

UNIVERZITET U BEOGRADU  
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Jelena D. Stojaković

**RAZVOJ I PRIMENA LC-MS/MS METODE ZA  
ANALIZU ORGANSKIH UV FILTERA I PROCENA  
RIZIKA USLED NJIHOVOG PRISUSTVA U  
RAZLIČITIM MATRICAMA**

Doktorska disertacija

Beograd, 2025.

UNIVERSITY OF BELGRADE  
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Jelena D. Stojaković

**DEVELOPMENT AND APPLICATION OF LC-MS/MS  
METHOD FOR ANALYSIS OF ORGANIC UV FILTERS  
AND RISK ASSESSMENT DUE TO THEIR PRESENCE  
IN DIFFERENT MATRICES**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2025.

## **Mentori**

---

Dr Tatjana Đurkić, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

---

Dr Antonije Onjia, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

## **Članovi komisije**

---

Dr Maja Đolić, docent  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

---

Dr Vladimir Pavićević, vanredni profesor,  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

---

Dr Tatjana Trtić-Petrović, naučni savetnik,  
Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke „Vinča”  
Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju

Datum odbrane doktorske disertacije: \_\_\_\_\_

## Zahvalnica

*Svojim mentorima, dr Tatjani Đurkić i dr Antoniju Onjii, redovnim profesorima Tehnološko-metalurškog fakulteta Univerziteta u Beogradu, dugujem neizmernu zahvalnost na ukazanom poverenju i prenetom znanju. Posebno se zahvaljujem na podršci i strpljenju tokom izrade ove doktorske disertacije.*

*Dr Maji Đolić, docentu Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu na podršci i korisnim sugestijama prilikom izrade moje doktorske disertacije.*

*Dr Vladimiru Pavićeviću, vanrednom profesoru Tehnološko-metalurškog fakulteta, Univerziteta u Beogradu dugujem veliku zahvalnost na velikom trudu i zalaganju da moje studiranje učini što sadržajnijim i zanimljivijim. Takođe, zahvaljujem se na savetima tokom izrade doktorske disertacije.*

*Dr Tatjani Trtić-Petrović, naučnom savetniku Instituta za nuklearne nauke "Vinča", Univerziteta u Beogradu, najiskrenije se zahvaljujem na stručnoj pomoći i korisnim savetima u konačnom oblikovanju ove doktorske disertacije.*

*Posebno se zahvaljujem dr Ivani Matić Bujagićna podršci, stručnoj pomoći i savetima koje mi je nesebično pružala na početku mog naučnoistraživačkog rada.*

*Veliku zahvalnost dugujem zaposlenima u laboratoriji Anahem d.o.o., naročito kolegici Jeleni Radulović koja mi je savetima olakšala izvođenje eksperimentalnog dela ove doktorske disertacije.*

*Kolegicama iz Laboratorije za masentnu spektrometriju, kao i kolegicama sa katedre za analitičku hemiju i kontrolu kvaliteta zahvaljujem se na korisnim savetima i podeljenom iskustvu tokom naučno-istraživačkog rada.*

*Najveću i najiskreniju zahvalnost dugujem svojim najmilijima na pruženoj iskrenoj i neizmernoj podršci kao i razumevanju tokom celokupnog školovanja i izrade doktorske disertacije.*

*Ovu doktorsku disertaciju posvećujem ocu.*

# Sadržaj

UVOD.....	1
1. TEORIJSKI DEO .....	2
1.1. Ultraljubičasto zračenje .....	2
1.2. UV filteri.....	4
1.2.1. Organski UV filteri .....	5
1.2.2. Fizičko-hemijska svojstva odabranih UV filtera.....	9
1.3. UV filteri u životnoj sredini.....	12
1.4. Negativan uticaj UV filtera na životnu sredinu i zdravlje ljudi.....	13
1.5. Zakonska regulativa.....	14
1.6. Metode analize organskih UV filtera u različitim matricama.....	16
1.6.1. Tehnike pripreme uzoraka za analizu UV filtera .....	16
1.6.1.1. Priprema uzoraka kozmetičkih proizvoda .....	16
1.6.1.2. Priprema uzoraka vode .....	17
1.7. Instrumentalne metode za određivanje koncentracije UV filtera u različitim matricama .....	19
1.8. Procena rizika usled prisustva UV filtera u različitim matricama .....	23
1.8.1. Procena zdravstvenog rizika.....	23
1.8.2. Procena ekološkog rizika.....	24
2. EKSPERIMENTALNI DEO .....	26
2.1. Standardi odabranih organskih UV filtera, rastvarači i reagensi .....	26
2.2. Optimizacija HPLC–DAD metode .....	26
2.3. Razvoj LC-MS/MS metode.....	27
2.4. Opis ispitivanih uzoraka.....	27
2.4.1. Uzorci kozmetičkih proizvoda .....	27
2.4.2. Uzorci Savskog jezera .....	28
2.5. Optimizacija pripreme uzoraka .....	29
2.5.1. Optimizacija procedure za pripremu uzoraka kozmetičkih proizvoda.....	29
2.5.2. Optimizacija procedure za pripremu uzoraka vode.....	31
2.6. Procena zdravstvenog rizika usled prisustva UV filtera u kozmetičkim proizvodima .....	33
2.7. Procena zdravstvenog rizika usled prisustva UV filtera u Savskom jezeru.....	33
3. REZULTATI I DISKUSIJA.....	36

3.1. Razvoj analitičke metode za određivanje UV filtera u kozmetičkim proizvodima .....	36
3.1.1. Optimizacija hromatografskog razdvajanja.....	36
3.1.2. Optimizacija metode pripreme uzoraka.....	37
3.1.3. Validacija DLLME-HPLC-UV metode .....	43
3.2. Analiza uzoraka kozmetičkih proizvoda .....	46
3.3. Procena zdravstvenog rizika usled prisustva UV filtera u kozmetičkim proizvodima .....	48
3.4. Razvoj analitičke metode za određivanje UV filtera u vodi .....	51
3.4.1. Razvoj LC-MS/MS metode.....	51
3.4.2. Optimizacija metode pripreme uzoraka vode.....	54
3.5. Analiza realnih uzoraka vode.....	59
3.6. Procena ekološkog rizika usled prisustva UV filtera u vodi .....	65
3.7. Procena zdravstvenog rizika usled prisustva UV filtera primenom Monte Karlo simulacije .....	66
4. ZALJUČAK.....	70
LITERATURA .....	73
PRILOG .....	84
BIOGRAFIJA AUTORA .....	90
Izjava o autorstvu.....	91
Izjava o korišćenju .....	92
Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada.....	94

## Spisak skraćenica i simbola

- DLLME (engl. *Dispersive liquid-liquid microextraction*) – Disperzivna tečno-tečna mikroekstrakcija
- ERA (engl. *Ecological risk assessment*) – Procena ekološkog rizika
- ESI (engl. *Electrospray ionization*) – Elektrosprej jonizacija
- GC (engl. *Gas chromatography*) – Gasna hromatografija
- HPLC (engl. *High performance liquid chromatography*) – Tečna hromatografija visokih performansi
- LC/MS-MS (engl. *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry*) – Tečna hromatografija-tandem masena spektrometrija
- MEC (engl. *Measured Environmental Concentration*) – Izmerena koncentracija u životnoj sredini
- MED (engl. *Minimal erythema dose*) – Minimalna eritemska doza
- MoS (engl. *Margin of Safety*) – Granica bezbednosti
- NOAEL (engl. *No-observed-adverse-effect level*) – Najviša doza koja ne izaziva neželjeni efekat
- PBD (engl. *Plackett-Burman design*) – Plaket-Burman dizajn
- PNEC (engl. *Predicted no effect concentration*) – Koncentracija bez predviđenih efekata
- SED (engl. *Systemic Exposure Dose*) – Doza sistemske izloženosti
- SCCS (engl. *Scientific Committee on Consumer Safety*) – Naučni odbor za bezbednost potrošača
- SOFD (engl. *Solidification of Floating Organic Droplet*) – Očvršćavanje plutajuće organske kapljice
- SPE (engl. *Solid phase extraction*) – Ekstrakcija na čvrstoj fazi
- UV (engl. *ultraviolet radiation*) – Ultraljubičasto zračenje

## Spisak slika u tekstu

<b>Slika 1.</b> Nivo prodiranja UV zračenja u kožu (Prilagođeno prema (Verma et al., 2024) .....	4
<b>Slika 2.</b> Načini delovanja UV filtera (Prilagođeno prema (Manaia et al., 2013)).....	4
<b>Slika 3.</b> Strukturna formula benzofenona 3.....	7
<b>Slika 4.</b> Strukturna formula oktokrilenla .....	7
<b>Slika 5.</b> Strukturna formula etilheksil metoksicinamata .....	7
<b>Slika 6.</b> Strukturna formula oktil dimetil PABA.....	8
<b>Slika 7.</b> Strukturna formula homosalata .....	8
<b>Slika 8.</b> Strukturna formula avobenzona .....	8
<b>Slika 9.</b> <i>Cis/trans</i> izomerizacija molekula EHMC (Kockler et al., 2012).....	9
<b>Slika 10.</b> Enolni (a) i keto (b) oblik tautomera avobenzona.....	9
<b>Slika 11.</b> Putevi unosa UV filtera u životnu sredinu (prilagođeno prema (Giokas et al., 2007)).	12
<b>Slika 12.</b> Šematski prikaz DLLME-SFOD tehnike .....	17
<b>Slika 13.</b> Šematski prikaz ekstrakcije na čvrstoj fazi .....	18
<b>Slika 14.</b> Mapa uzorkovanja Savskog jezera.....	29
<b>Slika 15.</b> Hromatografsko razdvajanje UV filtera pri sastavu mobilne faze 70% metanola i 30% vode.....	36
<b>Slika 16.</b> Hromatogram smeše četiri UV filtera prisutna u kozmetičkim proizvodima pri sastavu mobilne faze koju je činilo 80% metanola i 20% dejonizovane vode (pH=4,5) .....	37
<b>Slika 17.</b> Pojedinačni i zbirni odgovor Derindžerove funkcije poželjnosti za četiri UV filtera...	38
<b>Slika 18.</b> Pareto dijagram - Prikaz uticaja pojedinačnih parametara na efikasnost ekstrakcije ...	38
<b>Slika 19.</b> Dijagrami odgovora površina kod disperzivne tečno-tečne mikroekstrakcije: a) efikasnost DLLME u funkciji $V_{disp}$ i NaCl; b) efikasnost DLLME u funkciji $V_{disp}$ i $r_{centr}$ ; c) efikasnost DLLME u funkciji NaCl i $r_{centr}$ .....	42
<b>Slika 20.</b> Hromatogrami OC, EHMC, 2ES i HMS koncentracije 10 mg/L: a) standardni rastvor smeše UV filtera u metanolu; b) dodatak smeše standarda u proizvod koji ne sadrži ni jedan od analiziranih UV filtera; c) i d) dodatak standarda EHMC i OC u proizvode koji ne sadrže ovaj UV filter, respektivno .....	44
<b>Slika 21.</b> Raspodela verovatnoća ukupnih MoS vrednosti.....	49
<b>Slika 22.</b> Grafički prikaz analize osetljivosti pri proceni zdravstvenog rizika. 1- koncentracija OC, 2-Epro, 3-Koncentracija EHMC, 4-Koncentracija 2ES, 5- DAp vrednost za OC.....	50
<b>Slika 23.</b> Maseni spektri BP-4 snimani iz rastvora metanola pri koncentraciji od 10 mg/L:.....	51

<b>Slika 24.</b> Maseni hromatogrami standardnog rastvora smeše odabranih UV filtera u metanolu koncentracije 300 µg/L .....	53
<b>Slika 25.</b> Pareto dijagram - Prikaz uticaja pojedinačnih parametara na efikasnost SPE .....	54
<b>Slika 26.</b> Dijagram glavnih efekata uticaja ispitivanih parametara na efikasnost ekstrakcije .....	54
<b>Slika 27.</b> Dijagram odgovora površina prinosa UV filtera u funkciji pH-Vrednosti i %MeOH..	56
<b>Slika 28.</b> Derindžerova funkcija poželjnosti .....	56
<b>Slika 29.</b> Šema optimizovane SPE metode za pripremu uzorka vode.....	58
<b>Slika 30.</b> Hromatogram dobijen LC-MS/MS analizom uzorka broj 20 .....	61
<b>Slika 31.</b> Dendrogram klusterske analize koji prikazuje prostorno grupisanje uzoraka sa lokacija u jezeru u odnosu na sličnosti u sadržaju UV filtera .....	64
<b>Slika 32.</b> Udeo pojedinačnih UV filtera u ukupnom ekološkom riziku .....	65
<b>Slika 33.</b> Geostatička distribucija ΣRQ u Savskom jezeru.....	66
<b>Slika 34.</b> Analiza verovatnoće i osetljivosti izloženosti UV filterima: a) odrasli; b) deca .....	68

## Spisak tabela u tekstu

<b>Tabela 1.</b> Nivoi zračenja na osnovu vrednosti UV indeksa .....	3
<b>Tabela 2.</b> Odabrani UV filteri .....	6
<b>Tabela 3.</b> Osnovna fizičko-hemijska svojstva odabranih UV filtera .....	10
<b>Tabela 4.</b> UV filteri dozvoljeni za upotrebu u kozmetičkim proizvodima u Republici Srbiji....	15
<b>Tabela 5.</b> Pregled metoda analize i detektovanih koncentracija odabranih UV filtera u uzorcima iz životne sredine .....	19
<b>Tabela 6.</b> Metoda analize i detektovane koncentracije odabranih UV filtera u kozmetičkim proizvodima .....	22
<b>Tabela 7.</b> Optimizacija sastava mobilne faze.....	26
<b>Tabela 8.</b> Uzorci kozmetičkih proizvoda .....	28
<b>Tabela 9.</b> Eksperimentalni domen.....	30
<b>Tabela 10.</b> Plaket-Burman eksperimentalni dizajn za optimizaciju mikroekstrakcije.....	31
<b>Tabela 11.</b> Eksperimentalni domen za optimizaciju pripreme vodenih uzoraka .....	32
<b>Tabela 12.</b> Plaket-Burman dizajn, realne vrednosti .....	32
<b>Tabela 13.</b> PNEC vrednosti organskih UV filtera .....	34
<b>Tabela 14.</b> Parametri izloženosti korišćeni za procenu rizika Monte Karlo simulacijom (EPA)	34
<b>Tabela 15.</b> Parametri za izračunavanje zdravstvenog rizika usled apsorpcije UV filtera dermalnim putem (EPA) .....	35
<b>Tabela 16.</b> Rezultati analize varijanse .....	39
<b>Tabela 17.</b> Boks-Behnen dizajn, realne vrednosti .....	40
<b>Tabela 18.</b> Polinomne jednačine drugog reda.....	41
<b>Tabela 19.</b> Vrednosti promenljivih nakon optimizacije DLLME.....	43
<b>Tabela 20.</b> Parametri validacije HPLC-UV metode .....	45
<b>Tabela 21.</b> Koncentracije UV filtera u kozmetičkim proizvodima.....	46
<b>Tabela 22.</b> Deskriptivna statistika koncentracija UV filtera u kozmetičkim proizvodima.....	47
<b>Tabela 23.</b> Poređenje rezultata sa podacima iz literature.....	48
<b>Tabela 24.</b> Izračunate vrednosti doze sistemske izloženosti i granice bezbednosti.....	49
<b>Tabela 25.</b> Pojedinačne i ukupna vrednost granice bezbednosti.....	50
<b>Tabela 26.</b> Optimizovani MS/MS parametri.....	52
<b>Tabela 27.</b> Sastav i protok mobilne faze za hromatografsko razdvajanje UV filtera .....	52
<b>Tabela 28.</b> Uslovi optimizacije prema centralnom kompozitnom dizajnu .....	55

<b>Tabela 29.</b> Parametri validacije metode.....	59
<b>Tabela 30.</b> Koncentracije pojedinačnih UV filtera u Savskom jezeru (mg/L) .....	60
<b>Tabela 31.</b> Deskriptivna statistika koncentracija UV filtera u Savskom jezeru .....	62
<b>Tabela 32.</b> Pirsonova korelaciona matrica .....	63
<b>Tabela 33.</b> Procena zdravstvenog rizika za decu i odrasle primenom Monte Karlo simulacije ..	67

## SAŽETAK

UV filteri predstavljaju aktivne supstance u kozmetičkim proizvodima za zaštitu od sunčevog zračenja. Rasprostranjenost ovih supstanci u životnoj sredini dovela je do porasta interesovanja javnosti usled njihovih potencijalno negativnih uticaja na zdravlje ljudi i negativnih bioloških dejstava na vodene organizme. U okviru ove doktorske disertacije razvijene su i validirane hromatografske metode za analizu UV filtera u cilju procene rizika usled njihovog prisustva u vodi i kozmetičkim proizvodima. Istraživanja su obuhvatila razvoj hromatografskih metoda, validaciju razvijenih metoda, optimizaciju tehnika pripreme uzoraka, analizu uzoraka kao i procenu rizika usled prisustva ovih jedinjenja u različitim matricama. Primenom razvijene i validirane, metode tečne hromatografije u komercijalnim kremama za zaštitu od sunčevog zračenja identifikovani su oktokrilen, etilheksil metoksicinamat, etilheksil salicilat i homosalat. Na osnovu detektovanih koncentracija UV filtera u kozmetičkim proizvodima procenjen je zdravstveni rizik, kao i zbirni zdravstveni rizik usled prisustva više UV filtera u istom proizvodu. U drugom delu istraživanja, primenom optimizovane tehnike pripreme uzoraka i LC/MS-MS metode dobijena je metoda sa granicom detekcije u opsegu od 0,1 do 5 µg/L i relativnom standardnom devijacijom ne većom od 19%. Ovako razvijena metoda korišćena je za određivanje sadržaja 11 UV filtera u Savskom jezeru (Ada Ciganlija). Na osnovu izmerenih koncentracija zaključeno je da prisustvo UV filtera, njihova distribucija i potencijalni ekološki i zdravstveni rizik u velikoj meri zavise od rekreativnih aktivnosti koje se odvijaju na jezeru.

**Ključne reči:** UV filteri, zagađenje vode, kozmetički preparati, tečna hromatografija-tandem masena spektrometrija, ekstrakcija na čvrstoj fazi, disperzivna tečno-tečne ekstrakcija, Derindžerova funkcija poželjnosti, Boks-Benken dizajn, Plaket-Burman dizajn, procena zdravstvenog rizika

**Naučna oblast:** Inženjerstvo zaštite životne sredine

## ABSTRACT

UV filters are active substances in cosmetic products that provide protection against solar radiation. Due to their increasing presence in the environment, public interest has grown, particularly regarding their potential adverse effects on human health and harmful biological impacts on aquatic organisms. This doctoral dissertation focuses on developing and validating of chromatographic methods for the analysis of UV filters, aimed at assessing risks associated with their presence in water and cosmetic products. The research involved the development and validation of chromatographic methods, optimization of sample preparation techniques, sample analysis, and risk assessment for these compounds across different matrices. Using the newly developed liquid chromatography method, the UV filters octocrylene, 2-ethylhexyl-4-methoxycinnamate, ethylhexyl salicylate, and homosalate were detected in commercial sunscreens. Health risks were assessed based on detected concentrations in cosmetic products, including cumulative health risks from the simultaneous presence of multiple UV filters within the same product. In the second phase of the research, an optimized sample preparation technique and an LC/MS-MS method were applied, achieving a detection limit between 0.1 and 5 µg/L and a relative standard deviation under 19%. This method was employed to quantify 11 UV filters in Sava Lake (Ada Ciganlija). Findings suggested that the presence, distribution, and potential ecological and health risks of UV filters were closely linked to recreational activities at the lake.

**Keywords:** UV filters, water pollution, cosmetic products, liquid chromatography-tandem mass spectrometry, solid-phase extraction, dispersive liquid-liquid microextraction, Derringer desirability function, Box-Behnken design, Plackett-Burman design, health risk assessment

**Scientific Field:** Environmental Engineering

## UVOD

Poslednjih decenija primećeno je značajno povećanje ultraljubičastog (engl. *ultraviolet*, UV) zračenja koje dospeva do površine Zemlje, usled oštećenja ozonskog omotača u stratosferskom sloju. Povećano UV zračenje za posledicu ima porast broja obolelih od različitih očnih bolesti (npr. katarakte), melanoma, nemelanomskih tumora kože, itd. Prepoznavanje štetnih efekata UV zračenja pokrenulo je razvoj supstanci (UV filtera) koje mogu da apsorbuju ili reflektuju UV zračenje i na taj način umanje negativne efekte koje ono ispoljava. U zavisnosti od svojstava i predviđenog stepena zaštite, širok spektar kombinacija UV filtera se proizvodi kao zaštita od oštećenja kože izazvanih UV zračenjem.

Brojna istraživanja sprovedena poslednjih decenija potvrdila su toksičnost pojedinih UV filtera usled penetracije kroz kožu i izazivanja štetnih efekata poput kontaktne i fotokontaktne alergije, kao i ometanja rada hormona (Kwon and Choi, 2021; Chisvert and Salvador, 2018). Usled negativnog delovanja ovih supstanci na zdravlje čoveka propisane su maksimalno dozvoljene koncentracije koje kozmetički preparat može sadržati. UV filteri različito doprinose potencijalnim zdravstvenim rizicima, pa je neophodno proceniti i kombinovani rizik koji zavisi od izloženosti ljudi različitim UV filterima iz kozmetičkih proizvoda i životne sredine.

Pojedini UV filteri svrstavaju se u emergentne zagađujuće materije (engl. *emerging contaminants*). Emergentne zagađujuće materije definišu se kao supstance koje se mogu detektovati u životnoj sredini, a koje nisu uključene u redovne monitoring programe i čija svojstva, toksičnost i vreme zadržavanja u životnoj sredini još uvek nisu u potpunosti poznati, a osnovano se smatra da imaju manje ili više izražen negativan uticaj na nju. Širok spektar UV filtera otkriven u vodi i sedimentu širom sveta izazvao je zabrinutost usled postojanosti ovih jedinjenja, kao i štetnih bioloških efekata na vodene organizme. Iz tog razloga, u novije vreme javila se potreba za razvojem osetljivijih metoda kojima se može odrediti niska koncentracija ovih supstanci ( $\mu\text{g/L}$ ), pri čemu je neophodno uzetu u obzir uticaj kompleksnosti matrice, kada se radi o uzorcima iz životne sredine, kao i biološkim uzorcima. Brojna istraživanja potvrdila su da postoji rizik od štetnih uticaja po ljudsko zdravlje usled prisustva UV filtera u vodi (Mitchelmore et al., 2019; Tsui et al., 2014; Fagervold et al., 2019), mada je utvrđeno da je potencijalni zdravstveni rizik u najvećoj meri javlja prilikom direktnog izlaganja kože kozmetičkim proizvodima za zaštitu od sunčevog zračenja (Raslan et al., 2020). Na teritoriji Republike Srbije do sada nisu zabeležena ispitivanja koja za cilj imaju određivanje koncentracija UV filtera u uzorcima iz životne sredine i procenu zdravstvenog i ekološkog rizika.

Cilj istraživanja ove doktorske teze je razvoj i primena novih, osetljivih metoda baziranih na primeni tačne hromatografije sa tandem masenom spektrometrijom ili sa detektorom diodnog niza za analizu odabranih UV filtera u kozmetičkim proizvodima i vodenim uzorcima. Za analizu su odabrani organski UV filteri koji se najčešće koriste u kozmetičkim proizvodima za zaštitu od sunčevog zračenja i najčešće se detektuju u životnoj sredini. Doktorska teza takođe obuhvata razvoj i optimizaciju procedura za pripremu uzoraka. Na osnovu dobijenih rezultata i toksikoloških podataka iz literature izvršena je procena rizika usled prisustva UV filtera u navedenim matricama.

## 1. TEORIJSKI DEO

### 1.1. Ultraljubičasto zračenje

Sunčevi zraci na planetu Zemlju dospevaju u vidu elektromagnetnog zračenja koje je na osnovu vrednosti talasnih dužina kategorisano u nekoliko spektralnih opsega. Spektar Sunčevog zračenja obuhvata elektromagnetno zračenje u rasponu od 0,1 nm za gama zrake do  $2 \times 10^{13}$  nm za radio talase, pri čemu je najveći deo u infracrvenoj, vidljivoj i ultraljubičastoj oblasti (Romanhole et al., 2015; Dupont et al., 2013). Elektromagnetno zračenje sadrži energetske čestice, koje se nazivaju fotonima, čija je energija proporcionalna frekvenciji, a obrnuto proporcionalna talasnoj dužini. Energija fotona se izračunava pomoću Plankove jednačine:

$$E = h \cdot \nu = \frac{h \cdot c}{\lambda} \quad (1)$$

gde je  $E$  - energija fotona [J],

$h$  – Plankova konstanta [J·s]

$\nu$  – frekvencija elektromagnetnog zračenja [Hz],

$c$  – brzina svetlosti [ $\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ ],

$\lambda$  – talasna dužina [nm].

Ultraljubičasto zračenje je sastavni deo nejonizujućeg dela elektromagnetnog spektra i nalazi se u opsegu talasnih dužina 100-400 nm i deli se na tri oblasti:

- UVC oblast od 100 nm do 280 nm,
- UVB oblast od 280 nm do 315 nm,
- UVA oblast od 315 nm do 400 nm.

Najveći procenat (95%) ultraljubičastog zračenja koje dospeva do površine Zemlje nalazi se u opsegu UVA zračenja, dok preostali deo (5%) dolazi u vidu UVB zračenja. Gornji delovi atmosfere i ozonski omotač efikasno apsorbiraju UVC oblast zračenja. Mnogobrojni faktori utiču na količinu UV zračenja koje dospeva do Zemljine površine, a najveći uticaj imaju doba dana, godišnje doba, geografska širina, nadmorska visina i atmosferska transparentnost (Preto and Gomes, 2018; Young et al., 2017).

Intenzitet zračenja ( $I$ ) predstavlja fizičku veličinu kojom se izražava snaga zračenja po jedinici površine i izražava se u jedinicama  $\text{W}/\text{m}^2$ . Intenzitet UV zračenja predstavlja integral funkcije raspodele zračenja po intervalu talasnih dužina od 250-400 nm (UVA i UVB oblast). U cilju jednostavnije prezentacije intenziteta zračenja usvojena nova internacionalna jedinica intenziteta UV zračenja, UV indeks. UV indeks opisuje nivo sunčevog UV zračenja na površini Zemlje kao i njegov efekat na ljudsko zdravlje. Vrednost UV indeksa računa se prema sledećoj formuli (WHO, 2002):

$$UVI = k_{er} \cdot \int_{250 \text{ nm}}^{400 \text{ nm}} E_{\lambda} \cdot S_{er}(\lambda) d\lambda \quad (2)$$

gde je:  $k_{er}$  – konstanta za dobijanje UV indeksa kao bezdimenzionalne veličine, iznosi  $40 \text{ m}^2 \cdot \text{W}^{-1}$

$E_{\lambda}$  – intenzitet zračenja u funkciji talasne dužine

$S_{er}(\lambda)$  – eritemski spektar UV zračenja u određenom opsegu talasnih dužina

$d\lambda$  – interval talasnih dužina (250–400 nm).

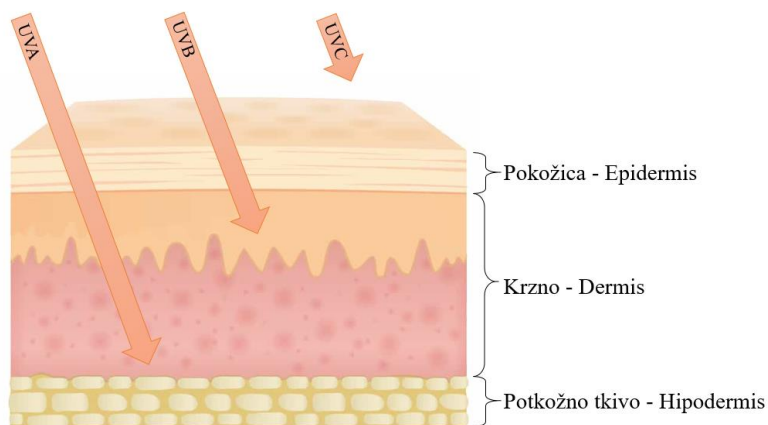
Vrednosti UV indeksa kreću se od nule pa naviše. Veća vrednost UV indeksa ukazuje na veću mogućnost za nastanak negativnih efekata (crvenilo kože, opekotine i sl.) i kraće vreme izlaganja sunčevom zračenju koje dovodi do oštećenja kože. U tabeli 1 prikazana je podela intenziteta zračenja na osnovu vrednosti UV indeksa.

**Tabela 1.** Nivoi zračenja na osnovu vrednosti UV indeksa

UV indeks	Nivo zračenja
0–2	Niski nivo
3–5	Srednji nivo
6–7	Visoki nivo
8–10	Vrlo visoki nivo
11+	Ekstremno visoki nivo

Pored intenziteta zračenja dejstvo UV zračenja na kožu zavisi i od vremena izlaganja kože zračenju. Crvenilo kože javlja se kada je koža izložena UV zračenju određeni vremenski period. Pojam doze zračenja u opštem slučaju predstavlja proizvod intenziteta zračenja i vremena izlaganja zračenju. Minimalna eritemska doza (engl. *minimal erythema dose*, *MED*) definisana je kao najniža doza UVA ili UVB zračenja koja izaziva crvenilo celokupnog dela kože koji je bio izložen zračenju (Boer et al., 2025). Prilikom određivanja minimalne eritemske doze neophodno je testiranje vršiti na koži koja prethodno nije izlagana direktnom Sunčevom zračenju.

Zračenje u UVA oblasti izaziva pigmentaciju kože dok izlaganje UVB zračenju pored pigmentacije može dovesti do nastanka crvenila i opekotina usled zračenja veće energije (Lukić et al., 2021). Na slici 1 prikazani su nivoi prodiranja UV zračenja u kožu.

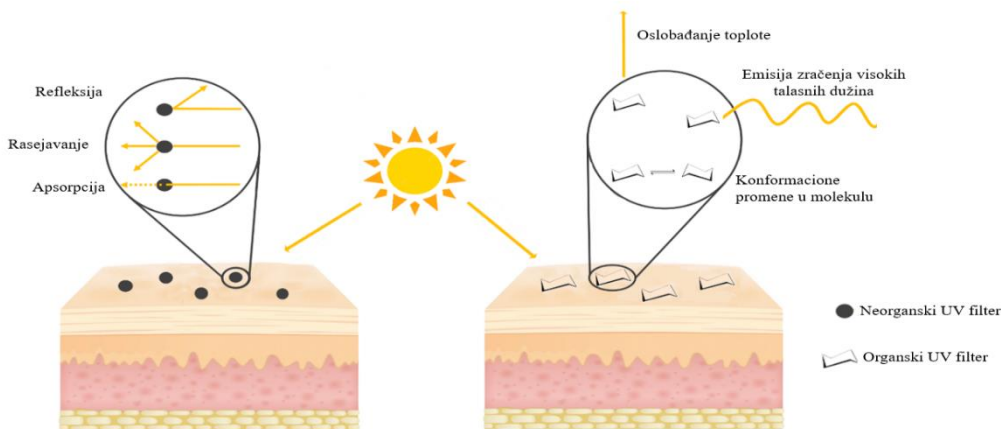


**Slika 1.** Nivo prodiranja UV zračenja u kožu (Prilagođeno prema (Verma et al., 2024))

Kao što je prikazano na slici 1, UVA zračenje prodire u dublje slojeve kože u odnosu na UVB zračenje. Koža sadrži različite makromolekule uključujući RNK, DNK i protein koji efikasno apsorbiraju UVB fotone i stoga gotovo svi UVB fotoni bivaju apsorbirani u epidermisu. Ovi molekuli imaju manju efikasnost pri apsorpciji UVA zračenja i kao rezultat toga UVA prodire kroz epidermis u dermis (Holick, 2016). UVC zračenje ne dospeva do površine kože jer biva apsorbirano u ozonskom omotaču.

## 1.2. UV filteri

UV filteri predstavljaju aktivne komponente proizvoda za zaštitu od sunčevog zračenja (Kunze et al., 2021). To su supstance koje imaju sposobnost da apsorbiraju, reflektuju i/ili rasejavaju UV zračenje i tako zaštite ljudsku kožu od direktnog izlaganja štetnom delu spektra sunčevog zračenja. Podela je izvršena na neorganske i organske UV filtere, dok se prema načinu delovanja UV filtere svrstavaju u hemijske i fizičke. Na slici 2 prikazani su načini delovanja organskih i neorganskih UV filtera.



**Slika 2.** Načini delovanja UV filtera (Prilagođeno prema (Manaia et al., 2013))

Neorganski UV filtri sprečavaju da UV zračenje proдре u kožu tako što apsorbuju, rasipaju i/ili odbijaju sunčeve zrake. To su najčešće neprozirne čestice koje neselektivno odbijaju i rasejavaju UV i vidljivo zračenje. Stepен zaštite u slučaju neorganskih filtera zavisi od brojnih faktora, a najvažniji su veličina čestice i debljina sloja koja je naneta na kožu. Najčešće upotrebljavani neorganski UV filtri su titanijum-dioksid (TiO<sub>2</sub>) i cink-oksид (ZnO).

Delovanje organskih filtera ogleda se u hemijskim promenama unutar samog molekula. Kada prime energiju od UV fotona, organski UV filtri mogu da deluju na tri načina:

1. podležu konformacionim promenama molekula,
2. emituju zračenje većih talasnih dužina ili
3. energiju koju su primili oslobađaju u vidu toplote (Veselinović, 2016).

### 1.2.1. Organski UV filtri

UV filtri se kao aktivne supstance prvenstveno koriste u kozmetičkim proizvodima čija je osnovna namena zaštita od štetnog uticaja od Sunčevog zračenja. Međutim, u novije vreme se UV filtri dodaju i u kozmetičke proizvode čija osnovna namena nije zaštita od Sunčevog zračenja (Chaiyabutr et al., 2021; Hodge et al., 2025). Na primer, UV filtri se dodaju u proizvode za negu kose kako bi se očuvala boja farbane kose, losione za upotrebu nakon brijanja, pudere, ruževe i sl.

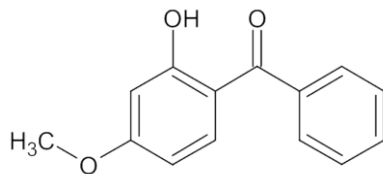
Organski UV filtri su aromatična jedinjenja formirana od jednog ili više benzenovih prstenova. Najčešće u *orto* ili *para* položaju aromatičnog prstena sadrže grupu koja donira elektrone (npr. amin ili metoksil). Zajednička karakteristika organskih UV filtera je prisustvo aromatičnog dela sa bočnim lancem sa različitim stepenom nezasićenosti. Jedinjenja poput 4-metilbenziliden kamfora (4MBC), 2-etilheksil-4-metoksicinamata (EHMC) i oktokrilen (OC) su hiralna jedinjenja. Organski UV filtri najčešće su lipofilnog karaktera. Podela organskih UV filtera prema hemijskoj strukturi izvršena je na sledeće grupe: derivati benzofenona, cinamati, derivati p-aminobenzojeve kiseline, salicilati, derivati dibenzoilmetana, derivati kamfora, triazini, krileni, benzotriazoli, benzimidazoli i benzalmalonati. Grupe UV filtera čije je prisustvo u životnoj sredini najčešće ispitivano jesu derivati benzofenona (49%), derivati kamfora (16%), cinamati (10%), krileni (8%), i druge supstance (Carve et al., 2021).

U daljem tekstu detaljnije su opisane grupe najpoznatijih, odnosno najčešće analiziranih grupa organskih UV filtera prema dosadašnjoj literaturi, a UV filtri koji su odabrani za analizu prikazani su u tabeli 2. To su jedinjenja koja pripadaju grupi derivata benzofenona, krilena, cinamata, kamfora, salicilata, i p-aminobenzojeve kiseline.

Tabela 2. Odabrani UV filteri

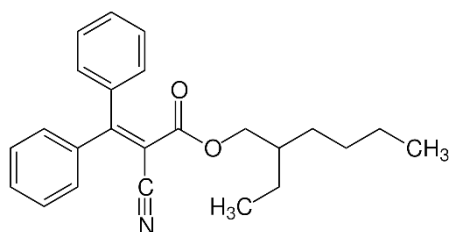
Grupa jedinjenja	Trivijalni naziv	Hemijski (IUPAC) naziv	CAS broj
Derivati benzofenona	Benzofenon 1 (BP1)	Difenilmetanon	119-61-9
	Benzofenon 3 (BP3)	(2-hidroksi-4-metoksifenil)-fenilmetanon	131-57-7
	Benzofenon 4 (BP4)	5-benzoil-4-hidroksi-2-metoksibenzensulfonska kiselina	4065-45-6
	4-hidroksi benzofenon (4-HB)	(4-hidroksifenil)-fenilmetanon	1137-42-4
Derivati dibenzoilmetana	Avobenzon (AVO)	Butil metoksidibenzoilmetan	70356-09-1
Derivat akrilena	Oktokrilan (OC)	2-Cijano-3,3-difenil akrilna kiselina	6197-30-4
Derivati cinamata	Etilheksil metoksicinamat (EHMC)	2-Etilheksil 4-metoksicinamat	5466-77-3
	Izoamil metoksicinamat (IAMC)	Izopentil-4-metoksicinamat	71617-10-2
Derivat kamfora	4-metilbenziliden kamfor (4-MBC)	3-(4-Metilbenziliden)-d-1 kamfor	38102-62-4
Derivati salicilata	Homosalat (HMS)	3,3,5-trimetilcikloheksil salicilat	118-56-9
	Etilheksil salicilat (2ES)	2-etilheksil 2-hidroksibenzoat	118-60-5
Derivat p-aminobenzoeneve kiseline	Oktil dimetil PABA (OD-PABA)	2-Etilheksil 4-(dimetilamino) benzoat	21245-02-3

Derivati benzofenona su najpoznatija i najčešće primenjivana grupa UV filtera. Imaju veliku sposobnost apsorpcije sunčevog zračenja, i u UVA i u UVB oblasti. Sinteza ove grupe UV filtera je jednostavna i jeftina što je jedan od glavnih razloga njihove široke upotrebe. Njihovu strukturu čine dva benzenova prstena spojena karbonilnom grupom (Ramos et al., 2015). Prisustvo elektron donorske grupe omogućava elektronsku delokalizaciju unutar molekula. Najpoznatiji predstavnik ove grupe jedinjenja je benzofenon 3 (BP3), čija je strukturna formula prikazana na slici 3.



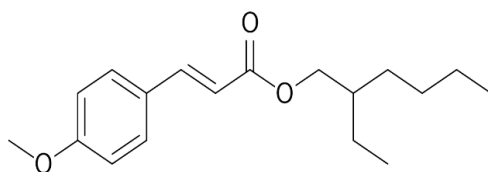
**Slika 3.** Strukturna formula benzofenona 3

Iz grupe derivata krilena (aromatičnih akrilata) najpoznatiji UV filter jeste oktokrilen (OC), a njegova strukturna formula prikazana je na slici 4. OC je detektovan u gotovo svim vrstama vodenih organizama koje su do sada ispitivane (Huang et al., 2021).



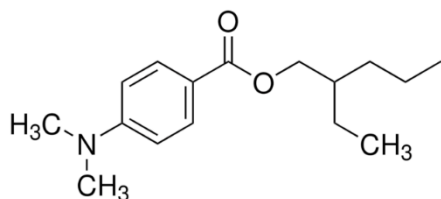
**Slika 4.** Strukturna formula oktokrilena

Cinamati su grupa UV filtera imaju vrlo sličnu strukturu kao derivati benzofenona. Kod cinamata je za aromatični prsten sa jedne strane vezana elektron donorska grupa ( $\text{OCH}_3$ ), dok je sa druge strane vezana estarska grupa dalje konjugovana dvostrukom vezom (elektron akceptorska grupa). Najpoznatiji predstavnik ove grupe jedinjenja je etilheksil metoksicinamat (EHMC), slika 5.



