

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ – ХЕМИЈСКИ ФАКУЛТЕТ НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

Предмет: Образложење предлога теме докторске дисертације мастер хемичара Вука Радојичића, под радним насловом:

„Пер- и полифлуоралкиловане супстанце (PFAS) у одабраним речним системима Србије: просторна и сезонска динамика, акумулација у честичној фази и процена ризика по људско здравље и животну средину“

1. Научна област: Хемија

Ужа научна област: Хемија животне средине

2. Предмет научног истраживања

Предмет истраживања предложене докторске дисертације је мониторинг пер- и -полифлуоралкилованих супстанци (енг. *Per- and polyfluoroalkyl substances, PFAS*) у одабраним речним системима Републике Србије (Колубара, Ибар, Дрина, Јужна Морава, Сава и Дунав), са циљем утврђивања њихове просторне и сезонске варијабилности, расподеле између растворене и честичне фазе, као и идентификације фактора (својства речне воде и/или присуство других полутаната) који утичу на њихово понашање у животној средини. Други део истраживања ће подразумевати процену ризика по људско здравље и животну средину, повезаног са изложеношћу *PFAS* у речним системима.

Реке су одабране као супстрат јер представљају неопходан ресурс за водоснабдевање, одржавање биодиверзитета, пољопривреду, индустрију, риболов, рекреацију, туризам, производњу енергије и пловидбу. С друге стране, у њих се уливају непречишћене отпадне воде из домаћинства, индустријских и пољопривредних активности, те су добар индикатор општег стања у животној средини. Фокус истраживања биће стављен на значајним рекама Србије, које се одликују различитим степеном антропогеног утицаја, у распону од река које се сматрају релативно незагађеним, као што је река Дрина, речним системима са повременим упозорењима у погледу квалитета воде, попут Јужне Мораве, до река и речних сектора са израженим утицајем урбаних и индустријских активности, као што су Дунав и Колубара. Овај приступ омогућава да се утврди како различити нивои антропогеног утицаја и хидролошки услови утичу на присуство и сезонску динамику *PFAS* у речним системима. Поред тога, избор реке Дунав је битан јер омогућава упоређивање резултата истраживања ове докторске дисертације са доступним литературним подацима о садржају и расподели *PFAS* у другим земљама кроз које Дунав протиче, што у будућности може допринети креирању јединствене базе података о овим загађујућим супстанцама у дунавском региону.

Пер- и полифлуоралкилована једињења представљају велику групу синтетичких органских хемикалија које су, због својих специфичних физичко-хемијских особина, нашле широку примену у бројним индустријским и потрошачким производима [1]. Њихова површинска активност, као и стабилност према води и високим температурама,

омогућила је њихову примену у различитим областима, од индустријских процеса до свакодневних кућних производа [2]. Међутим, управо ове особине доприносе њиховој високој перзистентности, мобилности и отпорности на разградњу природним путем, као и способности да се дуготрајно задржавају у животној средини и живим организмима.

Све већи број научних студија је током последњих деценија повезао излагање појединим једињењима из групе *PFAS* са штетним ефектима по здравље људи и животиња, укључујући поремећаје ендокриног и имуног система, репродуктивне ефекте, као и повећан ризик од појединих облика канцера [2]. Као последица растућих научних доказа о токсичности, потенцијалу за биоакumulацију и широкој распрострањености у животној средини [3], од почетка овог века интензивирају се истраживања о присуству и понашању *PFAS* у различитим компонентама животне средине. Ови напори су резултовали и регулаторним мерама, па је перфлуорооктансулфонска киселина (енг. *Perfluorooctanesulfonic acid*, *PFOS*) 2009. године додата на листу контролисаних супстанци у оквиру Стокхолмске конвенције, након чега су, 2019. године, и перфлуорооктанска киселина (енг. *Perfluorooctanoic acid*, *PFOA*) и перфлуорохексансулфонска киселина (енг. *Perfluorohexanesulfonic acid*, *PFHxS*) такође обухваћене међународним регулаторним ограничењима [1, 2, 4].

