

UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET



Marijana D. Marković

Ispitivanje ekotoksičnosti proizvoda
degradacije organskih zagađujućih supstanci u
vodi nakon tretmana unapređenim oksidacionim
procesima

- **Doktorska disertacija** -

Beograd, 2015.

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF CHEMISTRY



Marijana D. Marković

Ecotoxicity Testing of Organic Pollutants
Degradation Products in Water after the
Treatment with Advanced Oxidation Processes

- Doctoral Dissertation -

Belgrade, 2015.

Komisija:

1. _____
dr Dragan Manojlović, redovni profesor (mentor)
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

2. _____
dr Biljana Dojčinović, viši naučni saradnik (mentor)
Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Univerzitet u Beogradu

3. _____
dr Miroslav M. Vrvčić, redovni profesor
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

4. _____
dr Goran Roglić, vanredni profesor
Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu

Datum odbrane:

Datum promocije:

Mojim roditeljima i bratu

Zahvalnica,

Ovom prilikom, zahvaljujem se svima onima bez čije pomoći danas ne bih bila istraživač, jer ste nesebično prihvatili da sa mnom podelite svoje znanje, iskustvo i nadu u bolju budućnost.

Zahvaljujem se mentoru prof. dr Draganu Manojloviću na ukazanom poverenju, prilici i strpljenju, ali i stalnoj brizi da se započeti posao što kvalitetnije uradi.

Zahvaljujem se komentoru dr Biljani Dojčinović na savetima, strpljenju i pomoći tokom eksperimentalnog rada i izrade doktorske disertacije.

Zahvaljujem se prof. dr Miroslavu Vrvicu na ukazanom poverenju, podršci i izboru da budem deo njegove istraživačke grupe.

Zahvaljujem se prof. dr Goranu Rogliću i dr Gordani Gojgić – Cvijović na stalnoj i neizmernoj podršci, savetima i usmeravanju tokom istraživačkog rada.

Zahvaljujem se prof. dr Miloradu Kuraici i dr Bratislavu Obradović na saradnji, kao i podršci u eksperimentalnom radu i izradi naučnih radova.

Zahvaljujem se dr Jeleni Mutić i Vojinu Krsmanoviću, na svim korisnim savetima i pomoći tokom rada i publikovanja naučnih radova, kao i na ukazanom prijateljstvu.

Zahvaljujem se i dr Vladimiru Beškoskom na ukazanom poverenju i saradnji.

Posebnu zahvalnost dugujem svojim dragim kolegama: dr Ivanu Anđelkoviću, dr Daliboru Stankoviću, dr Milici Jović, dr Jeleni Nešić, Sandri Škrivanj, Vesni Kovačević, Urošu Gašiću, dr Aleksandru Nikoliću, dr Mili Ilić, dr Srđanu Miletiću, dr Jeleni Milić, Jovani S Kojić, dr Nikoleti Lugonja, dr Jeleni Avdalović, dr Snežani Spasić, dr Petru Ristivojeviću, Maji Krstić, Branki Kekez i Mariji Lješević na svakodnevnoj pomoći, savetima, ali i na lepim trenucima druženja, koje smo zajedno podelili. Svoje zasluženno mesto, imaju i moji prijatelji Voin Petrović – Voja, Milorad Novakov - Mićko i Aleksandar Šujica, koji su me podstakli i ohrabрили da upišem doktorske studije.

Veliku zahvalnost dugujem i društvu sa prve jutarnje kafe i konferencija.

Konačno, zahvaljujem se svojoj porodici, roditeljima i bratu Nemanji Markoviću, na poverenju, neograničenoj ljubavi i svakodnevnoj podršci, u svim mojim dosadašnjim i budućim aktivnostima, tokom studiranja, života i rada.

Marijana

Skraćenice i simboli

Skraćenica	Parametar	Engleski naziv
ACR	Odnos akutne i hronične Toksičnosti	<i>Acute to Chronic Toxicity Ratio</i>
AOP	Unapređeni oksidacioni procesi	<i>Advanced Oxidation Processes</i>
BAF	Bioakumulacioni faktor	<i>Bioaccumulation factor</i>
BCF	Biokoncentracioni faktor	<i>Bioconcentration factor</i>
BMF	Biomagnifikacioni faktor	<i>Biomagnification factor</i>
CGDE	Elektroliza kontaktnim pražnjenjem	<i>Contact Glow Discharge Electrolysis</i>
CLP	Klasifikacija, pakovanje i označavanje opasnih supstanci	<i>Classification, Packaging and Labeling Dangerous Substances</i>
DBD	Dielektrično barijerno pražnjenje	<i>Dielectric Barrier Discharge</i>
DMSO	Dimetilsulfoksid	<i>Dimethylsulfoxide</i>
E ⁰	Standardni redoks potencijal	<i>Standard redox potential</i>
EC ₅₀	Efektivna koncentracija test supstance, koja izaziva 50 % efekat na posmatrano svojstvo	<i>Effective concentration</i>
ECOSAR	Program ekološkog odnosa strukture i aktivnosti	<i>Ecological Structure Activity Relationships</i>
EAOP	Elektrohemijski unapređeni oksidacioni procesi	<i>Electrochemical Advanced Oxidation Processes</i>
EPA	Agencija za zaštitu životne sredine	<i>Environmental Protection Agency</i>
ERA	Ekološka procena rizika	<i>Ecological Risk Assessment</i>
GHS	globalno harmonizovan sistem klasifikacije i obeležavanja hemikalija UN	<i>The Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, UN</i>
HPLC	Visokoeffikasna tečna hromatografija	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HQ	Indeks opasnosti	<i>Hazard quotient</i>
IBP	Ibuprofen	<i>Ibuprofen</i>
IC	Inhibitorna koncentracija	<i>Inhibitory concentration</i>
ISO	Međunarodna organizacija za standardizaciju	<i>International Organization for Standardization</i>
LC	Tečna hromatografija	<i>Liquid Chromatography</i>
LC ₅₀	Letalna koncentracija za 50% populacije	<i>Lethal Concentration for 50% of population</i>

LD ₅₀	Letalna doza za 50% populacije	<i>Lethal Dose for 50% of population</i>
LC-MS	Tečna hromatografija kuplovana sa masenim spektrometrom	<i>Liquid Chromatography coupled with mass spectrometry</i>
LOEC	Najniža koncentracija koja izaziva efekat	<i>The Lowest Observed Effect Concentration</i>
MATC	Maksimalno dozvoljena koncentracija	<i>Maximum Acceptable Toxicant Concentration</i>
NOEC	Najviša koncentracija koje ne izaziva efekat	<i>The No Observed Effect Concentration</i>
NTP	Neravnotežna plazma	<i>Non-thermal Plasma</i>
OECD	Organizacija za ekonomsku saradnju i razvoj	<i>Organisation for European Economic Co-operation</i>
PCD	Impulsno korona pražnjenje	<i>Pulsed Corona Discharge</i>
PEC	Izmerena ili određena koncentracija supstance u životnoj sredini	<i>Predicted Environmental Concentration</i>
PNEC	Očekivane koncentracije bez negativnog efekta	<i>Predicted No Effect Concentration</i>
POPs	Perzistentni organski zagađivači	<i>Persistent Organic Pollutants</i>
Q – SAR	Kvantitativni odnos strukture i aktivnosti	<i>Quantitative structure–activity relationship</i>
REACH	Registracija, evaluacija, autorizacija i restrikcija hemikalija	<i>Regulation concerning the Registration, Evaluation Authorisation and Restriction of Chemicals</i>
SED	Specifična gustina energije	<i>Specific Energy Density</i>
SHE	Standardna vodonična elektroda	<i>Standard Hydrogen Electrode</i>
TER	Odnos toksičnosti i izloženosti	<i>Toxicity Exposure Ratio</i>
TU	Toksična jedinica	<i>Toxic Unit</i>
UV	Ultraljubičasta	<i>Ultraviolet</i>
VIS	Vidljiva svetlost	<i>Visible spectrum</i>
WEA	Procena ekotoksičnosti efluenta	<i>Whole Effluent Assessment</i>
WFD	Okvirna direktiva EU o vodama	<i>Water Framework Directive 2000/60/EC</i>

Ispitivanje ekotoksičnosti proizvoda degradacije organskih zagađujućih supstanci u vodi nakon tretmana unapređenim oksidacionim procesima

U okviru ove disertacije ispitana je degradacija 4CP (*para*-hlorfenol), reaktivnih azo boja i ibuprofena primenom unapređenih oksidacionih procesa (*eng. Advanced Oxidation Processes*, AOP) kao što su Fentonov reagens, DBD reaktor (*eng. Dielectric Barrier Discharge*) i elektrohemijske degradacije.

Efikasnost degradacija zagađujućih organskih supstanci optimizovana je dodatkom homogenog katalizatora (Fe^{2+} ili H_2O_2) u reaktor, primenom različitih elektrodnih materijala ili variranjem vremena tretmana. Dekolorizacija (%) je praćena UV-VIS tehnikom, efikasnost degradacije je praćena jonskom hromatografijom (IC) i HPLC tehnikom. Identifikacija glavnih proizvoda degradacije, kao i mehanizmi degradacije određeni su LC-MS (TOF) tehnikom. Efikasnost mineralizacije je određena preko TOC vrednosti. Tretman netermalnom plazmom (*eng. non-thermal plasma* NTP) u DBD reaktoru je ispitan tokom degradaciji 4CP do biodegradabilnijih i manje toksičnih intermedijera. Eksperimentalni rad je organizovan u tri sistema za degradaciju 4CP: DBD, DBD/ H_2O_2 i DBD/ Fe^{2+} . Praćena je efikasnost degradacije 4CP u funkciji broja prolaza kroz DBD reaktor, kao i količini unete energije po jedinici zapremine rastvora (gustina energije, kJ/L). Koncentracija 4CP, kao i koncentracija pojedinih proizvoda degradacije merena je nakon svakog prolaza.

Koncentracije proizvoda degradacije 4CP kao što su sirćetna, mravlja ili oksalna kiselina, bile su niže u sistemu gde je kao katalizator upotrebljeno gvožđe DBD/ Fe^{2+} u poređenju sa sistemom gde je kao katalizator primenjen vodonik-peroksid DBD/ H_2O_2 . Koncentracija hlorida u sva tri sistema je rasla tokom procesa degradacije. Najviša koncentracija hlorida, zabeležena je u sistemu sa dodatkom Fe^{2+} kao katalizatora.

Procena toksičnosti početnog rastvora 4CP, kao i rastvora tretiranih u sva tri sistema ispitana je pomoću *A.salina*. U odnosu na početni (netretirani) rastvor 4CP, nakon tretmana DBD/Fe²⁺ porcenat preživelih larvi *A. salina* se povećao za 95%.

Degradacija reaktivnih azo boja (RG15, RY125 i RB52) je ispitana primenom EAOP (eng. *Eletrochemical Advance Oxidation Processes*) tehnika u nepodeljenoj dvoelektrodnoj ćeliji, gde je kao anoda primenjena Fišerova platinska elektroda, a kao katoda korišćena je Pd, Zr ili C elektroda. Najefikasniji sistem za degradaciju RG15 i RY125 je bio Pt-Pd sistem, dok je za RB52 to bio Pt-Zr sistem. Ekotoksikološki efekat za boje RG15 i RY125 bio je najniži ili nije detektovan u rastvoru boje nakon Pt-Pd tretmana. U slučaju RB52, uočeno je da se ekotoksikološki efekat uvećava i na *A.salina* i na *V.fischeri* nakon EAOP tretmana.

U slučaju degradacije ibuprofena, nakon 15 min tretmana dodatak homogenog katalizatora je poboljšao NTP tretman i doprineo efikasnosti degradacije ibuprofena (99%), kao i mineralizaciji zagađujuće supstance u odnosu na DBD i Fentonov proces (oko 80%). U svim tretmanima analizom masenih spektara, identifikovano je 12 proizvoda degradacije ibuprofena: pet aromatičnih i sedam alifatičnih proizvoda. Nakon DBD/Fe²⁺ tretmana detektovane su samo 4 alifatične karboksilne kiseline. Ekotoksikološki efekat tretiranih rastvora ibuprofena u DBD reaktoru nije detektovan, kao ni u slučaju kada je gvožđe korišćeno kao katalizator. U odnosu na *A.salina*, *V.fischeri* je pokazao veću osetljivost na proizvode degradacije koji su nastali tokom Fenton tretmana. Toksični efekat rastvora ibuprofena nakon Fenton tretmana kategorisan je kao klasa III, tj. "toksičan".

Najviši procenat degradacije ibuprofena primenom EAOP- a je postignut tretmanom rastvora u Pt - Pd sistemu - 98%, pri jačini struje od 100 mA i pH od 3. Toksični efekat mortalitet (%) *A. salina* izazvan rastvorom ibuprofena tretiranog u Pt-Pd sistemu bio je ispod 30% pri najvišoj testiranoj koncentraciji od 100% (c, v/v). *V.fischeri* se pokazao kao osetljiviji model za procenu toksičnog efekta proizvoda degradacije ibuprofena nakon Pt-Pd tretmana u odnosu na *A.salina*.

Ključne reči: ekotoksikologija, para-hlorfenol, azo boje, ibuprofen, AOP, neravnotežna plazma, DBD, elektrohemijska degradacija, homogeni katalizatori, HPLC, LC-MS (TOF), *A. salina*, *V. fischeri*

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Hemija životne sredine

UDK broj: 504

Ecotoxicity Testing of Organic Pollutants Degradation Products in Water after the Treatment with Advanced Oxidation Processes

In this thesis the degradation of 4CP (*para*-chlorophenol), reactive azo dyes and ibuprofen was studied using the Advanced Oxidation Processes (AOP) such as Fenton's reagent, Dielectric Barrier Discharge (DBD) reactor and electrochemical degradation.

The efficiency of degradation was optimized by addition of a homogenous catalyst (Fe^{2+} or H_2O_2) to the reactor and also by applying different electrode materials or by varying the duration of the treatment. The decolorization (%) of reactive azo dyes was monitored by UV-VIS technique and the efficiency of degradation was monitored by ion chromatography (IC) and HPLC. Identification of the main degradation products as well as the degradation mechanisms were determined by LC-MS (TOF) technique. The mineralization efficiency was determined through the value of TOC.

Treatment by non-thermal plasma (NTP) in the DBD reactor was studied during the degradation of 4CP to biodegradable and less toxic intermediates. Experimental work was organized into three systems for 4CP degradation: DBD, DBD/ H_2O_2 and DBD/ Fe^{2+} . The efficiency of 4CP degradation was evaluated by the number of passing of the solution through the DBD reactor, as well as the amountn of the introduced energy density (kJ/L). The concentration of 4CP, as well as the concentration of the individual degradation products were measured after the each pass.

The concentrations of the 4CP degradation products such as acetic, formic or oxalic acid were lower in the system where the iron was used as the catalyst (DBD/ Fe^{2+}) in comparison to the system with hydrogen peroxide as the catalyst (DBD/ H_2O_2). The concentration of chloride in all three systems increased during the degradation process. The highest concentration of chlorides was recorded in the system with the addition of Fe^{2+} as a catalyst. The toxicity assessment of initial solution of 4CP as well as the solution which has been treated in all three systems was performed using *A.salina*. In comparison to untreated solution of 4CP the solution treated in DBD/ Fe^{2+} system had increased percentage of larval survival by 95%.

Degradation of reactive azo dyes (RG15, RY125 or RB52) was studied using the EAOP (Electrochemical Advance Oxidation Processes) techniques in undivided two-electrode cell, where the Fisher platinum electrode was applied as anode and the Pd, Zr or C electrodes were applied as cathode. The most effective system for the degradation of RG15 and RY125 was Pt-Pd system, while for the RB52 the Pt-Zr system was more applicable. Ecotoxicological effect of reactive dyes RG15 and RY125 was the lowest or not detected in the dye solution after the Pt-Pd treatment. In the case of RB52 ecotoxicological effect increased for both *A.salina* and *V.fischeri* after the EAOP treatment.

In the case of ibuprofen degradation, the NTP treatment (15 min) was improved by addition of a homogeneous catalyst, which contributed to the efficiency of degradation (99%) and the mineralization of polluting substances in comparison to DBD and the Fenton process (about 80%). After all treatments, by analysis of mass spectra 12 degradation products of ibuprofen were identified: five aromatic and seven aliphatic products. In the solution after the DBD/Fe²⁺ treatment only 4 aliphatic carboxylic acids were detected. Ecotoxicological effect of the ibuprofen solution treated in the DBD reactor as well as in the DBD/Fe²⁺ system was not detected. In relation to *A.salina*, *V. fischeri* has shown greater sensitivity to degradation products which appeared during the Fenton treatment. The toxic effect of ibuprofen solution after the Fenton treatment was categorized as class III, that is "Toxic".

The highest degradation percentage of ibuprofen was achieved by application of EAOPs in the Pt - Pd system (98%), with the current of 100 mA and at the pH value of 3. The toxic effect expressed as the mortality (%) of *A. saline* was less than 30% at the highest tested concentration 100% (c, v/v) of ibuprofen solution treated in the Pt-Pd system. The *V.fischeri* was the more sensitive model for the assessment of the ibuprofen degradation products toxic effect after the Pt-Pd treatment in comparison to *A.salina*.

Key words: *ecotoxicology, para-chlorophenol, azo dyes, ibuprofen, AOP, non-thermal plasma, electrochemical degradation, homogeneous catalysts, HPLC, LC-MS (TOF), Artemia salina, V. fischeri*

Area of science: Chemistry

Sub-area of science: Environmental Chemistry

UDC number: 504

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. OPŠTI DEO	4
2.1 Uticaj zagađujućih supstanci u ekosistemu	7
2.2 Ekspozicija zagađujućih supstanci u ekosistemu	8
2.3 Abiotički i biotički faktori koji utiču na transformaciju zagađujućih organskih supstanci u životnoj sredini	12
2.3.1 <i>Abiotički faktori</i>	12
2.3.2 <i>Biotički faktori</i>	15
2.4 Mehanizam biotransformacije ksenobiotika u organizmima	19
2.5 Povezanost doze i efekta zagađujuće supstance	20
2.6 Izbor organizma-test modela	26
2.7 Primena ekotoksikoloških testova u praksi	28
2.7.1 <i>Kontrola kvaliteta otpadnih voda</i>	28
2.7.2 <i>Ekotoksikološka procena rizika - ERA</i>	30
2.7.3 <i>Standardizacija testova</i>	36
2.8 Tretman prečišćavanja voda	40
2.9 Unapređeni oksidacioni procesi – AOP	41
2.9.1 <i>Ozonoliza</i>	43
2.9.2 <i>Fotoliza</i>	44
2.9.3 <i>Fentonov reagens</i>	45
2.9.3.1 <i>Visok odnos $[Fe^{2+}]/[H_2O_2] \geq 2$</i>	47
2.9.3.2 <i>Srednji odnos $[Fe^{2+}]/[H_2O_2]_0 = 1$</i>	47
2.9.3.3 <i>Nizak odnos $[Fe^{2+}]/[H_2O_2]_0 \ll 1$</i>	48
2.9.4 <i>Heterogena Fenton oksidacija</i>	49
2.9.4.1 <i>Foto-Fenton oksidacija</i>	49
2.9.5 <i>Električno pražnjenje - ravnotežne i neravnotežne plazme</i>	51
2.9.5.1 <i>Električno pražnjenje u prečišćavanju vode</i>	55

2.9.5.1 .1 Plazma-hemijske reakcije pri električnom pražnjenju u kontaktu sa vodom ili u vodi	56
<i>Kiselo-bazne reakcije</i>	57
<i>Reakcije oksidacije</i> <i>hidroksi radikal, ozon,</i> <i>vodonik peroksid, peroksinitrit</i>	59
<i>Reakcije redukcije</i>	63
<i>Fotohemijske reakcije podstaknute UV svetlošću</i> <i>iz plazme</i>	63
2.9.6 Tehnike generisanja električnog pražnjenja za tretman vode	65
2.9.6.1 <i>Impulsno korona pražnjenje</i>	65
2.9.6.2 <i>Dielektrično barijerno pražnjenje</i>	65
2.9.6.3 <i>Tinjava pražnjenja</i>	67
2.9.6.4 <i>Plazma-katalitički procesi (gvožđe i</i> <i>vodonik-peroksid)</i>	68
2. 10 EAOP-i / Princip elektrolize	70
2.10.1 Elektrohemijski tretman vode	73
2.10.1.1 <i>Anodna oksidacija</i>	74
2.10.1.2 <i>Elektrohemijska redukcija</i>	80
2.10.1.3 <i>Elektrokoagulacija</i>	80
2.10.1.4 <i>Elektro-Fenton oksidacija</i>	81
2.10.1.5 <i>Fotoelektrohemijske metode</i>	82
2.11 AOPi/EAOPi u degradaciji hlorfenola, azo boja i ibuprofena kao predstavnika glavnih grupa ksenobiotika u životnoj sredini	83
2.11.1 Hlorfenoli	84
<i>Pregled literature – degradacija fenola i</i> <i>hlorfenola AOP-ima</i>	86
2.11.2 Sintetičke organske boje	90
<i>Pregled literature – degradacija organskih boja</i> <i>AOP-ima</i>	91

	93
2.11.3 Ibuprofen	
<i>Pregled literature - degradacija AOP-ima</i>	94
	99
3. EKSPERIMENTALNI DEO	
3.1 Materijali	99
3.1.1 Homogeni katalizatori	100
3.2 Degradacioni procesi	101
3.2.1 NTP reaktori	101
3.2.2 Specifična gustina energije - SED	105
3.2.3 Fentonov reagens	106
3.2.4 Elektrohemijska degradacija (EAOP)– boja i ibuprofena	107
3.3 Efikasnost degradacije i metode analize	108
3.3.1 Dekolorizacija boja UV-VIS spektrofotometrijom	108
3.3.2 Određivanje sadržaja H ₂ O ₂ UV-VIS spektrofotometrijom	108
3.3.3 HPLC analiza	109
3.4 Identifikacija proizvoda degradacije	111
3.4.1 Određivanje neorganskih i organskih anjona jonskom hromatografijom (IC)	111
3.4.2 Određivanje proizvoda degradacije primenom LC-MS analize	112
3.4.3 ICP-OES analiza	112
3.4.4 Određivanje pH vrednosti	113
3.4.5 Određivanje provodljivosti	113
3.5 Ispitivanje efikasnosti dekolozacije i degradacije pri visokim koncentracijama azo boja	113
3.6 TOC analiza	113
3.7 Ispitivanje toksičnosti boja pomoću test organizama <i>Artemia salina</i> i <i>Vibrio fischeri</i>	114
3.7.1 Procena toksičnosti tretiranih rastvora primenom <i>A.salina</i>	114

3.7.1.1 Procena toksičnosti rastvora 4CP nakon AOP tretmana	117
3.7.1.2 Procena toksičnosti rastvora azo boja tretiranih AOP-ima	118
3.7.1.3 Procena toksičnosti rastvora ibuprofena nakon AOP tretmana	119
	120
3.7.2 Procena toksičnosti tretiranih rastvora primenom <i>V. fischeri</i>	
3.7.2.1 Procena toksičnosti rastvora azo boja i ibuprofena nakon AOP tretmana	123
4. REZULTATI I DISKUSIJA	125
4.1 Efekat homogenog katalizatora i pH podešavanja	125
4.2 Proizvodi degradacije – organske kiseline i hlorid	131
4.3 Test sa <i>A.salina</i> - Procena ekotoksičnosti rastvora 4CP i proizvoda degradacije u nekatalitičkom i katalitičkom (Fe^{2+} ili H_2O_2) NTP tretmanu	136
4.4 Efikasnost smanjenja toksičnosti- poređenje nekatalitičkog sistema DBD i katalitičkog sistema DBD/ Fe^{2+} za degradaciju 4CP	139
4.5 Azo boje optimizacija pH i napona	143
4.6 Degradacija reaktivnih boja (RG15, RY125) u visokoj koncentraciji	147
4.7 HPLC analiza degradacije reaktivnih boja RG15 i RY125	149
4.8 Procena toksičnog efekta	151
4.9 Degradacija ibuprofena pomoću „AOP“-a	160

4. 10 Formiranje proizvoda oksidacije	167
4.11 Procena toksičnosti	172
4.11.1 <i>Vibrio fischeri</i>	172
4.11.2 Procena toksičnosti primenom <i>A.salina</i>	175
4.12 Degradacija IBP-a primenom EAOP-a	175
4.12.1 Procena ekotoksičnosti rastvora IBP-a nakon EAOP tretmana primenom <i>V. fischeri</i>	178
4.12.2 Procena ekotoksičnosti rastvora IBP-a nakon EAOP tretmana primenom primenom <i>A.salina</i>	178
4.13 Poređenje konvencionalnih mikrobioloških tretmana i AOP tehnika u uklanjanju ibuprofena iz vode	179
5. ZAKLJUČAK	180
6. LITERATURA	185
7. BIOGRAFIJA I BIBLIOGRAFIJA	218

1. UVOD

Oko 70 000 različitih hemikalija nalazi se u upotrebi širom planete, a procenjeno je da se samo na godišnjem nivou proizvede od 200 do 1000 novih supstanci (Connell i saradnici, 2009). Tehnologija sinteze, kao i primena različitih supstanci napreduju i sve je veći broj ksenobiotika prisutan u životnoj sredini. Posledice njihove aktivnosti beleže se često tek nakon većih “incidenata” kada postoje i ljudske žrtve. U zavisnosti od namene i upotrebe vode, kao i izvora (površinska, podzemna, komunalna ili industrijska) voda se tretira raznovrsnim tehnologijama za prečišćavanje. Konvencionalne tehnike poput koagulacije, adsorpcije, ultra filtracije, reversne osmoze, kao i biološke metode pokazale su slabu efikasnost u uklanjanju mnogih organskih zagađujućih supstance iz vode. Ovakve supstance često ne podležu biodegradaciji i teško se mogu ukloniti iz okruženja, međutim rigorozna kontrola zagađenja i zakonodavstvo u mnogim zemljama otvorili su put za nove i efikasne tehnologije u tretmanu voda. Unapređeni oksidacioni procesi (*eng. Advance Oxidation Processes*, AOP) predstavljaju kombinaciju hemijskih i fizičkih metoda, koja se pojavila početkom 90-tih godina za sanitaciju vode i sterilizaciju različitih površina (Navarro i saradnici, 2005; Shu i Chang, 2005). Pored velikog broja ispitanih AOP-a tehnologija električnog pražnjenja je pokazala određenu prednost u dekontaminaciji vode, usled obimne produkcije hidroksi radikala. Električno pražnjenje je takođe omogućilo “*in situ*” generisanje ozona umesto “*ex situ*” čime se efikasnije iskorišćava većina hemijskih aktivnih vrsta za dekontaminaciju vode (Muhammad i saradnici, 2001). Netermalni plazma reaktor (NTP – reaktor), koji radi na principu dielektričnog barijernog pražnjenja (*eng. Dielectric Barrier Discharge*, DBD), pri atmosferskom pritisku i sobnoj temperaturi, pokazao se kao efikasna tehnika za degradaciju različitih zagađujućih supstanci u vodenom rastvoru (Kuraica i saradnici, 2004, Manojlović i saradnici, 2006, Dojčinović i saradnici, 2008 i 2011). Osim NTP-reaktora, ektrohemijski procesi – anodna oksidacija (AO), elektro-Fenton i foto-elektrofenton takođe predstavljaju efikasnu tehnologiju u uklanjanju - mineralizaciji velikog broja zagađujućih supstanci i ubrajaju se u unapređene oksidacione procese tj., elektrohemijske AOP-e (EAOP).

Kao što je već navedeno AOP-ise koriste u degradaciji mnogih ksenobiotika, ali naročito su efikasni u degradaciji boja, farmaceutskih proizvoda, pesticida, ali i hemikalija koje utiču na endokrini sistem organizama. Tema ove disertacije bila je proučavanje degradacije rasprostranjenih organskih zagađujućih supstanci 4CP, reaktivnih azo boja (Reactive Green 15, Reactive Yellow 125 i Reactive Blue 52) i ibuprofena primenom različitih AOP-a, kao i ispitivanje ekotoksikološkog efekta proizvoda degradacije primenom standardnih test modela.

Hlorfenoli se nalaze na listi prioritetnih zagađujućih supstanci (US EPA), od kojih je većina toksična za ljude i životinje. Monohlorfenol kao što je *para*-hlorfenol (C_6H_5ClO) klasifikovan je kao opasna supstanca koja dovodi do dugoročnih promena u akvatičnim ekosistemima (Directive 67/548/EEC).Reaktivne azo boje za tekstil dizajnirane su da budu postojne u kontaktu sa znojem, vodom, sapunom, svetlošću, različitim oksido-redukcionim sredstvima, ali i otporne na biološku degradaciju. Endokrini, mutageni i kancerogeni efekat ovih komercijano dostupnih boja dobro je poznat. Niske koncentracije (ng/L - μ g/L) farmaceutskih supstanci predstavljaju realan rizik za živi svet, jer usled postojanosti i biološke aktivnosti ostaju dugoročno prisutne u životnoj sredini i mogu dovesti do ireverzibilnih promena. Ibuprofen, predstavnik nesteroidnih antiinflamatornih lekova, konzumira se obimno u terapiji ljudi i životinja. Od primenjene doze ibuprofena, nakon ekskrecije, u nepromenjenom obliku ostaje 15% supstance, a ostatak u metabolisanom obliku kao hidroksi – ili karboksi – ibuprofen (43 %). Takođe, veliki udeo u zagađenju voda ibuprofenom potiče od nepravilno odloženog medicinskog otpada ili iz netretiranih komunalnih voda.

Cilj eksperimentalnog rada bio je određivanje ekotoksikološkog efekta rastvora zagađujućih organskih supstanci (4CP, azo boja i ibuprofena), kao i njihovih proizvoda degradacije nastalih primenom AOP tretmana. U radu su primenjene sledeće AOP tehnike: Fentonov reagens, neravnotežna plazma i elektrohemijska degradacija (EAOP-i). Efikasnost degradacija zagađujućih organskih supstanci je optimizovana dodatkom homogenih katalizatora (Fe^{2+} i H_2O_2), primenom različitih elektrodnih materijala (Pt, Pd, Zr ili C), uslova elektrolize ili variranjem vremena tretmana. Efikasnost dekolorizacija azo boja praćena je UV-VIS tehnikom, a efikasnost degradacije je praćena jonskom

hromatografijom (IC) i HPLC tehnikom. Identifikacija glavnih proizvoda degradacije (ibuprofen), kao i mehanizmi degradacije određeni su LC-MS (TOF) tehnikom. Identifikacija proizvoda degradacije je značajna zbog poznavanja uslova koji mogu nastati u realnom uzorku vode i potencijalnog mehanizma degradacije. Efikasnost mineralizacije organskih zagađujućih supstanci je određena preko vrednosti totalnog organskog ugljenika (*eng. Total Organic Carbon, TOC*). Ekotoksikološki efekat tretiranih rastvora zagađujućih organskih supstanci pre i nakon tretmana različitim AOP-ima, ispitan je pomoću standardnih test modela *A.salina* i *V.fischeri* za brzu i pouzdanu procenu ekološke toksičnosti.

2. OPŠTI DEO

Ekosistem nije konglomerat abiotičke i biotičke komponente, već dinamična struktura sa posebnom funkcijom. Kada se aktivnošću čoveka i/ili prirode naruši homeostaza sistema, posledice se mogu ispoljiti na različitim nivoima organizacije (molekul, ćelija, jedinka, populacija, zajednica, itd.). Složenost ovog fenomena iziskuje holistički pristup, jer ima više mogućih načina interakcije zagađujućih supstanci i ekosistema (Walker, 1996). Matematička funkcija koja bi opisala takvu interakciju još uvek ne postoji, ali postoje tehnike kojima možemo posmatrati svaki od ovih nivoa i po principu slagalice steći uvid u “veliku sliku” (Landis i Yu, 1995).



Slika 1. Interakcija zagađujuće supstance i različitih nivoa organizacije

Kada zagađujuća supstanca dospe u životnu sredinu, ona može biti usvojena na nivou jedinke i tada dolazi do različitih biohemijskih i fizioloških interakcija, čiji ishod može biti sa subletalnim (reprodukcija, ponašanje, veličina tela) ili letalnim posledicama. Na nivou populacije može doći do promene u karakteristikama i dinamici što utiče na strukturu zajednice (diverzitet vrsta, odnos predator-plen) i na kraju produkciju ekosistema, kruženje nutrijenata i energije.

