

## OCJENA PODOBNOSTI DOKTORSKE TEZE I KANDIDATA

OPŠTI PODACI O DOKTORANDU	
Titula, ime i prezime	Mr Dražana Radonjić
Fakultet	Prirodno-matematički fakultet
Studijski program	Biologija
Broj indeksa	1/12
Podaci o magistarskom radu	Determinacija kvaliteta vode na nekim lokacijama rijeke Morače i Skadarskog jezera” Ekologija, Biologija, PMF, Univerzitet Crne Gore, Godina završetka studija 2007. A
NASLOV PREDLOŽENE TEME	
Na službenom jeziku	„Model detekcije koncentracionih nivoa emergentnih mikropolutanata u površinskim vodama u funkciji inženjerstva životne sredine“
Na engleskom jeziku	„A model of detection for concentration levels of emerging micropollutants in surface waters in the function of environmental engineering“
Datum prihvatanja teme i kandidata na sjednici Vijeća organizacione jedinice	20.06.2016
Naučna oblast doktorske disertacije	Ekologija, Biologija
Za navedenu oblast matični su sljedeći fakulteti	
Prirodno-matematički fakultet, Biologija	
A. IZVJEŠTAJ SA JAVNE ODBRANE POLAZNIH ISTRAŽIVANJA DOKTORSKE DISERTACIJE	
<p>Javna odbrana polaznih istraživanja organizovana su u tkz. „Pametnoj Sali“ Mašinskog fakulteta, 28.11.2016. Kandidatkinja je obrazložila temu pojasnivši osnovne koncepte i pojmove o emergentnim supstancama (u daljem tekstu EmS) u vodenim ekosistemima. Potom je obrazložila detaljan istraživački plan, ciljeve, hipoteze, metodologiju kao i očekivani naučni doprinos. Predstavljani su preliminarni teorijski pregled rada po poglavljima kao i preliminarna struktura rada, nakon čega su uslijedila pitanja diskusije i pitanja Komisije.</p>	
B. OCJENA PODOBNOSTI TEME DOKTORSKE DISERTACIJE	
<p>B1. Obrazloženje teme</p> <p>Kandidatkinja je na jednostavan i tačan način u svojoj prezentaciji obrazložila temu, objasnivši osnove paradigme „Emergentnih supstanci“ i „Emergentnih polutanata“ u vodi, ponudivši pritom utemeljena naučna objašnjenja za načinjene teorijske i metodološke parametre na kojima i počiva disertacija. Savremena istraživanja u oblasti analitike zagađujućih supstanci u životnoj sredini proširena su sa tradicionalnih zagađujućih supstanci, kao što su polihlorovani bifenili, policiklični aromatični ugljovodonici i pesticidi, na „nove zagađujuće supstance“ kao što su ciljano lijekovi i hormoni.</p> <p>Prisustvo tragova emergentnih supstanci u nastavku EmS kao što su farmaceutici, endokrino uznemirajuće supstance u daljem tekstu EDCs kao (npr. prirodni i sintetički estrogini i njihovi</p>	

konjugati, bisphenol A, alkilfenoli), kao i jedinjenja za koje se sumnja da mogu biti, (antimikrobna sredstva, benzotriazoli i organofosforna zapaljiva sredstva) postalo je predmet posebnog interesovanja u posljednjoj deceniji s obzirom na to da niske koncentracije ovih analita ranije nisu mogle biti detektovane.

U postrojenjima za prečišćavanje otpadnih voda mnoge EmS se ne uklanjaju efikasno, zbog čega dopijevaju u prirodne vode. Veliki broj hemikalija izaziva ogroman pritisak na životnu sredinu, javno zdravlje i naravno biosferu (Miloradov *et al.* 2012). EmS i EDCs u životnu sredinu dopijevaju najčešće kao posljedica intenzivnog i konstantnog korišćenja u humanoj medicini i veterini i kroz proizvode za ličnu higijenu. Glavni izvori zagađenja površinskih i podzemnih voda EmS i EDCs su gradske i poljoprivredne otpadne vode, odnosno domaćinstva, bolnice i poljoprivredna zemljišta (Halling-Sørensen *et al.* 1998; Robinson *et al.* 2007).

