

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

ХЕМИЈСКОГ ФАКУЛТЕТА

УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

ПРЕДМЕТ: Извештај о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације кандидаткиње Кристине Б. Касалице, мастер биохемичара

На редовној седници Наставно-научног већа Хемијског факултета Универзитета у Београду, одржаној 16.05.2024. године, одређени смо у Комисију за подношење извештаја о оцени научне заснованости и оправданости предложене теме за израду докторске дисертације кандидаткиње Кристине Б. Касалице, мастер биохемичара, под називом:

„Утицај адсорпције, фотокатализе и микробиолошке трансформације на деградацију модела перфлуорованих једињења”

На основу поднете документације и увида у досадашњи рад кандидаткиње Кристине Б. Касалице, Комисија подноси Наставно-научном већу Хемијског факултета следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. БИОГРАФСКИ ПОДАЦИ О КАНДИДАТКИЊИ

Кристина Б. Касалица је рођена 20. августа 1996. године у Београду, Србија. Основну школу „Свети Сава“ и гимназију „Трећа Београдска гимназија“ завршила је у Београду. Хемијски факултет Универзитета у Београду, одсек Биохемија, уписује 2015. године. Дипломирала је 2020. године са завршним радом „Електрохемијска деградација азо боје Reactive black 5 употребом енергије микробне горивне ћелије – карактеризација производа“, са оценом 10. Исте године на студијском програму биохемија уписује и мастер студије и завршава 2021. године одбраном мастер тезе под насловом: „Биоусвојивост цинка од стране пивског квасца, *Saccharomyces cerevisiae*, Safale US-05“ са оценом 10. Дотадашње студије завршава општом просечном оценом 8,2 и уписује Докторске студије, одсек биохемија 2021. године. Од 26. новембра 2021. године, изабрана је у звање истраживач приправник, када је и запослена на Центру за катализу и хемијско инжењерство, Института за хемију, технологију и металургију. У настави на Хемијском факултету, Универзитета у Београду је ангажована као сарадник у настави на курсевима на основним академским студијама, „Микробиолошка хемија са микробиологијом

(412B2)“, „Основи биотехнологије (413B2)“, као и на мастер академским студијама, на курсу „Биотехнолошка и индустријска биохемија (414B2)“. До сада је презентovala своје резултате на различитим скуповима у земљи и иностранству.

Б. ОБЈАВЉЕНИ НАУЧНИ РАДОВИ И САОПШТЕЊА

Публикације разврстане према категоријама:

M34

1. K. Joksimović, M. Lješević, B. Lončarević, K. Kasalica, N. Lugonja, J. Radulović, V. Beškoski, Exploring the potential of plants for the degradation of perfluorooctanoic acid. 23rd European Meeting on Environmental Chemistry (Book of abstract), Chemical Society of Montenegro, December, 3-6. 2023, Budva (Montenegro), pp 97.
2. K. Kasalica, B. Jimenez, A. Yamamoto, H. Inui, M. Lješević, N. Radić, G. Gojgić-Cvijović, L. Slavković Beškoski, J. Radulović, T. Nakano, V.P. Beškoski, PFAS, from here to eternity – or maybe not, 18th EuChemS International Conference on Chemistry and the Environment (Book of abstract), Ca'Foscari University of Venice (Italy), 2023, pp.183.
3. V. Beškoski, K. Kasalica, B. Jimenez, A. Yamamoto, M. Lješević, N. Radić, L. Slavković Beškoski, Per- and Polyfluoroalkyl Substances - From Challenges to Potential Solutions [Oral presentation]. Book of abstracts, 23rd European meeting on environmental chemistry, Budva, Montenegro, 3-6 December 2023, p. 7.

M64

1. S. Miletić, S. Spasić, J. Avdalović, N. Lugonja, K. Kasalica, K. Joksimović, V. Beškoski, Bioremedijacija zemljišta kao deo održive zelene hemije i inženjerstva. in S. Živković, B. Lončarević, M. Bogunović, G. Gajica (Eds.), 9. Simpozijum Hemija i Zaštita Životne Sredine- EnviroChem 2023 (Knjiga Izvoda), Srpsko hemijsko društvo, Kladovo, Serbia, 2023, pp. 127- 128.
2. S. Spasić, N. Lugonja, J. Avdalović, K. Kasalica, A. Žerađanin, V. Beškoski, S. Miletić, Ex-situ bioremedijacija kao primer cirkularne ekonomije. in S. Živković, B. Lončarević, M. Bogunović, G. Gajica (Eds.), 9. Simpozijum Hemija i Zaštita Životne Sredine – EnviroChem 2023 (Knjiga Izvoda), Srpsko hemijsko društvo, Kladovo, Serbia, 2023, pp. 125-126.
3. K. Kasalica, A. Žerađanin, M. Lješević, K. Joksimović, G. Butrić, G. Gojgić-Cvijović, V. Beškoski, Izolovanje i karakterizacija mikroorganizama visokotolerantnih na perfluorovana

jedinjenja. . in S. Živković, B.Lončarević, M. Bogunović, G. Gajica (Eds.), 9. Simpozijum Hemija i Zaštita Životne Sredine – EnviroChem 2023 (Knjiga Izvoda), Srpsko hemijsko drustvo, Kladovo, Serbia, 2023, pp. 119-120.