Ekotoksikologija kao naučna disciplina pojavljuje se 1969. godine, a naziv dobija od prof. R. Truhaut-a spajanjem pojmova ekologija i toksikologija (Walker, 1996). Ona povezuje određene supstance/smeše sa efektima koje izazivaju kod organizama. Zadatak ekotoksikologije je da proceni, prati i predvidi sudbinu sintetisanih supstanci u životnoj sredini (Moriarty,1988).

Oko 70 000 različitih hemikalija nalazi se u upotrebi širom planete, a procena da se na godišnjem nivou proizvede od 200 – 1000 novih supstanci je zabrinjavajuća (Connell i saradnici, 2009). Tehnologija sinteze i primena različitih supstanci napreduju i sve je veći broj istih prisutan u životnoj sredini. Ksenobiotik kao pojam sastavljen od reči stranac, stran xenos (ξένος - xenos) i život (βίος - bios); opisuje supstancu koja nije bila prisutna u evolutivnom periodu razvoja organizama, već je uneta u biosferu u kratkom geološkom periodu. U ekotoksikologiji ksenobiotik označava zagađujuću supstancu koja utiče na organizme.

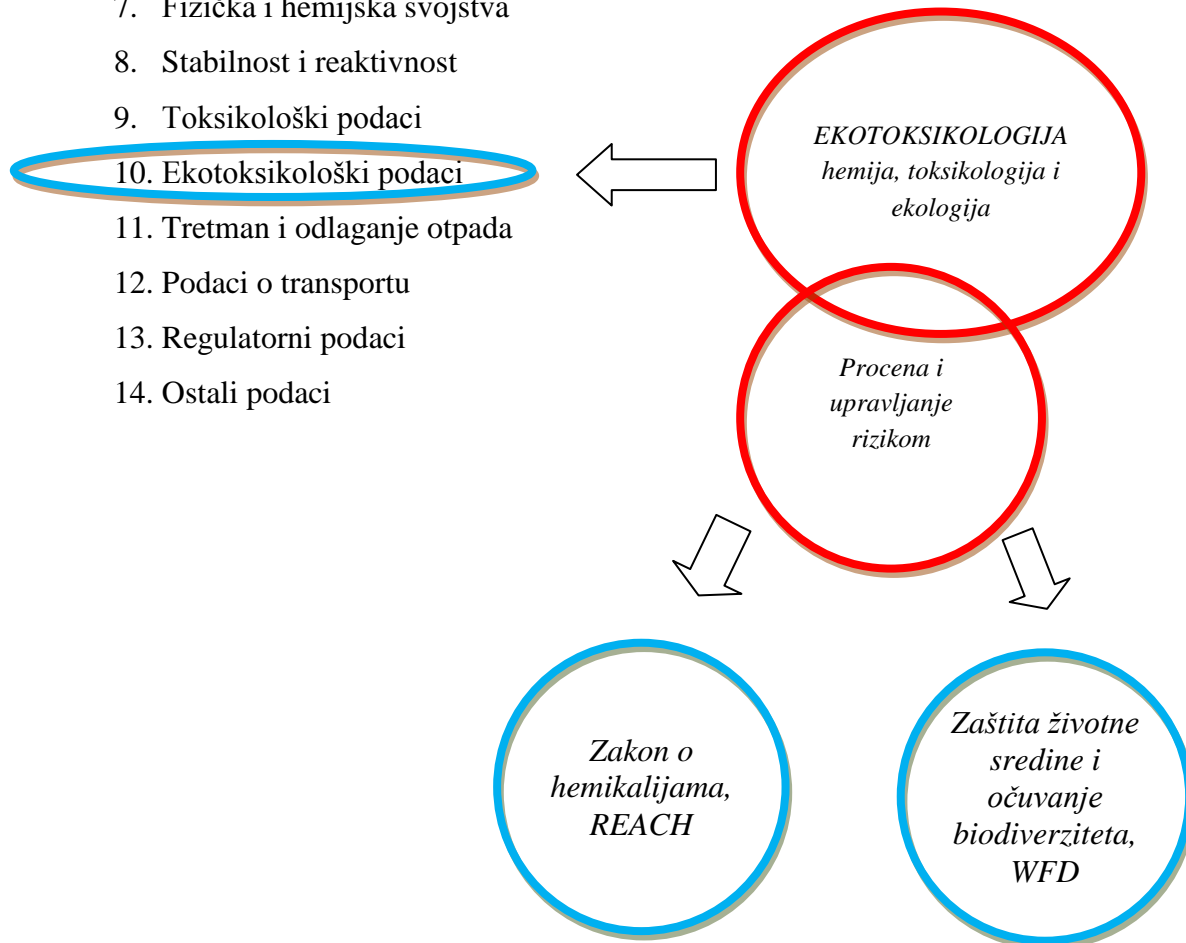
Posledice njihove aktivnosti beleže se često nakon većih tzv. incidenata kada postoje i ljudske žrtve (dioksini – Seveso, Italija 1976; metil izocijanat - Bhopal, Indija 1984; metil-živa - Minamata zaliv 1960-tih, talidomid - Nemačka 1950-tih, DDT (dihlorodifeniltrihloretan), PCB (polihlorovani derivati benzena)..itd).

Hemijski zagađujuće supstance koje u današnje vreme izazivaju posebnu zabrinutostsu: rezidui farmaceutskih proizvoda i pesticida, toksični metali, radionuklidi, hlorovani, zasićeni i nezasićeni, ugljovodonici, fenoli i PCB supstance, aromatični ugljovodonici, rezidui veterinarskih lekova i hormona, mikotoksini, nitriti, nitrati, N-nitrozamini, aril-alkil fosfati, itd.

Prema zakonu o hemikalijama ("Sl. glasnik RS", br. 36/2009, 88/2010, 92/2011 i 93/2012) proizvođači su u obavezi da supstance (hemikalije) definisane kao opasne ili koje sadrže u sebi perzistentne-bioakumulativne - toksične supstance definisane u članu 43. ovog zakona (stav 3) imaju bezbednosni list (*eng. material safety data sheet, MSDS*), koji se dostavlja distributeru i/ili daljim korisnicima.

Bezbednosni list sadrži identifikaciju i fizičko-hemijske osobine supstance, način korišćenja, mere prevencije i smanjenja rizika po životnu sredinu i ljude. Ovo je detaljnije opisano na sajtu bivše Agencije za hemikalije RS (<http://www.shema.gov.rs>), kao i Pravilniku o sadržaju bezbednosnog lista datom kroz sledeća poglavlja:

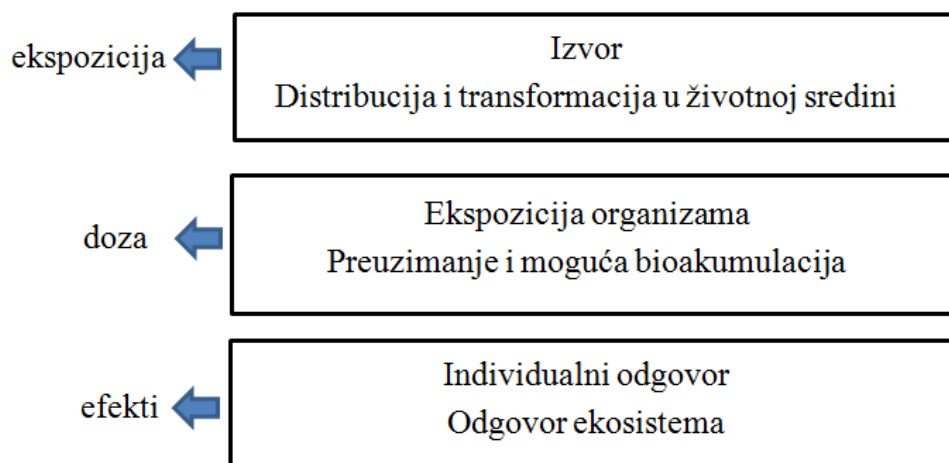
1. Podaci o sastojcima
2. Mere prve pomoći
3. Mere zaštite od požara
4. Mere u slučaju hemijskog udesa.
5. Rukovanje i skladištenje
6. Kontrola izloženosti i lična zaštita
7. Fizička i hemijska svojstva
8. Stabilnost i reaktivnost
9. Toksikološki podaci
10. Ekotoksikološki podaci
11. Tretman i odlaganje otpada
12. Podaci o transportu
13. Regulatorni podaci
14. Ostali podaci



2. 1 Uticaj zagađujućih supstanci u ekosistemu

Toksičnost zagađujućih supstanci (hemikalije) za organizme podrazumeva negativni efekat te supstance na strukturne i funkcionalne promene, koje mogu rezultovati smrću. Krajnji ishod zavisi od svojstava, koncentracije, biodostupnosti hemikalije, kao i mehanizama detoksifikacije organizma. Kada se jednom nađe u životnoj sredini sav otpad i supstance izložene su fizičko-hemijskoj i mikrobiološkoj degradaciji. Njihova dalja sudbina utiče na količinu biodostupne koncentracije (često dosta manje od početne) tj. deo koji prelazi biološku membranu (difuzijom, aktivnim transportom..) i daljom distribucijom kroz cirkulaciju dolazi do ciljnih tkiva i organa gde se ispoljava toksični efekat.

Uopšteno uticaj zagađujuće supstance u ekosistemu se može prikazati kroz sledeće etape: ekspozicija, doza i efekti.



Slika 2. Etape interakcije zagađujuće supstance i ekosistema

Posmatranje ili praćenje efekata zagađujućih supstanci na nivou jedinke (biohemijske promene na ćelijskom nivou, fiziološke promene, intenzitet disanja, intenzitet fotosinteze, ponašanje, reprodukcija, itd..) naziva se biomonitoring. Dagnje su dobar primer vrste koja se često koristi kao indikator zagađenja teškim metalima, PCB-ijevima i pesticidima u akvatičnim ekosistemima. One se hrane filtrirajući vodu i zato su veoma izložene

zagađujućim supstancama u vodi i supstancama vezanim za suspendovane čestice u vodenom stubu.

2.2 Sudbina zagađujućih supstanci u ekosistemu

Mnoge supstance prisutne u životnoj sredini su nativne (teški metali: Pb, As, Cr, mikotoksini, alkaloidi, radionuklidi...), ali antropogenom aktivnošću njihova količina, kao i količina sintetičkih supstanci u određenim matriksima se progresivno povećava. Proizvodnja, namena i način odlaganja zagađujućih supstanci (komunalni, industrijski, poljoprivredni otpad, hemijski akcidenti, farmaceutski metaboliti, itd.) predstavljaju njihov izvor i put distribucije.

Zagađujuće supstance nisu statične u životnoj sredini, već podležu fizičkim procesima i hemijskim promenama koje mogu biti i istovremene - do dostizanja "ravnotežnog" stanja. Raspodela supstanci između različitih medijuma životne sredine odvija se preko granice dve faze koje su u kontaktu i zavisi od:

1) *Fizičko – hemijskih svojstava supstance*, kao što su: molekulska struktura, molekulska masa, rastvorljivost u vodi, napon pare, Henrijeva konstanta, koeficijent raspodele oktanol/voda, konstante kisele ili bazne disocijacije, koeficijent difuzije, konstante hidrolize, veličina čestice...itd; ali i od procesa na samom faznom prelazu kao što su razlaganje, sorpcija ili volatizacija.

2) *Procesa transporta u životnoj sredini*: disperzije, sedimentacije, difuzije...itd. Transport na primeru akvatičnog ekosistema zavisi od protoka i stepena mešanja vode, brzine sedimentacije čestica, temperature, pH vrednosti, količine suspendovane materije, prirode sedimenta (sadržaj organskog ugljenika i redoks status), kao i mikrobijalne zajednice i sadržaja nutrijenata.

3) *Procesa transformacije u životnoj sredini*:

-abiotička transformacija: hidroliza, fotoliza, disocijacija, oksido-redukcije;

-biotička transformacija: aerobna biodegradacija i anaerobna biodegradacija.

Smatra se da je distribucija zagađujuće supstance u okviru pojedinačne faze uniformna, dok koncentracija može biti i viša u nekoj od faza, što pored već navedenog zavisi i od hemijskog oblika u kom se supstanca ispušta u životnu sredinu.

Kao primere dvofaznih sistema možemo navesti sledeće: voda-organizmi u vodi, voda-sediment, voda-atmosfera, atmosfera-vegetacija, atmosfera-zemljište ili atmosfera-vodena sredina.

Ravnotežno stanje u dvofaznom sistemu opisuje se primenom Freundlichove jednačine: $C_A = K * C_B^{1/n}$

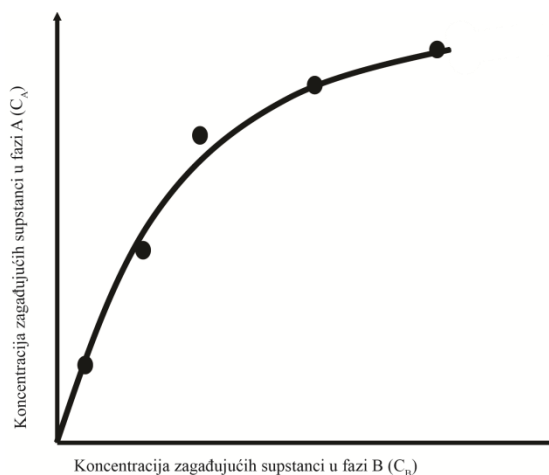
C_A - Koncentracija supstance u fazi A,

C_B – Koncentracija supstance u fazi B

K- Particioni koeficijent

n - Konstanta...i ako su koncentracije veoma niske u životnoj sredini $n=1$,

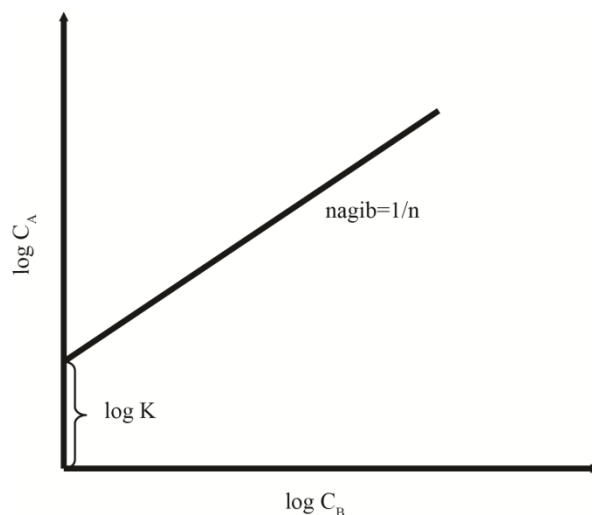
$K = C_A / C_B$



Slika 3. Raspodela niske koncentracije zagađujuće supstance između faza A i B

Nelinearnost izoterme može se objasniti adsorpcionim mehanizmima zagađujućih supstanci u porama ili vezivanje za čvrste čestice (Connell i saradnici, 2009).

Ukoliko koncentracija zagađujuće supstance nije niska, Freundlichova jednačina se logaritmuje $\log C_A = 1/n \log C_B + \log K$ i dobijamo grafik na kome je $\log K$ odsečak (a) y ose ($\log C_A$) u slučaju kada je $\log C_B = 0$, a nagib ove prave (b) je $1/n$ (Slika 4).



Slika 4. Raspodela visoke koncentracije zagađujuće supstance između faza A i B

Na primeru raspodele između organizma i vode $K_{LBV} = C_{BL}/C_V$

K_{LBV} –lipidibiote/voda particioni koeficijent

C_{BL} – koncentracija u lipidima organizma

C_V – koncentracija u vodi.

$C_{LB} = C_B/y$,

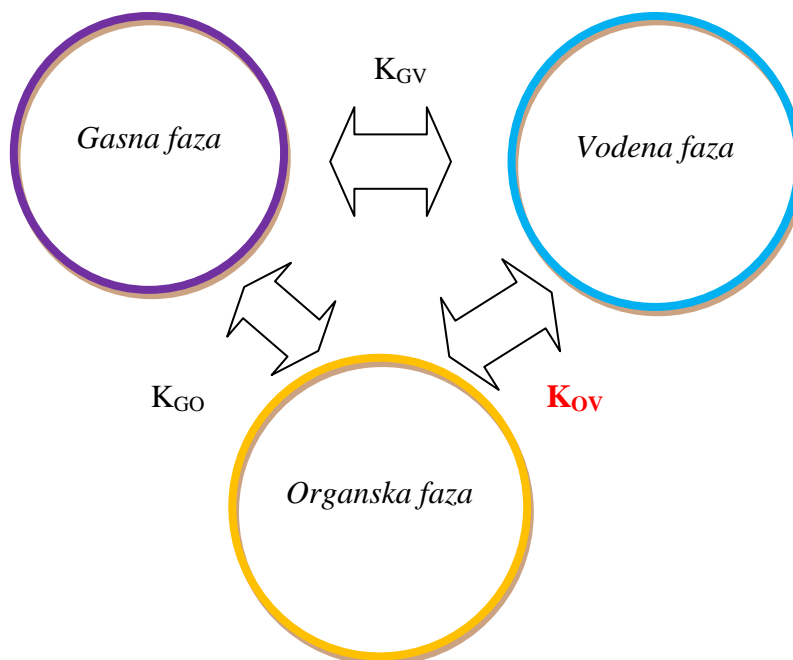
C_B koncentracija u ukupnom tkivu organizmu, a y je - lipidna frakcija.

Onda $K_{LBV} = C_B/y * C_V$

U akvatičnoj sredini zagađujuće supstance raspodeliće se između hidrofobne (lipofilne) i hidrofilne faze u zavisnosti od svoje polarnosti i to se može prikazati preko koeficijenta oktanol voda $K_{OV} = C_O/C_V$. Tada bi u formuli umesto lipida posmatrali oktanol, a znamo da je $K_B = C_B/C_V$ (biokoncentracioni factor) $K_B = y * K_{LBV} = y * K_{OV}$ tako da ako je 5% masti u ribama $y = 0,05$ (Connell i saradnici, 2009).

Oktanol-voda particioni koeficijent K_{OV} , koristi se kao važna fizičko-hemijska osobina svake supstance u proceni rizika za životnu sredinu ($\log K_{OV} \geq 3$). Tako hidrofobni i veliki molekuli nisu dostupni ribama. PCB se brzo adsorbuje u sediment i nije biodostupan biljkama, dok neki pesticidi i nakon adsorpcije u sediment ostaju biodostupni za biljke i organizme u bentosu. Biodostupnost se obično smanjuje sa povećanjem vrednosti $\log K_{OV}$.

Razlog tome je povećana raspodela nepolarnih organskih komponenti u čvrstoj fazi sedimenta, što ima za posledicu nisku koncentraciju u međufaznim segmentima vode. Osnovni uslov da neka supstanca bude ekotoksična je njena biodostupnost.



Slika 5. Raspodela zagađujućih supstanci između različitih medijuma definisana je particionim koeficijentima: K_{GV} , K_{GO} i K_{OV} .

2.3 Abiotički i biotički faktori koji utiču na transformaciju zagađujućih organskih supstanci u životnoj sredini

2.3.1 Abiotički

Hemijska transformacija sintetičkih hemikalija može biti abiotička ili biotička. Abiotički faktori koji utiču na sudbinu zagađujućih supstanci u životnoj sredini su:

- ✓ pH
- ✓ Temperatura
- ✓ Redoks-potencijal
- ✓ Fotohemijske reakcije
- ✓ Adsorpcija i desorpcija
- ✓ Hidroliza

Vrednost *pH* i/ili promena *pH*, igra ključnu ulogu u sudbini zagađujuće supstance u zemljištu i sedimentu. Tako određeni pesticidi (permetrin, *trans*-tetrametrin ili fenvalerat) podležu hidrolizi kada se nađu u alkalnoj sredini (Stangroom i saradnici, 2000). Stopa hidrolize raste sa povećanjem *pH* vrednosti u slučaju *trans*-tetrametrina. Proizvodi nastali alkalnom hidrolizom su polarni - kiseline i/ili aldehidi, kao i biodostupniji od početnog molekula pesticida (Meggo i Schnoor, 2011).

Temperatura je važan parametar koji utiče na particioni koeficijent raspodele supstance, biohemijski i fiziološki odgovor organizma, a samim tim i na stopu biodegradacije. Ona može uticati i na kinetiku desorpcije zagađujuće materije poput hlorobenzena, koji se brže desorbuje na višoj temperaturi (Cornelissen i saradnici, 1997).

U zemljištu i sedimentu sudbina organskih zagađujućih supstanci uslovljena je i *redoks-potencijalom*. Poređenja radi mali broj funkcionalnih grupa se oksiduje ili redukuje abiotički (Schwarzenbach i saradnici, 2003) u odnosu na broj zagađujućih supstanci koje se degradiraju mikrobiološki preko redoks procesa. U životnoj sredini abiotičke reakcije neraskidivo su povezane sa biološkom aktivnošću (Schwarzenbach i saradnici, 2003) i najznačajniji oksidansi su O₂, Fe (III), Mn (III) i Mn (IV) oksidi.

Fotohemijski procesi u vodi se odvijaju u prisustvu elektromagnetnog zračenja (VIS - UV, od 240 do 700 nm). Samo supstance u kojima elektronske promene odgovaraju energiji upadnog zračenja podležu fotohemijskim procesima. One u kontakt sa $h\nu$ prelaze iz osnovnog u ekscitovano stanje, a potom se ili vraćaju u prethodno stanje fizičkim procesima (vibracioni gubitak energije, fluorescencija, fosforescencija i fotosenzibilizacija) ili se hemijskim procesima (fragmentacije, intermolekulskog premeštanja, transfer elektrona...itd) menjaju i nastaju novi proizvodi.

Fotohemijske reakcije mogu biti direktne (fotodegradacija) ili indirektne uglavnom posredovane proizvodima razlaganja vode, reaktivnih formi kiseonika, $\bullet\text{OH}$ radikala, peroksi radikala ($\bullet\text{OOR}$), fotoekscitovane organske materije ili drugih reaktivnih vrsta (Lam i saradnici, 2003).

Uopšteno se fotohemijske reakcije mogu podeliti u dve kategorije:

- 1) Fotolizu- hidrolizu izazvanu svetlošću (VIS - UV)
- 2) Fotoredoks reakcije –eliminacija, oksidacija, redukcija ili ciklizacija.

Fotodegradaciji su posebno podložne supstance sa konjugovanim dvostrukim vezama. Smatra se da u reakcijama fotolize nastaju proizvodi koji su rastvorljiviji u vodi i manje toksični od početnih molekula. Ovo nije slučaj sa policikličnim aromatičnim ugljovodonicima, jer je njihova toksičnost za ribe i beskičmenjake podstaknuta svetlošću (Crosby 1994).

Fotooksidacija i fotoredukcija u procesu degradacije smanjuju koncentraciju i transformišu zagađujuće supstance menjajući njihovu biodostupnost, ali proizvodi degradacije mogu biti perzistentni, čak i više toksični za organizme od polaznog molekula. Na primeru *Lepomis macrochirus* (plavoškrge sunčanica), ribe iz porodice *Centrarchidae*, koja se koristi u testovima ekotoksičnosti za analizu različitih zagađujućih supstanci (OECD 203 ili EU 92/69/EEC, C.1) zabeležena je osetljivost na prisustvo antracena samo ukoliko je stanište osvetljeno (VIS-UV). Eksperiment je postavljen tako što su ribe podeljene u dve grupe na osvetljeni i neosvetljeni (senka) deo staništa, a potom izložene antracenu ($12.4\mu\text{g/L}$) u periodu od 48 h.

U osvetljenom delu staništa ova koncentracija je bila fatalna za ribe, dok je efekat izostao u zamračenom delu staništa. Ove ribe su ostavljene još 4 dana u mraku, bez ponovnog unošenja antracena radi oporavka (koncentracija supstance u vodi nije detektovana). Nakon tog vremena one su izložene svetlosti (Bowling i saradnici, 1983) i zabeležen je potpuni mortalitet u roku 24 h. Ustanovljeno je da toksični efekat antracena nije bio izazvan proizvodima fotodegradacije u vodi, već proizvodima fotoaktivacije molekula u telu ribe. U prirodi ovo bi znatno više uticalo na riblju mlad, nego adulte. Sličan efekat nakon fotoaktivacije pokazali su i benzo(a)piren, benzo(a)antracen i pireni (Giesy i saradnici, 1982).

U vodi *adsorpcija* se odvija na površini suspendovanih čestica i sedimenta. Na ovaj način smanjuje se njihova biodostupnost, ali i mogućnost biodegradacije (mikroorganizmi).

Sam process adsorpcije može biti reverzibilan ili ireverzibilan što svakako utiče na buduću biodostupnost. Neke smeše zagađujućih materija (aktivni ugalj i PCB) mogu bolje sorbovati na određeni materijal nego pojedinačne supstance i tako biti manje dostupne oligohetama (Sun i Ghosh, 2007) u životnoj sredini.

Supstance vezane za čvrstu fazu u vodenim tokovima izložene su neprekidnom taloženju, kao i ponovnoj resuspenziji. U rečnim sistemima ovaj proces je najviše odgovoran za distribuciju organskih jedinjenja.

Organska jedinjenja koja sadrže estarske ili amidne funkcionalne grupe u odgovarajućim pH uslovima, mogu biti hidrolizovana abiotičkim reakcijama (Neilson 2000). Istovremeno mogu biti aktivne hidrolitička i fotolitička hidroliza sa generisanjem različitih krajnjih proizvoda. Abiotička hidroliza bez biološke komponente neće dovesti do kompletne mineralizacije zagađujućih organskih supstanci, ali je nezavisna od redoks i aerobno/anaerobnih uslova.

2.3.2 Biotički faktori

Biološka degradacija u vodenom stubu, sedimentu ili zemljištu se može odvijati pod aerobnim i anaerobnim uslovima. Bogatstvo mikrobijalnog sveta koji učestvuje u biodegradaciji efikasno je demonstrirao Sergei Winogradsky 1890 (kolona Vinogradski).

Transformacija organskih zagađujućih supstanci posredstvom mikroorganizama odvija se metabolizmom mikroorganizama, usled promena staništa izazvanog njihovom aktivnošću (promena pH ili redoks potencijala) ili se supstance akumuliraju u telu mikroorganizma. Mikrobijalna transformacija zavisi od supstrata, temperature, kiseonika, dostupnosti nutrijenata i interakcija sa sredinom (pH i temperatura).

Supstance koje ne podležu promenama aktivnošću mikrobijalne zajednice, mogu biti perzistentne. Nekoliko faktora koji utiče na stepen degradacije su: sterna efekat, gustina elektrona, redoks uslovi ili dostupnost zagađujuće supstance. Sterna efekat utiče na transport supstance preko membrane. U opštem slučaju stepen degradacije se povećava sa aerobnošću, izuzetak su PCB supstance, koje se bolje degradiraju u anaerobnoj sredini. Zemljište obilnije organskom materijom ima raznovrsniju mikrobiološku zajednicu, što povećava potencijal za degradaciju zagađujućih organskih supstanci. Temperatura utiče na sastav konzorcijuma pa samim tim i na sudbinu zagađujućih supstanci. U slučaju pH vrednosti najbolja degradacija se odigrava na neutralnoj pH.

Degradacijom organskih zagađujućih supstanci mikroorganizmi dolaze do ugljenika i/ili energije. U slučaju prokariota:

Alifatične supstance – su najdostupnije mikroorganizmima, ali razgranata alifatična struktura može umanjiti stepen ili brzinu degradacije. Najefikasnija degradacijau aerobnim uslovima se odigrava kod molekula umerene veličine. Sa povećanjem molekulse mase, otežan je prekomembranski transport i smanjena rastvorljivost. Ove supstance su manje biodostupne. U suprotnom slučaju supstance manje molekulske mase imaju veću rastvorljivost, usvajaju se u većoj koncentraciji i mogu biti toksičnije za ćeliju.

Zahvaljujući kiseoniku u svojoj strukturi jedinjenja kao alkoholi, aldehidi, ketoni i karboksilne kiseline će lako podleći degradaciji i u anaerobnoj sredini Grossi i saradnici, 2007).

Aliciklična jedinjenja degradiraju se dobro u aerobnim uslovima, putem ko-metabolizma (oksidacija supstance, koja se ne koristi za bakterijski rast, Nyholm i saradnici, 1996) ili komensalizma (interspecijski odnos koji je pozitivan za komensala, a neutralan po drugu vrstu) (Stirling i Watkinson, 1977). Ovi interspecijski odnosi konzorcijuma doprinose potpunoj mineralizaciji, ali je brzina degradacije ograničena brojem alkil grupa.

Aromatična jedinjenja se lako biodegradiraju ili transformišu preko enzima dioksidogenaze (deciklizacija). Enzimi ovog tipa uvode molekulski kiseonik, kao intermedijeri nastaju kateholi, a zatim se raskida veza između ugljenikovih atoma za koje su vezane hidroksilne grupe ili u njihovoj blizini, što dovodi do otvaranja prstena i formiranja linearnih struktura koje su podložnije biodegradaciji. Naravno, postoje aromatična jedinjenja sa 4 i više prstenova, ona predstavljaju pravi izazov za ko-metabolizam i mogu se okarakterisati kao perzistentna (Neilson, 2000).

Eukarioti - kvasci i gljive koriste enzimsku kaskadu citohroma P450 monooksigenaze u degradaciji aromatičnih jedinjenja (Neilson, 2000). Više biljke takođe metabolišu, akumuliraju i/ili transformišu organske zagađujuće supstance (fitoekstrakcija, fitovolatizacija, itd.).

Nakon unošenja zagađujućih supstanci i biljke i životinje imaju mehanizme detoksifikacije ili ekskrecije, ali proces akumulacije u adipoznom tkivu (životinje) ili nedostatak odgovarajućeg enzimskog sistema za biotransformaciju remeti oslobađanje od ksenobiotika.

Problem se javlja kada je supstanca rezistentna na hemijske ili biološke transformacije, ako zakažu mehanizmi detoksifikacije ili ako nakon transformacije ona postaje toksičnija za organizme od početne supstance. Poznat primer je slučaj trovanja ribe u zalivu Minamata (Japan) nakon ispuštanja netretiranih otpadnih voda iz fabrike za proizvodnju veštačkih đubriva, koje su imale značajan sadržaj žive. U anaerobnim, ali i aerobnim uslovima živa postaje metilovana od strane mikroorganizama i ulazi u mreže ishrane, a kao posledica biomagnifikacije sadržaj žive raste u organizmima koji se nalaze na višoj lestvici u lancu. Kod ovakvih supstanci sudbina i raspodela u životnoj sredini najviše zavisi od:

K_{OV} oktanol voda particionog koeficijenta

DT_{50} poluvremena degradacije

BAF bioakumulacionog faktora

BCF biokoncentracionog faktora

Perzistentnost je mera rezistentnosti neke supstance prema fizičkim, biološkim i hemijskim procesima koji imaju za cilj degradaciju ili transformaciju te supstance do forme koja nije biodostupna. Perzistentnost se procenjuje na osnovu odgovarajućeg poluvremena degradacije (DT_{50}), tj. vremena koje je potrebno da se koncentracija neke supstance u određenom medijumu smanji na polovinu (ili vreme koje je potrebno da se 90% supstance razgradi DT_{90}).

Tabela 1. DT_{50} određenih zagađujućih supstanci u umerenoj klimi

Supstanca	DT_{50} u zemljištu	DT_{50} u vodi
Atrazin	od 100 dana do 1 godine	od 55 do 105 dana
DDT	od 2 do 15 godina	28 dana (rečna voda)
Fenantren	od 16 do 200 dana	od 90 do 120 dana (rečna voda)
Karbofuran	od 26 do 110 dana	od 2 do 6 h (rečna i jezerska voda)

Bioakumulacija je rezultat usvajanja (škrge, dermalno, inhalacija ili ingestija), biotransformacije, detoksifikacije, akumulacije i ekskrecije (toksikokinetike) različitih supstanci između organizma i životne sredine (Landis, 1995).

U ovom procesu koncentracija neke supstance u organizmu prevazilazi nivo iste u životnoj sredini.

Do akumulacije dolazi kada usvajanje prevaziđe eliminaciju ili se metabolizam i ekskrecija zagađujućih supstanci odvija sporije od usvajanja. Nakon određenog perioda akumulacije na kraju dolazi do prevazilaženja granice toksičnog efekta. Bioakumulacija zavisi od particionog koeficijenta oktanol-voda, temperature, pH, metabolizma, starosti i pola organizma, vrste, ponašanja, sezonskog ciklusa, itd.

Bioakumulacioni faktor se računa preko formule:

$$BAF = \frac{C_o}{C_i}$$

C_o – koncentracija date supstance u organizmu; C_i –koncentracija date supstance u životnoj sredini (voda, zemljište) ili izvoru (hrana).

