

Универзитет у Београду - Хемијски факултет

Наставно-научном већу

**Предмет: Молба за оцену испуњености услова за пријаву докторске дисертације
Сања Ђекић, мастер хемичара.**

МОЛБА

Молим Наставно-научно веће да одобри израду докторске дисертације из области аналитичке хемије на Хемијском факултету Универзитета у Београду (Катедра за аналитичку хемију) под радним насловом:

Развој и примена брзе HPLC MS/MS методе за одређивање акриламида у одабраним узорцима хране са проценом ризика по људско здравље

Предлажем да Комисију за оцену научне заснованости теме чине:

1. Др Рада Баошић, редовни професор, Универзитет у Београду - Хемијски факултет, ментор
2. Др Александар Лолић, редовни професор, Универзитет у Београду - Хемијски факултет
3. Др Дубравка Релић, ванредни професор, Универзитет у Београду - Хемијски факултет
4. Др Мила Илић, виши научни сарадник, Универзитет у Београду - Институт за хемију, технологију и металургију, Институт од националног значаја за Републику Србију
5. Др Ивана Средовић Игњатовић, ванредни професор, Универзитет у Београду - Пољопривредни факултет

У прилогу достављам:

1. образложење теме
2. биографију
3. библиографију
4. изјаву да предложену тему нисам пријављивала на другој високошколској установи у земљи или иностранству

У Београду,
23.01.2025.

Сања Ђекић
мастер хемичар
студент докторских студија
Универзитет у Београду - Хемијски факултет

Биографија

Сања Ђекић

Сања Ђекић је рођена 21. јануара 1970. године у Београду, Република Србија. Завршила је Земунску гимназију у Београду. Године 1989. уписала је основне академске студије на Универзитету у Београду - Хемијски факултет, студијски програм Дипломирани Хемичар. Дипломирала је 2001. године са просечном оценом 7,42 и одбранила је завршни рад „Изоловање и идентификација лигнана из биљке *Achillea lingulata*“ са оценом 10, под менторством др Влатке Вајс, редовног професора. Специјалистичке студије је завршила 2006. године на Универзитету у Београду - Хемијском факултету, на студијском програму Хемија, и одбранила је специјалистички рад "Одређивање антиоксидативних састојака вина" са оценом 10, под менторством др Слободана Милосављевића, редовног професора, чиме је стекла звање Специјалиста хемијских наука. Године 2015. завршила је мастер студије на Универзитету у Београду - Хемијском факултету, на студијском програму Хемија, и одбранила је мастер рад „Валидација GC/MS методе: Одређивање садржаја пестицида из групе триазина у узорцима хране" са оценом 10, под менторством др Велета Тешевића, ванредног професора. Докторске студије је уписала 2016. године, на Универзитету у Београду - Хемијском факултету, на студијском програму Хемија, под менторством др Раде Баошић, редовног професора. Положила је све испите по плану и програму са просечном оценом 10,00.

Професионално искуство започела је 2001. године у компанији МОЛ д.о.о., привредном друштву за хемију, биотехнологију и консалтинг. У периоду од 2001. до 2005. године радила је као аналитичар, где је стекла значајно искуство у лабораторијском раду и аналитичким методама. Године 2005. унапређена је у руководиоца хемијске лабораторије, и на тој позицији остаје до 2007. године. Током овог периода, њене активности су се односиле на свеобухватну анализу различитих типова узорака из животне средине, укључујући воду, земљиште и ваздух, и развој и валидацију нових аналитичких метода заснованих на хроматографским техникама, гасна хроматографија (GC), високоефикасна течна хроматографија (HPLC), и јонска хроматографија (IC). Поред тога, кључне одговорности су обухватале обезбеђивање и контролу квалитета рада у целокупном обиму делатности хемијске лабораторије, кроз руковођење процесом акредитације лабораторије према захтевима ISO/IEC 17025.

