

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU**

Na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, održanoj 29.11.2012. godine, imenovani smo za članove Komisije za ocenu naučne zasnovanosti teme doktorske disertacije, koju je pod nazivom „UTICAJ FERMENTACIJE NA DEGRADACIJU OSTATAKA PESTICIDA U FERMENTISANIM PROIZVODIMA OD ŽITA“, predložila Mr. Tijana Đorđević. Na osnovu pregleda dokumentacije koju je dostavila kandidatkinja, Komisija podnosi Nastavno-naučnom veću sledeći

I Z V E Š T A J

1. PODACI O KANDIDATU

Opšti biografski podaci

Tijana Đorđević je rođena 16. jula 1980. godine u Somboru, Republika Srbija. Osnovnu i srednju školu završila je u Somboru. Studije na Prirodno-matematičkom fakultetu Univerziteta u Novom Sadu, departman za biologiju i ekologiju, smer profesor biologije, upisala je školske 1999/2000. godine. Fakultetsku diplomu stekla je 04. oktobra 2004. godine odbranom diplomskog rada pod naslovom "Selekcija mikroorganizama za dobijanje proizvodnih sojeva".

Magistarske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija, upisala je školske 2004/05. godine. Magistarsku tezu pod nazivom "Ispitivanje antioksidativne aktivnosti fermentisanih biljnih proizvoda" odbranila je 18. jula 2008. godine.

Na početku magistarskih studija bila je stipendista Republičke fondacije za razvoj naučnog i umetničkog podmlatka, a od januara 2005. pa do završetka magistrature stipendista Ministarstva nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije. Od 01. februara 2005. do 31. jula 2008. godine kao stipendista Ministarstva nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije bila je angažovana na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, i tokom tog trogodišnjeg istraživačkog rada učestvovala je na dva projekta Ministarstva nauke i zaštite životne sredine Republike Srbije: TR 6713 – „Razvoj biomedicinskog tekstilnog materijala i proizvoda programiranih svojstava“ (2005-2007) и BTN-3710086 – „Program novih tehnologija u prehrambenoj industriji „Dodaci hrani dobijeni biotehnološkim putem“ (2005-2007).

Od 01. januara 2009. godine zaposlena je kao istraživač pripravnik u Laboratoriji za hemiju Instituta za pesticide i zaštitu životne sredine u Beogradu. U zvanje istraživač-saradnik izabrana je 24. aprila 2009. godine. Tokom dosadašnjeg istraživačkog rada na Institutu za pesticide i zaštitu životne sredine, učestvovala je na projektu Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije TR20036 „Razvoj i unapređenje bioracionalnih metoda zaštite bilja od bolesti i štetočina“ (2008.-2011.), a u novom projektnom ciklusu Ministarstva prosvete i nauke Republike Srbije angažovana je na projektu TR 31043 – „Proučavanje biljnih patogena, artropoda, korova i pesticida u cilju razvoja metoda bioracionalne zaštite bilja i proizvodnje bezbedne hrane“ (2011.-2014.).

Čita, piše i govori engleski jezik.

Spisak objavljenih i saopštenih naučnih i stručnih radova

MONOGRAFIJE, MONOGRAFSKE STUDIJE, TEMATSKI ZBORNICI, LEKSIKOGRAFSKE I KARTOGRAFSKE PUBLIKACIJE MEĐUNARODNOG ZNAČAJA (M10)

Monografska studija/poglavlje u knjizi M12 ili rad u tematskom zborniku međunarodnog značaja (M14)

Đurović R., **Dorđević T.** (2011): Modern Extraction Techniques for Pesticide Residues Determination in Plant and Soil Samples. In: Pesticides in the Modern World Trends in Pesticides Analysis (Stoytcheva M., ed.). InTech, Rijeka, Croatia, 221-246.
ISBN: 978-953-307-437-5

RADOVI OBJAVLJENI U NAUČNIM ČASOPISIMA MEĐUNARODNOG ZNAČAJA (M20)

Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu (M21)

Dorđević T., Šiler-Marinković S., Dimitrijević-Branković S. (2009): Effect of fermentation on antioxidant properties of some cereals and pseudo cereals. FOOD CHEMISTRY, 119 (3), 957-963, ISSN:0308-8146, IF (2010) = 3,458

Rad u istaknutom međunarodnom časopisu (M22)

Djordjević T., Šiler-Marinković S., Dimitrijević-Branković S. (2011): Antioxidant Activity and Total Phenolic Content in Some Cereals and Legumes. INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD PROPERTIES, 14 (1), 175-184. Paper ISSN: 1094-2912; Electronic ISSN: 1532-2386, IF (2010) = 0,947

Rad u međunarodnom časopisu (M23)

Đurović, R., **Dorđević T.**, Šantrić, Lj., Gašić, S., Ignjatović, Lj. (2010): Headspace solid phase micro extraction method for determination of triazine and organophosphorus pesticides in soil. JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND HEALTH, PART B, 45 (7), 626-632, Paper ISSN: 0360-1234; Electronic ISSN: 1532-4109, IF (2010) = 1,119

Dorđević T., Đurović, R. (2012): Pesticides Residues and Metals in Plant Products from Agricultural Area of Belgrade, Serbia. BULLETIN OF ENVIRONMENTAL CONTAMINATION AND TOXICOLOGY, 88 (3), 385–390, ISSN 0007-4861, IF (2011) = 1,018

Đurović, R., **Dorđević T.** (2012): Effects of soil composition on solid phase micro extraction determination of triazine and organophosphorus pesticides. JOURNAL OF ENVIRONMENTAL SCIENCE AND HEALTH, PART B, 47 (9), 851-857, Paper ISSN: 0360-1234; Electronic ISSN: 1532-4109, IF (2011) = 0,886

Đurović, R., **Dorđević T.**, Šantrić, Lj. (2012): Liquid solid sample preparation followed by headspace solid phase micro extraction determination of multiclass pesticides in soil.

JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL, 95 (5), 1331-1337, ISSN 1060-3271, IF (2011) = 1,199

ZBORNICI MEĐUNARODNIH NAUČNIH SKUPOVA (M30)

Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34)

Dorđević T., Đurović, R. (2010): Assessment of heavy metal levels in soil from agricultural area of Belgrade, Serbia. Book of abstracts: THE 11TH EUROPEAN MEETING ON ENVIRONMENTAL CHEMISTRY, Portorož, Slovenia, 8-11 December 2010., 89. ISBN: 978-961-6311-66-3

Dorđević T., Đurović, R. (2010): Assessment of heavy metal levels in plant products from agricultural area of Belgrade, Serbia. Book of abstracts: THE 11TH EUROPEAN MEETING ON ENVIRONMENTAL CHEMISTRY, Portorož, Slovenia, 8-11 December 2010., 90., ISBN: 978-961-6311-66-3

Đurović, R., **Dorđević T.** (2010): Assessment of pesticide levels in plant products from agricultural area of Belgrade, Serbia. Book of abstracts: THE 11TH EUROPEAN MEETING ON ENVIRONMENTAL CHEMISTRY, Portorož, Slovenia, 8-11 December 2010., 91. ISBN: 978-961-6311-66-3