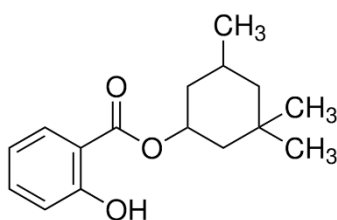
**Slika 5.** Strukturna formula etilheksil metoksicinamata

Derivati p-aminobenzoeve kiseline (PABA) sastoje se od jednog benzenovog prstena supstituisanog amino grupom i karboksilne grupe na *para* poziciji. Položaj elektron donorske grupe u odnosu na elektron akceptorsku grupu omogućava efikasnu elektronsku delokalizaciju. Na slici 6 prikazana je strukturna formula oktil dimetil PABA (ODPABA).



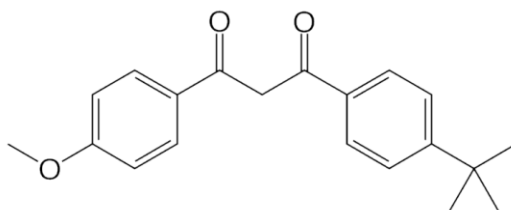
**Slika 6.** Strukturna formula oktil dimetil PABA

Salicilati su soli ili estri salicilne kiseline, najpoznatiji predstavnik je homosalat (HMS) čija je strukturna formula prikazana na slici 7. Ova grupa UV filtera često se primenjuje kao stabilizator drugih UV filtera u određenom kozmetičkom proizvodu (Holt et al., 2020).



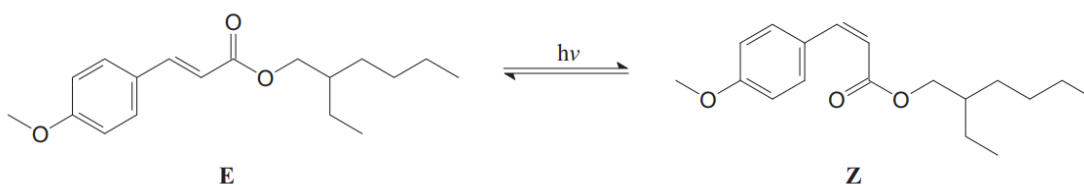
**Slika 7.** Strukturna formula homosalata

Derivati dibenzoilmetana su jedinjenja podložna keto-enolnoj tautomerizaciji. Apsorbuju u UVA oblasti. Najpoznatiji UV filter iz ove grupe je avobenzon (AVO) (slika 8). Zbog nedovoljne fotostabilnosti ovaj UV filter se više ne koristi kao aktivna supstanca u kozmetičkim proizvodima za zaštitu od sunčevog zračenja.



**Slika 8.** Strukturna formula avobenzona

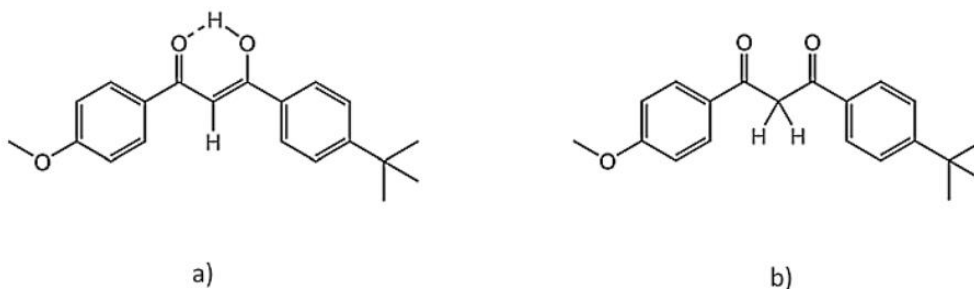
Apsorpcija UV zračenja može prouzrokovati promene unutar molekula UV filtera poput *cis/trans* izomerizacije, keto-enolnog tautomerizma i rotacije oko jednostruke veze. Primera radi, na slici 19 prikazana je izomerizacija molekula EHMC. Rotamer E je stabilniji oblik u odnosu na rotamer Z do čijeg formiranja dolazi usled zračenja.



**Slika 9.** Cis/trans izomerizacija molekula EHMC (Kockler et al., 2012)

Molarni apsorpcioni kapacitet rotamera Z je znatno manji od molarnog apsorpcionog kapaciteta rotamera R što za posledicu ima smanjenu efikasnost UV filtera koji pripadaju grupi cinamata (Kojić, 2020).

Keto-enolna tautomerizacija i izomerizacija oko jednostrukih veza karakteristične su za avobenzon. Na slici 10 prikazana je struktura tautomera avobenzona. U sastav kozmetičkih proizvoda za zaštitu od negativnog sunčevog zračenja ulazi samo enolni oblik avobenzona iz razloga što keto oblik apsorbira u UVC oblasti.



**Slika 10.** Enolni (a) i keto (b) oblik tautomera avobenzona

Efikasnost delovanja organskih UV filtera direktno je povezana na fotohemijskom stabilnošću i rastvorljivošću. Prilikom apsorpcije i prelaska molekula u viši energetski nivo može doći do raskidanja molekulskih veza što dovodi do stvaranja produkta degradacije, u pitanju je ireverzibilan proces. Ova pojava dovodi do smanjenja efikasnosti kozmetičkih sredstava U cilju što bolje zaštite od sunčevog zračenja, kozmetički proizvodi najčešće sadrže više od jednog UV filtera.

### 1.2.2. Fizičko-hemijska svojstva odabranih UV filtera

Osnovna fizičko-hemijska svojstva organskih UV filtera koji su odabrani za analizu prikazana su u tabeli 3.

Tabela 3. Osnovna fizičko-hemijska svojstva odabranih UV filtera

Grupa jedinjenja	UV filter	Molarna masa <sup>1</sup> (g/mol)	Temperatura ključanja <sup>2</sup> (°C)	Rastvorljivost u vodi <sup>3</sup> (g/L)	logK <sub>ow</sub> <sup>1</sup>
Derivati benzofenona	BP1	182,22	306	0,14	3,18
	BP3	228,24	150	0,21	3,79
	BP4	308,31	491	0,65	0,37
	4-HB	198,22	260	0,126	3,07
Derivati dibenzoilmetana	AVO	310,40	463	$2,7 \cdot 10^{-6}$	4,51
Derivat kriterijuma	OC	361,50	218	$2 \cdot 10^{-4}$	6,9
Derivati cinamata	EHMC	290,41	382	0,15	5,8
	IAMC	248,32	343,5	0,06	4,78
Derivat kamfora	4-MBC	254,37	371,9	$5,1 \cdot 10^{-3}$	5,9
Derivati salicilata	HMS	262,34	295,1	0,02	6,16
	2ES	250,33	181	0,028	5,97
Derivat p-aminobenzojeve kiseline	OD-PABA	277,40	325	$2,1 \cdot 10^{-3}$	5,8

1- PubChem; <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>

2- European Chemical Agency (ECHA) (2024), <https://echa.europa.eu/>

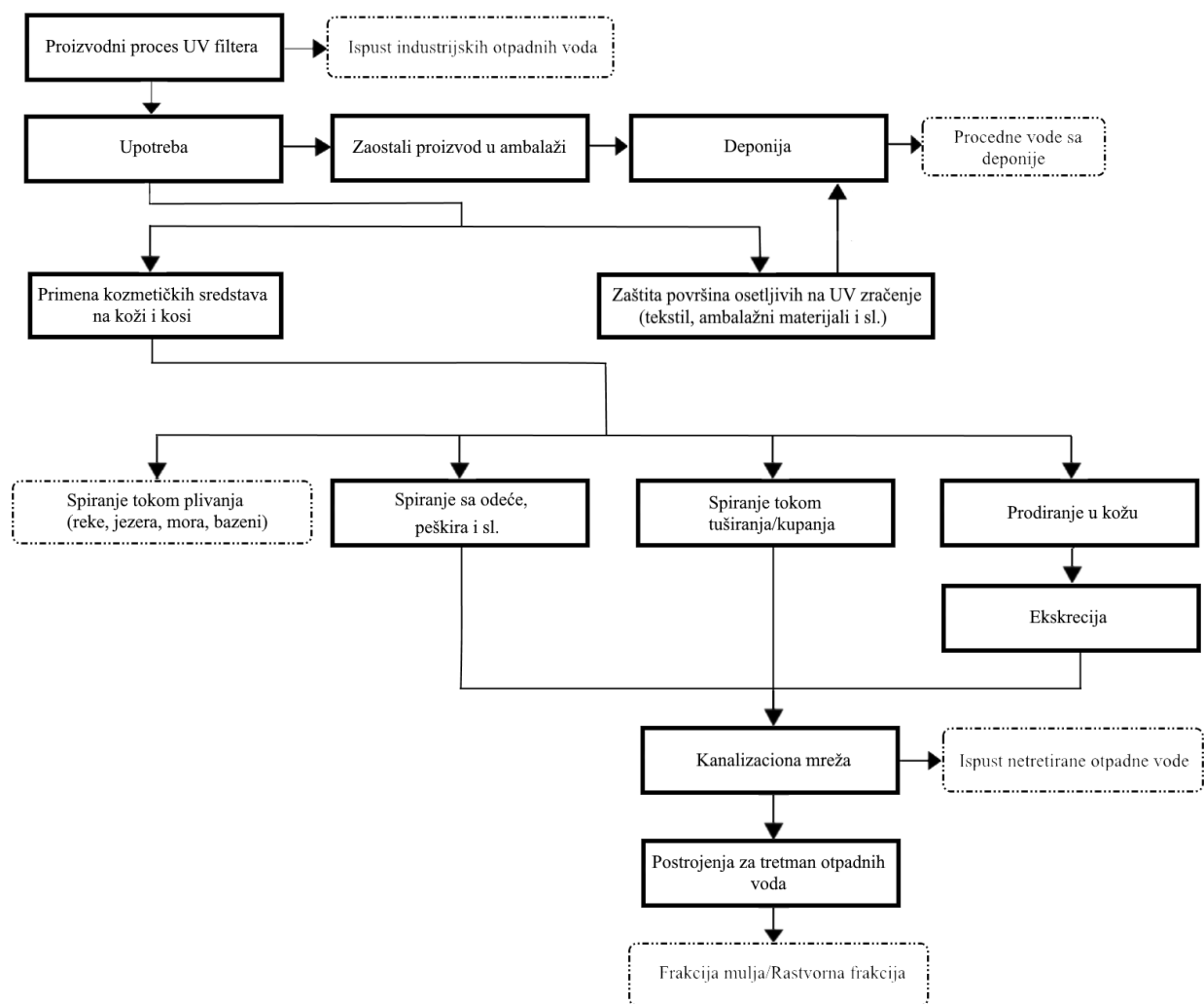
3- Chemical Book baza podataka; <https://www.chemicalbook.com/>

Fizičko-hemijska svojstva u kombinaciji sa faktorima iz životne sredine daju informacije o distribuciji, postojanosti UV filtera, kao i potencijalnim negativnim efektima koje mogu izazvati. Pored pretpostavke o sudbini UV filtera nakon ispuštanja u životnu sredinu poznavanje fizičko-hemijskih svojstava ima značajnu ulogu prilikom izbora analitičke metode za određivanje

njihove koncentracije u uzorcima. Značajna svojstva u pogledu detekcije UV filtera u životnoj sredini jesu rastvorljivost u vodi, koeficijent raspodele u sistemu oktanol-voda i tačka ključanja (Ramos et al., 2015). Rastvorljivost u vodi daje bitne informacije o mogućoj distribuciji UV filtera između različitih delova životne sredine što je vrlo značajno prilikom utvrđivanja potencijalno negativnog uticaja na životnu sredinu ili ljude. Na osnovu podataka o rastvorljivosti u vodi, UV filteri iz grupe triazina, benzotriazola i krilena svrstavaju se u neznatno rastvorna jedinjenja. Navedene grupe UV filtera se zbog neznatne rastvorljivosti mogu retko detektovati u vodenim uzorcima. Pojedini derivati benzofenona (BP4 i BP5) svrstavaju se u veoma rastvorna jedinjenja u vodi što za posledicu ima čestu detekciju ovih UV filtera u vodenim uzorcima. Vrednosti koeficijenta rastvorljivosti pojedinih UV filtera mogu se smatrati maksimalnim koncentracijama ovih jedinjenja koje se mogu detektovati u vodenim uzorcima iz životne sredine. Ovaj podatak bitan je prilikom ispitivanja toksičnosti UV filtera jer se rastvorljivost hemijskog jedinjenja može koristiti za procenu relevantnih nivoa doza u testovima toksičnosti. Ispuštanje mnogih organskih zagađujućih materija u vodenu sredinu može dovesti do adsorpcije na čvrstu materiju. Verovatnoća da će se organska zagađujuća materija adsorbovati na čvrstu materiju može se predvideti na osnovu hidrofobnosti hemikalije, to je jedan od važnijih parametara relevantan za procenu rizika po životnu sredinu. Hidrofobnost se često izražava kao koeficijent raspodele oktanol/voda ( $K_{ow}$ ), odnosno kao logaritamska vrednost koeficijenta raspodele ( $\log K_{ow}$ ). UV filteri sa vrednostima  $\log K_{ow} < 1$  su jedinjenja veoma rastvorljiva u vodi, za razliku od UV filtera sa vrednostima  $\log K_{ow} > 4$  koja su hidrofobna. Jedinjenja sa višim vrednostima  $\log K_{ow}$  imaju tendenciju da se adsorbuju na čvrstu materiju ili bioakumuliraju usled lipofilnog karaktera. Koeficijent raspodele oktanol/voda predstavlja pouzdan parametar na osnovu kog se može predvideti distribucija organskih UV filtera ili mogućnost bioakumulacije (National Academies of Sciences, Engineering, 2022). Prosečna vrednost tačke ključanja UV filtera odabranih za analizu u ovom radu iznosi oko 300°C što ih klasifikuje kao polu isparljiva jedinjenja (Ramos et al., 2015). Pojedini UV filteri prikazani u tabeli 3 svrstavaju se u slabo isparljiva jedinjenja. Isparljivost organskih UV filtera je bitna za predviđanje distribucije ovih jedinjenja u životnoj sredini, ali ima i veoma bitnu ulogu pri izboru analitičke metode za analizu UV filtera.

### 1.3. UV filteri u životnoj sredini

Upotreba mnogobrojnih kozmetičkih proizvoda koji sadrže UV filtere za rezultat ima širok spektar mogućnosti unosa UV filtera u životnu sredinu. U dosadašnjim istraživanjima potvrđeno je prisustvo UV filtera u uzorcima životne sredine poput rečne i morske vode, otpadne vode, česmenske vode, sedimenta, suspendovanih materija i sl. (Brausch and Rand, 2011; Tsui et al., 2015; Huang et al., 2016; Astel et al., 2020; Teo et al., 2015). Na slici 11 dat je šematski prikaz glavnih puteva unosa UV filtera u životnu sredinu.



**Slika 11.** Putevi unosa UV filtera u životnu sredinu (prilagođeno prema (Giokas et al., 2007))

UV filteri u životnu sredinu dospevaju tokom rekreativnih aktivnosti poput plivanja u bazenima i otvorenim kupalištima, surfovanja, ronjenja i sl. UV filteri tokom ovih aktivnosti u vodu dospevaju spiranjem sa kože. Na količinu UV filtera unetu ovim putem utiču mnogobrojni faktori kao što su količina proizvoda naneta na kožu i učestalost primene proizvoda za zaštitu od sunčevog zračenja, trajanje rekreativnih aktivnosti i sl. Ispust otpadne vode (industrijske i komunalne) u

vodoprijemnik je takođe značajan put unosa UV filtera u životnu sredinu (Lukić et al., 2021a). Industrijska voda koja sadrži UV filtere nastaje u toku proizvodnih procesa poput proizvodnje kozmetičkih proizvoda, proizvodnje ambalaže za kondiktorske proizvode i sl., dok UV filteri u komunalnu otpadnu vodu dospevaju ekskrecijom urina, pranjem odeće ili tuširanjem/kupanjem. Pored toga što ulaze u sastav proizvoda za zaštitu od sunčevog zračenja, UV filteri se javljaju i u proizvodima za svakodnevnu upotrebu poput šampona, losiona nakon brijanja, lakova za nokte, regeneratora, ruževa, pudera itd. (Lukić et al., 2022). Svakodnevna primena kozmetičkih proizvoda koji sadrže UV filtere proizvoda dovela je do svakodnevnog unosa ovih supstanci u površinske vode putem ispusta netretirane otpadne vode u prirodne vodotokove, kao i ispuštanjem otpadne vode tretirane neadekvatnim postupcima prerade vode. Postrojenja za tretman otpadnih voda u okviru kojih se izvodi samo primarni tretman otpadne vode pokazala su se kao neefikasna kada je reč o uklanjanju UV filtera iz otpadnih voda (Alonso and Reboso, 2025). Za razliku od njih, u postrojenjima sa sekundarnim tretmanom voda koncentracija UV filtera se smanji i do 13 puta više nego prilikom primarnog tretmana (Tsui et al., 2014). UV filteri usled svoje lipofilnosti i niske biorazgradljivosti najčešće dospevaju u mulj koji nastaje tokom procesa prečišćavanja otpadnih voda (Gago-Ferrero et al., 2011). Ukoliko se ovaj mulj koristi u poljoprivredi ili odlaže na deponije može doći do zagađenja podzemnih voda. Ispuštanjem tretirane otpadne vode, koja sadrži UV filtere, u prirodne vodotokove dolazi do bioakumulacije ovih jedinjenja u vodenim živim organizmima ili do zadržavanja na sedimentu (Cadena-Aizaga et al., 2020). Koncentracije UV filtera u životnoj sredini variraju u zavisnosti od lokacije na kojoj je vršeno uzorkovanje, godišnjeg doba, fizičko-hemijskih osobina supstanci koje se analiziraju i sl. (Kaiser et al., 2012; Gago-Ferrero et al., 2013a; Verhagen et al., 2025). U dosadašnjim istraživanjima najviše koncentracije UV filtera u površinskim vodama (reke, jezera i mora) zabeležene su u letnjim periodima, naročito u popodnevним časovima. Ova činjenica objašnjava se povećanom upotrebom kozmetičkih proizvoda za zaštitu od sunčevog zračenja u ovom periodu.

#### 1.4. Negativan uticaj UV filtera na životnu sredinu i zdravlje ljudi

Zabrinutost usled negativnog uticaja UV filtera na zdravlje ljudi i životnu sredinu raste iz dana u dan. Obzirom da se UV filteri u životnoj sredini najčešće nalaze u vodi, brojne studije bave se ispitivanjem mogućnosti bioakumulacije i toksičnosti po ljude i vodene organizme.

Postoje dva načina proučavanja toksikoloških efekata u vodenim organizmima: određivanjem koncentracije UV filtera u određenom organizmu koji je bio izložen potencijalno toksičnoj supstanci ili kroz izlaganje organizma određenom opsegu koncentracija potencijalno toksičnih supstancama. U slučaju bioakumulacije, UV filter pored toga što može imati negativan efekat na vodeni organizam ulazi i u lanac ishrane (Gandar et al., 2025). Značajan broj studija potvrdio je negativne efekte UV filtera na ljude i različite vrste vodenih organizama poput riba, dagnji, rakova, algi, korala i morskih ježeva (Gadelha et al., 2019; Bordalo et al., 2020; Science et al., 2013; Mitchelmore et al., 2021; Svigruha et al., 2025). Na primer, neki UV filteri dovode do poremećaja enzimske aktivnosti i neplodnosti riba kao i do uginuća korala. Brojna istraživanja pokazala su da većina organskih UV filtera inhibira rast bakterija (Huang et al., 2021; Gu et al., 2025). Citotoksičnost benzofenona 3 na *A. Fischeri* potvrđena je studijom sa vrednošću EC<sub>50</sub> oko 100 mg/L. Studija u kojoj je ispitivana toksičnost UV filtera na 7 različitih vrsta bakterija pokazala je da BP-3, EHMC, OC, 4MBC i HMS inhibiraju njihov rast pri koncentraciji od 1 mg/L, pri čemu se kao najtoksičniji izdvojio EHMC.

Zabrinutost zbog mogućeg negativnog uticaja na zdravlje ljudi javila se nakon što su studije potvrdile da UV filteri mogu da prodru kroz kožu i dospeju u krvotok (Klimová et al., 2015; Souza & Maia Campos, 2017; Hojerová et al., 2017). U dosadašnjim istraživanjima potvrđen je negativan uticaj UV filtera na rad štitne žlezde kao i drugi efekti poput citotoksičnosti, promene ponašanja i neurotoksičnosti (Wai et al., 2016). Studijom sprovedenom od strane Val-Sistakai saradnika (2016) ispitana je mogućnost prodiranja UV filtera u placentu. U okviru studije analizirano je pet UV filtera koji pripadaju grupi derivata benzofenona. Zaključeno je da benzofenon-4 ima najveću tendenciju da se u placenti akumulira, i to u opsegu koncentracija od 0,25 ng/g do 5,41 ng/g (Valle-Sistac et al., 2016). Što se tiče citotoksičnosti, HMS je izazvao negativan uticaj na razvoj ljudske placente tokom rane trudnoće što ukazuje na potencijalnu pretnju po zdravlje trudnice (Huang et al., 2021). Prilikom ispitivanja genotoksičnosti, BP-3 je izazvao oštećenje DNK nakon što je uveden u ćelije epitela dojke kod ljudi. Ovaj negativni uticaj ispitivan je i kasnije potvrđen i na epitelnim ćelijama dojke kod miševa (Majhi et al., 2020). Izomer UV filtera, trans-EHMC je izazvao oštećenje DNK, dok je cis-EHMC imao 7 puta veći indeks opasnosti od trans-EHMC u matičnim ćelijama ljudske jetre (Sharma et al., 2017).

Uprkos tome što ulaze u sastav preparata za negu i zaštitu kože od sunčevog zračenja, poznato je da se pojedini UV filteri klasifikuju kao alergeni koji izazivaju fotoalergijski kontaktni dermatitis (Gilbert et al., 2013). Fotoalergijski kontaktni dermatitis je kožna alergijska reakcija na svetlost posredovana kontaktom sa nekim hemijskim jedinjenjima. Korelacija između fotoalergijskog kontaktnog dermatitisa i upotrebe organskog UV filtera u proizvodima za zaštitu od negativnog uticaja sunčevog zračenja ispitivana je još 2010. godine od strane Kera i Fergusona (Kerr and Ferguson, 2010). Brojna istraživanja imaju za cilj pronalazak alternativnih rešenja za zaštitu od sunčevog zračenja kako bi se smanjile koncentracije UV filtera koje dospevaju u životnu sredinu. Osnovni razlog određivanja koncentracija UV filtera u uzorcima iz životne sredine jesu procena rizika usled toksičnosti i štetni efekti poput estrogenih aktivnosti koju pojedini UV filteri izazivaju.

## 1.5. Zakonska regulativa

Mnogobrojna istraživanja pokazala su da pojedini UV filteri mogu prouzrokovati niz poremećaja u reproduktivnom i endokrinom sistemu organizama koji su im izloženi. U cilju zaštite ljudskog zdravlja i nesmetanog tržišta kozmetičkim proizvodima na teritoriji Evropske Unije doneta je Uredba Evropske komisije (engl. *European Commission*, EC) 1223/2009 kojom je regulisana upotreba UV filtera u kozmetičkim proizvodima i kojom su propisane maksimalno dozvoljene koncentracije. Prema navedenoj uredbi, UV filteri su definisani kao supstance koje su isključivo ili u najvećoj meri namenjene zaštiti kože od određenog UV zračenja putem apsorpcije, reflektovanja ili rasipanja UV zračenja. U Republici Srbiji upotreba UV filtera regulisana je Pravilnikom o kozmetičkim proizvodima („*Službeni glasnik RS*“, broj 21/2023), koja se u skladu sa Uredbom Evropske komisije. U okviru poglavlja IV (Ograničenja za određene supstance) ovog pravilnika navedene su supstance čija je upotreba u kozmetičkim proizvodima ograničena ili zabranjena. Prilog VI daje informacije o UV filterima čija je upotreba u kozmetičkim proizvodima dozvoljena, kao i uslovi pod kojim je dozvoljeno koristiti UV filtere navedene u samom prilogu. U tabeli 4 prikazani su UV filteri dozvoljeni za upotrebu, kao i uslovi pod kojima se mogu koristiti.

**Tabela 4.** UV filteri dozvoljeni za upotrebu u kozmetičkim proizvodima u Republici Srbiji

Naziv UV filtera	Tip kozmetičkog proizvoda	Maksimalna koncentracija u proizvodu (%)
HMS	Proizvodi za lice osim proizvoda za raspršivanje u spreju	7,34
BP3	a) Proizvodi za lice, ruke i usne, osim za proizvode u formi aerosola i sprejeva	6
	b) Proizvodi za telo, uključujući i proizvode u formi aerosola i sprejeva	2,2
	c) Ostali proizvodi	0,5
AVO		5
OC	a) Proizvodi u formi aerosol i sprejeva	9
	b) Ostali proizvodi	10
EHMC		10
IAMC		10
4-MBC		4
2ES		5
OD- PABA		8
BP4		5

Različiti zakonski propisi o kozmetičkim proizvodima ukazuju na jedinjenja koja su odobrena tj. koja se mogu koristiti kao UV filteri, kao i na maksimalno dozvoljenu koncentraciju svakog od njih u gotovom proizvodu. Izmene zakona donose se na osnovu novih saznanja o bezbednosti usled upotrebe UV filtera, a odstupanja među pravilnicima postoje u različitim državama.

## 1. 6. Metode analize organskih UV filtera u različitim matricama

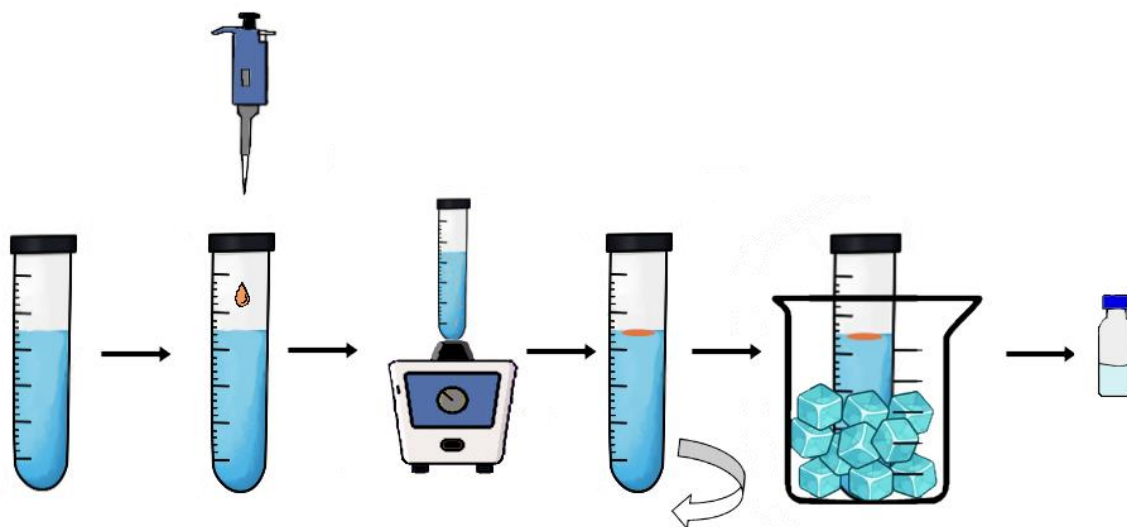
### 1.6.1. Tehnike pripreme uzoraka za analizu UV filtera

#### 1.6.1.1. Priprema uzoraka kozmetičkih proizvoda

Način pripreme kozmetičkih proizvoda za analizu UV filtera zavisi od vrste uzorka, pre svega njegove konzistencije, zatim od ciljanih analita kao i tehnike kojom će se UV filteri analizirati. Standardu SRPS EN 17156:2019 propisuje dve slične procedure za prepremu kozmetičkih proizvoda, a odabir procedure zavisi od toga da li se analiziraju UV filteri rastvorljivi u vodi ili mastima. Procedure se zasnivaju na rastvaranju uzoraka u etanolu, ali se prilikom analize UV filtera rastvorljivih u vodi dodaje i acetatni pufer. Zbog visokih koncentracija UV filtera u kozmetičkim proizvodima za zaštitu od Sunčevog zračenja priprema uzoraka ne zahteva predkoncentrisanje uzoraka, ali je važno u što većoj meri ukloniti matrične smetnje koje značajno mogu uticati na prinos. Prvi korak prilikom pripreme jeste rastvaranje uzorka u odgovarajućem rastvaraču, najčešće je to etanol, metanol, etil acetat ili voda (Narloch and Wejnerowska, 2021). Sledeći korak jeste homogenizacija koja je najčešće izvodi primenom ultrazvučnog kupatila, vorteksa ili magnetne mešalice (Nyeborg et al., 2010; Daryanavard et al., 2021). Nakon homogenizacije sledi centrifugiranje kako bi se odvojio supernatant u kome su ekstrahovani UV filteri. Poslednji korak u procesu pripreme uzoraka kozmetičkih proizvoda jeste filtriranje supernatanta nakon čega se uzorak smatra spremnim za analizu. Ovakvim načinom pripreme uzoraka u slučaju kompleksnih matrica prilikom analize dolazi do pojave matričnih smetnji što predstavlja jedan od glavnih problema prilikom analize sadržaja UV filtera u kozmetičkim proizvodima (Lukić et al., 2023). U ovom radu je kao metoda za prečišćavanje uzoraka kozmetičkih proizvoda korišćena disperzivna tečno-tečna mikroekstrakcija. DLLME metoda primenjena je nakon centrifugiranja i odvajanja supernatanta, kako bi se maksimalno uklonile matrične smetnje.

#### ***Disperzivna tečno-tečna mikroekstrakcija***

Disperzivna tečno-tečna mikroekstrakcija je novija tehnika koja se koristi za ekstrakciju UV filtera iz vodenih uzoraka. Ekstrakcija se postiže disperzijom smeše organskih rastvarača u vodenu fazu. Na ovaj način dolazi do nastanka emulzije i prelaska analita iz vodene u organsku fazu. Smešu organskih rastvarača čine jedan rastvarač koji se ne meša sa vodom (ekstraktant) i jedan rastvarač koji se meša sa vodom (disperzno sredstvo). Najčešće se koriste organski rastvarači veće gustine u odnosu na vodu. U ovom slučaju čest problem predstavlja korak odvajanja organske faze iz konusnog dela epruvete za centrifugu. Ovaj problem moguće je izbeći primenom organskih rastvarača manje gustine u odnosu na vodu (npr. undekanol) koji se nakon centrifugiranja izdvaja (pluta) na površini vode. Ukoliko organski ekstraktant ima nisku tačku mržnjenja sa površine vode se može izdvojiti hlađenjem uzorka ispod tačke mržnjenja nakon čega se spatulom odvaja čvrsta faza. Navedeni korak izdvajanja organskog ekstraktanta u literaturi naziva se očvršćavanje plutajuće organske kapljice (engl. *Solidification of Floating Organic Droplet*, SFOD). Kuplovanjem DLLME i SFOD dobija se način pripreme kojim se smanjuje mogućnost greške usled neadekvatnog izdvajanja organske faze (Mansour and Danielson, 2017). Na slici 12 prikazana je šema pripreme uzorka tehnikom DLLME-SFOD.



**Slika 12.** Šematski prikaz DLLME-SFOD tehnike

Nakon podešavanja pH vrednosti i jonske jačine vodenog uzorka, dodaje se odgovarajuća zapremina organskog ekstraktanta. Disperzija ekstraktanta može se vršiti mućkanjem ili pomoću ultrazvuka. Kako bi se odvojile organska i vodena faza vrši se centrifugiranje, a zatim i hlađenje rastvora ispod tačke mržnjenja organskog ekstraktanta. Nakon očvršćavanja čvrsta faza se izdvoji i otopi na sobnoj temperaturi u cilju dalje analize.

Prinos DLLME ekstrakcije zavisi od velikog broja promenljivih (vrsta rastvarača, pH vrednost uzorka, jonska jačina, zapremine ekstraktanta i disperznog sredstva itd.). Obzirom na veliki broj promenljivih neophodno je pažljivo izvršiti njihovu optimizaciju, tj. odabir optimalnih vrednosti eksperimentalnih promenljivih (Bezerra et al., 2019; Mousavi et al., 2018; Tadić et al., 2022; Slavković-Beškoski et al., 2022). U poređenju sa ekstrakcijom na čvrstoj fazi, prilikom primene DLLME tehnike koristi se znatno manja zapremina organskog rastvarača, ekonomski je isplativija, efikasnost ekstrakcije je veoma slična, a uticaj matrice je umanjen (Cadena-Aizaga et al., 2020; Rutkowska et al., 2019). Nedostatak ove tehnike u odnosu na SPE jesu niža osetljivost i preciznost (Ramos et al., 2015). Često se primenjuje pre HPLC merenja (He and Concheiro-Guisan, 2019; Liao et al., 2020), a svoju primenu našla je i u analizi UV filtera. (Benedé et al., 2014; Ramos et al., 2019; Medina et al., 2020).

#### 1.6.1.2. Priprema uzoraka vode

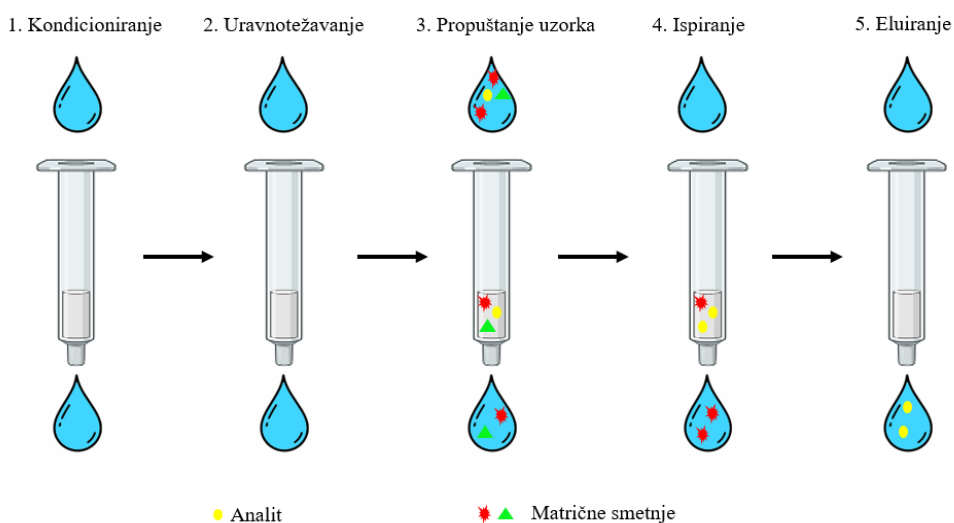
Pri određivanju tragova organskih UV filtera iz uzoraka životne sredine može se javiti nekoliko problema. Jedan od glavnih problema jeste kontaminacija uzorka usled prisustva UV filtera u brojnim preparatima za svakodnevnu upotrebu. Iz tog razloga veoma je važno pri uzorkovanju i analizi uzoraka izbeći upotrebu proizvoda koji ih sadrže. Za uzorkovanje vodenih uzoraka koristi se tamna staklena ambalaža. Ukoliko se analiza ne vrši neposredno nakon uzorkovanja, uzorci se filtriraju i čuvaju u frižideru na tamnom mestu kako bi se sprečila fotodegradacija analita.

Prilikom analize UV filtera u uzorcima iz životne sredine veoma bitan korak čini priprema uzorka usled kompleksnosti matrice i niskih koncentracija određivanih analita. Adekvatnim načinom pripreme uzorka postiže se uklanjanje jedinjenja koja mogu ometati dalju analizu, kao i predkoncentrisanje uzorka koje ima veoma važnu ulogu kada se radi o veoma niskim koncentracijama analita koji se određuju. Kada su koncentracije UV filtera veoma niske, najoptimalnija tehnika za pripremu uzoraka vode je ekstrakcija na čvrstoj fazi (Allinson et al., 2018; Cadena-Aizaga et al., 2020).

### Ekstrakcija na čvrstoj fazi

Ekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. *Solid phase extraction*, SPE) je najčešće primenjivani način pripreme vodenih uzoraka za analizu UV filtera. Ovakav način pripreme uzorka podrazumeva propuštanje tečnog uzorka kroz čvrstu fazu (sorbent) koja ima veliki afinitet prema analitu. Prilikom propuštanja uzorka dolazi do vezivanja analita za sorbent (nalazi se u kertridžu). Nakon nanošenja uzorka sorbent je suši pod vakuumom. Kod kompleksnih matrica poželjno je isprati sorbent rastvorom koji neće eluirati analit sa sorbenta. Analit se sa čvrste faze eluira pogodnim rastvaračem. Na slici 13 dat je šematski prikaz ekstrakcije na čvrstoj fazi.

Komercijalni kertridži koji se najčešće koriste za ekstrakciju UV filtera su Oasis HLB (Waters, SAD) i Strata-X (Phenomenex, Velika Britanija) (Cadena-Aizaga et al., 2022). Pogodni su primenu u širokom opsegu pH-vrednosti, pri ekstrakciji istovremeno omogućavaju i prečišćavanje ekstrakta. Primenom komercijalnih kertridža za pripremu vodenih uzoraka za analizu UV filtera mogu se ostvariti solidni prinosi uz visok stepen predkoncentrisanja (Tsui et al., 2014; Chávez-Moreno et al., 2018). Pored odabira pogodnog sorbenta veoma je važan odabir polarnog rastvarača koji efikasno eluira UV filtere sa sorbenta, ali ne i nečistoće.



Slika 13. Šematski prikaz ekstrakcije na čvrstoj fazi

Prednosti ove metode pripreme su visok faktor predkoncentrisanja, jednostavnost i kratko vreme trajanja postupka ekstrakcije. Glavni nedostatak ekstrakcije na čvrstoj fazi jeste velika zapremina uzorka kao i upotreba organskih rastvarača (metanol, acetonitril, etil acetat, dihlormetan i sl.). Da bi se postigle najbolje analitičke performanse, proces ekstrakcije na čvrstoj fazi treba da bude optimizovan (Da Silva et al., 2013;Chávez-Moreno et al., 2018).

### 1.7. Instrumentalne metode za određivanje koncentracije UV filtera u različitim matricama

Za kvantifikaciju niskih koncentracija UV filtera iz vodenih uzoraka pretežno se koriste dve instrumentalne metode. Jedna je gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (GC-MS) (Pereira et al., 2015;Ramos et al., 2019), koja ima ogroman potencijal za identifikaciju analita i visoku selektivnost pri njihovom razdvajanju. Metoda GC-MS zahteva prethodnu derivatizaciju uzorka, koja za cilj ima smanjenje polarnosti analita (Ramos et al., 2015). Druga tehnika je tečna hromatografija sa tandem masenom spektrometrijom (LC-MS/MS) (Chiriac et al., 2020;Li et al., 2020;Cadena-Aizaga et al., 2022), koja se odlikuje izuzetnom osetljivošću i veoma je pogodna za analizu niskoisparljivih i razgradivih UV filtera. Razvojem ove tehnike omogućen je razvoj metoda za analizu UV filtera u vodi, sedimentu, vodenim organizmima, urinu, krvi, mleku i prašini (Gago-Ferrero et al., 2013b).

Literaturni pregled metoda pripreme uzorka, metoda analize i detektovanih koncentracija odabranih UV filtera u uzorcima iz životne sredine dat je u tabeli 5.