Од 2007. године до данас запослена је у компанији Analysis д.о.о., која је специјализована за дистрибуцију аналитичке опреме, на позицији специјалисте за апликативну подршку клијентима у области хроматографије и масене спектрометрије. Поред пружања експертске подршке клијентима и важних активности које се односе на руковођење квалитетом према захтевима стандарда ISO 9001 и ISO/IEC 17025 у компанији, њене тренутне одговорности укључују демонстрацију рада и примене инструмената у области хроматографије и масене спектрометрије, свеобухватну обуку корисника за рад на инструментима, укључујући методологију припреме узорака за анализу, техничку подршку и решавање комплексних проблема при раду на инструментима. Њена ужа специјалност је аналитика хране у домену хроматографије и масене спектрометрије са посебним фокусом на „triple quadrupole“ масену спектрометрију и масену спектрометрију високе резолуције („Orbitrap“ технологија).

Сања Ђекић је, по позиву и у организацији: Природно-математичког факултета Универзитета у Нишу, јуна 2023. године одржала предавање под насловом LC-MS/MS

& IC-MS/MS Analysis of polar pesticides in food, у оквиру семинара „Mass Spectrometry Techniques in Environmental and Food Safety Control“. У периоду од 2016. до 2020. године била је ангажована на ЕРАСМУС+ међународном пројекту „NetChem: ICT умрежавање за превазилажење техничких и друштвених баријера у инструментално-аналитичкој хемијској едукацији“ (број пројекта: 573885-EPP-1-2016-1-RS-EPPKA2-SВHE-JP).

Библиографија

Сања Ђекић

Радови у врхунским међународним часописима (M21)

1. Isidora Kecojević, **Sanja Đekić**, Milana Lazović, Danica Mrkajić, Rada Baošić, Aleksandar Lolić (2021). Evaluation of LC-MS/MS methodology for determination of 179 multi-class pesticides in cabbage and rice by modified QuEChERS extraction. Food Control. 123. DOI:10.1016/j.foodcont.2020.107693
2. Elizabet Janjić-Hajnal, Jovana Kos, Bojana Radić, Mislav Anić, Radmila Radović, Nina Kudumija, Ana Vulić, **Sanja Đekić**, Jelka Pleadin, (2023) Impact of Climate Changes on the Natural Prevalence of Fusarium Mycotoxins in Maize Harvested in Serbia and Croatia. Foods, 12(5), 1002. DOI 10.3390/foods12051002

Радови у истакнутим међународним часописима (M22)

1. **Sanja Đekić**, Isidora Kecojević, Biljana Bajić, Ana Joksimović, Aleksandar Lolić, Rada Baošić (2024). Rapid Determination of Acrylamide by HILIC-MS/MS in Selected Food Samples. Food Analytical Methods, 17, 1540–1549. DOI 10.1007/s12161-024-02676-9
2. Bojana Radić, Radmila Radović, Elizabet Janjić-Hajnal, Anamarija Mandić, **Sanja Đekić**, Zorica Stojanović, Jovana Kos (2023). Moniliformin Occurrence in Serbian Maize over Four Years: Understanding Weather-Dependent Variability. Toxins, 15 (11), 634. DOI 10.3390/toxins15110634

Радови у међународним часописима (M23)

1. Jelena Cvejić, **Sanja Đekić**, Aleksandar Petrović, Milica Atanacković, Slobodan Jović, Ilija Brčeski, Ljiljana Gijković-Bukarica (2010). Determination of *trans*- and *cis*-Resveratrol in Serbian Commercial Wines. *Journal of Chromatographic Science*, 48, 3, 229–234. DOI 10.1093/chromsci/48.3.229
2. **Sanja Đekić**, Slobodan Milosavljević, Vlatka Vajs, Slobodan Jović, Aleksandar Petrović, Ninoslav Nikićević, Verica Manojlović, Viktor Nedović, Vele Tešević (2008). *Trans*- and *cis*-resveratrol concentration in wines produced in Serbia. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 73,11, 1027-1037. DOI:10.2298/JSC0811027D

Саопштења са међународних скупова штампана у изводу (M34)

1. Isidora Kecojević, Ivana Vasiljević, Milana Lazović, Biljana Bajić, **Sanja Đekić** (2014) Validation of a Routine GC-MS Method Analysis of Triazines in Food-SANCO/12571/2013 Method Performance Criteria. 10th European Pesticide Residue Workshop (EPRW) June 30 – July 3, 2014. Dublin, Ireland

ИЗЈАВА

Изјављујем да докторска дисертација под називом:

Развој и примена брзе HPLC MS/MS методе за одређивање акриламида у одабраним узорцима хране са проценом ризика по људско здравље

није пријављена на другим високошколским установама у земљи или иностранству.

