

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU
HEMIJSKOG FAKULTETA
UNIVERZITETA U BEOGRADU

Predmet: Izveštaj Komisije za pregled i ocenu doktorske disertacije Gorice D. Veselinović (rođ. Grbović), diplomiranog hemičara za životnu sredinu

Poštovane kolegice i kolege,

Na redovnoj sednici Nastavno-naučnog veća Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, održanoj 11.12.2014. godine određeni smo za članove Komisije za pregled i ocenu doktorske disertacije **Gorice D. Veselinović (rođ. Grbović)**, diplomiranog hemičara za životnu sredinu, prijavljene pod naslovom:

„Ispitivanje stabilnosti i toksičnosti UV filtera benzofenonskog tipa i njihovih transformacionih proizvoda u prisustvu hlora u vodenoj sredini”

Komisija je doktorsku disertaciju pregledala i podnosi Nastavno-naučnom veću sledeći

I Z V E Š T A J

A. Prikaz sadržaja disertacije

Doktorska disertacija Gorice D. Veselinović napisana je na 138 strana A4 formata (prored 1,5, font 12), sadrži 48 slika, 17 šema i 11 tabela. Podeljena je u 7 poglavlja: 1. Uvod (5 strana), 2. Teorijski deo (46 strana), 3. Cilj istraživanja (2 strane), 4. Eksperimentalni deo (17 strana), 5. Rezultati i diskusija (47 strana), 6. Zaključci (3 strane) i 7. Literatura (19 strana, 172 citata). Pored toga, teza sadrži Zahvalnicu, Izvod na srpskom i engleskom jeziku (po dve strane), Sadržaj i Biografiju kandidata.

U Uvodu kandidat ističe značaj ispitivanja UV filtera, supstanci koje se sve više koriste u cilju zaštite od štetnog UV zračenja, i njihovog uticaja na životnu sredinu. U ovom delu date su strukturne karakteristike, podela i značaj ovih jedinjenja. Osim toga, opisano je kako UV filtri dospevaju u životnu sredinu, koje su okvirne koncentracije u kojima se oni mogu detektovati i kakav je njihov ekotoksikološki efekat. Poznato je da ova jedinjenja u životnoj sredini pod određenim uslovima mogu da podlegnu različitim transformacijama, ali da je upravo rasvetljavanje mehanizama i karakterizacija dobijenih proizvoda ono što treba da bude fokus istraživanja. U ovom delu, ukratko su opisani ciljevi disertacije, način njihove realizacije i spisak metoda koje su u tu svrhu korišćene. U okviru ovog rada ispitivana su tri benzofenonska UV

filtra čije je korišćenje dozvoljeno za pripremu kozmetičkih proizvoda na evropskom tržištu: dietilaminohidroksibenzoil heksil benzoat (DHHB), 2-hidroksi-4-metoksibenzofenon (BP3) i 2-hidroksi-4-metoksibenzofenon-5-sulfonska kiselina (BP4). Glavni cilj ovog rada bilo je ispitivanje stabilnosti i ekotoksičnosti DHHB UV filtra u vodenoj sredini u prisustvu hlora. S obzirom da je DHHB UV filter relativno nov na tržištu i podataka o njegovoj transformaciji u životnoj sredini i ekotoksičnosti ima malo, on je bio glavni predmet ovog rada, a pored njega ispitivanja su vršena i na BP3 i BP4 kao najčešće korišćenim benzofenonskim UV filterima.