V. ОБРАЗЛОЖЕЊЕ ТЕМЕ

1. Научна област: Хемија

Ужа научна област: Биохемија

2. Предмет рада

У оквиру ове докторске дисертације планирано је испитивање могућности деградације перфлуорованих једињења (ПФАС) помоћу абиотичких и биотичких техника. Осим испитивања могућности деградације, биће испитани и механизми који доводе до деградације. Настале деградационе производе је неопходно испитати структурно-инструменталним методама и истовремено проверити њихов утицај на животну средину кроз серију стандардних екотоксиколошких тестова. Истраживања ће бити обављена на перфлуорооктанској киселини (ПФОА) и перфлуорооктансулфонској киселини (ПФОС) као модел једињењима ПФАС.

3. Научни циљ истраживања

Научни циљ планираних истраживања је развој методе за потпуну деградацију ПФАС-ова. Да би се овај циљ остварио испитаће се различите абиотичке и биотичке технике сорпције и деградације ПФОС и ПФОА који ће бити коришћени као модел једињења. Као абиотичке технике биће испитане:

- сорпција ПФАС помоћу различитих адсорбенса (спрашени и гранулисани активни угаљ, јоноизмењивачке смоле, глине) као и
- фотокаталитичка метода деградације ПФАС-ова, при чему ће бити коришћени фотокатализатори на бази алуминијума, цинка, церијума и титанијума.

Када говоримо о биотичким техникама, биће испитана биоремедијација помоћу различитих конзорцијума микроорганизама као и чистих култура бактерија. Микроорганизми који поседују метаболичке путеве који им омогућују раст у присуству перфлуорованих једињења ће бити изоловани из животне средине загађене ПФАС једињењима и детаљно окарактерисани. Успешност процеса деградације абиотичким и биотичким техникама ће се пратити квантификацијом ПФОС и ПФОА течном хроматографијом, док ће производи деградације бити идентификовани нециљаном (енг. non-target) анализом познатих и непознатих једињења течном хроматографијом спрегнутом са масеном спектрометријом високе резолуције. Како бисмо осигурали да

овим методама настају једињења која су мање токсична по животну средину, њихова екотоксичност ће бити процењена стандардним екотоксиколошким тестовима.

4. Методе истраживања

Задаци докторске дисертације исказани у циљевима, захтевају коришћење следећих експерименталних техника:

- **методе за припрему конзорцијума микроорганизама као и изоловање чистих култура:** засејавање микроорганизама у специфичној подлози за обогаћивање (енг. enrichment) и постепено пречишћавање у циљу добијања чистих култура;
- **микробиолошке методе за карактеризацију микроорганизама изолованих из животне средине:** морфологија (одређивањем изгледа колоније, реакције бојења по Граму, величине ћелија и облика); физиологија (присуства цитохрома ц у респираторном ланцу и ензима каталазе); биохемија (употребом комерцијалних Analytical Profile Index (API) тестова); молекуларне методе за идентификацију микроорганизама (секвенцирање гена за 16s rRNA);
- **методе за структурну карактеризацију фотокатализатора:**
 - XRD - Рендгенска дифрактометрија;
 - DRS - Спектроскопија дифузне рефлексије;
 - XPS - Рендген фотоелектронска спектроскопија;
 - FE-SEM - Скенирајућа електронска микроскопија поља;
- **структурно-инструментална метода за квантификацију ПФАС једињења и идентификацију интермедијера деградације:** Течна хроматографија високих перформанси са масеним спектрометром;
- **метода квантификације флуоридних јона употребом јон-селективне електроде;**
- **метода провере екотоксичности производа деградације:** Екотоксичност производа деградације ПФАС-ова након ремедијације ће бити испитана екотоксичним тестовима над сојем бактерије која припада врсти *Aliivibrio Fischeri* NRRL B-1117, а испитивање токсичности ће бити рађено према стандарду ISO 11348-3/2007.