У Београду,
23.01.2025.

Сања Ђекић
мастер хемичар
студент докторских студија
Универзитет у Београду-Хемијски факултет

Универзитет у Београду - Хемијски факултет

Наставно-научно веће

Предмет: Образложење теме докторске дисертације кандидаткиње Сање Ђекић

Тема: Развој и примена брзе HPLC MS/MS методе за одређивање акриламида у одабраним узорцима хране са проценом ризика по људско здравље

1. Научна област: Хемија

Ужа научна област: Аналитичка хемија

2. Предмет научног истраживања

Предмет истраживања ове докторске дисертације је развој, оптимизација и валидација LC-MS/MS методе за одређивање садржаја акриламида у узорцима хране. Такође су планирана и истраживања у следећим областима:

- испитивање и идентификација фактора који утичу на формирање акриламида
- испитивање садржаја акриламида у намирницама широке потрошње на тржишту Србије
- квантификација акриламида у репрезентативним узорцима хлеба заступљеним на тржишту Србије
- процена ризика по људско здравље

3. Основне хипотезе

Акриламид је хемијско једињење које је током последње две деценије привукло велику пажњу научне јавности, регулаторних тела и прехранбене индустрије, првенствено због његове широке заступљености у термички обрађеним намирницама и доказаних токсичних ефеката на људско здравље. Прекретница је било истраживање Шведске националне агенције за храну која је у априлу 2002. године објавила забрињавајуће податке о повишеним концентрацијама акриламида у намирницама, термички обрађеним на температурама изнад 120°C. Посебно високе вредности забележене су у производима од кромпира и печеним производима богатим угљеним хидратима. [1]. Ово откриће је имало значај, нарочито имајући у виду да је Међународна агенција за истраживање рака (IARC) још 1994. године класификовала акриламид као неуротоксин и канцероген групе 2A. Додатну забринутост је изазвала чињеница да је термичка обрада незаобилазан процес у савременој преради хране. У последње две деценије, бројне научне студије фокусиране су на различите аспекте истраживања акриламида у храни, као што су: развој аналитичких метода за његово одређивање у храни, испитивање механизма настајања, проучавање начина за спречавање његовог формирања, истраживање његове токсичности, као и процену ризика по здравље људи [2].

Са аналитичке тачке гледишта, квантификација акриламида у храни представља значајан изазов због његових специфичних физичко-хемијских карактеристика: мале молекулске масе, високе поларности и растворљивости у води, високе реактивности и ниске испарљивости [3].

Додатни изазов представља и сложеност матрикса термички обрађене хране богате угљеним хидратима. Стога постоји стална потреба за развојем поуздане и једноставне методе за рутинску анализу акриламида, која би омогућила брзо и селективно праћење уз минималну потрошњу растварача и без компликованих корака припреме узорка. До сада су у научној литератури објављени бројни аналитички поступци који су засновани на хроматографским методама и масеној спектрометрији, укључујући течну хроматографију високих перформанси (HPLC), гасну хроматографију (GC), течну хроматографију са тандем масеном спектрометријом (LC-MS/MS), гасну хроматографију-масену спектрометрију (GC-MS), гасну хроматографију са тандем масеном спектрометријом (GC-MS/MS), а који се могу користити за поуздану детекцију акриламида [2]. Међутим, у оквиру поменутих истраживања, течна хроматографија заснована на хидрофилним интеракцијама (HILIC) за одређивање акриламида у храни јавља се у свега неколико студија, а од којих су аутори у само две студије објавили комплетне податке валидације аналитичког поступка [4, 5].

Применом течне хроматографије заснована на хидрофилним интеракцијама спрегнуте са тандем масеном спектрометријом (HILIC-MS/MS) може се развити поуздана, робусна и селективна метода за квантификацију акриламида у различитим врстама намирница. Претпоставка је заснована на чињеници да HILIC хроматографија обезбеђује бољу ретенцију поларних анализата у поређењу са конвенционалном реверзно-фазном хроматографијом [6]. Такође, употреба мобилних фаза са ниским садржајем воде и високим садржајем поларних органских растварача, типичних за HILIC раздвајање, веома погодује детекцији у условима електрон-спреј јонизације (ESI) и у многим случајевима резултира повећаном осетљивошћу. Када је реч о припреми узорака, модификацијом конвенционалне QuEChERS методе за припрему узорака могуће је постићи брзу и ефикасну екстракцију акриламида из сложених матрикса хране уз минималну употребу растварача.