U Teorijskom delu ukratko su prikazani značaj i podela ultraljubičastog (UV) zračenja, definisani pojmovi UV indeks i minimalna eritemska doza i detaljno opisan uticaj ovog zračenja na ljudsku kožu, njegovi korisni i štetni efekti. Kandidat je dao pregled razvoja kozmetičkih proizvoda koji pružaju fotozaštitu i u posebnom delu predstavio UV filtere, njihovu strukturu, podelu, način delovanja, fizičko-hemijske karakteristike, kao i zakonsku regulativu koja se na ova jedinjenja odnosi. U ovom delu predstavljen je način unosa ovih jedinjenja u životnu sredinu, kao i mogući putevi transformacije i dat je iscrpan pregled literaturnih podataka koji se odnose na identifikaciju i kvantifikaciju UV filtera u različitim vodenim sistemima. Posebna celina u okviru Teorijskog dela odnosi se na ekotoksičnost UV filtera i njeno ispitivanje, gde su opisani neki od standardnih testova koji se koriste za ispitivanje toksičnosti ovih jedinjenja, konkretno na luminescentnoj bakteriji *Vibrio fischeri*, slatkovodnoj mikroalgi *Pseudokirchneriella subcapitata* i na slatkovodnom račiću *Daphnia magna*. Posebno poglavlje posvećeno je grupi UV filtera benzofenonskog tipa, njihovim osobinama, načinu delovanja, nađenim koncentracijama u životnoj sredini i njihovoj ekotoksičnosti.

U poglavlju Cilj istraživanja još jednom su jasno definisani ciljevi rada doktorske disertacije i iznesen je plan rada.

U poglavlju Eksperimentalni deo predstavljeni su reagensi, metode i postupci koji su korišćeni u toku rada. U posebnom delu opisani su postupci sinteze DHHB UV filtra, njegovih hlorovanih proizvoda i sinteze hlorovanih proizvoda BP3 i BP4 UV filtera. Predstavljeni su procesi hlorovanja DHHB, BP3 i BP4 UV filtera u neutralnoj vodenoj sredini, i BP4 filtra u baznoj i kiseljoj sredini. Poseban deo se odnosi na ispitivanje fotostabilnosti ovih UV filtera i njihovih hlorovanih proizvoda gde su opisani eksperimentalni uslovi, a jedan deo na određivanje ovih jedinjenja u bazenskim vodama sa opisom metode ekstrakcije na čvrstoj fazi koja je u ovu svrhu korišćena. Pored toga, ukratko su opisane sve instrumentalne analitičke metode koje su u ovom radu korišćene i standardne procedure za ispitivanje toksičnosti na vodenim test organizmima.

Poglavlje Rezultati i diskusija podeljeno je u pet celina, a svaka od njih sadrži i po nekoliko odeljaka. Dobijeni rezultati su sistematski izloženi, potkrepljeni šemama, hromatogramima, tabelama sa rezultatima i ostalim relevantnim podacima.

U prvoj celini u okviru poglavlja Rezultati i diskusija predstavljene su šeme dobijanja DHHB UV filtra i njegovih hlorovanih proizvoda 3-Cl DHHB i 5-Cl DHHB, zatim 3Cl-BP3, 5Cl-BP3, 3,5-diCl-BP3 i 3Cl-BP4, dati su prinosi jedinjenja i ostali podaci na osnovu kojih je okarakterisana struktura sintetisanih jedinjenja.

U drugoj celini poglavlja Rezultati i diskusija opisani su dezinfekcioni eksperimenti, koji se odnose na hlorovanje BP3 i BP4 UV filtra u neutralnoj vodenoj sredini, a posebna pažnja posvećena je hlorovanju DHHB UV filtra i identifikaciji njegovih transformacionih proizvoda. Svi dobijeni rezultati sistematski su predstavljeni i prodiskutovani, date su šeme pretpostavljenih mehanizama i fragmentacionih puteva, a sve potkrepljeno HPLC i LC-MS hromatogramima.

U trećoj i četvrtoj celini predstavljeni su i prodiskutovani rezultati eksperimenata fotostabilnosti i rezultati ispitivanja bazenskih voda sa nekoliko lokacija u Sloveniji i Srbiji.

Poslednja, peta celina predstavlja rezultate toksikoloških ispitivanja DHHB UV filtra i njegovih hlorovanih proizvoda na vodene test organizme *Vibrio fischeri*, *Daphnia magna* i *Pseudokirchneriella subcapitata*, kao i BP3 i BP4 UV filtra na bakteriju *Vibrio fischeri*.

U poglavlju Zaključci kandidat je na osnovu rezultata, kritički analiziranih i detaljno prodiskutovanih, sistematski rezimirao najznačajnije rezultate u vidu zaključaka.