Najznačajniji put kojim lijekovi dopijevaju u životnu sredinu su komunalne otpadne vode. Nakon konzumiranja, u ljudskom organizmu lijek podliježe nizu metaboličkih reakcija, pri čemu nastaju metaboliti koji su često polarniji od polaznog jedinjenja. Zbog toga su rastvorljiviji u vodi, a u nekim slučajevima i toksičniji od polazne supstance (Díaz-Cruz & Barceló 2005). Ljekovi se izlučuju djelimično transformisani, pri čemu se i do 50% lijeka izluči u neizmijenjenom obliku (Hirsch *et al.* 1999; Heberer 2002).

Sledeći važan izvor tragova lijekova u životnoj sredini su domaćinstva na kojima se lijekovi mogu koristiti za uzgoj ili tretman stoke i živine. Najviše se upotrebljavaju antibiotici, za liječenje infekcija i preventivno, ali i kao dodatak hrani radi pospiješivanja rasta životinja (Hirsch *et al.* 1999). Upotrebom stajskog đubriva, antibiotici se dalje mogu prenijeti na poljoprivredno zemljište, a ispiranjem zemljišta i u podzemne vode (Hartig *et al.* 1999; Heberer 2002). Ispitivanje prisustva bakterija u komunalnim otpadnim vodama je pokazalo da se više od 95% bakterija ukloni tokom procesa prečišćavanja, ali da većina preostalih bakterija ispoljava rezistentnost na ostatke antibiotika u vodi (Radtke & Gist 1989; Malik & Ahmad 1994). Ispitivana je kontaminacija rijeka i jezera koliformnim bakterijama i utvrđeno je da i ako je količina bakterija mnogo manja nego u otpadnim vodama, izolovani sojevi pokazuju gotovo identičnu rezistentnost kao sojevi iz otpadnih voda (Alvero 1987; Al-Ghazali *et al.* 1988; Campeau *et al.* 1996). Poznato je, na primjer, da se u bolnicama često javljaju infekcije izazvane *Klebsiellae* sojem bakterija. Istraživanja su pokazala da je 90% soja otporno na antibiotik ampicilin, a da 6% soja ispoljava višestruku rezistentnost (Hirsch *et al.* 1999).

Odlaganjem lijekova kojima je prošao rok upotrebe na nekontrolisane deponije može doći do zagađenja podzemnih voda usljed spiranja ovakvog zemljišta (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000). Jasno je prepoznat veliki problem koji EmS izazivaju na vodeni ekosistem naročito što se njihovo uklanjanje u procesu prečišćavanja odvija izuzetno slabo, a zavisi od mnogih faktora, kao što su npr. priroda aktivne supstance lijeka, sastav otpadnih voda, tehnologija prerade otpadnih voda, tip i vrijeme korišćenja aktivnog mulja, temperatura, i dr. (Carballa *et al.* 2004; Roberts & Thomas 2006). Poznato je, na primjer, da je procenat uklanjanja kiselih jedinjenja, kao što su lijekovi diklofenak i acetilsalicilna kiselina, prilično nizak (Petrović *et al.* 2003). Ukoliko je čovjek, npr., putem vode za piće, neprekidno izložen izuzetno niskim koncentracijama raznovrsnih lijekova, može doći do povećanja toksičnosti lijeka, tj. gubitka tolerancije čovjeka prema toj hemijskoj supstanci i pojave negativnih simptoma. Ove karakteristike zabilježene su i za identifikaciju koncentracija antiinflamatornih lijekova i regulatora masti u vodi, zbog učestalosti