Đurović, R., **Dorđević T.** (2010): Assessment of pesticide levels in soil from agricultural area of Belgrade, Serbia. Book of abstracts: THE 11TH EUROPEAN MEETING ON ENVIRONMENTAL CHEMISTRY, Portorož, Slovenia, 8-11 December 2010., 92. ISBN: 978-961-6311-66-3

Đurović, R., **Dorđević T.** (2012): Effect of organic matter and clay content in the soil on triazine and organophosphorus pesticides adsorption processes. Book of abstracts: Annual MGPR Meeting 2012 and International Conference on Food and Health Safety: Moving Towards a Sustainable Agriculture, Belgrade, Serbia, 11-12 October 2012., 69. ISBN: 987-86-83017-22-5

ČASOPISI NACIONALNOG ZNAČAJA (M50)

Rad u vodećem časopisu nacionalnog značaja (M51)

Đurović R., Gajić-Umiljendić J., **Dorđević T.** (2009): Effect of Organic Matter and Clay Content in Soil on Pesticide Adsorption Processes. PESTICIDES AND PHYTOMEDICINE, 24(1), 51-57. ISSN: 1820-3949

Đurović R., **Dorđević T.**, Radivojević Lj., Šantrić Lj., Gajić Umiljendić J. (2011): Uticaj sastava zemljišta na adsorpciju pendimetalina, ACTA HERBOLOGICA, 20(1), 43-49. ISSN: 0354-4311

Dorđević T., Đurović R., Gajić-Umiljendić J. (2012): Comparison of methods for bifenthrin residues determination in fermented wheat samples. PESTICIDES AND PHYTOMEDICINE, 27 (2), 167-174, ISSN: 1820-3949

Gajić Umiljendić J., Jovanović-Radovanov K., Radivojević Lj., Šantrić Lj., Đurović R., **Đorđević T.** (2012): Maize, sunflower and barley sensitivity to the residual activity of clomazone in soil. PESTICIDES AND PHYTOMEDICINE, 27 (2), 157-165, ISSN: 1820-3949

Đurović R., **Đorđević T.**, Radivojević Lj., Šantrić Lj., Gajić Umiljendić J (2012): Multiresidue analysis of pesticides in soil by liquid-solid extraction procedure. PESTICIDES AND PHYTOMEDICINE, 27 (3), 239-244, ISSN: 1820-3949

Rad u časopisu nacionalnog značaja (M52)

Đurović R., Gajić-Umiljendić J., **Đorđević T.** (2008): Determination of Atrazine, Acetochlor, Pendimethalin and Oxyfluorfen in Soil by a Solid Phase Microextraction Method. PESTICIDES AND PHYTOMEDICINE, 23(4), 265-271., ISSN: 1820-3949

ZBORNICI SKUPOVA NACIONALNOG ZNAČAJA (M60)

Predavanje po pozivu sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M62)

Đurović R., Radivojević Lj., **Đorđević T.** (2012): Primena analitičkih metoda za određivanje ostataka herbicida u zemljištu. Zbornik rezimea radova XIV SIMPOZIJUM O ZAŠTITI BILJA I IX KONGRES O KOROVIMA, Zlatibor, 26.-30. novembar 2012., 145-146. ISBN 978-86-83017-23-2

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u celini (M63)

Đorđević T., Dimitrijević-Branković S., Šiler-Marinković S. (2008): Uticaj tretmana na antioksidativnu aktivnost fermentisanog pasulja (*Phaseolus vulgaris*). Knjiga radova XLVI SAVETOVANJA SRPSKOG HEMIJSKOG DRUŠTVA, Beograd, 21. februar 2008., 61-71. ISBN 978-86-7132-036-8, COBISS.SR-ID 146415884

Saopštenje sa skupa nacionalnog značaja štampano u izvodu (M64)

Đorđević T., Dimitrijević-Branković S., Šiler-Marinković S. (2008): Antioksidativna aktivnost ekstrakata fermentisanog sočiva (*Lens culinaris*). Izvodi radova 11. kongresa o ishrani sa međunarodnim učešćem, Beograd, 15.-18.oktobar 2008, U07.08, 153-155.

Đorđević T., Dimitrijević-Branković S., Šiler-Marinković S. (2008): Antioksidativna aktivnost ekstrakata fermentisane heljde (*Fagopyrum esculentum*). Izvodi radova 11. kongresa o ishrani sa međunarodnim učešćem, Beograd, 15.-18.oktobar 2008, U07.07, 152-153.

Šiler-Marinković S., Dimitrijević-Branković S., **Đorđević T.** (2010): Antioksidativna aktivnost odabranih žitarica i njihovih morfoloških frakcija. Knjiga izvoda radova nacionalne konferencije sa međunarodnim učešćem BIOTEHNOLOGIJA ZA ODRŽIVI RAZVOJ., Beograd, 25-26. novembar 2010., 70-71., ISBN 978-86-7401-269-7, COBISS.SR-ID 179756556

Đurović R., **Đorđević T.** (2010): Metoda tečno-čvrste ekstrakcije u određivanju pesticida u uzorcima zemljišta. Zbornik rezimea radova X SAVETOVANJE O ZAŠTITI BILJA, Zlatibor, 29.novembar-3.decembar 2010., 135–136. ISBN 987-86-83017-19-5

Đurović R., **Đorđević T.** (2011): Određivanje pesticida u zemljištu metodom mikroekstrakcije jedinjenja iz gasovite faze u čvrstoj fazi (HS-SPME). Zbornik rezimea radova XI SAVETOVANJE O ZAŠTITI BILJA, Zlatibor, 28.novembar-2.decembar 2011., 168–169. ISBN 987-86-83017-21-8

Đurović R., **Đorđević T.** (2011): Uticaj sadržaja organske materije i gline u zemljištu na efikasnost određivanja pesticida metodom mikroekstrakcije iz gasovite faze u čvrstoj fazi (HS-SPME). Zbornik rezimea radova XI SAVETOVANJE O ZAŠTITI BILJA, Zlatibor, 28.novembar-2.decembar 2011., 169-170. ISBN 987-86-83017-21-8

Gajić Umiljendić J., Radivojević Lj., Jovanović-Radovanov K., Šantrić Lj., Sarić-Krsmanović M., Đurović R., **Đorđević T.** (2012): Osetljivost kukuruza, suncokreta i ječma na rezidualno delovanje klomazona u zemljištu tipa peskuša. Zbornik rezimea radova XIV SIMPOZIJUM O ZAŠTITI BILJA I IX KONGRES O KOROVIMA, Zlatibor, 26.-30. novembar 2012., 146-147. ISBN 978-86-83017-23-2

Odbranjen magistarski rad (M72)

Đorđević T. (2008): Ispitivanje antioksidativne aktivnosti fermentisanih biljnih proizvoda. Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, mentor Dr Slavica Šiler-Marinković, red. prof., *datum odbrane* 18.07.2008., *broj strana* 136, *ključne reči*: antioksidativna aktivnost, ukupni polifenoli, fermentacija, žitarice, leguminoze

Ocena podobnosti kandidata za rad na predloženoj temi

Na osnovu dosadašnjeg rada i pokazanih rezultata tokom doktorskih studija i u okviru

naučno-istraživačkog rada, Mr Tijana Đorđević je pokazala izuzetan smisao i sposobnost za bavljenje naučno-istraživačkim radom. To se ogleda, pre svega, u potpuno samostalnom kreiranju i realizaciji istraživanja, kako vezanih za temu doktorske disertacije, tako i mnogo šire. Iz oblasti istraživanja, iz koje se predlaže tema doktorske disertacije, već je odbranila magistarski rad i objavila sedam radova u međunarodnim časopisima, šest radova u nacionalnim časopisima i saopštila 14 radova na međunarodnim i nacionalnim skupovima.