Za lipofilne organske zagađujuće supstance, masa se izražava preko ukupne mase lipidne supstance u organizmu. Kao posledica hemijske sorpcije na čestice i rastvorenu organsku materiju u vodenom stubu, značajno se može umanjiti količina koju će organizmi apsorbovati. BAF se može prikazati u odnosu na slobodnu - rastvorenu koncentraciju neke supstance (C_{sr}).

$$BAF = \frac{C_o}{C_{sr}}$$

Biokoncentracioni faktor je odnos koncentracije neke supstance u određenom organizmu i koncentracije u okolnom prostoru (npr. vodi) u stanju ravnoteže.

Biokoncentracija se odnosi na efekte (C_n) koji se obično postižu u laboratorijskim uslovima, kada se hemikalija iz okolne sredine (C_s) apsorbuje samo respiracijom ili dermalno. Biokoncentracioni faktor se računa preko formule:

$$BCF = \frac{C_o}{C_s}$$

Postoji pozitivna linearna korelacija između log BCFa i log Kov.

Biomagnifikacija (trofički transfer) je proces u kome koncentracija neke supstance prevazilazi količinu unetu ishranom. Odnosno, biomagnifikacioni faktor (BMF) pokazuje da koncentracija zagađujućih supstanci u organizmu na jednom trofičkom nivou prevazilazi koncentraciju kontaminanta u organizmu na prvom nižem trofičkom nivou.

Najjednostavniji način da se kvantifikuje biomagnifikacija je da se podeli sadržaj zagađujućih supstanci na trofičkom nivou n (C_n) sa sadržajem sledećeg nižeg trofičkog nivo (C_{n-1}). Ovakav biomagnifikacioni faktor podrazumeva da je količina „masne“ materije u organizmu merene i „referentne“ individue ista, ako se ispituje lipofilna komponenta.

$$BMF = \frac{C_n}{C_{n-1}}$$

2.4 Mehanizam biotransformacije ksenobiotika u organizmima

Usvajanje i ekskrecija određene supstance uslovljena je procesima pasivne difuzije ili aktivnog transporta. Svi ksenobiotici se mogu podeliti na: superhidrofobne (SH), hidrofobne (HFO), polarne (P) i hidrofilne (HFI). Veliki deo hidrofobnih jedinjenja se eliminiše pasivnom difuzijom ili ekskrecijom; ili se akumulira u masnom tkivu (SH i HFO), dok P i HFI ulaze u fazu I / II bioaktivacije ili detoksikacije i na kraju ekskretuju iz organizma.

Reakcije biotransformacije u organizmu su podeljene u dve faze:

Faza I bioaktivacije ili detoksikacije su nesintetske reakcije: hidroliza, oksidacija, redukcija. Kod njih dolazi do promene rastvorljivosti supstanci nastajanjem polarne grupe (-OH, -COOH, -NH₂) koje sepotom prevode u II fazu enzimskih reakcija.

Faza II bioaktivacije ili detoksikacije su sintetske reakcije – konjugacija: konjugacija sa ugljenim hidratima, amino kiselinama, sulfatima, fosfatima; zatim acetilovanje ili metilovanje. Nastaju proizvodi kao što su glukuronidi, sulfati, acetil i glutation konjugati, a potom se izbacuju iz tela ekskrecijom.

Smanjenje koncentracije ksenobiotika u telu se takođe može postići i rastom, izlučivanjem (znojenjem), disanjem ili premeštanjem supstance/metabolita u jaja.

2.5 Povezanost doze i efekta zagađujuće supstance

Toksičnost ne samo da predstavlja potencijal neke supstance da izazove štetan efekat na organizam, već i funkciju koncentracije, kao i dužine ekspozicije datoj supstanci. Kako bi odredili intenzitet toksičnosti hemikalije na organizam prati se odgovor organizma prema koncentraciji te supstance testovima toksičnosti.

Toksikološki test je procedura koja se koristi za procenu efekta izabrane supstance/smeše na test vrstu/e u strogo kontrolisanim, standardizovanim uslovima, koji omogućuju poređenje i ekstrapolaciju dobijenih rezultata na uslove prirodnog sistema.

Toksični efekti - odgovor organizma koji se beleži nazvan je “endpoint”, u slobodnom prevodu - krajnji ishod. On je u direktnoj vezi sa koncentracijom zagađujuće supstance. Odgovor organizama može biti:

- subletalni: rast, razviće, reprodukcija, patologija, fiziološke promene, ponašanje ili
- letalni: smrtnost / preživljavanje.

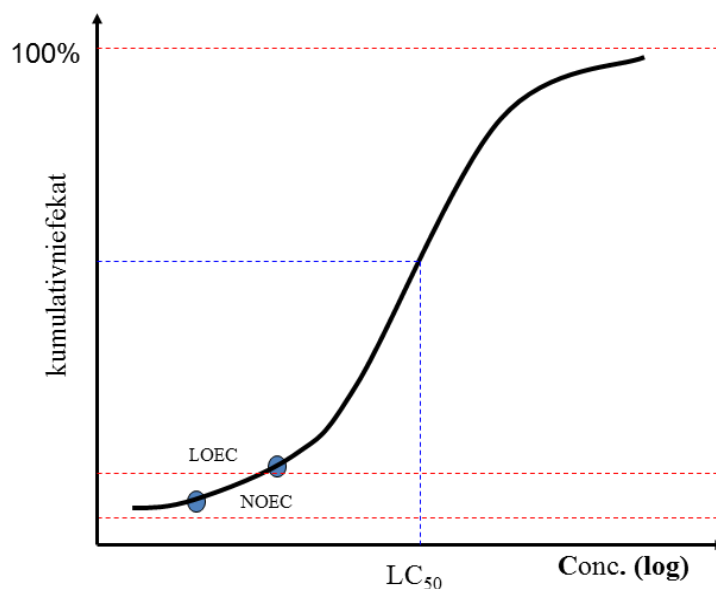
Toksični efekti se mogu kvantifikovati kao: broj uginulih, broj oplodjenih jaja, specifična stopa dužinskog / masenog individualnog / populacionog rasta, procenat enzimske inhibicije, broj skeletnih abnormalnosti, verovatnoća pojave tumora, itd. Najviše korišćeni krajnji ishod je smrt organizma – u akutnom jednokratnom izlaganju organizma određenoj koncentraciji.

Osnovni princip svih testova toksičnosti je dozna zavisnost reakcije (odgovora) organizma (populacije / ekosistema) na izloženost toksičnom agensu. Koristeći ovaj princip, toksikološki testovi se planiraju i postavljaju tako da opišu odnos koncentracije - efekta (odgovora).

Nekada je mereni odgovor organizma na hemikaliju bio po principu “*sve ili ništa*”. Praćen je mortalitet (preživljavanje) i ovakvi testovi su kratkoročni-akutni testovi. Mada kada se ispituje toksičnost neke supstance (naročito u akvatičnim sistemima) prvo se primenjuju testovi nalaženja opsega (*eng. range-finding*) u kome se efekat ispoljava. Najčešće se sastoji od akutnog statičkog testa, test grupe sa po 5 članova, logaritamske serije razblaženja 0.10%, 1.00% 10.0% i100%, kao i kontrolne grupe. Vreme trajanja testa je od 8 do 24 h. Slede “definitivni” testovi toksičnosti koji uključuju više grupa organizama

sa po 10 ili više od deset organizama u uskom rastućem (geometrijskom) nizu koncentracija supstance/smeše (6.25%, 12.5%, 25%, 50%, 75% i 100%). Najčešće se primenjuje serija od 5 koncentracija. Broj uginulih ili deformisanih jedinki prema standardizovanim protokolima za akutni test toksičnosti beleži se u periodu od 24, 48, ili 96 h (ribe). Kada se odredi kumulativni procenat uginulih ili deformisanih jedinki po koncentraciji podaci se unose na grafik. Kriva odnosa odgovora i koncentracije ima sigmoidalni oblik, gde je centralni deo gotovo linearan, a krajevi koji se bliže 0% i 100% efekta podložni su većoj grešci.

Iz krive dozne zavisnosti određuje se medijalna koncentracija koja dovodi do mortaliteta/deformacije/inhibicije 50% populacije.



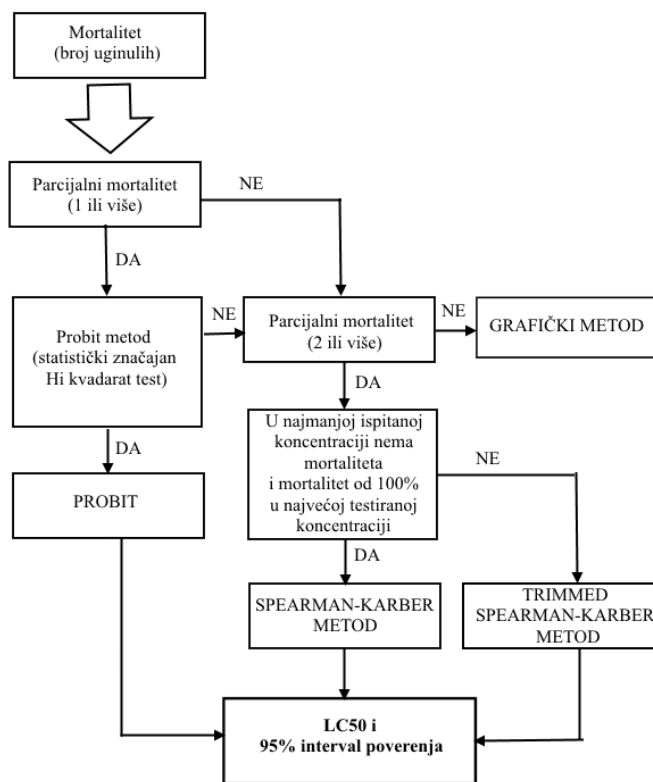
Slika 6. Grafički prikaz određivanja LC₅₀, NOEC i LOEC vrednosti

Vrednost LC₅₀/LD₅₀ se može računati ili

- Preračunavanje LC₅₀/LD₅₀ ekstrapolacijom sa krive doza-odgovor ili
- Izračunavanje LC₅₀/LD₅₀ u Excel-u uz korišćenje tablica za prevođenje procenta odgovora u probit jedinice. U obradi rezultata bioloških testova često je

potrebno transformisati ih radi statističke analize u probit jedinice, logit ili arcsin.

- Izračunavanje LC_{50}/LD_{50} pomoću jednog od softvera (TestToks 1.0, PHARM (Pharmalologic Calculation System, ver. 4.0, 1986) primenom Probit, Spearman-Karber, Dunnet metode ili neke druge metode u zavisnosti od ulaznih podataka. Hodogram selekcije odgovarajuće metode za izračunavanje vrednosti nalazi se na slici broj 7.



Slika 7. Određivanje LC_{50} vrednosti, kada se testira serija koncentracija (EPA 2002)

Konačni efekat u zavisnosti od testa se sumira kroz sledeće pojmove:

LD_{50} – primenjena doza pri kojoj je mortalitet populacije 50%

LC_{50} – letalna koncentracija test supstance ili razblaženje otpadne vode koje izaziva smrt 50% test jedinki (LC_0 – LC_{99})

EC_{50} – efektivna koncentracija test supstance ili razblaženje otpadne vode koje izaziva 50 % maksimalnog efekta na posmatrano svojstvo (reprodukciju, rast...) (EC_0 – EC_{99})

NOEC – najviša koncentracija/ razblaženje koje ne izaziva statistički značajan pad vrednosti posmatranog efekta (preživljavanje, reprodukcija, rast...)

LOEC – najniža koncentracija / razblaženje koja izaziva statistički značajan pad vrednosti posmatranog efekta (preživljavanje, reprodukcija, rast...)

IC_{25} IC_{50} – koncentracija / razblaženje – koje izaziva 50 ili 25% pad (inhibiciju) vrednosti posmatranog efekta

TU_a i TU_c - toksične jedinice

ACR – odnos akutna / hronična toksičnost

Doza je trenutno primenjena koncentracija, koja se odlikuje učestalošću primene i vremenom ekspozicije. Kada govorimo o letalnoj dozi - LD_{50} to je termin koji se odnosi na toksikološke testove, pri čemu se doza unosi u telo inhalacijom, ingestijom, ubrizgavanjem (najčešće miša/pacova/zeca) ili se nanosi preko neke površine tela (koža, oči, itd). Efektivna koncentracija (*eng. effective concentration*, EC) opisuje koncentraciju zagađujuće supstance koja se nalazi u medijumu gde i organizam. Iz krive dozne zavisnosti koncentracija koja izaziva 50% negativnog efekta definisana je kao EC_{50} .

U slučaju da je negativni efekat mortalitet (*eng. lethality*) ili inhibicija (*eng. inhibition*) onda se EC_{50} obeležava kao LC_{50} ili IC_{50} . Takođe EC_{50} i IC_{50} bi trebali da budu niže vrednosti od LC_{50} , jer oštećenje određene funkcije, nastupa pre smrti.

Vrednosti LD_{50} ili LC_{50} se očitavaju sa grafika. Što je niža njihova vrednost to je supstanca toksičnija. Testovi akutne toksičnosti se porede preko LD_{50} ili LC_{50} vrednosti, ali se oblik ili nagib krive mogu razlikovati, a samim tim i toksični efekat. Takođe kao krajnji

rezultat o toksičnosti neke supstance može se uzeti i MATC (*eng. maximum acceptable toxicant concentration*) maksimalno dozvoljena vrednost toksične supstance, a nalazi se između vrednosti NOEC i LOEC tačnije $NOEC < MATC < LOEC$. Vrednost MATC se izračunava i kao geometrijska srednja vrednost NOEC-a i LOEC-a u regulatorne svrhe.

U prisustvu dovoljno podataka o hroničnim efektima određene zagađujuće supstance, može se izračunati i faktor aplikacije (faktor primene – za pesticide), koji je bezbedan za životnu sredinu. Dobija se empirijski kao odnos MATC (rasta, reprodukcije, itd) i LC_{50} vrednosti dobijene nakon 48 ili 96 h ekspozicije ($AF = MATC / LC_{50}$). Ovako se dobija gruba procena hronične u odnosu na akutnu toksičnost, koja je data ACR odnosom.

Uopšteno testovi toksičnosti se mogu podeliti na:

- a) Kratkoročne testove sa jednom vrstom
- b) Dugoročne testove sa jednom vrstom
- c) Test sa više vrsta, predstavnika različitih trofičkih sistema ili staništa
- d) Test sa kulturama tkiva ili ćelija

Testovi se prema dužini ekspozicije mogu podeliti na akutne i hronične testove:

Akutni testovi imaju za cilj da utvrde efekat toksične materije u kratkom vremenskom periodu (24, 48, 72 i 96h), pri čemu se prati preživljavanje organizama i obično se izračunava LC_{50} . Pre početka akutnog testa radi se preliminarni test (*eng. limit test*) kao „gruba“ procena toksičnosti.

Kod *hroničnih testova* vreme ekspozicije organizama je znatno duže (7 ili više dana), a koncentracije relativno niske (najmanje test sa pet koncentracija). Posmatra se preživljavanje, ali i subletalni efekti (reprodukcija, rast, biohemijski marker, itd), a izračunavaju se LOEC i NOEC. Cilj testa je da se pokrije što veći deo njihovog životnog ciklusa (od jajeta do jajeta), ali se zbog složenosti testa pokriva najosetljiviji period života organizma, npr. razvoj od jajeta do larve. Takođe se prate i promene u funkcionisanju organizama i procenjuju se subletalni efekti na reprodukciju, rast i ponašanje. Ovo nam daje dobar uvid u sudbinu populacija u prirodi.

Radi lakšeg normiranja rezultati toksičnosti efluenta, EPA je preporučila uvođenje jedinica toksičnosti TU, koja je efektivni faktor razblaženja datog efluenta (rastvora u

našem slučaju). Prema tipu ekotoksikološkog testa ove jedinice se dele na: TU_a – *eng. toxic unit acute* i TU_c – *eng. toxic unit chronic*.

$$\text{Akutna } TU_a = \frac{100}{LC_{50}}$$

$$\text{Hronična } TU_c = \frac{100}{NOEC}$$

Ove dve jedinice su međusobno matematički povezane faktorom konverzije – ACR (acute – to – chronic ration)

$$ACR = \frac{LC_{50}}{NOEC} \text{ i koriste se radi poređenja toksičnosti različitih efluenta}$$

$$ACR = \frac{TU_c}{TU_a}$$

Kada se razmatraju efekti smeša na organizam, odnos zagađujućih supstanci može biti aditivni, antagonistički ili sinergistički.

U eksperimentalnoj postavci testova za akvatične sisteme i efluente ispituje se direktna apsorpcija iz vode, tako da testovi mogu biti:

- a) *Statički test* – kada se supstanca doda na početku ispitivanja, nakon čega se test medijum ne menja do kraja eksperimenta. Prednosti statičkog testa su jednostavnost, pristupačnost i korišćenje manje zapremine uzorka potrebne za analizu. Ovaj test je u suštini manje osetljiv jer nema obnove koncentracije supstance, koja se može degradirati ili ispariti što smanjuje odgovor.
- b) *Semi-statički test* – test medijum i ispitivana supstancase periodično menjaju (u nekom intervalu) u potpunosti ili proporcionalno (delimično). Organizmi su izloženi npr. svežem medijumu iste koncentracije zagađujuće supstance svaka 24 h. Potrebne su veće zapremine uzorka od statičkog testa (US EPA, 2002)
- c) *Protočni test* – eksperimentalni uslovi kada se koncentracija ispitivane supstance u medijumu održava konstantnom i vrši se recirkulacija medijuma. Ovakav test se može realizovati ili direktno unošenje uzorka od mesta uzorkovanja u sistem za razblaživanje

(„on-site“ test) ili formiranjem kompozitnog uzorka koji se periodično donosi i uliva u posudu odakle tečnost cirkuliše u sistem za razblaživanje. Kompozitni uzorak zahteva kako veliku količinu uzorka i medijuma za razblaženje, tako i prostor za skladištenje i postavku.

2.6 Izbor organizma-test modela

Izbor organizma – test modela, zasniva se na ekološkim i funkcionalnim odlikama tog organizma. Najčešće se koristi više organizama sa različitih trofičkih nivoa (umesto pojedinačne vrste), zatim oni koji daju odgovor na veliki opseg koncentracija, imaju veliki areal rasprostiranja, po mogućnosti autohtone vrste ili komercijalno dostupne vrste. Organizmi korišćeni u laboratorijskim testovima mogu biti gajeni ili komercijalno dostupni (Daphtoxkit F magna, Artoxkit, Microtox®, BioFix®Lumi-10, itd), ali moraju zadovoljiti sledeće uslove: dobro fiziološko stanje (preživljavanje, rast i/ili reprodukcija), normalno ponašanje, uhranjenost, mali mortalitet u posudama gde se kultura gaji, ali i u kontrolnoj grupi. Zdravlje i osetljivost organizma testira se referentnom supstancom. Postoje tri tipa kontrole u ekotoksikološkim testovima:

1. *Negativna kontrola* – sadrži samo medijum u kome se organizmi nalaze bez supstance ili organskog rastvarača

2. *Kontrola sa organskim rastvaračem* – u slučaju da je supstanca slabo rastvorljiva u vodi koristi se organski rastvarač (npr. DMSO). Ova kontrola je ista kao negativna, ali uz dodatak organskog rastvarača ekivalentnog koncentraciji koja se nalazi u tretiranim grupama.

3. *Pozitivna (referentna) kontrola* – izlaganje organizma koji se koristi u testu, supstanci poznatog toksičnog efekta (NaCl, CuSO₄, SDS, K₂Cr₂O₇). Smisao upotrebe referentne supstance je da se potvrdi osetljivost organizma. Testiranje referentnom supstancom se izvodi bar jednom mesečno i dobijene vrednosti se unose u kontrolne grafike (karte) (μ (LC₅₀) \pm 2 SD) radi kontrole kvaliteta testova.

Testiranje u laboratorijskim uslovima bi trebalo da podrazumeva:

1. Kontrolisane uslove pod kojima se test odvija: pH, temperatura, rastvoreni kiseonik, fotoperiod, hemijski sastav medijuma.

2. Organizme koji se izlažu rastućoj koncentraciji ispitivane supstance u identičnim posudama, određeni vremenski period.

3. Praćenje toksikološki standardizovanog, krajnjeg odgovora u testu (*eng. "endpoint"*), koji se poredi između tretiranih grupa i kontrolne grupe.

U rezultatima svakog testa važno je navesti koja je supstanca i u kojoj koncentraciji ispitana, koja je vrsta korišćena, vreme ekspozicije kao i odgovor (*endpoint*), koji je praćen. Pored početnih (nominalnih) vrednosti supstance, preporučeno je izmeriti koncentraciju tokom testa – efektivna koncentracija ispitivane supstance (dozvoljeno odstupanje npr. za pesticide je 20%), jer može doći do isparavanja, adsorpcije ili nekog drugog procesa koji smanjuje dostupnost supstance organizmima.

Kada se ispituju toksični efekat efluenta, ulazne vode ili rastvora, bitno je da pH vrednost rastvora ne izlazi iz opsega 6 – 9, jer van opsega fiziološki efekat pH ne daje relevantan odgovor vezano za zagađujuću supstancu. Ovo se može proveriti postavkom dve serije eksperimenata istog uzorka, jedne sa nativnom pH vrednošću i druge sa podešenom pH vrednošću na pH 7 (za slatkovodne organizme) ili pH 8 (marinski organizmi).

Podešavanje se najčešće radi sa nekoliko kapi 0,1M NaOH i 0,1M HCl (US EPA, 2002). Količina kiseonika u rastvoru mora biti iznad 4 mg/L. Kriterijum validacije svakog testa osim odgovora na referentnu supstancu je i procenat mortaliteta u negativnoj kontroli, koji ne sme da pređe 10% (preživljavanje $\geq 90\%$). Ukoliko odgovor prevaziđe 10 % mortaliteta, podrazumeva se da je došlo do greške u postavci testa ili osetljivosti organizma i rezultati testa se odbacuju.

Što se tiče osetljivosti ekotoksikološkog testa za neki uzorak, značajan je i broj ponavljanja, gde minimalni broj ponavljanja po koncentraciji zavisi od vrste testa i statističke metode obrade rezultata.

2.7 Primena ekotoksikoloških testova u praksi

Ekotoksikološka aktivnost pojedinačnih supstanci (hemikalija) može se proceniti standardizovanim testovima, koji nisu precizni pokazatelj uticaja na životnu sredinu, ali su najbolja dostupna metoda za razumevanje integrisanog efekta više zagađujućih supstanci. Primena ekotoksikoloških testova našla je svoje mesto u:

1. Kontrola kvaliteta otpadnih voda (Ukupna toksičnost otpadnih voda na osnovu Uredbe o GVE)
2. Proceni rizika od hemikalija (Zakon o hemikalijama/REACH, Zakona o biocidima, Zakona o sredstvima za zaštitu bilja)
3. Standardizaciji ekotoksikoloških metoda (ISO/OECD/EPA) prema regulativi

2.7.1 Kontrola kvaliteta otpadnih voda

Regulativa u našoj zemlji iz zaštite voda se do 2011. godine zasnivala na imisionim standardima (MDK – maksimalno dozvoljena koncentracija u površinskim vodama u zoni totalnog mešanja 95%). Postojali su opštinski pravilnici o kvalitetu industrijskih voda koje su mogle biti ispuštene u kanalizaciju, a kontrola kvaliteta se zasnivala na fizičko-hemijskoj analizi.

U cilju harmonizacije nacionalnog zakonodavstva sa Evropskom unijom, kao zemlja kandidat Srbija je preduzela značajne mere u implementaciji ciljeva Okvirne direktive EU o vodama (eng. *Water Framework Directive* 2000/60/EC, WFD) tj. dostizanje dobrog ekološkog i hemijskog sastava svih evropskih površinskih i podzemnih voda do 2015. godine.

Zakonske osnove donete u ovom cilju su Zakon o vodama ("Službeni glasnik RS", br. 30/2010 и 93/2012) i uredbe o graničnim vrednostima zagađujućih supstanci: Uredba o graničnim vrednostima prioriternih i prioriternih hazardnih supstanci koje zagađuju površinske vode i rokovima za njihovo dostizanje ("Službeni glasnik RS", br. 35/2011); kao i Uredba o graničnim vrednostima emisije (GVE) zagađujućih materija u vodama i rokovima za njihovo dostizanje ("Službeni glasnik RS", br. 67/2011).

Definisani su – opšti kriterijumi za određivanje pojedinih zagađujućih supstanci, ali i granične vrednosti emisije (GVE) za otpadne vode, koje su podeljene prema tipu efluenta i grani industrije. Ove GVE - obuhvataju masu izraženu određenim specifičnim parametrima, koncentraciju i/ili nivo emisije, koji ne mogu biti prekoračeni u toku jednog ili više vremenskih perioda (“Službeni glasnik RS”, бр. 30/2010). Uveden je i pojam broj jedinica toksičnosti – $TU = 100/LC_{50}$ ili $TU = 100/EC_{50}$; što je veća TU to je toksičnost efluenta veća. Propisane su TU vrednosti otpadnih voda za ribe, dafnije i luminiscentne bakterije.

Na nivou EU – insistira se na održavanju kvaliteta akvatičnih ekosistema i niskomnivou hemijskog zagađenja tj. uklanjanju zagađujućih prioriternih supstanci iz vode. Akcenat je postavljen na ekotoksičnost i toksičnost za ljude. Aneksom X WFD, Odlukom 2455/2001/EC uspostavljena je prvobitna lista *prioriternih supstanci* koja je obuhvatila 33 prioriternne supstance ili grupe supstanci, koje predstavljaju rizik za akvatične ekosisteme; kao i podgrupa *prioriternne hazardne susstance* koje imaju osobinu toksičnosti, perzistentnosti i bioakumulativnosti u ekosistemu. Cilj je potpuno ograničenje i konačno prestanak emisije istih do 2020. godine.

Velika prednost WFD je to što u periodu od 4 godine radi reviziju liste prioriternih zagađujućih supstanci. U januaru 2012. godine Evropska Komisija je predložila novih 15 supstanci koje se koriste u proizvodnji pesticida i biocida, kao nusproizvodi sagorevanja, ali i nekih farmaceutskih supstanci, da se stave na listu prioriternih supstanci. Restrikcija u vidu MDK određena je 2013. godine za 12 supstanci (Direktivom 2013/39/EU) i ona će stupiti na snagu 2018. godine, sa ciljem da se postigne zadovoljavajući nivo do 2027. godine, dok za 3 supstance uključujući i antipiretike nakon glasanja nije uvedena restrikcija, nego obavezno praćenje i ponovna evaluacija 2018. godine (član 8b. Direktive 2013/39/EU).

Kada je u pitanju monitoring ovih supstanci Direktiva 2009/90/EC, postavlja zahteve u pogledu minimalnih QA/QC kriterijuma za analitičke metode koje se primenjuju u okviru monitoringa statusa voda, sedimenta i biote, a kojim se obezbeđuju kvalitet i uporedivost analitičkih rezultata. Kako bi laboratorije mogle da vrše date analize neophodan je sistem akreditacije laboratorija u skladu sa EN ISO/IEC-17025.

2.7.2 Ekotoksikološka procena rizika - ERA (eng. *Ecological Risk Assessment*)

Komercijalne hemijske supstance, njihovi metaboliti i intermedijeri u životnoj sredini se nalaze u kompleksnim smešama, za analizu njihovog uticaja ili dalju regulativu (ograničavanje emisije), hemijske tehnike nisu dovoljne, već se kombinuju sa ekotoksikološkim testovima. Ekotoksikologija koristi informacije iz toksikologije, hemije i procene izloženosti životne sredine hemikalijama, kako bi se izvela procena rizika za organizme - na različitim nivoima (od subćelijskog do ekosistemskog), kao i prihvatljivost tog rizika (Rand, 1995).

Osnovni okviri ERA podrazumevaju (Rand 1995; Connell i saradnici, 1999):

1) *Identifikaciju opasnosti* – uslovi životne sredine, fizičko-hemijska svojstva i transformacija hemikalija, ciljevi zaštite (vrsta, grupa organizama, funkcionalnost ekosistema, itd)

2) *Procenu ekspozicije* – spada u domen hemije životne sredine i hemijskog monitoringa. Odnosi se na ekspoziciju ekološke zajednice toksičnoj materiji u prirodnom okruženju (Connell i saradnici, 1999). Ekspozicija varira u prostoru (biotički i abiotički faktori), kao i vremenu, tako da se može izmeriti u više vrednosti za određenu supstancu. PEC (eng. *Predicted Environmental Concentration*) je koncentracija supstance u životnoj sredini koja može biti izmerena ili ustanovljena matematičkim modelom. Vrednosti PEC se za pojedinačne delove životne sredine (vodu, sediment, zemljište i vazduh) posebno i izražavaju (Karan, 2010).

3) *Procenu efekta (odnosa doza-odgovor)* – spada u domen toksikologije, ekotoksikologije i ekologije (biomonitoringa). Dobijene vrednosti LC₅₀, LOEC ili NOEC za više vrsta se ekstrapoliraju kako bi stekli uvid u ugroženost ekosistema i izračunali očekivane koncentracije bez negativnog efekta (eng. *Predicted No Effect Concentration*, PNEC) za životnu sredinu (Karan, 2010).

Kada vrednost PNEC-a utvrđujemo na osnovu ograničenog broja podataka, uključuje se i faktor nesigurnosti pomoću koga se vrednosti dobijene laboratorijskim ispitivanjem prevode u očekivane koncentracije koje neće izazvati štetan efekat u ekosistemu. Faktor nesigurnosti može biti korišćen za ekstrapolaciju podataka sa akutnog na hronični nivo, kao

i sa najniže koncentracije koja izaziva efekat pri hroničnoj izloženosti do efekata u spoljašnjoj sredini. Za svaki korak ekstrapolacije predloženi faktor nesigurnosti je 10.

U Tabeli 2. priložene su vrednosti faktora nesigurnosti u proceni efekata za akvatične sisteme (Van Leeuwen i Hermens, 1995). Ukoliko ovaj faktor ne bi bio uključen određeni delovi ekosistema ostali bi nezaštićeni našom procenom rizika (Karan, 2010).

Tabela 2. Faktor nesigurnosti kod procene efekata za vodene ekosisteme

Dostupne informacije na osnovu kojih se utvrđuje vrednost PNEC-a	Vrednost faktora nesigurnosti
Najniža NOEC dobijena ispitivanjem na algama, ribama i beskičmenjacima	10
Najniža LC ₅₀ dobijena ispitivanjem na algama, ribama i beskičmenjacima	100
Najniža LC ₅₀ dobijena ispitivanjem jedne ili dve akvatične vrste	1000

4) Karakterizaciju rizika

Karakterizacija rizika obuhvata sve informacije dobijene u prethodnim koracima i na osnovu kojih se predviđa verovatnoća pojave štetnih efekata na ekološku zajednicu. Rizik se može izraziti na više načina od proste kvalitativne ocene do indeksa opasnosti – „hazarda“ (*eng. hazard quotient, HQ*) na skali od 3 do 30.

$H \text{ index} = \text{koncentracija zagađujuće supstance} + \text{sudbina u životnoj sredini} + \text{toksičnost}$

Procena rizika za akvatične organizme predstavlja količnik vrednosti ekotoksikoloških parametara određene hemikalije za organizme (LC₅₀, EC₅₀, IC₅₀, NOEC) pri akutnom i/ili hroničnom izlaganju i predviđene koncentracije te hemikalije za datu životnu sredinu (PEC).

$$TER = \frac{LC_{50}, EC_{50}, IC_{50}, NOEC}{PEC}$$

*TER – eng. *Toxicity Exposure Ratio* predstavlja odnos između toksičnosti i izloženosti

Na osnovu vrednosti TER donosimo zaključke o prihvatljivosti rizika. Ukoliko je akutna vrednost $TER > 100$ ili hronična vrednost $TER > 10$ smatra se da nema rizika od akutnog, tj. hroničnog štetnog delovanja određene supstance i nije potrebna procena rizika višeg nivoa (Cooper i Dobson, 2007; Karan, 2010). Rizici po ekosistem se često izražavaju i preko odnosa PEC i PNEC, a vrednost ovog količnika direktno je proporcionalna verovatnoći negativnih efekata na ekosistem.

$PEC/PNEC < 1$ – ne postoji rizik od štetnih efekata u ekosistemu

$PEC/PNEC > 1$ – postoji rizik i potrebno je smanjiti izloženost (Van Leeuwen i Hermens, 1995; Karan, 2010).