njihovog korišćenja (Petrović *et al.* 2005). Zbog velike rastvorljivosti u vodi, polarnosti i otpornosti na degradaciju, ove supstance se teško apsorbuju i lako prolaze kroz procese prečišćavanja, ali i procese prirodne filtracije, dospijevaju do podzemnih voda i vode za piće (Buser *et al.* 1998; Ternes *et al.* 2002a). U procesu biodegradacije, koji je svakako efikasniji od procesa taloženja, ukloni se manje od 10% karbamazepina i trimetoprima (Clara *et al.* 2004), dok je efikasnost biodegradacije diklofenaka 10–39% (Hernando *et al.* 2006).

Problemi vezani za prisustvo lijekova u životnoj sredini uključuju poremećaje fizioloških procesa i reproduktivne funkcije organizama, povećanje toksičnosti nekih farmaceutski aktivnih supstanci (Kolpin *et al.* 2002). Podaci o transportu kroz procese prečišćavanja i konačnoj degradaciji lijekova u životnoj sredini su prilično ograničeni. Razlog je činjenica da je ranije postojalo svega nekoliko analitičkih metoda koje su, sa ograničenom sigurnošću, mogle da detektuju niske koncentracije lijekova u vodi (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000).

Upravo je utvrđivanje fizioloških grupa mikroorganizama (proteolitskim i lipolitskim) u vodi i dobar pravac uz to i objašnjenje mnogobrojnim jedinjenjima koji su istraživanjima kvantitativno detektovani. Prisustvo hormona u vodenoj sredini izaziva ozbiljne posljedice kod raznih vodenih organizama. Uočene su promjene u razvoju i reproduktivnim funkcijama riba i vodozemaca, kao što su smanjenje plodnosti i feminizacija mužjaka, pri koncentracijama od nekoliko  $\mu\text{g}/\text{dm}^{-3}$  (Jørgensen & Halling-Sørensen 2000). Površinske i podzemne vode su glavni izvor pijaće vode širom sveta. Tragovi lijekova koji se ne uklone kvantitativno u procesima prečišćavanja voda i koji prođu kroz prirodne procese prečišćavanja mogu se očekivati u vodi za piće.

Kombinacija bioloških tehnika i hemijskih analiza postala je globalno prepoznatljiva i jasno se ističe (Cespedes *et al.* 2004) u determinaciji EDCs u uzorcima površinskih voda. Analizom i interpretacijom mikrobioloških zajednica mogu se optimalno odrediti nivoi fizioloških profila na određenim lokacijama (Radonjić 2016). Identifikaciju i klasifikaciju bakterija do nivoa vrste, iz različitih vodenih ekosistema (rijeka, jezera, mora, otpadne vode), vršimo koristeći se fenotipskim identifikacionim tehnikama. Fenotipske modifikacije organizama nastaju interakcijama genotipa i faktora spoljašnje sredine. Fenotipske modifikacije mikrobioloških zajednica moguće je dokazati Eco Plate Biolog softverom. To ih čini vrlo korisnom informacijom u vezi sa promjenom životne sredine, uzrokovane prisustvom EmS u vodi (Radonjić 2016). Kombinacija metoda omogućava različita istraživanja na akvatičnim ekosistemima. Izuzetno je značajno skrining istraživanje. Pojam „skrining“ istraživanja je prihvaćen u svim naukama. Najčešće se primjenjuje u medicini i njegova primjena onda podrazumijeva organizovanu primjenu nekog pregleda ili testa kod osoba bez simptoma u cilju što ranijeg otkrivanja određene bolesti.

## B2. Ciljevi i hipoteze

Odabranom temom, problematika i polazna istraživanja ukazuju nam na sledeće ciljeve:

1. Identifikovati EmS i odrediti njihovu koncentraciju,
2. Identifikovati fiziološke grupe mikroorganizama i odrediti njihov diverzitet,
3. Odrediti uzročno-posljedične odnose između fizioloških grupa mikroorganizama i EmS.