Na osnovu iznetih podataka može se zaključiti da Mr Tijana Đorđević ispunjava sve potrebne uslove za rad na predloženoj temi doktorske disertacije.

2. PREDMET I CILJ ISTRAŽIVANJA

S obzirom na intenziviranje primene pesticida u poljoprivredi, naročito u razvijenijim zemljama, ostaci ovih jedinjenja se često detektuju u svim segmentima životne sredine. Uprkos napretku u oblasti proizvodnje pesticida, nakon njihove primene, određeni deo aktivne materije dospeva u životnu sredinu, što za posledicu ima i povećanje zagađenosti

uzgajanih konzumnih biljaka. Porast kontaminacije prehrambenih proizvoda pesticidima sa ozbiljnim posledicama na ljudsko zdravlje, uzrokovao je potrebu za kontinuiranim praćenjem nivoa zagađenosti ovim agrohemikalijama, kako u biljnim kulturama tako i u konzumnim proizvodima. Shodno tome, raste broj publikacija koje se bave ispitivanjem uticaja tehnika procesuiranja hrane na smanjenje nivoa njihove zagađenosti pesticidima.

Prerada hrane generalno podrazumeva postupak transformisanja sirovog, lako kvarljivog materijala u proizvod poboljšanog kvaliteta i povećane dugotrajnosti (Chin, 1997). Jedan od najstarijih, a danas veoma zastupljenih vidova prerade hrane je fermentacija. Fermentacioni procesi su bitni iz više razloga. Pre svega, fermentacijom se poboljšava kvalitet biljnog proizvoda usled enzimske hidrolize većine proteina do amino kiselina i peptida niže molekulske mase, čime se one čine pristupačnijim. Fermentacijom se skrob razlaže na proste ugljene hidrate koji se u anaerobnim uslovima metaboliziraju do mlečne kiseline, alkohola i ugljen dioksida, dok se digestibilnost proizvoda poboljšava razgradnjom teško svarljive celuloze i hemiceluloze. Dalje, u toku fermentacije povećava se sadržaj vitamina B kompleksa kao i polifenolnih jedinjenja koja su u direktnoj vezi sa antioksidativnom aktivnošću (Friend i Shahani, 1984), a osim toga, alkohol i kiseline nastale kao rezultat fermentacije inhibiraju rast patogenih mikroorganizama, tako da se snižavaju pH vrednosti obezbeđuje veća dugotrajnost proizvoda (Sindhu i Khetarpaul, 2005). Međutim, ono što poslednjih godina privlači sve veću pažnju je mogućnost korišćenja fermentacionih procesa u cilju smanjenja količine ostataka pesticida, tj. uticaj fermentativnih mikroorganizama na degradaciju ostataka pesticida u prehrambenim proizvodima.

Predmet ove disertacije je ispitivanje uticaja fermentacije bakterijama mlečno kiselnog vrenja i kvascima na degradaciju, tj. smanjenje nivoa ostataka pesticida u fermentisanim proizvodima žita. Istraživanja bi bila fokusirana na organofosfatne pesticide (hlorpirifos-metil i pirimifos-metil) i piretroide (bifentrin), koji se koriste kao insekticidi. Ovakav izbor aktivnih materija je učinjen, kako bi se obuhvatila jedinjenja različite hemijske strukture, koja se masovno koriste u našoj zemlji (Janjić i Elezović, 2010) u tretmanu biljnih kultura, kako u usevima (folijarno i preko zemljišta), tako i u skladištima, te se mogu detektovati u zrnavlju žitarica. Od žitarica, koristiće se pšenica (*Triticum spelta*), s obzirom da se ova vrsta najčešće koristi kao sirovina za proizvodnju kiselog testa. Od fermentativnih mikroorganizama, odabrani su *Lactobacillus plantarum* kao predstavnik bakterija mlečnokiselnog vrenja i *Saccharomyces cerevisiae* kao predstavnik kvasaca.

Cilj istraživanja je da se utvrdi, da li i u kom stepenu fermentacija pšeničnog zrna ispitivanim mikroorganizmima utiče na smanjenje koncentracije rezidua pesticida kao i kako, odnosno u kom stepenu, rezidui pesticida utiču na proces fermentacije.

Ciljevi istraživanja obuhvaćenih ovom disertacijom se mogu podeliti u nekoliko celina:

1) Utvrđivanje eksponencijalnih faza rasta i generacijskog vremena *Lactobacillus plantarum* i *Saccharomyces cerevisiae* u datim laboratorijskim uslovima.

Cilj ovih ispitivanja bi bio utvrđivanje generacijskog vremena i koeficijenata rasta korišćenih mikroorganizama, u cilju optimizacije početne koncentracije inokuluma.

2) Optimizacija uslova mikrobiološke fermentacije netretiranog žitnog supstrata u laboratorijskim uslovima. Cilj ovog seta eksperimenata bi bio utvrđivanje mogućnosti izvođenja efikasne kontrolisane fermentacije u laboratorijskim uslovima.

- 3) Ispitivanje uticaja pesticida na rast i aktivnost fermentativnih mikroorganizama. U ovoj fazi eksperimenata bi se ispitivao uticaj proučavanih aktivnih materija na rast i aktivnost fermentativnih mikroorganizama u cilju definisanja efikasnosti fermentacije koja može da se očekuje u datim uslovima.
- 4) Optimizacija uslova fermentacije pšeničnog supstrata u cilju postizanja maksimalnog stepena degradacije pesticida.
- 5) Optimizacija pripreme uzoraka za određivanje ostataka ispitivanih pesticida u fermentisanim proizvodima.
- 6) Utvrđivanje doprinosa procesa fermentacije u degradaciji pesticida.

S obzirom da bi u predhodno definisanim istraživanjima, ukupna degradacija pesticida predstavljala sumu spontane degradacije i degradacije izazvane aktivnošću fermentativnih mikroorganizama, dodatnim ispitivanjima bi se odredio i doprinos samog procesa fermentacije u degradaciji pesticida. Cilj ovog seta eksperimenata bi bio realnije sagledavanje i jasnije definisanje uticaja aktivnosti izabranih fermentativnih mikroorganizama na degradaciju pesticida uključenih u istraživanje.

Literatura

Abou-Arab A.A.K.: Behavior of pesticides in tomatoes during commercial and home preparation. *Food Chemistry*, 65: 509-514, 1999.