Традиционално, различите врсте хлеба, углавном пшеничног, али и раженог и кукурузног заузимају централно место у српској кухињи и прехранбеним навикама нашег народа. Поред културолошког значаја, хлеб има и нутритивна својства, и представља основну намирницу коју свакодневно конзумира већина становништва, са просечним дневним уносом од 0,17 kg/дан према подацима Републичког завода за статистику за 2023. годину. На жалост, хлеб и остале намирнице које обилују скробом, након обраде такође постају и извор акриламида, што је доказано бројним студијама [7]. Како Србија има богату историју прављења хлеба, овако широка потрошња захтева пажљиво разматрање питања безбедности хране, посебно у погледу контаминената попут акриламида.

Наиме, традиционално прављења хлеба најчешће укључују печење на високим температурама, и преференцију ка тамнијој кори, што може допринети повишеним нивоима акриламида у овим производима. Разноврсност врста хлеба које се конзумирају у Србији, од традиционалног белог хлеба до интегралних варијанти, представља сложен сценарио за процену изложености акриламиду. До данас је истраживање садржаја акриламида у српским прехранбеним производима ограничено, са само две објављене студије које су испитивале нивое акриламида у намирницама доступним на српском тржишту [8, 9]. Иако ове студије пружају вредне почетне увиде, свеобухватни подаци о садржају акриламида у комерцијалним прехранбеним производима на тржишту у Србији су оскудни, те постоји потреба за опсежнијим праћењем и проценом нивоа акриламида.

Због свега наведеног, од значаја је разумевање распрострањености акриламида у хлебу као основној намирници, и процена потенцијалних здравствених ризика и информисање потрошача и произвођача о безбедној потрошњи.

4. Циљ истраживања и очекивани резултати

Научни циљ истраживања је развој и валидација нове, поуздане и једноставне HILIC-MS/MS методе за одређивање акриламида у храни. Метода би требало да обезбеди брзу и селективну анализу, уз минималну потрошњу растварача и поједностављену процедуру припреме узорка.

Очекује се да ће развијена метода:

- Превазићи аналитичке изазове који проистичу из физичко-хемијских карактеристика акриламида (мала молекулска маса, висока поларност и добра растворљивост у води)
- Обезбедити боље задржавање и раздвајање анализата од ометајућих компоненти које потичу од матрикса, у поређењу са конвенционалним хроматографским техникама раздвајања
- Показати одговарајућу осетљивост захваљујући примени ESI-MS/MS детекције у комбинацији са HILIC раздвајањем
- Бити погодна за рутинску квантификацију акриламида у различитим типовима хране у којој се овај контаминант очекује
- Омогућити тачно и поуздано праћење садржаја акриламида у храни у циљу процене ризика по здравље људи

Након развоја и валидације поуздане аналитичке методе у циљу одређивања садржаја акриламида даљи научни циљеви би били квантификација садржаја акриламида у различитим врстама хлеба доступним на српском тржишту, као и процена разних утицаја на формирање овог анализата у хлебу. На основу добијених квантитативних података биће могуће проценити потенцијалне здравствене ризике везано за изложеност акриламиду кроз конзумирање хлеба у српској популацији, као и поређење налаза са актуелним референтним нивоима.

У складу са постављеним циљевима, планирана су три обимна истраживања:

- у првом делу истраживања који је везан за развој и валидацију HILIC-MS/MS методе за одређивање акриламида у храни планирано је да се истовремено развије и оптимизује метода припреме узорка и оптимизују хроматографски и MS параметри, након чега би уследила валидација целокупног аналитичког поступка. Валидација развијене методе спровешће се анализом спајкованих контролних узорака и сертификованих референтних материјала. У овом делу истраживања посебан изазов ће представљати развој поступка за добијање хлеба без присуства акриламида, који ће служити као основа за припрему спајкованих контролних узорака. У ту сврху користиће се посебан ензим и прилагодити такав поступак припреме хлеба тако да се спречи настанак акриламида. Ензим који ће бити коришћен имаће намену да редукује садржај аспарагина као једног од прекурсора у процесу формирању акриламида.
- у другом делу истраживања планирано је узорковање различитих врста хлеба који се конзумирају у Србији у циљу праћења садржаја акриламида у одабраним репрезентативним узорцима. Након узорковања уследила би фаза екстракције узорака и HILIC-MS/MS анализа применом валидоване методе. На крају, добијени подаци ће бити статистички обрађени и на тај начин ће се добити увид о садржају акриламида у узорцима хлеба на тржишту Србије.