4. Utvrditi sezonske razlike ispitivanih parametara,
5. Testirati bioakumulaciju EmS i EDCs u tkivima različitih vrsta riba,
6. Utvrditi korelaciju između prisutnih EmS i EDCs u tkivima riba i hidrološkim režimom,
7. Predložiti mjere zaštite,
8. Odrediti HQ index-rizika opterećenosti ekosistema.

H1. Postoji sezonsko variranje u koncentraciji EmS na ispitivanim lokacijama,

H2. Izvor Ems i EDCs su otpadne vode grada Podgorice,

H3. Postoji sezonsko variranje u kvalitativnom i kvantitativnoj strukturi mikrobioloških zajednica na ispitivanim lokacijama,

H4. Postoje uzročno-posljedične veze između prisutnih vrsta Ems i EDCs i strukture i grupe mikrobioloških zajednica,

H5. Dugotrajna izloženost ekosistema EmS i EDCs uzrokuje bioakumulaciju u tkivima riba.

B3. Metode i plan istraživanja

#### Istraživane lokacije

Biće istraživano šest lokacija od kojih je jedan kontrolna tačka. Četiri lokacije su na rijeci Morači (sa kontrolnom tačkim) dok su dvije lokacije na Skadarskom jezeru (Tabela 1.)

Tabela 1-Lokacije koje će biti ispitivane

Lokaliteti

Referentna tačka	Lokaliteti
Morača	„Smokovac”(SRT). „Vukovci“, (TV); Lijevi“ krak rijeke Morače (TLK) Desni“ krak rijeke Morače, (TDK)
Skadarsko jezero	„Tanki rt”(TTR) (ispod mosta) „Kraljeva glavica” (TKG) kod Vranjine

Istraživanjem će biti obuhvaćen donji tok rijeke, njen ravničarski mirni tok. Lokacije na Skadarskom jezeru odabrane su pod pretpostavkom da su najviše pod uticajem lokalnog i turističkog stanovništva. To su:

- „Tanki rt”(TTR) (ispod mosta)
- „Kraljeva glavica” (TKG) kod Vranjine.

#### Dinamika istraživanja

**Skrining** posmatranje svih parametara će se vršiti dva puta u toku jedne godine i to: u toku visokih voda (zimsko) i niskih voda (ljetnje) uzorkovanje u priobalju- litoral.

#### Metodologija

**Hemijske metode koje će se koristiti u ovim istraživanjima:**

1. **Za identifikaciju hemijskih komponenti u uzorcima vode koristi će se GC-MS** (Gas chromatography–mass spectrometry)-Gasno -masena hromatografija i to na aparatu Wiley7n pri čemu će se koristiti NIST 08 spekto-fotometrijska biblioteka prema (Ternes *et al.*, 1998).
2. **Za mjerenje prisustva i koncentracije Ems i EDCs u tkivima riba koristi će se LC-MC**; Liquid chromatography-tandem mass spectrometry. Na osnovu metode koje su uveli Huerta *et al.* (2014) određivaće se prisustvo EmS u ispitivanim uzorcima riba, a na osnovu metode po Huerta *et al.*(2013) određivaće se mjerenja EDCs u tkivima riba. Za mjerenje koncentracije Ems u uzorcima vode koristiće se metoda po Gros *at al.* (2009, a za EDCs metoda po Gorga *et al.* (2014).
3. **Za analizu fizioloških grupa mikroorganizama** koristiće se uzgajalačke metode mikroorganizama (Petrović *et al.*, 1998).
4. **Za određivanje fenotipskih promjena fizioloških grupa mikroorganizama** koristiće se metoda EcoPlates™ urađena po Hayward, CA,2007
5. **Za određivanje koeficijenta HQ** koji predstavlja opterećenost i rizik za životnu sredinu koristiće se metoda koju je opisao Sanchez-Bayo (2002).