**Tabela 5.** Pregled metoda analize i detektovanih koncentracija odabranih UV filtera u uzorcima iz životne sredine

Analit	Matrica	Metoda ekstrakcije	Metoda analize	Detektovana koncentracija (ng/dm <sup>3</sup> )	Ref.
BP1				BP1: 127–166	
BP3				BP3: 86–116	
BP4				BP4: 80–95	
HMS	Rečna voda	SPE	LC-MS/MS	HMS: 29–59	(Tsui et al., 2014)
4-MBC				4-MBC: <LOD	
OC				OC: 153–205	
IAMC				IAMC: <LOD	
BP1				BP1: n.d.–7,54	
BP3	Rečna voda	On line-SPE	LC-MS/MS	BP3: n.d.–37,8	(Gago-Ferrero et al., 2013b)
BP4				BP4: 30,4–862	
4-HB				4-HB: n.d.	

Tabela 5. (Nastavak)

BP1				BP1: 12,6	
BP2	Rečna voda	SPE	LC-MS/MS	BP2: 34,7	(Wu et al., 2017)
BP3				BP3: 30	
BP4				BP4: 131,1	
BP1	Rečna voda	SPE	LC-MS/MS	BP1: n.d.–24,6	(Wu et al., 2018)
BP2				BP2: n.d.–7,66	
BP3				BP3: 68,5–5010	
BP4				BP4: 16,9–88,3	
ES	Rečna voda	SPME	GC-MS	BP3: 59–5390	(Liu et al., 2010)
BP3				4-MBC: 10–5790	
4-MBC				OC: 29–5180	
OC				ES: 8–5620	
BP1	Rečna voda (uzvodno od PPOV)	SPE	UPLC-MS/MS	BP1: <LOQ–17000	(Kasprzyk-hordern et al., 2009)
BP2				BP2: <LOQ–1000	
BP3				BP3: <LOQ–43000	
BP4				BP4: <LOQ–144000	
BP1	Rečna voda (nizvodno od PPOV)	SPE	UPLC-MS/MS	BP1: <LOQ–13000	(Kasprzyk-hordern et al., 2009)
BP2				BP2: <LOQ–26000	
BP3				BP3: <LOQ–44000	
BP4				BP4: <32000–323000	
BP1	Rečna voda	SPE	LC-MS/MS	BP1: 0,9–29	(Wick et al., 2010)
BP2				BP2: <LOQ–6,7	
BP3				BP3: <LOQ–47	
BP4				BP4: 51–1980	
BP3	Rečna voda	SPE	GC-MS	BP3: 56–68	(Fent et al., 2010)
BP4				BP4: n.d.	
4-MBC				4-MBC: 12–17	
EHMC				EHMC: 6	

Tabela 5. (Nastavak)

BP3				BP3: n.d.–178	
BP4				BP4: n.d.–2402	(Fent et al., 2010)
4-MBC	Rečna voda	SPE	LC-MS/MS	4-MBC: n.d.–106	
EHMC				EHMC: n.d.–41	
EHMC				EHMC: 150	
BP3	Jezerska voda	MEPS	GC-MS	BP3: 83	(Moeder et al., 2010)
4-MBC				4-MBC: 2351	
OC				OC: 71	
BP1				BP1: n.d.–1,9	
BP2				BP2: n.d.	
BP3	Podzemna voda	On-line SPE	LC-MS/MS	BP3: 0,64–7,9	(Gago-Ferrero et al., 2013a)
BP4				BP4: 1,1–3,8	
4-HB				4-HB: n.d.–0,38	
4-MBC				4-MBC: n.d.–6,7	
BP1				BP1: n.d.	(Ho and Ding, 2012)
BP3	Podzemna voda	SPE	GC-MS	BP3: n.d.	
BP8				BP8: n.d.	
OC				OC: n.d.–419,9	(Labille et al., 2020)
AVO	Morska voda	LLE	LC-MS	AVO: n.d.–309	
BP3				BP3: <LOD–78,3	
ES				ES: 440–880	
BP3				BP3: <LOQ–308	
4-MBC				4-MBC: <LOD–220	(Benedé et al., 2014)
OC	Morska voda	DLLME	GC-MS	OC: <LOQ–317	
HMS				HMS: 157–310	
EHMC				EHMC: 91–260	
IAMC				IAMC: 118–280	

SPE – ekstrakcija na čvrstoj fazi;

SPME – mikroekstrakcija na čvrstoj fazi;

DLLME – disperzivna tečno-tečna mikroekstrakcija;

MEPS – mikroekstrakcija sa upakovanim sorbentom;

MALLE – membranska tečno-tečna ekstrakcija;

LC-MS/MS – tečna hromatografija -tandem masena spektrometrija;

GC-MS – gasna hromatografija-sa masenom spektrometrijom;

UPLC-MS/MS – tečna hromatografija ultra perfomansi-tandem masena spektrometrija;

Tehnika izbora za razdvajanje i kvantifikaciju UV filtera u kozmetičkim proizvodima je tečna hromatografija visokih performansi (HPLC) sa detektorom diodnog niza (DAD) (Chisvert and Salvador, 2018; Narloch and Wejnerowska, 2021). Primenom tečne hromatografije moguće je istovremeno hromatografski razdvojiti značajan broj UV filtera (Vosough et al., 2017; Wharton et al., 2015; Chang et al., 2015). U tabeli 6 dat je prikaz metoda analize i detektovanih koncentracija odabranih UV filtera u kozmetičkim proizvodima.

**Tabela 6.** Metoda analize i detektovane koncentracije odabranih UV filtera u kozmetičkim proizvodima

<b>Analit</b>	<b>Metoda analize</b>	<b>Detektovana koncentracija (% w/w)</b>	<b>Ref.</b>
BMBM		0,06–5,11	
EHMC		0,11–8,63	
OC		1,03–9,86	(Manová
BMT	HPLC-DAD	0,41–4,74	et al.,
HMS		1,91–9,12	2013)
BP-3		1,03–5,06	
ED-PABA		2,37–6,05	
BP-3		0,54*	
OC		0,51–11,6	(Chisvert
EHMC	HPLC-UV	2,31–7,8	et al.,
HMC		4,89–8,8	2013)
2ES		2,83–5,1	
4MBC		1,05–4,5	
OC		1,25–10,40	
EHMC		2,64–4,11	
HMC	HPLC-DAD	3,72–6,12	(Rastogi,
BP3		0,01–5,26	2002)
4MBC		0,92–5,74	
OD-PABA		2,67*	
OC		3,28–10,57	
EHMC		0,34–10,0	(Ding et
2ES	LTP-MS	2,83–5,80	al.,
4MBC		0,71–10	2018)
BP3		1,80–6,00	
EHMC		3,08–8,16	
IAMC		0,33–7,79	
2ES	HPLC-UV	1,78–5,33	(Kim et
4MBC		2,01–4,96	al.,
BP3		3,04–5,37	2011)
OC		1,13–6,75	

\* – analit detektovan samo u jednom uzorku

LTP-MS – Masena spektrometrija sa jonizacijom pri niskim temperaturama plazme

## 1.8. Procena rizika usled prisustva UV filtera u različitim matricama

Glavni izazovi kada je reč o UV filterima jesu njihova fotostabilnost, uticaj na životnu sredinu i toksičnost po ljude. Fotostabilnost je suštinski važan uslov koji jedinjenje treba da ispuni kako bi obezbedilo dugotrajnu zaštitu kože. Jedinjenja koja prilikom apsorpcije UV zračenja prelaze u više energetske nivoe, oslobađaju energiju pri čemu može doći do izomerizacije ili raskidanja veza unutar molekula. Prilikom ovog procesa mogu nastati nusproizvodi koji smanjuju fotostabilnost preparata za zaštitu od Sunčevog zračenja, a mogu biti i toksični po ljudsko zdravlje. Na primer, istraživanja fotostabilnosti avobenzona pokazala su da pri različitim uslovima usled apsorpcije UV zračenja nastaje do 10 različitih nusproizvoda fotodegradacije (Jesus et al., 2022). Komercijalni preparati za zaštitu od sunčevog zračenja sadrže jednu ili nekoliko različitih UV filtera, organske ili neorganske prirode. Kreme za sunčanje najčešće sadrže kombinaciju nekoliko organskih UV filtera. S obzirom na sve veću rasprostranjenost organskih UV filtera ne samo u vodi, već i u sedimentu, zemljištu, prašini, rizik po zdravlje ljudi usled njihovog prisustva sve češće predstavlja predmet istraživanja.

### 1.8.1. Procena zdravstvenog rizika

Prema zakonskim propisima Republike Srbije i Pravilniku o kozmetičkim proizvodima („*Službeni glasnik RS*“, broj 21/2023) na osnovu kvalitativnog i kvantitativnog sastava vrši se procena bezbednosti kozmetičkog proizvoda. Kada je reč o članicama Evropske unije, Naučni odbor za bezbednost potrošača (engl. *Scientific Committee on Consumer Safety*, SCCS) ocenjuje bezbednost kozmetičkih sastojaka datih u okviru pravilnika na teritoriji Evropske unije. Navedeni odbor daje mišljenja o pitanjima koja se tiču novih ili novoidentifikovanih rizika po zdravlje i životnu sredinu. Procena rizika po ljudsko zdravlje je složeni proces kojim se procenjuje verovatnoća za pojavu štetnih efekata na zdravlje ljudi usled trenutnog ili budućeg izlaganja stresorima, a najčešće se sastoji iz četiri faze:

1. identifikacija hazarda (opasnosti)
2. procena odnosa doza-odgovor
3. procena izloženosti i
4. karakterizacija rizika.

U prvoj fazi procene rizika utvrđuje se da li izlaganje potencijalno toksičnoj supstanci može dovesti do negativnih efekata po ljudsko zdravlje. Procena se vrši na osnovu podataka iz literature, vezanih za rezultate monitoringa ovih supstanci, kao i na osnovu terenskih ispitivanja i testova toksičnosti. Sledećim korakom utvrđuje se veza između koncentracije zagađujućih materija i intenziteta neželjenog uticaja na receptore, na osnovu koje se može utvrditi koja doza izaziva neželjene efekte. Najznačajniji podatak koji proizilazi iz ove faze jeste određivanje najviše doze koja ne izaziva neželjeni efekat (engl. *No-observed-adverse-effect level*, NOAEL). NOAEL se takođe može definisati kao nivo izloženosti na kojem nema statistički ili biološki značajnog povećanja učestalosti ili težine štetnih efekata između izložene populacije i kontrolne grupe. Pojedini efekti se mogu javiti i pri dozi NOAEL, ali samo u slučaju da se ne smatraju štetnim ili nisu prekursor za nastajanje štetnih efekata. Nakon identifikacije opasnosti i određivanja maksimalne doze koja

ne dovodi do štetnih efekata sledi analiza izloženosti. Bitni faktori u analizi izloženosti jesu putevi izloženosti čoveka analiziranim supstancama (npr. dermalno, oralno, inhalaciono), koncentracija ispitivanih sastojaka i količina proizvoda koji se koristi pri svakoj primeni. Kada su u pitanju aktivne supstance iz kozmetičkih proizvoda, važni faktori su i vrsta kozmetičkog proizvoda, način primene koji je neophodno što detaljnije razmotriti kao i da li se nakon primene proizvod ispira ili ostaje na koži (SCCS, 2021). Poslednja faza u proceni rizika je karakterizacija rizika. Na osnovu prikupljenih podataka iz prethodnih faza proračunava se verovatnoća pojave rizika kao i priroda rizika.

Od strane Naučnog komiteta za bezbednost potrošača odobrena je procena zdravstvenog rizika na osnovu procene magrine bezbednosti (engl. *Margin of Safety*, MoS). Navedeni parametar može se određivati za više različitih supstanci (procena kombinovanog rizika) ili za pojedinačne supstance u cilju određivanja ukupne izloženosti ljudi. Nivo rizika može se izraziti pomoću vrednosti parametra MoS koji se izračunava kao odnos najviše doze koja ne izaziva neželjeni efekat (NOAEL) i doze sistemske izloženosti (engl. *Systemic Exposure Dose*, SED) (Marinovich et al., 2014):

$$MoS = \frac{NOAEL}{SED}, (\%) \quad (3)$$

Vrednosti doze sistemske izloženosti izračunavaju se prema jednačini:

$$SED = E_{pro} \times (C/100) \times (DA_p/100) \quad (4)$$

gde je  $E_{pro}$  – procenjena dnevna izloženost proizvodu za zaštitu od sunčevog zračenja (mg/kg tm/dan), pri čemu se tm odnosi na telesnu masu,  
 C – koncentracija supstance u krajnjem proizvodu, izražena u procentima (%),  
 $DA_p$  – procenat supstance apsorbovan putem kože (%).

### 1.8.2. Procena ekološkog rizika

Procena ekološkog rizika (engl. *ecological risk assessment*, ERA) je postupak kojim se procenjuje verovatnoća da se mogu pojaviti ili se javljaju štetni ekološki efekti kao rezultat izloženosti jednom ili više stresora (hemikalije, bolesti, invazivne vrste i sl).

Postoji nekoliko metoda kojima se može proceniti nivo ekološkog rizika (Guidelines for Ecological Risk Assessment, 1998):

- opservacijske studije kod kojih se mere biološke promene u prirodnom okruženju usled izloženosti stresoru,
- kategorička rangiranja koristeći kategorije nizak, srednji i visok nivo rizika,
- poređenje izloženosti u jednoj tački i procene efekta (odnos između koncentracije kojoj je receptor izložen i koncentracije koja izaziva negativni efekat),
- poređenje koje uključuje celokupni odnos reakcije stresa, primenom krive koja povezuje nivo stresa sa veličinom odgovora,

- uključivanje varijabilnosti u procene izloženosti i/ili efekata, matematički modeli koji se delimično ili u potpunosti oslanjaju na teorijske aproksimacije izloženosti i efekata.

Jedan od najčešćih načina za procenu ekološkog rizika je kategoričko rangiranje rizika. Koefficient rizika (engl. *risk quotients*, RQ) se izračunava kao odnos maksimalno izmerenih koncentracija stresora u životnoj sredini (engl. *Measured Environmental Concentration*, MEC) i predviđenih koncentracija bez efekata (engl. *predicted no effect concentration*, PNEC). Zbirni koefficient rizika izračunava se prema jednačini 3, kao zbir odnosa izmerenih koncentracija  $C_i$  i predviđenih koncentracije bez efekata:

$$\Sigma RQ = \sum_{i=1}^n (C_i/PNEC_i) \quad (5)$$

Nivo ekološkog rizika se na osnovu vrednosti RQ svrstava u 3 kategorije:

$RQ \leq 0,1$  nizak ekološki rizik

$0,1 < RQ < 1$  umeren ekološki rizik

$RQ > 1$  visok ekološki rizik

Procena ekološkog rizika neophodna je kako bi se identifikovali granični nivoi zagađenja koji mogu izazvati neželjene efekte. Na osnovu dobijenih rezultata moguće je upravljati rizikom odnosno predložiti mere prevencije koje obezbeđuju očuvanje životne sredine.

## 2. EKSPERIMENTALNI DEO

### 2.1. Standardi odabranih organskih UV filtera, rastvarači i reagensi

Za izvođenje eksperimenata korišćeni su analitički standardi 11 UV filtera visoke čistoće (>98%, Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka). Organski rastvarači (metanol i acetonitril) bili su LC-MS čistoće (Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka). Osnovni rastvori standarda (1000 mg/L) pripremljeni su rastvaranjem u metanolu i čuvani su u mraku na temperaturi od 4°C. Dejonizovana voda (18,2 MΩ·cm) pripremljena je pomoću Simplicity ultrapure water sistema (Millipore, Bedford, MA, SAD).

### 2.2. Optimizacija HPLC–DAD metode

Za analizu sadržaja UV filtera u kozmetičkim proizvodima je zbog visokih koncentracija ovih supstanci za metodu analize odabrana HPLC–DAD metoda. Analiza UV filtera vršena je na Thermo Finnigan HPLC sistem (Thermo Scientific, Waltham, SAD). Hromatografsko razdvajanje vršeno je pomoću Phenomenex Kinetex EVO C18 kolone (dužine 25 cm, unutrašnjeg prečnika 4,6 mm, veličina čestica 5 μm). Za optimizaciju hromatografskog razdvajanja odabranih UV filtera ispitivani su različiti protoci i sastavi mobilne faze sačinjene od dejonizovane vode i metanola. Dodatkom mravlje kiseline u dejonizovanu vodu podešavana je pH vrednost mobilne faze. U tabeli 7 dat je sastav mobilne faze korišćen pri optimizaciji hromatografskog razdvajanja.

**Tabela 7.** Optimizacija sastava mobilne faze

R. br.	pH	%MeOH	%H <sub>2</sub> O
1	6,5	60	40
2	4,5	60	40
3	2,7	60	40
4	6,5	70	30
5	4,5	70	30
6	2,7	70	30
7	6,5	80	20
8	4,5	80	20
9	2,7	80	20

Zapremina injektovanih standarda bila je 10 μL. Temperatura kolone bila je 30°C. Protok mobilne faze bio je izokratski, 1 mL/min. Obrada dobijenih podataka izvršena je pomoću softvera Xcalibur 2.2. Optimizacija je vršena tako što je smeša standardnih rastvora UV filtera analizirana pri sastavima mobilne faze navedenim u tabeli 7, svaka analiza urađena u triplikatu. Nakon dobijenih hromatograma odabran je sastav faze pri kom je dobijen optimalan hromatogram tj. optimalno razdvajanje analita.

### 2.3. Razvoj LC-MS/MS metode

Analiza odabranih UV filtera iz uzoraka vode izvršena je na Thermo Fisher Scientific (Thermo Scientific, Waltham, SAD) sistemu koji se sastoji od Dionex Ultimate 3000 tečnog hromatografa opremljenog Accucore™ aQ C-18 kolonom (dužine 10 cm, unutrašnjeg prečnika 2,1 mm, veličina čestica 2,6  $\mu\text{m}$ ) i LTQ XL masenog spektrometra sa linearnim jonskim trapom. Standardni rastvori pojedinačnih analita koncentracije 10  $\mu\text{g/mL}$  unošeni su u tok mobilne faze koja se sastojala od 70% metanola, 29% vode i 1% HCOOH (0,1% v/v). U cilju kvantitativnog određivanja UV filtera izvršena je selekcija karakterističnih reakcija fragmentacije prekursor jona u najintenzivniji fragmentni jon za svaki pojedinačni analit. Za svaki UV filter snimljeni su maseni spektri u opsegu  $m/z$  50–1000. Kao tehnika jonizacije korišćena je elektrosprej jonizacija. U masenom spektru svakog analita odabran je najintenzivniji jon, a zatim je izvršena optimizacija kolizione energije dobijanje najintenzivnijeg i najstabilnijeg fragmentnog jona. Maseni spektri analita su obrađeni pomoću Xcalibur Ver. 3.0 softvera. Nakon optimizacije hromatografskog razdvajanja i MS/MS parametara razvijena metoda podeljena je u segmente u cilju maksimalne osetljivosti metode.

### 2.4. Opis ispitivanih uzoraka

#### 2.4.1 Uzorci kozmetičkih proizvoda

Ukupno 23 kozmetička proizvoda za zaštitu od sunčevog zračenja u obliku krema, gelova i losiona sa različitim faktorima zaštite kupljena su na teritoriji Beograda. Uzorci kozmetičkih proizvoda, njihova konzistencija kao i sastav UV filtera prikazani su u tabeli 8. Prema deklaraciji proizvoda svi uzorci sadržali su minimum jedan UV filter ili kombinaciju nekoliko UV filtera. U sastav uzoraka prema deklaraciji ulazila su 4 (OC, EHMC, 2-ES i HMS) od ukupno 11 analiziranih UV filtera.

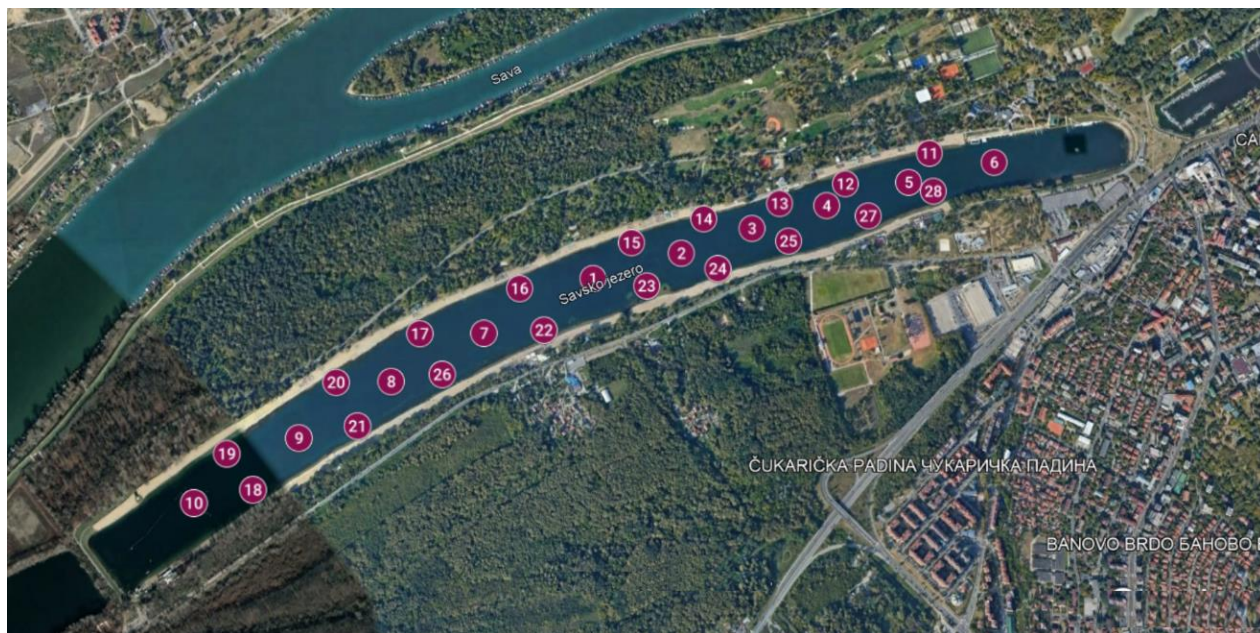
**Tabela 8.** Uzorci kozmetičkih proizvoda

Broj uzorka	Naziv	SPF	Konzistencija	OC	EHMC	2ES	HMS
1	Uzorak br. 1	50	Sprej	✓		✓	✓
2	Uzorak br. 2	50	Losion	✓			
3	Uzorak br. 3	50	Gel	✓			
4	Uzorak br. 4	50	Losion	✓			
5	Uzorak br. 5	40	Melem		✓		
6	Uzorak br. 6	50	Gel	✓		✓	✓
7	Uzorak br. 7	50	Kkrema				
8	Uzorak br. 8	40	Melem		✓		
9	Uzorak br. 9	50	Gel			✓	✓
10	Uzorak br. 10	50	Losion			✓	
11	Uzorak br. 11	50	Krema	✓			
12	Uzorak br. 12	50	Losion		✓		
13	Uzorak br. 13	50	Melem	✓		✓	
14	Uzorak br. 14	50	Losion	✓	✓	✓	✓
15	Uzorak br. 15	50	Mleko za telo	✓	✓		✓
16	Uzorak br. 16	30	Mleko za telo	✓			
17	Uzorak br. 17	50+	Gel-krema	✓			
18	Uzorak br. 18	30	krema		✓		
19	Uzorak br. 19	30	krema – mleko za telo	✓	✓		✓
20	Uzorak br. 20	50+	krema	✓			
21	Uzorak br. 21	50+	krema	✓			
22	Uzorak br. 22	50+	krema	✓		✓	
23	Uzorak br. 23	50	krema	✓			

#### 2.4.2. Uzorci Savskog jezera

Savsko jezero poznatije kao Ada Ciganlija nastalo je pre oko 50 godina. Dužina jezera je oko 4,4 km, prosečna širina 250 m, a prosečna dubina je 4,5 m (Trbojević et al., 2021). Zapremina jezera je oko 4 miliona m<sup>3</sup>, a površina iznosi približno 1,0 km<sup>2</sup>. Sa leve strane je mali ograđeni bazen

povezan sa rekom Savom iz kojeg se voda pumpa u Savsko jezero, dok se sa desne strane voda iz jezera ispušta u Čukarički potok. Uzorkovanje je izvršeno u avgustu 2021. godine. Uz obalu i na sredini Savskog jezera uzeto je ukupno 28 uzoraka. Na slici 13 prikazana je mapa uzorkovanja. Uzorci su uzeti 10 cm ispod površine vode, čuvani na 4°C u tamnim staklenim bocama i analizirani u roku od 24h. Pre merenja LC-MS/MS, svi uzorci su podvrgnuti ekstrakciji na čvrstoj fazi primenom Oasis® HLB 6 mL Vac kertridža sa 100 mg sorbenta po kertridžu (Waters Corp., Milford, MA, SAD).



**Slika 14.** Mapa uzorkovanja Savskog jezera

## 2.5. Optimizacija pripreme uzoraka

### 2.5.1. Optimizacija procedure za pripremu uzoraka kozmetičkih proizvoda

Analitički standardi oktokrilen, 2-etilheksil 4-metoksicinamata, 2-etilheksil salicilata i homosalata rastvoreni su u metanolu kako bi se dobio osnovni rastvor standarda koncentracije 1000 mg/L. Osnovni standardni rastvor čuvan je u tamnoj staklenoj ambalaži i neposredno pre analize razblaživan do željene koncentracije.

Uzorci kozmetičkih proizvoda pripremani su tako što je u kivetu za centrifugu zapremine 50 mL odmerena masa uzorka od 0,3 g, a zatim dodato 25 mL metanola i 5 mL vode (pH = 3). Voda je prethodno zakišljena dodatkom 0,1 M HCl. Uzorak je homogenizovan primenom vorteksa (LBX instruments, VORX-005-001, Španija) u trajanju od 60 s, a zatim primenom ultrazvučnog kupatila (Skymen model JP-031S, Narodna Republika Kina) u trajanju od 10 min i na temperaturi 40 °C. Nakon homogenizacije uzorci su ohlađeni i centrifugirani 5 min na 8000 obrtaja. U čiste staklene kivete za centrifugu odmereno je po 3 mL supernatanta nakon čega su razlaženi dejonizovanom vodom do 30 mL. Nakon razblaživanja usledila je procedura tečno-tečne mikroekstrakcije.

Prinos tečno-tečne mikroekstrakcije zavisi od velikog broja faktora. Uticaj faktora kao i intenzitet njihovog uticaja može biti različit. Primenom eksperimentalnog dizajna se istovremeno ispituje uticaj pojedinačnih faktora, kao i njihovih međusobnih interakcija na odgovor sistema. Njihovom optimizacijom postiže se maksimalna vrednost prinosa metode pripreme uzorka. Deset eksperimentalnih DLLME faktora (Tabela 7), uključujući zapreminu ( $V_{\text{disp}}$ ) i tip (Disp) disperzivnog rastvarača, zapreminu ( $V_{\text{ekst}}$ ) rastvarača za ekstrakciju (undekanola), pH vrednost uzorka, vortex/ultrazvuk (Vor/US), temperaturu (T), brzinu centrifugiranja ( $r_{\text{centr}}$ ), sadržaj soli (NaCl) i vreme centrifugiranja ( $t_{\text{centr}}$ ) su optimizovani pomoću dva uzastopna eksperimentalna dizajna za skrining i optimizaciju. U toku optimizacije kao disperzivni rastvarači korišćeni su acetonitril (ACN) i metanol (MeOH).

Prvi korak optimizacije DLLME procesa predstavljala je optimizacija faktora u cilju istovremene mikroekstrakcije UV filtera korišćenjem Plaket-Burman dizajna (engl. Plackett-Burman desing, PBD). U tabeli 9 prikazane su minimalne i maksimalne vrednosti faktora koji su oprimizovani primenom PBD dizajna.

**Tabela 9.** Eksperimentalni domen

Faktor	Jedinica	Nivo -1	Nivo +1
Disp	-	ACN	MeOH
$V_{\text{disp}}$	$\mu\text{L}$	600	2400
$V_{\text{ekst}}$	$\mu\text{L}$	150	900
NaCl	%	0	10
pH	-	3	11
S	-	US	Vor
$t_{\text{ekst}}$	min	1	5
T	$^{\circ}\text{C}$	20	40
$r_{\text{centr}}$	rpm	2000	8000
$t_{\text{centr}}$	min	2	10

Disp- Tip disperzivnog rastvarača, ACN- Acetonitril; MeOH- Metanol;  $V_{\text{disp}}$ - Zapremina disperzionog rastvarača;  $V_{\text{ekst}}$ - Zapremina ekstraktanta; NaCl- Sadržaj soli; pH- pH vrednost uzorka; S- Način homogenizacije; US- Ultrazvuk; Vor- Vortex;  $t_{\text{ekst}}$ - Trajanje ekstrakcije; T- Temperatura uzorka;  $r_{\text{centr}}$ - Broj obrtaja;  $t_{\text{centr}}$ - Trajanje centrifugiranja;

U tabeli 10 dat je prikaz Plaket-Burman eksperimentalnog dizajna sa realnim vrednostima promenljivih. Podešena je pH vrednost svakog uzorka, a zatim dodata adekvatna količina NaCl kako bi se podesila jonska jačina. Smeša rastvora za ekstrakciju i disperziju dodata je u uzorke čija čija je temperatura podešena na osnovu eksperimentalnog dizajna. Uzorci su homogenizovani

dejtvom ultrazvuka ili vtreksa, a zatim centrifugirani. Nakon centrifugiranja, uzorci su hlađeni sve dok se na površini nije formirala čvrsta faza (undekanol). Čvrsta faza prebačena je u vijalu zapremina 2 mL i nakon topljenja na sobnoj temperaturi, rastvorena je do 500  $\mu$ l rastvaračem za rekonstituciju i filtriran pomoću teflonskog (PTFE) špic filtera (veličina pora 0.45  $\mu$ m). Konačno, 10  $\mu$ l rastvora je ubrizgano u HPLC-UV sistem za analizu. Kao rastvarač za rekonstituciju korišćen je metanol LC-MS čistoće.

**Tabela 10.** Plaket-Burman eksperimentalni dizajn za optimizaciju mikroekstrakcije

R. br.	Disp	V <sub>disp</sub>	V <sub>ekstr</sub>	NaCl	pH	S	t <sub>ekstr</sub>	T	r <sub>centr</sub>	t <sub>centr</sub>
1	ACN	600	900	10	11	US	5	45	2000	10
2	MeOH	600	900	0	3	US	5	45	8000	2
3	MeOH	600	900	10	3	Vor	1	25	2000	10
4	ACN	600	150	10	11	Vor	1	45	8000	2
5	MeOH	2400	150	10	11	US	5	25	2000	2
6	ACN	2400	150	0	3	Vor	5	45	2000	10
7	MeOH	2400	900	0	11	Vor	1	45	2000	2
8	MeOH	2400	150	10	3	US	1	45	8000	10
9	MeOH	600	150	0	11	Vor	5	25	8000	10
10	ACN	2400	900	10	3	Vor	5	25	8000	2
11	ACN	600	150	0	3	US	1	25	2000	2
12	ACN	2400	900	0	11	US	1	25	8000	10

Disp- Tip disperzivnog rastvarača, ACN- Acetonitril; MeOH- Metanol; V<sub>disp</sub>- Zapremina disperzionog rastvarača; V<sub>ekst</sub>- Zapremina ekstraktanta; NaCl- Sadržaj soli; pH- pH vrednost uzorka; S- Način homogenizacije; US- Ultrazvuk; Vor- Vortex; t<sub>ekst</sub>- Trajanje ekstrakcije; T- Temperatura uzorka; r<sub>centr</sub>- Broj obrtaja; t<sub>centr</sub>- Trajanje centrifugiranja;

Kako bi se izračunali prinosi, u uzorke kozmetičkih proizvoda koje ne sadrže analizirani UV filter dodata je poznata koncentracija analita. Uzorak u koji je dodata poznata koncentracija UV filtera pripremljen je na isti način kao ostali uzorci. U cilju sprečavanja degradacije UV filtera tokom eksperimenata korišćeno je tamno staklo.

Dobijeni rezultati su analizirani pomoću analize varijanse (ANOVA), a statistička značajnost je određena pomoću F-testa. Tri faktora sa najvećim uticajem na efikasnost DLLME procesa optimizovana su primenom Boks-Behnken dizajna koji se najčešće koristi prilikom RSM metode Shrivastava i Daharwal, 2022; Moussa et al., 2021).

### 2.5.2. Optimizacija procedure za pripremu uzoraka vode

Ekstrakcija na čvrstoj fazi odabrana je kao najpogodnija tehnika za pripremu vodenih uzoraka Savskog jezera. Obzirom da je cilj bila istovremena analiza 11 UV filtera, pripremi uzoraka

prethodila je optimizacija faktora koji utiču na efikasnost procesa ekstrakcije. Optimizovani su sledeći parametri: pH vrednost uzorka, zapremina eluenta ( $V_e$ ), vrsta eluenta (Eluent), zapremina uzorka ( $V_u$ ), udeo metanola u rastvoru za ispiranje (%MeOH) i zapremina rastvora za ispiranje ( $V_i$ ). Nivoi koji definišu vrednost faktora prikazani su u tabeli 11.

**Tabela 11.** Eksperimentalni domen za optimizaciju pripreme vodenih uzoraka

Faktor	Jedinica	Nivo		
		-1	0	1
pH		2	5	8
$V_e$	mL	5	10	15
Eluent		CH <sub>3</sub> OH	CH <sub>3</sub> CN	EtOAc
$V_u$	mL	50	100	150
%MeOH	%	0	5	10
$V_i$	mL	5	10	15

gde su: CH<sub>3</sub>OH- Metanol, CH<sub>3</sub>CN- Acetonitril, EtOAc- Etil Acetat,  $V_e$ - Zapremina eluenta,  $V_u$ - Zapremina uzorka,  $V_i$ - Zapremina rastvora za ispiranje

Kako bi se odredili najznajčajni faktori primenjen je Plaket-Buranov dizajn. U tabeli 12 dat je prikaz Plaket-Burmanovog dizajna za optimizaciju ekstrakcije na čvrstoj fazi, sa realnim vrednostima.

**Tabela 12.** Plaket-Burman dizajn, realne vrednosti

R. br.	pH	$V_e$ , mL	Eluent	$V_u$ , mL	% CH <sub>3</sub> OH, %	$V_i$ , mL
1	2	5	CH <sub>3</sub> OH	50	0	5
2	2	15	CH <sub>3</sub> OH	50	0	15
3	2	5	CH <sub>3</sub> OH	150	10	15
4	8	5	EtOAc	50	0	5
5	5	10	CH <sub>3</sub> CN	100	5	10
6	5	10	CH <sub>3</sub> CN	100	5	10
7	2	15	EtOAc	150	0	15
8	8	5	CH <sub>3</sub> OH	50	10	15
9	8	15	EtOAc	50	10	15
10	2	5	EtOAc	150	10	5
11	8	15	CH <sub>3</sub> OH	150	0	5
12	8	15	CH <sub>3</sub> OH	150	10	5
13	8	5	EtOAc	150	0	15
14	2	15	EtOAc	50	10	5
15	5	10	CH <sub>3</sub> CN	100	5	10

Vodeni uzorci korišćeni tokom optimizacije dobijeni su razblaživanjem standarda pojedinačnih UV filtera. Krajnja koncentracija UV filtera u uzorcima iznosila je 1,0 µg/L svakog pojedinačnog analita. Uticaj pH vrednosti uzorka vode ispitan je u opsegu od 2–8, a pH vrednost uzoraka podešavana je dodatkom rastvora hlorovodonične kiseline koncentracije 0,1 M ili dodatkom rastvora natrijum hidroksida iste koncentracije. Nakon podešavanja odgovarajuće pH vrednosti sledi kondicioniranje Oasis HLB kertridža propuštanjem 5 mL eluenta i 5 mL dejonizovane vode odgovarajuće pH vrednosti. Ekstrakcija na čvrstoj fazi odvijala se pri protoku od oko 1 mL/min. Nakon nanošenja celokupne zapremine uzorka usledilo je ispiranje smešom vode i metanola kako bi se uklonile zaostale nečistoće na adsorbentu. Sušenje je izvođeno pod vakuumom u trajanju od 10 min. Eluiranje je vršeno odgovarajućom vrstom i zapreminom eluenta na osnovu tabele 9. Dobijeni ekstrakti uparavani su pod strujom azota, a zatim rekonstituisani u 0,5 mL metanola. Svi pripremljeni uzorci su profiltrirani kroz PTFE filtere (veličina pora 0,22 µm) pre LC-MS analize.

Obzirom da je podjednako važna analiza svih 11 UV filtera odnosno njihova maksimalna efikasnost ekstrakcije u fazi pripreme vodenih uzoraka uzet je u obzir zbirni odgovor. Primenom Deringerove funkcije poželjnosti (engl. *Derringer's desirability function*) svi odgovori sistema transformisani su u jedan zbirni odgovor kako bi se dobio njegov maksimum.

U ovom slučaju nije pretpostavljena razlika u važnosti za pojedinačne odgovore tako da su D vrednosti izračunate smatrajući sve pojedinačne odgovore podjednako važnim. Dakle, vrednosti za  $d_i$  su maksimizirane i kretale su se od 0 do 1, dok su vrednosti pojedinačnih koeficijenata  $r_i$  bile fiksne ( $r_i = 1$ ).

## 2.6. Procena zdravstvenog rizika usled prisustva UV filtera u kozmetičkim proizvodima

Procena zdravstvenog rizika usled prisustva UV filtera u kozmetičkim proizvodima izvršena je prema Uputstvu za analizu sastojaka kozmetičkih proizvoda i ocenu njihove bezbednosti (SCCS/1628/21, 2021), a zasniva se na proceni granice bezbednosti. Granice bezbednosti (MoS) za svaki analit određivane su poređenjem izračunatih SED vrednosti sa maksimalnom dozom UV filtera koja ne izaziva neželjeni efekat (NOAEL) (jednačina 3). Zdravstveni rizik se na ovaj način procenjuje poređenjem pojedinačnih vrednosti MoS za svaki analit sa propisanom graničnom vrednosti propisanom od strane SCCS.

Primenom Monte Karlo simulacije za procenu zdravstvenog rizika dobija se preciznija procena rizika u odnosu na prethodni pristup. Monte Karlo simulacijom se umesto pojedinačnih vrednosti granica bezbednosti dobija raspodela verovatnoća ukupnih MoS vrednosti za sva četiri analita. Nakon određivanja pojedinačnih i ukupnih MoS vrednosti za pojedinačne analite, u cilju određivanja najznačajnijih faktora koji utiču na zdravstveni rizik i mere nesigurnosti urađena je kvantitativna analiza osetljivosti

## 2.7. Procena zdravstvenog rizika usled prisustva UV filtera u Savskom jezeru

Procena zdravstvenog rizika izvršena je na dva načina, primenom determinističkog pristupa i Monte Karlo simulacijom (Ghaderpoori et al., 2020; Tokumura et al., 2020; Li et al., 2021; Nečasová et al., 2017; Garcia-Hidalgo et al., 2018). Deterministički pristup podrazumeva poređenje izmerenih koncentracija sa PNEC vrednostima za pojedinačni analit. PNEC vrednosti

korišćene prilikom procene zdravstvenog rizika determinističkim pristupom prikazane su u tabeli 13.

**Tabela 13.** PNEC vrednosti organskih UV filtera

UV filter	PNEC (µg/L)	Referenca
IAMC	0,69	Norman
OD-PABA	0,3	
BP-4	380	(Carve et al., 2021)
BP-1	0,28	
4-MBC	2,0	
OC	3,18	
4-HB	9,99	
EHMC	0,4	
AVO	1,95	
HMS	400	
BP-3	73,3	(Jung et al., 2021)

Vrednosti parametara izloženosti korišćene za procenu zdravstvenog rizika primenom Monte Karlo simulacije prikazane su u tabeli 14.