Abou-Arab A.A.K.: Degradation of organochlorine pesticides by meat starter in liquid media and fermented sausage. *Food and Chemical Toxicology*, 40: 33–41, 2002.

Abou-Arab A.A.K.: Effect of Ras cheese manufacturing on the stability of DDT and its metabolites. *Food Chemistry*, 59(1): 115-119, 1997.

Azizi A., Homayouni A.: Bacterial-degradation of pesticides residue in vegetables during fermentation. *Asian Journal of Chemistry*, 21 (8): 6255-6264, 2009.

Banna A.A., Kavar N.S.: Behavior of parathion in apple juice processed into cider and vinegar. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 17 (5): 505-514, 1982.

Barker P.S., Morrison F.O., Whitaker R.S.: Conversion of DDT to DDD by proteus vulgaris, a bacterium isolated from the intestinal flora of a mouse. *Nature* 205: 621, 1965.

Bo L.-Y., Zhao X.-H.: Preliminary study on the degradation of seven organophosphorus pesticides in bovine milk during lactic acid fermentation or heat treatment. *African Journal of Microbiology Research*, 4 (11): 1171-1179, 2010.

Bottomley, P., Baker, P.G.: Multi-residue determination of pesticides in grain by gas-liquid and high performance liquid chromatography. *Analyst*, 109: 85–90, 1984.

Cabras P., Angioni A., Garau V.L., Pirisi F.M., Cabitza F., Pala M., Farris G.A.: Fate of quinoxifen residues in grapes, wine, and their processing products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (12): 6128-6131, 2000.

Cabras P., Meloni M., Pirisi F.M.: Pesticide fate from vine to wine. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 99: 83-117, 1987.

Chacko C. I., Lackwood J. L., Zabik M.: Chlorinated hydrocarbon pesticides degradation by microbes. *Science*, 154: 893, 1966.

Chin H.B.: The effect of processing on pesticide residues in processed fruits and vegetables. Book of Abstracts, 213th ACS National Meeting, San Francisco, April 13–17, AGFD-189. Washington, DC: American Chemical Society, 1997.

Cho K.M., Math R.K., Islam S.M., Lim W.J., Hong S.Y., Kim J.M., Yun M.G., Cho J.J., Yun H.D.: Biodegradation of Chlorpyrifos by Lactic Acid Bacteria during Kimchi Fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 1882–1889, 2009.

Čuš F., Česnik H.B., Bolta Š.V., Gregorčič A.: Pesticide residues in grapes and during vinification process. *Food Control*, 21 (11): 1512-1518, 2010.

de Melo Abreu S., Caboni P., Pirisi F.M., Cabras P., Alves A., Garau V.L.: Residues of the fungicide famoxadone in grapes and its fate during wine production. *Food Additives and Contaminants*, 23 (3): 289-294, 2006.

Đurović, R., Đorđević T: Metoda tečno-čvrste ekstrakcije u određivanju pesticida u uzorcima zemljišta. Zbornik rezimea X Savetovanja o zaštiti bilja, Zlatibor, str. 135–136, 2010.

Faller J., Huhnerfuss H., König W.A., Krebber R., Ludwig P.: Do marine bacteria degrade hexachlorocyclohexane stereoselectively? *Environmental Science and Technology* 25: 676–678, 1991.

Farris G.A., Cabras P., Spanedda L.: Pesticide residues in food processing. *Italian Journal of Food Science*, 3: 149-169, 1992.

Fernández M.J., Oliva J., Barba A., Cámara M.A.: Fungicide dissipation curves in winemaking processes with and without maceration step. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (3): 804-811, 2005.

Friend B.A., Shahani K.M.: Nutritional and therapeutic aspects of lactobacilli. *Journal of Applied Nutrition*, 36: 125-153, 1984.

Garau V.L., De Abreu S.M., Caboni P., Angioni A., Alves A., Cabras P.: Residue-free wines: Fate of some quinone outside inhibitor (Qol) fungicides in the winemaking process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (6): 2329-2333, 2009.

Guo-Fang, P., Yong-Ming, L., Chun-Lin, F., Jin-Jie, Z., Yann-Zhong, C.: Simultaneous determination of 405 pesticide residues in grain by accelerated solvent extraction then gas chromatography- mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 384: 1366–1408, 2006.

Gupta M., Shanker A.: Fate of imidacloprid and acetamiprid residues during black tea manufacture and transfer into tea infusion. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 26 (2): 157-163, 2009.

Hidvégi M., Rásó E., Tömösközi-Farkas R., Szende B., Paku S., Prónai L., Bocsi J., Lapis K.: MSC, a new benzoquinone- containing natural product with antimetastatic effect. *Cancer Biotherapy and Radiopharmaceuticals*, 14:277–289, 1999.

Huginin A.G., Bradley Jr. R.L.: Distribution of organochlorine pesticides among some milk components. *Journal of Dairy Science*, 54: 355, 1971.

Janjić V., Elezović I.: Pesticidi u poljoprivredi i šumarstvu u Srbiji. Sedamnaesto, izmenjeno i dopunjeno izdanje, Društvo za zaštitu bilja Srbije, Beograd, 2010.

Jung J.-K., Park S.-Y., Kim S.-H., Kang J.-M., Yang J.-Y., Kang S.-A., Chun H.-K., Park K.-Y.: Removal Effects of Bifenthrin and Metalaxyl Pesticides during Preparation and fermentation of Baechu Kimchi. *Journal of the Korean Society of Food Science and Nutrition*, 38(9): 1258-1264, 2009.

Kaushik, N., Handa, S.K.: New clean-up method for gas chromatographic analysis of pyrethroid residues. *Chromatographia*, 46 (3-4): 209-212, 1997.

Khan, I.A.T., Riazuddin, Parveen, Z., Ahmed, M.: Multi-residue determination of synthetic pyrethroids and organophosphorus pesticides in whole wheat flour using gas chromatography. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 79 (4): 454-458, 2007.

Langlois B.E., Collins J.A., Sides K.G.: Some factors affecting degradation of organochlorine pesticides by bacteria. *Journal of Dairy Science*, 53(12): 1671-1675, 1970.

Lemperle E.: Residus de pesticides dans les mouts et les vins. Presented at the 4th Symposium d'Oenologie International, Valencia, Spain, May 26-29: 453, 1975.

Mendel J. L., Walton M. S.: Conversion of pp-DDT to pp-DDD by the intestinal flora of the rat. *Science*, 151: 1527, 1966.

Navarro S., Pérez G., Navarro G., Mena L., Vela N.: Decay of dinitroaniline herbicides and organophosphorus insecticides during brewing of lager beer. *Journal of Food Protection*, 69 (7): 1699-1706, 2006.

Navarro S., Pérez, G. Navarro G., Vela N.: Decline of pesticide residues from barley to malt. *Food Additives and Contaminants*, 24 (8): 851-859, 2007.

Nakamura, Y., Tonogai, Y., Tsumura, Y., Ito, Y.: Determination of pyrethroid residues in vegetables, fruits, grains, beans, and green tea leaves: applications to pyrethroid residue monitoring studies. *Journal of AOAC International*, 76 (6): 1348-1361, 1993.