B4. Naučni doprinos

Naučni doprinos može biti višestruk, uzme li se u obzir kompleksnost istraživanja, jer će se disertacija dijeliti na dio koji se bavi skrining istraživanjem EmS i EDCs, mikrobioloških parametara i koncentracije EmS i EDCs u tkivima nekih riba i dio disertacije koji sezonski utvrđuje dinamiku EmS i EDCs, kao i mikrobioloških parametara. Odnosno, biće predstavljena integralna dijagnostika ekosistema rijeke Morače i Skadarskog jezera.

Po prvi put za sada za istraživane lokacije izvršila bi se procjena rizika koji može nastati djelovanjem EmS i EDCs na organizme u vodi izračunavanjem **HQ**.


Predlog mjera zaštite

**Mišljenje i prijedlog komisije**

Na osnovu svega iznijetog na polaznim istraživanjima kandidatkinje Dražane Radonjić, imajući u vidu hipotezu istraživanja, kompleksnost metoda koje će se koristiti u ovim ispitivanjima i naučnog doprinosa Komisija je saglasna da se radi o uspješnoj odbrani polaznih istraživanja i nakon pregleda dostavljene dokumentacije Komisija je utvrdila da kandidatkinja mr Dražana Radonjić ispunjava, Zakonom predviđene uslove za rad na doktorskoj tezi pod nazivom: „Dinamika emergentnih supstanci (EmS) i emergentno-uznemiravajućih supstanci (EDC) u ekosistemima rijeke Morače i Skadarskog jezera”.

**Prijedlog izmjene naslova**

Potrebno je preimenovati temu u „Dinamika emergentnih supstanci (EmS) i emergentno-

uznemiravajućih supstanci (EDC)s u ekosistemima rijeke Morače i Skadarskog jezera”.		
<b>Prijedlog promjene mentora i/ili imenovanje drugog mentora</b>		
<b>Planirana odbrana doktorske disertacije</b>		
2018 godine		
<b>Izdvojeno mišljenje</b>		
(popuniti ukoliko neki član komisije ima izdvojeno mišljenje)		
		Ime i prezime _____
<b>Napomena</b>		
(popuniti po potrebi)		
<b>ZAKLJUČAK</b>		
Predložena tema po svom sadržaju <b>odgovara</b> nivou doktorskih studija.	<b>DA</b>	NE
Tema <b>je</b> originalan naučno-istraživački rad koji odgovara međunarodnim kriterijumima kvaliteta disertacije.	<b>DA</b>	NE
Kandidat <b>može</b> na osnovu sopstvenog akademskog kvaliteta i stečenog znanja da uz adekvatno mentorsko vođenje realizuje postavljeni cilj i dokaže hipoteze.	<b>DA</b>	NE
<b>Komisija za ocjenu podobnosti teme i kandidata</b>		
Prof. Dr. Mira Petrović, Catalan Institute for Water Research, Spain (mentor)		
Dr Nada Blagojević, redovni profesor, Metalurško tehnološki fakultet, UCG		
Dr Svetlana Perović, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet, UCG		
Dr Slađana Krivokapić, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet, UCG		
Dr Danilo Mrdak, docent, Prirodno-matematički fakultet, UCG		
U Podgorici, 20. 03. 2017.		
		DEKAN _____
MP		

## PRILOG

PITANJA KOMISIJE ZA OCJENU PODOBNOSTI DOKTORSKE TEZE I KANDIDATA	
(Titula, ime i prezime predsjednika komisije)	
(Titula, ime i prezime člana komisije)	
(Titula, ime i prezime člana komisije)	
(Titula, ime i prezime člana komisije)	
(Titula, ime i prezime člana komisije)	
PITANJA PUBLIKE DATA U PISANOJ FORMI	
(Ime i prezime)	
(Ime i prezime)	
(Ime i prezime)	
ZNAČAJNI KOMENTARI	