У Републици Србији, истраживања присуства *PFAS* у животној средини су још увек ограничена. Развој аналитичких капацитета и интересовања за ову групу загађујућих супстанци започиње пре дванаест година, када је објављен један од првих радова који се бави анализом *PFAS* у седименту из канала отпадне воде [5]. У наредним годинама, поједине студије су се фокусирали на испитивање *PFAS* у реци Дунав, при чему је у узорцима воде анализирано 25, односно 11 *PFAS* једињења, а квантификовано 10, односно 6 једињења из ове групе [6, 7]. Систематски подаци о распрострањености *PFAS* у осталим речним системима у Републици Србији, као и о њиховој сезонској динамици и расподели између различитих фаза, и даље у великој мери недостају.

Истраживање је конципирано у више међусобно повезаних фаза. У првој фази биће изведено узорковање површинских речних вода у периоду од најмање једне године, са циљем обухватања сезонске варијабилности. Друга фаза ће обухватити лабораторијску припрему узорака, раздвајање честичне фазе, укључујући суспендоване честице и различите фракције сестона (мешавину биолошких и неболошких честица присутних у воденој колони), као и квантификацију 29 приоритетних *PFAS* једињења у појединачним матрицама.

На основу добијених резултата, биће урађена анализа расподеле *PFAS* између растворене и честичне фазе, као и прорачун одговарајућих показатеља акумулације, укључујући коефицијенте расподеле између укупних суспендованих честица (енг. *Suspended Particulate Matter*, *SPM*) и воде (енг. *Distribution Coefficient*, K_d^{SPM}), коефицијенте расподеле између сестона и воде (енг. *Seston-Water Distribution Coefficient*, $K_d^{<20}$ и $K_d^{<150}$), као и израчунавање индикативних фактора обогаћења између две фракције сестона (енг. *Size-fraction Enrichment Factor*, $SFEF_{150/20}$), што ће омогућити процену потенцијала *PFAS* за акумулацију и трансфер у честичној фази речних система.

Добијени подаци ће такође представљати основу за развој квантитативне процене еколошког ризика и ризика по људско здравље повезаног са присуством *PFAS* у речним водама. Процена ризика биће изведена применом релевантних методолошких приступа и регулаторних оквира, укључујући процену изложености различитим путевима уноса (дермални и орални унос), типу ризика (неканцерогени и канцерогени), као и анализу реалистичних и најгорих могућих сценарија излагања, у складу са смерницама међународних регулаторних тела, као што је на пример Агенција за

животну средину Сједињених Америчких Држава (енг. *United States Environmental Protection Agency, US EPA*) [8].

У завршној фази истраживања биће примењене униваријантне и мултиваријантне статистичке методе ради испитивања повезаности између концентрација *PFAS* и одабраних параметара, који су индикатори антропогеног утицаја у речним водама. Разматрани параметри ће обухватити хидролошке и климатске услове, физичко-хемијске карактеристике воде, као и структурне особине идентификованих *PFAS* једињења попут дужине угљеничног ланца и типа функционалне групе. Поред тога, биће примењени одговарајући статистички тестови ради испитивања постојања статистички значајних разлика у концентрацијама *PFAS* између различитих локација узорковања, као и између сезона и месеци узорковања.

3. Основне хипотезе

Полазећи од предмета и циљева истраживања, у овој докторској дисертацији биће тестиране следеће хипотезе:

1. Присуство, просторна расподела и сезонска динамика пер- и полифлуоралкилованих супстанци у речним воденим системима Републике Србије значајно варирају у зависности од степена изложености антропогеном утицају и хидролошких услова.
2. Расподела *PFAS* између растворене и честичне фазе у речним системима доводи до различитог степена акумулације у суспендованим честицама и фракцијама сестона, што се може квантификовати применом коефицијената расподеле између сестона и воде ($K_d^{<20}$, $K_d^{<150}$) и фактора обогаћења између две фракције сестона ($SFEF_{150/20}$).
3. Концентрације *PFAS* у речним водама и честичној фази показују статистички значајне повезаности са одабраним физичко-хемијским и хидролошким параметрима, као и са индикаторима антропогеног оптерећења, који могу послужити као потенцијални индикатори повећаног *PFAS* загађења.
4. Квантитативна процена ризика на животну средину и људско здравље заснована на утврђеним концентрацијама и обрасцима расподеле *PFAS* у речним системима указује на просторну и сезонску варијабилност ризика у односу на карактеристике испитиваних водених тела.