5. Актуелност проблематике у свету

Пер- и полифлуороалкил супстанце (ПФАС) су синтетичка органска једињења која садрже најмање једну потпуно флуоровану метил или метилен групу. Перфлуороалкил супстанце се састоје од ланца угљеника са наелектрисаном, поларном функционалном групом (главом молекула) на једном крају. Типично, ова функционална група је или карбоксилна или сулфонска киселина. Структура ових молекула подсећа на алкане, али уместо атома водоника, атоми флуора су везани за сва места везивања на угљениковом ланцу, осим за поларни део молекула. Полифлуороване супстанце нису потпуно флуороване и најмање један атом флуора је замењен водоником у делу угљениковог ланца. Присуство угљеник-флуор везе доприноси њиховој јединственој високој термичкој и хемијској стабилности, као и хидрофобним својствима, те се широко употребљавају у различитим комерцијалним и индустријским производима, попут пена за гашење течних пожара, прехранбене амбалаже и посуђа, тканине и кожне галантерије, помоћна средства за обраду и површински активне материје [1].

Услед бројне употребе у различитим секторима, ова једињења су широко распрострањена у животној средини, пре свега у води, надземној и подземној, земљишту, седименту, а детектоване су и у биљкама и животињама. Јединствена структура ПФАС их чини веома постојаним и склоним биоакумулацији у различитим матрицама животне средине, што може довести до озбиљних здравствених ефеката [1].

Због разноликих примена, постојаности и токсичности, ПФАС једињења у протеклих двадесетак година су закупила пажњу истраживача и регулаторних тела [2]. Овоме су допринела поједина истраживања која су довела у корелацију изложеност овим једињењима са смањеном плодношћу, болестима бубрега, нарушеним метаболизмом холестерола, канцером, обољењем штитне жлезде и других [3].

ПФАС једињења доспевају у животну средину коришћењем и одлагањем робе широке потрошње, као и на индустријским локацијама где се ова једињења производе [3]. Такође могу доспети у већим количинама директно у животну средину, због употребе водених пена које формирају филм на местима ватрогасних обука или приликом гашења пре свега течних пожара [4]. Када доспеју у животну средину ПФАС једињења могу пронаћи свој пут до пијаћих вода и тако доспети у људски организам [5]. Поред пијаће воде, још један од многобројних начина излагања овим штетним једињењима је путем конзумације морских плодова из контаминираних вода, као и биљака и њихових плодова са терена који су загађени ПФАС једињењима [6, 7].

Због горе наведених карактеристика, неки ПФАС су наведени као дуготрајне органске загађујуће супстанце (ПОПс) у Стокхолмској конвенцији. Посебну пажњу широм света у научним и регулаторним заједницама, али и међу широм јавношћу, привукла су два ПФАС једињења, перфлуорооктанска киселина (ПФОА) и перфлуорооктансулфонска киселина (ПФОС). ПФОС, његове соли и перфлуорооктан сулфонил флуорид (ПФОСФ), наведени су 2009. године у оквиру Анекса Б Стокхолмске конвенције [8]. У 2019. години

ПФОА, њене соли и сродна једињења, наведени су као ПОПс према Анексу А Стокхолмске конвенције, са циљем елиминације [9].

На решавању питања контаминације ПФАС супстанцама се увелико ради и као најкоришћеније методе уклањања ових једињења из воде и земљишта користе се технологије филтрације (нанофилтрација, реверзна осмоза) и процеси адсорпције (гранулирани активни угаљ и јоноизмењивачке смоле) [10]. Међутим, наведене методе су недеструктивне и делимично помажу само при уклањању, али не омогућују и деградацију ПФАС. Ова дисертација ће испитати комбинацију абиотичких и биотичких техника ремедијације, како би потврдила или оповргнула хипотезу да узастопни третман различитим технологијама (treatment train technologies) може да омогући оптималну деградацију ових једињења.

6. Очекивани резултати

Применом абиотичких и биотичких техника ремедијације, и њиховом оптимизацијом, омогућиће се ефикасна деградација ПФАС једињења. Применом наведеног приступа очекују се следећи резултати:

- Испитана имобилизација ПФАС-ова помоћу различитих адсорбенса и проналажење адсорбенса који има највећу моћ адсорпције перфлуорованих једињења;
- Испитана фотокаталитичка деградација ПФАС-ова и проналажење фотокатализатора који показују оптималне резултате;
- Изоловани и окарактерисани конзорцијуми микроорганизама и појединачне културе бактерија, које имају погодне метаболичке путеве за раст на подлогама које садрже високе концентрације ПФАС;
- Испитана биоремедијација помоћу изолованих конзорцијума и чистих култура бактерија;
- Квантификација ПФОС и ПФОА након фотокаталитичке и биодеградације и карактеризација производа деградације нециљаном (енг. non-target) анализом течном хроматографијом спрегнутом са масеном спектрометријом високе резолуције;
- Испитивање екотоксичности производа деградације.
- Испитана ремедијација узастопним третманом адсорпцијом, фотокатализом и микробиолошком трансформацијом