**Tabela 14.** Parametri izloženosti korišćeni za procenu rizika Monte Karlo simulacijom (EPA)

Naziv	Parametar		Odrasla osoba <sup>1</sup>	Dete (11-14 godina)
	Jedinica	Oznaka		
Unos vode ingestijom	(l/h)	IR	0,025	0,05
Period izloženosti	(dogadjaj/god)	SF	120	120
Učestalost izloženosti	(h/dogadjaj)	ST	1,3	1,7
Prosečna telesna masa	(kg)	BW	71,75	48,2
Površina kože izložena UV filterima	(cm <sup>2</sup> )	SA	18150	14200
Trajanje izloženosti	(dan/god)	AT	365	365
Biodostupnost	/	BI	100%	100%

<sup>1</sup>- Srednja vrednost parametara za odraslog muškarca i odraslu ženu

Pojedini faktori izloženosti poput učestalosti plivanja, trajanje plivanja, površina kože i telesna masa prate različite oblike raspodele. Period i učestalost izloženosti su parametri sa trougaonom raspodelom, prosečna telesna masa ima log-normalnu raspodelu kao i sve koncentracije analita osim BP4. Ovaj analit najbolje slaganje pokazuje sa Vejbulovom krivom (eng. Weibull curve).

Parametri neophodni za izračunavanje zdravstvenog rizika usled apsorpcije UV filtera dermalnim putem prikazani su u tabeli 15.

**Tabela 15.** Parametri za izračunavanje zdravstvenog rizika usled apsorpcije UV filtera dermalnim putem (EPA)

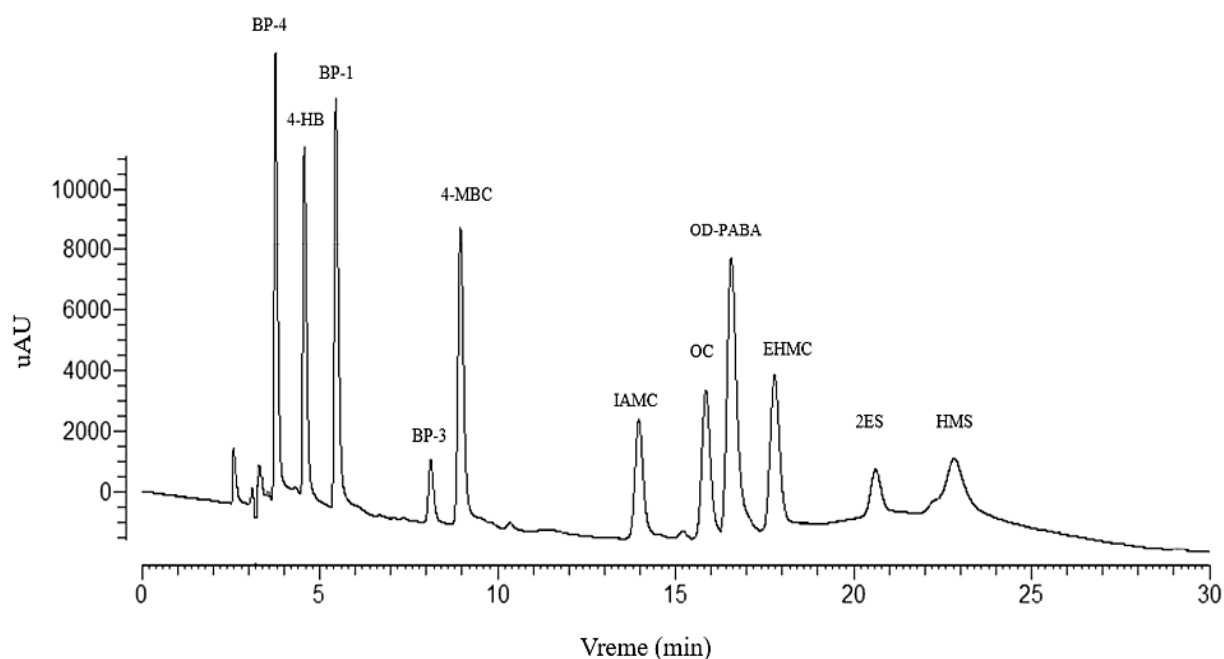
Parametar	Skraćenica	Jednačine
Koeficijent permeabilnosti (cm/h)	$K_p$	
Koeficijent oktanol/voda	$K_{ow}$	$\log K_p = -2,80 + 0,66 \log K_{ow} - 0,0056 \cdot MW$
Molekulska masa (g/mol)	MW	
Bezdimenziona veličina	$B^a$	$B = K_p \sqrt{(MW/2,6)}$
Efektivni koeficijent difuzije kroz rožnati sloj (cm <sup>2</sup> /h)	$D_{sc}$	$\log (D_{sc}/I_{sc}) = -2,80 - 0,0056 MW$
Debljina rožnatog sloja (cm)	$I_{sc}$	$I_{sc} = 0,01 \text{ cm}$
Vreme odlaganja (h)	$\tau^b$	$\tau = I_{sc}^2 / (6D_{sc}) = 0,105 \cdot 10^{(0,0056 MW)}$

### 3. REZULTATI I DISKUSIJA

#### 3.1. Razvoj analitičke metode za određivanje UV filtera u kozmetičkim proizvodima

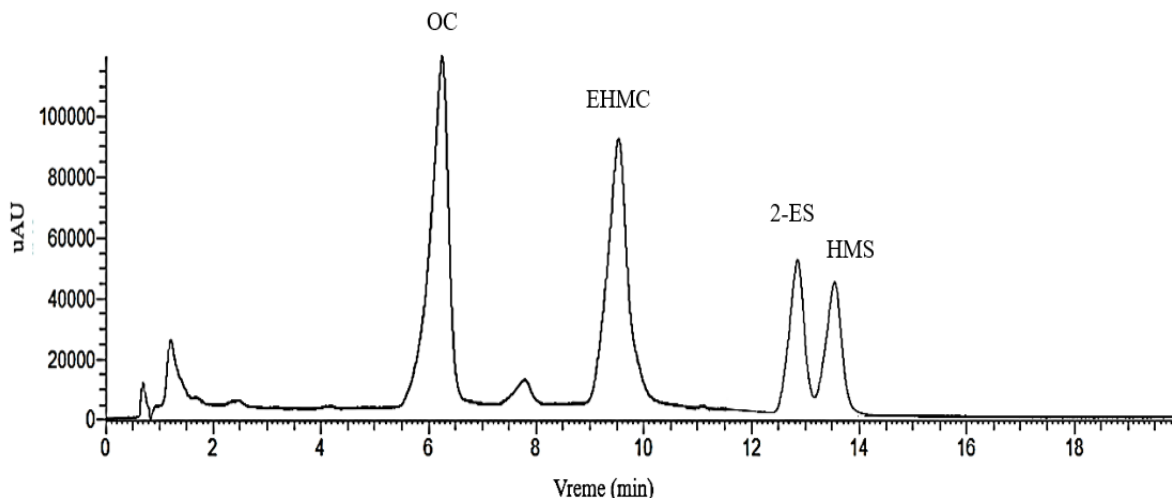
##### 3.1.1. Optimizacija hromatografskog razdvajanja

Za određivanje koncentracije UV filtera u kozmetičkim proizvodima korišćena je HPLC-DAD metoda. Analizom hromatograma dobijenih primenom različitih sastava mobilne faze utvrđeno je da se najbolje hromatografsko razdvajanje analita postiže pri sastavu mobilne faze 70% metanola i 30% dejonizovane vode, sa pH-vrednošću 4,5. Na slici 15 dat je hromatogram dobijen snimanjem smeše standardnih rastvora UV filtera koncentracije 10 mg/L. Protok mobilne faze bio je 1 mL/min.



**Slika 15.** Hromatografsko razdvajanje UV filtera pri sastavu mobilne faze 70% metanola i 30% vode

Obzirom da su uzorci kozmetičkih sredstava za analizu UV filtera sadržali kombinaciju maksimalno četiri analita (OC, EHMC, 2ES i HMS) optimizovano je i hromatografsko razdvajanje samo ovih analita kako bi se smanjilo vreme trajanja metode i utrošak rastvarača koji ulaze u sastav mobilne faze. Optimalno razdvajanje OC, EHMC, 2ES i HMS postignuto je sastavom mobilne faze koju čini 80% metanola i 20% dejonizovane vode (pH-vrednost mobilne faze bila je 4,5). Hromatogram standarda UV filtera dobijen pri navedenom sastavu mobilne faze prikazan je na slici 16.



**Slika 16.** Hromatogram smeše četiri UV filtera prisutna u kozmetičkim proizvodima pri sastavu mobilne faze koju je činilo 80% metanola i 20% dejonizovane vode (pH=4,5)

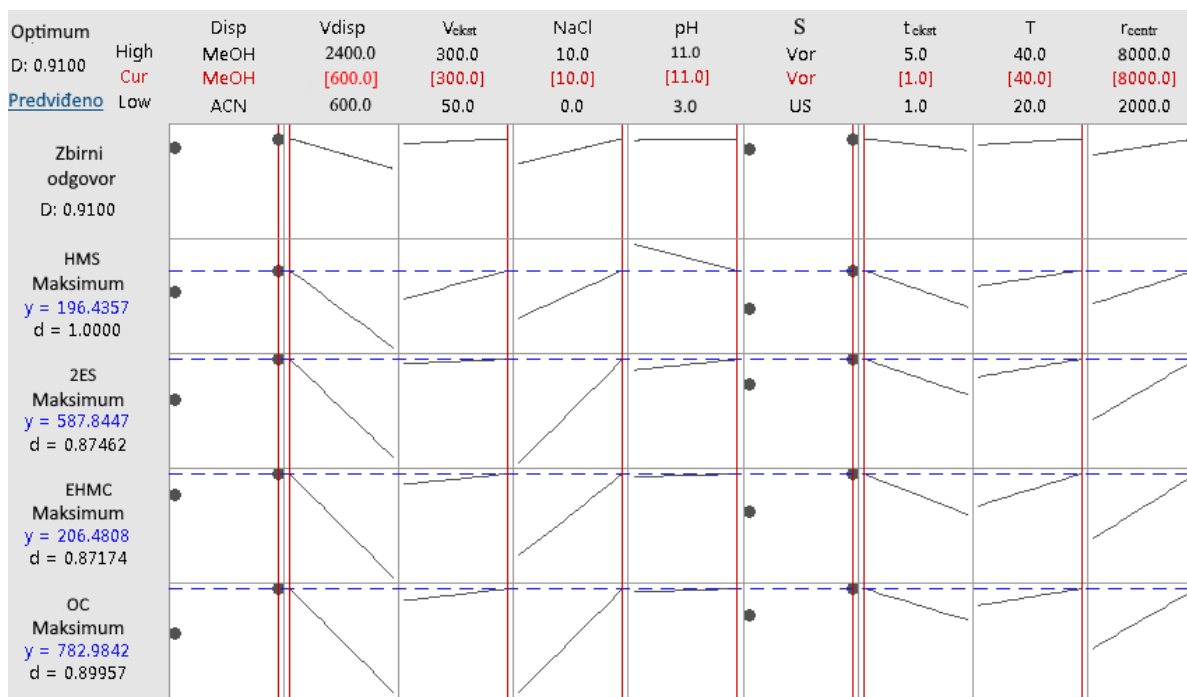
Promena sastava mobilne faze odnosno povećanje udela organskog rastvarača u mobilnoj fazi doprinelo je smanjenju retencionog vremena svakog od analita, a samim tim i smanjilo vreme trajanja metode.

### 3.1.2. Optimizacija metode pripreme uzoraka

U cilju što veće efikasnosti tečno-tečne mikroekstrakcije izvršena je optimizacija metode pripreme uzorka. Nakon 12 eksperimenata definisanih Plaket-Burman eksperimentalnim dizajnom prikazanim u Tabeli 3 u prilogu i analize dobijenih ekstrakata primenom Derindžerove funkcije poželjnosti određeni su parametri sa najvećim uticajem na prinos ekstrakcije. Primenom jednačine 7 izračunat je zbirni odgovor Derindžerove funkcije poželjnosti za četiri UV filtera (OC, HMS, EHMC, 2ES).

$$D = \left( \prod_{i=1}^n d_i^{r_i} \right)^{1/\sum r_i} \quad (7)$$

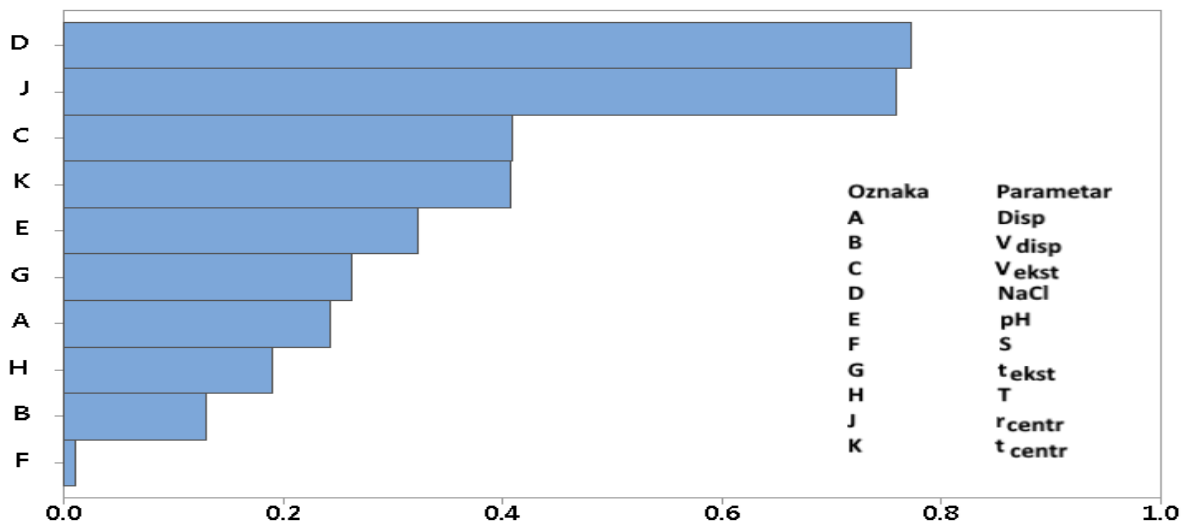
Na slici 17 prikazani su pojedinačni odgovori za svaki UV filter, kao i zbirni odgovor Derindžerove funkcije poželjnosti.



Slika 17. Pojedinačni i zbirni odgovor Derindžerove funkcije poželjnosti za četiri UV filtera

Prinosi tečno-tečne mirkoekstrakcije za sva četiri UV filtera bili su viši kada je kao disperzno sredstvo korišćen metanol. Povećanje zapremine disperznog sredstva nepovoljno je uticalo na efikasnost ekstrakcije, dok je povećanje zapremine ekstrakcionog rastvarača imala povoljan efekat. Dodatak soli je značajno uticao na povećanje prinosa ekstrakcije sva četiri analita.

Značajnost efekta svakog pojedinačnog parametra određena je primenom Pareto dijagrama koji je prikazan na slici 18.



Slika 18. Pareto dijagram - Prikaz uticaja pojedinačnih parametara na efikasnost ekstrakcije

Na osnovu prikazanog dijagrama može se zaključiti da je način mešanja prilikom ekstrakcije parametar koji ima najmanji uticaj na krajnji rezultat pripreme uzorka. Dodatak soli i broj obrtaja prilikom centrifugiranja izdvojili su se kao najznačajniji, odnosno promena vrednosti ovih parametara ima najveći uticaj na efikasnost ekstrakcije sva četiri UV filtera.

Matematičkim modelom opisan je odnos između parametara (nezavisno promenljivih) i odgovora (zavisno promenljivih). U tu svrhu primenjena je analiza varijanse (ANOVA test). Procena rezultata primenom ANOVA testa podrazumeva ispitivanje rasipanja (dispersije) rezultata. Značaj parametara je predstavljen F-vrednostima i p-vrednostima. Promenljive sa višim F-vrednostima i nižim p -vrednostima predstavljaju parametre sa većim uticajem na proces tačno-tečne mikroekstrakcije. Rezultati analize varijanse su sumirani u tabeli 16.

**Tabela 16.** Rezultati analize varijanse

Izvor varijacije	Stepen slobode	Zbir kvadrata, SS	Sredina zbira kvadrata, MS	F-vrednost	p-vrednost
Model	10	0,7789	0,0779	13,1	0,098
Disp	1	0,0192	0,0192	3,2	0,089
$V_{\text{disp}}$	1	0,2682	0,2682	45,3	0,032
$V_{\text{ekstr}}$	1	0,0110	0,0110	2,1	0,091
NaCl	1	0,1560	0,1560	26,5	0,039
pH	1	0,0028	0,0028	1,6	0,095
S	1	0,0387	0,0387	7,4	0,084
$t_{\text{ekstr}}$	1	0,0445	0,0445	8,7	0,083
T	1	0,0171	0,0171	3,5	0,089
$r_{\text{centr}}$	1	0,0871	0,0871	15,2	0,077
$t_{\text{centr}}$	1	0,1342	0,1342	23,4	0,042
Greška	1	0,5896	0,5896		
Zbir	11	1,3685			

Na osnovu rezultata prikazanih u tabeli, uticaj pH-vrednosti (F-vrednost = 1,6; p-vrednost = 0,095), temperature (F-vrednost = 3,5; p-vrednost = 0,089) i vreme ekstrakcije (F-vrednost = 8,7; p -vrednost = 0,083) na efikasnost ekstrakcije mnogo manji od uticaja koji imaju zapremina ekstraktanta (F-vrednost = 45,3; p-vrednost = 0,032), dodatak NaCl (F-vrednost = 26,5; p-vrednost = 0,039) i vreme centrifugiranja (F-vrednost) = 23,4; p-vrednost = 0,032). Shodno tome, uticaj varijabli se može rangirati prema sledećem rastućem redosledu: pH <  $V_{\text{ekstr}}$  < T < Disp < S <  $t_{\text{ekstr}}$  <  $r_{\text{centr}}$  <  $t_{\text{centr}}$  < NaCl <  $V_{\text{disp}}$ .

Promene pH-vrednosti izazvale su najmanji efekat na proces mikroekstrakcije, što se pripisuje nepolarnoj prirodi proučavanih UV filtera. Naime, ove supstance imaju visoke koeficijente raspodele oktanol/voda što ukazuje na afinitet ovih jedinjenja ka organskoj fazi. Kao rezultat toga, manje interakcije vodonika i hidrosilnih jona sa UV filterima su prisutne u sistemu pa se efekat promene pH-vrednosti može zanemariti. Varijacije u zapremini rastvarača za ekstrakciju ( $V_{\text{ekstr}}$ ), temperaturi (T), tipu disperznog sredstva (Disp) i mešanju (S), vremenu ekstrakcije ( $t_{\text{ekstr}}$ ) i brzini centrifugiranja ( $r_{\text{centr}}$ ) izazvale su neznatne promene u prinosu tačno-tečne mikroekstrakcije.

Analiza varijanse izdvojila je zapreminu disperznog sredstva ( $V_{\text{disp}}$ ) kao značajnu promenljivu. Na osnovu rezultata dobijenih primenom Derindžerove funkcije poželjnosti i analize varijanse promenljive  $V_{\text{disp}}$ , NaCl i  $r_{\text{centr}}$  korišćene kao ulazni podaci za drugi korak optimizacije u kojem je primenjen Boks-Behnken dizajn (BBD). Eksperimentalni podaci korišćeni za optimizaciju primenom Boks-Behnken dizajna prikazani su u tabeli 17.

**Tabela 17.** Boks-Behnken dizajn, realne vrednosti

Faktor	Jedinica	Nivo -1		Nivo +1
Disp	-	MeOH		
$V_{\text{disp}}$	$\mu\text{L}$	50	200	350
$V_{\text{ekstr}}$	$\mu\text{L}$	300		
NaCl	%	5	10	15
pH	-	7		
S	-	Vor		
tekstr	min	1		
T	$^{\circ}\text{C}$	40		
$r_{\text{centr}}$	rpm	4000	6000	8000
$t_{\text{centr}}$	min	5		

Disp- Tip disperzivnog rastvarača, ACN- Acetonitrile; MeOH- metanol;  
 $V_{\text{disp}}$ - Zapremina disperzionog rastvarača;  $V_{\text{ekst}}$ - Zapremina ekstraktanta;  
 NaCl- Sadržaj soli; pH- pH vrednost uzorka; S- Način homogenizacije;  
 US- Ultrazvuk; Vor- Vortex;  $t_{\text{ekst}}$ - Trajanje ekstrakcije; T- Temperatura uzorka;  $r_{\text{centr}}$ - Broj obrtaja;  $t_{\text{centr}}$ - Trajanje centrifugiranja;

Promenljive  $V_{\text{disp}}$ , NaCl i  $r_{\text{centr}}$  varirane su prema navedenom dizajnu u opsezima:  $V_{\text{disp}} = 50\text{--}350 \mu\text{L}$ , NaCl = 5–15%, and  $r_{\text{centr}} = 4000\text{--}8000 \text{ rpm}$ . Nakon serije od 15 eksperimenata, rezultati su potvrdili zakonitosti koje su utvrđene prethodnim korakom optimizacije. Efikasnost ekstrakcije se povećala se sa smanjenjem dodate zapremine disperznog sredstva. Dodatak soli poboljšao je efikasnost ekstrakcije zbog efekta isoljavanja koji može uticati na smanjenje rastvorljivosti analita u vodenoj fazi. Radi lakšeg tumačenja dobijenih rezultata za njihovu inetrpretaciju korišćen je metod odgovora površina (engl. response surface methodology - RSM). Eksperimentalni podaci su predstavljeni korišćenjem polinomne jednačine drugog reda:

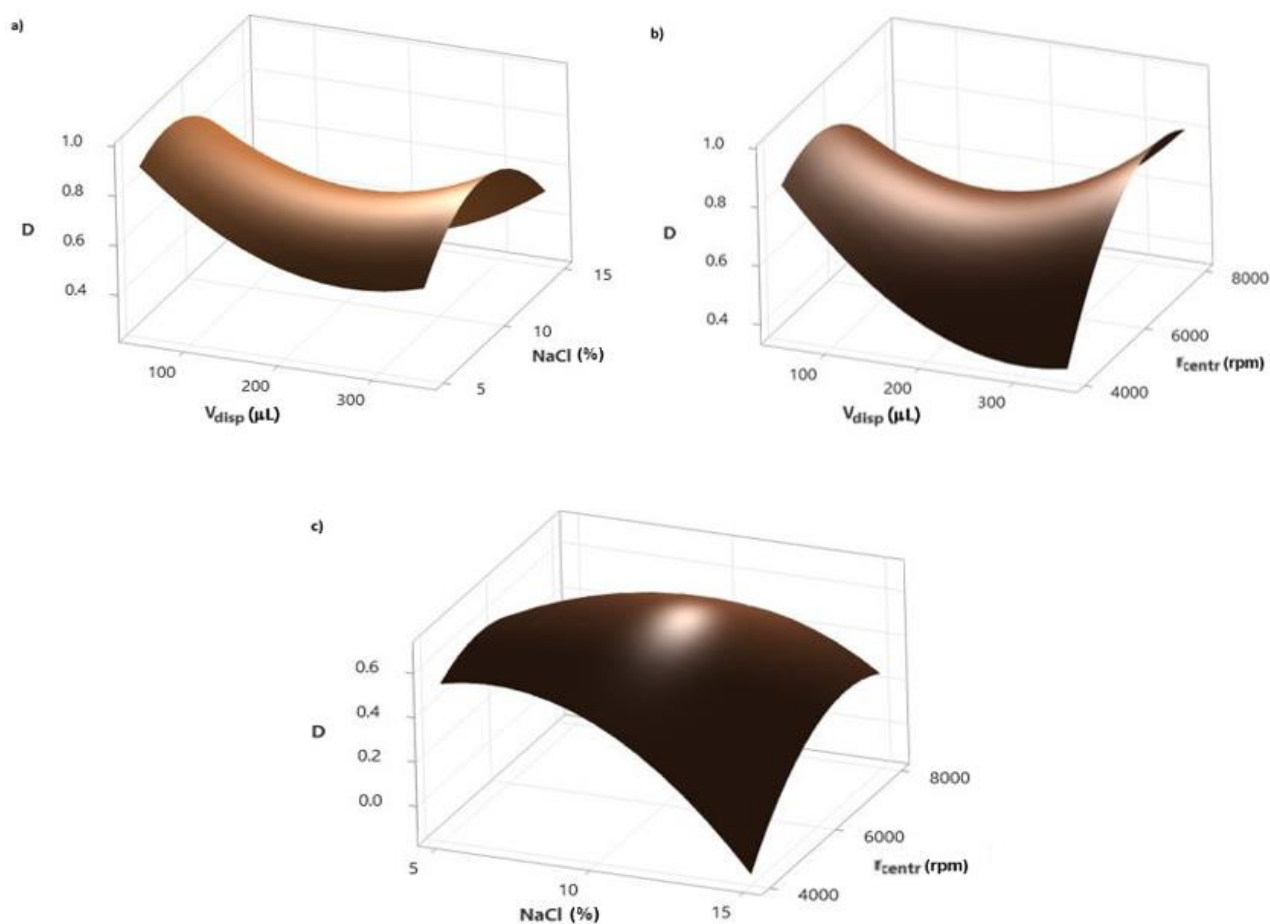
$$D = A_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3X_3 + C_4X_1X_2 + C_5X_1X_3 + C_6X_2X_3 + D_7X_1^2 + D_8X_2^2 + D_9X_3^2 \quad (6)$$

gde  $X_1$ ,  $X_2$  i  $X_3$  označavaju  $V_{\text{disp}}$ , NaCl i  $t_{\text{centr}}$ , respektivno.  $A_0$  je konstanta,  $B_1$ ,  $B_2$  i  $B_3$  su linearni koeficijenti,  $C_4$ ,  $C_5$  i  $C_6$  su koeficijenti interakcije, a  $D_7$ ,  $D_8$  i  $D_9$  su koeficijenti drugog reda. Koeficijenti ( $A_0$  -  $D_9$ ) su procenjeni nelinearnim modelovanjem. U tabeli 18 date su polinomne jednačine drugog reda za svaki od analita.

**Tabela 18.** Polinomne jednačine drugog reda

Analit	Jednačina
HMS	$D_{\text{HMS}} = 434 - 4,89 \cdot V_{\text{disp}} + 29,2 \cdot \text{NaCl} + 0,245 \cdot r_{\text{centr}} + 0,00418 \cdot V_{\text{disp}} \cdot V_{\text{disp}} - 7,02 \cdot \text{NaCl} \cdot \text{NaCl} - 0,000035 \cdot r_{\text{centr}} \cdot r_{\text{centr}} + 0,086 \cdot V_{\text{disp}} \cdot \text{NaCl} + 0,000331 \cdot V_{\text{disp}} \cdot r_{\text{centr}} + 0,01162 \cdot \text{NaCl} \cdot r_{\text{centr}}$
2ES	$D_{2\text{ES}} = 452 - 3,21 \cdot V_{\text{disp}} + 23,5 \cdot \text{NaCl} + 0,039 \cdot r_{\text{centr}} + 0,00247 \cdot V_{\text{disp}} \cdot V_{\text{disp}} - 3,81 \cdot \text{NaCl} \cdot \text{NaCl} - 0,000012 \cdot r_{\text{centr}} \cdot r_{\text{centr}} + 0,0355 \cdot V_{\text{disp}} \cdot \text{NaCl} + 0,000307 \cdot V_{\text{disp}} \cdot r_{\text{centr}} + 0,00565 \cdot \text{NaCl} \cdot r_{\text{centr}}$
EHMC	$D_{\text{EHMC}} = 297 - 3,46 \cdot V_{\text{disp}} - 20,2 \cdot \text{NaCl} + 0,145 \cdot r_{\text{centr}} + 0,00328 \cdot V_{\text{disp}} \cdot V_{\text{disp}} - 1,85 \cdot \text{NaCl} \cdot \text{NaCl} - 0,000020 \cdot r_{\text{centr}} \cdot r_{\text{centr}} + 0,1008 \cdot V_{\text{disp}} \cdot \text{NaCl} + 0,000202 \cdot V_{\text{disp}} \cdot r_{\text{centr}} + 0,00548 \cdot \text{NaCl} \cdot r_{\text{centr}}$
OC	$D_{\text{OC}} = 59 - 0,652 \cdot V_{\text{disp}} + 4,8 \cdot \text{NaCl} + 0,0258 \cdot r_{\text{centr}} + 0,000528 \cdot V_{\text{disp}} \cdot V_{\text{disp}} - 0,872 \cdot \text{NaCl} \cdot \text{NaCl} - 0,000004 \cdot r_{\text{centr}} \cdot r_{\text{centr}} + 0,0108 \cdot V_{\text{disp}} \cdot \text{NaCl} + 0,000049 \cdot V_{\text{disp}} \cdot r_{\text{centr}} + 0,00130 \cdot \text{NaCl} \cdot r_{\text{centr}}$

Veza između promenljivih i odgovora tj. efikasnosti ekstrakcije može se prikazati i grafički (Slika 19).



**Slika 19.** Dijagrami odgovora površina kod disperzivne tečno-tečne mikroekstrakcije: a) efikasnost DLLME u funkciji  $V_{\text{disp}}$  i NaCl; b) efikasnost DLLME u funkciji  $V_{\text{disp}}$  i  $r_{\text{centr}}$ ; c) efikasnost DLLME u funkciji NaCl i  $r_{\text{centr}}$

Na osnovu vrednosti D funkcije i grafičkog prikaza rezultata donet je zaključak da smanjenje zapremine disperznog sredstva povoljno utiče na povećanje efikasnosti ekstrakcije sva četiri UV filtera. Kao optimalna vrednost ovog parametra odabrano je najniža ispitivana zapremina tj. 50  $\mu\text{l}$  disperznog sredstva. Povećanjem količine udela soli u uzorku iznad 10% smanjena je efikasnost ekstrakcije svakog pojedinačnog UV filtera. Na osnovu dobijenih rezultata kao optimalna vrednost udela NaCl odabrana je srednja vrednost (10%). Najbolje razdvajanje faza postignuto je centrifugiranjem uzoraka na 6000 obrtaja po minuti, u trajanju od 5 minuta. U tabeli 19 prikazane su sve krajnje vrednosti promenljivih optimizovane u cilju što bolje efikasnosti DLLME.

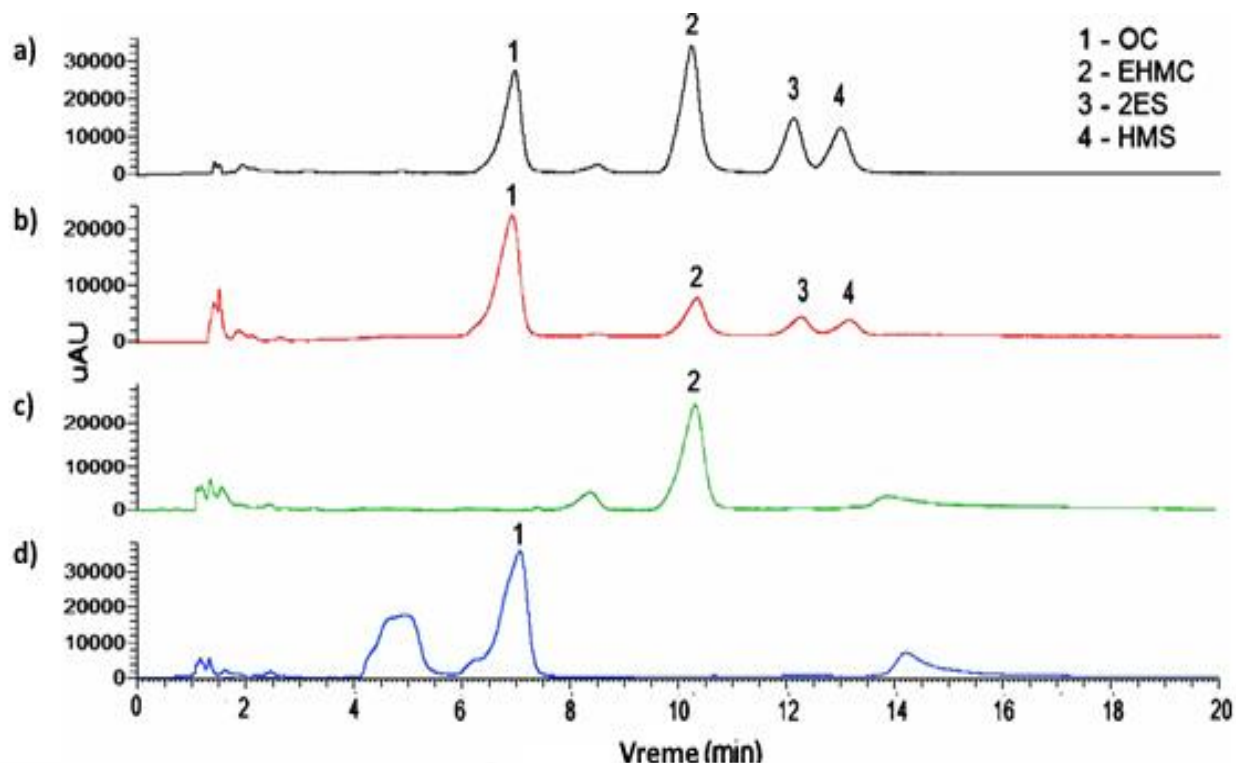
**Tabela 19.** Vrednosti promenljivih nakon optimizacije DLLME

<b>Faktor</b>	<b>Jedinica</b>	<b>Vrednost</b>
Disp	-	MeOH
V <sub>disp</sub>	μL	50
V <sub>ekstr</sub>	μL	300
NaCl	%	10
pH	-	7
S	-	Vor
t <sub>ekstr</sub>	min	1
T	°C	40
f <sub>centr</sub>	rpm	6000
t <sub>centr</sub>	min	5

Disp- Tip disperzivnog rastvarača, V<sub>disp</sub>- Zapremina disperzionog rastvarača; V<sub>ekst</sub>- Zapremina ekstraktanta; NaCl- Sadržaj soli; pH- pH vrednost uzorka; S- Način homogenizacije; t<sub>ekst</sub>- Trajanje ekstrakcije; T- Temperatura uzorka; f<sub>centr</sub>- Broj obrtaja; t<sub>centr</sub>- Trajanje centrifugiranja;

### 3.1.3. Validacija DLLME-HPLC-UV metode

Nakon optimizacije hromatografskog razdvajanja analita i optimizacije pripreme uzoraka izvršena je validacija metode. Validacija metode izvršena je dodatkom standardnih rastvora UV filtera u kozmetički proizvod za zaštitu od sunčevog zračenja koji prema deklaraciji ne sadrži konkretan UV filter. Na slici 20 prikazan je hromatogram standardnog rastvora smeše UV filtera u metanolu koncentracije 10 mg/L, hromatogram ekstrakta uzorka kome je dodata smeša standardnih rastvora UV filtera koncentracije 10 mg/L, kao i hromatogrami ekstrakta uzorka koji ne sadrže EHMC i OC, a kojima su dodati pojedinačni standardni rastvori ovih analita koncentracije 10 mg/L, respektivno.



**Slika 20.** Hromatogrami OC, EHMC, 2ES i HMS koncentracije 10 mg/L: a) standardni rastvor smeše UV filtera u metanolu; b) dodatak smeše standarda u proizvod koji ne sadrži ni jedan od analiziranih UV filtera; c) i d) dodatak standarda EHMC i OC u proizvode koji ne sadrže ovaj UV filter, respektivno

Sa hromatograma se može videti da je postignuto dobro razdvajanje proučavanih UV filtera. U okviru validacije metode određeni su sledeći parametri: opseg linearnosti, retenciono vreme, granica detekcije metode (engl. method detection limit, MDL), presek i nagib kalibracione krive, koeficijent determinacije, prinos i ponovljivost metode (izražena preko relativne standardne devijacije, RSD). Parametri validacije metode prikazani su u tabeli 20:

**Tabela 20.** Parametri validacije HPLC-UV metode

Parametar	Jedinica	OC	EHMC	2ES	HMS
Linearni opseg	%	0,05–22	0,04–20	0,08–17	0,10–15
Retenciono vreme	min	7,01	10,44	12,62	12,90
MDL	%	0,015	0,012	0,024	0,031
Odsečak	(mAU min)	44	-36	78	167
Nagib	(mAU min)	2539	3013	1249	1047
Koeficijent determinacije	-	0,9974	0,9991	0,9962	0,9957
Prinos <sup>1</sup>	%	95	98	90	105
RSD <sup>1</sup>	%	4,6	2,4	6,6	8,0
Prinos <sup>2</sup>	%	96	102	93	94
RSD <sup>2</sup>	%	3,7	3,0	4,5	7,2

<sup>1</sup> – optimizovana metoda

<sup>2</sup> – standardna metoda (SRPS EN 17156:2019)

Kalibracione krive za sva četiri UV filtera konstruisane su na osnovu rezultata analize standardnih rastvora koncentracija od 10 mg/L do 150 mg/L, što odgovara opsegu koncentracija UV filtera očekivanih u kozmetičkim proizvodima. Rezultati prikazani u tabeli 20 ukazuju na dobru linearnost u opsegu od 0,04–22% masenog udela. Koeficijent determinacije bio je u opsegu od 0,9957 do 0,9991. Najniža vrednost koeficijenta determinacije zabeležena je u slučaju HMS i iznosila je 0,9957. Granice detekcije na kreću se u opsegu od 0,01–0,03%, dok se granice kvantifikacije kreću u opsegu od 0,04–0,10% UV filtera u proizvodu za zaštitu od sunčevog zračenja. Relativna standardna devijacija za sve proučavane UV filtere bila je do 8,0% čime je potvrđena dobra ponovljivost optimizovane metode. Istinitost metode izražena je kroz prinos i varirala je u opsegu od 90–105%.

Optimizovana i validirana metoda upoređena je sa standardnom metodom za identifikaciju i kvantitativno određivanje 22 UV filtera u kozmetičkim proizvodima (SRPS EN 17156:2019). Primenom t-testa potvrđena je dobra podudarnost prinosa standardne i razvijene metode, P-vrednosti pojedinačnih UV filtera bile su veće od kritičnog nivoa  $\alpha = 0,05$  što ukazuje da nema statistički značajnih razlika između prinosa standardne i razvijene metode. Relativna standardna devijacija ima vrednosti manje ili jednako 8 za sva četiri ispitana UV filtera, pri čemu između RSD razvijene i RSD standardne metode nema značajnih odstupanja. Standardna metoda (SRPS EN 17156:2019) pokazuje slične ili nešto bolje performanse u odnosu na razvijenu metodu poput manje relativne standardne devijacije za većinu analiziranih UV filtera. Dodatkom malih količine organskih rastvarača se koriste prilikom prečišćavanja uzorka (ukupno 400  $\mu$ L) dobija se izuzetno čist ekstrakt za HPLC analizu. Ovako dobijen ekstrakt značajno je čistiji u odnosu na ekstrakt koji se dobija primenom standardne procedure za pripremu uzorka (SRPS EN 17156:2019). Priprema uzorka primenom DLLME predstavlja ekološki prihvatljiviju metodu u odnosu na pripremu predviđenu standardnom metodom.

### 3.2. Analiza uzoraka kozmetičkih proizvoda

Razvijena DLLME metoda za pripremu uzoraka primenjena je na 23 kozmetička proizvoda za zaštitu od negativnog uticaja sunčevog zračenja. Pripremljeni uzorci analizirani su razvijenom HPLC-UV metodom, a dobijeni rezultati prikazani su u tabeli 21.