4. Циљ истраживања и очекивани резултати

Основни циљ овог истраживања је утврђивање присуства просторне и сезонске расподеле пер- и полифлуоралкилованих супстанци (*PFAS*) у одабраним рекама Републике Србије, као и процена њиховог потенцијалног утицаја на животну средину и људско здравље. Резултати истраживања имају за циљ да обезбеде прве систематске податке о распрострањености *PFAS* у речним системима и да допринесу бољем разумевању понашања ових супстанци у воденој средини.

Конкретни циљеви и очекивани резултати обављају:

- Квантификацију 29 приоритетних *PFAS* једињења у одабраним речним воденим телима Србије и идентификацију најзаступљенијих једињења, као и анализу њихове просторне и сезонске варијабилности, са циљем уочавања могућих

трендова и индикација потенцијалних извора загађења и зона са високим концентрацијама (енг. *hot spots*).

- Испитивање расподеле *PFAS* између растворене и честичне фазе, укључујући суспендоване честице и различите фракције сестона, као и процену њиховог потенцијала за акумулацију применом коефицијената расподеле између сестона и воде ($K_d^{<20}$, $K_d^{<150}$), коефицијента расподеле између укупних суспендованих честица и воде (K_d^{spm}) и фактора обогаћења између две фракције сестона ($SFEF_{150/20}$).
- Развој квантитативне процене еколошког ризика и ризика по људско здравље повезаног са присуством *PFAS* у речним водама, кроз анализу различитих сценарија изложености, од ниско ризичних употреба воде (нпр. рекреативна употреба) до конзервативних, најнеповољнијих сценарија који укључују техничку и потенцијалну употребу воде за пиће.
- Идентификацију физичко-хемијских, хидролошких и антропогених параметара који показују статистички значајне повезаности са концентрацијама *PFAS*, са циљем дефинисања потенцијалних индикатора повишеног *PFAS* загађења у испитиваним рекама Србије.
- Резултати овог истраживања пружиће прве систематске и упоредиве податке о присуству, расподели и понашању пер- и полифлуоралкилованих супстанци у значајнијим рекама у Републици Србији (Дрина, Ибар, Јужна Морава, Колубара, Сава и Дунав). Добијени подаци омогућиће боље разумевање процеса који управљају просторном и сезонском варијабилношћу *PFAS*, као и њиховом расподелом између растворене и честичне фазе у речним системима.

Комбиновањем података добијених мониторингом, анализом честичне фазе и статистичком обрадом резултата, ово истраживање ће представљати научну основу за квантитативну процену еколошког и хуманог ризика повезаног са присуством *PFAS* у речним површинским водама. Оваква процена ризика омогућиће идентификацију просторних и временских образаца потенцијалног ризика у зависности од карактеристика испитиваних водених тела и начина коришћења воде. Очекивани резултати имају значајан научни и практични потенцијал јер могу допринети развоју будућих програма мониторинга, подршци доношењу регулаторних одлука и унапређењу управљања квалитетом вода у Републици Србије, као и бољем разумевању утицаја *PFAS* на животну средину и људско здравље.

5. Методе истраживања

Истраживања у оквиру ове докторске дисертације биће реализована у три институције: Институт за нуклеарне науке „Винча“ у Београду, Универзитет у Београду – Хемијски факултет и шведски Универзитет за пољопривредне науке (Swedish University of Agricultural Sciences, SLU) у Упсали.

За потребе ове докторске дисертације биће примењене следеће методе, технике и процедуре:

- Узорковање површинских речних вода биће спроведено у складу са релевантним стандардима: *SRPS EN ISO 5657-1:2022*, *SRPS EN ISO 5667-3:2018*, *SRPS EN ISO 5667-6:2017*.

