins, ochratoxin A and zearalenone in tunisian foods. *Food Control* 19: 921 - 924.
- González-Rodríguez R.M., Cancho-Grande B., Simal-Gándara J. (2009): Multiresidue determination of 11 new fungicides in grapes and wines by liquid-liquid extraction/clean-up and programmable temperature vaporization injection with analyte protectants/gas chromatography/ion trap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1216: 6033 - 6042.
- IARC (2017): Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1-118. International Agency for Research on Cancer, Lyon Cedex, France.
- Jorgensen K. (2005): Occurrence of ochratoxin A in commodities and processed food - a review of EU occurrence data. *Food Additives and Contaminants Supplement* 1: 26 - 30.

- Juan C., Moltó J.C., Lino C.M., Mañes J. (2008): Determination of ochratoxin A in organic and non-organic cereals and cereal products from Spain and Portugal. *Food Chemistry* 107(1): 525 - 530.
- Payá P., Anastassiades M., Mack D., Sigalova I., Tasdelen B., Oliva J., Barba A. (2007): Analysis of pesticide residues using the Quick Easy Cheap Effective Rugged and Safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 389: 1697-1714.
- Pussemier L., Larondelle Y., Van Peteghem C., Huughebaert A. (2006): Chemical safety of conventionally and organically produced foodstuffs: a tentative comparison under Belgian conditions. *Food Control* 17: 14 - 21.
- SANTE (2015): Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed. SANTE11945/2015: 1 - 46.
- Tam J., Pantazopoulos P., Scott P.M., Moisey J., Dabeka R.W., Richard I.D.K. (2011): Application of isotope dilution mass spectrometry: determination of ochratoxin A in the Canadian total diet study. *Food Additives and Contaminants* 28(6): 754 - 761.
- Valero A., Marín S., Ramos A.J., Sanchis V. (2008): Survey: ochratoxin A in European special wines. *Food Chemistry* 108: 593 - 599.
- Zimmerli B., Dick R. (1996): Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. *Food Additives and Contaminants* 3(6): 655 - 668.
- Спасић Р. (2016): Пестициди у пољопривреди и шумарству у Србији. Друштво за заштиту биља. Осамнаесто, измењено и допуњено издање: 502 - 507.

Прилог 2.