**Tabela 21.** Koncentracije UV filtera u kozmetičkim proizvodima

Broj Uzorka	OC, %	EHMC, %	2ES, %	HMS, %
1	5,2	4	3,1	6,2
2	3,3	3,4	n.d.	n.d.
3	3,8	6,2	n.d.	n.d.
4	n.d.	1,4	n.d.	n.d.
5	8,7	19	n.d.	n.d.
6	3,5	6,2	3,7	8,2
7	3	2,3	1,9	3,5
8	4,5	9,6	n.d.	n.d.
9	n.d.	3,4	2,8	8,1
10	n.d.	2,7	1,1	3,4
11	1,7	2	11	n.d.
12	7,4	7,9	1,9	1,7
13	2,7	2,8	4,2	n.d.
14	3,9	5,6	2,2	5,3
15	3,1	3,6	1,7	3,8
16	1,2	2,2	n.d.	n.d.
17	4,4	3,8	n.d.	n.d.
18	2,1	5,2	2,1	3
19	3	10	3,2	4,1
20	11	10	n.d.	6
21	3,8	3,3	n.d.	5,2
22	2,6	n.d.	2	8,3
23	n.d.	2,1	n.d.	6,9

n.d. – nije detektovano

U 8 od ukupno 23 uzorka kozmetičkih proizvoda detektovana su sva 4 analizirana UV filtera. Po 3 UV filtera detektovana su u 7 uzoraka, dok je uzorak broj 4 sadržao samo EHMC. EHMC je najčešće detektovan UV filter u analiziranim kozmetičkim proizvodima, ovaj UV filter nije sadržao samo uzorak broj 22. UV filter 2ES detektovan je u 13 uzoraka i to je najređe detektovan UV filter u analiziranim kozmetičkim proizvodima.

U cilju lakšeg tumačenja rezultata koncentracije UV filtera sumirane su primenom deskriptivne statistike. U tabeli 22 prikazane su srednja (SV), minimalna (Min) i maksimalna vrednost (Maks) koncentracija, kao i relativna standardna devijacija (RSD), simetrija (engl. Skewness, S) i spljoštenost (engl. Kurtosis, K). Simetrija i spljoštenost predstavljaju veličinu koja opisuje oblik distribucije tj. njenu simetriju i „spljoštenost” u odnosu na normalnu distribuciju.

**Tabela 22.** Deskriptivna statistika koncentracija UV filtera u kozmetičkim proizvodima.

UV Filter	SV	RSD	Min	Maks	S	K
OC	4,2	2,4	1,2	11	1,7	2,7
EHMC	5,3	4	1,4	19	5,4	2,1
2ES	3,2	2,1	1,1	11	9,0	2,7
HMS	5,2	1,9	1,7	8,2	-0,96	0,11

SV- Srednja vrednost; RSD- Relativna standardna devijacija; Min- Minimalna vrednost; Maks - Maksimalna vrednost; S- simetrija (engl. Skewness); K- spljoštenost (engl. Kurtosis)

Koncentracije UV filtera u analiziranim kozmetičkim proizvodima kretale su se od 1,1 do 11%. U tri uzoraka izmerene koncentracije OC, EHMC i 2ES bile su iznad maksimalno dozvoljenih koncentracija (10%) propisanih uredbom Evropske Unije 1223/2009 kojom je regulisana upotreba UV filtera u kozmetičkim proizvodima. Najviša vrednost izmerene koncentracije UV filtera u kozmetičkim proizvodima zabeležena je u slučaju EHMC-a (19%). Ovaj UV filter takođe ima i najveći opseg koncentracija (1,4–19%). Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima studije (Chaiyabutr et al., 2021) u kojoj je ispitivano prisustvo UV filtera u preko 5000 uzoraka kozmetičkih preparata. U obe studije EHMC je bio prisutan u najvećem broju uzoraka i u najvišim koncentracijama. Većina uzoraka sadržala je više od jednog UV filtera, a dobijeni rezultati poređeni su sa rezultatima drugih studija (Tabela 22). Maksimalno izmerena koncentracija EHMC (19%) premašuje vrednosti maksimalnih koncentracija ovog analita u drugim studijama. Izmerene koncentracije OC i HMS nalaze se u opsegu koncentracija izmerenih u studijama čiji su rezultati prikazani u tabeli 23.

**Tabela 23.** Poređenje rezultata sa podacima iz literature

R. br.	OC (%)	EHMC (%)	2ES (%)	HMS (%)	Referenca
1	0,51–11,6	2,13–7,8	2,83–5,1	4,89–8,8	(Tovar-Sánchez et al., 2013)
2	1,0–10	2,0–5,0	n.a.	2,5–5,0	(Pawlowski et al., 2021)
3	1,03–9,86	0,11–8,63	0,07–5,26	1,91–9,12	(Manová et al., 2013)
4	1,7	7,0	n.a.	n.a.	(Raslan et al., 2020)
5	1,13–6,75	3,08–8,16	1,78–5,33	n.a.	(Kim et al., 2011)
6	0,8–10	4,7–10	n.a.	n.a.	(De Orsi et al., 2006)
7	1,248–10,36	2,637–4,11	n.a.	3,721–6,118	(Rastogi, 2002)
8	3,338	0,08666	4,3995	9,3142	(Chang et al., 2015)
9	3,28–10,57	0,34–10,0	2,83–5,80	n.a.	(Ding et al., 2018)
10	1,2–11	1,4–19	1,1–11	1,7–8,2	Rezultati disertacije

n.a. – nije analizirano

Na osnovu prikazanih maksimalnih koncentracija četiri organska UV filtera može se zaključiti da koncentracije OC u nekoliko studija premašuju vrednost maksimalno dozvoljene koncentracije od 10%. Orsi i Ding sa saradnicima (2006) u okviru svojih istraživanja izmerili su koncentracije EHMC koje su na granici maksimalno dozvoljene vrednosti (10%). Većina izmerenih koncentracija OC i EHMC bile su u opsegu koncentracija propisanih uredbom Evropske Unije, a koncentracije 2ES i HMS su u prikazanim studijama bile niže od maksimalno dozvoljenih. Rezultati dobijeni istraživanjem u okviru ove doktorske disertacije pokazuju da samo HMS sa maksimalnim udelom od 8,2% ni u jednom uzorku nije imao višu vrednost koncentracije od maksimalno dozvoljene.

### 3.3. Procena zdravstvenog rizika usled prisustva UV filtera u kozmetičkim proizvodima

Primenom kozmetičkih preparata koji sadrže organske UV filtere ljudi ova jedinjenja u ograničanim količinama mogu uneti dermalnim putem, inhalacijom i ingestijom. Doza sistemske izloženosti i granica bezbednosti (MoS) izračunate su na osnovu rezultata analize kozmetičkih preparata i načina njihove primene (načina nanošenja proizvoda na kožu, vremena kontakta između proizvoda i kože, količine nanetog proizvoda na kožu i sl.). Srednje vrednosti doze sistemske izloženosti (SED) računane su prema jednačini (4), gde je za  $E_{pro}$  uzeta vrednost od 123,2 mg/kg tm/dan koja je kao i vrednosti za koncentraciju analita koji se apsorbuje kroz kožu ( $DA_p$ ) uzeta iz Uputstva za analizu sastojaka kozmetičkih proizvoda i ocenu njihove bezbednosti (SCCS/1628/21, 2021).

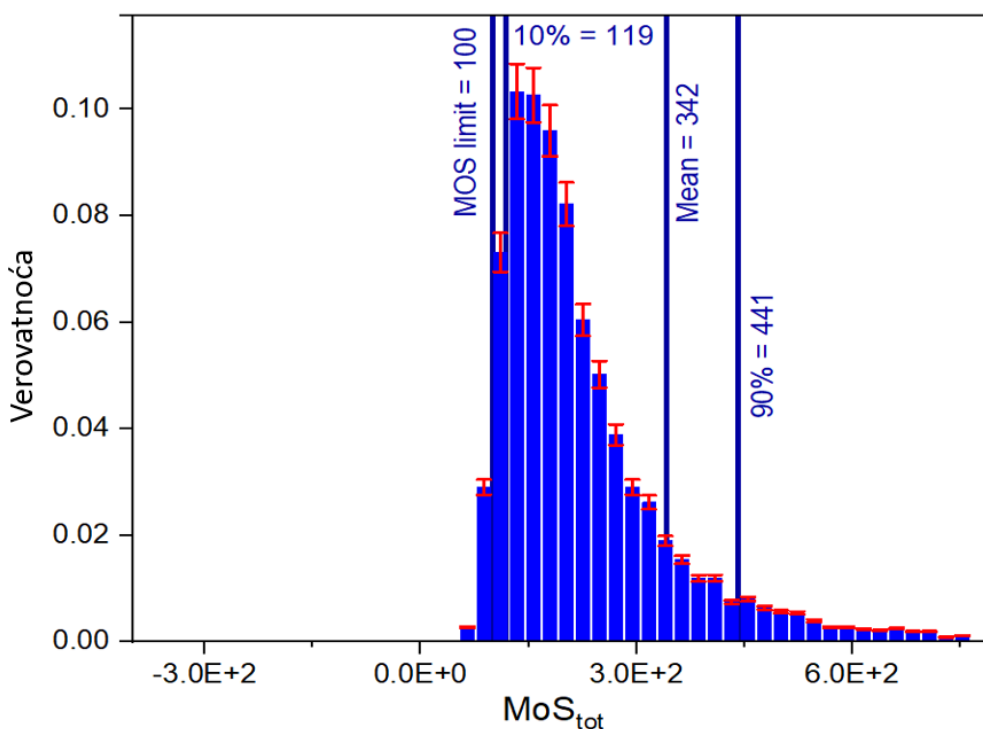
Izračunate prosečne vrednosti doze sistemske izloženosti i granice bezbednosti prikazane su u tabeli 24.

**Tabela 24.** Izračunate vrednosti doze sistemske izloženosti i granice bezbednosti

	OC	EHMC	2ES	HMS
DA <sub>p</sub> (%)	10	10	0,5	2,0
SED (mg/kg tm/dan)	0,52	0,61	0,020	0,079
NOAEL (mg/kg tm/dan)	153	450	250	100
MoS	296	738	1260	3160

DA<sub>p</sub>- Koncentracija analita koja se apsorbuje kroz kožu; SED- sistemska doza izloženosti; NOAEL- makimalna doza UV filtera koja ne izaziva neželjeni efekat; MoS- Granica bezbednosti;

Prosečne vrednosti MoS za pojedinačne UVF kretale su se u opsegu od 296 do 3160 što znači da su značajno veće od granične vrednosti (100) koju preporučuje SCCS. Preciznija procena verovatnoće zdravstvenog rizika dobija se primenom Monte Karlo simulacije, gde se za procenu rizika umesto srednje vrednosti koncentracije analita (jedna tačka), dobijene slučajnim uzorkovanjem, bira neka od koncentracija iz funkcije distribucije, za svaku promenljivu. Na slici 21 prikazana je raspodela verovatnoća ukupnih MoS vrednosti za sva četiri analita.

**Slika 21.** Raspodela verovatnoća ukupnih MoS vrednosti

Srednja vrednost ukupne MoS vrednosti za sva četiri analita iznosi 342, dok su vrednosti za ukuni MoS za 10. i 90. percentil 119 i 441, respektivno. Pojedinačne i ukupna vrednost MoS za sva četiri analita prikazane su u tabeli 25.

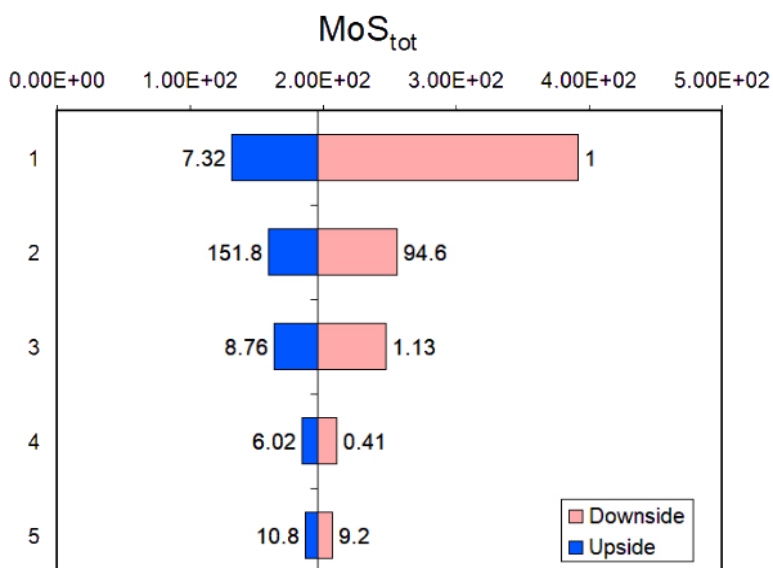
**Tabela 25.** Pojedinačne i ukupna vrednost granice bezbednosti

	MoS <sub>OC</sub>	MoS <sub>EHMC</sub>	MoS <sub>2ES</sub>	MoS <sub>HMS</sub>	MoS <sub>tot</sub>
SV	206	1020	5540	1380	342
90%	796	1850	34900	8690	441
10%	154	345	2550	578	119

MoS<sub>OC</sub>- granica bezbednosti za OC; MoS<sub>EHMC</sub>- granica bezbednosti za EHMC; MoS<sub>2ES</sub>- granica bezbednosti za 2ES; MoS<sub>HMS</sub>- granica bezbednosti za HMS; MoS<sub>tot</sub>- ukupna vrednost granice bezbednosti

Prema preporukama SCCS, minimalna vrednost MoS da bi se proizvod mogao deklarirati kao bezbedan mora iznositi minimum 100. Vrednosti pojedinačnih, kao i ukupne MoS vrednosti značajno su veće od propisane granice bezbednosti. Međutim, procena rizika u slučaju kozmetičkih proizvoda koji sadrže veći broj UV filtera ukazuje na to da 5. percentil izračunatih MoS vrednosti ne prelazi minimalnu granicu bezbednosti. Ovi rezultati ukazuju na zabrinutost usled primene kozmetičkih proizvoda u čiji sastav ulazi veći broj organskih UV filtera, naročito za osobe koje primenjuju različite vrste proizvoda za zaštitu od sunčevog zračenja.

U cilju određivanja najznačajnijih faktora koji utiču na procenjeni zdravstveni rizik kao i nesigurnost ovih rezultata urađena je kvantitativna analiza osetljivosti. Rezultati analize prikazani grafički (slika 22). Grafik prikazuje dobijene rezultate za svaku izlaznu promenljivu, a one su poredane prema uticaju od najvišeg ka najmanjem.



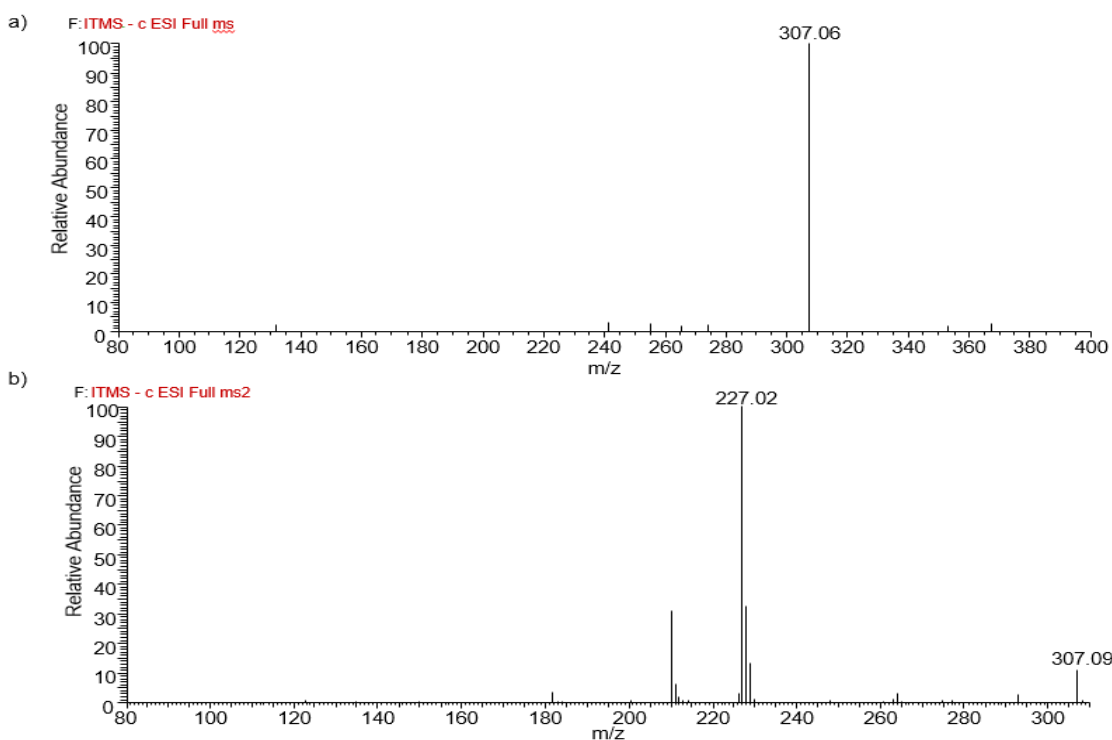
**Slika 22.** Grafički prikaz analize osetljivosti pri proceni zdravstvenog rizika. 1- koncentracija OC, 2-Epro, 3-Koncentracija EHMC, 4-Koncentracija 2ES, 5- DAp vrednost za OC

Duž x-ose ucrtane su MoS vrednosti. Vrednosti levo i desno u odnosu na centar predstavljaju rezultate za 90. i 10. percentil, respektivno. Koncentracija OC u kozmetičkim proizvodima izdvojila se kao najuticajnija promenljiva prilikom procene zdravstvenog rizika usled dermalne izloženosti. Procenjena vrednost dnevne izloženosti  $E_{pro}$  ima manji uticaj u odnosu na koncentraciju OC. Najmanji uticaj od navedenih promenljivih zabeležen je u slučaju dermalne apsorpcije OC. Promenljive prikazane na slici 22 doprinose krajnjem rezultatu procene rizika sa 99,9%.

### 3.4. Razvoj analitičke metode za određivanje UV filtera u vodi

#### 3.4.1. Razvoj LC-MS/MS metode

Optimizaciji hromatografskog razdvajanja analita u cilju LC-MS/MS analize prethodilo je snimanje masenih spektara. Maseni spektri dobijeni su korišćenjem LTQ XL (Thermo Fisher Scientific, Voltam, SAD) masenog spektrometra sa linearnim jonskim trapom, a kao jonizaciona tehnika korišćena je elektronsprej jonizacija. U cilju dobijanja što intenzivnijeg i stabilnijeg prekursor jona maseni spektri snimani su unošenjem standardnih rastvora analita u tok mobilne faze. Dodatak mravlje kiseline u mobilnu fazu koja se sastojala od 70% metanola i 30% dejonizovane vode pozitivno je uticao na proces jonizacije analita. Maseni spektri svih analita osim BP-4 i HMS snimani su u pozitivnom režimu. Na slici 23 prikazani su maseni spektri BP-4 snimani iz rastvora metanola koncentracije 10  $\mu\text{g/L}$ .



**Slika 23.** Maseni spektri BP-4 snimani iz rastvora metanola pri koncentraciji od 10 mg/L:

a) ESI(-)MS; b) ESI(-)MS<sup>2</sup> [M-H]<sup>-</sup>

Maseni spektri ostalih analita prikazani su na slikama datim u prilogu. Na osnovu dobijenih masenih spektara za kvantifikaciju svakog analita odabrana je karakteristična reakcija fragmentacije prekursor jona u najintenzivniji i najstabilniji fragmentni jon, uz optimizovanu kolizionu energiju. Rezultati su prikazani u tabeli 26.

**Tabela 26.** Optimizovani MS/MS parametri

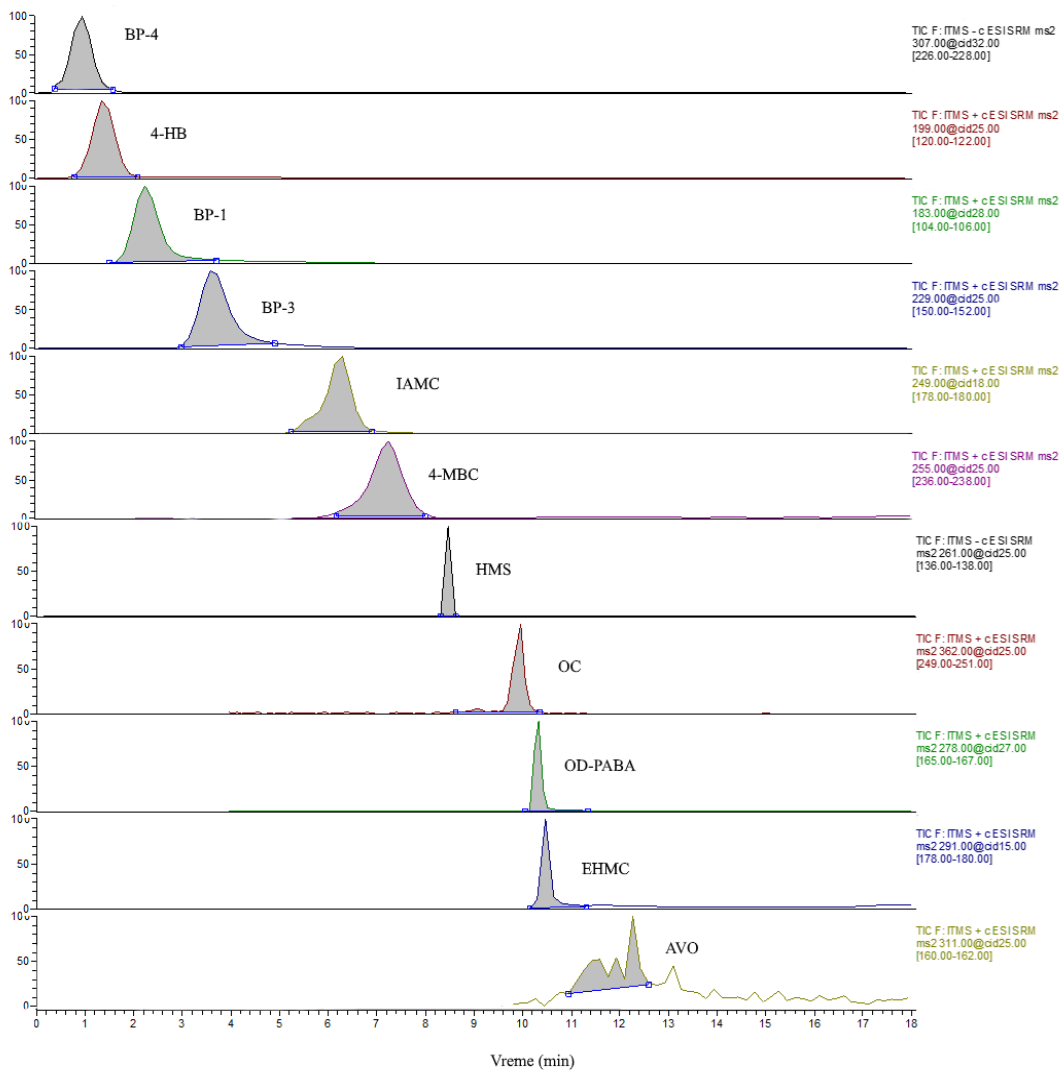
UV filter	Prekursor jon, m/z	Koliziona energija, %	Fragmentni jon, m/z
BP-4	307 [M – H] <sup>-</sup>	30	227
4-HB	199 [M + H] <sup>+</sup>	25	121
BP-1	183 [M + H] <sup>+</sup>	28	105
BP-3	229 [M + H] <sup>+</sup>	25	151
IAMC	249 [M + H] <sup>+</sup>	18	179
4-MBC	255 [M + H] <sup>+</sup>	25	237
HMS	261 [M – H] <sup>-</sup>	25	137
OC	362 [M + H] <sup>+</sup>	25	250
OD-PABA	278 [M + H] <sup>+</sup>	27	166
EHMC	291 [M + H] <sup>+</sup>	15	179
AVO	311 [M + H] <sup>+</sup>	25	161

Hromatografsko razdvajanje odabranih UV filtera izvršeno je na Thermo Fisher Scientific (Thermo Scientific, Waltham, SAD) sistemu koji se sastoji od Dionex Ultimate 3000 tečnog hromatografa opremljenog Accucore™ aQ C18 kolonom (dužine 10 cm, unutrašnjeg prečnika 2,1 mm, veličina čestica 2,6 μm) i LTQ XL masenog spektrometra sa linearnim jonskim trapom. Za optimizaciju hromatografskog razdvajanja korišćeni su različiti protoci i sastavi mobilne faze sačinjene od dejonizovane vode i metanola ili acetonitrila, kao i mravlje kiseline kao aditiva. Optimalno razdvajanje UV filtera ostvareno je primenom kombinacije dejonizovane vode, metanola i mravlje kiseline, a optimalni sastav i protok mobilne faze prikazani su u tabeli 27.

**Tabela 27.** Sastav i protok mobilne faza za hromatografsko razdvajanje UV filtera

Retenciono vreme, min	Protok, mL/min	H <sub>2</sub> O, %	MeOH, %	HCOOH, %
0	0,250	29	70	1
3	0,250	29	70	1
5	0,250	0	99	1
10	0,250	0	99	1
15	0,250	29	70	1
20	0,250	29	70	1

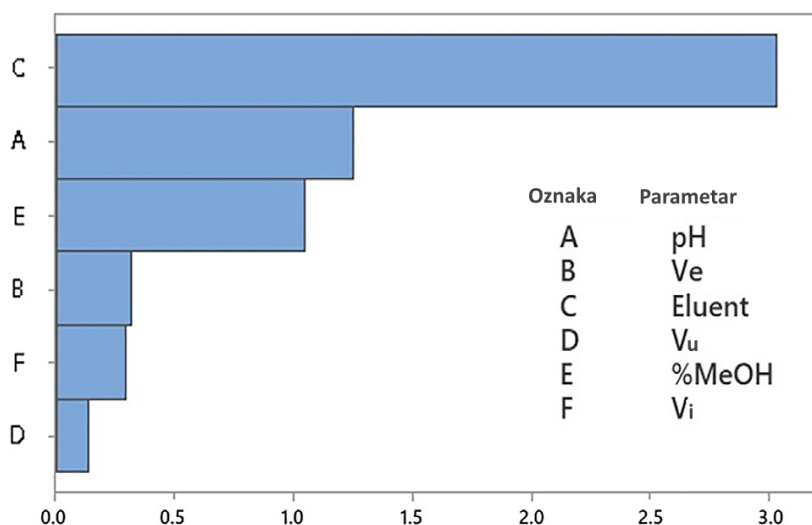
Primenom kolone manjeg prečnika u odnosu na kolonu Phenomenex Kinetex EVO C18 smanjen je protok mobilne faze sa 1 mL/min na 0,250 mL/min, a samim tim i potrošnja rastvarača tokom analize. Uz konstantan protok mobilne faze, sa gradijentom mobilne faze navedenim u tabeli 26 i primenom optimalnih MS/MS parametara dobijen je maseni hromatogram smeše 11 UV filtera (slika 24). Zapremina injektovanih standarda bila je 20  $\mu$ L.



**Slika 24.** Maseni hromatogrami standardnog rastvora smeše odabranih UV filtera u metanolu koncentracije 300  $\mu$ g/L

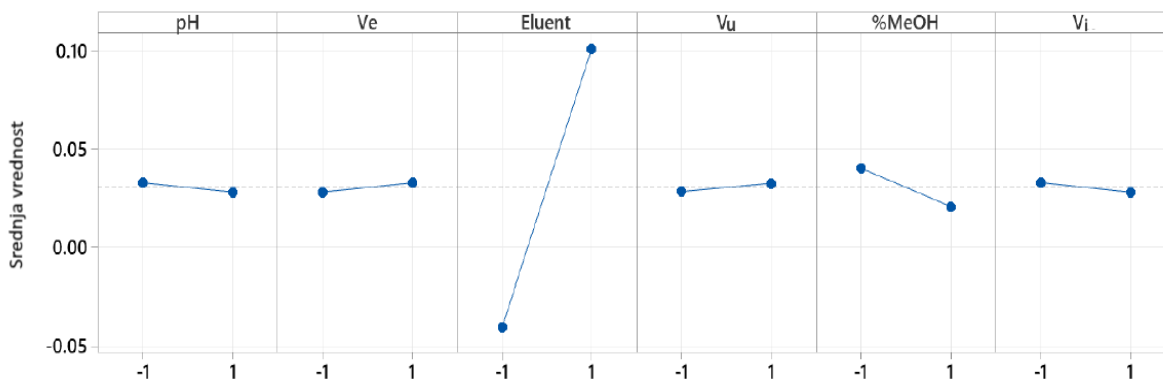
### 3.4.2. Optimizacija metode pripreme uzoraka vode

U prvom koraku optimizacije metode pripreme uzoraka vode optimizovani su: pH vrednost uzorka, zapremina eluenta ( $V_e$ ), vrsta eluenta (Eluent), zapremina uzorka ( $V_u$ ), udeo metanola u rastvoru za ispiranje (%MeOH) i zapremina rastvora za ispiranje ( $V_i$ ). Nakon serije od 15 eksperimenata definisanih Plaket-Burman eksperimentalnim dizajnom rezultati su predstavljeni pomoću Pareto dijagrama (Slika 25) kako bi se utvrdila značajnost pojedinačnih parametara.



**Slika 25.** Pareto dijagram - Prikaz uticaja pojedinačnih parametara na efikasnost SPE

Vrsta rastvarača za eluiranje pokazala se kao najznačajnija za efikasnost ekstrakcije UV filtera iz vodenih uzoraka. pH-vrednost vodenog uzorka i procenat metanola u rastvoru za ispiranje imali su takođe bitan uticaj na efikasnost, dok su se ostali ispitivani parametri pokazali kao manje važni. Na osnovu rezultata konstruisan je dijagram glavnih efekata uticaja ispitivanih parametara (slika 26) koji detaljnije objašnjava njihov uticaj.



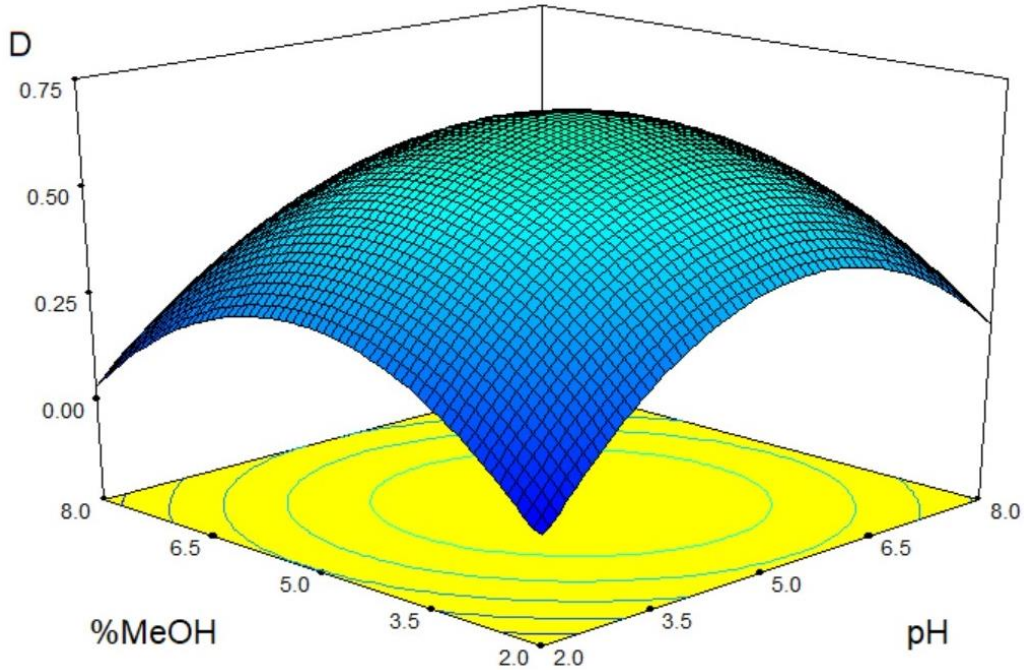
**Slika 26.** Dijagram glavnih efekata uticaja ispitivanih parametara na efikasnost ekstrakcije

Kao što se na dijagramu može videti, povećanje zapremine uzorka i zapremine rastvora za eluiranje pozitivno utiče na porast prinosa ekstrakcije. Iako je na osnovu Pareto dijagrama utvrđeno da navedeni parametri nemaju značajan uticaj na efikasnost, na osnovu dijagrama sa slike 26 može se zaključiti koju vrednost datih parametara treba usvojiti kao optimalnu. Povećanje pH-vrednosti, procenta metanola u rastvoru za ispiranje i zapremine ovog rastvora ima negativan uticaj na prinos ekstrakcije. Najveća razlika u prinosu postignuta je primenom etilacetata kao rastvora za eluiranje u odnosu na metanol. Etil-acetat usvojen je kao optimalna vrsta rastvarača, a dalja optimizacija odnosila se na odabir optimalnog procenta metanola u rastvoru za ispiranje i optimalne pH-vrednosti uzorka. U tabeli 28 prikazani su uslovi definisani centralnim kompozitnim dizajnom.

**Tabela 28.** Uslovi optimizacije prema centralnom kompozitnom dizajnu

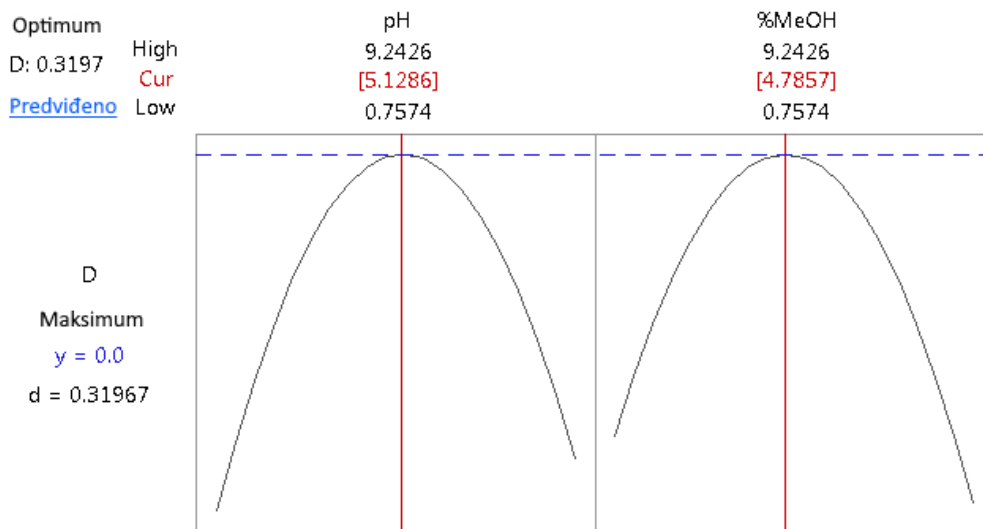
R. br.	pH	%MeOH
1	0.8	5.0
2	5.0	0.8
3	2.0	8.0
4	5.0	5.0
5	5.0	9.2
6	5.0	5.0
7	8.0	2.0
8	2.0	2.0
9	5.0	5.0
10	8.0	8.0
11	9.2	5.0
12	5.0	5.0
13	5.0	5.0

Eksperimenti su rađeni prema centralnom kompozitnom dizajnu jer je ovaj model poželjan ukoliko se optimizuje manji broj promenljivih. Rezultati dobijeni nakon serije od 13 eksperimenata grafički su prikazani dijagramom odgovora površina (slika 27).



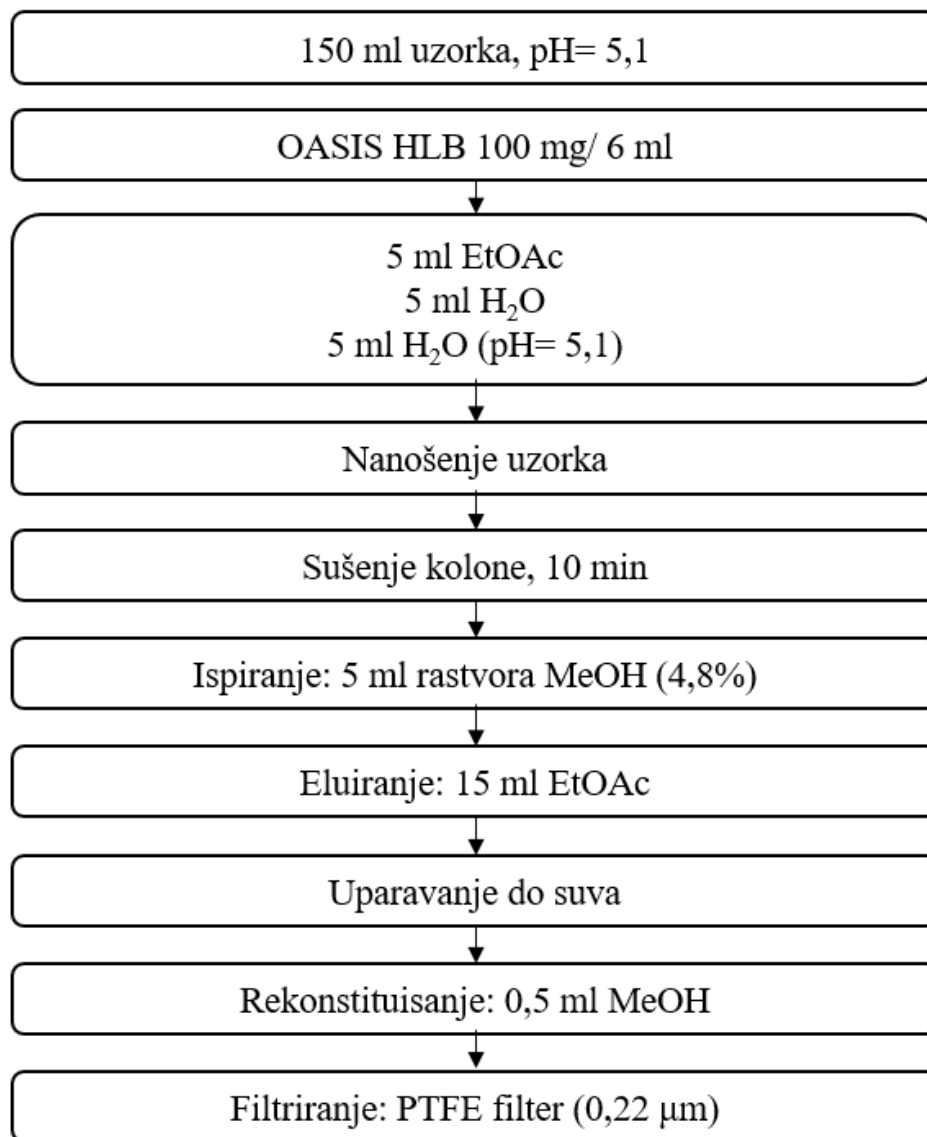
**Slika 27.** Dijagram odgovora površina prinosa UV filtera u funkciji pH-Vrednosti i %MeOH

Sa grafika se može zaključiti da odgovor sistema tj. efikasnost ekstrakcije dostiže svoj maksimum pri uslovima koji su približno jednaki srednjoj vrednosti opsega u kome su parametri varirani. Kako bi se odredila tačna optimalna vrednost za pojedinačne parametre izračunata je i grafički predstavljena Derindžerova funkcija poželjnosti (slika 28). Eksperimentalni podaci su predstavljeni korišćenjem polinomne jednačine drugog reda:



**Slika 28.** Derindžerova funkcija poželjnosti

Na osnovu rezultata prikazanih pomoću Derindžerove funkcije poželjnosti optimalna pH-vrednost uzorka vode iznosi 5,1. Vrednosti bliske krajnje ispitivanim granicama značajno utiču na smanjenje efikasnosti ekstrakcije na čvrstoj fazi. Metanol koji se dodaje rastvoru za ispiranje kertridža nakon nanošenja uzorka ima za cilj uklanjanje matričnih smetnji. Međutim, rezultati CCD optimizacije pokazali su da ukoliko je procenat metanola veći od 5% dolazi do smanjenja efikasnosti ekstrakcije. Ovakav rezultat se može objasniti potencijalnim spiranjem analita sa sorbenta nakon primene rastvora sa višim sadržajem metanola. Optimalna vrednost udela metanola na osnovu rezultata optimizacije iznosi 4,8%. Konačni rezultat optimizacije pripreme uzorka jeste ekstrakcija UV filtera iz 150 mL vodenog uzorka čija je pH-vrednost dodatkom 0,1M HCl podešena na 5,1. Nakon kondicioniranja kertridža i nanošenja uzorka vrši se sušenje kertridža, a zatim ispiranje kertridža 4,8% rastvorom metanola. Eluiranje se izvodi sa 15 mL etil-acetata. Šema optimizovane procedure za pripremu uzoraka vode za LC-MS/MS analizu UV filtera prikazana je na slici 29.