- у трећем делу истраживања, након обраде добијених резултата уследиће фаза процене ризика по људско здравље различитих популационих група. Међународна агенција за истраживање рака (*International Agency for Research on Cancer*) класификовала је акриламид као вероватно канцероген за људе у Групу 2 А, а Европска комисија је класификовала акриламид као канцероген и мутаген у категорију 1Б и као репродуктивно токсичну супстанцу у категорији 2. Након одређивања концентрације акриламида у узорцима хлеба и у намирницама широке потрошње на тржишту Србије утврдиће се концентрација акриламина која представља дозу ове супстанце којом је испитивана популација изложена путем уноса хране. У процени ризика по људско здравље на основу изложености путем исхране, користе се различите методе процене као што су потенцијални неканцерогени ризик и канцерогени ризик [10].

5. Методе истраживања

У оквиру ове докторске дисертације биће коришћене следеће методе у складу са циљевима рада:

- припрема узорка хлеба без присуства акриламида (“слепа” проба /бланк узорак)
- припрема спајкованих узорака и стандардних раствора који ће се користити за валидацију методе
- узорковање и припрема узорака хране
- QuEChERS метода припреме узорака хране у циљу анализе садржаја акриламида
- високоефикасна течна хроматографија спрегнута са масеном спектрометријом (LC-MS/MS) за раздвајање, идентификацију и квантификацију акриламида
- процена ризика по људско здравље (*Human Health Risk Assessment*)
- статистичка обрада података.

6. Литература

- [1] Tareke, E., Rydberg, P., Karlsson, P., Eriksson, S., & Törnqvist, M. (2002). Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4998–5006. <https://doi.org/10.1021/jf020302f>
- [2] Fan M, Xu X, Lang W, et al (2023) Toxicity, formation, contamination, determination and mitigation of acrylamide in thermally processed plant-based foods and herbal medicines: A review. *Ecotoxicol Environ Saf* 260:115059. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2023.115059>
- [3] Oracz J, Nebesny E, Zyzelewicz D (2011) New trends in quantification of acrylamide in food products. *Talanta* 86:23–34. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.08.066>
- [4] Tolgyesi A, Sharma VK (2020) Determination of acrylamide in gingerbread and other food samples by HILIC-MS/MS: A dilute-and-shoot method. *J Chromatogr B* 1136:121933. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.121933>
- [5] Li YL, Tang LJ, Yu JL (2019) Determination of acrylamide in potato chips and biscuits by hydrophilic interaction-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Food Saf Qual* 10:4417–4423

- [6] Bernal J, Ares AM, Pól J, Wiedmer SK (2011) Hydrophilic interaction liquid chromatography in food analysis. *J Chromatogr A* 1218:7438–7452. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2011.05.004>
- [7] Mollakhalili-Meybodi, N., Khorshidian, N., Nematollahi, A., Arab, M., 2021. Acrylamide in bread: a review on formation, health risk assessment, and determination by analytical techniques. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28, 15627–15645. doi:10.1007/s11356-021-12775-3
- [8] Korićanac, V., Janković, S., Vranić, D., Stanković, I., Nikolić, D., Petrović, Z., & Milicević, D. (2021). The presence of acrylamide in various type of food products from the Serbian market. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 854(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/854/1/012045>
- [9] Žilić, S., Sarić, B., Mogol, B. A., Kravić, N., Hamzaloğlu, A., Simić, M., Nikolić, V., & Gökmen, V. (2024). Assessment of acrylamide content in corn-based snack products marketed in Serbia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 135. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106652>
- [10] Basaran, B., Sadighara, P. (2024). The level, human exposure, and health risk assessment of acrylamide in chips and breakfast cereals: A study from Türkiye. *Journal of Food Composition and Analysis*, 134, 106584. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2024.106584>