7. Списак саопштених и објављених научних радова кандидата

- Bursić V., Vuković G., Petrović A., **Špirović Trifunović B.**, Meseldžija M., Cara M., Petrović M. (2016): Sorbent influence on matrix effects during validation of pesticide residues in sour cherries: statistical approach. *Acta Facultatis Studiorum Humanitatis et Naturae Universitatis Presoviensis. Natural-Science. Biology-Ecology XLIII*: 16 - 21.
- Kostić A.Ž., Pešić M.B., **Špirović Trifunović B.D.**, Barać M.B., Stanojević S.P., Mačukanović Jocić M.P. (2016): Nutritional value of fatty acids presented in pollen collected from different Serbian maize hybrids. The 13th congress of nutrition. Food and nutrition - a roadmap to better health. Book of abstracts. Belgrad, Serbia, pp. 191 - 192.
- Kostić A., Jevtić I., **Špirović Trifunović B.**, Popović Đorđević J., Pešić M., Mačukanović Jocić M. (2016): Fatty acid profiles of pollen collected from six Serbian maize hybrids. The international bioscience conference and the 6th international PSU-UNS bioscience conference - IBSC 2016. Book of abstracts. Novi Sad, Serbia, pp. 322 - 323.
- Bursić V., Ljubojević M., Vuković G., **Špirović Trifunović B.**, Vuković N. (2016): Influence of EMR during QuEChERS pesticide analyses on recoveries in sour cherries. The 11th european pesticide residue workshop. Book of abstracts. Limassol, Cyprus, p. 187.
- Tamaš N., Dojnov B., Margetić A., Vujčić M., **Špirović B.**, Miletić N., Stević M., Vujčić Z. (2015): Resistance to common organophosphate and carbamate insecticides in *Aphis pomi* (Hemiptera: Aphididae). *Fruits* 70(3): 135- 142.
- Vuković G., Bursić V., Meseldžija M., **Špirović Trifunović B.**, Tanasković S. (2015): Pesticide residues in maize by LC-MS/MS. The 21st international symposium on analytical and environmental problems. Proceedings. Szeged, Hungary, pp. 118 - 121.
- Jovanović-Radovanov K., Radojević R., **Špirović Trifunović B.**, Vuković G. (2015): Safety of herbicide use in chamomile. The 2nd international symposium on agricultural engineering. Proceedings. Belgrade, Serbia, pp. IV - 31 - 37.
- Špirović Trifunović B.**, Vuković G., Bursić V., Stojanović Z., Vuković N. (2015): Occurrence of clomazone residues in tobacco. The 7th international symposium on recent advances in food analysis. Book of abstracts. Prague, Czech Republic, p. 423.
- Vuković G., Bursić V., **Špirović Trifunović B.**, Vuković N. (2015): Development and validation of multiresidue method for the determination of multiclass pesticide residues using LC-MS/MS in lemons. The 7th international symposium on recent advances in food analysis. Book of abstracts. Prague, Czech Republic, p. 423.
- Bursić V., Vuković G., Petrović A., **Špirović Trifunović B.**, Meseldžija M., Cara M., Petrović M. (2015): Sorbent influence on matrix effects during validation of pesticide residues in sour cherries: statistical approach. International scientific conference "New trends in the ecological and biological research". Book of abstracts. Prešov, Slovakia, p. 102.
- Bursić V., Vuković G., Petrović A., **Špirović B.**, Meseldžija M., Đurović-Pejčev R., Malenčić Đ. (2015): Sorbent influence on validation of fungicide residue determination in sour cherries: statistical analysis. Plant health for sustainable agriculture. Book of abstracts. Ljubljana, Slovenia, p. 102.
- Bursić V., Vuković G., Pucarević M., Gvozdenac S., Zeremski T., Popović A., **Špirović Trifunović B.** (2015): Neonicotinoide residues in honey bees - risk assessment. 7. simpozijum hemija i zaštita životne sredine. Knjiga izvoda. Palić, Srbija, pp. 352 - 353.
- Вуковић Г., Илић Ј., Бурсић В., Мојашевић М., **Шпировић Трифуновић Б.**, Влајковић Ј., Стојановић З. (2015): ISO EN 15562 и AOAC QuEChERS методе: поређење утицаја матрикса земљишта. 7. симпозијум хемија и заштита животне средине. Књига извода. Палић, Србија, пп. 208 - 209.

- Špirović Trifunović B.**, Vuković G., Jovanović-Radovanov K., Bursić V., Meseldžija M. (2015): Determination of linuron in chamomile by LC-MS/MS using QuEChERS extraction method. *Pesticides and Phytomedicine* 30(2): 115 - 121.
- Шпировић Трифуновић Б.**, Вуковић Г., Бурсић В., Агарски М. (2015): Екстракција пестицида из земљишта. 3. научни стручни скуп политехна. Зборник радова. Београд, Србија, пп. 184 - 188.
- Агарски М., Стојановић Т., Бурсић В., Меселџија М., Вуковић Г., **Шпировић Трифуновић Б.**, Зеремски Т. (2015): Глифосат у животној средини. 3. научни стручни скуп политехна. Зборник радова. Београд, Србија, пп. 106 - 110.
- Vuković G., Bursić V., Vlaković J., **Špirović B.**, Cara M. (2014): Determination of ethephon in fruit by LC-MS/MS. The 20th symposium on analytical and environmental problems. *Proceedings. Szeged, Hungary*, pp. 193 - 196.
- Jovanović-Radovanov K., Bursić V., Vuković G., **Špirović B.**, Mrđa J. (2012): Determination of clomazone in soil using QuEChERS method. *Plant science* XLIX(6): 38 - 40.
- Бурсић В., Лазић С., Зеремски Т., Вуковић Г., **Шпировић Б.**, Пуцаревић М., Стојановић Т. (2012): Праћење остатака пестицида у воћу. *Биљни лекар/Plant doctor* XL(5): 420 - 431.
- Bursić V., Lazić S., Vuković S., Šunjka D., Indiћ D., Vuković G., **Špirović B.** (2010): Method of neonicotinoide determination in water by liquid chromatography. *Savremena poljoprivreda/Contemporary Agriculture* 59(3-4): 371 - 376.