Niewiadowska A., Semeniuk S., Zmudzki J.: Residues of chlorinated hydrocarbons in cheeses [Pozostałości chlorowanych węglowodorów aromatycznych w serach.]. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 47 (4): 371-376, 1996.

Pang, G.F., Chao, Y.Z., Fan, C.L., Zhang, J.J., Li, X.M., Zhao, T.S.: Modification of AOAC multiresidue method for determination of synthetic pyrethroid residues in fruits, vegetables, and grains. Part I: Acetonitrile extraction system and optimization of florisil cleanup and gas chromatography. *Journal of AOAC International*, 78 (6): 1481-1488, 1995a.

Pang, G.F., Chao, Y.Z., Fan, C.L., Zhang, J.J., Li, X.M., Liu, Y.M., Zhao, T.S.: Modification of AOAC multiresidue method for determination of synthetic pyrethroid residues in fruits, vegetables, and grains. Part II: Acetone extraction system. *Journal of AOAC International*, 78 (6): 1489-1496, 1995b.

Pang, G.-F., Chao, Y.-Z., Fan, C.-L., Zhang, J.-J., Li, X.-M.: Modification of AOAC Multiresidue Method for Determining Synthetic Pyrethroid Residues in Fruits, Vegetables, and Grains. Part III: Studies of Analyte Stability and Method Ruggedness. *Journal of AOAC International*, 80 (1): 63-73, 1997.

Pang, G.-F., Cao, Y.-Z., Fan, C.-L., Zhang, J.-J., Li, X.-M.: Multiresidue gas chromatographic method for determining synthetic pyrethroid pesticides in agricultural products: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 82 (1): 186-196, 1999.

Pardez-Lopez O., Gonzales-Casteneda J., Carabenz-Trejo A.J.: Influence of solid substrate fermentation on the chemical composition. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 71: 58–62, 1991.

Quensen-III J.F., Boyd S.A., Tiedje J.T.: Dechlorination of four commercial polychlorinated biphenyl mixture (Aroclors) by anaerobic microorganisms from sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 2360–2369, 1990.

Rachev R., Lotov I., Sergeeva D.: Attempts to reduce contents of chlorinated pesticides in milk and milk products. *Dairy Science Abstracts*, 37: 194, 1974.

Rajashekar K., Kondal Reddy K., Narasimha Reddy K., Sudhakar Reddy K.: Effect of processing of milk into products on the residue levels of certain pesticides. *Journal of Food Science and Technology*, 44 (5): 551-552, 2007.

Rivera-Espinoza Y., Gallardo-Navarro Y.: Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27: 1–11, 2010.

Sahu S.K., Patnaik K.K., Sharmila M., Sethunathan N.: Degradation of alph-, beta-, and gamma-hexachlorocyclohexane by a soil bacterium under aerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 56: 3620–3622, 1990.

Sahu S.K., Patnaik K.K., Sethunathan N.: De-hydrochlorination of d-isomer of hexachlorocyclohexane by a soil bacterium *Pseudomonas sp.* *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 48: 265–268, 1992.

Sala C., Fort F., Busto O., Zamora F., Arola L., Guasch J.: Fate of Some Common Pesticides during Vinification Process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44 (11): 3668-3671, 1996.

Sharma J., Satya S., Kumar V., Kumar Tewary D.: Dissipation of pesticides during bread-making. *Chemical Health & Safety*, January/February: 17-22, 2005.

Sindhu S.C., Khetarpaul N.: Development, acceptability and nutritional evaluation of an indigenous food blend fermented with probiotic organisms. *Nutrition & Food Science*, 35 (1): 20 – 27, 2005.

Wedemeyer G.: Dechlorination of DDT by aerobacter aerogenes. *Science*, 152: 647, 1966.

Wedemeyer G.: Partial hydrolysis of dieldrin by aerobacter aerogenes. *Journal of Applied Microbiology*, 16(4): 661-662, 1968.

Zironi R., Farris G.A., Cabras P., Fatichenti F.: Pesticide residues from vine to wine. *Proceedings of the Accademia Italiana della Vite e del Vino*, 43: 351-369, 1991.

3. POLAZNE HIPOTEZE

Prva istraživanja vezana za ispitivanje uticaja fermentacije na degradaciju ostataka pesticida počela su krajem 60-tih i početkom 70-tih godina prošlog veka, ispitivanjem mehanizama dehlorizacije DDT-a pomoću mikroorganizama (Barker i sar., 1965; Chacko i sar., 1966; Mendel i Walton, 1966; Wedemeyer, 1966, 1968; Langlois i sar., 1970). Rezultati su tada pokazali da mikroorganizmi imaju sposobnost reduktivne dehlorizacije DDT-a do DDD oblika. Ubrzo je usledio i značajan broj radova u kojima je mogućnost degradacije različitih grupa pesticida ispitivana u različitim fermentacionim sistemima. Iako se u to vreme najveći broj rezultata odnosio na mikrobnu degradaciju pesticida u zemljištu (Quensen i sar., 1990; Sahu i sar., 1990, 1992; Faller i sar., 1991), ubrzo su usledila istraživanja koja su ukazala na pozitivan efekat fermentacije na smanjenje nivoa ostataka pesticida u prehrambenim proizvodima. (Huginin i Bradley, 1971; Rachev i sar., 1974; Niewiadowska i sar., 1996; Abou-Arab, 1997; Rajashekar i sar., 2007; Bo i Zhao, 2010). Paralelno, usledilo je i veliko interesovanje za ispitivanje fermentativne biodegradacije ostataka fungicida u procesima prerade grožđa u proizvodnji vina i sirćeta (Lemperle in 1975; Cabras i sar., 1987; Zironi i sar., 1991; Farris i sar., 1992; Sala i sar., 1996; Cabras i sar., 2000; Fernández i sar., 2005; de Melo Abreu i sar., 2006; Garau i sar., 2009; Čuš i sar., 2010). Istraživanja u ovoj oblasti proširila su se i na tehnologiju prerade mesa i mesnih prerađevina (Abou-Arab, 2002) i povrtnih i začinskih biljaka (Banna i Kavar, 1982; Abou-Arab, 1999; Azizi i Homayouni, 2009; Cho i sar., 2009; Gupta i Shanker, 2009; Jung i sar., 2009), pri čemu je zapažen pozitivan uticaj fermentativne aktivnosti brojnih mikroorganizama, korišćenih u ove svrhe, na smanjenje nivoa zagađenosti finalnog proizvoda.

Na osnovu literaturnog pregleda se može zaključiti, da su istraživanja uticaja mikrobiološke fermentacije zrnevlja žitarica, na smanjenje rezidua pesticida, nedovoljno zastupljena. Objavljeno je tek nekoliko radova baziranih na ispitivanju efekta kvasne fermentacije ječmenog slada i hmelja u toku proizvodnje piva na degradaciju ostataka pesticida (Navarro i sar., 2006, 2007). Sharma i sar. (2005) su publikovali rezultate koji ukazuju na pozitivan efekat kvasne fermentacije pšeničnog brašna u toku proizvodnje hleba na degradaciju ostataka pesticida. Kako su žitarice vrlo zastupljene u ljudskoj ishrani, evidentna je potreba da se detaljnije ispita uticaj aktivnosti mikroorganizama u toku fermentacije ovih biljnih vrsta na degradaciju ostataka pesticida.