Г. ЗАКЉУЧАК

На основу свега изложеног, Комисија доноси закључак да предложена тема има научну заснованост, уклапа се у савремене трендове истраживања и дефинисана методологија као резултат тезе може дати значајан допринос у истраживању и примени у биохемији, пре свега ремедијацији локалитета загађеним ПФАС једињењима. У изради докторске тезе

предвиђена су опсежна истраживања која су по нашем мишљену одговарајућа за решавање темом дефинисаних задатака.

На основу изнетог мишљења о предлогу теме и процене способности Кристине Б. Касалице, Комисија сматра да кандидаткиња испуњава све услове за почетак израде докторске тезе за стицање академског звања ДОКТОР НАУКА - БИОХЕМИЈСКЕ НАУКЕ. Сагласно томе, а у складу са Законом о Универзитету и Статутом Хемијског факултета, именована Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Хемијског факултета Универзитета у Београду да се Кристина Б. Касалица, мастер биохемичару, одобри израда докторске дисертације под делимично измењеним насловом:

„Ефикасност адсорпције, фотокатализе и микробиолошке трансформације за ремедијацију вода загађених перфлуорованим једињењима”

За менторе се предлажу: др Владимир Бешкоски, редовни професор Хемијског факултета Универзитета у Београду и др Марија Љешевић, научни сарадник Института за хемију, технологију и металургију Универзитета у Београду. Списак радова предложених ментора из којих се може видети да испуњавају услове стандарда за акредитацију студијских програма дати су у **Прилогу 1** и **Прилогу 2**.

У Београду, 28.06.2024. године

Чланови комисије:

др Владимир Бешкоски, редовни професор
Универзитета у Београду - Хемијски факултет, ментор

др Марија Љешевић, научни сарадник
Универзитет у Београду - Институт за хемију,
технологију и металургију, ментор

др Ненад Радић, научни саветник
Универзитет у Београду - Институт за хемију,
технологију и металургију, члан комисије

др Љубодраг Вујисић, ванредни професор
Универзитет у Београду - Хемијски факултет,
члан комисије

др Бојана Марковић, научни сарадник
Универзитет у Београду - Институт за хемију,
технологију и металургију, члан комисије

Литература

1. Thapa, B. Sen et al. (2024) ‘Emergence of per- and poly-fluoroalkyl substances (PFAS) and advances in the remediation strategies’, *Science of The Total Environment*, 916, p. 170142. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.170142>
2. Kemper, J.A. et al. (2024) ‘Public perceptions of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): Psycho-demographic characteristics differentiating PFAS knowledge and concern’, *Journal of Cleaner Production*, 442, p. 140866. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2024.140866>
3. Sunderland, E.M. et al. (2019) ‘A review of the pathways of human exposure to poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) and present understanding of health effects’, *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 29(2), pp. 131–147. <https://doi.org/10.1038/s41370-018-0094-1>
4. Adamson, D.T. et al. (2020) ‘Mass-Based, Field-Scale Demonstration of PFAS Retention within AFFF-Associated Source Areas’, *Environmental Science & Technology*, 54(24), pp. 15768–15777. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04472>
5. Domingo, J.L. and Nadal, M. (2019) ‘Human exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) through drinking water: A review of the recent scientific literature’, *Environmental Research*, 177, p. 108648. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108648>
6. Christensen, K.Y. et al. (2017) ‘Perfluoroalkyl substances and fish consumption’, *Environmental Research*, 154, pp. 145–151. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.12.032>
7. Ghisi, R., Vamerali, T. and Manzetti, S. (2019) ‘Accumulation of perfluorinated alkyl substances (PFAS) in agricultural plants: A review’, *Environmental Research*, 169, pp. 326–341. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.10.023>
8. UNEP SC-4/17: Listing of Perfluorooctane Sulfonic Acid, its Salts and Perfluorooctane Sulfonyl Fluoride (2009) <https://chm.pops.int/Implementation/IndustrialPOPs/PFAS/Overview/tabid/5221/Default.aspx>
9. UNEP SC-9/12: Listing of Perfluorooctanoic Acid (PFOA), its Salts and PFOA-Related Compounds (2019) <https://chm.pops.int/Implementation/IndustrialPOPs/PFAS/Overview/tabid/5221/Default.aspx>
10. Meegoda, J.N. et al. (2020) ‘A Review of the Applications, Environmental Release, and Remediation Technologies of Per- and Polyfluoroalkyl Substances’, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(21), p. 8117. <https://doi.org/10.3390/ijerph17218117>