**Slika 29.** Šema optimizovane SPE metode za pripremu uzorka vode

Razvijena i optimizovana metoda analize uzoraka vode validirana je tako što su analizirani uzorci dejonizovane vode u koje su dodati standardni rastvori 11 analita tako da koncentracija svih analita u uzorcima iznosi 1, 10 i 100 mg/L. Eksperimenti su izvedeni analizom 6 proba odnosno sa 6 ponavljanja. Određeni su sledeći parametri validacije metode: granice kvantifikacije (LOQ), linearnost metode, koeficijent determinacije ( $R^2$ ), prinosi analita, ponovljivost metode (izražena preko relativne standardne devijacije, RSD). Prinosi analita određivani su pri koncentraciji od 50 mg/L pojedinačnih UV filtera. Dobijeni rezultati su predstavljeni u tabeli 29.

**Tabela 29.** Parametri validacije metode

UVF	LOQ ( $\mu\text{g/L}$ )	Linearnost ( $b \cdot x$ )	$R^2$	Prinos (%)	RSD (%)
BP-4	0,11	856·x	0.9953	66	9,9
4-HB	1,6	1150·x	0.9964	69	14
BP-1	4,4	558·x	0.9989	81	16
BP-3	0,04	2490·x	0.9975	77	8,7
IAMC	0,03	2500·x	0.9968	69	18
HMS	1,0	1372·x	0.9951	47	19
4-MBC	1,2	1536·x	0.9959	91	7,8
OC	1,7	680·x	0.9980	94	10
OD-PABA	0,01	11806·x	0.9978	86	14
EHMC	1,7	1532·x	0.9993	82	17
AVO	3,6	646·x	0.9986	100	8,8

Prinosi optimizovane metode kretali su se u opsegu od 47% do 100%. Prihvatljive vrednosti prinosa (70-120%) dobijene su za 7 od ukupno 11 analiziranih organskih UV filtera u opsegu koncentracija od 1 do 100  $\mu\text{g/L}$ . Najniži prinos dobijen je u slučaju HMS-a, UV filtera kod kog je zabeležena i najviša vrednost relativne standardne devijacije (19%). Relativna standardna devijacija iznosila je manje od 20% za sve analite, što potvrđuje dobru ponovljivost optimizovane metode. Dobra linearnost metode u ispitivanom opsegu može se potvrditi koeficijentom determinacije koji je u opsegu od 0,9951-0,9993. Granice kvantifikacije iznose od 0,03  $\mu\text{g/L}$  do 4,4  $\mu\text{g/L}$ . Niske vrednosti granica kvantifikacije za sve analite ukazuju na dobru osetljivost razvijene metode.

### 3.5. Analiza realnih uzoraka vode

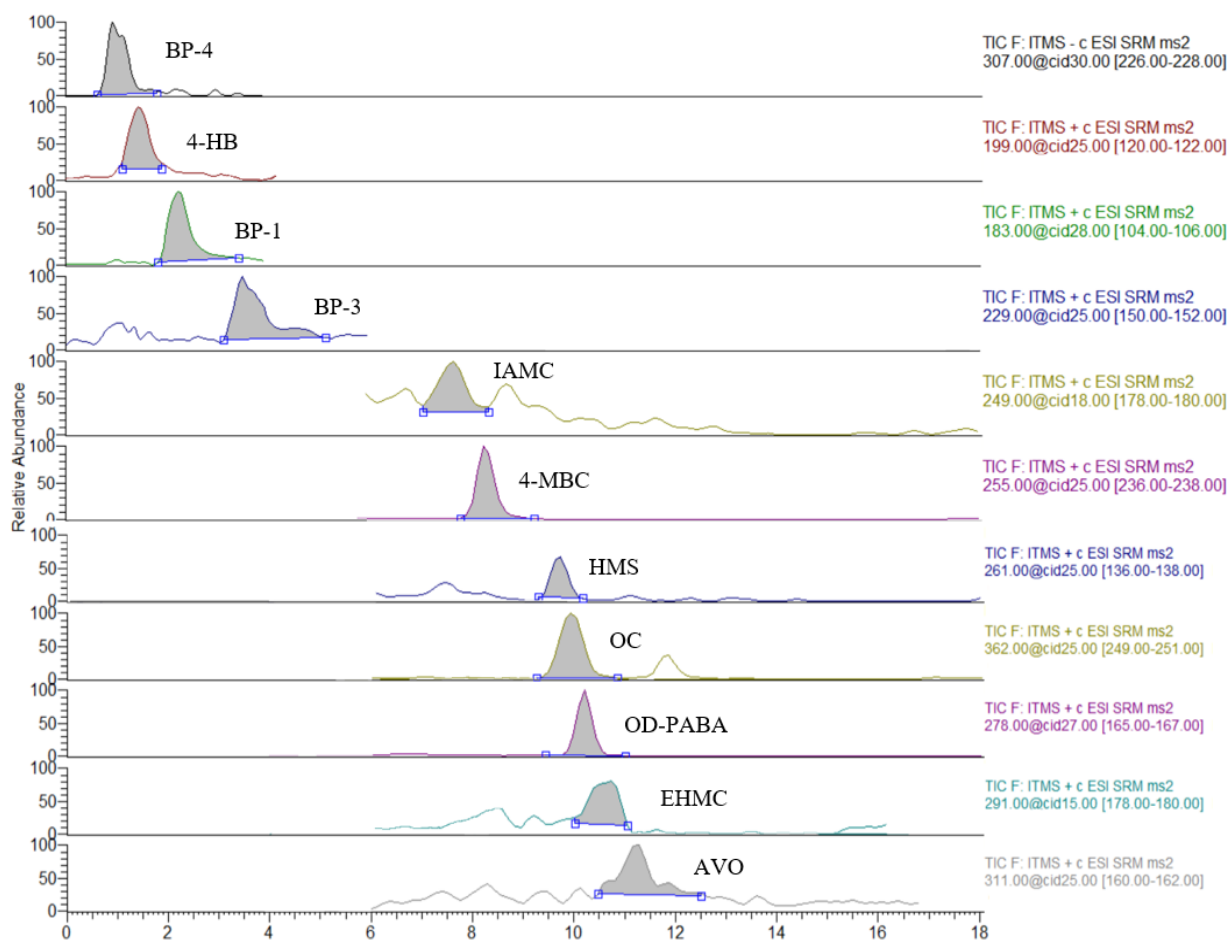
Primenom razvijene metode za analizu UV filtera u uzorcima vode po prvi put analiziran je sadržaj UV filtera u Savskom jezeru. Uzorci su prethodno pripremljeni optimizovanom SPE metodom. Izmerene koncentracije pojedinačnih UV filtera u uzorcima Savskog jezera prikazane su u tabeli 30. Od ukupno jedanaest analiziranih UV filtera, devet je detektovano u svim uzorcima. Prosečne koncentracije OD-PABA i IAMC su značajno niže u odnosu na ostale analizirane UV filtere u Savskom jezeru i iznose 0,4  $\mu\text{g/L}$  i 0,3  $\mu\text{g/L}$ , respektivno.

**Tabela 30.** Koncentracije pojedinačnih UV filtera u Savskom jezeru ( $\mu\text{g/L}$ )

	<b>BP-1</b>	<b>4-HB</b>	<b>BP-3</b>	<b>BP-4</b>	<b>IAMC</b>	<b>HMS</b>	<b>4-MBC</b>	<b>OC</b>	<b>OD-PABA</b>	<b>EHMC</b>	<b>AVO</b>
<b>1</b>	1,9*	5,9	21,8	2,2	0,1	1,4	11,6	10,6	0,4	6,2	5,4
<b>2</b>	2,5*	6,1	23,1	1,8	0,1	1,5	11,4	11,8	0,4	8,4	5,7
<b>3</b>	2,9*	4,1	18,3	1,7	0,2	1,4	9,5	10,2	0,2	6,2	7,8
<b>4</b>	1,8*	5,1	16,6	1,4	0,1	1,2	5,7	10,5	0,4	8,4	4,3
<b>5</b>	2,3*	4,3	17,0	1,9	0,1	1,5	7,6	12,0	0,3	8,9	8,7
<b>6</b>	1,5*	3,5	16,9	3,5	0,1	1,4	7,3	9,4	0,6	8,6	8,5
<b>7</b>	1,7*	2,4	11,2	2,8	0,1	1,3	6,9	11,5	0,2	8,0	7,1
<b>8</b>	2,7*	4,5	20,4	1,9	0,1	1,2	8,1	9,6	1,7	5,5	4,4
<b>9</b>	2,4*	4,7	21,6	2,1	0,1	1,4	11,6	9,8	0,5	6,6	6,5
<b>10</b>	2,6*	4,0	17,5	1,8	0,2	1,1	12,4	4,2	0,1	7,8	3,3
<b>11</b>	4,2*	5,8	23,3	12,0	0,2	6,7	57,4	13,4	0,1	93,8	3,5
<b>12</b>	7,1	8,0	65,0	16,2	0,5	20,0	60,5	54,7	0,1	378,1	47,2
<b>13</b>	6,2	8,0	81,7	12,9	0,9	40,5	353,7	57,7	0,8	583,6	55,5
<b>14</b>	7,4	9,7	55,0	13,8	1,0	32,8	221,6	57,1	0,6	519,8	50,5
<b>15</b>	7,6	8,5	42,0	14,6	1,5	33,4	318,1	46,6	0,9	442,4	42,1
<b>16</b>	6,7	7,3	33,4	5,6	0,2	2,3	25,2	12,1	0,1	17,0	3,4
<b>17</b>	4,9	8,4	36,2	3,7	0,2	2,2	19,3	16,6	0,2	14,3	4,8
<b>18</b>	3,1*	4,4	20,3	1,6	0,1	1,1	10,3	8,2	0,2	5,1	3,7
<b>19</b>	8,3	12,1	66,1	11,8	0,4	7,1	64,4	32,5	0,4	60,4	18,9
<b>20</b>	8,1	11,1	57,1	13,1	0,4	7,5	77,9	37,3	0,6	53,3	19,2
<b>21</b>	3,5*	4,8	34,1	24,7	0,2	3,0	27,8	26,7	0,3	14,5	5,1
<b>22</b>	9,2	8,8	56,7	24,7	0,5	10,3	88,9	26,7	0,5	126,5	14,1
<b>23</b>	5,7	6,1	34,7	4,5	0,2	2,6	28,1	22,2	0,2	9,8	5,5
<b>24</b>	5,5	7,0	31,2	7,0	0,2	2,9	30,2	19,3	0,3	12,2	10,3
<b>25</b>	5,8	5,2	34,0	7,5	0,2	2,2	25,7	19,3	0,2	7,7	2,6
<b>26</b>	6,3	5,7	34,2	6,2	0,2	3,0	34,2	23,4	0,4	10,5	5,7
<b>27</b>	9,2	9,5	52,8	13,4	0,6	22,6	114,8	33,1	0,6	382,5	34,0
<b>28</b>	8,5	10,1	56,7	14,8	0,5	22,4	124,6	30,2	0,5	367,5	38,4

\* - vrednosti koncentracija niže od granice kvantifikacije za dati analit

Najčešće detektovan UV filter sa prosečnom koncentracijom od 113  $\mu\text{g/L}$  je EHMC. Obzirom da je ovaj analit bio najčešće detektovan u kozmetičkim preparatima za zaštitu od Sunčevog zračenja koji se nalaze na tržištu Republike Srbije očekivano je da će prosečna koncentracija ovog UV filtera u Savskom jezeru biti najviša. Koncentracije UV filtera u jezeru kreću od 0,1  $\mu\text{g/L}$  za IAMC do 583,6  $\mu\text{g/L}$  za EHMC. Uzorci u kojima su izmerene najviše koncentracije UV filtera potiču iz dela jezera u kome je intenzivnija aktivnost ljudi (plivanje/kupanje) u odnosu na ostale delove jezera. Na slici 30 dat je prikaz hromatograma dobijenog analizom uzorka broj 20.



Slika 30. Hromatogram dobijen LC-MS/MS analizom uzorka broj 20

U tabeli 31 prikazana je deskriptivna statistika koncentracija UV filtera u Savskom jezeru (srednja, minimalna i maksimalna vrednost) kao i parametri distribucije (simetrija i spljoštenost).

**Tabela 31.** Deskriptivna statistika koncentracija UV filtera u Savskom jezeru

UV Filter	SV	RSD	Min	Maks	S	K
BP-1	5,0	2,6	1,5	9,2	0,2	-1,4
4-HB	6,6	2,5	2,4	12	0,5	-0,6
BP-3	35	19	11	82	0,8	-0,3
BP-4	8,2	6,9	1,4	25	1,0	0,2
IAMC	0,3	0,3	0,09	1,5	2,2	5,0
HMS	8,4	11	1,1	40	1,7	1,7
4-MBC	63	91	5,6	354	2,3	4,8
OC	23	16	4,2	58	1,1	0,2
OD-PABA	0,4	0,3	0,13	1,7	2,4	7,8
EHMC	113	183	5,1	584	1,6	0,9
AVO	15	16	2,6	55	1,4	0,6

SV- Srednja vrednost; RSD- Relativna standardna devijacija; Min- Minimalna vrednost; Maks - Maksimalna vrednost; S- simetrija (engl. Skewness); K- spljoštenost (engl. Kurtosis)

Najveća prosečna izmerena koncentracija UV filtera je 113 mg/L i odnosi se na prisustvo EHMC-a, dok su najmanje prisutni UV filteri u Savskom jezeru IAMC i OD-PABA, sa prosečnim koncentracijama od 0,3 µg/L i 0,4 µg/L, respektivno. Najviša varijacija odnosno razlika u koncentraciji UV filtera među uzorcima zapažena je u slučaju EHMC-a što se može zaključiti i na osnovu RSD vrednosti (91%). Vrednosti parametara distribucije pozitivne vrednosti pokazatelja simetrije ukazuju na prisustvo blage „iskrivljenosti” u desnu stranu. Sve vrednosti ovog pokazatelja, osim u slučaju BP-1, BP-3 i 4-HB, su veće od 1,0 što potvrđuje odstupanje od simetrične distribucije. UV filteri sa negativnom vrednošću S (BP-1, BP-3 i 4-HB) imaju i negativnu vrednost pokazatelja spljoštenosti pa se može zaključiti da je njihova distribucija platikurtična (spljoštena). Platikurtična distribucija je ravnijih (tanjih) repova što znači da su odstupanja među rezultatima retka.

Kako bi se utvrdila korelacija pojedinačnih UV filtera u uzorcima Savskog jezera izračunat je Pirsonov koeficijent korelacije. Dobijene vrednosti prikazane su u tabeli 32.

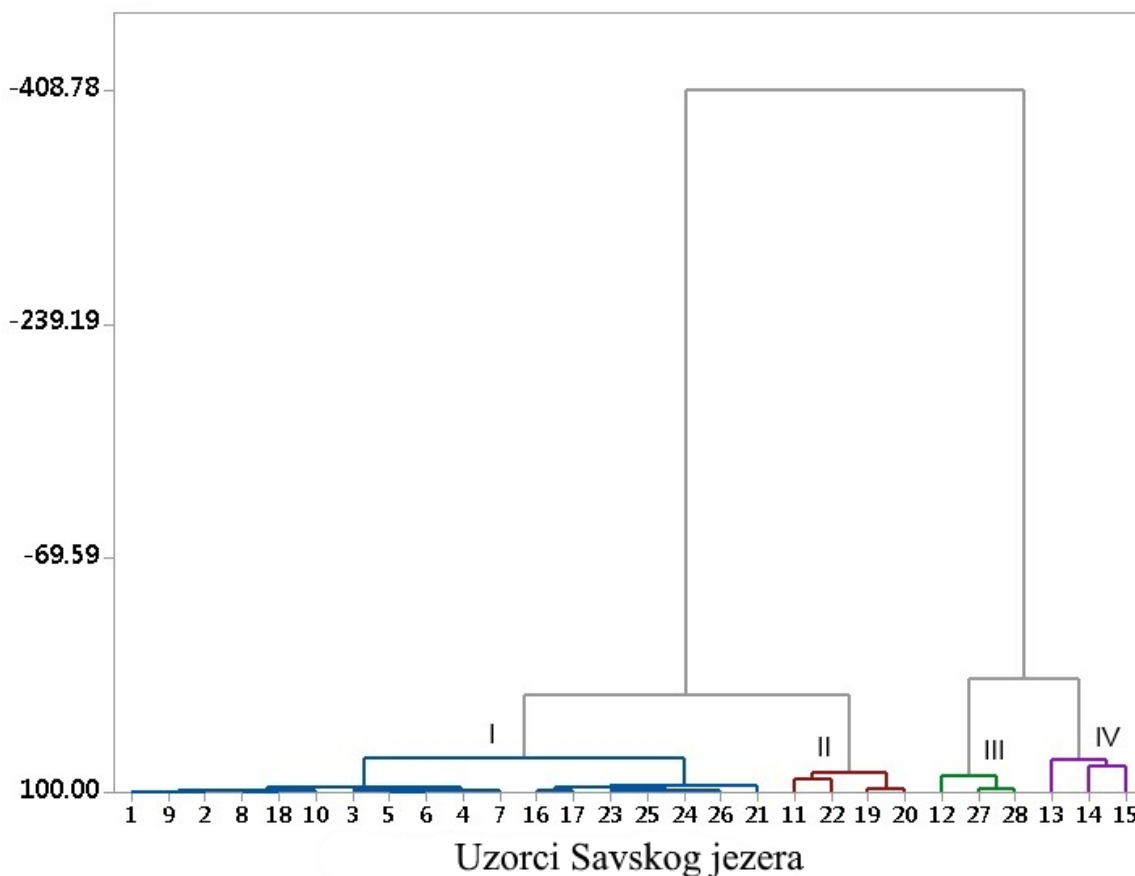
**Tabela 32.** Pirsonova korelaciona matrica

	BP-1	4-HB	BP-3	BP-4	IAMC	HMS	4-MBC	OC	OD-PABA	EHMC
4-HB	0,872									
BP-3	0,846	0,846								
BP-4	0,700	0,578	0,709							
IAMC	0,649	0,606	0,665	0,573						
HMS	0,610	0,578	0,754	0,557	0,913					
4-MBC	0,551	0,526	0,690	0,508	0,926	0,950				
OC	0,715	0,692	0,878	0,685	0,832	0,883	0,815			
OD-PABA	0,102	0,165	0,179	0,074	0,360	0,344	0,395	0,226		
EHMC	0,590	0,553	0,736	0,540	0,870	0,989	0,894	0,868	0,307	
AVO	0,607	0,612	0,790	0,533	0,848	0,959	0,852	0,915	0,301	0,969

Najviša vrednost koeficijenta korelacije je u slučaju HMS i EHMC (0,989). Vrednosti korelacionog koeficijenta bliske jedinici ukazuju na veoma veliku linearnu povezanost ispitivanih analita. Pored EHMC, dobra povezanost HMS potvrđena je i sa 4-MBC, AVO i IAMC. Povezanost ovih elemenata može se objasniti njihovim poreklom. Kombinacija ovih UV filtera najčešće se koristi u proizvodima za zaštitu od štetnog uticaja sunčevog zračenja. OD-PABA i BP-1 imaju najnižu vrednost korelacionog faktora (0,102) tako da se može zaključiti da su ova dva analita potpuno nezavisna. Takođe, niske vrednosti korelacionog koeficijenta u slučaju ispitivanja povezanosti OD-PABA i ostalih analita ukazuju na potpunu nezavisnost ovog UV filtera. Na osnovu Pirsonove korelacione matrice može se zaključiti postoji značajna međusobna povezanost između ostalih ispitivanih analita.

Radi boljeg tumačenja i razumevanja sličnosti između koncentracija UV filtera u odnosu na lokaciju uzorkovanja izvedena je klasteraska analiza za svih 11 ispitivanih analita na 28 različitih lokacija. Na slici 31 predstavljen je dendrogram koji je diferencirao uzorke prema prostornoj sličnosti uzoraka vode na 28 različitih lokacija u okviru Savskog jezera.

## Sličnost

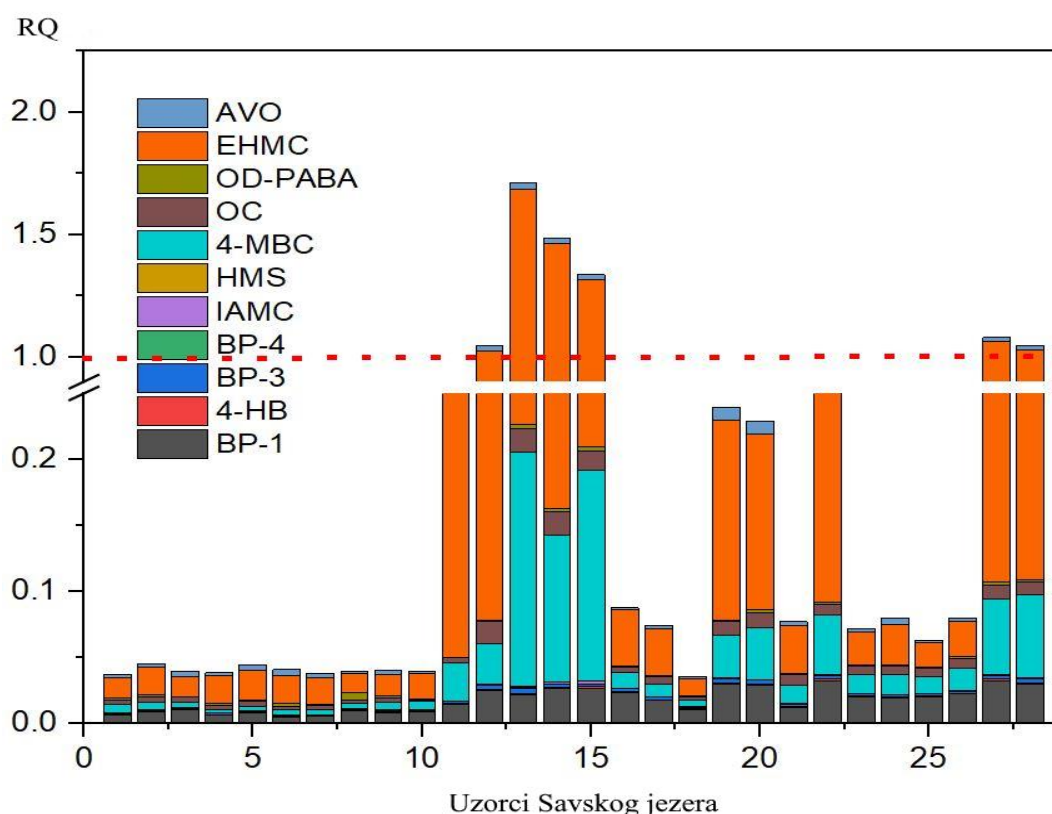


**Slika 31.** Dendrogram klasterske analize koji prikazuje prostorno grupisanje uzoraka sa lokacija u jezeru u odnosu na sličnosti u sadržaju UV filtera

Iz dendrograma prikazanog na slici 29, može se videti da su uzorci grupisani u četiri klastera prema sličnosti u odnosu na koncentracije organskih UV filtera. Klasterske grupe su formirane prema mestima uzorkovanja koja se međusobno razlikuju prema količini UV filtera koju sadrže. Prvi klaster sačinjen je iz dve podgrupe. Prva podgrupa sačinjena je od uzoraka sa lokacija 1-10 i 18, a druga obuhvata uzorke 16, 17, 21, 23, 24, 25 i 26. Prva podgrupa predstavlja grupu uzoraka gde su rekreativne aktivnosti ljudi izuzetno malog intenziteta jer se radi o lokacijama na sredini jezera i lokaciji 18 na kojoj rekreativne aktivnosti nisu dozvoljene. Drugi klaster čine uzorci sa lokacija koje su u blizini nepristupačnih mesta i na kojima u vreme uzorkovanja nisu zabeležene značajne rekreativne aktivnosti. Treći klaster obuhvata tri lokacije (12, 27 i 28) koje su na malom rastojanju u odnosu na lokacije koje pripadaju četvrtom klasteru (13, 14 i 15). Na lokacijama koje obuhvata četvrti klaster u vreme uzorkovanja zapažene su najintenzivnije rekreativne aktivnosti kao i prisustvo najvećeg broja posetilaca. Uzorci sa ovih lokacija specifični su po visokom sadržaju pojedinih UV filtera što ih izdvaja i razlikuje od ostalih lokacija na kojima je uzorkovanje izvršeno.

### 3.6. Procena ekološkog rizika usled prisustva UV filtera u vodi

Na osnovu koncentracija UV filtera izmerenih u Savskom jezeru izvršena je procena ekološkog rizika usled njihovog prisustva u vodi. Za procenu ekološkog rizika primenjen je deterministički pristup koji podrazumeva izračunavanje koeficijenta rizika na osnovu izmerenih koncentracija i PNEC vrednosti za svaki pojedinačni UV filter. U eksperimentalnom delu je data tabela 13 sa PNEC vrednostima analiziranih UV filtera. Za izračunavanje koeficijenta rizika korišćene su PNEC vrednosti koje se odnose na koncentracije UV filtera u slatkoj vodi. Koeficijenti rizika pojedinačnih UV filtera i ukupni koeficijent rizika za svaki pojedinačni uzorak prikazani su u tabeli 3 u prilogu. Ukupni koeficijent rizika dobijen je sabiranjem pojedinačnih RQ vrednosti svih UV filtera u uzorku. Na slici 32 grafički je prikazan udeo pojedinačnih UV filtera u ukupnom ekološkom riziku ( $\Sigma RQ$ ) procenjenom za svaki uzorak Savskog jezera.

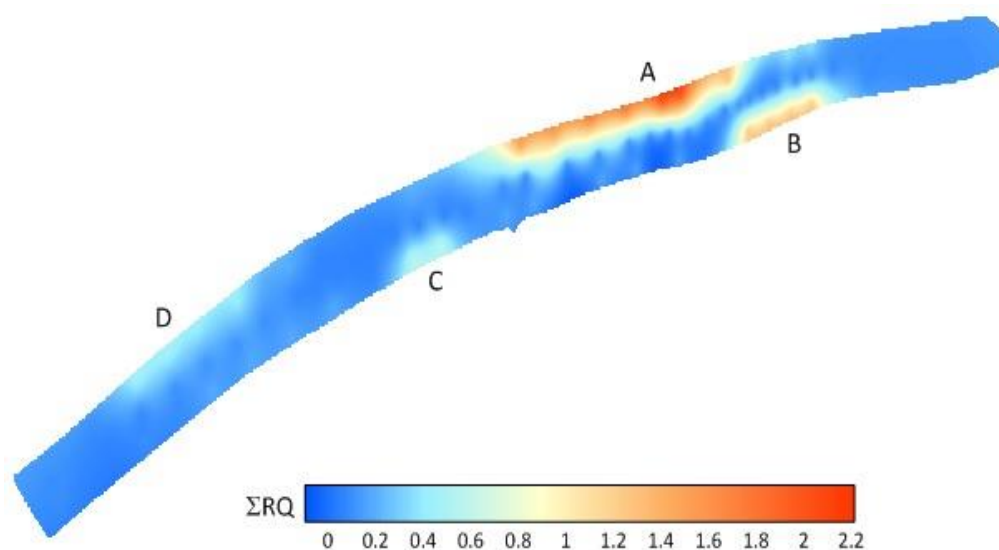


**Slika 32.** Udeo pojedinačnih UV filtera u ukupnom ekološkom riziku

Najveći udeo u ukupnom ekološkom riziku u svim uzorcima ima EHMC, a zatim 4-MBC, BP-1 i OC. Doprinos ostalih UV filtera na vrednost ukupnog koeficijenta rizika može se smatrati zanemarljivim. Ukupni koeficijent rizika za uzorke 12, 13, 14, 16, 27 i 28 ima vrednosti  $RQ > 1$  što ukazuje na visok ekološki rizik usled prisustva UV filtera na ovim lokacijama uzorkovanja. Navedeni uzorci sa visokim RQ vrednostima mogu se podeliti u dve grupe. Najviša RQ vrednost (1,71) dobijena je procenom ekološkog rizika usled prisustva UV filtera u uzorku broj 13. Visok ekološki rizik na lokacijama na kojima su uzorkovani uzorci broj 13, 14 i 15 može se objasniti najvećim brojem kupaca i rekreativaca koji su bili prisutni u ovom delu jezera za vreme

uzorkovanja. Najniža zbirna RQ vrednost na Savskom jezeru (0,4) dobijena je analizom uzorka broj 18 koji je uzorkovan na lokaciji na kojoj plivanje i druge rekreativne aktivnosti nisu dozvojene. Prosečna vrednost zbirnog koeficijenta rizika iznosi 0,35 i ukazuje na umeren nivo ekološkog rizika.

Na slici 33 mogu se uočiti četiri značajne oblasti (A, B, C, D). Ove oblasti su u korelaciji sa brojem posetilaca na Savskom jezeru. U oblasti A nalaze se lokacije na kojima je izvršeno uzorkovanje uzoraka 12, 13, 14 i 15. Za oblast A karakteristične su najviše izmerene koncentracije UV filtera i izračunate najviše RQ vrednosti. Oblast B obuhvata lokacije na kojima su uzorkovani uzorci 27 i 28. Na ovim lokacijama je kao i u slučaju oblasti A procenjen visok ekološki rizik ( $RQ > 1$ ). Uzorci koji su uzorkovani na lokacijama obuhvaćenim oblastima A i B su pokazali sličnost i prilikom klusterske analize (slika 32).



**Slika 33.** Geostatistička distribucija  $\Sigma RQ$  u Savskom jezeru

Oblasti C i B obuhvataju lokacije na kojima su uzorkovani uzorci broj 19, 20 i 22. U ovim oblastima izmerene su niže vrednosti koncentracija UV filtera, a samim tim je i procenjen niži ekološki rizik u odnosu na oblasti A i B. Koncentracija UV filtera u uzorcima prikupljenim na sredini jezera, kao i sa leve i desne strane (na osnovu slike 33), je očekivano niska obzirom na zabranu rekreativnih aktivnosti u ovim delovima jezera.

### 3.7. Procena zdravstvenog rizika usled prisustva UV filtera primenom Monte Karlo simulacije

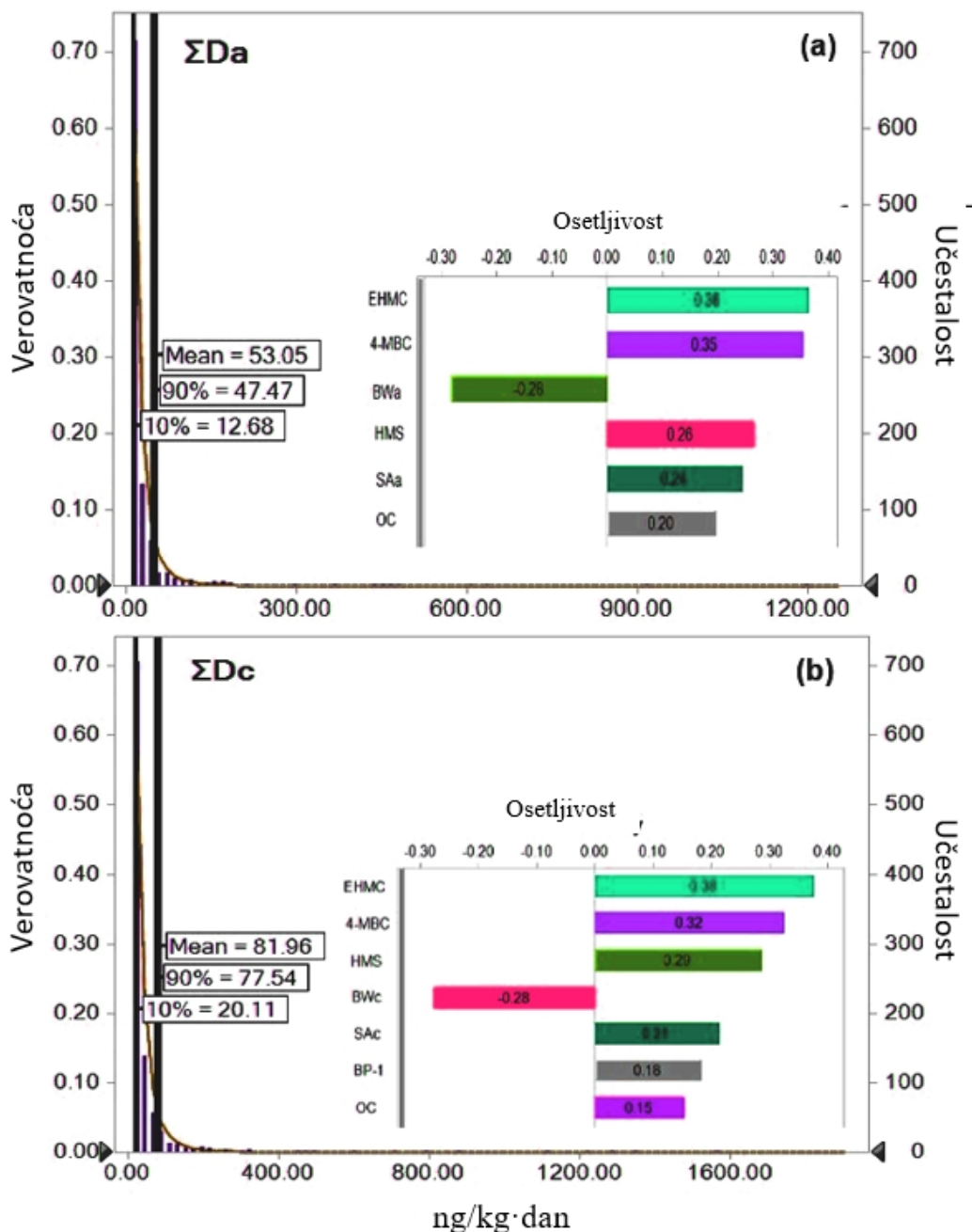
Obzirom da se koncentracije UV filtera značajno razlikuju u zavisnosti od lokacije na kojoj je izvršeno uzorkovanje u cilju procene zdravstvenog rizika nije poželjno koristiti deterministički model jer se u tom slučaju rizik iskazuje kao pojedinačni broj (Astuti et al., 2022)(Dehghani et al., 2022). U ovom slučaju Monte Karlo simulacija omogućava da se na osnovu distribucije koncentracija i parametara izloženosti UV filterima preciznije i sa većom sigurnošću proceni zdravstveni rizik. Monte Karlo simulacijom procenjen je zdravstveni rizik usled slučajne ingestije

i apsorpcijom UV filtera kroz kožu tokom plivanja u Savskom jezeru. Obzirom da UV filteri predstavljaju slabo isparljiva jedinjenja udisanje UV filtera tokom rekreativnih aktivnosti u vodi je malo verovatno i zbog toga nije procenjivan rizik po ljudsko zdravlje ovim putem unosa UV filtera u organizam (Lu et al., 2017). Rezultati procene zdravstvenog rizika Monte Carlo simulacijom za decu i odrasle prikazani su u tabeli 33.

**Tabela 33.** Procena zdravstvenog rizika za decu i odrasle primenom Monte Carlo simulacije

Parametar	Jedinica	Procenjena vrednost	
		Odrasli	Deca
Broj proba		1000	1000
Osnovni slučaj	(ng/kg·dan)	46,77	72,94
Srednja vrednost	(ng/kg·dan)	53,05	81,96
Medijana	(ng/kg·dan)	17,34	27,58
Standardna devijacija	(ng/kg·dan)	431,80	655,72
Varijanse	(ng/kg·dan) <sup>2</sup>	186450	429969
Simetrija		25,71	25,29
Spljoštenost		730,07	707,59
Koeficijent varijacije		8,14	8,00
Minimum	(ng/kg·dan)	8,79	13,50
Maksimum	(ng/kg·dan)	12643	19030
Opseg		12634	19017
Srednja standardna greška		13,65	20,74
0%		8,79	13,50
10%		12,68	20,11
20%		13,94	21,96
30%		15,18	23,82
40%		16,13	25,55
50%		17,33	27,57
60%		19,07	29,95
70%		22,17	34,59
80%		29,04	46,33
90%		47,47	77,54
100%		12643	19030

Veći rizik po zdravlje ljudi usled apsorpcije kroz kožu u odnosu na ingestiju izazivaju svi analiti osim derivata benzofenona. Rizik po zdravlje dece je veći nego kod odraslih osoba što se može objasniti odnosom telesne mase i površine kože izložene UV filterima. Na slici 34 prikazana je distribucija izloženosti odraslih i dece UV filterima.



**Slika 34.** Analiza verovatnoće i osetljivosti izloženosti UV filterima: a) odrasli; b) deca

Sa histogram prikazanog na slici se može videti da ukupna doza izloženosti odraslih ( $\Sigma Da$ ) u iznosi 47,5 ng/kg·dan dok ukupna doza izloženosti dece ( $\Sigma Dc$ ) iznosi 77,5 ng/kg·dan, kada se posmatra 90. percentil. Srednja vrednost ukupnih doza izloženosti kod odraslih i dece iznosi 47,47

ng/kg·dan i 81,96 ng/kg·dan, respektivno. Viša doza izloženosti u slučaju dece potvrđuje da su deca izložena većem riziku u odnosu na odrasle osobe. Za precizniju procenu zdravstvenog rizika neophodno je dobijene vrednosti uporediti sa referentnom dozom za UV filtere. Usled nedostatka ovih vrednosti, štetan uticaj UV filtera usled njihovoj izloženosti može se proceniti poređenjem sa sličnim sustancama poput parabena. Zajednički ekspertski komitet Svetske zdravstvene organizacije (engl. *World Health Organization*, WHO) i Organizacije za hranu i poljoprivredu (engl. *Food and Agriculture Organization of the United Nations*, FAO) i Organizacije Ujedinjenih nacija za aditive u hrani (engl. *The Joint Expert Committee on Food Additives*, JECFA) predložili su referentnu dozu od 10 mg/kg/tm/dan parabena (Li et al., 2021). Na osnovu ovog poređenja dobijenih rezultata sa navedenom referentnom dozom za parabene može se zaključiti da postoji zanemarljiv rizik po ljudsko zdravlje. Izmerene koncentracije UV filtera u vodi Savskog jezera mogu smatrati prihvatljivim ukoliko se izuzmu lokacije koje pripadaju oblastima A i B prikazanim na slici 33.

#### 4. ZALJUČAK

Cilj ove doktorske disertacije je razvoj i primena analitičke metode za određivanje UV filtera u različitim matricama, kao i procena rizika usled njihovog prisustva. Ispitivano je 11 UV filtera organskog porekla. UV filteri odabrani za analizu predstavljaju analite koji su najčešće detektovani u životnoj sredini, kao i UV filtere koji kao aktivne supstance ulaze u sastav kozmetičkih proizvoda za zaštitu od Sunčevog zračenja koji se nalaze na tržištu Republike Srbije.