5) *Utvrdjivanje i upravljanje rizikom* – podrazumeva smanjenje rizika, dodatna ispitivanja ili prihvatanje rizika. Prihvatljiv rizik je definisan kao akcident sa visokom verovatnoćom da će se dogoditi, ali sa zanemarljivim posledicama.

Jasna procena ekotoksičnosti neke hemikalije je komplikovana, jer u životnoj sredini ona uključuje hiljade vrsta koje pokazuju različitu osetljivost pri ekspoziciji. Američka agencija za zaštitu životne sredine (US EPA) predložila je skup primenljivih metoda, koristeći vrednosti za toksičnost na pojedinim vrstama, za dobijanje vrednosti koje se tiču čitavog ekosistema uzimajući u obzir nedostatak podataka i raznolikost vrsta pod pretpostavkom da će 95% svih vrsta ekosistema biti zaštićeno ovim.

Prema zakonodavstvu EU otrovne i opasne supstance su regulisane:

Direktivama kojim se reguliše registracija, proizvodnja, upotreba i trgovina pesticidima (Council Directive 91/414/EEC EC Agrochemical Registration) odnosno biocidima (Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market)

Direktivom kojom se reguliše klasifikacija, pakovanje i označavanje opasnih supstanci (Classification, Packaging and Labeling Dangerous Substances, 67/548/EEC, 6. i 7. amandman 1999/45/EC), kao i

REACH – Regulativom (EC) No 1907/2006 – Registracija, evaluacija, autorizacija i restrikcija hemikalija (eng. *Regulation concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals*)

REACH regulativa je veoma obimna, popularna i primenljiva. Ona između ostalog podrazumeva da osetljivost ekosistema prvenstveno zavisi od najosetljivije vrste u njemu, tako da zaštitom strukture ekosistema održava se i njegova funkcija. Prema REACH-u vrednosti dobijene u testovima toksičnosti ne koriste se direktno u proceni rizika već kao osnova u određivanju PNEC-a, jer je poznato da je osetljivost ekosistema na neku hemikaliju veća od osetljivosti organizma u laboratorijskim uslovima. Ovo je razlog što se procena ekološkog rizika zasniva na odnosu PNEC i PEC.

U REACH u pod delom C se nalaze metode za ispitivanje ekotoksičnosti različitih hemikalija (<http://edepot.wur.nl/187906>).

- c. 1. akutna toksičnost kod riba
- c.2. metoda ispitivanja akutne toksičnosti: imobilizacija *Daphnia sp.*
- c.3. akutno ispitivanje inhibicije rasta algi
- c.4. određivanje brze biorazgradljivosti
- c.5 razgradnja –biohemijska potrošnja kiseonika
- c.6. razgradnja – hemijska potrošnja kiseonika
- c.7. razgradnja –abiotička razgradnja: hidroliza kao funkcija pH
- c. 8. toksičnost za kišne gliste metoda ispitivanja sa veštačkim zemljištem
- c. 9. biorazgradnja – Zahn –Wellens test

- c. 10. biorazgradnja - ispitivanje stimulacije aktivnog mulja
- c. 11. biorazgradljivost - ispitivanje inhibicije respiracije aktivnog mulja
- c. 12. biorazgradljivost- semikontinualna metoda sa aktivnim muljem (SCAS)
- c.13 biokoncentracija - ispitivanje u protočnim uslovima na ribama
- c.14. ispitivanje rasta riblje mladi
- c.15. ribe, metoda ispitivanja kratkoročne toksičnosti na embrionalnom i larvalnom stadijumu
- c.16. pčele – ispitivanje akutne oralne toksičnosti
- c.17. pčele – ispitivanje akutne kontaktne toksičnosti
- c.18. adsorpcija /desorpcija pomoću metode ravnoteženog stanja
- c.19. određivanje koeficijenta adsorpcije (Koc) na zemljištu i otpadnom mulju upotrebom tečne hromatografije visokih performansi (HPLC)
- c.20 metoda ispitivanja toksičnosti po reprodukciju *Daphnia magna*
- c.21. zemljišni mikroorganizmi - ispitivanje transformacije azota
- c.22. zemljišni mikroorganizmi - ispitivanje transformacije ugljenika
- c.23. aerobna i anaerobna transformacija u zemljištu
- c.24. aerobne i anaerobne transformacije u sistemima voda - sediment

U Srbiji je prema regulativi EU donet Zakon o hemikalijama i podzakonski akti doneti na osnovu njega harmonizovani su sa: Uredbom 1907/2006; Direktivom 67/548; Direktivom 1999/45; Uredbom 440/2008; Direktivom 2004/42; Uredbom 689/2008; Uredbom 1272/2008 i Uredbom 648/2004.

Srbija je takođe 2010. godine donošenjem Pravilnika (Službeni glasnik RS, br. 64/10 i 26/11 ili CLP/GHS propis) o klasifikaciji, pakovanju, obeležavanju i oglašavanju hemikalije i određenog proizvoda usvojila globalno harmonizovan sistem klasifikacije i obeležavanja hemikalija UN (eng. *The Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals, United Nations 2011*).

Prema GHS-u uopšteno na osnovu ekotoksikoloških vrednosti mogu se izdvojiti nivoi ekotoksičnosti i zagađujuće supstance klasifikovati kao:

- I) Veoma toksične $EC_{50} \leq 1 \text{ mg/L}$;
- II) Toksične $1 \text{ mg/L} < EC_{50} \leq 10 \text{ mg/L}$;
- III) Štetne za akvatične organizme $10 \text{ mg/L} < EC_{50} \leq 100 \text{ mg/L}$.
- IV) Nisu toksične $EC_{50} > 100 \text{ mg/L}$.

Prema Pravilniku (“Službeni glasnik RS” br. 64/10 i 26/11) detaljnija klasifikacija se obavlja na osnovu rezultata testova toksičnosti, vremenu razgradnje, koeficijentu raspodele (log Kov), faktoru biokoncentracije (BCF), itd. U vodenoj sredini, supstance koje su klasifikovane kao opasne („opasno po životnu sredinu“), dobijaju oznaku rizika (R) koja može biti:

R50 – veoma toksične za vodene organizme:

U testovima akutne toksičnosti:

Test sa ribama - $LC_{50} (96h) \leq 1 \text{ mg/L}$

Test sa dafnijama $EC_{50} (48h) \leq 1 \text{ mg/L}$

Test sa algama $IC_{50} (72h) \leq 1 \text{ mg/L}$

R53 – kada supstanca može izazvati dugotrajne štetne efekte u vodenoj sredini:

Supstanca nije lako razgradiva ili je $\log Kov \geq 3$.

R51 - Toksično po vodene organizme

Akutna toksičnost:

Test sa ribama - $LC_{50} (96h): 1 \text{ mg/l} < LC_{50} \leq 10 \text{ mg/l}$

Test sa dafnijama $EC_{50} (48h): 1 \text{ mg/l} < EC_{50} \leq 10 \text{ mg/l}$

Test sa algama $IC_{50} (72h): 1 \text{ mg/L} < IC_{50} \leq 10 \text{ mg/l}$

R52 - Štetno za vodene organizme:

Akutna toksičnost:

Test sa ribama - $LC_{50} (96h): 10 \text{ mg/l} < LC_{50} \leq 100 \text{ mg/l}$

Test sa dafnijama $EC_{50} (48h): 10 \text{ mg/l} < EC_{50} \leq 100 \text{ mg/l}$

Test sa algama $IC_{50} (72h): 10 \text{ mg/l} < IC_{50} \leq 100 \text{ mg/l}$

U našoj zemlji od 2017. godine primenjivaće se i važiti samo CLP propisi (Uredba 272/2008/EC).

2.7.3 Standardizacija ekotoksikoloških metoda (ISO/OECD/EPA) prema regulativi

Za analizu realnih uzoraka preporučuje se analiza smeše – eng. *Whole Effluent Assessment* (WEA), kao biološki metod u proceni ekotoksičnosti nekog efluenta. Test se sastoji u izlaganju akvatičnih organizama otpadnoj vodi (efluentu) i praćenju parametara kao što su preživljavanje, rast, pokretljivost ili reprodukcija. Na ovaj način se može proceniti sveukupni efekat na organizam. Biološki testovi sa hemijskom analizom predstavljaju osnovu zaštite životne sredine, jer se efluenti ili njihova frakcija mogu analizirati pre ispuštanja.

Kao primer WEA testa možemo navesti više različitih ekotoksikoloških testova sa različitim vrstama i sa različitim “*endpoint*”:

-*Daphnia magna* 24h (48h) test akutne toksičnosti (test imobilizacije) radi se po standardizovanim protokolima: OECD 202, EPA 850-1010, ISO 6341; 1996, SRPS EN ISO 6341: 2009. Informacije o kvalitetu nekog uzorka vode dobijaju se na osnovu pokretljivosti organizama.

-*Daphnia magna* test hronične toksičnosti (Test reprodukcije *Daphnia magna*) se radi po OECD 211 metodi, ISO 10706:2000, SRPS ISO 1076:2010. Meri se efektivna koncentracija EC neke supstance u vodi koja dovodi do smanjenja reprodukcije odnosno, dugoročna subletalna toksičnost. Posmatra se: ukupan broj živih potomaka po ženki, prema broju potomaka po ženki u kontrolnoj grupi.

- Luminiscentne bakterije – *Vibrio fischeri*, meri se inhibicija luminescence bakterije nakon ekspozicije zagađujućoj supstanci od 15 min ili 30 min (ISO 11348, 2007); Deo 3 Metoda sa liofiliziranim uzorkom bakterija); u slučaju mutnih ili obojenih efluenta primenjuje se standard (ISO 21338, 2010). Može se primeniti na uzorcima: otpadne vode, vodenih ekstrakata, površinske i podzemne vode; morske i brakične vode; eluatima sedimenta (intersticijalnu vodu), porne vode, supstancama rastvorenim u vodi.

- Artoxkit M test sa zooplanktonom *Artemia salina* za brakične i marinske sisteme.

- *Lemna minor* (sočivica), test inhibicije rasta 7 dana. Gaji se u monokulturama, testira se serija razblaženja uzorka, a zatim se rast tretirane grupe poredi sa rastom u kontroli. Parametri koji se prate su inhibicija rasta, površina frondova (“lista”), biomase ili hlorofila (ISO 20079:2005, SRPS EN ISO 20079: 2009).

- Test na slatkovodnim jednoćelijskim algama – prati se inhibicija rasta. Ovaj metod se primenjuje na supstance koje se lako rastvaraju u vodi (SRPS EN ISO 8692:2009, ISO 8692:20128692). Ova metoda je takođe primenljiva u ispitivanju toksičnosti organskih i neorganskih materija, lako isparljivih jedinjenja, teških metala i otpadnih voda prema ISO 14442 i ISO 5667-16.

- Test na embrionima i larvama slatkovodnih riba. Prati se broj izleglih jaja i preživljavanje larvi. Standardni test akutne toksičnosti za ribe (96h) radi se prema standardizovanom protokolu OECD 203, EPA 850-1075 ili ISO 12890,1999. Vrsta koja se najčešće koristi je *Danio rerio* (zebrice). Test može biti statički, semi-statički i protočni test) u opsegu koncentracija. Dobar je model jer se brže dobijaju rezultati istraživanja kada se ispituje npr. karakterizacija neke nove supstance u odnosu na sisarske „*in vivo*“ sisteme. Takođe rezultati dobijeni ovim testom su relevantniji za ljude, nego kad se koriste ćelijske kulture ili beskičmenjačke vrste. Embrioni zebrića su se pokazali kao koristan prototip za ispitivanje razvoja kičmenjačkih vrsta i kao odlična alternativa za ispitivanje razvojne toksičnosti. Standardni testovi hronične toksičnosti na ribama se rade po metodi OECD 204 koja traje 14 dana, a može da se produži i na 21 ili 28 dana. Toksičnost u prvim fazama razvoja kod riba se meri po metodi OECD 210.

-Testovi na hepatocitama riba (*Salmo trutta*, pastrmka), procena toksičnosti metabolizma ksenobiotika i endokrinog oštećenja izazvanog ksenobioticima (ISO/TS 23893 -2, 2007; ISO/WD 23893-3, 2009).

-Test sa sojem kvasca (*Saccharomyces cerevisiae*) za procenu estrogenog (eng. *Yeast Estrogen Screen, YES*) ili androgenog (eng. *Yeast Androgen Screen, YAS*) efekta ksenobiotika u vodi. Međunarodni standard (ISO, EPA ili OECD) za ovaj test nije dostupan, ali je on veoma dobro opisan u literaturi (Routledge i Sumpter, 1996; Sheahani saradnici, 2002) i komercijalno se koristi za određivanje hormonski aktivnih supstanci.

Većina ovih testova je standardizovana, a kao rezultat se najčešće prijavljuje EC₅₀ ili LC₅₀. Savetuje se da svaki test sadrži 3 ili više predstavnika različitih trofičkih nivoa sa liste standardizovanih organizama (US EPA, 1995), zbog različite osetljivosti organizama u WET testovima.

Varijabilnost u biološkim testovima se ne može isključiti jer je to važna odlika ekosistema, ali se njen uticaj na ishod rezultata može umanjiti kvalitetom kontrolne grupe pri testiranju, upotrebom standardizovanih i verifikovanih metoda, međulaboratorijskim analizama (*eng. ring-test*) i razmenom informacija.

WEA – nije isto što i procena ekološkog rizika, ali je izuzetno značajan za upravljanje ispuštanja otpadnih voda. Preporuka US EPA-e je da maksimalna toksičnost efluenta koji se ispušta u površinske vode ima najviše 0.3 TU_a i 1 TU_c za najosetljiviju od 3 ispitivane test vrste. Kod zagađujućih supstanci otpadne vode koja se ispušta u slatkovodne ekosisteme uobičajeno je da se testovi hronične toksičnosti izvode na jednoj fitoplanktonskoj vrsti (najčešće *Selenastrum capricornutum*), jednoj zooplanktonskoj vrsti (najčešće *Ceriodaphnia dubia*) i jednoj vrsti riba (najčešće *Pimephales promelas*).

U slučaju da efluenti pokažu akutnu toksičnost, obavezno se izvode skraćeni hronični testovi ili kratkotrajni testovi za procenu hronične (subletalne) toksičnosti, i to ponovo na minimum tri različita organizma sa liste standardizovanih vrsta.

WEA, takođe nije dovoljan za procenu toksičnosti pojedinačnih supstanci, za to služe procedure procene ekološkog rizika.

OECD – *eng. The Organisation for Economic Co-operation and Development* je internacionalna organizacija koju čine trideset zemalja Severne Amerike i Evrope. Ona koordinira i usklađuje politiku vlade, bavi se pitanjima zajedničkog interesa i odgovorima na međunarodne probleme. Rad OECD-a koji se odnosi na hemijsku bezbednost spada u „Ekološki, Zdravstveni i Bezbednosni program”. Protokoli OECD za razliku od nekih drugih standarda su i javno dostupni.

Ekotoksikologija vodenih organizama u okviru OECD standarda obuhvata proučavanje toksičnog efekta različitih supstanci na algama, biljkama, ribama i vodenim beskičmenjacima, kod kojih se meri akutna i hronična toksičnost. Neke od OECD metoda

za ispitivanje ekotoksičnosti su: 201 Inhibicija rasta algi (eng. *Algae, Growth Inhibition Test*); 202 Akutni test imobilizacije dafnija (eng. *Daphnia, Acute Immobilisation Test*); 203 Test akutne toksičnosti na ribama (Fish, Acute Toxicity Test); 211 Hronični test toksičnosti za dafniju (*Daphnia magna* Reproduction Test), itd.

Kako bi se smanjili troškovi testova, upotreba organizama, kao i hemikalija postoje mnogobrojni softveri, koji na osnovu hemijske strukture predviđaju posledice na članove ekosistema. Metod analize odnosa strukture i aktivnosti neke supstance ((Q)SAR –eng. “*quantitative structure–activity relationship*”) predstavlja prihvatljivu alternativu procene sudbine i ekotoksičnosti zagađujućih supstanci u životnoj sredini. Ovaj program na osnovu fizičko-hemijskih svojstava i molekulske strukture supstance procenjuje njenu: biodegradabilnost, mutagenost, ekotoksičnost, karcinogenost.

Prednost ove predikcione metode je u tome što u kombinaciji sa relativno dostupnim i lako izvodljivim testovima daju preliminarnu naučnu osnovu za procenu opasnosti od neke zagađujuće supstance, pre nego što se vide posledice. Najčešće korišćeni ((Q)SAR) je US EPA program ekološkog odnosa strukture i aktivnosti (ECOSARTM) (Fent i saradnici, 2006).

2.8 Tretman prečišćavanja voda

Uzavisnosti od namene i upotrebe vode, kao i izvora (površinska, podzemna, komunalna ili industrijska) voda se tretira raznovrsnim tehnologijama za prečišćavanje. Najvažnije tehnologije za preradu vode prikazane su u Tabeli 3.

Tabela 3. Pregled najčešće korišćenih tehnologija za tretman otpadnih voda.

Mehanički procesi	Biološki procesi	Fizički procesi	Termalni procesi	Hemijski procesi
Sita	Anaerobni	Flotacija	Kristalizacija	Apsorpcija
Rešeta	Aerobni	Precipitacija	Destilacija	Neutralizacija
Strugači	Aktivni mulj ili	Sedimentacija	Evaporacija	Jonska izmena
Grabulje	Rotacioni	Koagulacija	Spaljivanje	Dezinfekcija
	biološki	Flokulacija	Dezinfekcija	Hemijska
	kontaktor	Desorpcija		oksidacija –
		Adsorpcija		Fotohemijski
		Ultrafiltracija		AOP

Klasični fizičko – hemijski tretmani u prečišćavanju vode poput adsorpcije, flokulacije, hemijske oksidacije/redukcije ili konvencionalnih mikrobioloških tehnika (Sonune i Rupali, 2004) su slabo efikasni u uklanjanju “savremenih” zagađujućih supstanci iz vode. Komercijalno dostupne boje, pesticidi, farmaceutske proizvodi i njihovi metaboliti često se detektuju u otpadnoj, površinskoj, pa čak i vodi za piće. Glavni izvor zagađujućih supstanci u površinskim vodotocima su postrojenja za preradu otpadne vode (Castiglioni i saradnici, 2006).

Poslednjih 20 godina razvijene su različite nekonvencionalne tehnike prečišćavanja zagađujućih supstanci (ksenobiotika) iz vodenog matriksa među kojima se po efikasnosti ističu unapređeni oksidacioni procesi (*eng. Advance Oxidation Processes, AOP*).

2.9 Unapređeni oksidacioni procesi - AOP

Unapređeni oksidacioni procesi predstavljaju kombinaciju hemijskih i fizičkih metoda, koja se pojavila početkom 90-tih godina za sanitaciju vode i sterilizaciju različitih površina (Navarro i saradnici, 2005; Shu i Chang, 2005). Ovo su destruktivne tehnike zasnovane na formiranju različitih reaktivnih vrsta ($\cdot\text{OH}$, O_2^- , H_2O_2 , O_3 , itd), koje dovode do mineralizacije organskih zagađujućih supstanci bez formiranja dodatnog otpada ili je njegova količina znatno umanjena (Gogate i Pandit 2004).

Tehnike koje se najčešće koriste u AOP-ima su: procesi zasnovani na vodonik-peroksidu ($\text{H}_2\text{O}_2 + \text{UV}$, Fenton i foto-Fenton) (Krutzler i saradnici, 1999), fotokatalizi ($\text{UV} + \text{TiO}_2$) (Legrini i saradnici, 1993; Michael i saradnici, 1995; Akira i saradnici, 2000), ozonu (O_3 , $\text{O}_3 + \text{UV}$ i $\text{O}_3 + \text{katalizator}$) (Benitez i saradnici, 2000; Contrerasa i saradnici, 2003, Eduardo i saradnici, 2006), različitim kombinacijama oksidativnih vrsta (Roberto i saradnici, 1999; Santiago i saradnici, 2002; Marc i saradnici, 2004; Guido i saradnici, 2008), sonolizi (Gogate i Pandit 2004), elektrolizi (Cominelli i saradnici, 2008) i električnom pražnjenju.

Tokom unapređenih oksidacionih procesa nastaju hemijske vrste izuzetne oksidacione sposobnosti kao što su $\cdot\text{OH}$ radikal i druge kratkoživeće radikalske vrste. Hidroksilni radikali, posle fluora ($E^\circ = 2.8\text{V}$ u kiselj sredini) imaju najači oksidacioni potencijal i mogu mineralizovati organsku materiju do CO_2 i H_2O (Hunsberger i saradnici, 1977).

Pored velikog broja ispitanih AOP-a određenu prednost za dekontaminaciju vode pokazala je tehnologija električnog pražnjenja, jer produkcija hidroksi radikala zahteva dosta energije, a to se postiže upotrebom visokonaponskih električnih pražnjenja.

Električno polje u vodenom rastvoru dovodi do fizičkih (UV, udarni talasi sa nadpritiskom) i hemijskih procesa, usled čega nastaju različite reaktivne vrste ($\cdot\text{OH}$, $\text{H}\cdot$, $\text{O}\cdot$, $\text{HO}_2\cdot$, H_2O_2 , O_2 , O_3). Prema načinu pražnjenja ove procese možemo podeliti na: elektrolizu

kontaktnim pražnjenjem – eng. *contact glow discharge electrolysis*, CGDE (Tezukau i Iwasaki, 1998), dielektrično barijerno pražnjenje – eng. *dielectric barrier discharges* DBD (Bubnov i saradnici, 2004; Dojčinović i saradnici, 2008) i impulsno korona pražnjenje – eng. *pulsed corona discharges* PCD (Zheng i saradnici, 2007 i Hao i saradnici, 2007).

Električno pražnjenje je omogućilo “*in situ*” generisanje ozona umesto “*ex situ*” i efikasan način da se iskoristi većina hemijskih aktivnih vrsta za dekontaminaciju vode (Muhammad i saradnici, 2001). Zona pražnjenja treba da se nađe u direktnom kontaktu sa vodom.

Osim već navedenih predosti AOP-a u prečišćavanju vode treba istaći da se oni mogu koristiti pri ambijentalnim uslovima (atmosferskom pritisku i sobnoj temperaturi), odvojeno ili u kombinaciji sa konvencionalnim metodama prečišćavanja vode.

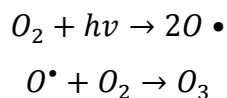
AOP-i kao predtretman konvencionalnim metodama smanjuju otpornost različitih zagađujućih supstanci i toksičnost metala za biološki tretman, a kao posttretman biološkom tretmanu obezbeđuju dezinfekciju (zamena hlorisanju ili ozonizaciji) i uklanjaju biorazgradive intermedijere (Comninellis i saradnici, 2008). Takođe treba napomenuti da pored ambijentalnih postoje i neambijentalni AOP tretmani, koji iziskuju znatno više temperature i pritisak (npr. WAO – oksidacija vlažnim vazduhom, oksidacija superkričnim vlažnim vazduhom, itd) (Gogate i Pandit, 2004).

AOP-i koji se najčešće koriste za tretman voda uključuju: ozonizaciju, Fentonov reagens, heterogenu i homogenu fotokatalizu (UV ili VIS), elektrohemijske procese, sonolizu, superkričnu oksidaciju vazduhom, kao i tretmanenetermalnom plazmom (Illés i saradnici, 2013).

2.9.1 Ozonoliza

Ozon, kao najrasprostranjenije oksidaciono sredstvo; odlikuje se većim standardnim redoks potencijalom ($E^\circ = 2.07 \text{ V}$) u odnosu na oksidante poput permanganatnog jona ($E^\circ = 1.67 \text{ V}$), vodonik-peroksida ($E^\circ = 1.77 \text{ V}$) i hlor-dioksida ($E^\circ = 1.27 \text{ V}$). Svojtvo ozona da oksiduje organsku materiju dalo je prednost ovoj tehnici u industriji i dezinfekciji vode (Lezcano i saradnici, 2000).

Ozon u prirodi nastaje fotolizom molekuskog kiseonika u atmosferi, a potom reakcijom atomskog i molekuskog kiseonika:



U vodi ozon može da reaguje na dva načina:

1. Reakcije molekuskog ozona - direktno
2. Reakcije radikalskih vrsta koje nastaju u vodi razlaganjema ozona – indirektno

Mehanizam, koji će biti favorizovan zavisi od pH, temperature i hemijskog sastava vode. U veoma kiselim rastvorima preovlađuje direktni mehanizam, dok u rastvorima sa većim vrednostima pH do izražaja dolazi radikalski mehanizam (Tang 2004; Tarr 2003).

Ozon reaguje vrlo selektivno sa jedinjenjima koja imaju specifične funkcionalne grupe: nezasićeni i aromatični ugljovodonici sa hidroksilnim, amino idrugim grupama.

Gas ozon koji nastaje električnim pražnjenjem u plazmi se može uduvavati u vodeni rastvor (životni vek O_3 $t=10-60 \text{ min}$), gde se rastvara i efikasno uklanja mikroorganizme (20°C , $c(O_3) = 0.16 \text{ mg/L}$, $t= 0.1 \text{ min}$, smanjenje 4 log) (Anpilov i saradnici, 2001). Na višim temperaturama i višim pH vrednostima ozon se brzo raspada i to produžava potrebno vreme tretmana.

Prednosti ozonolize u odnosu na klasično hlorisanje vode:

- ✓ Nema potrebe za posebnim uslovima skladištenja i čuvanja toksičnih hemikalija
- ✓ Intermedijeri ozonizacije nemaju štetnog efekta na ljude i okolinu
- ✓ Ozon je jak oksidans i može uništiti veliki broj organskih zagađujućih supstanci
- ✓ Uklanja boju, miris i suspendovani materijal
- ✓ Efikasno uništava spore, bakterije i viruse.

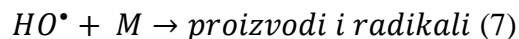
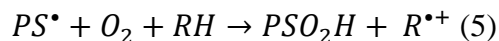
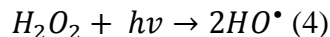
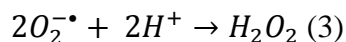
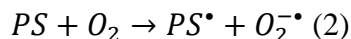
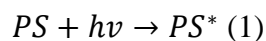
Mana ozonolize bi bila cena kada se koristi u velikim sistemima i toksičnost pri direktnom ispuštanju u životnu sredinu.

2.9.2 Fotoliza

Fotoliza podrazumeva fotohemijsku (UV-VIS) transformaciju zagađujućih supstanci. U realnim uslovima životne sredine zavisi od: pH, saliniteta, dubine, turbiditeta, intenziteta sunčevog zračenja, klimatskih odlika. Fotoliza može biti direktna i indirektna.

Direktna fotoliza podrazumeva damolekul apsorbuje sunčevu energiju odgovarajuće talasne dužine (λ , nm) i prelazi u pobuđeno (ekscitovano stanje), koje izuzetno kratko traje (10^{-9} do 10^{-8} s; Owen, 1971). Molekul se može vratiti u prvobitno stanje ukoliko se apsorbovana energija oslobodi (fluorescencija, fosforescencija, kolizija, itd) ili se početna supstanca degradira i nastaju drugi molekuli – proizvodi degradacije.

Indirektna fotoliza je dvostepeni proces. U akvatičnoj sredini uključuje molekule (nitrati, nitriti, huminske i fulvo kiseline) koji pod dejstvom sunčevog zračenja mogu generisati visoko reaktivne vrste ($O_2^{\cdot-}$, $\cdot OH$, $\cdot OOR$, $CO_3^{\cdot-}$, itd) i slobodne elektrone koji dovode do fotodegradacije zagađujuće supstance (reakcije 1-2). Drugi način indirektno fotolize naziva se fotosenzitizacija, gde svetlost apsorbuje supstanca koja prenosi energiju na ciljni molekul (zagađujuće supstance), prevodeći je iz osnovnog u pobuđeno stanje i tako inicira degradaciju (Faust i Hoigné, 1987). Takođe indirektna fotoliza može teći kroz formiranje sekundarnih fotooksidanasa preko fotosenzitera. Tako huminska supstanca kao fotosenziter pokreće formiranje vodonik-peroksida i na kraju hidroksiradikala koji interaguju sa zagađujućom supstancom (reakcije 4-7) (Cooper WJ i Herr FL, 1987):

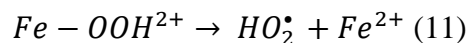
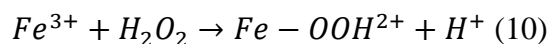
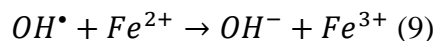
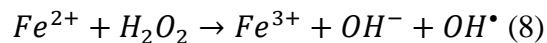


2.9.3 Fentonov reagens

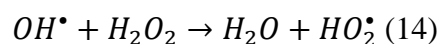
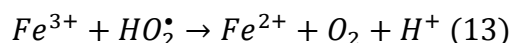
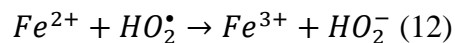
Predstavlja oksidacioni procesu kome jerazlaganje vodonik-peroksida katalizovano solima gvožđa (Neyens i Baeyens 2003). Vodonik-peroksid ima mnogobrojne prednosti u odnosu na uobičajene oksidacione procese poput hlorisanja ili ozonolize; a to su komercijalna dostupnost, termalna stabilnosti neograničena rastvorljivost u vodi.

Kombinacija vodonik-peroksid sa solima gvožđa (II) naziva se *Fentonov process* (H_2O_2/Fe^{2+}). Prvi put je upotrebljen 1894. godine za oksidaciju vinske kiseline do dihidroksimaleinske kiseline (Fenton, 1894). Fero-sulfat je najčešće korišćeni izvor Fe^{2+} jona u Fentonovom procesu.

Lančana reakcija započinje u kiseljoj sredini reakcijom između gvožđa (Fe^{2+}) i vodonik-peroksida, pri čemu nastaju hidroksil-radikali (8), a prekida se interakcijom Fe^{2+} i hidroksil-radikala, pri čemu nastaju Fe^{3+} i OH^- joni (9). Fentonov proces se odigrava u kiseljoj sredini jer je za iniciranje reakcije potreban proton. Feri jon (Fe^{3+}) takođe može u kiseljoj sredini reagovati sa vodonik-peroksidom u reakciji nalik Fentonovoj, pri čemu nastaju hidroksil- i hidroperoksil-radikali i katalizator se regeneriše (10, 11). Hidroperoksil jon ($Fe-OOH^{2+}$) se razlaže na hidroperoksidni-radikal i jon Fe^{2+} (11).



Hidroperoksidni-radikal HO_2^\bullet može reagovati i sa fero- i sa feri-jonima gvožđa (12-14).



Fentonov proces je našao primenu u tretmanu otpadnih voda, jer parcijalno razlaže - povećava biodegradaciju i smanjuje toksičnost različitih organskih zagađujućih supstanci (Kim i saradnici, 2010).

Mehanizam degradacije organskih supstanci uključuje tri glavna reaktivna radikala: dva hidroksilna radikala u “slobodnoj” ili “zatvorenoj formi”, a treći u formi kompleks gvožđa (vodeni ili organo), pri čemubrзина reakcije zavisi od hvatača radikala kao što su t-butanol ili Cl^- jon (Neyens i Baeyens, 2003).

Organski radikali koji nastaju apstrakcijom protona, mogu biti oksidovani feri (15) ili redukovani fero jonima gvožđa (16).



U ovoj reakciji se generišu fero-joni i tako se završava katalitički krug Fentonovog procesa. Fero-joni mogu biti hidratizani, tj. reagovati sa hidroksilnim-jonima i formirati ferihidroksno komplekse koji se talože na pH od 4 do 7. Taloženjem feri-jon postaje nedostupan za dalje reakcije.

Optimalna pH vrednost za Fentonov proces je oko 3, jer na nižim vrednostima (<2.5) dolazi do formiranja feri-hidroksno kompleksa koji sporije reaguje sa H_2O_2 i samim tim nastaje manje hidroksilnih radikala. Na veoma niskim vrednostima pH dolazi do toga da se vodonični joni ponašaju kao hvatači hidroksilnih radikala, a reakcija feri-jona sa vodonik-peroksidom je inhibirana.

U slučaju realnih uzoraka vode važan parameter je i interakcija sa ambijentalnim molekulima. Konstante brzine reakcije će zavisiti od liganda koji su vezani za gvožđe.

Stoga će prisustvo organskih i neorganskih liganada iz prirodnih voda drastično uticati na Fentonovu reakciju (Tarr, 2003).

Efikasnost Fentonove reakcije - stepen degradacije je uslovljen odnosom koncentracije gvožđa (Fe^{2+}) i vodonik-peroksida, pH ($2 < \text{optimalan} < 4$), vremenom reakcije, osobinama zagađujuće supstance (HPK) i temperaturom.