Прилог 1: Спискови радова предложених ментора објављених у научним часописима са Science Citation Index (SCI) листе који квалификују менторе за вођење докторске дисертације:

Име и презиме ментора: др Владимир Бешкоски

Звање: редовни професор

Изабрани радови предложеног ментора

1. **V.P. Beškoski**, S.Takemine, T.Nakano, L.Slavković Beškoski, G. Gojgić-Cvijović, M. Ilić, S. Miletić, M.M. Vrvic, Perfluorinated compounds in sediment samples from the wastewater canal of Pančevo (Serbia) industrial area, *Chemosphere* 91(10) (2013) 1408–1415. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.079>
2. **V.P. Beškoski**, K. Yamamoto, A. Yamamoto, H. Okamura, M. Hayashi, T. Nakano, C. Matsumura, K. Fukushi, S. Wada, H. Inui, Distribution of perfluoroalkyl compounds in Osaka Bay and coastal waters of Western Japan, *Chemosphere*, 170 (2017) 260-265. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.028>
3. **V. Beškoski**, A. Yamamoto, T. Nakano, K. Yamamoto, C. Matsumura, M. Motegi, L. Slavković Beškoski, H. Inui; Defluorination of perfluoroalkyl acids is followed by production of monofluorinated fatty acids, *Science of the Total Environment*, 636, (2018), 355–359. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.243>
4. M. Lukić, J. Avdalović, G. Gojgić-Cvijović, A. Žerađanin, S. Mrazovac Kurilić, M. Ilić, S. Miletić, M. M. Vrvic, **V. Beškoski**, Industrial-scale bioremediation of a hydrocarbon-contaminated aquifer's sediment at the location of a heating plant, Belgrade, Serbia. *Clean Technologies and Environmental Policy* (2024). <https://doi.org/10.1007/s10098-023-02724-8>
5. **V. Beškoski**, G. Gojgić-Cvijović, J. Milić, M. Ilić, S. Miletić, T. Šolević, M. Vrvic, *Ex situ* bioremediation of a soil contaminated by mazut (heavy residual fuel oil) – A field experiment, *Chemosphere*, 83, (2011), 34-40. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.01.020>

Прилог 2: Спискови радова предложених ментора објављених у научним часописима са Science Citation Index (SCI) листе који квалификују менторе за вођење докторске дисертације:

Име и презиме ментора: др Марија Љешевић

Звање: научни сарадник

Изабрани радови предложеног ментора

1. A. Medić, N. Hüttmann, **M. Lješević**, Y. Risha, MV. Berezovski, Z. Minić, I. Karadžić. A study of the flexibility of the carbon catabolic pathways of extremophilic *P. aeruginosa* san ai exposed to benzoate versus glucose as sole carbon sources by multi omics analytical platform. *Microbiological Research* 259, (2022) 126998. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.126998>
2. M. Djarovic, D. Milivojevic, T. Ilic-Tomic, **M. Lješević**, E. Nikolaivits, Evangelos Topakas, V. Maslak, J. Nikodinovic-Runic, Synthesis and characterization of polyethylene terephthalate (PET) precursors and potential degradation products: Toxicity study and application in discovery of novel PETases, *Chemosphere*, 275 (2021) 130005. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130005>
3. A. Medic, **M. Ljesevic**, H. Inui, V. Beskoski, I. Kojic, K. Stojanovic, I. Karadzic, Efficient biodegradation of petroleum n-alkanes and polycyclic aromatic hydrocarbons by polyextremophilic *Pseudomonas aeruginosa* san ai with multidegradative capacity, *RSC Advances* 10 (2020) 14060. <https://doi.org/10.1039/C9RA10371F>
4. M. I. Troncozo, **M. Lješević**, V. P. Beškoski, B. Anđelković, P. A. Balatti, M. C. N. Saparrat. Fungal transformation and reduction of phytotoxicity of grape pomace waste, *Chemosphere* 237 (2019) 124458. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.124458>
5. **M. Lješević**, G. Gojgić-Cvijović, T. Ieda, S. Hashimoto, T. Nakano, S. Bulatović, M. Ilić, V. Beškoski, Biodegradation of the aromatic fraction from petroleum diesel fuel by *Oerskovia* sp. followed by comprehensive GC×GC-TOF MS, *Journal of Hazardous Materials*, 363, (2019) 227–232. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.10.005>