Osnovna hipoteza sa kojom se ulazi u istraživanja je da mikroorganizmi mogu u izvesnoj meri da razgrade pesticide i tako smanje njihovu koncentraciju u krajnjem proizvodu. U toku istraživanja, pratio bi se uticaj kontrolisanih fermentacija pšenice pomoću inokuluma ispitivanih kultura mikroorganizama na stepen degradacije izabranih aktivnih materija pesticida. Pratio bi se i uticaj različitih parametara fermentacije (temperatura, trajanje fermentacije i veličina inokuluma) na stepen degradacije pesticida korišćenjem Box-Behnken statističkog dizajna eksperimenta sa tri faktora na tri nivoa i tri ponavljanja u centralnoj tački. Dodatno, proučavao bi se i uticaj pomenutih pesticida na rast i aktivnost ovih fermentativnih mikroorganizama. S obzirom da bi u ovim ispitivanjima ukupna degradacija pesticida predstavljala sumu spontane degradacije i degradacije izazvane aktivnošću fermentativnih mikroorganizama, doprinos procesa fermentacije degradaciji pesticida bi se odredio obogaćivanjem mikrobioloških podloga

koje se koriste za rast izabranih mikroorganizama pomenutim pesticidima, i praćenju količine pesticida u njima, u funkciji vremena pri identičnim ostalim eksperimentalnim uslovima.

Ispitivanju uticaja fermentacije na stepen degradacije izabranih aktivnih materija pesticida predhodio bi izbor optimalne analitičke metode za pripremu uzoraka za određivanje ostataka ispitivanih pesticida u fermentisanim proizvodima. Naime, iako postoje brojne publikacije, koje se odnose na razvoj metoda za određivanje ostataka različitih pesticida u pšenici (Bottomley i Baker, 1984; Nakamura i sar., 1993; Pang i sar., 1995a, 1995b, 1997, 1999; Kaushik i Handa, 1997; Guo-Fang i sar., 2006; Khan i sar., 2007), efikasnost ovih metoda u određivanju ostataka pesticida u fermentisanim pšeničnim proizvodima nije dovoljno potvrđena. S obzirom da, kao što je ranije pomenuto, u toku fermentacije dolazi do značajnog smanjenja pH vrednosti pšenice, ova, kao i brojne druge promene pšeničnog supstrata, mogu da imaju negativan uticaj na efikasnost metode za određivanje ostataka izabranih aktivnih materija pesticida. Uzimajući ove činjenice u obzir, istraživanja u okviru ove teze bi bila usmerena i na testiranje efikasnosti tri različite metode pripreme uzoraka za određivanje ostataka hlorthirifos metila, pirimifos metila i bifentrina u fermentisanim uzorcima pšenice. Prva metoda koja bi se testirala (Khan i sar., 2007) se već pokazala kao izuzetno efikasna metoda pripreme uzoraka za određivanje ostataka različitih pesticida u pšeničnom brašnu. Druga metoda (Đurović i Đorđević, 2010) se pokazala kao veoma efikasna za određivanje pesticida u izuzetno kompleksnom zemljišnom matriksu, dok bi treća testirana metoda predstavljala kombinaciju prve dve. Poređenjem najvažnijih analitičkih parametara testiranih metoda i uzimajući u obzir njihove praktične prednosti i nedostatke, jedna od njih bi bila izabrana za dalji rad.

4. NAUČNE METODE ISTRAŽIVANJA

Određivanje faza krive rasta mikroorganizama uključivalo bi dve metode: direktnu metodu razređenja tj. zasejavanje ćelija na određene podloge u cilju izračunavanja CFU (Colony Forming Units) parametra, i indirektnu metodu merenja optičke gustine na spektrofotometru pri talasnoj dužini od 620 nm (O.D._{620nm}).

U okviru optimizacije fermentacije pšenice odabranim mikroorganizmima koristila bi se statistička metoda odzivne površine, tj. Box-Behnken dizajn eksperimenta sa tri faktora na tri nivoa i tri ponavljanja u centralnoj tački, i sa tri posmatrana odziva. Faktori i njihovi nivoi pri fermentaciji sa *L. plantarum* i *S. cerevisiae* bi bili: veličina inokuluma (6%, 8%, 10%), trajanje fermentacije (24 h, 48 h, 72 h) i temperatura (23 °C, 30 °C, 37 °C). Odzivi za utvrđivanje efikasnosti *L. plantarum* u fermentaciji supstrata bi bili: praćenje promene pH vrednosti, praćenje promene titrabilne kiselosti (TTA test) i određivanje broja mikroorganizama metodom razređenja (CFU parametar). Odzivi za utvrđivanje efikasnosti *S. cerevisiae* u fermentaciji supstrata bi bili: praćenje promene pH vrednosti, određivanje produkcije CO₂ indirektnim merenjem mase fermentisanog supstrata i određivanje broja mikroorganizama metodom razređenja (CFU parametar).

Kao parametar za utvrđivanje uticaja fermentacije na smanjenje nivoa ostataka pesticida u supstratu, pratila bi se promena koncentracija ostataka ispitivanih aktivnih materija u uzorcima GC-MS spektrometrijom. Za hromatografisanje bi se koristila DB-

5ms kapilarna kolona, dok bi maseni spektrometar radio u *Selected Ion Monitoring* (SIS) modu, tj. koristili bi se karakteristični fragmentni joni (m/z) za detekciju i kvantifikaciju svake aktivne materije (joni 290 i 233 za pirimifos metil, 286 i 125 za hlörpirifos metil, 181 i 166 za bifentrin).

5. OČEKIVANI NAUČNI DOPRINOS

Kao rezultat ove doktorske disertacije očekuje se naučni doprinos koji treba da omogućiti bolje razumevanje uticaja:

1. ispitivanih pesticida na metabolizam, rast i razvoj mikroorganizama *L. plantarum* i *S. cerevisiae* ;
2. ispitivanih pesticida na proces fermentacije pšenice;
3. fermentacije pšenice ispitivanim mikroorganizmima na degradaciju rezidua pesticida hlörpirifos-metil, pirimifos-metil i bifentrin u zrnu;
4. različitih parametara fermentacije (temperatura, trajanje fermentacije i veličina inokuluma) na stepen degradacije ispitivanih pesticida.

6. PLAN ISTRAŽIVANJA I STRUKTURA RADA

U toku izrade doktorske disertacije planirane su sledeće faze :

1) Određivanje faza krive rasta mikroorganizama uključivalo bi dve metode: direktnu metodu razređenja tj. zasejavanje ćelija na određene podloge u cilju izračunavanja CFU (Colony Forming Units) parametra, i indirektnu metodu merenja optičke gustine na spektrofotometru pri talasnoj dužini od 620 nm (O.D._{620nm}). Koristile bi se kulture bakterije mlečno-kiselinskog vrenja (*Lactobacillus plantarum*) i kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*) iz kolekcije kultura mikrobiološke laboratorije Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Kao podloge za rast i određivanje broja kolonija koristili bi se MRS (de Man, Rogosa i Sharpe) bujon i agar za *L. plantarum*, odnosno YPD (Yeast extract Peptone Dextrose) bujon i agar za *S. cerevisiae*. Rast *L. plantarum* bi se pratio u 30 minutnom vremenskom intervalu u toku 54 h na 30 °C, dok bi se rast *S. cerevisiae* pratio u 30 minutnom vremenskom intervalu u toku 48 h na 30 °C.