Tri kategorije odnosa početne koncentracije gvožđa (Fe^{2+}) i vodonik-peroksida (H_2O_2) predložili su Yoon i saradnici (2001):

2.9.3.1 Visok odnos $[Fe^{2+}]/[H_2O_2] \geq 2$

Kada je koncentracija gvožđa u višku i nema organske materije, tada u sistemu dolazi do prekida lančane reakcija radikalskih vrsta usled reakcije Fe^{2+} sa $\cdot OH$ radikalima. Konstanta brzine reakcije $\cdot OH$ radikala sa Fe^{2+} ($k = 3,2 \cdot 10^8$ mol/Ls) veća je deset puta nego konstanta brzine reakcije $\cdot OH$ radikala sa H_2O_2 ($k = 3,3 \cdot 10^7$ mol/Ls) (Buxton i Greenstock, 1988). U prisustvu organskih molekula (RH), dolazi do kompeticije između fero-jona i RH za $\cdot OH$ radikale i odnos početnih koncentracija pada ispod 2 (≈ 1.3) (Neyens i Baeyens, 2003), tj. Fe^{2+} se koristi u reakciji kao reaktant, a ne katalizator. Nevezano za prisustvo organske materije, vodonik-peroksid se u oba slučaja potroši u nekoliko sekundi, što pokazuje da se produkcija $\cdot OH$ radikala brzo završava u višku gvožđa (Fe^{2+}).

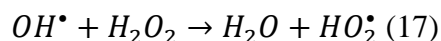
2.9.3.2 Srednji odnos $[Fe^{2+}]_0/[H_2O_2]_0 = 1$

Pri ovom odnosu koncentracija vodonik-peroksid brzo prevodi sve fero jone u feri oblik i pri odsustvu RH, vodonik-peroksid se polako razlaže lančanom radikalskom reakcijom (Fe^{3+}). Koncentracija vodonik-peroksida dalje se umanjuje redukcijom Fe^{3+} u Fe^{2+} (reakcija 10).

Tako da se Fentonova reakcija može okarakterisati sa dva specifična sistema, fero i feri sistem, koji će zavisiti od oksidacionog stanja gvožđa dodatog na početku reakcije. U prisustvu organskih molekula fero joni troše više vodonik-peroksida u početnoj fazi reakcije (Neyens i Baeyens, 2003).

2.9.3.3 Nizak odnos $[Fe^{2+}]_0/[H_2O_2]_0 \ll 1$

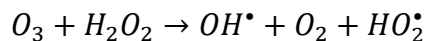
U slučaju da se vodonik-peroksid nalazi u višku, fero-joni biće brzo potrošeni. Ostaje mnogo veća početna količina vodonik-peroksida pa će nastali $\cdot OH$ radikali u većoj meri reagovati sa H_2O_2 dajući $HO_2\cdot$ (17).



Ovako nastali $HO_2\cdot$ dalje učestvuju u reakcijama redukcije feri do fero jona i većoj potrošnji H_2O_2 (Neyens, Baeyens, 2003). Iz ove reakcije se zaključuje da H_2O_2 može biti i donor i hvatač $\cdot OH$ radikala. Hidroperoksil-radikali ne učestvuju direktno u degradaciji organskih zagađujućih supstanci, već se to odigrava kroz reakciju sa $\cdot OH$ (Ji i saradnici, 2011).

U degradaciji visokih koncentracija zagađujućih supstanci kako bi se pospešio efekat aktivacije vodonik-peroksida (formiranja $\cdot OH$ radikala) koriste se i soli prelaznih metala (napr. gvožđe; Fentonov reagens), ozon ili UV svetlost.

- Ozon i vodonik-peroksid



- UV svetlost i vodonik-peroksid



(Neyens i Baeyens 2003)

Fentonov reagens nije univerzalni *oksidans* - na degradaciju su otporni mali hlorovani alkani (tetrahloroetan, trihloretan), n- parafini i kratke karboksilne kiseline (maleinska, oksalna, sirćetna, malonska) (Bidga, 1995). Kod alicikličnih komponenti ne dolazi do elektrofilnog napada $\cdot OH$ radikala na dvostruke veze C=C, za razliku od aromatičnih komponenti gde dolazi do otvaranja prstena i dalje degradacije. Zato se Fenton često koristi u kombinaciji sa drugim oksidacionim tehnikama kao što su fotokataliza i ultrazvučna iradijacija.

Fentonov reagens se može samostalno koristiti kao predtretman biološkom tretmanu za degradaciju organskih zagađujućih supstanci. Vodonik-peroksid nosi epitet zeleni, tj. “ekološki” reagens, ali naravno voda koja se ispušta u biološki tretman ili recipijent mora imati kontrolisanu koncentraciju vodonik-peroksida (Legrini i saradnici, 1993, Neyens i Baeyens 2003, Gogate i Pandit 2004).

Najveća prednost Fentonovog reagensa je mogućnost degradacije velikog broja zagađujućih supstanci do biodegradabilnih produkata, pri relativno niskoj ceni tretmana. Fentonov proces se pokazao kao izuzetno efikasan tretmanu degradaciji pesticida.

Mane Fentonovog procesa su utrošak hemikalija za održavanje pH vrednosti, uzak opseg funkcionisanja (pH) i generisanje sekundarnog otpada (mulj) koji se mora ukloniti (Ikehata i El-Din, 2006).

2.9.4 Heterogena Fenton oksidacija

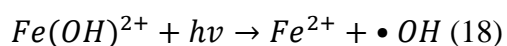
Svako odstupanje od standardnih reakcija Fenton naziva se modifikovani Fenton. Modifikovane Fenton oksidacije fokusiraju se na prevazilaženje problema kao što je umanjena dostupnost zagađujućih supstanci usled sorpcije, ekstremnih pH vrednosti, raspadanja ili niske koncentracije H_2O_2 (0.03 w/v), kao i nestabilne prirode molekula.

Mehanizam modifikovanih Fenton oksidacija funkcioniše tako što se organski zagađujuće supstance oksiduju do intermedijera, dok dalji mehanizam zavisi od prirode supstituenta i tipa sorpcije (J Henry-Ramirez 2010).

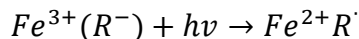
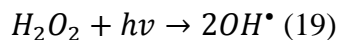
2.9.4.1 Foto-fenton oksidacija

Foto-Fenton podrazumeva interakciju svetlosti (UV-VIS) i Fentonovog reagensa (Fe^{2+}/H_2O_2) u cilju degradacije organskih komponenti (Ahmadi i saradnici, 2008). Ovaj process uključuje fotoredukciju Fe^{3+} u Fe^{2+} , tako da se koristi mala koncentracija gvožđa kao katalizator, ali i formira mala količina sekundarnog otpada (Wang et. al 2003). U vodenom rastvoru, čija je pH vrednost u opsegu od 2.5 do 5 mehanizam degradacije zagađujućih supstanci počinje fotolizom hidroksilnog feri kompleksa $[Fe(OH)^{2+}]$ do hidroksilnog radikala i fero jona (reakcija 18). Ovo je praćeno Fentonovom reakcijom (reakcija 8) i oksidacijom organske komponente.

Upotrebom UV svetla smanjuje se količina čvrstog otpada (mulja, Poyatos i saradnici, 2010). Za fotolizu se mogu koristiti UV, UV-A i VIS izvori svetlosti.

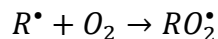
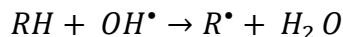


U prisustvu svetla može doći do dodatnih reakcija koje produkuju hidroksilne radikale ili povećavaju brzinu produkcije hidroksilnih-radikala (19):



gde je R organski ligand. Ovakvi sistemi se nazivaju *foto-Fenton* sistemima. Fotoni zračenja imaju pozitivan uticaj na Fentonov reagens i dovode do efikasnije degradacije zagađujućih supstanci. Najvažnija od ovih reakcija je redukcija Fe^{3+} do Fe^{2+} pa su nastali fero-joni ponovo dostupni za reakciju sa peroksidom (Marcel, 2009).

Organski radikali koji nastaju u ovim interakcijama reaguju sa rastvorenim kiseonikom i grade peroksidni radikal koji slobodno generiše dalju radikalsku reakciju i dovodi do oksidacije organske materije.



2.9.5 Električno pražnjenje

- *ravnotežne i neravnotežne plazme*

Plazma je parcijalno jonizovani gas koji sadrži: fotone, elektrone, pozitivne i negativne jone, atome, slobodne radikale, molekule u ekscitovanom i neekscitovanom obliku. Sve čestice plazme mogu se podeliti na “lake” – fotone i elektrone, kao i “teške” – ostale članove (molekuli, atomi, slobodni radikali i joni). Plazma se sastoji od slobodnih nosioca naelektrisanja i odlikuje električnom provodljivošću, ali je sa makroskopske tačke gledišta elektroneutralna.

Ser Viliam Kruks (Sir William Crookes) četvrto agregatno stanje materije opisao je 1879. godine, a reč “plazma” prvi put je upotrebio Langmir 1928 godine (Irving Langmuir).

Dok se u svemiru 99% materije nalazi u stanju plazme, u laboratoriji one se mogu formirati različitim metodama: električnim pražnjenjem, sagorevanjem pomoću plamena ili hemijski indukovanim šokovima (Liu i saradnici, 1999).

Mehanizam generisanja plazme započinje prenošenjem energije na gas (Conrads i saradnici, 2000), reorganizacijom elektronske strukture različitih vrsta, ekscitovanjem, kao i formiranjem jona. Energija koja se prenosi može biti toplotna, električna ili elektromagnetno zračenje. Većina ekscitovanih vrsta je veoma kratko aktivna i emitujući foton vraća se u polazno stanje, dok druge tzv. “*metastabilne vrste*” primljenu energiju mogu samo osloboditi u koliziji sa drugim članovima. Plazme koje nastaju pri atmosferskom pritisku generisane su prenosom energije električnog polja na elektrone u gasu gdje se dalje ta energija prenosi elastičnim ili neelastičnim sudarima.

Karakteristike svake plazme zavise od stepena jonizacije, temperature, gustine i magnetne indukcije. Osnovna klasifikacija plazmi je na osnovu izvora i količine energije koja se prenese na plazmu i dovodi do promene gustine i temperature elektrona. Tako se plazme mogu podeliti u zavisnosti od temperature elektrona u odnosu na temperaturu gasa, na makroskopskom nivou na:

- 1) Ravnotežne – eng. „*thermal*” što bi značilo da su u toplotnoj ravnoteži; tj. sve vrste u plazmi su u toplotnoj ravnoteži jedna sa drugom - njihove temperature su jednake, $T_i = T_e = T_g$ (i=jon, e=elektron, g=neutralni gas).
- 2) Neravnotežne - eng. „*non-thermal*” što bi značilo da „nije u toplotnoj ravnoži”, odnosno da je toplotna energija elektrona veća nego ostalih članova okruženja $T_e \gg T_i = T_g$.

Ravnotežne plazme nastaju pri visokom pritisku ($\geq 10^5$ Pa) i primenjenoj snazi > 50 MW, tako što se formira lokalna termodinamička ravnoteža (“kvazi-ravnoteža”) između elektrona i teških vrsta. Temperatura gasa je približno ista za sve komponente plazme i iznosi od 5 do 20×10^3 K, dok je gustina elektrona visoka 10^{21} - 10^{26} m⁻³. U neelastičnim sudarima elektrona i teških članova dolazi do formiranja reaktivnih vrsta, a u elastičnim sudarima energija elektrona se troši i prevodi u toplotu teških članova, što ima za posledicu smanjenje efikasnosti hemijskih reakcija u plazmi, intenzivira se razlaganje ozona i formiranje NO_x (Parvulescu i saradnici, 2012). Primeri ravnotežne plazme su “baklja” (eng. *torch*) i električni lukovi (eng. *Arc*), a u prirodi munja i sunčeva korona (Slika 8). U Arc plazmama $T_e = T_g \sim 10.000$ K.



Slika 8. U prirodi munja (30,000 K ili 2.6 eV) i Sunčeva korona (1.000.000 K, ili 86eV) primeri su termalnih plazmi.

Neravnotežne plazme nastaju na nižim pritiscima i koriste manje snage. Temperatura elektrona (120 000 K) je znatno veća od temperature gasa (300K) i ne postoji lokalna

termodinamička ravnoteža. Gustina elektrona je manja od 10^{19} m^{-3} , tako da se energija ne rasipa u vidu toplote, a slobodni elektroni zadržavaju visoku energiju i mogu pokrenuti različite hemijske procese. Teški članovi plazme ostaju pri ambijentalnoj temperaturi. Fotoni u netermalnoj plazmi takođe imaju značajnu ulogu u fotojonizaciji gasa. Ovakav tip plazmi se može generisati AC, DC i impulsnim pražnjenjem u gasu, ali i nehomogenim električnim poljem u vodi. Neravnotežne plazme nastaju korona pražnjenjem, dielektrično barijernim pražnjenjem, mikrotalasnim i radiofrekventnim pražnjenjem.

Posebna kategorija plazmi su korona i klizeći luk. Često se ubrajaju u neravnotežne plazme, zato što nastaju blizu atmosferskog pritiska i pri sobnoj temperaturi, ali imaju i svojstva ravnotežnih plazmi (veliku gustinu elektrona, snagu, itd). Njihovo formiranje ne zahteva ekstremne uslove i zato su vrlo interesantne za industriju (Fridman i saradnici, 2005).

Plazme se još mogu klasifikovati:

a) Prema pritisku:

- ✓ atmosferske i
- ✓ plazme niskog pritiska

Plazme niskog pritiska (10^{-4} – 10^{-2} kPa) nisu netermalne (neravnotežne). Temperatura teških članova plazme je niža nego temperatura elektrona. Neelastični sudari između elektrona i teških čestica su jonizujući i ekscitujući, ali ne dovode do povećanja temperature teških čestica. Kako se pritisak povećava, intenzivira se kolizija, dolazi do plazma hemijskih reakcija (neelastičnim sudarima) i povećanja temperature teških čestica (elastični sudari). Smanjuje se razlika u temperaturi elektrona i gasa kako se plazma stanje približava ravnotežnom (termalnoj plazmi), ali ne dostiže stanje ravnoteže.

b) Prema izvoru energije:

- A.C. (*eng. alternation current*) izvor - naizmjenična struja
- D.C. (*eng. direct current*) izvor - jednosmerna struja

Za formiranje termalne plazme kao što je luk potrebna je velika gustina energije, a neravnotežne plazme su favorizovane niskim intenzitetom snage ili impulsnim izvorom struje.

c) Stepenu jonizacije - plazme mogu biti takođe visoko i nisko jonizovane. Mehanizam započinje jonizacijom neutralnih atoma i molekula kako bi se formirali elektroni i pozitivni joni.

Električno pražnjenjeu prečišćavanju vode

Pored ozona, poslednjih deset godina električna pražnjenja (plazme) predstavljaju alternativu konvencionalnom tretmanu prečišćavanja vode. Tokom pražnjenja smeša teških i lakih vrsta nastalih ekscitacijom gasa može se direktno usmeriti na neku površinu ili “gasiti” u reakciji sa vodom. U oba slučaja interakcijom visokoenergetskih elektrona sa ostalim članovima dolazi do postepenog generisanja hemijski aktivnih vrsta poput H_2O_2 , O^{\bullet} , $\bullet OH$, HO_2^{\bullet} , O_3^* , N_2^* , e^- , O_2^- , O^- ili O_2^+ (Malik i saradnici, 2001), koje dalje mogu reagovati sa drugim stabilnim oblicima - ambijentalnim molekulima i/ili zagađujućim supstancama.

Reaktivne oksidativne vrste nastale pražnjenjem su veoma kratko aktivne i brzo se raspadaju, tako da prednost u degradaciji zagađujućih supstanci imaju reaktori čija konfiguracija obezbeđuje pražnjenje u blizini površine vode (odmah iznad nivoa vode). Tako se umanjuje potreba ozonizatora, omogućava “*in situ*” dekontaminacija, kao i sterilizacija vode električnim pražnjenjem uz konvencionalne dezinficijense kao što su ozon i vodonik-peroksid (Ohshima i saradnici, 1997; Jong i Heesch 1998).

Pored hemijskih postoje i fizički procesi usled pražnjenja kao što je UV svetlost (Robinson i saradnici, 1973) ili udarni talas (Sunka i saradnici, 1995, Stuka i saradnici, 1995), koji takođe doprinose dekontaminaciji (Willberg i saradnici, 1996). Tehnike generisanja električnog pražnjenja, naročito netermalne plazme u blizini vode ili u kontaktu sa vodom se najviše razvijaju za industrijsku primenu u tretmanu otpadnih voda.

2.9.5.1.1 Plazma-hemijske reakcije pri električnom pražnjenju u kontaktu sa vodom ili u vodi

Kada se plazma generiše u vodenoj pari ili u blizini vode, tada elektroni i joni iz gasa prelaze u tečnu fazu, ali i molekuli vode utiču na karakteristike plazme. Nastaju primarne hemijski aktivne vrste poput $\cdot\text{OH}$, $\text{H}\cdot$, $\text{O}\cdot$ i $\text{NO}\cdot$ radikala, koji daljom reakcijom sa ambijentalnim molekulima (gasa ili tečnosti) generišu sekundarne oksidativne vrste (H_2O_2 , NO_x , O_3 , HNO_2 , HNO_3 , ONOOH), koje mogu reagovati sa zagađujućim supstancama (Tabela 4).

Tabela 4. Hemijske vrste koje nastaju pražnjenjem plazme u kontaktu sa vodom ili iznad površine vode.

Početni molekuli	Primarnevrste	Sekundarnevrste
H_2O , N_2 , O_2	$\text{O}\cdot$, $\text{H}\cdot$, $\cdot\text{OH}$, $\text{NO}\cdot$, $\text{N}\cdot$ i drugi joni	H_2O_2 , NO_x , O_3 , HNO_2 , HNO_3 , ONOOH , i drugi joni

Hemijske reakcije plazme zavisiće od tipa pražnjenja, energije, kao i sastava medijuma u kome se proces odigrava. Tako da ukoliko zamenimo vazduh sa čistim gasovima kao što su kiseonik ili argon, razlikovaće se hemijski aktivne vrste koje penetriraju u tečnost.

Plazma-hemijske reakcije pri električnom pražnjenju u vodi ili u kontaktu sa vodom mogu se podeliti u četiri grupe:

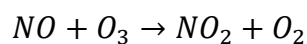
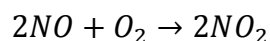
- 1) Kiselo-bazne reakcije
- 2) Reakcije oksidacije – *Hidroksi-radikal, ozon, vodonik-peroksid, peroksinitrit*
- 3) Reakcije redukcije
- 4) Fotohemijske reakcije podstaknute UV svetlošću iz plazme

1) *Kiselo-bazne reakcije* - redukcionni potencijal mnogih organskih vrsta uslovljen je pH vrednošću medijuma. Reaktivnost i stabilnost različitih organskih boja je pH zavisna i reakcije sa •OH radikalima su mnogo brže pri nižoj vrednosti pH. Različite reaktivne vrsta kiseonika i azota (ROS i RNS) generisane pražnjenjem u vodi ili iznad površine vode utiču na kiselo-bazna svojstva rastvora (oslobađanje H^+).

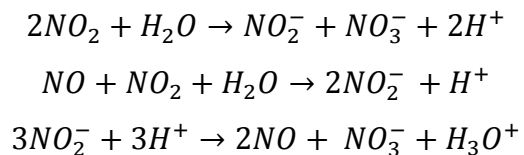
Tabela 5. Kiselo bazne konstante disocijacije za vrste nastale pražnjenjem plazme na gasno-tečnom prelazu faza (Parvulescu i saradnici, 2012).

$RH \leftrightarrow R^- + H^+$	pK_a
$OH^\bullet \leftrightarrow O^{\bullet-} + H^+$	11.9
$H_2O_2 \leftrightarrow HO_2^\bullet + H^+$	11.75
$HO_2^\bullet \leftrightarrow O_2^{\bullet-} + H^+$	4.8
$HOONO \leftrightarrow ONO_2^- + H^+$	6.8
$HONO \leftrightarrow ONO^- + H^+$	3.3
$HNO \leftrightarrow NO^- + H^+$	4.7

Razlog smanjenja pH vrednosti usled električnog pražnjenja je i formiranje hemijskih proizvoda kao što su azotna i azotasta kiselina (Lukes 2002). Tokom pražnjenja plazme u vazduhu disocijaciom molekula azota i kiseonika nastaje NO, koji reaguje sa kiseonikom ili ozonom pri čemu nastaje NO_2 .



Azot-dioksid difunduje u vodu i kroz disocijaciju ili oksidaciju prelazi u NO_2^- i NO_3^- . Posledica difuzije je smanjenje pH rastvora, ali i povećanje provodljivosti rastvora.



Menjanjem prirode gasa (vazduh ili kiseonik) usled pražnjenja pored reaktivnih vrsta azota i njihovih proizvoda (NO_2^- , NO_3^-), nastaje i singlet kiseonika koji takođe ima ulogu u zakišeljavanju. Pojava u kojoj neutralne aktivirane vrste igraju ulogu u padu pH vrednosti potvrđena je u različitim istraživanjima gde je korišćeno korona, DBD ili lučno pražnjenje iznad površine vode (Parvulescu i saradnici, 2012).

Prednost kiselosti u plazma hemijskom tretmanu rastvora je i efekat sterilizacije vode. Pored snižavanja pH vrednosti uočena je i promena provodljivosti (povećanje) kada se pri atmosferskom pritisku koristi korona ili DBD pražnjenje iznad površine vode (Hoigne 1998, Janca i saradnici, 1999, Oehmigen i saradnici, 2010).

2) *Reakcije oksidacije* – degradacija organskih zagađujućih supstanci odvijaju se pomoću reaktivnih vrsta kiseonika (ROS) i azota (RNS) generisanih plazmom; ROS: OH[•], O[•] radikala, ozona, vodonik-peroksida i kiseonika; RNS: peroksinitrita, nitritnih, nitratnih jona i azot-dioksidog radikala. Između svih navedenih, hidroksi-radikali i ozon su ključni oksidansi u procesu degradacije izazvane električnim pražnjenjem u vodi i iznad površine vode.

Tabela 6. Konstanta brzine reakcije ključnih oksidanasa organskih i neorganskih komponenti vode (l (mol s)⁻¹) (NDRL/NIST Solution Kinetics Database on the Web, 2011).

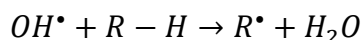
Supstanca	H [•]	•OH	O ₃
H ₂ O ₂	9x 10 ⁷	2.7 x 10 ⁷	<10 ⁻²
HO ₂ ⁻	1.2x10 ⁹	7.5 x 10 ⁹	5.5x10 ⁶
O ₂	2.1x10 ¹⁰	-	-
O ₃	3.8x10 ¹⁰	1.1 x 10 ⁸	-
H ₂	-	4.2x10 ⁷	-
OH ⁻	2.2x10 ⁷	1.2x10 ¹⁰	70
Fe ²⁺	7.5 x 10 ⁶	4.3x10 ⁸	>5x10 ⁵
Fe ³⁺	<2x10 ⁶	-	-
NO ²⁻	7.1 x 1 ⁸	9.1x10 ⁹	3.7x 10 ⁵
NO ³⁻	1.4x10 ⁶	-	<10 ⁻⁴
Fenol	1.7 x 10 ⁹	6.6 x10 ⁹	1.3x10 ³
4-hlorfenol	-	9.3 x 10 ⁹	6x10 ²
Metanol	2.8x 10 ⁶	8.3x 10 ⁸	2x10 ⁻²
Metilensko plavo	1.1 x 10 ¹⁰	2.1x10 ¹⁰	1.34 x 10 ⁵

- *Hidroksi radikal* – U životnoj sredini hidroksi-radikal ima ulogu reaktanta u transformaciji ksenobiotika, ali i genotoksičnih supstanci koje oštećuje DNK. U vodenoj sredini može nastati kroz više mehanizama: Fotolizom nitrata i nitrita (Brezonik i Fulkerson-Brekken, 1998); Fentonovom Foto-Fentonovom reakcijom ($H_2O_2/Fe^{2+}/h\nu$) (Fukushima i Tatsumi, 2001); Fotolizomfulvo kiselina (Vaughan i Blough, 1998) ili reakcijom Fe^{3+} i Cu^{2+} kompleksa huminskih kiselina sa vodonik-preoksidom (Paciollai saradnici, 1999).

Pri električnom pražnjenju plazme u vodi ili iznad površine vode $\cdot OH$ -radikali su najdominantnija vrsta ROS-a koja nastaje. Oni imaju najveći oksidacioni potencijal ($E^0 = 2.85$ V) i ujedno predstavljaju najači oksidant, koji može da postoji u vodenoj sredini. Reaguje neselektivno sa organskim ali i sa mnogim neorganskim supstancama. Hidroksi-radikali su veoma nestabilni usled velike reaktivnosti i imaju kratak životni vek od svega 200 μs u gasu i još kraće u vodi. Zato je važno kontinualno ih generisati u blizini ciljnog molekula.

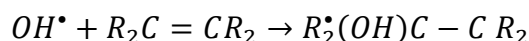
Mehanizmi interakcije hidroksi-radikala sa organskom materijom su:

a) *Dehidrogenacija*

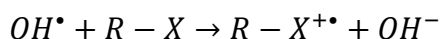


(odvajanjem atoma vodonika nastaje organski radikal $R\cdot$ od alifatične materije)

b) *Hidroksilacija* – adicijom na dvostruku vezu (degradacija aromatične strukture)



c) *Direktni transfer elektrona*

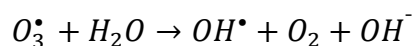
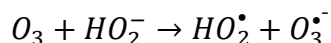
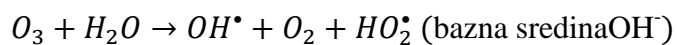


Redukcijom $\cdot OH$ radikala organskim supstratom nastaje hidroksidni jon i organski radikali. Ovi organski radikali daljom lančanom reakcijom mogu dovesti do formiranja hidroperoksi-radikala, vodonik-peroksida, organskih peroksida, aldehida i kiselina. Karakteristični proizvodi degradacije organske materije su oksidovani proizvodi i ostaci otvaranja prstena, a može doći i do mineralizacije.

✓ Ozon

Ozon degradira organsku materiju u vodi direktno (ozonoliza) ili indirektno preko $\cdot\text{OH}$ radikala koji nastaju i raspadanjem ozona. U kiseloj sredini dominantne su reakcije sa ozonom pri čemu dolazi do elektrofilnog napada na organsku materiju degradacije do karboksilnih kiselina. Ovakav mehanizam degradacije je spor proces, dosta sporiji od reakcije RH sa $\cdot\text{OH}$ radikalima, selektivan i pH zavistan (Hoigne, 1998).

Ozon reaguje preko funkcionalnih grupa različitih jedinjenja: hidroksi, metil ili amino grupa aromatičnih ugljovodonika. Dodatak vodonik-peroksida ili povećanje pH vrednosti (neutralna, bazna sredina) dovode do razgradnje ozona i povećanja koncentracije hidroksilnog radikala. Radikalske reakcije su neselektivne i pokreću lančane reakcije koje mogu mineralizovati organsku materiju. U literaturi ovaj lančani efekat detaljno opisan (Langlais i saradnici, 1991; Wang i saradnici, 2003) kao „perokson“ proces (*eng. Peroxon process*) i veoma je intenzivan na pH vrednosti iznad 5. Efikasnost degradacije RH i produkcija $\cdot\text{OH}$ radikala dalje se može pospešiti fotohemjski - UV svetlost ($\text{O}_3/\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$).



✓ Vodonik-peroksid

Povećava opštu oksidacionu moć plazma-hemijskih reakcija, posebno ukoliko se električno pražnjenje dešava u vodi. Ovo je stabilna i reaktivna molekulska vrsta, koja dugo ostaje u rastvoru (Dojčinović i saradnici, 2011). Mehanizam reakcije sa organskim zagađujućim supstancama se može podeliti na direktni i indirektni.

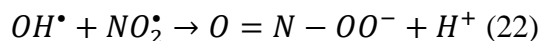
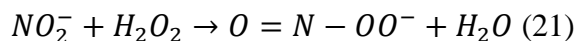
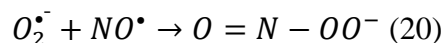
Direktni mehanizam se odigrava kada vodonik-peroksid učestvuje u oksido-redukcionim reakcijama i ponaša se kao oksidans ($E^0 = 1.77 \text{ V}$) ili reduktant ($E^0 = -0.7 \text{ V}$), ali se ove reakcije odvijaju relativno sporo.

Dominantan mehanizam degradacije organskih zagađujućih supstancije indirektni mehanizam kroz:

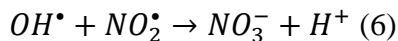
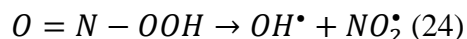
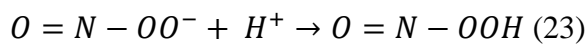
- Katalitičke reakcije sa gvoždem u Fentonovom procesu ($\cdot\text{OH}$) ili volframom
- Peroksonproces sa O_3 ($\cdot\text{OH}$)
- Reakcija sa nitritima i formiranje peroksinitrita
- Fotoliza UV svetlost i formiranje $\cdot\text{OH}$ i $\text{HO}_2\cdot$ radikala.

✓ *Peroksinitrit*

Peroksinitrit je oksidativna vrsta ($E^0 = 2.05 \text{ V}$), koja se javlja u vodenom rastvoru nakon električnog pražnjenja u vazduhu iznad površine vode. U oksidativnim reakcijama mogu učestvovati i anjonska ($\text{O} = \text{N}-\text{OO}^-$) i protonovana forma ($\text{O}=\text{N}-\text{OOH}$, peroksinitritna kiselina) aktivne vrste ($\text{pK}_a = 6.8$). Peroksinitrit mogu nastati u radikalnim reakcijama azotovog oksida i superoksidnog anjona (20); u reakciji nitritnog anjona i vodonik peroksida (21) ili u reakciji $\text{NO}_2\cdot$ sa $\cdot\text{OH}$ radikalom (22).



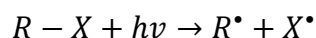
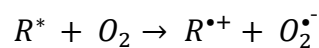
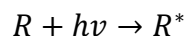
Mehanizam degradacije organskih zagađujućih materija je pH zavistan i može biti direktna ili indirektna oksidacija. Direktni mehanizam je dominantan u alkalnim uslovima sredine ($\text{pH} > 6.8$), ali u kiselj sredini dominantan je indirektni mehanizam preko radikalnih vrsta ($\text{NO}_2\cdot$, $\cdot\text{OH}$, ili $\text{CO}_3\cdot^-$ - Beckman i saradnici, 1990, 1996; Goldstein i saradnici, 1996). Raspadanjem protonovane forme peroksinitrita (23) nastaju radikalne vrste $\cdot\text{OH}$ i $\text{NO}_2\cdot$ (24), koje započinju lančanu reakciju degradacije organske supstance. Reaktivnost peroksinitrita se ogleda prvenstveno u reaktivnosti $\cdot\text{OH}$ radikala koji nastaju njegovim razlaganjem (24), pri čemu sekundarni oksidansi mogu formirati i azotnu kiselinu, dodatno snižavajući pH rastvora.



3) *Reakcije redukcije*– redukujuće vrste nastale električnim pražnjenjem u vodi su: vodonični i superoksidni radikali ($H^\bullet, O_2^{\bullet-}$), kao i vodonik. Ove vrste povećavaju efikasnost degradacije u sistemu gde dominira oksidativni proces. Određeni autori smatraju da tokom pražnjenja u vodi H^\bullet reaguje sa kiseonikom i formira HO_2^\bullet , koji se u oksidacionoj sredini dalje konvertuje u $O_2^{\bullet-}$ tj. kao dominantni reduktant (Sahni i saradnici, 2002, 2005, 2006). Takođe perhidroksi radikali mogu nastati fotolizom vodonik-peroksida, izlaganjem sistema UV svetlosti nakon električnog pražnjenja u vodi.

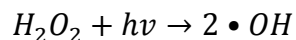
4) *Fotohemijske reakcije podstaknute UV svetlošću iz plazme*

Nezanemarljiv deo energije električnog pražnjenja u kontaktu sa vodom ili u vodi, prevodi se u UV svetlost koja može podstaknuti fotohemijske reakcije. Mehanizam reakcije sa organskom materijom može biti direktan ili indirektan. Direktnom fotolizom UV svetlost ekscituje organsku supstancu, a zatim dolazi do prenosa elektrona na molekularni kiseonik; daljom rekombinacijom radikalskih jona dolazi ili do hidrolize ili homolize ugljenik-halogen veze, anovonastali intermedijeri reaguju sa kiseonikom.