Prvi deo istraživanja odnosio se na analizu sadržaja organskih UV filtera u kozmetičkim proizvodima za zaštitu od sunčevog zračenja i procenu zdravstvenog rizika. Za određivanje sadržaja UV filtera primenjena je HPLC-UV metoda. Optimizovano je hromatografsko razdvajanje 4 organska UV filtera (OC, EHMC, 2ES i HMS) koja ulaze u sastav analiziranih kozmetičkih proizvoda. Kao tehnika pripreme uzoraka kozmetičkih sredstava u cilju što bolje ekstrakcije analita i uklanjanja matričnih smetnji odabrana je i optimizovana disperzivna tečno-tečna mikroekstrakcija. Tokom optimizacije tehnike pripreme uzoraka primenjivani su eksperimentalni dizajn i različiti matematički modeli kako bi se izveo što manji broj eksperimenata, smanjila potrošnja hemikalija i dobili optimalni rezultati. Nakon optimizacije hromatografskog razdvajanja analita kao i optimizacije DLLME izvršena je validacija DLLME-HPLC-UV metode. Validirana metoda primenjena je za analizu 23 uzorka kozmetičkih proizvoda nakon čega je izvršena procena zdravstvenog rizika.

U drugom delu istraživanja razvijena je i optimizovana pouzdana analitička metoda za određivanje 11 organskih UV filtera pomoću tačne hromatografije u sprezi sa tandem masenom spektrometrijom. Nakon toga optimizovan je i postupak ekstrakcije na čvrstoj fazi u cilju efikasne pripreme uzoraka vode iz životne sredine. Kao i u prvom delu istraživanja, za optimizaciju postupka pripreme korišćeni su eksperimentalni dizajn i matematički modeli. Razvijenom LC-MS/MS metodom analizirano je 28 uzoraka Savskog jezera, a zatim je izvršena procena ekološkog i zdravstvenog rizika usled njihovog prisustva u vodi.

Analizom dobijenih rezultata u ovom radu može se izvesti sledeći zaključci:

- Optimalno razdvajanje OC, EHMC, 2ES i HMS postignuto je pomoću Phenomenex Kinetex EVO C18 kolone (dužine 25 cm, unutrašnjeg prečnika 4,6 mm, veličina čestica 5  $\mu\text{m}$ ) i mobilne faze koju čini 80% metanola i 20% dejonizovane vode. pH-vrednost mobilne faze bila je 4,5 i podešena je dodatkom mravlje kiseline.
- Najbolji prinosi nakon DLLME dobijaju se primenom 50  $\mu\text{L}$  metanola kao disperznog sredstva, dok je optimalna zapremina ekstrakcionog sredstva 300  $\mu\text{L}$ . Za optimalnu vrednost sadržaja soli izabrana je vrednost od 10%, a za optimalnu pH-vrednost uzorka izabrano je pH=7. Optimalno razdvajanje faza postignuto je centrifugiranjem na 6000 obrtaja po minuti, u trajanju od 5 minuta.
- Dobijeni prinosi nakon optimizacije bili su u opsegu od 95 do 105%. Relativna standardna devijacija iznosila je manje od 8 za sva četiri analita. Dobijena je dobra linearnost kalibracionih krivih.
- Razvijena, optimizovana i validirana metoda je primenjena na uzorke kozmetičkih proizvoda za zaštitu od sunčevog zračenja u cilju određivanja sadržaja 4 organska UV filtera i procene zdravstvenog rizika.

- Analizirano je 23 kozmetička proizvoda za zaštitu od sunčevog zračenja koji se nalaze na tržištu Republike Srbije. U 8 uzorka detektovana su sva 4 analizirana UV filtera. Najčešće detektovan UV filter u uzorcima je EHMC, ovaj analit nije detektovan samo u jednom uzorku. U tri uzorka detektovane su koncentracije UV filtera koje premašuju maksimalno dozvoljenu koncentraciju (10%).
- Procena zdravstvenog rizika izvršena je na osnovu granice bezbednosti (MoS) za svaki analit i primenom Monte Karlo simulacije. Prosečne vrednosti granice bezbednosti za pojedinačne UV filtere kretale su se u opsegu od 296 do 3160 što znači da su značajno veće od granične vrednosti (100). Primenom Monte Karlo simulacije dobijena je srednja vrednost ukupne MoS za sva četiri analita koja iznosi 342, dok su vrednosti za ukupni MoS za 10. i 90. percentilu 119 i 441, respektivno. Sve navedene vrednosti premašuju graničnu vrednost od 100. Kvantitativnom analizom osetljivosti kao najuticajnija promenljiva prilikom procene zdravstvenog rizika izdvojila se koncentracija oktokrilena u kozmetičkim proizvodima.
- Optimizaciji hromatografskog razdvajanja analita u cilju LC-MS/MS analize prethodilo je snimanje masenih spektara. Kao prekursor joni za sve UV filtere odabrani su protonovani molekuli,  $[M+H]^+$ , osim za BP-4 i HMS koji su snimani u negativnom modu.
- Hromatografsko razdvajanje odabranih UV filtera izvršeno je na Thermo Fisher Scientific (Thermo Scientific, Waltham, SAD) sistemu koji se sastoji od Dionex Ultimate 3000 tečnog hromatografa opremljenog Accucore™ aQ C18 kolonom (dužine 10 cm, unutrašnjeg prečnika 2,1 mm, veličina čestica 2,6  $\mu\text{m}$ ) i LTQ XL masenog spektrometra sa linearnim jonskim trapom.
- Maseni hromatogram smeše 11 UV filtera dobijen je pri konstantnom protoku mobilne faze (0,250 mL/min) koja se sastojala od metanola i vode, sa gradijentom mobilne faze primenom optimalnih MS/MS parametara.
- Konačni rezultat optimizacije pripreme uzorka jeste ekstrakcija UV filtera iz 150 mL vodenog uzorka čija je pH-vrednost dodatkom 0,1M HCl podešena na 5,1. Optimalno ispiranje kertridža postiže se sa 4,8% rastvorom metanola. Eluiranje se izvodi sa 15 mL etil-acetata.
- Prinosi optimizovane metode kretali su se u opsegu od 47% do 100%. Prihvatljive vrednosti prinosa (70-120%) dobijene su za 7 od ukupno 11 analiziranih organskih UV filtera. Relativna standardna devijacija iznosila je manje od 20% za sve analite. Dobijena je dobra linearnost kalibracionih krivih, što potvrđuje koeficijent determinacije u opsegu od 0,9951-0,9993. Granice detekcije iznose od 0,03  $\mu\text{g/L}$  do 4,4  $\mu\text{g/L}$ . Niske vrednosti granica detekcije ukazuju na dobru osetljivost razvijene metode.
- Razvijena, optimizovana i validirana metoda je primenjena na 28 realnih uzoraka površinske vode (Savsko jezero). Od ukupno jedanaest analiziranih UV filtera, devet je detektovano u svim uzorcima. Koncentracije UV filtera u jezeru kreću od 0,1  $\mu\text{g/L}$  za IAMC do 583,6  $\mu\text{g/L}$  za EHMC koji predstavlja i najčešće detektovan UV filter u Savskom jezeru. Ovaj rezultat je u saglasnosti sa rezultatima dobijenim prilikom analize sadržaja UV filtera u kozmetičkim proizvodima sa tržišta Republike Srbije gde je EHMC detektovan u 22 od ukupno 23 analizirana uzorka.
- Povezanost između UV filtera u uzorcima Savskog jezera utvrđena je izračunavanjem Pirsonovog koeficijenta korelacije. Najviša vrednost koeficijenta korelacije dobijena je u slučaju HMS i EHMC (0,989). Pored EHMC, dobra povezanost HMS potvrđena je i sa 4-

MBC, AVO i IAMC. Povezanost ovih UV filtera može se objasniti njihovim poreklom, obzirom da se njihove kombinacije koriste u proizvodima za zaštitu od štetnog uticaja sunčevog zračenja.

- Klusterskom analizom za svih 11 ispitivanih analita na 28 različitih lokacija uzorci su podeljeni u četiri klastera prema sličnosti u odnosu na koncentracije organskih UV filtera. Prva dva klastera čine uzorci sa lokacija na kojima je plivanje zabranjeno i lokacija koje su gotovo nepristupačne kupačima. Trećem i četvrtom klasteru pripadaju uzorci sa lokacija na kojima je zabeležen značajno veći broj kupača u odnosu na lokacije iz prethodna dva klastera. Na lokacijama koje pripadaju četvrtom klasteru u vreme uzorkovanja zapažene su najintenzivnije rekreativne aktivnosti kao i prisustvo najvećeg broja posetilaca, a uzorke sa ovih lokacija karakterišu visoke koncentracije pojedinih UV filtera.
- Na osnovu izmerenih koncentracija UV filtera u Savskom jezeru izračunati su pojedinačni i ukupni koeficijenti ekološkog rizika. Ukupni koeficijent rizika za uzorke iz trećeg i četvrtog klastera ima vrednosti  $RQ > 1$  što ukazuje na visok ekološki rizik usled prisustva UV filtera na ovim lokacijama uzorkovanja. U svim uzorcima utvrđeno je da EHMC ima najveći pojedinačni uticaj u ukupnom koeficijentu rizika. Najveći koeficijent ekološkog rizika ( $RQ = 1,71$ ) dobijen je u slučaju uzorka broj 13 koji pripada četvrtom klasteru odnosno oblasti jezera u kojoj je primećen najveći broj posetilaca. Prosečna vrednost ukupnog RQ iznosi 0,35 i ukazuje na umeren nivo ekološkog rizika.
- Procena zdravstvenog rizika izvršena je primenom Monte Karlo simulacije. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da svi analiti osim derivata benzofenona izazivaju veći rizik po zdravlje ljudi usled apsorpcije kroz kožu u odnosu na ingestiju. Rizik po zdravlje dece je veći nego kod odraslih osoba što se može objasniti odnosom telesne mase i površine kože izložene UV filterima. Usled nedosataka vrednosti za referentnu dozu sa kojima je neophodno porediti rezultate dobijene Monte Karlo simulacijom, procena zdravstvenog rizika utvrđena je poređenjem sa referentnom dozom za parabene. Na osnovu ovog poređenja može se zaključiti da postoji zanemarljiv rizik po ljudsko zdravlje.
- Izmerene koncentracije UV filtera u vodi Savskog jezera mogu smatrati prihvatljivim ukoliko se izuzmu lokacije koje pripadaju trećem i četvrtom klasteru. Prisustvo UV filtera u Savskom jezeru dugoročno može imati negativne posledice na ljudsko zdravlje, a mogući rizik po zdravlje mogu izazvati i produkti degradacije UV filtera čiji uticaj na zdravlje ljudi još uvek nije dovoljno ispitan. Procena ekološkog rizika pokazala je da na mestima na kojima postoji povećana rekreativna aktivnost postoji i rizik po ljudsko zdravlje koji se može smatrati prihvatljivim. Prisustvo UV filtera u Savskom jezeru dugoročno može imati negativne posledice na ljudsko zdravlje, a mogući rizik po zdravlje mogu izazvati i produkti degradacije UV filtera čiji uticaj na zdravlje ljudi još uvek nije dovoljno ispitan.

## LITERATURA

- Alonso, J. Jaime Sadhwani, and Jenifer Vaswani Reboso (2025). "Treatment of Wastewater Using a Magnetically Recoverable Ag-Based Photocatalyst." *Water*, vol. 17, no. 232, 2025, pp. 1–20, doi:<https://doi.org/10.3390/w17020232>.
- Allinson, M., Kameda, Y., Kimura, K., Allinson, G., (2018). Occurrence and assessment of the risk of ultraviolet filters and light stabilizers in Victorian estuaries. *Environmental Science and Pollution Research*. 25, 12022–12033. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-1386-7>
- Astel, A., Stec, M., Rykowska, I., (2020). Occurrence and distribution of uv filters in beach sediments of the southern baltic sea coast. *Water (Switzerland)* 12, 1–17. <https://doi.org/10.3390/w12113024>
- Astuti, R.D.P., Mallongi, A., Choi, K., Amiruddin, R., Hatta, M., Tantrakarnapa, K., Rauf, A.U., (2022). Health risks from multiroute exposure of potentially toxic elements in a coastal community: a probabilistic risk approach in Pangkep Regency, Indonesia. *Geomatics, Natural Hazards and Risk* 13, 705–735. <https://doi.org/10.1080/19475705.2022.2041110>
- Benedé, J.L., Chisvert, A., Salvador, A., Sánchez-Quiles, D., Tovar-Sánchez, A., (2014). Determination of UV filters in both soluble and particulate fractions of seawaters by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 812, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.12.033>
- Bezerra, M. A., Ferreira, S. L. C., Novaes, C. G., dos Santos, A. M. P., Valasques, G. S., da Mata Cerqueira, U. M. F., & dos Santos Alves, J. P. (2019). Simultaneous optimization of multiple responses and its application in Analytical Chemistry – A review. *Talanta*, 194, 941–959. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.10.088>
- Boer, F., Kezic, S., van der Lelie, G., Motazed, E., Rustemeyer, T., van Dijk, A., Almasian, M., Jakasa, I., van der Molen, H.F., (2025). Effect of Repeated Low-Dose UVR Exposure on Skin Inflammation Threshold, Skin Biomarkers, and Vitamin D in Healthy Adults. *J. Invest. Dermatol.* <https://doi.org/10.1016/j.jid.2025.01.024>
- Bordalo, D., Leite, C., Almeida, Â., Soares, A.M.V.M., Pretti, C., Freitas, R., (2020). Impacts of UV Filters in *Mytilus galloprovincialis* : Preliminary Data on the Acute Effects Induced by Environmentally Relevant Concentrations. *Sustainability* 3, 1–13. <https://doi.org/10.3390/su12176852>
- Brausch, J.M., Rand, G.M., (2011). A review of personal care products in the aquatic environment: Environmental concentrations and toxicity. *Chemosphere* 82, 1518–1532. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.018>
- Cadena-Aizaga, M.I., Montesdeoca-Esponda, S., Sosa-Ferrera, Z., Santana-Rodríguez, J.J., (2022). Occurrence and environmental hazard of organic UV filters in seawater and wastewater from Gran Canaria Island (Canary Islands, Spain). *Environmental Pollution* 300, 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.118843>
- Cadena-Aizaga, M.I., Montesdeoca-Esponda, S., Torres-Padrón, M.E., Sosa-Ferrera, Z., Santana-Rodríguez, J.J., (2020). Organic UV filters in marine environments: An update of analytical

- methodologies, occurrence and distribution. *Trends in Environmental Analytical Chemistry* 25, <https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00079>
- Carve, M., Nugegoda, D., Allinson, G., Shimeta, J., (2021). A systematic review and ecological risk assessment for organic ultraviolet filters in aquatic environments. *Environmental Pollution* 268, 115894. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115894>
- Chaiyabutr, C., Sukakul, T., Kumpangsin, T., Bunyavaree, M., Charoenpipatsin, N., Wongdama, S., Boonchai, W., (2021). Ultraviolet filters in sunscreens and cosmetic products—A market survey. *Contact Dermatitis* 85, 58–68. <https://doi.org/10.1111/cod.13777>
- Chang, N.I., Yoo, M.Y., Lee, S.H., (2015). Determination of fourteen sunscreen agents in cosmetics using high-performance liquid chromatography. *International Journal of Cosmetic Science* 37, 175–180. <https://doi.org/10.1111/ics.12171>
- Chávez-Moreno, C.A., Hinojosa-Reyes, L., Ruiz-Ruiz, E.J., Hernández-Ramírez, A., Guzmán-Mar, J.L., (2018). Optimization of solid-phase extraction of parabens and benzophenones in water samples using a combination of Plakett-Burman and Box-Behnken designs. *Journal of Separation Science* 41, 4488–4497. <https://doi.org/10.1002/jssc.201800796>
- Chiriac, F.L., Paun, I., Pirvu, F., Pascu, L.F., Niculescu, M., Galaon, T., (2020). Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry Method for Ultra-Trace Analysis of Organic UV Filters in Environmental Water Samples. *Revista de Chimie* 71, 92–99. <https://doi.org/10.37358/RC.20.1.7818>
- Chisvert, A., Salvador, A., (2018). Ultraviolet Filters in Cosmetics: Regulatory Aspects and Analytical Methods, *Analysis of Cosmetic Products: Second Edition*. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63508-2.00005-9>
- Chisvert, A., Tarazona, I., Salvador, A., (2013). A reliable and environmentally-friendly liquid-chromatographic method for multi-class determination of fat-soluble UV filters in cosmetic products. *Analytica Chimica Acta* 790, 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.06.032>
- Da Silva, C.P., Emídio, E.S., De Marchi, M.R.R.,(2013). UV filters in water samples: Experimental design on the SPE optimization followed by GC-MS/MS analysis. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 24, 1433–1441. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20130182>
- Daryanavard, S. M., Zolfaghari, H., Abdel-Rehim, A., & Abdel-Rehim, M. (2021). Recent applications of microextraction sample preparation techniques in biological samples analysis. *Biomedical Chromatography*, 35(7). <https://doi.org/10.1002/bmc.5105>
- De Orsi, D., Giannini, G., Gagliardi, L., Porrà, R., Berri, S., Bolasco, A., Carpani, I., Tonelli, D., (2006). Simple extraction and HPLC determination of UV-A and UV-B filters in sunscreen products. *Chromatographia* 64, 509–515. <https://doi.org/10.1365/s10337-006-0074-9>
- Ding, X., Gerbig, S., Spengler, B., Schulz, S., (2018). Reactive low temperature plasma ionization mass spectrometry for the determination of organic UV filters in personal care products. *Talanta* 178, 780–787. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.10.021>
- Dupont, E., Gomez, J., Bilodeau, D., (2013) Beyond UV radiation: A skin under challenge. *International Journal of Cosmetic Science* 35, 224–232. <https://doi.org/10.1111/ics.12036>

- EC 1223/2009. (2009). *Regulation of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products*.  
<https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=celex%3A32009R1223>
- EN 17156. (2018). *Cosmetics—Analytical methods—LC/UV method for the identification and quantitative determination in cosmetic products of the 22 organic UV filters in use in the EU (EN Standard No. 17156:2018)*.  
<https://www.en-standard.eu/search/?q=EN+17156%3A2018>
- Fagervold, S.K., Rodrigues, A.S., Rohée, C., Roe, R., Bourrain, M., Stien, D., Lebaron, P., (2019). Occurrence and Environmental Distribution of 5 UV Filters During the Summer Season in Different Water Bodies. *Water, Air, & Soil Pollution* 230. <https://doi.org/10.1007/s11270-019-4217-7>
- Fent, K., Zenker, A., Rapp, M., (2010). Widespread occurrence of estrogenic UV-filters in aquatic ecosystems in Switzerland. *Environmental Pollution* 158, 1817–1824.  
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2009.11.005>
- Gandar, A., Giraud, M., Perion, T., Houël, E., Noguer, T., Rodrigues, A.M.S., Calas-Blanchard, C., Stien, D., 2025. Targeted and untargeted discovery of UV filters and emerging contaminants with environmental risk assessment on the Northwestern Mediterranean coast. *Mar. Pollut. Bull.* 212. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.117567>
- Gadelha, J.R., Rocha, A.C., Camacho, C., Eljarrat, E., Peris, A., Aminot, Y., Readman, J.W., Boti, V., Nannou, C., Kapsi, M., Albanis, T., Rocha, F., Machado, A., Bordalo, A., Valente, L.M.P., Leonor, M., Marques, A., Almeida, C.M.R., (2019). Persistent and emerging pollutants assessment on aquaculture oysters ( *Crassostrea gigas* ) from NW Portuguese coast (Ria De Aveiro). *Science of The Total Environment* 666, 731–742.  
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.280>
- Gago-Ferrero, P., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., (2013a). Multi-residue method for trace level determination of UV filters in fish based on pressurized liquid extraction and liquid chromatography-quadrupole-linear ion trap-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1286, 93–101. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.02.056>
- Gago-Ferrero, P., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., (2011). Occurrence of multiclass UV filters in treated sewage sludge from wastewater treatment plants. *Chemosphere* 84, 1158–1165.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.04.003>
- Gago-Ferrero, P., Mastroianni, N., Díaz-Cruz, M.S., Barceló, D., (2013b). Fully automated determination of nine ultraviolet filters and transformation products in natural waters and wastewaters by on-line solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1294, 106–116.  
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.04.037>
- Garcia-Hidalgo, E., Schneider, D., von Goetz, N., Delmaar, C., Siegrist, M., & Hungerbühler, K. (2018). Aggregate consumer exposure to isothiazolinones via household care and personal care products: Probabilistic modelling and benzisothiazolinone risk assessment. *Environment International*, 118, 245–256. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.05.047>
- Ghaderpoori, M., Kamarehie, B., Jafari, A., Alinejad, A. A., Hashempour, Y., Saghi, M. H.,

- Yousefi, M., Oliveri Conti, G., Mohammadi, A. A., Ghaderpoury, A., & Ferrante, M. (2020). Health risk assessment of heavy metals in cosmetic products sold in Iran: The Monte Carlo simulation. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(7), 7588–7595. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07423-w>
- Gilbert, E., Pirot, F., Bertholle, V., Roussel, L., Falson, F., Padois, K., (2013). Commonly used UV filter toxicity on biological functions: review of last decade studies. *International Journal of Cosmetic Science* 35, 208–219. <https://doi.org/10.1111/ics.12030>
- Giokas, D.L., Salvador, A., Chisvert, A., (2007). UV filters: From sunscreens to human body and the environment. *Trends in Analytical Chemistry* 26, 360-374 <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.02.012>
- Gu, W., Sun, S., Cai, Y., Du, Z., Shan, X., Liang, M., Guo, M., Zhou, L., Zhang, Y., (2025) Occurrences, spatial distributions, and ecological risks of organic ultraviolet absorbers in surface sediments from Taihu Lake, China. *Emerg. Contam.* 11, 100466. <https://doi.org/10.1016/j.emcon.2024.100466>
- Guidelines for Ecological Risk Assessment, (1998). U.S. Environmental Protection Agency Washington, DC.
- He, Y., Concheiro-Guisan, M., (2019). Microextraction sample preparation techniques in forensic analytical toxicology. *Biomedical Chromatography* 33. <https://doi.org/10.1002/bmc.4444>
- Ho, Y.C., Ding, W.H., (2012). Solid-phase extraction coupled simple on-line derivatization gas chromatography-tandem mass spectrometry for the determination of benzophenone-type UV filters in aqueous samples. *Journal of the Chinese Chemical Society* 59, 107–113. <https://doi.org/10.1002/jccs.201100317>
- Hodge, A.A., Hopkins, F.E., Saha, M., Jha, A.N., (2025). Ecotoxicological effects of sunscreen derived organic and inorganic UV filters on marine organisms: A critical review. *Mar. Pollut. Bull.* 213, 117627. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.117627>
- Hojerová, J., Peráčková, Z., & Beránková, M. (2017). Margin of safety for two UV filters estimated by in vitro permeation studies mimicking consumer habits: Effects of skin shaving and sunscreen reapplication. *Food and Chemical Toxicology*, 103, 66–78. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.02.013>
- Holick, M.F., (2016). Biological Effects of Sunlight, Ultraviolet Radiation, Visible Light, Infrared Radiation and Vitamin D for Health. *Advances in Physical Ergonomics and Human Factors* 602, 1345–1356. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60825-9>
- Holt, E.L., Krokidi, K.M., Turner, M.A.P., Rodrigues, N., Stavros, V.G., (2020). Insights into the photoprotection mechanism of the UV filter homosalate. *Physical Chemistry Chemical Physics* 27, 15509–15519. <https://doi.org/10.1039/d0cp02610g>
- Huang, W., Xie, Z., Yan, W., Mi, W., Xu, W., (2016). Occurrence and distribution of synthetic musks and organic UV filters from riverine and coastal sediments in the Pearl River estuary of China. *Marine Pollution Bulletin* 111, 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.07.018>
- Huang, Y., Law, J.C.F., Lam, T.K., Leung, K.S.Y., (2021). Risks of organic UV filters: a review

- of environmental and human health concern studies. *Science of The Total Environment* 755, 1-17. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142486>
- Jesus, A., Sousa, E., Cruz, M.T., Cidade, H., Lobo, J.M.S., Almeida, I.F., (2022). UV Filters: Challenges and Prospects. *Pharmaceuticals* 15, 1–26. <https://doi.org/10.3390/ph15030263>
- Jung, J., Kang, J.S., Choi, J., Park, J., (2021). A Novel Approach to Derive the Predicted No-Effect Concentration (PNEC) of Benzophenone-3 (BP-3) Using the Species Sensitivity Distribution (SSD) Method: Suggestion of a New PNEC Value for BP-3. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18, <https://doi.org/10.3390/ijerph18073650>
- Kaiser, D., Wappelhorst, O., Oetken, M., Oehlmann, J., (2012). Occurrence of widely used organic UV filters in lake and river sediments. *Environmental Chemistry* 9, 139–147. <https://doi.org/10.1071/EN11076>
- Kasprzyk-hordern, B., Dinsdale, R.M., Guwy, A.J., (2009). The removal of pharmaceuticals , personal care products , endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Research* 43, 363–380. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.10.047>
- Kerr, A., Ferguson, J., (2010). Photoallergic contact dermatitis. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine* 26, 56–65. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0781.2010.00494.x>
- Kim, K., Mueller, J., Park, Y.B., Jung, H.R., Kang, S.H., Yoon, M.H., Lee, J.B., (2011). Simultaneous determination of nine UV filters and four preservatives in sun care products by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatographic Science* 49, 554–559. <https://doi.org/10.1093/chrsci/49.7.554>
- Klimová, Z., Hojerová, J., & Beránková, M. (2015). Skin absorption and human exposure estimation of three widely discussed UV filters in sunscreens – In vitro study mimicking real-life consumer habits. *Food and Chemical Toxicology*, 83, 237–250. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.06.025>
- Kockler, J., Oelgemöller, M., Robertson, S., Glass, B.D., (2012). Photostability of sunscreens. *Journal of Photochemistry and Photobiology* 13, 91–110. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochemrev.2011.12.001>
- Kojić, M., (2020). Teorijsko istraživanje strukture i relaksacionih mehanizama fotopobuđenog avobenzona pomoću ab initio metoda. Doktorska disertacija, Fakultet za fizičku hemiju, Univerzitet u Beogradu.
- Kunze, G., Schlifke, A., Jackson, E., Hefner, N., Berg, K., and Vollhardt, J. (2021). A Novel, Benchmark-Centered, Eco-Impact Rating System for Sunscreens and Sunscreen Formulation Design. *Front. Environ. Sci.* 9, 727404. <https://doi:10.3389/fenvs.2021.727404>
- Kwon, B., Choi, K., (2021). Occurrence of major organic UV filters in aquatic environments and their endocrine disruption potentials: A mini-review. *Integrated Environmental Assessment and Management* 17, 940–950. <https://doi.org/10.1002/ieam.4449>
- Labille, J., Slomberg, D., Catalano, R., Robert, S., Apers-Tremelo, M.L., Boudenne, J.L., Manasfi, T., Radakovitch, O., (2020). Assessing UV filter inputs into beach waters during recreational

- activity: A field study of three French Mediterranean beaches from consumer survey to water analysis. *Science of The Total Environment* 706. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.136010>
- Li, Y., Chen, L., Li, H., Peng, F., Zhou, X., Yang, Z., (2020). Occurrence, distribution, and health risk assessment of 20 personal care products in indoor and outdoor swimming pools. *Chemosphere* 254, 126872. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126872>
- Li, Y., Liu, Z., Zhang, Y., Jiang, L., Cai, Y., Chen, X., Zhou, X., Li, H., Li, F., Zhang, J., & Liu, C. (2021). Investigation and probabilistic health risk assessment of trace elements in good sale lip cosmetics crawled by Python from Chinese e-commerce market. *Journal of Hazardous Materials*, 405, 124279. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124279>
- Liao, F.Y., Su, Y.L., Weng, J.R., Lin, Y.C., Feng, C.H., (2020). Ultrasound-vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography-diode array detection for determining UV filters in cosmetics and the human stratum corneum. *Molecules* 25. <https://doi.org/10.3390/molecules25204642>
- Liu, H., Liu, L., Xiong, Y., Yang, X., Luan, T., (2010). Simultaneous determination of UV filters and polycyclic musks in aqueous samples by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217, 6747–6753. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.06.004>
- Lukić J., Đuraš Z., Đurkić T., Onjia A. (2022). Optimization of solid-phase extraction for determination of isoamyl 4-methoxycinnamate in water, Chem2Change - 2nd Online ACE Seminar on Chemistry and the Environment, Book of Abstracts, 32. (ISBN: 978-80-7560-406-4)
- Lukić J., Đurkić T., Onjia A. (2023). Dispersive liquid-liquid microextraction and Monte Carlo simulation of margin of safety for octocrylene, EHMC, 2ES, and homosalate in sunscreens, *Biomedical Chromatography* 37, <https://doi.org/10.1002/bmc.5590>
- Lukić J., Đurkić T., Bakić T., Radulović J., Onjia A., Procena ekološkog rizika usled prisustva benzofenona-4 u otpadnim vodama, 34. Međunarodni kongres o procesnoj industriji Procesing '21, 3. i 4. jun 2021, Novi Sad, Zbornik radova, 34(1), 119-122. (ISBN: 978-86-85535-08-6) <https://doi.org/10.24094/ptk.021.34.1.119>
- Lukić J., Đurkić T., Radulović J., Bakić T., Onjia A, Screening Design of Experiment Applied to Dispersive Liquid-Liquid Microextraction of UV Filters from Water, 4th International Conference on Technology, Engineering and Science (IConTES), Antalya, Turkey, October 29 - November 1 2020, Proceedings Book, 11, 1-4. (ISSN: 2602-3199)
- Lukić, J., Rvović, S., Đurkić, T., and Onjia, A. (2021). Procena ekološkog rizika usled prisustva organskih UV filtera u vodi i sedimentima. *Ecologica* 28, 325–330. <https://doi.org/10.18485/ecologica.2021.28.102.26>.
- Lukić, J., Radulović, J., Lučić, M., Đurkić, T., & Onjia, A. (2022). Chemometric Optimization of Solid-Phase Extraction Followed by Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry and Probabilistic Risk Assessment of Ultraviolet Filters in an Urban Recreational Lake. *Frontiers in Environmental Science*, 10, 916916. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.916916>

- Majhi, P.D., Sharma, A., Roberts, A.L., Daniele, E., Majewski, A.R., Chuong, L.M., Black, A.L., Vandenberg, L.N., Schneider, S.S., Dunphy, K.A., Jerry, D.J., (2020). Effects of Benzophenone-3 and Propylparaben on Estrogen Receptor – Dependent R-Loops and DNA Damage in Breast Epithelial Cells and Mice. *Environmental Health Perspectives* 128, 1–15. <https://doi.org/10.1289/EHP5221>
- Manaia, E.B., Kaminski, R.C.K., Corrêa, M.A., Chiavacci, L.A., (2013). Inorganic UV filters. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 49, 201–209. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000200002>
- Manová, E., von Goetz, N., Hauri, U., Bogdal, C., Hungerbühler, K., (2013). Organic UV filters in personal care products in Switzerland: A survey of occurrence and concentrations. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 216, 508–514. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2012.08.003>
- Mansour, F.R., Danielson, N.D., (2017). Solidification of floating organic droplet in dispersive liquid-liquid microextraction as a green analytical tool. *Talanta* 17, 1-74. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.084>
- Marinovich, M., Boraso, M.S., Testai, E., Galli, C.L., (2014). Metals in cosmetics: An a posteriori safety evaluation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 69, 416–424. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.05.005>
- Medina, A., Casado-Carmona, F.A., López-Lorente, Á.I., Cárdenas, S., (2020). Magnetic graphene oxide composite for the microextraction and determination of benzophenones in water samples. *Nanomaterials* 10. <https://doi.org/10.3390/nano10010168>
- Mitchelmore, C.L., He, K., Gonsior, M., Hain, E., Heyes, A., Clark, C., Younger, R., Schmitt-Kopplin, P., Feerick, A., Conway, A., Blaney, L., (2019). Occurrence and distribution of UV-filters and other anthropogenic contaminants in coastal surface water, sediment, and coral tissue from Hawaii. *Science of The Total Environment* 670, 398–410. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.034>
- Mitchelmore, C. L., Burns, E. E., Conway, A., Heyes, A., and Davies, I. A. (2021). A Critical Review of Organic Ultraviolet Filter Exposure, Hazard, and Risk to Corals. *Environ. Toxicol. Chem.* 40, 967–988. <https://doi:10.1002/etc.4948>.
- Moeder, M., Schrader, S., Winkler, U., Rodil, R., (2010). At-line microextraction by packed sorbent-gas chromatography-mass spectrometry for the determination of UV filter and polycyclic musk compounds in water samples. *Journal of Chromatography A* 1217, 2925–2932. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.02.057>
- Mousavi, L., Tamiji, Z., Khoshayand, M.R., (2018). Applications and opportunities of experimental design for the dispersive liquid–liquid microextraction method – A review. *Talanta* 190, 335–356. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.08.002>
- Moussa, B. A., Mahrouse, M. A., & Fawzy, M. G. (2021). Application of experimental design in HPLC method optimization and robustness for the simultaneous determination of canagliflozin, empagliflozin, linagliptin, and metformin in tablet. *Biomedical Chromatography*, 35(10). <https://doi.org/10.1002/bmc.5155>

- Narloch, I., Wejnerowska, G., (2021). An Overview of the Analytical Methods for the Determination. *Molecules* 26, 1-27. <https://doi.org/10.3390/molecules26164780>
- National Academies of Sciences, Engineering, and M.H. and M.D.D. on E. and L.S.B. on H.S.P.B. on E.S. and T.O.S.B.C. on E.I. of C.M.S. and P., (2022). Review of Fate, Exposure, and Effects of Sunscreens in Aquatic Environments and Implications for Sunscreen Usage and Human Health. <https://doi.org/10.17226/26381>
- Nečasová, A., Bányiová, K., Literák, J., & Čupr, P. (2017). New Probabilistic Risk Assessment of Ethylhexyl Methoxycinnamate: Comparing the Genotoxic Effects of Trans- and Cis-EHMC. *Environmental Toxicology*, 32(2), 569–580. <https://doi.org/10.1002/tox.22260>
- Nyeborg, M., Pissavini, M., Lemasson, Y., Doucet, O., (2010). Validation of HPLC method for the simultaneous and quantitative determination of 12 UV-filters in cosmetics. *International Journal of Cosmetic Science* 32, 47–53. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00544.x>
- Pawlowski, S., Herzog, B., Sohn, M., Petersen-Thiery, M., Acker, S., (2021). EcoSun Pass: A tool to evaluate the ecofriendliness of UV filters used in sunscreen products. *International Journal of Cosmetic Science* 43, 201–210. <https://doi.org/10.1111/ics.12681>
- Pereira, C., Emídio, E.S., Rosa, M., Marchi, R. De, (2015). The occurrence of UV filters in natural and drinking water in São Paulo State (Brazil). *Environmental Science and Pollution Research* 19706–19715. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5174-3>
- Preto, S., Gomes, C.C., (2018). Ultraviolet Radiation in Sunlight and Artificial Lighting Systems: Are They Alike? *Advances in Physical Ergonomics and Human Factors* 287–298. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60825-9>
- Ramos, S., Homem, V., Alves, A., Santos, L., (2015). Advances in analytical methods and occurrence of organic UV-filters in the environment - A review. *Science of The Total Environment*. 526, 278–311. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.04.055>
- Ramos, S., Homem, V., Santos, L., (2019). Simultaneous determination of synthetic musks and UV-filters in water matrices by dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatography tandem mass-spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1590, 47–57. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.01.013>
- Raslan, R., Hassim, M.H., Chemmangattuvalappil, N.G., Ng, D.K.S., Ten, J.Y., (2020). Safety and health risk assessment methodology of dermal and inhalation exposure to formulated products ingredients. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 116, 104753. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2020.104753>
- Rastogi, S.C., (2002). UV filters in sunscreen products - A survey. *Contact Dermatitis* 46, 348–351. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0536.2002.460605.x>
- Romanhole, R.C., Ataide, J.A., Moriel, P., Mazzola, P.G., (2015). Update on ultraviolet A and B radiation generated by the sun and artificial lamps and their effects on skin. *International Journal of Cosmetic Science* 37, 366–370. <https://doi.org/10.1111/ics.12219>
- Rutkowska, M., Płotka-Wasyłka, J., Sajid, M., Andruch, V., (2019). Liquid-phase microextraction: A review of reviews. *Microchemical Journal* 149, 103989. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.103989>

- Bernauer U., L. Bodin, Q. Chaudhry, P.J. Coenraads, M. Dusinska, J. Ezendam, E. Gaffet, C. L. Galli, E. Panteri, V. Rogiers (Rapporteur), Ch. Rousselle, M. Stepnik, T. Vanhaecke, S. Wijnhoven. (2021). The SCCS notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety (SCCS)
- Science, E., Gago-ferrero, P., Alonso, M.B., Bertozzi, C., Barbosa, L., (2013). First Determination of UV Filters in Marine Mammals. Octocrylene Levels in Franciscana Dolphins. *Environmental Science & Technology* 47, 5619–5625 <https://doi.org/10.1021/es400675y>
- Sharma, A., Bányiová, K., Babica, P., El, N., Richard, A., Pavel, Č., (2017). Different DNA damage response of cis and trans isomers of commonly used UV filter after the exposure on adult human liver stem cells and human lymphoblastoid cells. *Science of the Total Environment journal* 594, 18–26. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.043>
- Shrivastava, S., & Daharwal, S. J. (2022). Box–Behnken design avenue for development and validation of high-performance thin-layer chromatography method for estimation of rutin in *Hemidesmus indicus*. *Biomedical Chromatography*, 36(1). <https://doi.org/10.1002/bmc.5236>
- Slavković-Beškoski, L., Ignjatović, L., Bolognesi, G., Maksin, D., Savić, A., Vladislavljević, G., Onjia, A., (2022). Dispersive Solid–Liquid Microextraction Based on the Poly(HDDA)/Graphene Sorbent Followed by ICP-MS for the Determination of Rare Earth Elements in Coal Fly Ash Leachate. *Metals* (Basel). 12. <https://doi.org/10.3390/met12050791>
- Souza, C., & Maia Campos, P. M. B. G. (2017). Development of a HPLC method for determination of four UV filters in sunscreen and its application to skin penetration studies. *Biomedical Chromatography*, 31(12), e4029. <https://doi.org/10.1002/bmc.4029>
- Svigruha, R., Fodor, I., Németh, Z., Farkas, A., Pirger, Z., Ács, A., 2025. Short-term and long-term effects of microplastics and organic UV-filters on the invertebrate model species *Daphnia magna*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 32, 4841–4855. <https://doi.org/10.1007/s11356-025-36008-z>
- Tadić, T., Marković, B., Radulović, J., Lukić, J., Suručić, L., Nastasović, A., Onjia, A., (2022). A Core-Shell Amino-Functionalized Magnetic Molecularly Imprinted Polymer Based on Glycidyl Methacrylate for Dispersive Solid-Phase Microextraction of Aniline. *Sustainability* 14, 1-15. <https://doi.org/10.3390/su14159222>
- Teo, T. L. L., Coleman, H. M., and Khan, S. J. (2015). Chemical contaminants in swimming pools: Occurrence, implications and control. *Environ. Int.* 76, 16–31. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.11.012>
- Tokumura, M., Nitta, S., Hayashi, T., Yamaguchi, R., Wang, Q., Miyake, Y., Amagai, T., & Makino, M. (2020). Probabilistic exposure assessment of aggregate rates of dermal exposure of Japanese women and children to parabens in personal care products. *Chemosphere*, 239, 124704. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124704>
- Tovar-Sánchez, A., Sánchez-Quiles, D., Basterretxea, G., Benedé, J.L., Chisvert, A., Salvador, A., Moreno-Garrido, I., Blasco, J., (2013). Sunscreen Products as Emerging Pollutants to Coastal Waters. *PLoS One* 8. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065451>
- Trbojević, I.S., Popović, S.D.S.S., Milovanović, V. V., Predojević, D.D., Subakov Simić, G. V.,

- Jakovljević, O.S., Krizmanić, J.A., (2021). Substrate type selection in diatom based lake water quality assessment. *Knowledge and Management of Aquatic Ecosystems* 22-Janua. <https://doi.org/10.1051/kmae/2021022>
- Tsui, M.M.P., Leung, H.W., Kwan, B.K.Y., Ng, K.Y., Yamashita, N., Taniyasu, S., Lam, P.K.S., Murphy, M.B., (2015). Occurrence, distribution and ecological risk assessment of multiple classes of UV filters in marine sediments in Hong Kong and Japan. *Journal of Hazardous Materials* 292, 180–187. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.03.025>
- Tsui, M.M.P., Leung, H.W., Wai, T.C., Yamashita, N., Taniyasu, S., Liu, W., Lam, P.K.S., Murphy, M.B., (2014). Occurrence, distribution and ecological risk assessment of multiple classes of UV filters in surface waters from different countries. *Water Research* 67, 55–65. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.013>
- Valle-Sistac, J., Molins-Delgado, D., Díaz, M., Ibáñez, L., Barceló, D., Díaz-cruz, M.S., (2016). Determination of parabens and benzophenone-type UV filters in human placenta . First description of the existence of benzyl paraben and benzophenone-4. *Environmental International* 88, 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.12.034>
- Verhagen, R., Veal, C., O'Malley, E., Gallen, M., Sturm, K., Bartkow, M., Kaserzon, S., 2025. Impact of ultraviolet filters and polycyclic aromatic hydrocarbon from recreational activities on water reservoirs in southeast Queensland Australia. *Environ. Toxicol. Chem.* 44, 674–682. <https://doi.org/10.1093/etjnl/vgaf007>
- Verma, A., Zanoletti, A., Kareem, K.Y., Adelodun, B., Kumar, P., Ajibade, F.O., Silva, L.F.O., Phillips, A.J., Kartheeswaran, T., Bontempi, E., Dwivedi, A., (2024). Skin protection from solar ultraviolet radiation using natural compounds: a review. *Environmental Chemistry Letters* 22, 273–295. <https://doi.org/10.1007/s10311-023-01649-4>
- Vosough, M., Shekari, N., Salemi, A., Heidar, K.T., (2017). Chemometrics-assisted fast-elution HPLC-DAD for the quantification of selected uv filters and parabens in suncare formulations. *Journal of AOAC International*. 100, 377–386. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.16-0209>
- Young, A.R., Claveau, J., Rossi, A.B., (2017). Ultraviolet radiation and the skin: Photobiology and sunscreen photoprotection. *J. Am. Acad. Dermatol.* 76, S100–S109. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2016.09.03>
- Wai, V., Li, T., Po, M., Tsui, M., Chen, X., Nga, M., Hui, Y., Jin, L., Lam, R.H.W., Man, R., Yu, K., Murphy, M.B., Cheng, J., (2016). Effects of 4-methylbenzylidene camphor (4-MBC) on neuronal and muscular development in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environmental Science and Pollution Research* 23, 8275–8285. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6180-9>
- Wharton, M., Geary, M., O'Connor, N., Curtin, L., Ketcher, K., (2015). Simultaneous Liquid Chromatographic Determination of 10 Ultra-Violet Filters in Sunscreens. *Journal of Chromatographic Science*. 53, 1289–1295. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmv001>
- Who, 2002. Global Solar UV Index A Practical Guide. World Health 18.
- Wick, A., Fink, G., Ternes, T.A., (2010). Comparison of electrospray ionization and atmospheric pressure chemical ionization for multi-residue analysis of biocides, UV-filters and benzothiazoles in aqueous matrices and activated sludge by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1217, 2088–2103.