2) U okviru optimizacije uslova fermentacije, zrno organski uzgajane pšenice netretirane pesticidima bi se samlelo i sterilisalo u autoklavu 20 minuta na 121 °C, i nakon dodavanja sterilnisane destilovane vode (1:1), inokulisalo sa predhodno pripremljenim inokulumom. Inokulum bi se pripremao tako što bi se mikroorganizmi aktivirali u određenoj podlozi za rast na 30 °C, a samo trajanje aktivacije bi bilo definisano predhodno utvrđenim generacijskim vremenom za dati mikroorganizam. Nakon aktivacije, ćelije mikroorganizama bi se izdvojile centrifugiranjem na 10000 obrtaja/min, u trajanju od 10 minuta, pri temperaturi od 4 °C, i nakon ispiranja sa 50mM fosfatnim puferom (pH = 7), resuspendovale u sterilisanoj destilovanoj vodi.

U okviru ove faze eksperimenata bi se koristila statistička metoda odzivne površine, tj. Box-Behnken dizajn eksperimenta sa tri faktora na tri nivoa i tri ponavljanja u centralnoj tački, i sa tri posmatrana odziva. Faktori i njihovi nivoi pri fermentaciji sa *L. plantarum* i *S. cerevisiae* bi bili: veličina inokuluma (6%, 8%, 10%), trajanje fermentacije

(24 h, 48 h, 72 h) i temperatura (23 °C, 30 °C, 37 °C). Odzivi za utvrđivanje efikasnosti *L. plantarum* u fermentaciji supstrata bi bili: praćenje promene pH vrednosti, praćenje promene titrabilne kiselosti (TTA test) i određivanje broja mikroorganizama metodom razređenja (CFU parametar). Odzivi za utvrđivanje efikasnosti *S. cerevisiae* u fermentaciji supstrata bi bili: praćenje promene pH vrednosti, određivanje produkcije CO₂ indirektnim merenjem mase fermentisanog supstrata i određivanje broja mikroorganizama metodom razređenja (CFU parametar).

3) U fazi definisanja uticaja ispitivanih pesticida na rast i aktivnost fermentativnih mikroorganizama, u supstrate za rast *L. plantarum* i *S. cerevisiae* (MRS i YPD bujon) bi se dodavale različite koncentracije ispitivanih pesticida, a zatim inokulisali predhodno aktiviranim mikroorganizmima, da bi se nakon inkubacije na 30 °C, direktnom metodom razređenja i zasejavanja inokuluma na MRS tj. YPD agar i indirektnom metodom merenja optičke gustine pri talasnoj dužini od 620 nm (O.D._{620nm}), odredio stepen rasta mikroorganizama. U ogledima bi se koristili analitički standardi pirimifos metila (čistoće 99,2%), hlorspirifos metila (čistoće 99,9%) i bifentrina (čistoće 98,4%), a serije koncentracija aplikovanih aktivnih materija pesticida bi bile 1/2x, 1x, 2x, 5x, 10x, 15x i 20x, pri čemu x odgovara maksimalnoj dozvoljenoj koncentraciji (MDK) date aktivne materije u znu pšenice. Tako bi koncentracije pirimifos metila kojima bi se obogaćivale podloge za rast bile 2,5; 5; 10; 25; 50; 75 i 100 µg pirimifos metila/mL podloge, koncentracije hlorspirifos metila 1,5; 3; 6; 15; 30; 45 i 60 µg hlorspirifos metila/mL podloge, dok bi koncentracije bifentrina bile 0,25; 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5 i 10 µg bifentrina/mL podloge. Trajanja inkubacija mikroorganizama definisala bi se u skladu sa njihovim predhodno utvrđenim generacijskim vremenom.

4) U fazi ispitivanja uticaja najvažnijih parametara fermentacije na stepen degradacije pesticida u supstratu, znu organski uzgajane pšenice netretirane pesticidima, bi se nakon mlevenja dodavala određena koncentracija pesticida, da bi se nakon 24 h pripremljen uzorak sterilisao i nakon dodavanja sterilisane destilovane vode, inokulisao predhodno aktiviranim inokulumom.

U okviru ove faze eksperimenata koristila bi se već pomenuta statistička metoda odzivne površine, tj. Box-Behnken dizajn eksperimenta sa tri faktora na tri nivoa i tri ponavljanja u centralnoj tački, ali ovog puta sa četiri posmatrana odziva. Faktori i njihovi nivoi pri fermentacijama bi bili isti kao pri optimizaciji uslova fermentacije, dok bi odzivi pri fermentaciji sa *L. plantarum* bili praćenje promene pH vrednosti, određivanje promene titrabilne kiselosti (TTA test) i određivanje broja mikroorganizama metodom razređenja (CFU parametar), kao već pomenuti parametri za utvrđivanje efikasnosti fermentacije, i određivanje ostataka pesticida u uzorcima kao parametar za utvrđivanje uticaja fermentacije na smanjenje nivoa ostataka pesticida u supstratu. Kao parametri za utvrđivanje efikasnosti fermentacije sa *S. cerevisiae*, pratile bi se promene pH vrednosti, određivala bi se produkcija CO₂ indirektnim merenjem težine fermentisanog supstrata i određivao bi se broj mikroorganizama metodom razređenja (CFU parametar). Kao parametar za utvrđivanje uticaja fermentacije na smanjenje nivoa ostataka pesticida u supstratu, pratile bi se promene koncentracija ostataka ispitivanih aktivnih materija u uzorcima. Na ovaj način, poređenjem sa rezultatima dobijenim u toku optimizacije uslova fermentacije netretirane pšenice, osim utvrđivanja uticaja fermentacije na smanjenje nivoa ostataka pesticida u supstratu, utvrdio bi se i uticaj korišćenih pesticida na efikasnost fermentacija sa odabranim mikroorganizmima.

Za određivanje ostataka ispitivanih pesticida u fermentisanim uzorcima pšenice, bi bile testirane tri metode pripreme uzoraka. Poređenjem njihovih najvažnijih analitičkih parametara i uzimajući u obzir njihove praktične prednosti i nedostatke, jedna od njih bi bila izabrana za dalji rad. Sve tri metode bazirale bi se na homogenizaciji fermentisanog uzorka samlevenog zrna pšenice (10 g) dva puta sa po 25 mL smeše metanol:aceton=1:1 (30 min., na rotacionoj mešalici), uz dodatak 5 g anhidrovanog Na₂SO₄ (sušen 24 h na 130 °C). Nakon centrifugiranja (5 min., 4000 obrtaja/min) i filtriranja dobijenog ekstrakta preko 1 g anhidrovanog Na₂SO₄, filtrat bi se upario do suvog ostatka (rotacioni uparivač, 35 °C), i u zavisnosti od korišćene metode, dalje specifično procesuirao.