- Предвиђене су следеће локације за узорковање речне воде са датим координатама: Дрина (44,7768; 19,347822), Јужна Морава (43,313722; 21,785527), Ибар (43,2877548; 20,6160224), Сава (44,730564; 20,311159), Колубара (44,653114; 20,222633), Дунав-Земун (44,849684; 20,411283), Дунав-Винча (44,76841104; 20,62044917), Дунав-Смедерево (44,69365544; 20,95922202). Запремина узорака ће бити 1 dm³, тако да узорковање неће изазвати никакав неповољан еколошки или друштвени утицај.
- Додатно узорковање честичне фазе обухватиће прикупљање узорака суспендованих честица, као и раздвајање сестонских фракција мањих од 20 µm и 150 µm.
- Припрема узорака воде подразумеваће филтрацију, и екстракцију PFAS на чврстој фази (енг. *Solid Phase Extraction, SPE*), коришћењем *Oasis WAX* колона [9], док ће се за припрему и екстракцију PFAS из честичне фазе узорака (честице задржане на филтеру након филтрације узорака) користити методе које се ослањају на екстракцију метанолом у више корака, у складу са литературом [10].
- Инструментална анализа припремљених узорака биће изведена применом течне хроматографије високе резолуције спрегнуте са тандемном масеном спектрометријом (енг. *Ultra-high performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry, UHPLC/MS-MS*), са дефинисаним вишеструким праћењем реакција, у режиму негативне јонизације. Користиће се инструмент *SCIEX Triple Quad 3500* са аналитичком колоном *Phenomenex Gemini C18* (1.7 µm) у комбинацији са одговарајућом предколоном *Phenomenex Kinetex C18* (1.7 µm) и заштитном колоном (*Phenomenex KJ0-4282*) [9]. За идентификацију PFAS једињења (n=29; *11Cl-PF3OUdS*, *9Cl-PF3ONS*, *4-2 FTSA*, *6-2 FTSA*, *8-2 FTSA*, *Me-FOSAA*, *Et-FOSAA*, *FOSA*, *HFPO-DA (GenX)*, *NaDONA*, *PFBA*, *PFBS*, *PFDA*, *PFDoDA*, *PFDS*, *PFECHS*, *PFHpA*, *PFHpS*, *PFHxA*, *PFHxS*, *PFNA*, *PFNS*, *PFOA*, *PFOS*, *PFPeA*, *PFPeS*, *PFTeDA*, *PFTriDA*, *PFUnDA*) користиће се 11-минутна хроматографска метода са протоком подешеним на 0,6 mL min⁻¹, која користи следеће мобилне фазе: А: 10 mM амонијум-ацетат у *MilliQ* води (*MilliQ® IQ7000* систем са *LC-Pack®* филтером, *Merck*) и В: метанол. Запремина ињектовања ће бити подешена на 10 µL, а градијент иницијално подешен на 5% В, са повећањем на 55% В током првих 0,1 min, затим ће за 4,4 min достићи 99% В, са задржавањем од 3,5 min. Након тога, градијент ће се смањити на 5% В током 0,5 min, при чему се задржава још 2,5 min ради успостављања поновне равнотеже колоне. Тандемска масена спектрометрија (MS/MS) ће се извести у режиму вишеструког праћења реакција (енг. *Multiple Reaction Monitoring, MRM*) уз негативну електроспреј јонизацију.
- Квантификација PFAS једињења биће урађена применом стандардног раствора који садржи смешу изотопски обележених интерних стандарда (*MPFAC-24ES*: ¹³C₄-PFBA, ¹³C₅-PFPeA, ¹³C₅-PFHxA, ¹³C₄-PFHpA, ¹³C₈-PFOA, ¹³C₉-PFNA, ¹³C₆-PFDA, ¹³C₇-PFUnDA, ¹³C₃-PFDoDA, ¹³C₂-PFTeDA, ¹³C₃-PFBS, ¹³C₃-PFHxS, ¹³C₈-PFOS, ¹³C₂-6:2 FTSA, ¹³C₈-FOSA са додатком ¹³C₃-HFPO-DA као засебног једињења у стандардни микс, *Wellington Laboratories*). Лабораторијски и теренски бланкови ће се користити за контролу контаминације и осигуравање квалитета аналитичких резултата, а анализа одабраних трипликаата узорака ће служити за контролу квалитета (енг. *Quality Control, QC*), ради процене репродуктивности и поузданости добијених резултата. Поред тога, за *recovery* тест методе користиће се стандардни раствор нативне смеше PFAS једињења (*PFAC-24PAR* са додатком индивидуалних *HFPO-DA*, *NaDONA*, *9Cl-PF3ONS*, *11Cl-PF3OUdS* и *PFECHS* једињења, *Wellington Laboratories*).