Navedena Literatura obuhvata radove iz oblasti istraživanja (172 citata) i pokriva sve delove disertacije.

B. Kratak opis postignutih rezultata

U reakciji DHHB UV filtra sa NaOCl kao glavni proizvodi nastaju 3-hloro DHHB, zamenom vodonikovog atoma sa atomom hlora u reakciji elektrofilne aromatične supstitucije, i proizvod označen kao P1, za koji se pretpostavlja da nastaje hlorovanjem fenolnog prstena sa simultanom eliminacijom etil grupe sa susednog azotovog atoma. Mehanizam nastanka proizvoda P1 izgleda prihvatljiv, mada će biti potreban dodatni rad da bi se u potpunosti razjasnio. U višku dezinfekcionog sredstva 3-hloro DHHB podleže daljem procesu hlorovanja pri čemu nastaje dihaloro proizvod, 3,5-diCl DHHB. U procesu hlorovanja BP3 i BP4 UV filtra u neutralnoj vodenoj sredini sa trihaloroizocijanurnom kiselinom nastaju isti proizvodi, 5Cl-BP3 i 3,5-diCl-BP3. S obzirom da BP4 UV filter u svojoj strukturi sadrži sulfonsku grupu, njegovi hlorovani proizvodi zavise od pH vrednosti. U baznoj sredini kao glavni proizvod nastaje 3,5-diCl-BP3, 5Cl-BP3 nastaje u tragovima, a u kiselim nastaje 3Cl-BP4. Rezultati ispitivanja fotostabilnosti BP3, BP4 i DHHB UV filtra i njihovih hlorovanih proizvoda pokazali su da su ova jedinjenja prilično stabilna pod dejstvom UVA zračenja. Izuzetak je 3,5-diCl-BP3, koji se pokazao kao najmanje stabilno jedinjenje. Degradacioni proizvod koji je u ovom procesu nastao, nažalost, nije identifikovan. To predstavlja izazov i cilj za neka buduća istraživanja. Uzimajući u obzir činjenicu da je 3,5-diCl-BP3 glavni proizvod u procesu hlorovanja BP3 i BP4 UV filtera, to može imati negativne posledice po životnu sredinu. Rezultati ovog rada pokazali su još i da su neki od UV filtera nađeni u životnoj sredini u relativno visokim koncentracijama (npr. BP3 0,3 µg/l i 1,7 µg/l), ali njihovi hlorovani proizvodi u još većim (3,5-diCl-BP3 6,6 µg/l). Testovi toksičnosti pokazali su da se efekat DHHB UV filtera na bakteriju *V. fischeri* ne menja značajno nakon procesa hlorovanja, a BP3 i BP4 nemaju veliki uticaj na ovu bakteriju. Slatkovodna alga *P. subcapitata* je pokazala značajno veću osetljivost na prisustvo DHHB UV filtra nego na njegove hlorovane proizvode, dok na *D. magna* veći efekat imaju hlorovani proizvodi, posebno 3-hloro DHHB.

C. Usporedna analiza rezultata kandidata sa rezultatima iz literature

Sve veća zabrinutost zbog nepovoljnog uticaja ultraljubičastog (UV) zračenja na ljudsko zdravlje, značajno je povećala upotrebu sredstava za zaštitu od sunca, čiji su osnovni sastojci UV filtri, jedinjenja sposobna da apsorbuju, reflektuju i/ili raspršuju UV svetlost. Kao UV filtri dosta se koriste benzofenonska jedinjenja, kako u kozmetičkoj industriji tako i u drugim granama industrije. Stoga se oni ili njihovi metaboliti u značajnim koncentracijama mogu naći u vodenim sredinama. UV filtri u bazenskim vodama, gde se koriste hlorni agensi kao sredstva za dezinfekciju, mogu da podlegnu reakcijama oksidacije ili hlorovanja. Istraživanja su pokazala da proizvodi ovih reakcija mogu da budu toksičniji po živi svet od polaznih jedinjenja, zbog čega je značajna identifikacija mogućih transformacionih proizvoda i ispitivanje njihovih fizičko-hemijskih i bioloških osobina. Prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji (WHO), organski UV filtri ispoljavaju karakteristike dugotrajnih organskih zagađujućih supstanci (POPs) i odnedavno se svrstavaju u takozvane emergentne kontaminante kojima se tek u skorije vreme počeo pridavati poseban značaj. To je dovelo do razvoja velikog broja analitičkih metoda za određivanje UV filtera. Poslednjih godina, veliki broj naučnih radova posvećen je problematici rasvetljivanja mehanizama transformacije kojima ova jedinjenja podležu u vodenoj sredini kao i identifikaciji proizvoda koji tako nastaju, što je potvrda aktuelnosti ove teme u svetu. Dosta radova je objavljeno i na temu toksičnosti UV filtera, ali su podaci o toksičnim efektima njihovih metaboličkih proizvoda na vodene organizme i dalje retki. BP3 i BP4 UV filtri su najčešće upotrebljavani UV filtri, pa se u najvećem broju radova iz dostupne literature nalaze podaci o identifikaciji u vodama, transformacionim mehanizmima ili toksičnosti ovih jedinjenja. Najmanje podataka ima o sudbini DHHB UV filtra nakon što dospe u životnu sredinu i njegovoj toksičnosti, a on je pored BP3 i BP4, jedini na listi dozvoljenih u EU, zbog toga on predstavlja poseban predmet ovog istraživanja. Podaci o koncentracijama benzofenonskih UV filtera u slatkovodnim i uzorcima morske vode su objavljeni u brojnim publikacijama i uglavnom su reda veličine nanograma po litru (ng/l), ali dostižu i koncentracije od nekoliko desetina mikrograma po litru vode (µg/l). Nađene koncentracije u ispitivanim uzorcima bazenske vode u okviru ove disertacije takođe nisu zanemarljive, i dostižu po nekoliko µg/l. Kako je jedan od ciljeva bio da se uporede dobijeni podaci toksičnosti DHHB UV filtra sa literaturnim podacima za ostale benzofenonske UV filtre, u ovom radu prikazano je da DHHB, a još više njegovi hlorovani proizvodi, imaju veći uticaj na dafnije nego drugi benzofenonski UV filtri, prema algama DHHB ima sličan efekat kao BP3, a najmanju ekotoksičnost pokazuje BP4.

D. Objavljeni i saopšteni radovi koji čine deo disertacije

Radovi u vrhunskom časopisu međunarodnog značaja – M21

1. **Gorica Grbović**, Polonca Trebše, Darko Dolenc, Albert T. Lebedev, Mohamed Sarakha (2013) LC/MS study of the UV filter hexyl 2-[4-(diethylamino)-2-hydroxybenzoyl]-benzoate (DHHB) aquatic chlorination with sodium hypochlorite. *Journal of Mass Spectrometry*, **48**, 1232–1240. (IF=3,268 za 2011, Chemistry, Analytical (15/73))

2. **Gorica Grbović**, Olga Malev, Darko Dolenc, Roberta Sauerborn Klobučar, Želimira Cvetković, Bruno Cvetković, Branimir Jovančičević and Polonca Trebše (2015) "Synthesis, characterisation and aquatic ecotoxicity of the UV filter hexyl 2-(4-diethylamino-2-hydroxybenzoyl)benzoate (DHHB) and its chlorinated by-products", *Environmental Chemistry*, **13**, 119-126. (IF = 3,161 za 2015, Environmental Sciences (64/225))

Rad u istaknutom časopisu međunarodnog značaja – M22

1. Rensheng Zhuang, Romina Žabar, **Gorica Grbović**, Darko Dolenc, Jun Yao, Tatjana Tišler, Polonca Trebše (2013) Stability and Toxicity of Selected Chlorinated Benzophenone-type UV Filters in Waters. *Acta Chimica Slovenica*, **60**, 826–832. (IF= 1,278 in 2011, Chemical, biochemical and environmental engineering (77/154))