Predhodno opisana ispitivanja uticaja najvažnijih parametara fermentacije na stepen degradacije pesticida u supstratu bi se radila u po tri ponavljanja, uz variranje koncentracija aplikovanih aktivnih materija pesticida. U radu bi se koristile tri različite koncentracije, za svaku aktivnu materiju, i to: koncentracije primene jednake MDK vrednostima ispitivanih pesticida u pšenici (5 mg/kg za pirimifos metil, 3 mg/kg za hlörpirifos metil i 0,5 mg/kg za bifentrin), odnosno koncentracije 5 puta i 15 puta veće od MDK vrednosti. Na ovaj način bi se utvrdilo da li nepoštovanje karence, odnosno preporučene doze primene pomenutih aktivnih materija od strane proizvođača utiče na kvalitet tj. bezbednost proizvoda od pšenice.

5) Doprinos samog procesa fermentacije degradaciji pesticida, odnosno određivanje stepena degradacije koji je izazvan samo aktivnošću fermentativnih mikroorganizama, bi se odredio korišćenjem kontrolne grupe uzoraka pšenice, kojoj bi bila dodata ista količina pesticida i podvrgnuta istim preparativnim procedurama kao i kod fermentacije, samo bez inokulacije mikroorganizmima.

Predviđa se da će u doktorskoj disertaciji biti obrađena sledeća poglavlja: Uvod, Teorijski deo, Eksperimentalni deo, Rezultati i diskusija, Zaključak, Literatura. Struktura rada je sledeća:

I. UVOD

II. TEORIJSKI DEO I CILJEVI RADA

III. EKSPERIMENTALNI DEO

III.1. Utvrđivanje eksponencijalnih faza rasta i generacijskog vremena *Lactobacillus plantarum* i *Saccharomyces cerevisiae*

III.2. Optimizacija uslova mikrobioloških fermentacija

III.3. Ispitivanje uticaja pirimifos metila, hlörpirifos metila i bifentrina na rast i aktivnost fermentativnih mikroorganizama

III.4. Ispitivanje efikasnosti različitih metoda pripreme uzoraka za praćenje stepena degradacije pirimifos metila, hlörpirifos metila i bifentrina u fermentisanim uzorcima pšenice

III.5. Optimizacija uslova fermentacije pšeničnog supstrata u cilju postizanja maksimalnog stepena degradacije pesticida

III.6. Utvrđivanje doprinosa procesa fermentacije u degradaciji pesticida

IV. REZULTATI ISTRAŽIVANJA I DISKUSIJA REZULTATA

IV.1. Utvrđivanje eksponencijalnih faza rasta i generacijskog vremena

IV.1.1. Eksponencijalna faza rasta i generacijsko vreme *Lactobacillus plantarum*

- IV.1.2. Eksponencijalna faza rasta i generacijsko vreme *Saccharomyces cerevisiae*
- IV.2. Optimizacija uslova mikrobioloških fermentacija
 - IV.2.1. Fermentacija pšeničnog supstrata sa *Lactobacillus plantarum*
 - IV.2.2. Fermentacija pšeničnog supstrata sa *Saccharomyces cerevisiae*
- IV.3. Ispitivanje uticaja pesticida na rast i aktivnost fermentativnih mikroorganizama
 - IV.3.1. Ispitivanje uticaja pesticida na rast i aktivnost *Lactobacillus plantarum*
 - IV.3.1.1. Pirimifos metil
 - IV.3.1.2. Hlorpirifos metil
 - IV.3.1.3. Bifentrin
 - IV.3.2. Ispitivanje uticaja pesticida na rast i aktivnost *Saccharomyces cerevisiae*
 - IV.3.2.1. Pirimifos metil
 - IV.3.2.2. Hlorpirifos metil
 - IV.3.2.3. Bifentrin
- IV.4. Ispitivanje efikasnosti različitih metoda pripreme uzoraka za praćenje stepena degradacije pirimifos metila, hlorpirifos metila i bifentrina u fermentisanim uzorcima pšenice
 - IV.4.1. Prečišćavanje ekstrakta uzorka smešom aluminijum oksid:aktivni ugalj=12:1 i eluiranje dihlormetanom – Metoda 1
 - IV.4.2. Prečišćavanje ekstrakta uzorka florisilom i eluiranje smešom etil acetat:aceton=4:1 – Metoda 2
 - IV.4.3. Prečišćavanje ekstrakta uzorka smešom aluminijum oksid:aktivni ugalj=12:1 i eluiranje smešom etil acetat:aceton=4:1 – Metoda 3
- IV.5. Optimizacija uslova fermentacije pšeničnog supstrata u cilju postizanja maksimalnog stepena degradacije pesticida
 - IV.5.1. Ispitivanje efikasnosti različitih metoda pripreme uzoraka za praćenje stepena degradacije pirimifos metila, hlorpirifos metila i bifentrina u fermentisanim uzorcima pšenice
 - IV.5.2. Uticaj fermentacije pšeničnog supstrata sa *Lactobacillus plantarum* na degradaciju pesticida
 - IV.5.2.1. Pirimifos metil
 - IV.5.2.2. Hlorpirifos metil
 - IV.5.2.3. Bifentrin
 - IV.5.3. Uticaj fermentacije pšeničnog supstrata sa *Saccharomyces cerevisiae* na degradaciju pesticida
 - IV.5.3.1. Pirimifos metil
 - IV.5.3.2. Hlorpirifos metil
 - IV.5.3.3. Bifentrin
- IV.6. Utvrđivanje doprinosa procesa fermentacije u degradaciji pesticida
 - IV.6.1. Doprinos fermentacije sa *Lactobacillus plantarum* u degradaciji pesticida
 - IV.6.2. Doprinos fermentacije sa *Saccharomyces cerevisiae* u degradaciji pesticida

- V. ZAKLJUČAK
- VI. LITERATURA
- VII. PRILOZI

7. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu iznetih podataka Komisija smatra da je predložena tema doktorske disertacije Mr Tijane Đorđević, „Uticaj fermentacije na degradaciju ostataka pesticida u fermentisanim proizvodima od žita“, naučno zasnovana i predlaže Nastavno-naučnom veću da je prihvati. Za mentora se predlažu Dr Slavica Šiler-Marinković, redovni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu i Dr Rada Đurović, naučni saradnik Instituta za pesticide i zaštitu životne sredine u Beogradu, Istraživanja u okviru ove disertacije pripadaju naučnoj oblasti Hemija i hemijska tehnologija za koju je Tehnološko-metalurški fakultet, Univerziteta u Beogradu, matična ustanova.

U Beogradu 25.12.2012.

Komisija

.....
1. Dr Slavica Šiler-Marinković, red. prof. TMF

.....
2. Dr Rada Đurović, naučni saradnik Instituta za
pesticide i zaštitu životne sredine, Beograd

.....
3. Dr Suzana Dimitrijević- Branković, vanr. prof. TMF