- Процena rizika po људско здравље ће бити израчуната применом релевантних методолошких приступа заснованих на смерницама Агенције за заштиту животне средине Сједињених Америчких Држава (*US EPA*) [8], кроз анализу различитих сценарија изложености у зависности од начина употребе воде.
- Добијени резултати за концентрације *PFAS* у води и честичној фази, израчунати параметри (нпр. K_d^{spm} , $K_d^{<20}$, $K_d^{<150}$, $SFEF_{150/20}$, $\Sigma PFAS$, удео индивидуалних *PFAS* једињења, раздвајање по функционалним групама, дужини угљеничног ланца и др.) као и допунски пратећи физичко-хемијски и хидролошки подаци ће се статистички обрадити користећи униваријантне и мултиваријантне статистичке методе (нпр. енг. *One-Way ANOVA/Kruskal-Wallis* уз *Tukey post hoc* тест, *Mann-Whitney*, *Linear/multiple regression*, *PCA*, *PERMANOVA* и др.). За анализу података и статистичку обраду резултата ће се користити следећи програми: *Excel*, *PAST*, *OriginPro*, *R*.

6. Литература

1. Mashima, R. (2025). Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS): History, Current Concerns, and Future Outlook. *Molecules* 30(22), 4415. <https://doi.org/10.3390/molecules30224415>
2. Dickman, R.A., Aga, D.S. (2022). A review of recent studies on toxicity, sequestration, and degradation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). *Journal of Hazardous Materials* 436, 129120. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.129120>
3. Lin, D.Y., Hu, L.X., Liu, Y.S., Zhang, J.N., Ying, G.G. (2026). Integrated basin-scale assessment of legacy and emerging PFAS in the Xiangjiang River Basin, China: Occurrence, source apportionment, and risk prioritization. *Water Research* 292, 125350. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2026.125350>
4. Ahrens, L. (2011). Polyfluoroalkyl compounds in the aquatic environment: A review of their occurrence and fate. *Journal of Environmental Monitoring* 13(1), 20–31. <https://doi.org/10.1039/c0em00373e>
5. Beškoski, V.P., Takemine, S., Nakano, T., Slavković Beškoski, L., Gojgić-Cvijović, G., Ilić, M., Miletić, S., Vrvic, M.M. (2013). Perfluorinated compounds in sediment samples from the wastewater canal of Pančevo (Serbia) industrial area. *Chemosphere* 91(10), 1408–1415. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.079>
6. Antić, I., Buljovčić, M., Cochran, R.E., Živančev, J., Llorca, M., Farré, M., Rakić, D., Tautenhahn, R., Đurišić-Mladenović, N. (2026). Integrated Targeted and Suspect Screening Workflow for Identifying PFAS of Concern in Urban-Impacted Serbian Rivers. *Toxics* 14(1), 78. <https://doi.org/10.3390/toxics14010078>
7. Buljovčić, M.B., Antić, I.S., Kadokami, K., Škrbić, B.D. (2022). Temporal trend of perfluorinated compounds in untreated wastewater and surface water in the middle part of the Danube River belonging to the northern part of Serbia. *Journal of the Serbian Chemical Society* 87(12), 1425–1437. <https://doi.org/10.2298/JSC220427061B>
8. Polychronidou, B., Nag, R. (2025) Human health risk assessment of Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). *Science of the Total Environment* 1000, 180428. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.180428>
9. Celma, A., Skrobonja, A., Khokarale, S.G., Mikkola, J.P., Sørmo, E., Cornelissen, G., Wiberg, K., Ahrens, L. (2025). Using Biochar in Static and Dynamic Flow Systems to Remediate Per- and Polyfluoroalkyl Substances From Contaminated Stormwater Runoff. *Remediation* 36(1), e70041. <https://doi.org/10.1002/rem.70041>
10. Nassazzi, W., Lai, F.Y., Ahrens, L. (2022). A novel method for extraction, clean-up and analysis of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in different plant matrices using LC-MS/MS. *Journal of Chromatography B* 1212, 123514. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2022.123514>