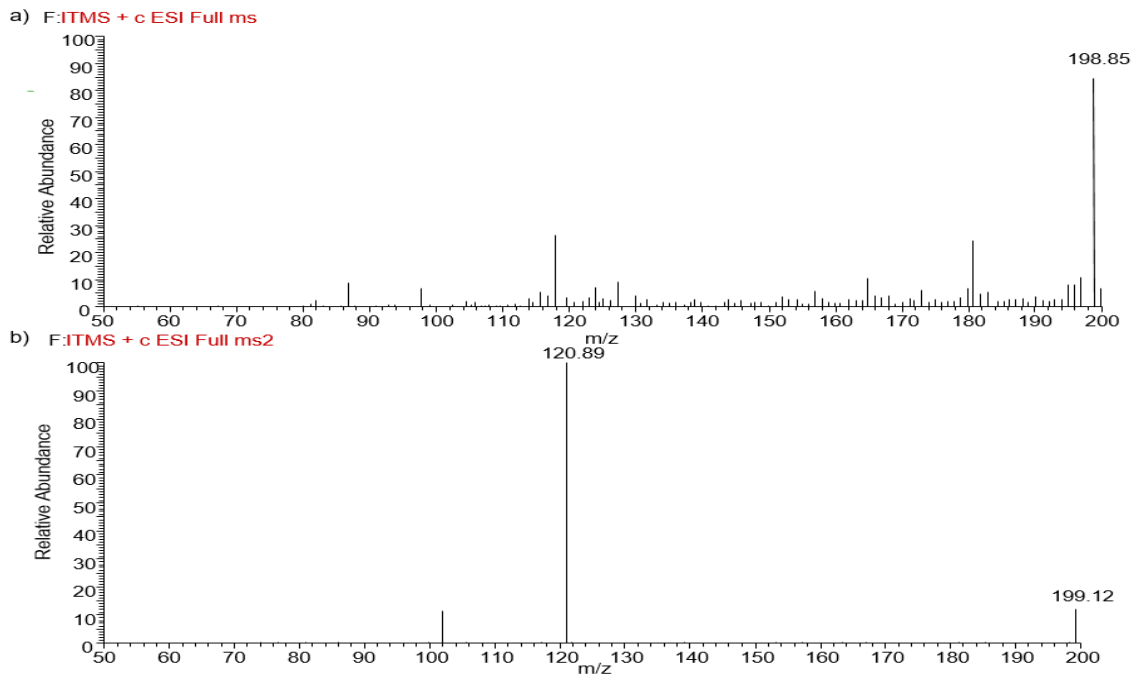
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2010.01.079>

- Wu, M. hong, Li, Jian, Xu, G., Ma, L. dan, Li, Jia jun, Li, Jin song, Tang, L., (2018). Pollution patterns and underlying relationships of benzophenone-type UV-filters in wastewater treatment plants and their receiving surface water. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 152, 98–103. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.01.036>
- Wu, M. hong, Xie, D. guo, Xu, G., Sun, R., Xia, X. yu, Liu, W. long, Tang, L., (2017). Benzophenone-type UV filters in surface waters: An assessment of profiles and ecological risks in Shanghai, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 141, 235–241. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.03.013>

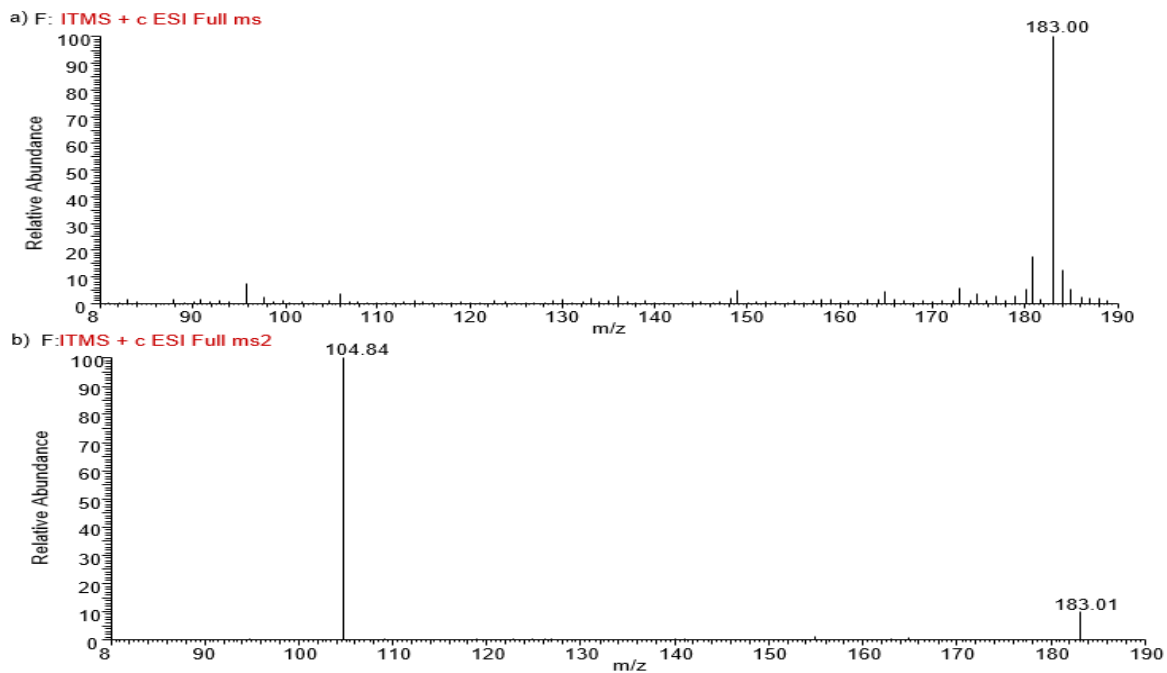
## PRILOG

**Tabela P1.** Pojedinačne i zbirne vrednosti koeficijenta rizika pri proceni ekološkog rizika u Savskom jezeru.

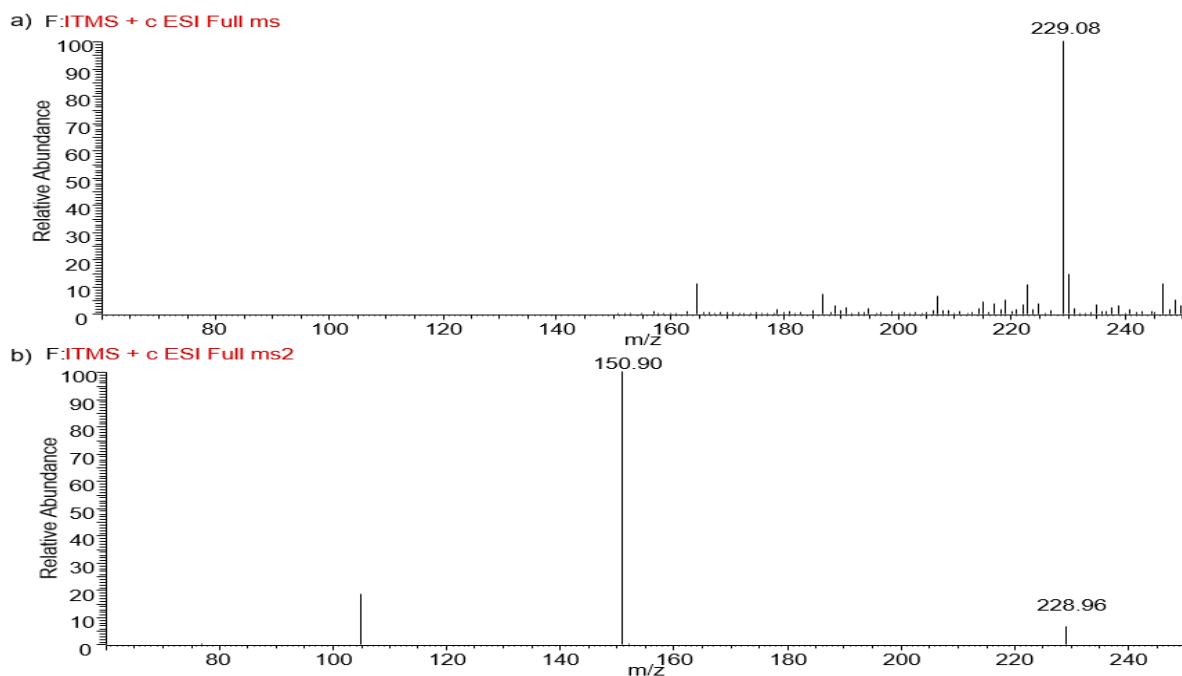
Br. uzorka	BP-1	4-HB	BP-3	BP-4	IAMC	HMS	4-MBC	OC	OD-PABA	EHMC	AVO	ΣRQ
1	0,0068	0,0006	0,0003	0,0000	0,0002	0,0000	0,0058	0,0033	0,0014	0,0155	0,0027	0,0367
2	0,0089	0,0006	0,0003	0,0000	0,0002	0,0000	0,0057	0,0037	0,0012	0,0211	0,0029	0,0447
3	0,0104	0,0004	0,0003	0,0000	0,0002	0,0000	0,0048	0,0032	0,0006	0,0155	0,0040	0,0393
4	0,0066	0,0005	0,0002	0,0000	0,0002	0,0000	0,0028	0,0033	0,0012	0,0210	0,0022	0,0380
5	0,0082	0,0004	0,0002	0,0000	0,0001	0,0000	0,0038	0,0038	0,0009	0,0223	0,0045	0,0442
6	0,0054	0,0004	0,0002	0,0000	0,0002	0,0000	0,0036	0,0030	0,0019	0,0214	0,0044	0,0404
7	0,0061	0,0002	0,0002	0,0000	0,0002	0,0000	0,0035	0,0036	0,0007	0,0200	0,0037	0,0380
8	0,0095	0,0005	0,0003	0,0000	0,0001	0,0000	0,0040	0,0030	0,0057	0,0138	0,0023	0,0391
9	0,0086	0,0005	0,0003	0,0000	0,0002	0,0000	0,0058	0,0031	0,0018	0,0165	0,0033	0,0401
10	0,0093	0,0004	0,0002	0,0000	0,0002	0,0000	0,0062	0,0013	0,0005	0,0196	0,0017	0,0394
11	0,0150	0,0006	0,0003	0,0000	0,0002	0,0000	0,0287	0,0042	0,0005	0,2344	0,0018	0,2857
12	0,0252	0,0008	0,0009	0,0000	0,0007	0,0001	0,0302	0,0172	0,0004	0,9452	0,0242	1,0450
13	0,0221	0,0008	0,0011	0,0000	0,0012	0,0001	0,1769	0,0181	0,0027	1,4590	0,0285	1,7106
14	0,0264	0,0010	0,0008	0,0000	0,0015	0,0001	0,1108	0,0180	0,0019	1,2995	0,0259	1,4858
15	0,0271	0,0009	0,0006	0,0000	0,0021	0,0001	0,1591	0,0147	0,0031	1,1059	0,0216	1,3351
16	0,0239	0,0007	0,0005	0,0000	0,0003	0,0000	0,0126	0,0038	0,0004	0,0425	0,0017	0,0865
17	0,0175	0,0008	0,0005	0,0000	0,0003	0,0000	0,0097	0,0052	0,0008	0,0356	0,0025	0,0730
18	0,0111	0,0004	0,0003	0,0000	0,0002	0,0000	0,0052	0,0026	0,0007	0,0128	0,0019	0,0350
19	0,0296	0,0012	0,0009	0,0000	0,0006	0,0000	0,0322	0,0102	0,0013	0,1511	0,0097	0,2370
20	0,0289	0,0011	0,0008	0,0000	0,0005	0,0000	0,0390	0,0117	0,0020	0,1332	0,0098	0,2271
21	0,0126	0,0005	0,0005	0,0001	0,0003	0,0000	0,0139	0,0084	0,0009	0,0362	0,0026	0,0759
22	0,0329	0,0009	0,0008	0,0001	0,0008	0,0000	0,0445	0,0084	0,0017	0,3163	0,0072	0,4134
23	0,0202	0,0006	0,0005	0,0000	0,0003	0,0000	0,0141	0,0070	0,0008	0,0245	0,0028	0,0708
24	0,0196	0,0007	0,0004	0,0000	0,0003	0,0000	0,0151	0,0061	0,0010	0,0306	0,0053	0,0791
25	0,0206	0,0005	0,0005	0,0000	0,0003	0,0000	0,0129	0,0061	0,0005	0,0192	0,0013	0,0617
26	0,0224	0,0006	0,0005	0,0000	0,0003	0,0000	0,0171	0,0074	0,0013	0,0262	0,0029	0,0788
27	0,0327	0,0010	0,0007	0,0000	0,0009	0,0001	0,0574	0,0104	0,0020	0,9563	0,0174	1,0788
28	0,0303	0,0010	0,0008	0,0000	0,0008	0,0001	0,0623	0,0095	0,0018	0,9188	0,0197	1,0449



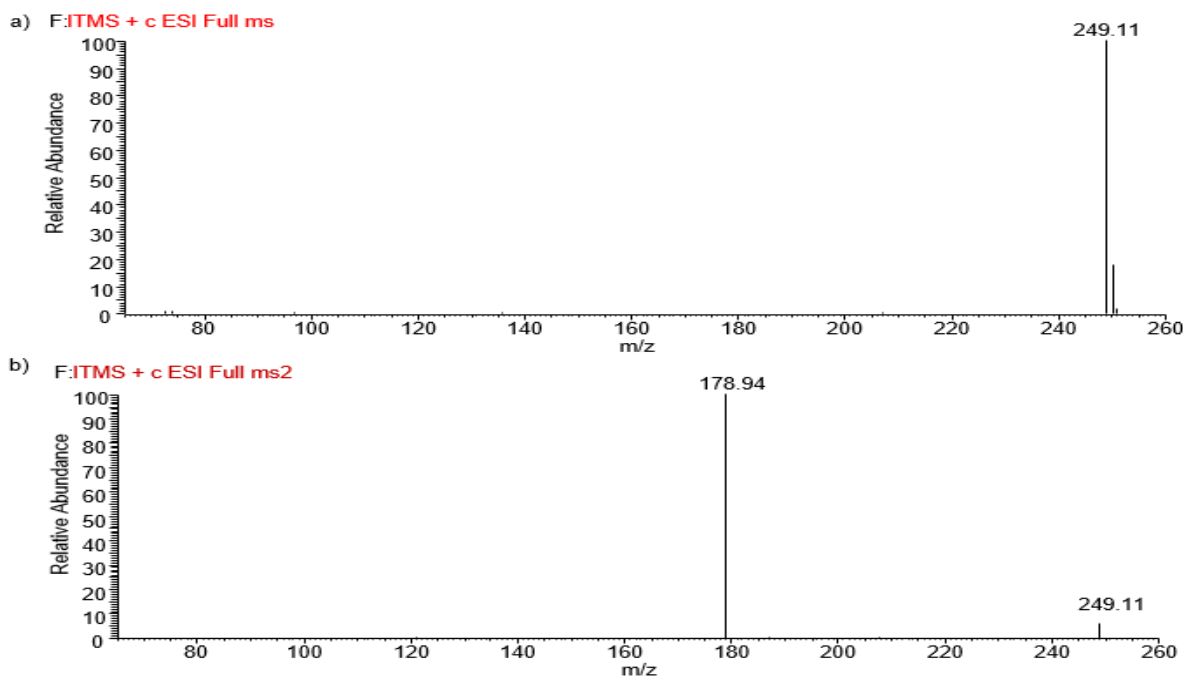
Slika P1. Maseni spektri 4-HB: a) ESI(+) $MS$ ; (b) ESI(+) $MS^2$



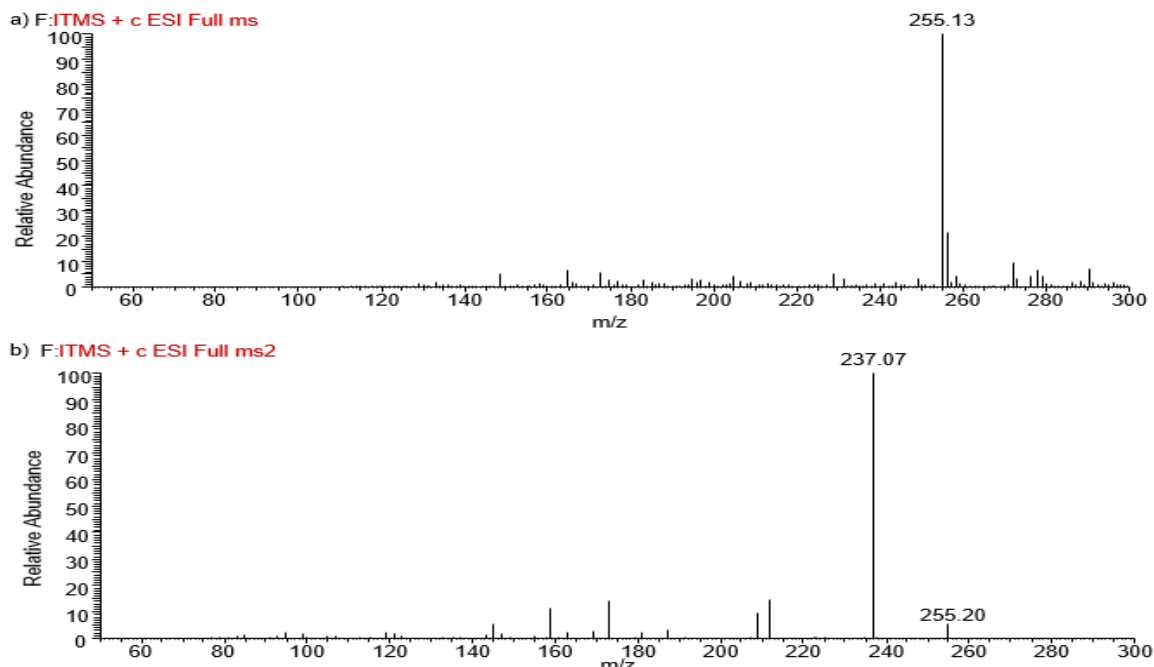
Slika P2. Maseni spektri BP-1: a) ESI(+) $MS$ ; (b) ESI(+) $MS^2$



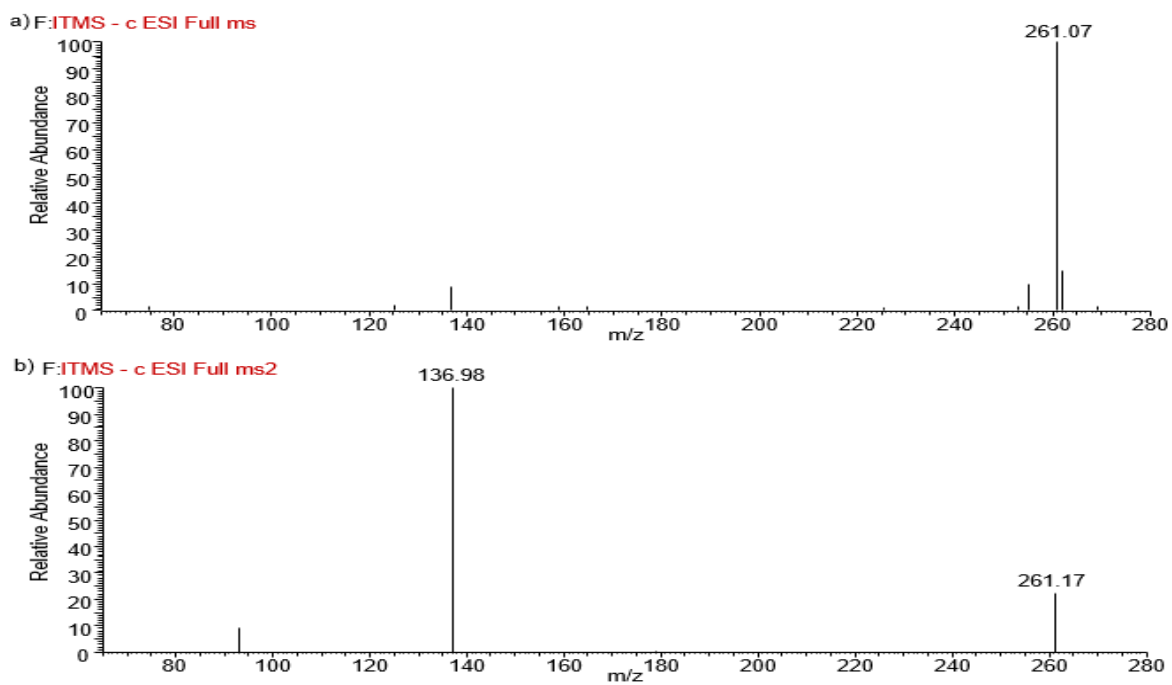
Slika P3. Maseni spektri BP-3: a) ESI(+) $MS$ ; (b) ESI(+) $MS^2$



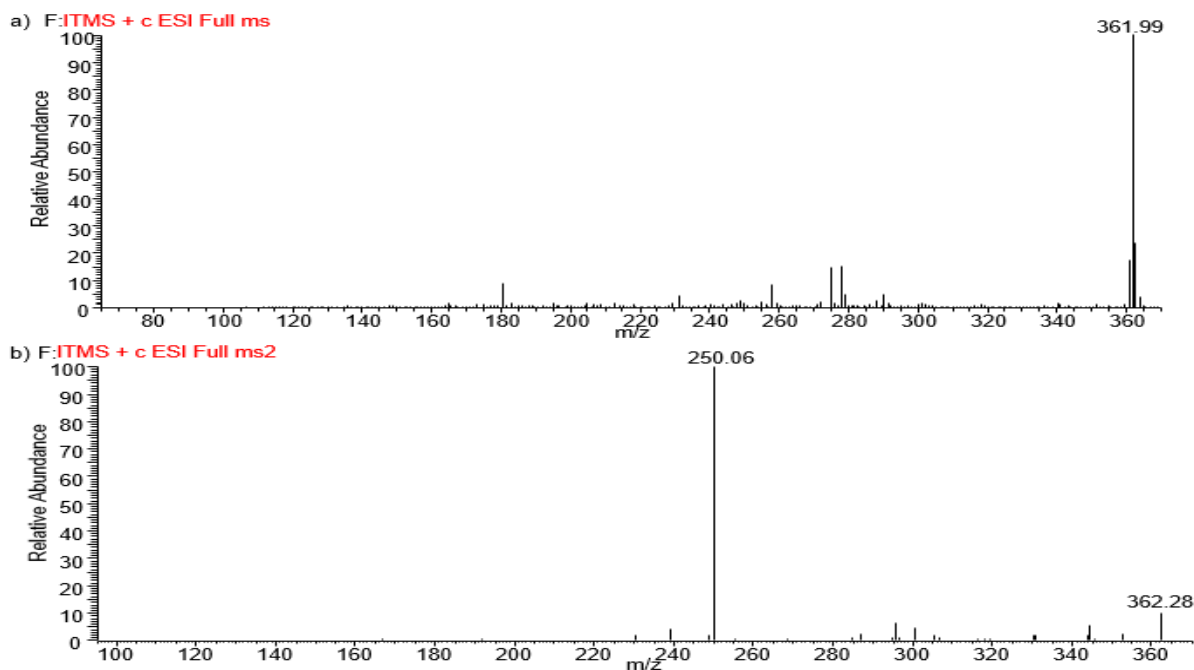
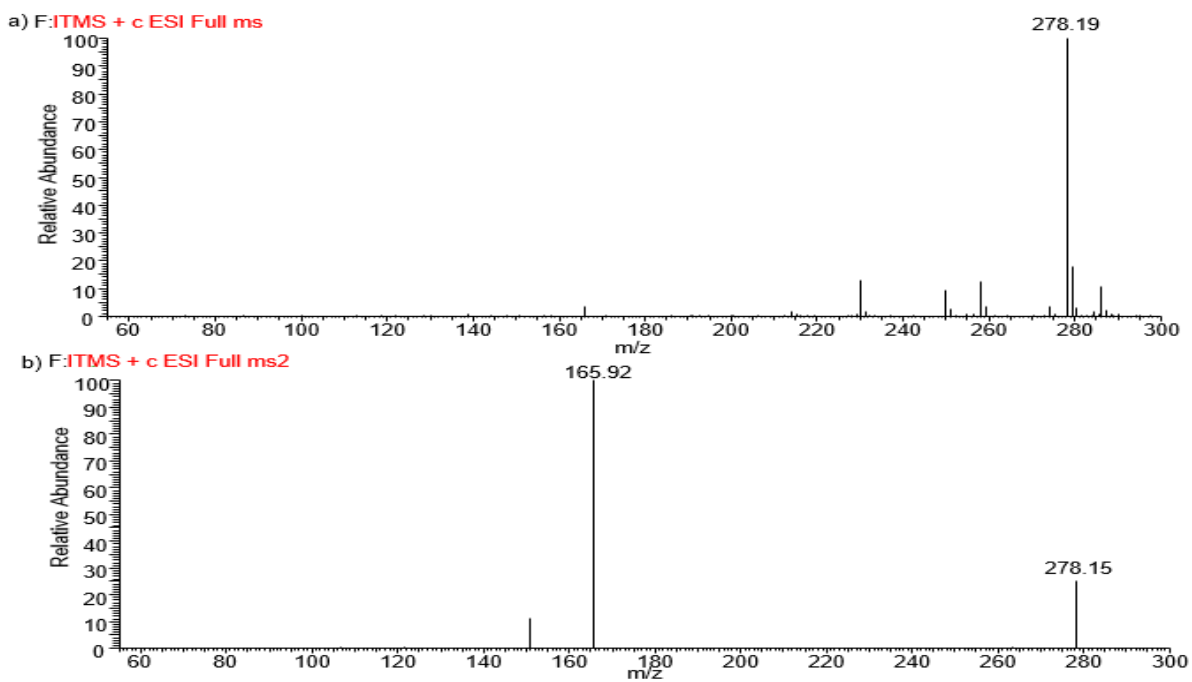
Slika P4. Maseni spektri IAMC: a) ESI(+) $MS$ ; (b) ESI(+) $MS^2$

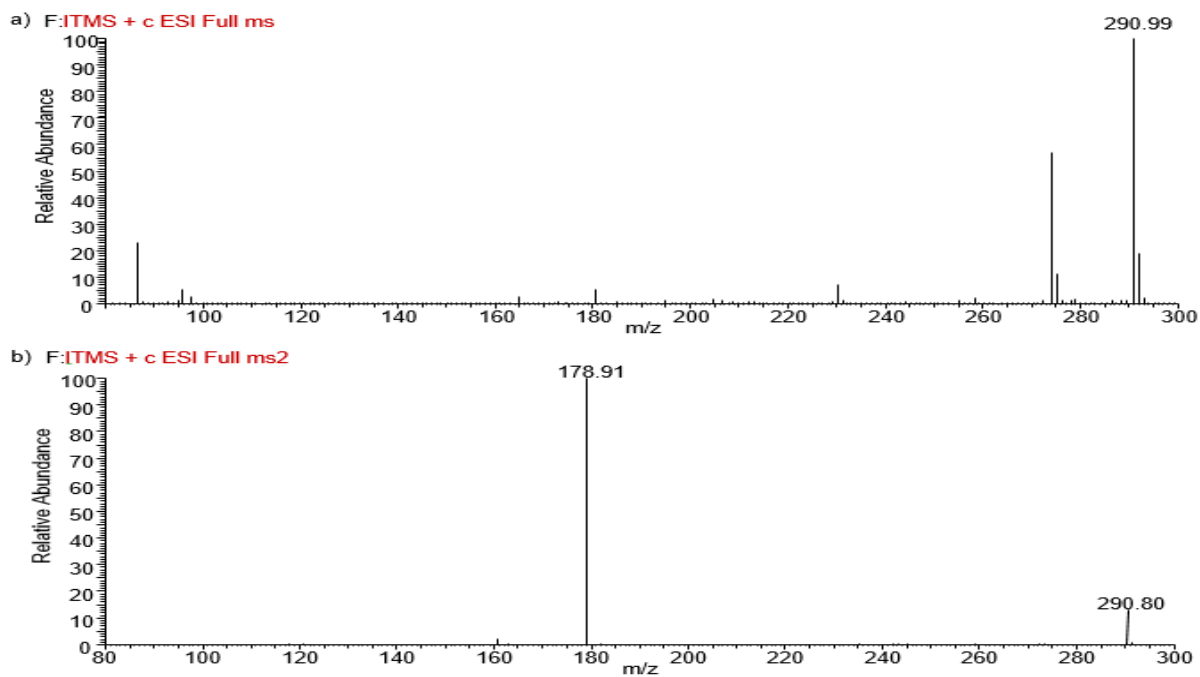


Slika P5. Maseni spektri 4-MBC: a) ESI(+)MS; b) ESI(+)MS<sup>2</sup>

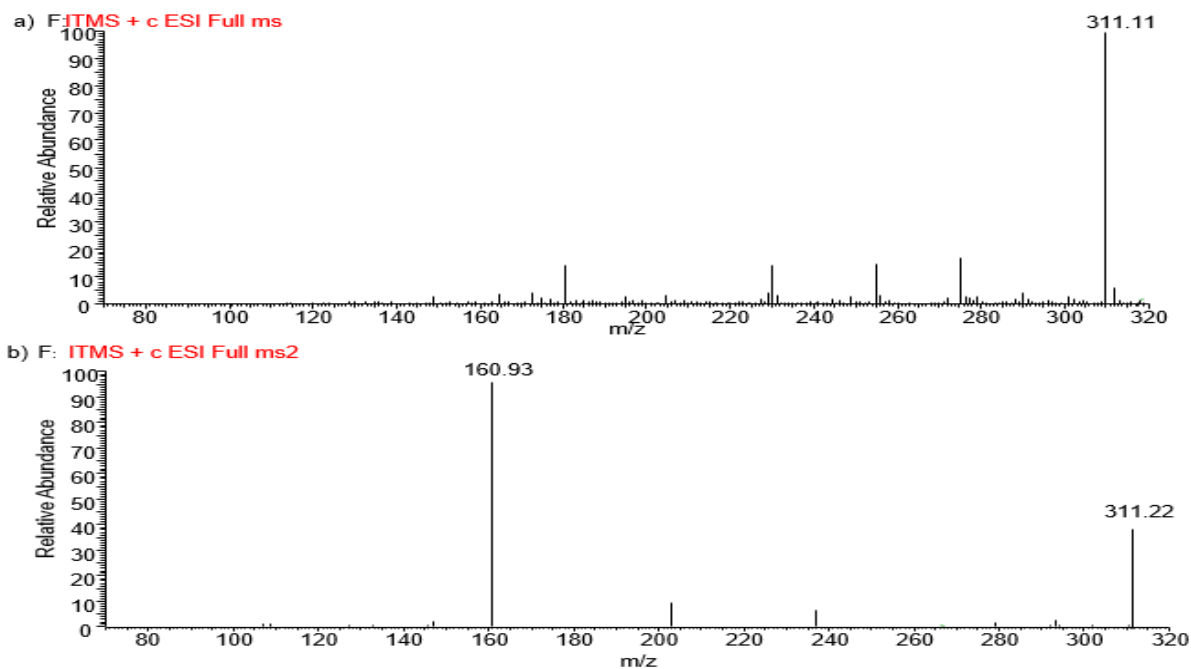


Slika P6. Maseni spektri HMS: a) ESI(-)MS; b) ESI(-)MS<sup>2</sup>

Slika P7. Maseni spektri OC: a) ESI(+)-MS; b) ESI(+)-MS<sup>2</sup>Slika P8. Maseni spektri OD-PABA: a) ESI(+)-MS; b) ESI(+)-MS<sup>2</sup>



Slika P9. Maseni spektri EHMC: a) ESI(+)-MS; (b) ESI(+)-MS<sup>2</sup>



Slika P10. Maseni spektri AVO: a) ESI(+)-MS; (b) ESI(+)-MS<sup>2</sup>

## BIOGRAFIJA AUTORA

Jelena D. Stojaković (rođ. Lukić) rođena je 20.12.1994. godine u Pančevu. Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, studijski program Inženjerstvo zaštite životne sredine, upisala je školske 2013/14. godine. Osnovne studije završila je 2017. godine sa prosečnom ocenom 8,76/10.

Master akademske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu Univerziteta u Beogradu, studijski program Inženjerstvo zaštite životne sredine, upisala je 2017. godine, a završila ih je 2018. godine sa prosečnom ocenom 9,14/10.

Školske 2018/19. godine upisala je doktorske akademske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu u Beogradu, smer Inženjerstvo zaštite životne sredine, pod rukovodstvom komentora dr Tatjane Đurkić, redovnog profesora Tehnološko-metalurškog fakulteta i dr Antonija Onjije, redovnog profesora Tehnološko-metalurškog fakulteta. Na doktorskim studijama je položila sve ispite predviđene planom i programom sa prosečnom ocenom 9,33 i odbranila završni ispit.

Od marta 2019. godine zaposlena je u Inovacionom centru Tehnološko-metalurškog fakulteta. Bila je angažovana na projektu Ministarstva nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije pod nazivom „Razvoj i primena metoda i materijala za monitoring novih zagađujućih materija i teških metala“ (evidencioni br. OI 172007). Od novembra 2022. godine do januara 2025. godine bila je angažovana kao član tima na projektu „Serbian Industrial Waste towards Sustainable Environment: Resource of Strategic Elements and Removal Agent for Pollutants“ (br. 7743343) u okviru programa „IDEJE“.

Iz dosadašnjih istraživanja publikovala je sedam (7) naučnih radova u vrhunskim međunarodnim časopisima kategorije M20, od čega pet (5) naučnih radova u vrhunskim međunarodnim časopisima kategorije M21, jedan (1) naučni rad u istaknutom međunarodnom časopisu kategorije M22, jedan (1) naučni rad u istaknutom međunarodnom časopisu kategorije M23, kao i dva (2) naučna rada u časopisima nacionalnog značaja kategorije M51. Takođe, Jelena D. Stojaković je autor i koautor dvanaest (12) saopštenja sa međunarodnih i nacionalnih skupova.

## Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora \_\_\_\_\_ Jelena D. Stojaković \_\_\_\_\_

Broj indeksa \_\_\_\_\_ 4011/2018 \_\_\_\_\_

### Izjavljujem

Da je doktorska disertacija pod naslovom

### **Razvoj i primena LC-MS/MS metode za analizu organskih UV filtera i procena rizika usled njihovog prisustva u različitim matricama**

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršilo/la autorska prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, 30.01.2025.

Potpis autora

Jelena Stojaković

## Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

Razvoj i primena LC-MS/MS metode za analizu organskih UV filtera i procena rizika usled njihovog prisustva u različitim matricama

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim priložima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
- ③ Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci.

Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

**Potpis autora**

U Beogradu, 30.01.2025.

Jesena Čirajević

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.

## Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Jelena D. Stojaković

Broj indeksa 4011/2018

Studijski program Inženjerstvo zaštite životne sredine

Naslov rada Razvoj i primena LC-MS/MS metode za analizu organskih UV filtera i procena rizika usled njihovog prisustva u različitim matricama

Mentor dr Tatjana Đurkić i dr Antonije Onjia

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjena u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

**Potpis autora**

U Beogradu, 30.01.2025.

Jelena Stojaković

## OCENA IZVEŠTAJA O PROVERI ORIGINALNOSTI DOKTORSKE DISERTACIJE

Na osnovu Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu i nalaza u izveštaju iz programa iThenticate kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije „**Razvoj i primena LC-MS/MS metode za analizu organskih UV filtera i procena rizika usled njihovog prisustva u različitim matricama**“, autora Jelene (rod. Lukić) Stojaković, master inž. tehnologije, konstatujem da utvrđeno podudaranje teksta iznosi **17%**. Ovaj procenat podudarnosti je posledica upotrebe stručnih termina i naziva korišćenih metoda i njihovih skraćenica i instrumenata koji se nalaze u navedenoj tezi, kao i prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja, koji su proistekli iz njene disertacije, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika.

Na osnovu svega iznetog, a u skladu sa članom 8. stav 2. Pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu, izjavljujem da izveštaj ukazuje na originalnost doktorske disertacije, te se propisani postupak pripreme za njenu odbranu može nastaviti.

U Beogradu, 20.03.2025.

Mentori



Dr Tatjana Đurkić, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet



Dr Antonije Onjia, redovni profesor  
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet