

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

Predmet: Referat o urađenoj doktorskoj disertaciji kandidata Ivane V. Matić Bujagić, master inženjera zaštite životne sredine

Odlukom Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu br. 35/273 od 26. maja 2016. godine, imenovani smo za članove Komisije za pregled, ocenu i odbranu doktorske disertacije kandidata Ivane V. Matić Bujagić (rođene Matić), master inženjera zaštite životne sredine, pod naslovom: „**Određivanje tragova steroidnih hormona i sterola kao indikatora izvora zagađenja rečnih sedimenata metodom tečne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom**”.

Nakon pregleda dostavljene doktorske disertacije, Komisija podnosi Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta sledeći

R E F E R A T

1. UVOD

1.1. Hronologija odobravanja i izrade disertacije

- Školske 2012/2013. godine Ivana Matić je upisala doktorske akademske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu, na smeru Hemija, pod mentorstvom dr Svetlane Grujić.
- 26. 6. 2015. god. Ivana Matić je predložila temu doktorske disertacije pod naslovom: „Određivanje tragova hormona i sterola kao indikatora izvora zagađenja rečnih sedimenata metodom tečne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom”.
- 9. 7. 2015. god. na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta doneta je odluka (br. 35/314) o imenovanju članova Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata Ivane Matić, master inženjera zaštite životne sredine, za izradu doktorske disertacije i naučne zasnovanosti teme pod nazivom: „Određivanje tragova hormona i sterola kao indikatora izvora zagađenja rečnih sedimenata metodom tečne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom” u sastavu: dr Svetlana Grujić, van. prof. TMF-a, dr Mila Laušević, red. prof. TMF-a i dr Slavica Ražić, red. prof. Farmaceutskog fakulteta.
- 17. 9. 2015. god. na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta, odlukom br. 35/391, usvojen je izveštaj Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata za izradu doktorske disertacije. Za mentora ove doktorske disertacije imenovana je dr Svetlana Grujić, vanredni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta.
- 29. 10. 2015. god. na sednici Veća naučnih oblasti prirodnih nauka Univerziteta u Beogradu odloženo je razmatranje zahteva za davanje saglasnosti na predlog teme doktorske disertacije kandidata Ivane Matić sa obrazloženjem da je potrebno bliže odrediti tip hormona čiji će tragovi biti određivani u okviru istraživanja doktorske disertacije (odluka br. 61206-4488/2-15).
- 3. 12. 2015. god. na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta doneta je odluka (br. 35/534) o prihvatanju izveštaja Komisije za ocenu podobnosti teme i kandidata Ivane Matić za izradu doktorske disertacije pod nazivom: „Određivanje tragova steroidnih hormona i sterola kao indikatora izvora zagađenja rečnih sedimenata

metodom tečne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom”. Za mentora doktorske disertacije imenovana je dr Svetlana Grujić, van. prof. TMF-a.

- 24. 12. 2015. god. na sednici Veća naučnih oblasti prirodnih nauka Univerziteta u Beogradu data je saglasnost na predlog teme doktorske disertacije Ivane Matić pod nazivom: „Određivanje tragova steroidnih hormona i sterola kao indikatora izvora zagađenja rečnih sedimenata metodom tečne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom” (odluka br. 61206-4488/2-15).
- 26. 5. 2016. god. na sednici Nastavno-naučnog veća Tehnološko-metalurškog fakulteta doneta je odluka (br. 35/273) o imenovanju članova Komisije za ocenu i odbranu doktorske disertacije Ivane Matić Bujagić, pod nazivom: „Određivanje tragova steroidnih hormona i sterola kao indikatora izvora zagađenja rečnih sedimenata metodom tečne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom” u sastavu: dr Svetlana Grujić, van. prof. TMF-a, dr Mila Laušević, red. prof. TMF-a i dr Slavica Ražić, red. prof. Farmaceutskog fakulteta.

1.2. Naučna oblast disertacije

Tema ove doktorske disertacije pripada naučnoj oblasti **Hemijske nauke** za koju je matičan Tehnološko-metalurški fakultet u Beogradu. Za mentora ove doktorske disertacije imenovana je dr Svetlana Grujić, vanredni profesor Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, koja ispunjava sve neophodne uslove da rukovodi izradom ove disertacije.

1.3. Biografski podaci o kandidatu

Ivana Matić Bujagić je rođena 25.2.1988. godine u Arandelovcu. Osnovnu školu „Sestre Radović” u Belosavcima završila je kao đak generacije 2003. godine, a 2007. godine je sa odličnim uspehom završila Medicinsku školu u Beogradu. Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, studijski program Hemijska tehnologija, studijsko područje Inženjerstvo zaštite životne sredine, upisala je školske 2007/2008. godine. Diplomirala je 2011. godine na Katedri za inženjerstvo zaštite životne sredine sa prosečnom ocenom tokom studija 9,26. Završni rad pod nazivom „Optimizacija metode pripreme uzoraka za analizu tragova kardiovaskularnih lekova u vodi” odbranila je sa ocenom 10. Master studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, smer Inženjerstvo zaštite životne sredine, upisala je školske 2011/2012. godine. Diplomirala je 2012. godine sa prosečnom ocenom u toku studija 9,88, a završni master rad odbranila je sa ocenom 10.

Školske 2012/2013. godine upisala je doktorske akademske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu, na smeru Hemija, pod rukovodstvom dr Svetlane Grujić, vanrednog profesora Tehnološko-metalurškog fakulteta. Na doktorskim studijama je uspešno položila sve ispite predviđene planom i programom, kao i završni ispit, sa prosečnom ocenom 10.

Ivana Matić Bujagić je četiri puta nagrađena Poveljom Pante S. Tutundžić Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu za izuzetan uspeh na osnovnim akademskim studijama. Dobitnik je i specijalnog priznanja Srpskog hemijskog društva za izuzetan uspeh tokom studija na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, 2012. godine.

U periodu od aprila do novembra 2013. godine Ivana Matić Bujagić je bila stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije na projektu osnovnih istraživanja br. 172007. Od novembra 2013. god. do februara 2016. god. radila je u Inovacionom centru Tehnološko-metalurškog fakulteta na projektu osnovnih istraživanja pod nazivom „Razvoj i primena metoda i materijala za monitoring novih zagađujućih i toksičnih organskih materija i teških metala“. Od februara 2016. godine Ivana Matić Bujagić je zaposlena kao saradnik u nastavi - demonstrator na Visokoj školi strukovnih studija „Beogradska politehnika” u Beogradu i kao spoljni saradnik na projektu osnovnih istraživanja br. 172007 na Tehnološko-metalurškom fakultetu.

2. OPIS DISERTACIJE

2.1. Sadržaj disertacije

Doktorska disertacija Ivane Matić Bujagić napisana je na 186 strana i sadrži 87 slika i 21 tabelu. Disertacija obuhvata sledeća poglavlja: Uvod (2 strane), Teorijski deo (62 strane), Eksperimentalni deo (15 strana), Rezultati i diskusija (56 strana), Zaključak (3 strane), Literatura (218 navoda, 21 strana) i Prilog (25 strana). Pored toga, postoji rezime na srpskom i engleskom jeziku, sadržaj, zahvalnica, kao i biografija kandidata i spisak radova proisteklih iz doktorske disertacije (2 strane). Po strukturi i sadržaju, disertacija zadovoljava propisane standarde Univerziteta u Beogradu.

2.2. Kratak prikaz pojedinačnih poglavlja

U **Uvodu** je jasno predstavljen cilj istraživanja ove doktorske disertacije, a to je razvoj nove, brze i osetljive multirezidualne metode tačne hromatografije spregnute sa tandem masenom spektrometrijom (LC-MS/MS) za istovremenu analizu tragova steroidnih hormona i sterola u rečnim sedimentima. Istaknut je značaj određivanja prisustva steroidnih hormona i sterola, koji iako prisutni u niskim koncentracijama u životnoj sredini mogu prouzrokovati niz funkcionalnih poremećaja kod čoveka i životinja. Takođe je naglašen značaj upotrebe odnosa sterola u identifikaciji porekla zagađenja životne sredine, u cilju procene rizika i osmišljavanja mera za kontrolu zagađenja. Objašnjeno je i zbog čega LC-MS/MS metoda predstavlja tehniku izbora za analizu tragova steroidnih jedinjenja u uzorcima iz životne sredine.

U **Teorijskom delu** je dat detaljan literaturni pregled oblasti istraživanja doktorske disertacije. Navedene su najzastupljenije klase steroidnih jedinjenja i istaknuti su najvažniji predstavnici klasa. Detaljno su objašnjeni biogeno i antropogeno poreklo i putevi dospevanja steroidnih hormona i sterola u životnu sredinu. Zatim su predstavljeni načini uklanjanja steroidnih jedinjenja u postrojenjima za prečišćavanje otpadnih voda, uz osvrt na ograničenu efikasnost postojećih tehnologija prečišćavanja. Opisani su adsorpcioni i degradacioni procesi kojima steroidna jedinjenja podležu kada dospeju u životnu sredinu. Objašnjen je problem prisustva steroidnih hormona u životnoj sredini, kao i nekih humanih/životinjskih i biljnih sterola, koji mogu dovesti do poremećaja fizioloških procesa i reproduktivnih funkcija organizama. U nastavku ovog poglavlja je podrobno prikazana svetska zakonska regulativa u oblasti zaštite životne sredine usmerena na steroidna jedinjenja, s naglaskom da u Republici Srbiji ova jedinjenja još uvek nisu prepoznata kao zagađujuće materije. Zatim je dat opsežan pregled metoda analize i detektovanih koncentracija najzastupljenijih steroidnih hormona i humanih/životinjskih i biljnih sterola u uzorcima rečnih, jezerskih i morskih sedimenata. Objašnjen je značaj i navedene su prednosti utvrđivanja izvora zagađenja primenom odnosa sterola u poređenju sa tradicionalnim bakteriološkim indikatorima. Predstavljeni su svi relevantni odnosi sterola koji se u literaturi navode kao važni za identifikaciju humane fekalne kontaminacije, kao i za razlikovanje izvora zagađenja. Dalje su opisani kriterijumi za izbor steroidnih jedinjenja za analizu, kao i najvažnije karakteristike odabranih jedinjenja. Istaknuta je složenost analitičkog određivanja tragova analiza u kompleksnim matricama, poput rečnih sedimenata. Objašnjena su ograničenja malobrojnih metoda za istovremeno određivanje steroidnih hormona i sterola, zasnovanih na primeni gasne hromatografije u sprezi sa masenom spektrometrijom. Naglašeno je da je LC-MS/MS metoda zastupljena u analizi steroidnih hormona, ali da su za analizu humanih/životinjskih i biljnih sterola u uzorcima iz životne sredine literaturni podaci veoma oskudni. U nastavku su prikazane tehnike pripreme uzoraka sedimenata za analizu, s posebnim osvrtom na ultrazvučnu ekstrakciju korišćenu prilikom izrade ove teze, kao i načini prečišćavanja ekstrakta pripremljenih uzoraka u cilju smanjenja uticaja matrice na rezultate analize. Detaljno su objašnjeni principi analitičkih metoda tačne hromatografije i masene spektrometrije, uz opsežan opis korišćenih tehnika jonizacije i jonskih trapova za izvođenje višestepene masene analize.

U **Eksperimentalnom delu** je dat prikaz hemijskih struktura i formula dvadeset steroidnih hormona i sterola odabranih za analizu. Opisan je razvoj instrumentalne metode tačne

hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom za analizu izabranih steroidnih jedinjenja. Objašnjen je način snimanja masenih spektara analita i izbor optimalne tehnike jonizacije, zatim optimizacija hromatografskog razdvajanja analita, i konačno optimizacija LC-MS/MS parametara i izbor karakterističnih reakcija fragmentacije za pouzdanu identifikaciju, kvantifikaciju i potvrdu prisustva svakog odabranog analita. Prikazan je razvoj metode pripreme uzoraka rečnih sedimenata za analizu, uz opis postupka optimizacije parametara koji imaju najveći uticaj na efikasnost ultrazvučne ekstrakcije. Detaljno je objašnjena optimizacija metode prečišćavanja dobijenih ekstrakata, validacija razvijene metode, kao i korišćena metoda kalibracije. Razvijena i validirana metoda je primenjena u analizi uzoraka sedimenata iz nekoliko reka u Srbiji, u cilju procene stepena zagađenosti steroidnim jedinjenjima i identifikaciji porekla zagađenja primenom odnosa sterola. Opisano je jedanaest mesta uzorkovanja, a najveći broj uzoraka sedimenata je prikupljen iz reke Dunav i njenih najvećih pritoka Tise, Save i Velike Morave.

U poglavlju **Rezultati i diskusija** prikazani su i opsežno analizirani dobijeni rezultati. Na osnovu masenih spektara analita, dobijenih primenom elektrosprej jonizacije (ESI) i hemijske jonizacije na atmosferskom pritisku (APCI), utvrđeno je da se svega nekoliko steroidnih hormona može efikasno jonizovati ESI tehnikom, dok se pomoću APCI tehnike postiže stabilna jonizacija svih odabranih steroida. Detaljnom maseno-spektrometrijskom (MS^n) analizom, uočeno je da steroidni hormoni estron i estriol, kao i 17β - i 17α -estradiol, i četiri sterola (epikoprostanola, epiholestanola, koprostanola i holestanola) imaju identične MS^n reakcije fragmentacije. Zbog toga je posebna pažnja posvećena potpunom hromatografskom razdvajanju ovih jedinjenja kao jedinom načinu za njihovo razlikovanje i pouzdanu kvantifikaciju. Za svaki od ispitivanih analita izabrani su optimalni LC-MS/MS parametri i karakteristične reakcije fragmentacije za kvantitativno određivanje i potvrdu prisustva.

Na osnovu rezultata optimizacije postupka pripreme uzoraka rečnih sedimenata za analizu, utvrđeno je da se najviši prinosi svih odabranih analita dobijaju ultrazvučnom ekstrakcijom 2,0 g sedimenta, uz korišćenje metanola kao rastvarača za ekstrakciju, u trajanju od 3×10 min. Kao optimalno pakovanje kolone za prečišćavanje ekstrakta sedimenta odabrana je smeša silika-gela i anhidrovanog natrijum-sulfata, uz primenu metanola kao eluenta. Prema definisanim parametrima validacije za metode analize uzoraka iz životne sredine, utvrđeno je da razvijena metoda pokazuje optimalnu tačnost, preciznost, linearnost i osetljivost, i da je kao takva pogodna za određivanje tragova ispitivanih steroida u kompleksnoj matrici rečnog sedimenta.

Primenom razvijene metode u analizi realnih uzoraka rečnih sedimenata dobijeni su prvi podaci o stepenu zagađenosti sedimenata u Srbiji steroidnim jedinjenjima. Od dvadeset odabranih analita, trinaest je detektovano u ispitivanim uzorcima. Za svaki analit je prikazan maseni hromatogram sa potvrdom prisustva u realnom uzorku. Od devet traženih steroidnih hormona, samo su mestranol i 17α -estradiol pronađeni u analiziranim sedimentima. Detaljnim pregledom literature utvrđeno je da je prisustvo hormona mestranola u sedimentima prvi put zabeženo. Takođe je pokazana široka rasprostranjenost humanih/životinjskih i biljnih sterola u rečnim sedimentima, pri čemu je u najvećoj koncentraciji detektovan koprostanol, najznačajniji biomarker antropogenog fekalnog zagađenja. Dobijeni rezultati su upoređeni sa rezultatima relevantnih publikovanih studija.

Na osnovu koncentracija detektovanih sterola izračunati su odnosi sterola za identifikaciju humanog fekalnog zagađenja i razlikovanje izvora zagađenja rečnih sedimenata. Od jedanaest testiranih odnosa sterola, kao najpouzdaniji za utvrđivanje porekla zagađenja rečnih sedimenata izdvojeni su sledeći: koprostanol/(koprostanol+holestanol), uz sugestiju da je pogodnija referentna vrednost veća od 0,5 za potvrdu humane fekalne kontaminacije, kao i koprostanol/holesterol, epikoprostanol/koprostanol i sitostanol/koprostanol. Utvrđeno je da je većina ispitivanih uzoraka sedimenata zagađena kanizacionim otpadnim vodama, dok je kod dva uzorka prepoznat kombinovan uticaj antropogenog zagađenja i prirodnih sterola poreklom od biljojeda.

U poglavlju **Zaključak** sumirani su i pregledno navedeni postignuti rezultati, a potom je navedena i literatura koja obuhvata relevantne radove iz oblasti istraživanja citirane u doktorskoj disertaciji.

3. OCENA DISERTACIJE

3.1. Savremenost i originalnost

Istraživanja prikazana u ovoj tezi su originalna i u skladu sa savremenim svetskim trendovima u analizi tragova „emergentnih“ zagađujućih supstanci u životnoj sredini, kojima pripadaju i steroidna jedinjenja. Međutim, većina radova koji se bave ovom problematikom usmerena je na specifičnu klasu steroida, poput estrogenih hormona ili humanih/životinjskih sterola. S obzirom na to da steroidni hormoni i steroli pripadaju klasi steroidnih jedinjenja, kao i da imaju zajedničke puteve dospevanja u životnu sredinu, neophodno je razviti multirezidualnu analitičku metodu za njihovo istovremeno određivanje. U literaturi je zabeležen mali broj metoda za simultano određivanje ovih jedinjenja, a sve postojeće metode zasnovane su na primeni gasne hromatografije u sprezi sa masenom spektrometrijom (GC-MS). Međutim, GC-MS metoda ima određena ograničenja za termički nestabilne i slabo isparljive analite, poput sterola. Za ova jedinjenja je neophodna derivatizacija koja značajno produžava vreme analize, a često nastaju i neželjeni proizvodi. Zbog toga tačna hromatografija u sprezi sa masenom spektrometrijom predstavlja tehniku izbora za analizu tragova steroidnih hormona i sterola u uzorcima iz životne sredine. Pregledom literature je utvrđeno da je LC-MS metoda zastupljena u analizi hormona u uzorcima vode i sedimenata, ali da su podaci o LC-MS analizi humanih/životinjskih i biljnih sterola u uzorcima iz životne sredine veoma oskudni.

U doktorskoj disertaciji Ivane Matić Bujagić razvijena je nova, brza i osetljiva multirezidualna analitička metoda za istovremeno određivanje tragova steroidnih hormona i sterola u uzorcima rečnih sedimenata, što je u skladu sa savremenim istraživanjima u ovoj oblasti. Razvijena metoda je zasnovana na primeni tačne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom, čime su prošireni i nadograđeni postojeći načini identifikacije i kvantifikacije humanih/životinjskih i biljnih sterola u uzorcima iz životne sredine. U okviru istraživanja ove doktorske disertacije postignuto je potpuno hromatografsko razdvajanje jedinjenja sa identičnim MSⁿ reakcijama fragmentacije, a posebno četiri izomera epikoprostanola, epiholestanola, koprostanola i holeanola, čime je prevaziđen problem njihove pouzdane kvantifikacije.

Opsežnim pregledom literature je utvrđeno da je savremen način identifikacije antropogenog zagađenja životne sredine upotreba hemijskih markera, poput humanih/životinjskih i biljnih sterola, umesto tradicionalnih bakterioloških indikatora. U ovom radu su kritički testirani svi relevantni odnosi sterola koji se u literaturi navode kao važni za identifikaciju humane fekalne kontaminacije, kao i za razlikovanje izvora zagađenja. Od jedanaest primenjenih odnosa sterola, četiri su odabrana kao najpouzdaniji za utvrđivanje porekla zagađenja rečnih sedimenata. Analizom uzoraka sedimenata iz nekoliko reka u Srbiji, utvrđena je kontaminacija kanalizacionim otpadnim vodama većine ispitivanih uzoraka, čime su dobijeni prvi podaci o stepenu zagađenosti rečnih sedimenata u Srbiji steroidnim jedinjenjima, što ukazuje na značaj i aktuelnost proučavane problematike.

3.2. Osvrt na referentnu i korišćenu literaturu

U doktorskoj disertaciji citirano je 209 literaturnih navoda, od kojih najveći deo čine noviji radovi u relevantnim međunarodnim časopisima. Tokom izrade teze, detaljno je pregledana literatura usmerena na problematiku određivanja steroidnih hormona i sterola u uzorcima iz životne sredine različitim analitičkim metodama, na osnovu čega su odabrani analiti i isplanirani eksperimenti. Takođe su sveobuhvatno pregledani radovi vezani za primenu odnosa sterola u identifikaciju antropogenog zagađenja životne sredine, što je omogućilo kvalitetno i temeljno tumačenje dobijenih rezultata istraživanja. Iz obrazloženja predložene teme doktorske disertacije, prikaza korišćene literature, kao i objavljenih radova kandidata, uočava se dobro poznavanje savremenih svetskih trendova u oblastima istraživanja.

3.3. Opis i adekvatnost primenjenih naučnih metoda

U ovoj doktorskoj disertaciji je korišćena metoda tačne hromatografije u sprezi sa masenom spektrometrijom, kao jedna od najsavremenijih analitičkih metoda za pouzdanu identifikaciju i

kvantitativno određivanje tragova ispitivanih steroidnih jedinjenja. Za višestepenu maseno-spektrometrijsku analizu korišćeni su Polov i linearni jonski trap, dok su kao tehnike jonizacije primenjene elektrosprej jonizacija i hemijska jonizacija na atmosferskom pritisku, dve tehnike najčešće korišćene za jonizaciju steroidnih hormona i sterola prilikom analize uzoraka iz životne sredine. Za efikasnu ekstrakciju i predkoncentrovanje odabranih steroidnih jedinjenja iz uzoraka rečnih sedimenata korišćena je metoda ultrazvučne ekstrakcije, koju karakterišu brzina i jednostavnost izvođenja, kao i upotreba malih količina organskih rastvarača.

3.4. Primenljivost ostvarenih rezultata

Pregledom literature iz oblasti istraživanja, kao i rezultata proisteklih iz doktorske disertacije, može se zaključiti da je ostvaren značajan doprinos u unapređenju postojećih i razvoju novih, osetljivih i pouzdanih multirezidualnih analitičkih metoda za identifikaciju i praćenje antropogenog zagađenja životne sredine. Razvijena metodologija utvrđivanja izvora zagađenja rečnih sedimenata primenom odabranih odnosa sterola može se koristiti za dugoročno praćenje kontaminacije rečnih sedimenata netretiranim otpadnim vodama, a dobijene informacije se mogu upotrebiti za osmišljavanje mera efikasne kontrole i smanjenja zagađenja rečnih slivova, kao i za procenu rizika po zdravlje ljudi i životinja. Rezultati istraživanja ove doktorske disertacije verifikovani su i od strane svetske naučne javnosti, objavljivanjem u međunarodnim časopisima izuzetnih vrednosti, kao i prezentovanjem dobijenih rezultata na međunarodnim i nacionalnim konferencijama.

3.5. Ocena dostignutih sposobnosti kandidata za samostalni naučni rad

Kandidat Ivana V. Matić Bujagić je tokom izrade doktorske disertacije pokazala stručnost i samostalnost u pregledu naučne literature, pripremi i realizaciji eksperimenata, izvođenju instrumentalnih metoda analize, kao i obradi i kritičkoj analizi dobijenih rezultata. Na osnovu dosadašnjeg rada i postignutih rezultata, Komisija smatra da kandidat poseduje sve kvalitete neophodne za samostalni naučno-istraživački rad.

4. OSTVARENI NAUČNI DOPRINOS

4.1. Prikaz ostvarenih naučnih doprinosa

U okviru ove doktorske disertacije ostvareni su sledeći naučni doprinosi:

- razvoj nove, brze i osetljive multirezidualne metode tačne hromatografije u sprezi sa tandem masenom spektrometrijom za istovremeno određivanje tragova steroidnih hormona i humanih/životinjskih i biljnih sterola u rečnim sedimentima
- pronalaženje optimalnih uslova za postizanje potpunog hromatografskog razdvajanja steroidnih hormona i sterola sa identičnim MSⁿ reakcijama fragmentacije, čime je prevaziđen problem njihove pouzdane kvantifikacije
- razvoj visoko efikasne metode pripreme uzoraka za analizu tragova odabranih steroida u kompleksnoj matrici rečnog sedimenta
- razvoj metodologije i definisanje najpouzdanijih odnosa sterola za utvrđivanje izvora zagađenja rečnih sedimenata
- sprovođenje prve studije o stepenu zagađenja i izvorima kontaminacije rečnih sedimenata u Srbiji steroidnim jedinjenjima

4.2. Kritička analiza rezultata istraživanja

Istraživanja u okviru disertacije koncipirana su na osnovu jasno definisanih ciljeva i detaljne analize literaturnih podataka relevantnih za oblast istraživanja. U tezi je razvijena i primenjena savremena metoda tačne hromatografije u sprezi sa tandem masenom spektrometrijom za pouzdanu identifikaciju i kvantifikaciju dvadeset različitih steroidnih jedinjenja u rečnim sedimentima. Razvojem metode su prevaziđena ograničenja gasne hromatografije u sprezi sa masenom spektrometrijom za istovremeno određivanje steroidnih hormona i termički nestabilnih i slabo isparljivih sterola. Razvijena metoda omogućava nedvosmisleno razlikovanje i potvrdu prisustva

tragova steroida u kompleksnoj matrici sedimenta. Predložena metodologija razlikovanja izvora zagađenja rečnih sedimenata primenom kritički odabranih odnosa sterola predstavlja značajan pomak u odnosu na tradicionalne korišćene bakteriološke indikatore i široku upotrebu nepouzdanih odnosa sterola.

Primenljivost razvijene analitičke metode i metodologije identifikacije izvora zagađenja je potvrđena u prvoj studiji o prisustvu steroidnih jedinjenja u rečnim sedimentima u Srbiji. Utvrđena je široka rasprostranjenost humanih/životinjskih i biljnih sterola, kao i pretežno antropogeno fekalno zagađenje sedimenata, a u poređenju sa relevantnim objavljenim studijama prvi put je zabeženo prisustvo hormona mestranola u rečnim sedimentima.

4.3. Verifikacija naučnih doprinosa

Kandidat Ivana V. Matić Bujagić je rezultate istraživanja ove doktorske disertacije potvrdila njihovim objavljivanjem u međunarodnim časopisima izuzetnih vrednosti, kao i saopštavanjem radova na međunarodnim i nacionalnim skupovima. Iz disertacije su proistekla dva rada objavljena u međunarodnim časopisima izuzetnih vrednosti (M21a), tri rada objavljena u zbornicima skupova međunarodnog značaja štampana u izvodu (M34), jedan rad objavljen u zborniku skupa nacionalnog značaja štampan u celini (M63) i tri rada objavljena u zbornicima skupova nacionalnog značaja štampana u izvodu (M64).

Radovi u međunarodnim časopisima izuzetnih vrednosti (M21a):

1. **Matić Bujagić, I.**, Grujić, S., Jauković, Z., Laušević, M.: Sterol ratios as a tool for sewage pollution assessment of river sediments in Serbia, *Environmental Pollution*, vol. 213, pp. 76-83, 2016 (**IF=4,143**) (ISSN 0269-7491).
2. **Matić, I.**, Grujić, S., Jauković, Z., Laušević, M.: Trace analysis of selected hormones and sterols in river sediments by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, vol. 1364, pp. 117-127, 2014 (**IF=4,169**) (ISSN 0021-9673).