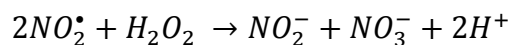
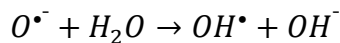
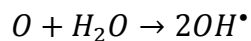
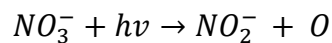
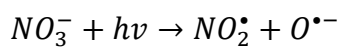
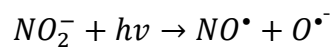


Fotooksidacija organskih supstanci u vodi uslovljena je efikasnošću apsorpcije svetlosti usled kompeticije između zagađujućih supstanci u vodi. U slučaju kada je reakcija sa hidroksi-radikalima spora, kao u slučaju fluorovanih i hlorovanih alifatičnih supstanci, primenom UV svetla dolazi do efikasne homolize ugljenik-halogen veze ($C-F < 190 \text{ nm}$, $C-Cl 210-230 \text{ nm}$) (Legrini i saradnici, 1993; Bolton i Cater 1994).

Indirektni mehanizam podrazumeva oksidaciju materije putem $\cdot\text{OH}$ radikala, koji mogu nastati fotolizom ozona, vodonik-peroksida ili fotokatalizom (TiO_2). Fotolizom ozona na 200-280 nm, generišu se $\cdot\text{OH}$ radikali u reakciji ekscitovanog kiseonika i vode, a fotolizom jednog molekula vodonik-peroksida nastaju dva $\cdot\text{OH}$ radikala (1).



Nitrati i nitriti takođe mogu reagovati indirektno kao fotosenziteri i formirati sekundarne oksidanse kao što su kiseonični, superoksidni ili hidroksil radikali na sledeći način (Tarr, 2003):



2.9.6 Tehnike generisanja električnog pražnjenja za tretman vode su:

- 1) Impulsno korona pražnjenje (eng. *pulsed corona discharge*, PCD)
- 2) Dielektrično barijerno pražnjenje (eng. *dielectric barrier discharge*, DBD)
- 3) Tinjava (eng. *contact glow discharge*, CGD)

2.9.6.1 Impulsno korona pražnjenje

Impulsno korona slabo pražnjenje, koje se najčešće javlja pri atmosferskom pritisku blizu ivica (vrhova) ili tankih žica gde je električno polje dovoljno jako. Reaktor se sastoji od metalnih elektroda postavljenih u obliku igle prema ploči ali i delova prekrivenih izolacionim materijalom (igla-teflonom). Ovako pražnjenje se može započeti relativno visokim naponom (20-40 kV) oko jedne elektrode (igle), a druga elektroda (ploča) je uzemljena, pri čemu ne dolazi do formiranja varnice (Fridman i saradnici, 2005). Prednost korona pražnjenja je što se može formirati u blizini površine vode, kao i to što ima dezinfikujuće dejstvo.

2.9.6.1 Dielektrično barijerno pražnjenje

Dielektrično barijerno pražnjenje je najpoznatiji tip električnog pražnjenja. Prvi put je upotrebljeno kao generator ozona 1857. godine (Siemens). Danas se ova tehnika koristi sa manjim modifikacijama za dezinfekciju vode (Kim 2004). Pražnjenje se zasniva na primeni dielektrične barijere (staklo, keramika ili kvarc) u gapu pražnjenja, pri čemu se zaustavlja strujni kanal (eng. *strimer*). Dielektrik, kao izolator ne propušta jednosmernu struju zato se DBD pražnjenje generiše pomoću naizmeničnih ili impulsnih izvora visokog napona. U tretmanu voda, kao dielektrična barijera služi sloj vode oko jedne od elektroda (Robinson i saradnici, 1997). DBD pražnjenje se naziva i tiho pražnjenje jer funkcioniše na frekvenci između 0.05 i 500 kHz, i ne dolazi do formiranja varnice ili lokalnih udarnih talasa.

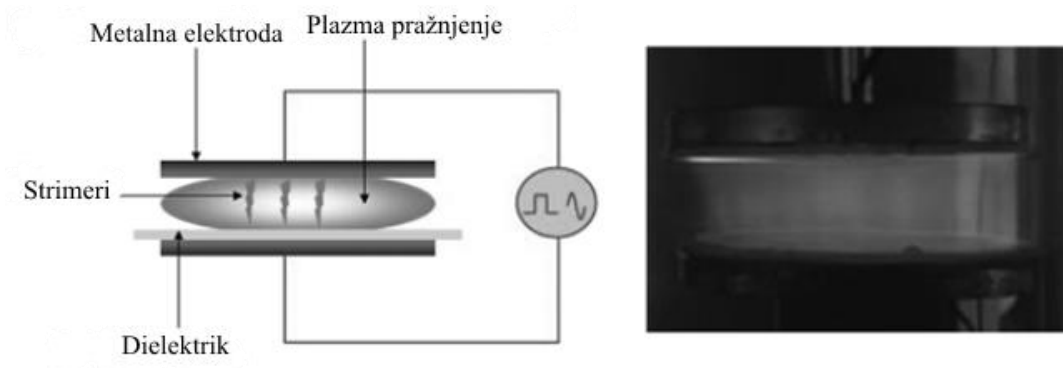
Elektroni formirani u pražnjenju kroz neelastične sudare sa drugim ambijentalnim molekulima dovode do ekscitacije, disocijacije, jonizacije ili apstrakcije elektrona ciljnih molekula i generisanja još slobodnih elektrona. Ovaj proces se intenzivira i može rezultirati formiranjem lavine elektrona (strimerima) u kojima je energija elektrona 1-10 eV (10 000 – 100 000 K) (Eliasson B i Kogelschatz 1991). U DBD reaktoru posle proboja u gasu,

naelektrisanja se skupljaju na površini dielektrika formirajući lokalno električno polje i po principu negativne povratne sprege zaustavljaju protok struje nakon nekoliko nanosekundi.

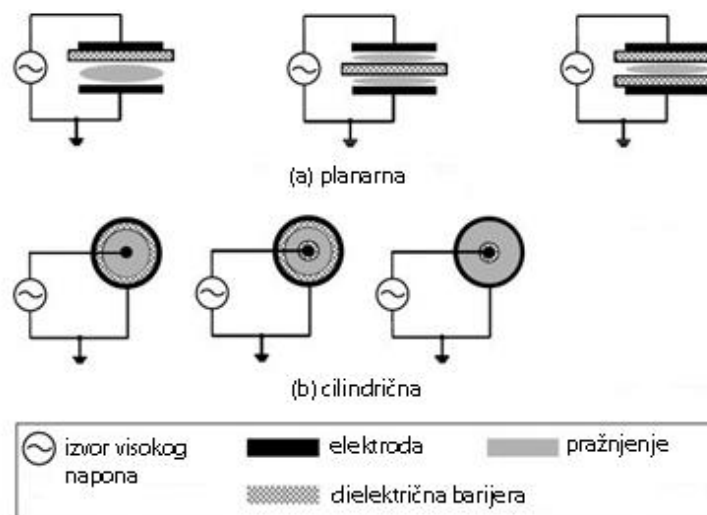
Dolazi do formiranja neravnotežne plazme. DBD funkcioniše u tzv. filamentarnom modu u kojem je obrazovanje plazme prostorno ograničeno na gap mikropražnjenja (od 0,1 mm do nekoliko cm). Ravnomerna distribucija strimera na površini elektrode omogućava homogeni tretman određenog medijuma (gas, vazduh, voda).

Usled kratkotrajnih mikropražnjenja, samo elektroni kao najlakše naelektrisane čestice mogu dostići visoku energiju, dok druge teže ili neutralne čestice ostaju na sobnoj temperaturi. Visokoenergetski elektroni iniciraju plazma-hemijske reakcije i formiranje slobodnih radikala, kao i jona koji će dovesti do degradacije zagađujućih supstanci.

Osnova svake konstrukcije DBD-a su dve elektrode i bar jedan dielektrik postavljen između njih (Slika 9). Dielektrična konstanta i debljina dielektrika, kao i promena napona u jedinici vremena određuju struju koju on može da propusti. Najčešće konfiguracije DBD reaktora su planarna ili cilindrična, a date su na slici broj 10.



Slika 9. Konfiguracija DBD-a i fotografija pražnjenja



Slika 10. Najčešće konfiguracije DBD-a (Fridman 2008).

DBD se koristi i za produkciju ozona, CO₂ lasere ikao UV izvor. Poslednjih deset godina pronašao je svoju primenu i u polju biomedicine i prečišćavanja medijuma životne sredine.

2.9.6.3 Kontaktno pražnjenje ili tinjava

Kontaktno pražnjenje ili tinjava nastaje pri niskim pritiscima (1000 Pa i manje), gde je jedna elektroda u obliku tanke žice (anoda) iznad površine vode, a druga potopljena u vodu i izolovana poroznim materijalom – staklom (Hickling i Ingram 1964).

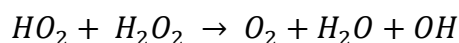
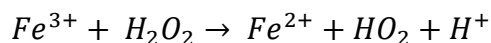
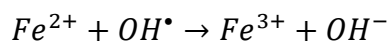
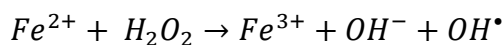
Jednosmerni napon dovodi do formiranja oblaka pare oko anode i pražnjenja u obliku tinjave. Naelektrisane vrste u gapu pražnjenja ili oblaku pare oko anode prelaze u vodeni rastvor (strm gradijent potencijala), dok energije elektrona mogu dostići i 100 eV. U ovom tipu pražnjenja sve vrste nastale u zoni pražnjenja (anjoni, katjoni i neutralne čestice) se zagrevaju tako da se formira topla – termalna plazma (Kobayashi i saradnici, 2000). Kako se veliki deo energije potroši na zagrevanje tečnosti smanjuje se efikasnost pražnjenja.

2.9.6.4 Plazma-katalitički procesi (gvožđe (II) i vodonik-peroksid)

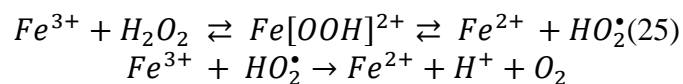
Plazma – hemijska aktivnost električnih pražnjenja u tretmanu vode može se pospešiti i dodavanjem heterogenog ili homogenog katalizatora. Katalizator ima ulogu u snižavanju energije aktivacije sistema i naziva se *homogeni* ukoliko su reaktanti i katalizator iste agregatne faze ili *heterogeni* ukoliko su u različitim fazama. Kao elektrode katalizatori mogu biti od različitog materijala poput gvožđa, platine ili volframa, a mogu se dodati i u obliku čvrstih supstanci poput: aktivnog uglja, silika-gela, titanijum-dioksida, zeolita, itd (Parvulescu i saradnici, 2012). Primećeno je da se u njihovom prisustvu smanjuje prinos vodonik-peroksida, ali i povećava efikasnosti degradacije organskih supstanci u vodi (Lukes i saradnici, 2006). Heterogeni katalizatori mogu izmeniti karakteristike pražnjenja, dok homogeni katalizatori utiču na pH vrednost rastvora, provodljivost i naravno svojstva plazme.

Tako u netermalnom plazma reaktoru pri električnom pražnjenju nastaje vodonik-peroksid i sa dodatkom fero (Fe^{2+}) jona (homogeni katalizator) inicira se Fentonova reakcija tj. generišu hidroksi-radikali. Dodatkom katalizatora ne samo da se poboljšava efikasnost degradacije već i energetska efikasnost samog procesa pražnjenja u plazmi (Sun i saradnici, 1999).

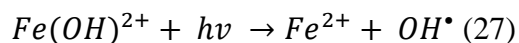
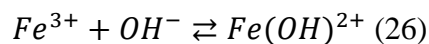
Degradacija npr. *para*-hlorfenola i fenola se odigrava oksidacijom hidroksi-radikalima u plazma reaktoru (Sharma i saradnici, 1993; Lukeš i saradnici, 2001), ali se značajno poboljšava dodatkom fero (Fe^{2+}) jona, jer se povećava količina hidroksi-radikala raspadanjem vodonik-peroksida u Fenton i reakcijama sličnim Fentonu (Sharma i saradnici, 1993; Grymonpre i saradnici, 1999; Lukeš i saradnici, 2005).



Opsežan opus na temu efikasnosti gvožđa u plazma-hemijskom uklanjanju organskih zagađujućih supstanci uradio je Sharma i saradnici, (1993). On je prvi dokazao efikasnost gvožđa (II) (so ili joni sa elektrode) u degradaciji fenola u impulsnom korona pražnjenju usled Fentonovog procesa. Gvožđe (II) se dalje koristilo i kao homogeni i kao heterogeni katalizator u obliku fero/feri soli ili u obliku minerala gvožđa/zeoliti (Parvulescu i saradnici, 2012). Pored fero (Fe^{2+}) jona i feri (Fe^{3+}) joni učestvuju u razlaganju vodonik-peroksida (25):



Efikasnost Fentonove reakcije se takođe može pospešiti sa UV ili UV-VIS svetlošću (Foto-Fentonova reakcija), usled fotoredukcije hidroksilovanog feri (Fe^{3+}) jona u vodenom rastvoru (Pignatello i saradnici, 2006) - reakcije 26 i 27. Tako da dolazi do kruženja gvožđa između feri i fero oblika.



Vodonik-peroksid se može generisati u vodi plazma pražnjenjem u prisustvu fotokatalizatora redukcijom kiseonika elektronima iz provodne trake ili korona pražnjenjem u vodi disocijacijom ili ekscitacijom molekula vode (Sun i saradnici, 1999). Kada se H_2O_2 doda sistemu kao katalizator, povećava se koncentracija $\bullet OH$ radikala, a samim tim i stopa degradacije fenola i drugih organskih jedinjenja (Legrini i saradnici, 1993; Sugitaro-Sato 2001). Degradacija fenola u različitim tipovima pražnjenja u prisustvu vodonik-peroksida (100 i 1000 mg/L) opisana je u radu Sugiarto-Sato i saradnici (2001).

2.10 EAOP-i

Različiti AOP-i se koriste u degradaciji organskih supstanci. Nekoliko revijalnih radova podelilo je AOP-e (Ikehata i saradnici, 2006; Esplugas i saradnici, 2007; Klavarioti i saradnici, 2009) u tretmanu voda na:

- Hemijske AOP-e – O_3/H_2O_2 , Fentonov reagens (Fe^{2+}/H_2O_2), ultrazvuk i WET oksidacija.
- Fotohemijske AOP-e – O_3/UV , H_2O_2/UV , foto-Fenton ($Fe^{2+}/H_2O_2/UV$)
- Fotokatalizu – (UV/TiO_2) i
- Elektrohemijske AOP-e (EAOPi) – anodna oksidacija (AO), elektro-Fenton, foto-elektrofenton (Garrido i saradnici, 2007; Brillas i saradnici, 2008, 2009; Klavarioti i saradnici, 2009, Oturan i saradnici, 2012). Publikacije Rodriguez i saradnici, 2009; Ayoub i saradnici, 2010; Salazar i saradnici, 2012; Ozcan i saradnici, 2013 demonstriraju efikasnost tehnologije EAOP-a u uklanjanju - mineralizaciji velikog broja zagađujućih supstanci.

Princip elektrolize

Elektrohemijska ćelija se sastoji od dve elektrode (anodu i katodu) uronjene u rastvor elektrolita. Elektroda na kojoj dolazi do oksidacije, tj. predavanja elektrona elektronskom provodniku naziva se anoda, a elektroda na kojoj se odigrava redukcija, tj. prelazak elektrona sa elektronskog provodnika kroz granicu faza naziva se katoda. Elektrode se prave od provodljivog materijala: metala, poluprovodnika, grafita, čak i provodnih polimera.

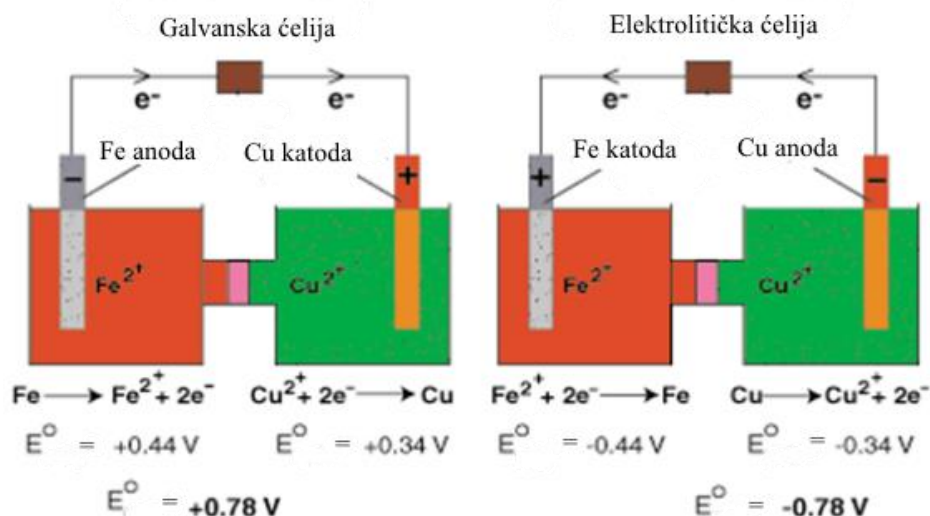
Električna struja se kroz elektrohemijsku ćeliju može pokrenuti na dva načina. Prvi podrazumeva povezivanje dve elektrode metalnim provodnikom pri čemu dolazi do spontanog generisanja elektrohemijske struje preko reakcija na obe fazne granice (metal/elektrolit). U ovom slučaju kroz zatvoreno električno kolo teče jednosmerna električna struja, tako što elektroni prelaze sa metala u elektrolit (jedna fazna granica), a potom iz elektrolita u metal (druga fazna granica).

Prelazak elektrona je jedino moguć ukoliko se u elektrolitu nalaze hemijske vrste (molekuli ili joni) koje mogu da se redukuju. Istovremeno sa procesom redukcije odigrava se i proces oksidacije pri čemu se elektron oslobađa iz neke komponente u elektrolitu. Komponente koje svojim oksido-redukcionim reakcijama omogućavaju prenos elektrona kroz fazne granice (metal/elektrolit) nazivaju se elektroaktivne vrste i ukoliko ih nema u sistemu, granice faza postaju beskonačno veliki otpor za jednosmernu struju (Manojlović i saradnici, 2010). Pored elektroaktivnih vrsta za trajni tok struje neophodno je i prisustvo jonskih vrsta koje su nosioci naelektrisanja kroz elektrolit. Hemijske promene oksidacije ili redukcije predstavljaju mehanizme kojima se odigrava prenos naelektrisanja kroz faznu granicu. Na tim granicama se menja priroda nosilaca naelektrisanja (električne struje) tj, elektronska struja sa metala prelazi u jonsku struju kroz elektrolit (Manojlović i saradnici, 2010). Atom, molekul ili jon koji gubi elektrone naziva se redukujuće sredstvo, a čestica koja prima elektrone naziva se oksidujuće sredstvo. Drugi način je da se elektrode u elektrohemijskoj ćeliji spoje jednim spoljašnjim izvorom električne struje. Napon spoljašnjeg izvora je veći od napona ćelije, pa se struja kroz ćeliju kreće u suprotnom smeru od spontanog. Prinudni procesi koji se dešavaju na elektrodama kada im se dovodi struja iz spoljašnjeg izvora struje nazivaju se procesi elektrolize. Ćelija koja radi na ovaj način se naziva elektrolitička ćelija.

U elektrolitičkoj ćeliji, na elektrodama se odvijaju dve vrste procesa. Prvoj vrsti pripadaju procesi pri kojima se naelektrisanje (tj. elektron) prenosi kroz granicu elektroda/rastvor. Ovakav prenos elektrona izaziva na elektrodama odvijanje reakcija za koje važe Faradejevi zakoni elektrolize, pa se ova vrsta procesa naziva Faradejskim procesima. Elektrode na kojima se odvijaju Faradejski procesi, nazivaju se radne elektrode. Međutim, kako fazna granica elektroda/elektrolit ima i kapacitativne osobine, na elektrodi se može istovremeno odigravati i druga vrsta procesa vezana za promenu gustine naelektrisanja dvojnog električnog sloja i to su Nefaradejski procesi (kapacitativna struja). Zahvaljujući ovim procesima granica elektroda/elektrolit je propustljiva za naizmjeničnu struju čak i kada se na njoj ne odvijaju Faradejski procesi.

Elektrolitičke ćelije se koriste za izvođenje željenih hemijskih reakcija pomoću električne energije. Tako, industrijski procesi koji obuhvataju korišćenje ćelije ovog tipa

uključuju elektrohemijske sinteze (npr. proizvodnja hlora ili aluminijuma), elektrolitičko prečišćavanje (npr. bakra, srebra) i elektrolitičko nanošenje prevlaka (srebra ili zlata). Svaka elektrohemijska ćelija može da funkcioniše kao galvanski element, ali i kao elektrolitička ćelija - slika 11 (Minić 2010).



Slika 11. Galvanska i elektrolitička ćelija

Do elektrolize dolazi samo ako se odgovarajuće reakcije odigravaju na obe elektrode. Ukoliko se gasoviti proizvodi izdvajaju na obe elektrode, onda odgovarajuće katodne i anodne potencijale treba povećati za nadnapone izdvajanja gasova na elektrodama. Minimalna vrednost napona elektrolize koju treba nametnuti sistemu da bi došlo do trajne elektrolize naziva se napon razlaganja i dat je izrazom:

$$E_s = E_a + \eta_a - (E_k - \eta_k)$$

E_s predstavlja napon razlaganja vode, E_a je napon anode, E_k je napon katode, a η_a i η_k predstavljaju nadnapone anode i katode (Manojlović i saradnici, 2010).

2.10.1 Elektrohemijski tretman vode

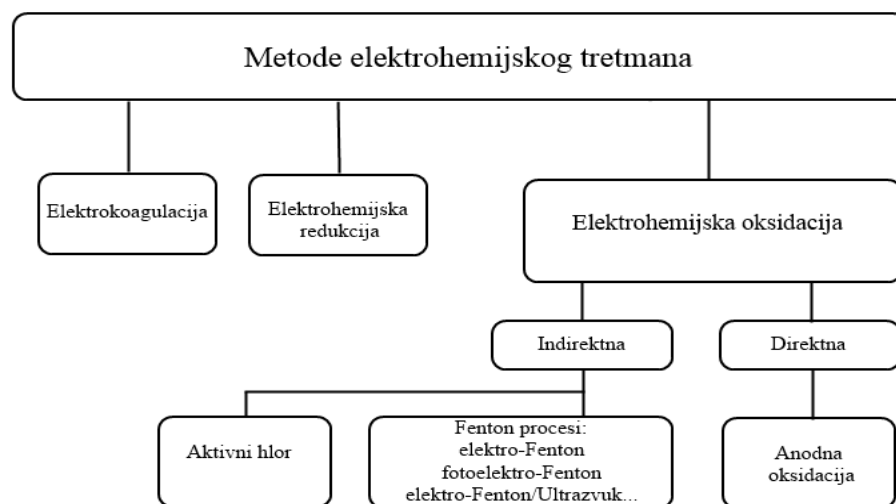
Upotreba struje u tretmanu vode zabeležena je 1889. godine (Chen, 2004), a tokom prošlih 14 godina, različite elektrohemijske metode su našle svoju primenu u prečišćavanju otpadnih voda. Odlikuju se jednostavnošću operativnosti, ne zahtevaju ekstremne uslove (temperature i pritisak) rada, jedinstveni reagens je elektron, tako da uglavnom nema utroška drugih hemikalija i formiranja sekundarnog otpada.

Od početka korišćenja, pa do danas opisan je veliki broj različitih reakcionih sistema. Najčešće se radi o dvopregradnoj troelektrodnoj ćeliji ili jednopregradnoj koja može biti podeljena ili nepodeljena, dok elektrode mogu biti monopolarne ili bipolarne.

Tehnologija elektrohemijskog tretmana vode može se klasifikovati na:

- 1) Tehnologiju odvajanja faza – dolazi do odvajanja ksenobiotika ne menjajući hemijsku strukturu, kao što je elektrokoagulacija.
- 2) Tehnologija degradacije – dolazi do strukturnih promena i nastaju intermedijeri i proizvodi degradacije (anodna oksidacija). Cilj degradacije je mineralizacija do ugljen-dioksida, vode i neorganskih jedinjenja koji su dalje dostupni biološkoj transformaciji.

Elektrohemijska degradacija se u osnovi deli na direktnu i indirektnu (Slika 12). Procesi direktne elektrohemijske degradacije uključuju konvencionalne tehnike katodne redukcije i anodne oksidacije. Indirektni procesi koriste redoks posrednike kao reverzibilno generisane reagense, ali i oksidante koji nastaju ireverzibilnim generisanjem na anodi (O_3 , ClO^- , Cl_2 i ClO_2) ili katodi (H_2O_2). Ostali indirektni elektrolitički procesi uključuju konvencionalne metode separacije, kao što su elektrokoagulacija, elektroflotacija i elektroflokulacija (Douglas i saradnici, 1999; Panizza i Cerisola 2009).

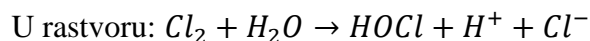
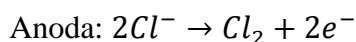


Slika 12. Opšta šema elektrohemijskih metoda Slika

2.10.1.1 Anodna oksidacija

Efikasnost elektrolize zavisi od hemijski ili fizički adsorbovanog $\cdot\text{OH}$ radikala, vrste anodnog materijala, kompeticije sa generisanjem kiseonika, kao i tipa elektrolita. Elektroliti koji se najčešće koriste su: H_2SO_4 , KNO_3 , HClO_4 , NaF , Na_2SO_4 i NaCl (ili KCl) (del Río i saradnici, 2009).

Treba izdvojiti funkciju hlorida u elektrohemijskoj degradaciji azo-boja, pri čemu je oksidacija posredovana aktivnim vrstama jona hlora (rastvoren NaCl). U ovom sistemu dolazi do istovremene degradacije organske materije indirektno aktivnim hlorom ($E^\circ = 1,358 \text{ V}$), hipohloritnom kiselinom ($E^\circ = 1.63 \text{ V}$) i hipohloritom ($E^\circ = 0.90 \text{ V}$), kao i direktno putem viših oksida. Joni hlora se oksiduju na anodi i formiraju molekularni hlor (Panizza i Cerisola, 2009).



Hlor se dalje prevodi u hipohloritnu kiselinu i hipohloritni jon usled disocijacije u vodi (Panizza i Cerisola 2004). Oba su jaki oksidujuć agensi i interaguju sa zagađujućom supstancom. Fizički sorbovan $\cdot\text{OH}$ na površini anode formira $\text{MO}_x(\cdot\text{OH})$ i može reagovati sa hloridnim jonima pri čemu nastaje $\text{MO}_x(\text{ClO}\cdot)$ kiselina, a potom i viši oksidi koji oksiduju organsku materiju.

Sa druge strane Na_2SO_4 je poznat kao inertni elektrolit koji ne dovodi do formiranja reaktivnih vrsta u toku elektrolize, osim u posebnim uslovima kada nastaju persulfati (Panizza i saradnici, 2007).

Elektrohemijski tretman se dobro pokazao u dekolizaciji otpadnih voda (Fan i saradnici, 2009), bilo da se radi o elektrohemijškoj oksidaciji, redukciji ili oksido-redukciji. Značajno smanjenje HPK u dekolizaciji azo boja postignuto je u oksido-redukcionom elektrohemijškom tretmanu, kada je korišćen Na_2SO_4 kao elektrolit (del Río, 2009), kao i manja količina organo-hlorovanih proizvoda putem oksidacije, kada je korišćen NaCl kao elektrolit.

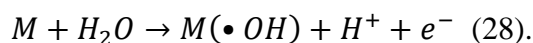
Postoje dva principa anodne oksidacije:

- 1) Direktna anodna oksidacija (direktan transfer elektrona do anode) koja daje veoma slabu dekontaminaciju,
- 2) Hemijska reakcija sa elektrognerisanim vrstama koje nastaju nakon pražnjenja na anodi, kao što je fizisorbovani „aktivni kiseonik“ (fizisorbovani hidroksilni radikal $\cdot\text{OH}$) ili hemisorbovani „aktivni kiseonik“ (kiseonik u rešetci metalnog oksida MO anode) (Oturán i saradnici, 2012).

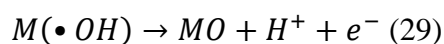
Anodna oksidacija sa elektrognerisanim reaktivnim vrstama koje nastaju pražnjenjem u vodi, na anodi se dalje može podeliti na dva principa:

- Elektrohemijski konverzioni metod, kod koga se organski molekuli pomoću hemisorbovanog „aktivnog kiseonika“ selektivno transformišu obično do karboksilnih kiselina, koje se dalje mogu ukloniti biološkim tretmanom
- Metod elektrohemijskog sagorevanja ili spaljivanja (*eng. electrochemical incineration*), kod koga se organski molekuli pomoću fizisorbovanog „aktivnog kiseonika“ kompletno mineralizuju, tj. oksiduju do CO_2 i neorganskih jona.

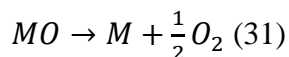
U oba slučaja efikasnost elektrohemijske degradacije zavisi od aktiviteta (materijala) same anode. Tako je Cominellis (1994) podelio anode na „aktivne i „neaktivne“. U oba slučaja na anodi (M) oksidacijom vode nastaje fizički adsorbovan hidroksi radikal ($M(\cdot\text{OH})$) (28).



U slučaju „aktivne“ elektrode radikal reaguje sa površinom elektrode i nastaje hemijski adsorbovan „aktivni kiseonik“ ili viši oksid MO (29). Tada je potencijal elektrodni materijal iznad termo-dinamičkog potencijala za nastajanje kiseonika (1,23 V vs SHE).

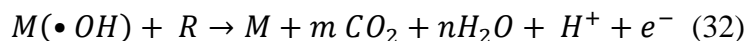


Redoks par MO/M koji se nalazi na površini elektrode, često se i naziva hemisorbovani "aktivni kiseonik". Ovaj redoks par predstavlja posrednika u konverziji ili selektivnoj oksidaciji organskih supstanci (R) na "aktivnoj" elektrodi (30) koji je u konkurenciji sa reakcijom nastanka kiseonika usled raspadanja višeg oksida (31). Oksidacija je ograničena na površinu elektrode (Pt, oksidi Ru i Ir).

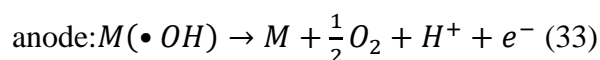


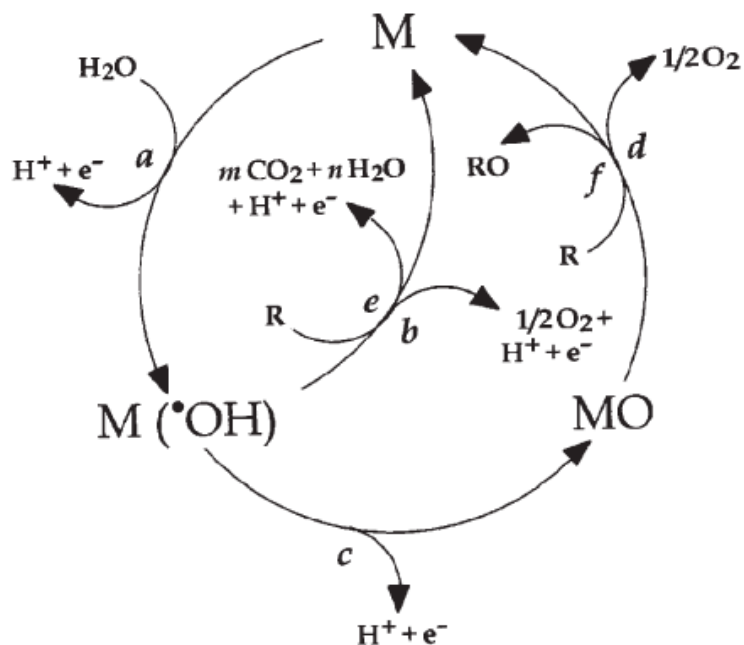
Kod "neaktivnih" elektroda ne dolazi do formiranja viših oksida i hidroksi-radikali se nazivaju fisisorbovani "aktivni kiseonik". Upotrebom ovih elektroda dolazi do neselektivne oksidacije koja dovodi do potpunog sagorevanja organske supstance do CO₂ (32). Reakcija radikala i površine elektrode su slabe. Anoda nije katalitičko mesto za adsorpciju reaktanata i/ili proizvoda iz vodenog medijuma.

Intermedijeri nastali oksidacijom vode učestvuju u degradaciji organskih supstanci. Slabija interakcija M-(•OH) podrazumeva da je veća reaktivnost anode u degradaciji organskih supstanci. Dobar primer neaktivne, stabilne elektrode je bor dopirana dijamantska elektroda (Brillas i Martinez – Huitle 2011) ili oksidi Sn i Pb (Comminellis i Pulgarin 1993, Saracco i saradnici, 2001)). Uloga neaktivnih anoda je promocija radikala. Kada anode imaju visoki kiseonični nadpotencijal, nastali radikali su fizički sorbovani i to znači da je interakcija slaba, ali je količina •OH radikala (E^o= 2.80 V) raspoloživih za interakciju sa zagađujućim supstancama velika.



Ova reakcija je u konkurenciji sa istovremenim prelazom •OH radikala u kisonik bez učešća



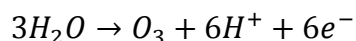
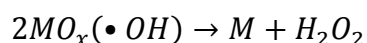
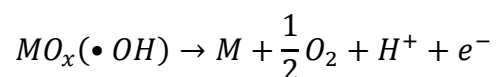


Slika 13. Anodna oksidacija organske materijesa istovremenim generisanjem kiseonika na “aktivnoj” (a,c,d i f) i “neaktivnoj” (a,b i e) elektrodi. Prema Comninellis-u (1994) podrazumeva: a- formiranje hidroksil radikala; b- nastanak kiseonika elektrohemijskom oksidacijom hidroksilnog radikala; c- formiranje višeg oksida MO; d- nastanak kiseonika elektrohemijskim raspadom višeg oksida; e- elektrohemijsko sagorevanje organske materije $\cdot\text{OH}$ radikalom; f- Elektrohemijska konverzija organske materije R višim oksidom metala

Takođe, u procesu anodne oksidacije pored $\cdot\text{OH}$ radikala nastaju i različite reaktivne vrste (ROS), koje omogućavaju brzu reakciju sa većinom organskih supstanci. Pri degradaciji organske materije u vodi Johnson (1992) je takođe predložio da dolazi do anodnog prenosa kiseonika preko $\cdot\text{OH}$ radikala hidrolizom vode na organsko jedinjenje (ukoliko napon nije visok ne dolazi do trošenja anode).

Oksidansi koji se takođe mogu generisati elektrohemijski su: peroksid, ozon, Fentonov reagens, hipohlorit, itd.

Međusobno kompetitivne reakcije su stvaranje kiseonika, vodonik-peroksida i ozona:



U praksi, većina anoda pokazuje mešoviti karakter zato što istovremeno paralelno teku reakcija oksidacije organske supstance i reakcija stvaranja kiseonika (Comninellis 1994; Xiao-yan Lia i saradnici, 2005; Panizza i Cerisola 2009).

Katodni materijal indirektno ima uticaj na uklanjanje zagađujućih supstanci (Anantha,2014):

- Redukcijom rastvorenog kiseonika i generisanjem vodonik-peroksida
- Direktnom oksidacijom organske materije koja postaje podložna daljoj oksidaciji
- Formiranje koagulanata, adsorpcija organske materije
- Direktnom adsorpcijom organskih supstanci (ugljenične katode).

2.10.1.2 Elektrohemijska redukcija

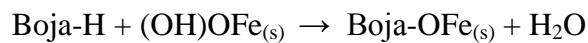
Direktna elektoredukcija organskih zagađujućih supstanci na odgovarajućim katodama je metoda koji se može koristiti za dehlorinaciju. Redukcija zagađujućih materija odigrava se prenosom elektrona sa katode. Mnoge hlorovane komponente se proizvode u industriji i koriste kao rastvarači, pesticidi, itd.

Tokom katodne redukcije dolazi do sporedne reakcije nastajanja vodonika pa se stoga moraju koristiti katode sa velikim nadnaponom za vodonik. Različiti materijali se mogu koristiti kao katode: Pb, Hg, Pt, Cu, Ni, Ti, TiO₂. Mali broj radova se bavi direktnom elektrohemijskom redukcijom, jer se pokazala kao manje efikasna od direktne ili indirektno elektrohemijske oksidacije ili oksido-redukcije u dekontaminaciji vode.

Na primeru azo boja žuta - Acid Yellow 23, Reactofix Golden Yellow 3 smanjenje HPK iznosilo je od 48% - 75% uz malo smanjenje TOC vrednosti (Jain i saradnici, 2003, Jain i saradnici, 2007), a niska dekolorizacija zabeležena je i za plavu - Reactive Blue 4 u podeljenoj ćeliji sa tri elektrode (Carneiro i saradnici, 2003; 2004). Udegradaciji herbicida, hlorfenola i fenola paladijum se pokazao kao efikasna elektroda (Tsyganok i Otsuka 1999; Li i Farrell 2000; Cheng i saradnici, 2004). U slučaju elektrohemijske redukcije različiti su redukujući agensi: mravlja kiselina, izopropanol ili hidrazin, ali vodonik se koristi najčešće kao redukujući agens ($E^0=0.00$ V) i kao donor elektrona inicira dehalogovanje zagađujućih supstanci.

2.10.1.3 Elektrokoagulacija

Koagulacija je fizičko-hemijski tretman fazne separacije (podela među fazama) za precipitaciju koloidnih i jonskih vrsta dodatkom koagulanata, Fe³⁺ i Al³⁺ jona, u obliku hloridnih soli. Sličan proces je *elektrokoagulacija*, ova metoda koristi struju da rastvori jone gvožđa i aluminijuma sa elektrode u rastvor otpadne vode, u rastvoru se nalaze joni Fe²⁺ (ili Fe³⁺) i Al³⁺ koji grade različite hidrokside (sve u zavisnosti od pH vrednosti sredine). Na primeru reaktivnih boja ove vrste se ponašaju kao koagulanti ili destabilizacioni agensi koji menjaju naelektrisanje boje, tj neutrališu predhodno naelektrisanje i na taj način koagulišu čestice boje i konačno sedimentacijom nastaje mulj (Bard i saradnici, 2001).



Koagulisane čestice takođe se mogu odvojiti elektroflotacijom koja podrazumeva zarobljavanje koagulisanih čestica boje od strane mehurića gasa H_2 koji se stvara na katodi. Na ovaj način koagulisana boja dospeva do vrha rastvora odakle se može odvojiti. Uopšteno posmatrano glavni procesi elektrokoagulacije su:

- Reakcije na elektrodama u cilju stvaranja jona gvožđa i aluminijuma na anodi i generisanje molekula H_2 na katodi
- Formiranje koagulanata u rastvoru otpadne vode
- Uklanjanje boje iz rastvora sedimentacijom ili elektroflotacijom sa izdvojenim H_2
- Druge elektrohemijske i hemijske reakcije uključujući redukciju organskih nečistoća i metalnih jona na katodi, koagulaciju koloidnih čestica.

Neke od prednosti elektrokoagulacije su: efikasnije i brže odvajanje organske supstance u odnosu na koagulaciju; pH kontrola nije neophodna, izuzetak su ekstremne vrednosti; upotreba hemijskih reagenasa je minimalna; količina taloga koji se stvara je manja nego kod koagulacije, talog dobijen na ovaj način sadrži veći procenat boje; operativni troškovi su mnogo manji u odnosu na konvencionalne tehnologije. Međutim, elektrokoagulacija ima i neke nedostatke: pasiviranje anode i depozicija taloga na elektrodama mogu dovesti do inhibicije elektrolitičkih procesa; visoka koncentracija gvožđa i aluminijuma koje se nakon procesa moraju ukloniti (Chen 2004; Martínez-Huitle i saradnici, 2008; Butler i saradnici, 2011).

2.10.1.4 Elektro-Fenton oksidacija

U poslednjih par decenija došlo je do značajnog razvoja Elektro-Fentonovog procesa, kao metode oksidacije kojom se postiže efikasno prečišćavanje otpadne vode. Metoda se bazira na kontinualnoj elektro-generaciji vodonik-peroksida, na odgovarajućoj katodi, kojoj se dovodi kiseonik ili vazduh uz dodatak gvožđa (II) kao katalizatora za produkciju $\cdot\text{OH}$ radikala.

Prednost ove metode u odnosu na klasičnu foto-Fenton oksidaciju je što se “*in situ*” proizvodi H_2O_2 , čime se smanjuje rizik njegovog transporta, rukovanja i čuvanja.

Dalje, ovom metodom moguće je kontrolisati i degradaciju, a i procenat degradacije organske supstance je veći, zbog kontinualne regeneracije Fe^{2+} jona (Jin 2010).

2.10.1.5 Fotoelektrohemijske metode

Ove metode se zasnivaju na fotohemijskoj i/ili fotokatalitičkoj aktivnosti UV zračenja i nalaze značajnu primenu u tretmanu otpadnih voda. Intenzitet i talasna dužina upadne svetlosti su ključni faktori u destrukciji organskih jedinjenja. Talasne dužine koje se koriste su: UVA (315-400 nm), UVB (285-315nm) i UVC (<285 nm). Najprimenljivije fotohemijske metode su fotoelektro-Fenton i fotoelektrokataliza.

Fotoelektro-Fenton je sistem koji koristi metodu *elektro-Fentona*, a zatim tako tretiran uzorak izlaže UV zračenju u cilju favorizovanja generisanja $\cdot\text{OH}$ i fotodegradacije kompleksa Fe^{2+} sa organskim jedinjenjima.

Primenom fotoelektrokatalize anoda sa TiO_2 filmom se izlaže UV zračenju, eksčitujuse elektroni i elektroda je spremna za stvaranje $\cdot\text{OH}$ i oksidaciju organskih jedinjenja.

Prednosti korišćenja elektrohemijskih tehnika u tretmanu otpadnih voda su sledeće:

- 1) *Ekološki kompatibilan proces*. Elektron je glavni reagens jer ne proizvodi nikakvo zagađenje.
- 2) *Prilagodljivost*. Može se primeniti veliki broj reaktora i elektrodnih materijala za različite elektrohemijske reakcije. Zapremina koje se mogu tretirati iznose od nekoliko mikrolitara do par miliona litara.
- 3) *Bezbednost*. Elektrohemijski procesi ne zahtevaju ekstremne uslove rada i velike količine dodatnih hemikalija. Odvijaju se na atmosferskom pritisku i sobnoj temperaturi.

Nedostaci bi bili cena struje koja se upotrebi – naročito do potpune mineralizacije (Oller i saradnici, 2011), mogući toksičniji proizvodi degradacije nego početni molekul, potreba podešavanja provodljivosti i pH vrednosti otpadnih voda, kao i prekrivanje elektroda organskim materijalom (Anglada i saradnici, 2009).

2.11 EAOP-i u degradaciji hlorfenola, azo boja i ibuprofena kao predstavnika glavnih grupa ksenobiotika u životnoj sredini

AOP-i, kao što je već navedeno se koriste u degradaciji mnogih ksenobiotika, ali naročito su efikasni u degradaciji boja, farmaceutskih proizvoda, hemikalija koje utiču na endokrini sistem organizama i pesticida.

Tokom degradacije u vodenom matriksu prati se:

-Kinetika degradacije

-Proizvodi degradacije (oksidacioni intermedijeri) i

-Finalna toksičnost tretiranog rastvora – koja zavisi od:

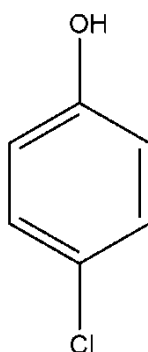
- ✓ Vrste zagađujuće materije i njene koncentracije u medijumu
- ✓ Vrste test modela u testovima toksičnosti – bira se prema osetljivosti organizma, jer neki modeli nisu odgovarajući (Andreozzi i saradnici, 2002; Rizzo i saradnici, 2009)
- ✓ Tipa AOP-a koji se primenjuje
- ✓ Uslova funkcionisanja AOP-a (pritisak, temperatura, prisustvo katalizatora, koncentracija, UV svetlost, itd), kao i
- ✓ Proizvoda degradacije

Postoji dosta publikacija koje se bave prečišćavanjem vode primenom AOP-a, ali veoma mali broj njih uzima u obzir toksikološki i ekotoksikološki efekat.

Tako na primeru ozonolize (Stalter i saradnici, 2010; Reungoat i saradnici, 2010), primene homogenih i heterogenih fotokatalizatora (Rizzo i saradnici, 2009; Klammerth i saradnici, 2010), primene ultrazvuka (Naddeo i saradnici, 2009) i gama zračenja (Sanchez – Polo i saradnici, 2009) kada su AOP-i korišćeni kao post-tretman, utvrđeno je da toksičnost ili nije smanjena ili je povećana naročito nakon tretmana realnih uzoraka (smeša). U publikacijama kada su primenjeni kao pred-tretman biološkom tretmanu pri prečišćavanju industrijskih otpadnih voda postignuto je smanjenje toksičnosti (Mantzavinos i Psillakis, 2004).

Hlorfenoli

Hlorfenoli se koriste kao intermedijeri u proizvodnji farmaceutskih, poljoprivrednih sredstava, biocida ili boja. Poreklo hlorfenola u životnoj sredini mogu biti industrijske otpadne vode, upotreba pesticida ili degradacija kompleksnih hlorovanih ugljovodonika. Ove supstance se često detektuju u površinskim i podzemnim vodama (Ahlborg i Thunberg, 1980). Druga fenolna jedinjenja formiraju se i tokom prirodnog procesa raspadanja huminskih materija, tanina, lignina ili fotolitičkom i metaboličkom razgradnjom pesticida. Američka agencija za zaštitu životne sredine (*eng.* US – EPA) i EU uvrstile su hlorfenole na listu prioriternih zagađujućih supstanci (Keith i Telliard, 1979), jer su perzistentni i teško se mogu ukloniti iz životne sredine. Transformacijom hlorfenola u životnoj sredini mogu nastati intermedijeri ili krajnji proizvodi koji su štetni za ljude i životinje.



Slika 14. Molekulska struktura *para* –hlorfenola

Tabela 7. Fizičko – hemijska svojstva *para*-hlorfenola

(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-chlorophenol#section=Odor-Threshold)

4-hlorfenol	Fizičko – hemijska svojstva
CAS broj	106-48-9
Molekulska formula	C ₆ H ₅ ClO
Molarna masa (g/mol)	128.5563
Tačka topljenja (°C)	42.8
Rastvorljivost u vodi (mg/L, 20°C)	27100
Log Kov	2.39
pKa (voda, 20°C)	9.38
Napon pare (Pa)	0.51hPa (25 °C)
Henrijeva konstanta (atm/m ³ mol)	0.24 Pa

Kada jednom dospeju u životnu sredinu glavni procesi u njihovoj transformaciji i raspodeli u njenim odeljcima su sorpcija, isparavanje, degradacija, drenaža, rastvorljivost i fotoliza. Struktura igra ulogu u otpornosti ovih supstanci na biološke i klasične fizičko-hemijske procese.

Toksičnost i bioakumulacija rezultat je lipofilnosti ovih supstanci; sa povećanjem supstitucije dolazi do povećanja lipofilnosti, a samim tim i do bioakumulacije. Struktura ima značajan udeo u toksičnom efektu hlorfenola. *Orto*-supstituisani hlorfenoli pokazuju manju toksičnost u odnosu na *meta* ili *para* supstituisane derivate. *Orto*-položaj hlora štiti OH grupu na prstenu koja intereaguje sa aktivnim mestom u organizmu (Grimwood i Mascarenhas, 1997). *Para*-hlorfenol, koji je bio tema i našeg istraživanja (C₆H₅ClO, 4CP), klasifikovan je kao opasna supstanca, koja u dugoročnom periodu može dovesti do ireverzibilnih promena u akvatičnim ekosistemima (Directive 67/548/EEC, 2001).

Meta - supstituisanost povećava otpornost na biodegradaciju. Kako raste hlorisanost fenolnog prstena smanjuje se napon pare, rastetačka ključanja, smanjuje se rastvorljivost u vodi i povećava se tendencija njihove akumulacije u sedimentu i organizmima. Iz ovih razloga, degradacija hlorfenola u industrijskim otpadnim vodama i u vodama za piće je od izuzetnog značaja.

Ekotoksikološke vrednosti za 4-hlorfenol su:

za *Daphnia magna* EC50 (48h) – 2.5 – 8.9 mg/L; (Kühn i saradnici, 1989, Steinberg i saradnici, 1992); NOEC – 0.2 mg/L (8 dana)

za alge *S. subspicatus* EC50 (72h)- 8.3 mg/l (Kühni Pattard, 1990), a NOEC -1.9 mg/l (Kühn i Pattard, 1990).

za *Lemna minor* (sočivica); LC50 (72h) - 280 mg/L (Sharma HA i saradnici, 1997)

za *Oncorhynchus mykiss* LC50 (96h) – 1.9 mg/L (Hodson i saradnici, 1984)

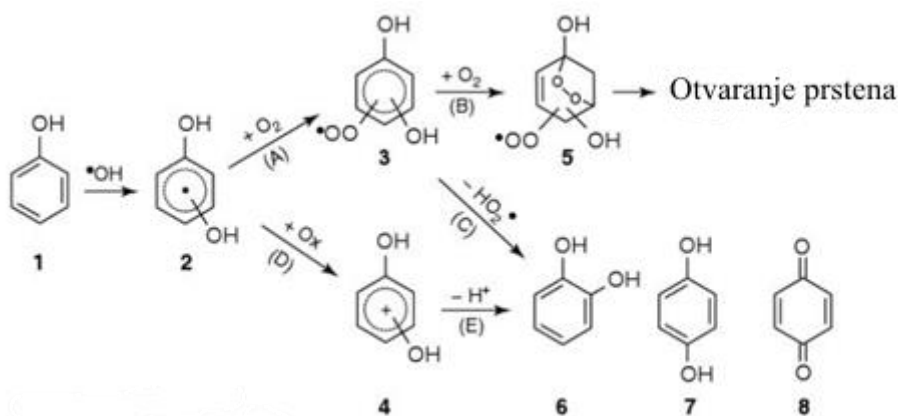
za *Lepomis macrochirus* LC50 (96h) – 3.1-4.8 mg/L (MSDS)

Bioakumulacioni potencijal: *Cyprinus carpio* (šaran) 4 – 40 µg/L (42 dana), BCF: 11-52; 6.0-18.0 (MSDS); 21 (Euro Chlor Risk Assessment for the Marine Environment OSPARCOM Region - North Sea Monochlorophenols, EuroChlor 2002).

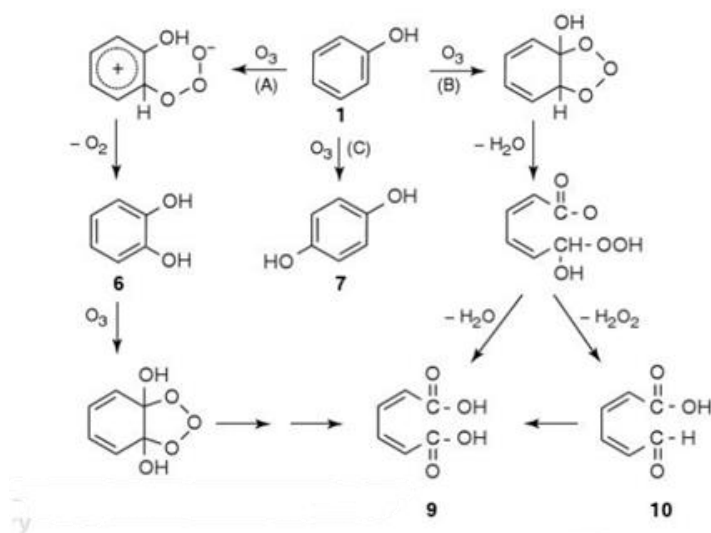
Pregled literature – degradacija fenola i hlorfenola AOP-ima

Tehnika degradacije fenola električnim pražnjenjem u kontaktu sa vodom ili u vodi do sada je kombinovana sa različitim aditivima (gvožđe, titan-dioksid, zeolit, itd) ili sa različitim gasovima koji se unose u tečnost (kiseonik, argon, vazduh,...). U većini procesa degradacija fenola je ostvarena generisanjem $\cdot\text{OH}$ radikala, ali indirektno sa ozonom u nešto sporijoj reakciji (Hoeben i saradnici, 1999; Hayashi i saradnici, 2000; Sugiarto, A.T. i Sato, M. 2001; Sano i saradnici, 2002; Grabowski i saradnici, 2005; Sato i saradnici, 2008, Manojlović i saradnici, 2008; Li i saradnici, 2007; Yan i saradnici, 2005; Shen i saradnici, 2008; Marotta i saradnici, 2011). Obe reakcije formiraju hidroksilovane aromatične proizvode fenola: katehol, hidrohion i 1,4-hidrohion (Slika 15). Dok u reakciji sa peroksinitritima nastaju pored hidroksilovanih i nitrovani proizvodi (Lukes i Locke, 2005).

Degradacija fenola ima kinetiku reakcije prvog reda (elektrofilna oksidacija). Reakcija započinje napadom $\cdot\text{OH}$ *ortho*- ili *para*- položaja na prstenu pri čemu nastaju proizvodi poput katehola (6), hidrohina (7), benzohina (8). Ovi proizvodi mogu biti dalje oksidovani do trihidroksibenzena kao što su: pirogalol, hidroksihidrohina ifloroglucinol (Parvulescu i saradnici, 2012). Otvaranjem prstena nastaju zasićeni i nezasićeni alifatični ugljovodonici sa karboksilnom grupom (ketoni, aldehidi) ili sa hidroksilnom grupom. Organske kiseline kao što su maleinska, oksalna i mravlja često su primećene u reakcionoj smeši fenola usled tretmana pražnjenjem iznad vode ili u vodi (Dojčinović i saradnici, 2008).



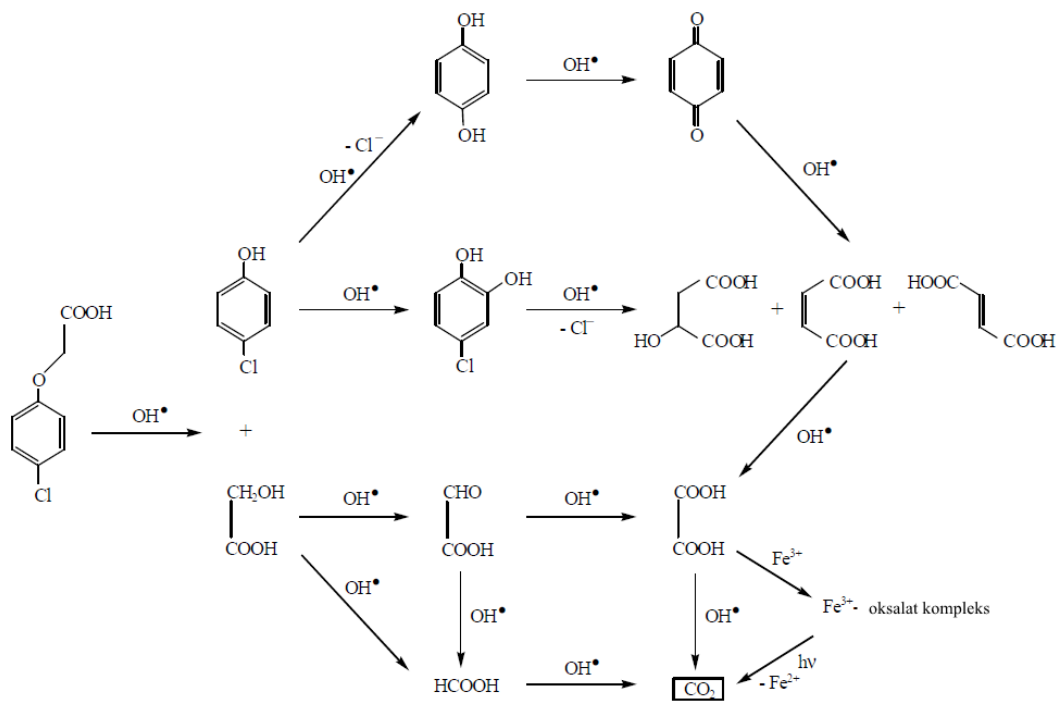
Slika 15. Mehanizma degradacije fenola $\cdot\text{OH}$ radikalom

Slika 16. Mehanizam degradacije fenola O_3

Degradacija fenola ozonom započinje interakcijom sa aromatičnim prstenom fenola takođe preko *orto*- ili *para*- položaja u odnosu na OH grupu, ali može doći i do reakcije 1,3 dipolarne cikloadicije mehanizmomkoji dovodi do direktnog otvaranja prstena i nastaju: *cis/cis* mukonska kiselina (9) ili aldehid (10) kojipodležu daljoj ozonizaciji (Chen i Pignatello, 1997). Takođe je potvrđeno da je pri korona pražnjenju iznad vode veća efikasnost uklanjanja fenola kada je gasna faza kiseonik u odnosu na argon i da su nastale vrste $\cdot OH$ i ozon uspešno degradirale fenol (Sato i saradnici, 2008). Nitrovani proizvodi degradacije fenola mogu nastati i u reakciji sa $NO_2\cdot$ ili $NO\cdot$ radikalima, azotnom ili azotastom kiselinom koji se generišu tokom pražnjenja ili razlaganjem peroksinitritne kiseline ($NO_2\cdot$ u kiseloj sredini). Nitrovanje započinje preko *orto* - ili *para*- položaja u odnosu na OH grupu.

Anodna oksidacija i elektro-Fenton se često koriste za degradaciju pesticida. Na primeru 4CPA – 4-hlorfenoksi sirćetne kiseline, koja je aktivna supstanca herbicida primenjen je nepodeljeni reakcioni sistem (galvanostatički uslovi, 100mA) sa Pt/ O_2 elektrodama u kiselom medijumu (pH 3). Efikasnost je praćena na osnovu TOC vrednosti. Mnogo bolji rezultati postignuti su primenom elektro-Fentona u odnosu na anodnu

oksidaciju. U ovom procesu H_2O_2 generisan na katodi po principu Fentonove reakcije reaguje sa medijumom u kome se nalaze fero (Fe^{2+}) joni i rezultuje intenzivnim generisanjem $\cdot\text{OH}$ radikala i efikasnom degradacijom zagađujuće supstance (Oturán i Brillas 2007). Predloženi mehanizam degradacije hidroksi radikalom dat je na slici 17 (Boye i saradnici, 2002).



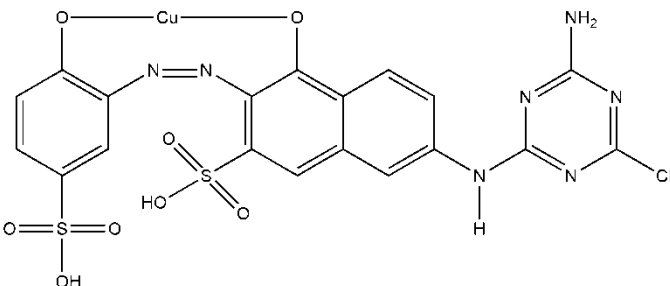
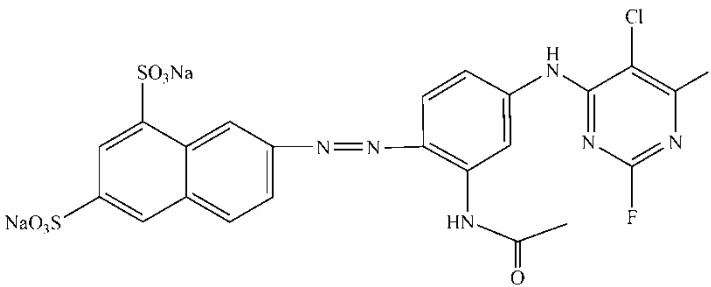
Slika 17. Degradacija 4CP, EAOP- ima

2.11.2 Sintetičke organske boje

Širom sveta preko 10.000 različitih reaktivnih boja se nalazi u komercijalnoj upotrebi. Prema strukturi, organske boje pripadaju različitim jedinjenjima i mogu se podeliti na: azo, karbonilne, ftalocijaninske, antrahinonske, indigoidne, sumporne, nitro boje, itd (Hunger 2003).

Azo boje čine najveći deo reaktivnih boja (50% - 70%), a prema broju –N=N– grupa u strukturi dele se na monoazo, diazo i triazo boje. To su komercijalne boje sa obimnom primenom u industriji. Dizajnirane su da budu rezistentne na znoj, sapun, vodu, svetlost i slabu biodegradaciju (Kariyajjanavar i saradnici, 2011).

Tabela 8. Reaktivne boje korišćene pri izradi doktorske disertacije

C.I. (<i>Color Index</i>) naziv boje Komercijalno ime CAS registracioni broj Hemijska priroda λ_{\max}	Hemijska struktura
C.I. Reactive Blue 52 Drimaren blue X-3LR CAS No.: 12225-63-7 Azo $\lambda_{\max} = 615 \text{ nm}$	
C.I. Reactive Yellow 125 Drimarene Gold Yellow K-2R CAS No.: 68155-62-4 Azo $\lambda_{\max} = 390 \text{ nm}$	

C.I. Reactive Green 15 Drimarene Green X 2BL CAS No.: 61969-07-1 Azo (formazan) bakar kompleks $\lambda_{\max} = 620 \text{ nm}$	<i>- nije pronađena</i>
---	-------------------------

Obimne količine efluenata tekstilne industrije koji mogu da sadrže od 30 % do 50 % inicijalno upotrebljene boje (Laasri i saradnici, 2007; Martínez-Huitile i Brillas 2009) često se ispuštaju u životnu sredinu (Guivarch i saradnici, 2013) bez prethodnog uklanjanja obojenosti. Tekstilna industrija koristi približno 21-337 m³ vode po toni proizvedenog tekstila. Prisustvo boje u vodi vidljivo je i pri veoma malim koncentracijama (Hai i saradnici, 2007). Ovo je više nego estetski problem kojim može narušiti primarnu produkciju kao i izazvati toksične efekte kod organizama u akvatičnim ekosistemima i kod ljudi (Rai i saradnici, 2005; Bandala i saradnici, 2008). Zato su hormonski, kancerogeni i mutageni efekti azo boja dobro dokumentovani (Zhou, 2009).

Poluživot (DT₅₀) reaktivnih boja u životnoj sredini može iznositi i do nekoliko godina. Posledice njihove transformacije mogu biti kancerogene i mutagene supstance, (aromatični amini, Hao i saradnici, 2000; Oliveira i saradnici, 2007), koje se dalje akumuliraju u organizmima kroz lance ishrane (Ozcan i saradnici, 2009). Pored organskih boja, otpadna voda tekstilne industrije odlikuje se visokom vrednošću HPK, prisustvom toksičnih teških metala kao što su: Cr, As, Cu, Zn, kao i velike količine soli (hlorida i rastvorenog silicijuma). Odnos BPK/HPK tekstilnih efluenata često iznosi oko 0.25, tj. pokazuje da sadrže veliku količinu nebiodegradabilne organske supstance (Al-Kdasi i saradnici, 2004).

Konvencionalne tehnike prečišćavanja vode zasnivaju se na: adsorpciji (aktivni ugalj, koagulacija, jonska izmena), dekolorizaciji oksidacijom i mikrobiološkoj degradaciji.

Pregled literature – degradacija organskih boja AOP-ima

Različite vrste električnog pražnjenja primenjene su za uklanjanje organskih boja u model sistemima i realnim uzorcima. Stepenn degradacije praćen je preko stepena dekolorizacije, jer je apsorpcioni spektar svake boje određen hemijskom strukturom hromoforne grupe u molekulu boje (npr: diazo grupa (N=N), karbonilna (-C=O), dvostruke veze C=C, C=N, N=O, ... itd). Postoje i grupe koje pojačavaju obojenost pored hromofore. Takve grupe same ne mogu da apsorbuju zračenje u vidljivom delu spektra, ali olakšavaju apsorpciju hromofora. Ove grupe se nazivaju auksohromne grupe (grčkiauxein-pojačavati): hidroksilna grupa (-OH) i aminonogrupe (-NH₂, -NHR, -NR₂, -NR'R'').

Najefikasniji mehanizam u degradaciji boje ostvaren je oksidativnim napadom [•]OH radikala, ozona ili peroksinitrita (Moussa i saradnici, 2007, Yan i saradnici, 2008; Minamitani i saradnici, 2008) u kiseloj sredini prisustvu UV svetlosti. Azo grupa zakačenaje najčešće za dva substituenta – derivate benzena ili naftalena. Oksidacijom se razlaže C-N= i N=N veza, pri čemu dolazi do dekolorizacije. Mehanizam degradacije najčešće započinje napadom [•]OH radikala na C atom koji nosi azo grupu. Interakcija ozona sa azo bojom je nešto manja nego sa [•]OH radikalima, ozon bolje interaguje sa aromatičnim jezgrom boje.