Saopštenja na naučnim skupovima međunarodnog značaja u izvodu – M34

1. **Gorica Grbović**, Romina Žabar, Polonca Trebše, Darko Dolenc (2012) Transformation of DHHB UV filter under disinfection conditions Proc. 19th Young Investigators' Seminar On Analytical Chemistry YISAC, Nova Gorica, Slovenia, June 27 - 30, pp. 41, ISBN 978-961-6311-72-4

2. **Gorica Grbović**, Olga Malev, Roberta Sauerborn Klobučar, Ž. Cvetković, B. Cvetković, Darko Dolenc, Tatjana Tišler, Albert T. Lebedev, O. Polyakova, Polonca Trebše (2012) Stability and toxicity of selected sun protective compounds in disinfection processes, Proc. 13th European Meeting on Environmental Chemistry, EMEC13, Moscow, Russia, December 05-08, pp. 98, ISBN 978-5-89513-295-1

3. **Gorica Grbović**, Romina Žabar, Polonca Trebše and Darko Dolenc (2012) Photocatalytic degradation of DHHB UV filter and its chlorinated products", Proc. SUNGREEN Scientific Workshop, Thematic Workshop - Instrumental Analytical Methods for Environmental Monitoring, Nova Gorica, Slovenia, June 22-23, pp. 13, ISBN 978-961-6311-70-0

4. Gordana Gajica, **Gorica Grbović**, Snežana Štrbac, Aleksandra Šajnović, Ksenija Stojanović, Predrag Simonović, Branimir Jovančičević (2013) Investigation of polycyclic aromatic hydrocarbons in tissues of fish from the Tisza River (Serbia)", Proc. 14th European Meeting on Environmental Chemistry, EMEC14, Budva, Montenegro, December 04-08, pp. 93, ISBN 978-9940-9059-1-0

Saopštenje sa naučnog skupa nacionalnog značaja u izvodu - M64

1. **Gorica Grbović**, Olga Malev, Darko Dolenc, Polonca Trebše (2013) Stability and toxicity of hexyl 2-[4-(diethylamino)-2-hydroxibenzoil]benzoate and its environmental fate, 6th Symposium Chemistry and Environmental Protection – EnviroChem 2013, Vršac, Serbia, May 21-24, pp. 190-191, ISBN 978-86-7132-052-8

E. Zaključak

Komisija je na osnovu detaljnog pregleda doktorske teze **Gorice D. Veselinović** pod naslovom „**Ispitivanje stabilnosti i toksičnosti UV filtera benzofenonskog tipa i njihovih transformacionih proizvoda u prisustvu hlora u vodenoj sredini**“, zaključila da je kandidat uspešno odgovorio na sve postavljene zadatke i ciljeve.

Rezultati istraživanja proistekli iz ove doktorske disertacije objavljeni su u tri rada štampana u međunarodnim naučnim časopisima (dva kategorije M₂₁ i jedan kategorije M₂₂), četiri saopštenja štampana u izvodu na skupovima međunarodnog značaja (M₃₄) i jedno saopštenje štampano u izvodu na skupu nacionalnog značaja (M₆₄).

Komisija smatra da rezultati ove doktorske disertacije predstavljaju značajan naučni doprinos u oblasti hemije životne sredine i da se u potpunosti uklapaju u savremene trendove ove naučne discipline.

Na osnovu svega izloženog, Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da podnetu doktorsku disertaciju **Gorice D. Veselinović** pod naslovom „**Ispitivanje stabilnosti i toksičnosti UV filtera benzofenonskog tipa i njihovih transformacionih proizvoda u prisustvu hlora u vodenoj sredini**“ prihvati i odobri njenu odbranu.

Komisija:

dr Branimir Jovančićević, redovni profesor
Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu,
mentor

dr Polonca Trebše, redovni profesor
Zdravstvenog fakulteta Univerziteta u Ljubljani,
mentor

dr Ivan Gržetić, redovni profesor
Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

dr Aleksandra Šajnović, viši naučni saradnik
Centra za hemiju-Institut za hemiju, tehnologiju i
metalurgiju Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu,
19.12.2016. godine