Radovi saopšteni na skupu međunarodnog značaja štampani u izvodu (M34):

1. **Matić, I.**, Grujić, S., Jauković, Z., Laušević, M.: Hormones and sterols in sediments of the Danube River and its tributaries in Serbia, *ContaSed2015 – Contaminated Sediments: Environmental Chemistry, Ecotoxicology and Engineering*, Monte Verità, Ascona, Switzerland, 2015, Book of abstracts, pp. 84.
2. **Matić, I.**, Grujić, S., Jauković, Z., Furtula, V., Laušević, M.: Emerging pollutants in river sediments, *UNESCO Conference on Emerging Pollutants in Water*, Belgrade, Serbia, 2013, Book of abstracts, pp. 101.
3. **Matić, I.**, Jauković, Z., Grujić, S., Antić, N., Furtula, V., Laušević, M.: Extraction optimization of sterols and hormones from river sediments, *8th International Conference of the Chemical Societies of the South-East European Countries (ICOSECS 8)*, Belgrade, Serbia, 2013, Book of abstracts, pp. 44.

Radovi saopšteni na skupu nacionalnog značaja štampani u celini (M63):

1. **Matić Bujagić, I.**, Grujić, S., Jauković, Z., Laušević, M.: Odnosi sterola kao markeri antropogenog zagađenja rečnih sedimenata, *Treći naučno-stručni skup POLITEHNIKA 2015*, Beograd, Srbija, 2015, Zbornik radova, pp. 54-59 (ISBN: 978-86-7498-064-4)

Radovi saopšteni na skupu nacionalnog značaja štampani u izvodu (M64):

1. **Matić Bujagić, I. V.**, Grujić, S. D., Jauković, Z. D., Laušević, M. D.: Primena sterola kao biomarkera za identifikaciju izvora fekalnog zagađenja rečnih sedimenata u Srbiji, *Treća konferencija mladih hemičara Srbije*, Beograd, Srbija, 2015, Kratki izvodi radova, pp. 23.
2. **Matić, I.**, Grujić, S., Antić, N., Jauković, Z., Furtula, V., Laušević, M.: Određivanje humanih, životinjskih i biljnih sterola i hormona u rečnim sedimentima, *6. simpozijum*

Hemija i zaštita životne sredine (EnviroChem 2013), Vršac, Srbija, 2013, Knjiga izvoda, pp. 206.

3. **Matić, I.**, Grujić, S., Jauković, Z., Furtula, V., Laušević, M.: Analiza tragova humanih, životinjskih i biljnih sterola i hormona u rečnom sedimentu, *50. jubilaro savetovanje Srpskog hemijskog društva*, Beograd, Srbija, 2012, Kratki izvodi radova, pp. 90.

5. ZAKLJUČAK I PREDLOG

Na osnovu svega navedenog Komisija smatra da doktorska disertacija Ivane Matić Bujagić, pod nazivom „**Određivanje tragova steroidnih hormona i sterola kao indikatora izvora zagađenja rečnih sedimenata metodom tečne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom**”, predstavlja značajan i originalan naučni doprinos u oblasti Hemijskih nauka, posebno Analitičke hemije i Hemije životne sredine, što je potvrđeno objavljivanjem radova u međunarodnim časopisima izuzetnih vrednosti i saopštavanjem rezultata na međunarodnim i nacionalnim konferencijama. Imajući u vidu kvalitet, obim i naučni doprinos postignutih rezultata, Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu da podnetu doktorsku disertaciju Ivane V. Matić Bujagić prihvati, izloži na uvid javnosti u zakonski predviđenom roku i uputi na konačno usvajanje Veću naučnih oblasti prirodnih nauka Univerziteta u Beogradu, kao i da nakon završetka ove procedure pozove kandidata na usmenu odbranu disertacije, pred Komisijom u istom sastavu.

Beograd,
13. 6. 2016.

ČLANOVI KOMISIJE

Dr Svetlana Grujić, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu
Tehnološko-metalurški fakultet

Prof. dr Mila Laušević, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu
Tehnološko-metalurški fakultet

Prof. dr Slavica Ražić, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu
Farmaceutski fakultet