Proizvodi degradacije su najčešće: aromatični amini, naftohinoni ili fenolne supstance, i daljom oksidacijom nastaju alifatične i karboksilne kiseline (Magureanu i saradnici, 2008; Dojčinović i saradnici, 2011). Struktura boja takođe utiče na efikasnost degradacije [•]OH radikalima, ali i konfiguracija reaktora, materijal elektrode i uslovi tretmana (pritisak i temperature) tako da je nezahvalno porediti različite reaktore po efikasnosti.

Posebnu primenu degradaciji azo boja našle su elektrohemijske metode, kao ekonomski isplativa i efikasna tehnologija (Kariyajjanavar i saradnici, 2011). U tretmanu reaktivnih boja do sada je opisan veliki broj reakcionih sistema. Prema Connellisu (2008) materijal anoda igra važnu ulogu u degradaciji i mineralizaciji organskih supstanci, a do sada su mnoge anode i ispitane: aktivni ugljenik, staklasta ugljenična elektroda (*eng. glassy carbon*), grafitna, platinska, PbO₂ i metalni oksidi Ti, Ru, Ir, Sn ili Sb. Trenutno su aktulene BDD elektrode kao anode. Reakcioni sistem – elektrohemijska ćelija može biti podeljena i

nepodeljena, što ima uticaj na efikasnost struje u tretmanu derivata benzena ili aromatičnih struktura.

Glavne elektrohemijske metode za uklanjanje boja su: elektrokoagulacija, elektrohemijska oksidacija i indirektna elektro-oksidacija sa aktivnim hlorom. Obrada sa novim tehnikama kao što su AOP i EAOPi (elektro-Fenton, fotoelektro-Fenton i fotoelektrokataliza) je privukla veliku pažnju, ali kod ovih procesa je teže objasniti moguću elektrohemijsku redukciju. Tehnike AOP i EAOP se često koriste kao predtretman degradacije azo boja u otpadnim vodama. Cilj je da se smanji toksičnost i poveća biodegradabilnost proizvoda degradacije.

Rad sa trenutno publikovanim elektrohemijskim sistemima za degradaciju dat je u članku Martínez-Huitle i Brillas (2009), dok kao predtretman realnih efluenta tekstilne industrije detaljnije objašnjavaju Martínez-Huitle i saradnici,(2012), kao i Solano i saradnici (2013). Izdvojili bi rad Sirés i saradnici, (2008) sa četiri reaktivne boje (malahit zeleno, kristal violet,metilen zeleno, fast zeleno) u vodenom rastvoru, tretirane u nepodeljenoj ćeliji elektro-Fentonom.Kao anoda je korišćena cilindrična mreža Pt, a kao katoda grafit, uz kontinualno mešanje rastvora (elektrolit Na₂SO₄). Malahit zelena je izabrana kao model sistem i na njoj su optimizovani parametri degradacije i efikasnost struje. Dokazano je da sa dužinom tretmana opada efikasnost struje. Posmatrano kroz kinetiku degradacije, na samom početku ona je 100% i posle postepeno opada. Nakon 2 časa (u smeši 4 boje) postignut je pad HPK za 50 %, u narednih 8 časova on se popeo na 70%, a za 25 h - 96%.

Dekolorizaciju i mineralizaciju Azurne B pratio je poređenjem anodne oksidacije i elektro-Fentona Vargas i saradnici (2014). Kao najefikasnija anoda pokazala se BDD anoda u oba procesa dekolozacije. Proizvodi degradacije su kratki lanci karboksilnih kiselina, koji se teže oksiduju *OH radikalima, ali su biodegradabilni(Comninellis i saradnici, 2008).

Takođe, proizvodi degradacije otpadnih voda tekstilne industrije mogu biti toksičniji za životnu sredinu od polaznog molekula. Prema podacima Međunarodne agencije za istraživanje kancera (International Agency of Research for Cancer, IARC), cepanje azo veze dovodi do formiranja aromatičnih amina, koji povećavaju učestalost mutacije kod organizama (IARC 1993). Dobro mesto AOP-a i EAOP-a bila bi primena

nakon biološkog tretmana kako bi voda mogla da se po zakonski utvrđenim GVE ispusti u životnu sredinu (Comninellis, 2008; Zhu i saradnici, 2011).

2.11.3 Ibuprofen

Farmaceutski proizvodi su neophodni u svakodnevnom životu ljudi, kako za medicinske potrebe, tako i za veterinarske. Naravno obimna i nekontrolisana upotreba mnogih dovela je da brojnih negativnih posledica u životnoj sredini (Perez i Barcelo 2007; Emmanuel i saradnici, 2009; Santos i saradnici, 2010, López-Serna i saradnici, 2013). Glavni izvori emisije su bolnice, poljoprivredna dobra i veterinarski zavodi (Orias i Perrodin, 2013).

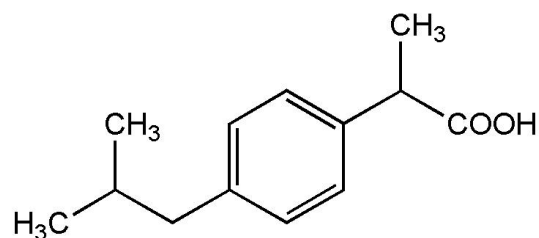
Bolničke otpadne vode najčešće se mešaju sa komunalnim otpadnim vodama i prerađuju konvencionalnim metodama za pečišćavanje vode. Na ovaj način se teško uklanjaju aktivne supstance, koje potom odlaze u vodotokove (Weissbrodt i saradnici, 2009). Tako kompleksne smeše farmaceutskih rezidua koje dospevaju u prirodu pored ekskretovanih nepromenjenih formi lekova i njihovih metabolita mogu sadržati i supstance za dijagnostiku, dezinfekciona sredstva, inhibitore korozije, kao i druge zagađujuće supstance od kojih je većina postojana (Sim i saradnici, 2011; Kovalova i saradnici, 2012).

U akvatičnim ekosistemima farmaceutski reziduidetektovani su u veoma niskim koncentracijama (ng/L do µg/L) (Kosjek i saradnici, 2005), ali zbog specifične strukture, biološke aktivnosti (Kreuzinger i saradnici, 2004), potencijalne bioakumulacije i dugotrajne izloženost organizama, one predstavljaju rizik po životnu sredinu (Rohweder, 2003).

Uočeno je da kontraceptivna sredstva utiču na odnos polova u populaciji riba, asamim tim ina reprodukciju i druge složene odnose u ekosistemu (McAvoy, 2008), dok niske koncentracije antibiotika omogućavaju razvijanje rezistentnosti mnogih sojeva (Korzeniewska i saradnici, 2013);

Ibuprofen (2-(4-izobutil-fenil)propionska kiselina) najrasprostranjeniji član grupe antiinflamatornih lekova (NSAID), sa analgetičkim i antipiretičkim svojstvima ima obimnu primenu u medicini i veterini. Propisana terapijska doza ovog leka često iznosi od 200 –

3200 mg dnevno za lečenje groznice, umerenih bolova, glavobolje, mišićnih bolova, artritisa, menstrualnih grčeva, prehlade, itd.



Slika 18. Molekulska struktura ibuprofena

Tabela 9. Fizičko – hemijska svojstva ibuprofena Ambuludi i saradnici, (2013)

Ibuprofen	Fizičko – hemijska svojstva
CAS broj	15687-27-1
Molekulska formula	$C_{13}H_{18}O_2$
Molarna masa (g/mol)	206.2808
Tačka topljenja ($^{\circ}C$)	74-77
Rastvorljivost u vodi (mg/L, $25^{\circ}C$)	21
Log Kov	3.44
pKa (voda, $20^{\circ}C$)	4.52
Napon pare (Pa)	2.47×10^{-2}
Henrijeva konstanta (atm/ m^3 mol)	1.5×10^{-7}

Godišnje se proizvede i do nekoliko kilotona ibuprofena. Kada prođe kroz organizam ibuprofen napušta telo u svom neizmenjenom obliku - 15% od terapijske doze. Znatno veći procenat početne koncentracije izlučuje se u obliku metabolita hidroksi-ibuprofen 26% i karboksi-ibuprofen 43% (Tauxe-Wuersch i saradnici, 2005).

Najobimniji izvor i put distribucije ibuprofena u prirodi svakako predstavljaju nepravilno ispušteni komunalni efluenti i nepropisno odložen čvrst medicinski otpad.

Rastvorljivost ibuprofena u vodi je ograničena, a procesi fotodegradacije i biodegradacije su slabi. Očekuje se da dođe do adsorpcije na čvrst suspendovani materijal ili sediment. Vrednost DT_{50} ibuprofena u vodi iznosi 20 dana (primer Greifensee jezero, Švajcarska, <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>), a na pH 5 do 9 ibuprofen se nalazi u anjonskom obliku.

Toksikološki efekat metabolita ibuprofena (ljudskog ili mikrobijalnog porekla) ispoljava se na reprodukciji akvatičnih organizama (Flippin i saradnici, 2007), ali i procesima fotosinteze algi i biljaka (Pomati i saradnici, 2004):

za *Vibrio fischeri* EC_{50} (15 min) – 16.49 mg/L (11.26 -24.16)

ECOSAR (Ortiz de García i saradnici, 2014)

- za ribe LC_{50} (96h) – 42.04 mg/L
- za dafnije EC_{50} (48h) – 30.90 mg/L
- za zelene alge EC_{50} (96h) – 31.95 mg/L.

Umesto na listu prioritetnih supstanci (2014. godine) nesteroidni antiinflamatorni lekovi su dodati na listu supstanci koje se prate (bio i hemijski monitoring) do 2018. godine, kada će njihov status ponovo biti procenjen.

Klasični fizičko-hemijski tretmani slabo uklanjaju ibuprofen iz vode (Winkleri saradnici, 2001), a efikasnost mnogih bioloških tretmana zavisi od temperature, protoka vazduha i retencionog vremena otpadne vode u sedimentacionim rezervoarima (Tauxe-Wuersch i saradnici, 2005). Značajne koncentracije ibuprofena (432 - 1105 ng /L) su pronađene u površinskim vodotocima nizvodno od postrojenja za preradu vode (Jonathani saradnici, 2006; Roberts i Thomas 2006). Dolazimo do zaključka da oni nisu efikasni i da je potrebno razviti nove degradacione procese radi uklanjanja ibuprofena i njegovih metabolita iz otpadnih voda, tj. odgovarajući predtretman ispuštanju u prirodne vodotokove (Oller i saradnici, 2011).

Pregled literature – degradacija AOP-ima

U nekoliko revija je detaljno opisana primena različitih AOP-a u degradaciji farmaceutskih rezidua kao što su: ozonoliza, hemijski AOP-i (O_3/H_2O_2 , Fentonov reagens, ultrazvuk i WET), fotohemijski AOP-i (O_3/UV , H_2O_2/UV , foto-Fenton($Fe^{2+}/H_2O_2/UV$)) i heterogeni ili homogeni fotokatalizatori; sami ili u kombinaciji sa klasičnim tretmanom vode. Tretirani su sintetički ili realni uzorci vode sa supstancom (Esplugas i saradnici, 2007; Ikehata i saradnici, 2006; Klamerth i saradnici, 2010;), efluenti hemijskih ili farmaceutskih industrija (Blocher, 2007), komunalne otpadne vode (Suárez i saradnici, 2008) i voda za piće (Rahman i saradnici, 2009). Dobru efikasnost u uklanjanju farmaceutskih rezidua postigao je Magureanu i saradnici, (2010). On je tretirao visoku koncentraciju (25–150 mg/ L) pentoksifilina (Trental) u česmenkoj vodi primenom netermalne plazme generisane dielektričnim barijernim pražnjenjem u impulsnom režimu.

Primenjeni AOP- i u degradaciji ibuprofena su: ozonizacija (Quero-Pastor i saradnici, 2014), kavitacija (sonoliza) (Méndez-Arriaga i saradnici, 2008), impulsna radioliza (Illési saradnici, 2013), Fenton i foto-Fenton (Méndez-Arriaga i saradnici, 2010; Sabri i saradnici, 2012). Degradacija početne koncentracije ibuprofena je bila efikasna, naročito u procesima na bazi Fentonovog reagensa i UV svetlosti, ali otvaranje samog prstena je bilo slabo i nije postignuto značajnije smanjenje ekotoksičnosti.

Za razliku od ostalih AOP-a mali broj radova opisuje efikasnost EAOP-a, kao što su anodna oksidacija, elektro-Fenton ili fotoelektro-Fenton u degradaciji farmaceutskih rezidua (Garrido i saradnici, 2007; Brillas i saradnici, 2008, 2009; Klavarioti i saradnici, 2009). EAOP-i imaju ulogu u neutralizaciji mnogih aktivnih supstanci, ali i dezinfekciji bolničkih otpadnih voda zahvaljujući oksidujućoj moći $\cdot OH$ radikala. U degradaciji antibaktericida i antimikotika u različitim elektro-Fenton sistemima sa Pt ili BDD anodama, naročito u slučaju triklozana uspeh je zabeležio Sirés i saradnici (2007). Anodnu oksidaciju i elektro-Fenton u degradaciji antibiotika familije sulfoamida poredio je Dirany i saradnici, (2010) i zaključio da su krajnji proizvodi obe degradacije bili glioksalne i oksalne kiseline koje su otporne na dalju oksidaciju. U slučaju nesteroidnih antiinflamatornih lekova (NSAIL) detaljan pregled EAOP-a u njihovoj degradaciji uradio je Feng (2013).

On ističe da je anodna oksidacija u nepodeljnoj ćeliji tehnologija koja obećava u degradaciji NSAIL - a i ističe prednost BDD elektrode. Degradaciju ibuprofena elektro-Fentonom uspešno je izveo Skoumal i saradnici (2009), dok su se za degradaciju beta-blokatora pokazali kao efikasni elektro-Fenton i fotoelektro-Fenton (Isarain-Chavez i saradnici, 2011).

Naravno sve studije su rađene sa koncentracijama većim nego u prirodi i buduća istraživanja zahtevaju realne uzorke vode.

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1 Materijali

Primenom različitih AOP-a ispitana je efikasnost degradacije i toksičnost proizvoda degradacije sledećih supstanci:

- Komercijalno dostupnog 4-hlorofenola(4CP, $\geq 99\%$, Sigma Aldrich, USA), koji je korišćen bez daljeg prečišćavanja. Rastvor 4CP, početne koncentracije od 100 mg/L pripremljen je rastvaranjem 4CP u dejonizovanoj vodi ($\kappa = 1.0$ do $1.5 \mu\text{S/cm}$).

- Tri reaktivne bojeplava - Reactive Blue 52 (RB 52, CAS No.: 12225-63-7, $\lambda_{\text{max}} = 615$ nm), žuta- Reactive Yellow 125 (RY 125, CAS No.: 68155-62-4, $\lambda_{\text{max}} = 390$ nm) i zelena- Reactive Green 15 (RG15, CAS No.: 61969-07-1, $\lambda_{\text{max}} = 620$ nm), tehničke čistoće proizvođača Clariant (Švajcarska) iz originalnih pakovanja bez prethodnog prečišćavanja. Molekulska struktura i karakteristike ovih boja prikazane su u poglavlju 2 (2.11.2, str. 90). Koncentracija korišćenih boja u rastvorabila je od 60 do 1000 mg/L. Svi rastvori su pripremljeni u dejonizovanoj vodi ($\kappa = 1.0$ i $1.5 \mu\text{S/cm}$), izuzev rastvora za HPLC gde je korišćena HPLC voda firme Sigma Aldrich.

- Ibuprofen (Sigma Aldrich, USA), čija je koncentracija u eksperimentima iznosila 60 mg/L, rastvoren je u bidestilovanoj vodi ($\kappa = 0,05 \mu\text{S/cm}$), tako što je pH prvo podešen na 12, a zatim spušten sa 1-2 kapi koncentrovane HCl na vrednost između 7 i 8 ili 3 kada je korišćen homogeni katalizator u sistemu sa Fentonovom reakcijom ili DBD reaktoru.

U eksperimentalnim postavkama i analizi uzoraka upotrebljene su i sledeće supstance:

NaOH i HCl ili H_2SO_4 (Carlo Erba, Italy, *p.a.*) su korišćeni za podešavanje pH vrednosti rastvora.

Reakcije oksidacije u rastvoru su gašene 5 minuta nakon tretmana (DBD reaktor) pomoću kalijum-metabisulfita $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$ ($\geq 98\%$, Sigma Aldrich) dodavanjem 0.5g ove supstance u 50 mL uzorka ili su uzorci ostavljeni 24 h u mraku na temperaturi od 4°C .

Natrijum-sulfat, Na_2SO_4 (Merck, Nemačka, *p.a.*) je korišćen u elektrohemijskim eksperimentima kao pomoćni elektrolit.

Amonijum-acetat ($C_2H_7NO_2$, Sigma Aldrich, HPLC grade), acetonitril (CH_3CN , Sigma Aldrich, HPLC grade; Merck, MS grade), metanol (CH_3OH , (Sigma Aldrich, p.a.) i mravlja kiselina ($HCOOH$, Fluka analytical, HPLC grade; Merck, MS grade) su korišćeni za HPLC i LC-MS analizu.

Natrijum-hlorid ($NaCl$, Sigma Aldrich p.a.) je korišćen za podešavanje osmotskog pritiska neposredno pre testova toksičnosti. Referentna supstanca u testovima toksičnosti je bio kalijum-dihromat ($K_2Cr_2O_7$; Sigma Aldrich, analytical grade).

Morska so (Reef Salt, Aqua Medic - Nemačka) je korišćena za izleganje larvi *A.salina* iz cisti (Dajana Pet, Češka).

Katalaza, korišćena za uklanjanje rezidualne koncentracije vodonik-peroksida, dobijena je iz *Aspergillus niger* - poklon dr. Nikole Lončara, Inovacioni centar, Hemijski fakultet Univerzitet u Beogradu.

Sve ostale hemikalije koje su korišćene bile su analitičke čistoće.

3.1.1 Homogeni katalizatori

Kao homogeni katalizatori u reakcijama degradacije 4CP ili IBP u DBD reaktoru korišćeni su vodonik-peroksid (H_2O_2 , 30% m/m Sigma Aldrich, USA) i/ili gvožđe(II)-sulfat heptahidrat ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$, Merck, Nemačka, p.a.), čije su koncentracije prethodno optimizovane u radovima Dojčinovići saradnici, 2008 i 2011 godine, kao i Jovići saradnici 2013 i 2014 godine).

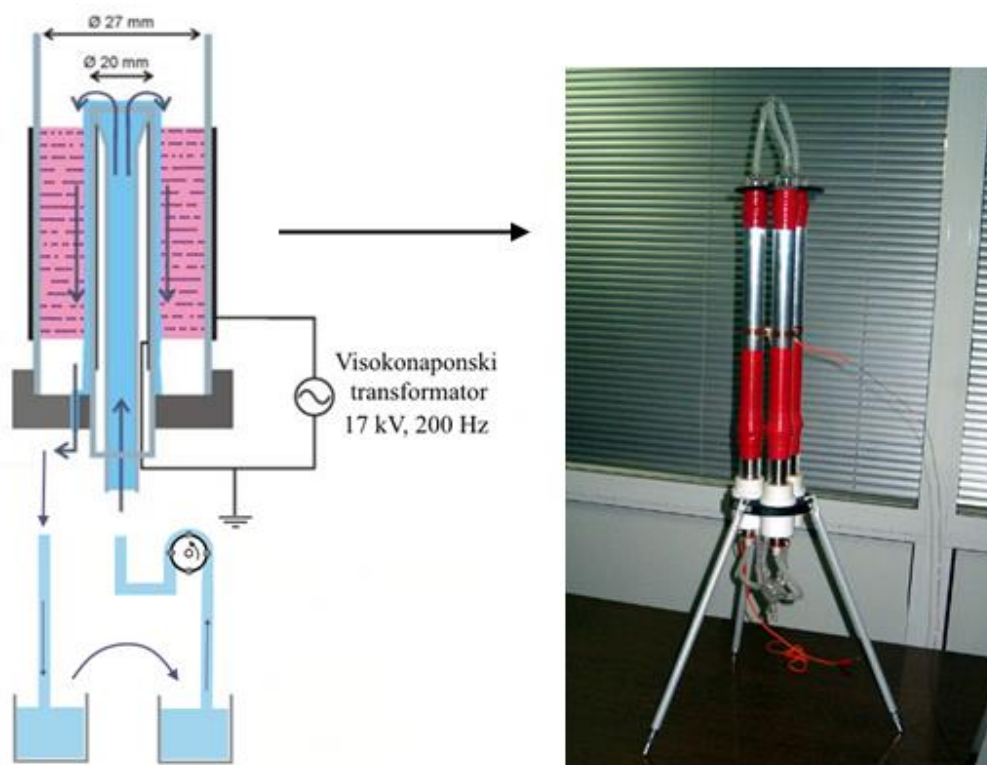
3.2 Degradacioni procesi

3.2.1 DBD reaktori

U toku izrade ove doktorske disertacije korišćena su dva tipa DBD reaktora, prvi konstruisan i detaljno opisan u radu Dojčinović i saradnici, 2011 godine, a drugi dizajniran i konstruisan od strane Kovačević i saradnici, 2010 godine.

Oba reaktora su cilindrične konfiguracije, a sastoje se od koncentrično postavljenih elektroda (dve) i bar jednog dielektrika koji je postavljen između njih (Slika 19 i 20).

Reaktori su konstruisani kao protočni, jer se rastvor kroz unutrašnju cev kontinuirano dovodi pumpom do vrha reaktora, odakle se u obliku tankog vodenog sloja sliva preko unutrašnje elektrode i uzorkuje ili ponovo ulazi u sistem. Degradacija različitih organskih zagađujućih supstanci primenom DBD pražnjenja u reaktoru sa 3 paralelno spojena DBD reaktora je detaljno opisana u disertaciji i publikaciji Dojčinović i saradnici 2011 godine.



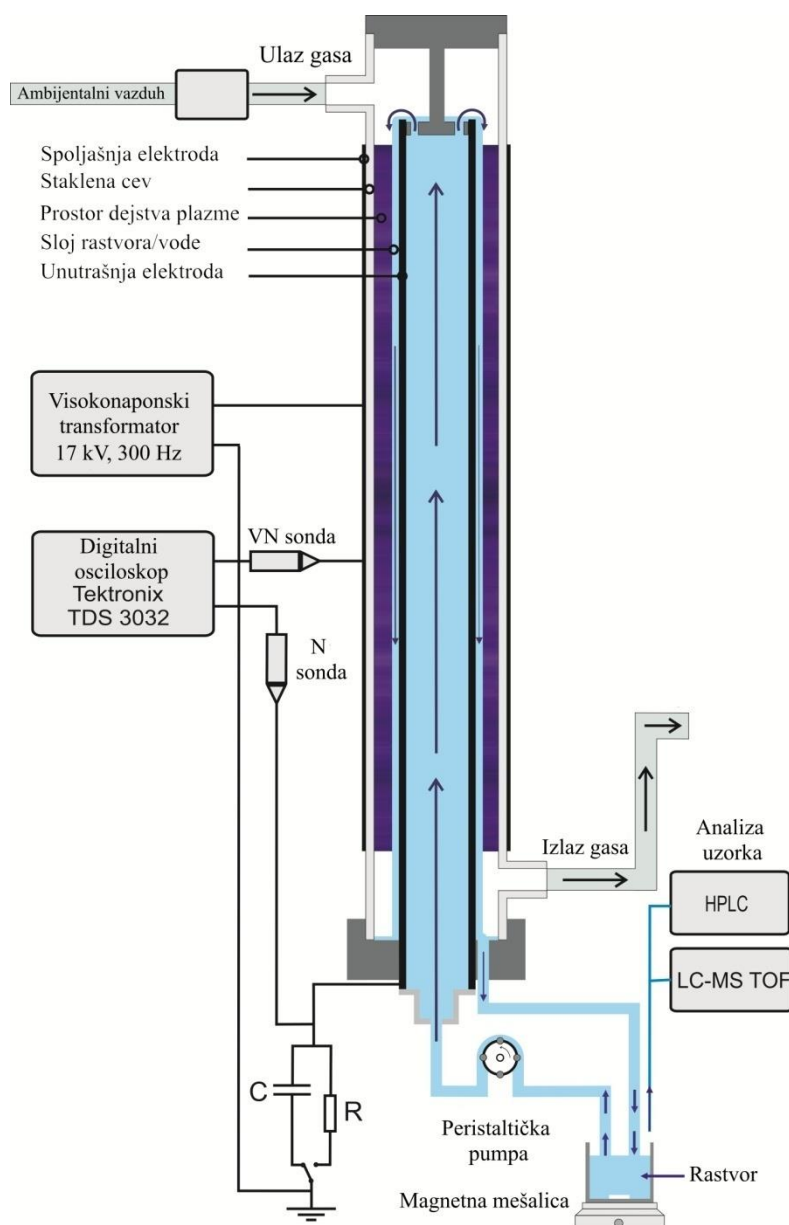
Slika 19. a) Šema 1 koaksijalnog DBD reaktora, čije su dimenzije: unutrašnja staklena barijera (Ø 20,0 mm, dužina 500 mm, debljina 1,5 mm); spoljašnja staklena barijera (Ø 27,0 mm, dužina 600 mm, debljina 1,5 mm); spoljašnja metalna elektroda u

vidu aluminijske folije (prečnik 30 mm, dužina 400 mm) ; b) Fotografija tri paralelno vezana DBD reaktora

Prvi tip DBD reaktora korišćen u ekperimentima, napravljen je od Pirex stakla. Spoljašnja elektroda je napravljena od aluminijske folije i nalazi se sa spoljašnje strane staklene cevi. Unutrašnja elektroda je stakleni cilindar, koji je posrebn sa unutrašnje strane (Slika 19a). Barijerno pražnjenje se formira između unutrašnjeg i spoljašnjeg stakla ove dve koaksijalne cevi. Tretirana voda se skupljala u recipijentni sud na dnu reaktora. Kao izvor struje korišćen je visokonaponski transformator koji je povezan sa invertorom frekvencije. Pražnjenje je generisano u gasu između stakla i vodenog sloja na rastojanju od 3,5 mm primenom napona od 17 kV, na frekvenciji od 200 Hz i pri snazi ~ 50W. Ukupni protok kroz tri paralelno povezane cevi je iznosio 210 mL/min. Tretirani rastvor je recirkulisan više puta, ali nikada nije bio pomešan sa rastvorom koji je tretiran u prethodnom prolazu. Gustina energije koja se unese pri jednom prolasku rastvora kroz reaktor je iznosila 45 kJ/L.

U toku izrade ove disertacije u DBD reaktoru (Dojčinović i saradnici, 2011godine) tretirano je 2 L rastvora *para* -hlorfenola (koncentracije 100 ppm). U sistemu, kako je rastvor tokom tretmana više puta (osam) recirkulisan, tako se uvećavala i gustina unete energije (360kJ/L, osmi prolaz) u sistemu. Alikvot zapremine od 3 mL je uzorkovan posle svakog prolazaza HPLC analizu, dok je za preliminarno ispitivanje ekotoksičnosti upotrebljen rastvor posle osmog prolaza kroz reaktor. Nakon preliminarnih ekotoksikoloških rezultata eksperiment je ponovljen tako što je vreme tretmana produženo i ponovo uzorkovano po 3 mL za HPLC analizu, kao i po 120 mL za testove toksičnosti nakon prvog, petog i desetog prolaza.

Koncentracija H₂O₂ upotrebljena u eksperimentalnoj postavci za degradaciju 4CP bila je 20 mmol/L, a dodata je rastvoru pre izlaganja plazmi u reaktoru. Gvožđe (Fe²⁺) u obliku soli je rastvoreno u koncentraciji od 5 mg/L. Početna vrednost pH podešena je na 9,00 sa 0,1 M NaOH, sa izuzetkom 4CP/Fe²⁺/DBD, gde je podešena na 2,50 sa 0,1 M H₂SO₄.



Slika 20. Koaksijalni DBD reaktor

U slučaju drugog DBD reaktora (Slika 20) spoljašnja elektroda je napravljena od inoks mreže, dužine 380 mm i obmotana oko staklene cevi (kvarc). Unutrašnji dijаметar cevi je 26 mm, a dužina 500 mm. Konfiguracija elektrode je fiksirana i centrirana pomoću plastičnih držača i posebno dizajniranog poklopca. Unutrašnja elektroda je napravljena od nerđajućeg čelika, sa spoljašnjim dijametrom od 20 mm i dužinom od 500 mm. Kao izvor struje korišćen je visokonaponski transformator koji je povezan sa invertorom frekvencije.

Tokom tretmana pražnjenje je generisano primenom napona od 17 kV i frekvencije od 300 Hz na spoljašnju elektrodu, dok je unutrašnja elektroda uzemljena neindukovanim otpornikom od 100 Ω ili kondenzatorom od 470 nF. Filamentozno barijerno pražnjenje formirano je između unutrašnje metalne elektrode i staklene cevi u međuprostoru širine 3 mm. Električni parametri supraćeni digitalnim osciloskopom Tektronix TDS 3032 (300 MHz širina trake, 2 G uzorka/s), kao i sa visokonaponskom sondom Tektronix P6015A.

Stabilnost napona i signala struje praćena je preko uzemljene elektrode koja je redno vezana sa otpornikom. Ukupni naboj meren je kondenzatorom, redno vezanim sa uzemljenom elektrodom. Grafik odnosa napona i naboja korišćen je kako bi se odredila snaga pražnjenja. U svakom eksperimentu snaga pražnjenja ovog sistema bila je 65 W (vodeni rastvor). Svi eksperimenti su urađeni pri atmosferskom pritisku, sobnoj temperaturi i protoku vazduha kroz međuelektrodni prostor od 5 L/min. Rastvor je peristaltičkom pumpom potisnut kroz centralnu cev i sa vrha reaktora prelivao se preko unutrašnje elektrode i kroz otvor na držaču (u dnu reaktora) sakupljao u otvoreni stakleni sud (čaša).

U degradaciji ibuprofena korišćen je ovaj tip reaktora i postavljena su dva sistema degradacije :

1) Tretman DBD, rastvor ibuprofena (60 mg/L) je pripremljen u bidestilovanoj vodi i pH je podešen na 12 sa NaOH, a potompomoću 0,1 M HCl (Carlo Erba, Italy, *p.a*) podešen na vrednost između 7 i 8.

2) Tretman DBD/Fe²⁺, rastvor ibuprofena je pripremljen na isti način, ali je pH vrednost podešena na 3 neposredno pre dodavanja homogenog katalizatora (Fe²⁺). Vrednost pH rastvora je podešena pomoću 0,1 M HCl (Carlo Erba, Italy, *p.a*) na pH 3. Koncentracija katalizatora je bila 5 mg/L (DBD/Fe²⁺), jer je prethodno dokazana efikasnost degradacije zagađujućih supstanci pri ovoj koncentraciji u radovima Jović saradnici (2011).

Gvožđe (Fe^{3+}) je iz uzoraka uklonjeno dodatkom par kapi 25% NH_4OH (pH 9). Svi uzorci su posle toga centrifugirani 10 minuta na 2000 obrtaja, supernatant je filtriran kroz PTFE ($0.45 \mu\text{m}$, Supelco Bellefonte, USA), a zatim je rastvor analiziran pomoću HPLC-a.

U oba slučaja rastvor inicijalne zapremine od 350 mL je recirkulisan kroz sistem (protok od 125 mL/min) i uzorkovan (3 mL) u sledećim vremenskim intervalima : 1, 3, 5, 7, 10, 12 i 15 min. Radi postizanja homogenog efekta u rastvoru, sud je bio postavljen na magnetnu mešalicu. Nakon 15 min tretmana preostali rastvor je zadržan za testove toksičnosti.

U slučaju DBD/ Fe^{2+} sistema gvožđe (Fe^{3+}) je uklonjeno dodatkom par kapi NH_4OH i centrifugirano pomoću Tehnica, Zeleznik LC - 320 (Slovenija) na 2000 obrtaja u trajanju od 10 min. Dobijeni supernatant je odliven i korišćen u ekotoksikološkim testovima.

3.2.2 Specifična gustina energije - SED

Snaga koja se unosi u bilo koji od reaktora je opisana kao specifična gustina energije (*eng. specific energy density* - SED) i izabrana kao nezavisna varijabla u cilju poređenja efikasnosti degradacije plazma tretmana. SED je definisana kao vrednost koja se dobija kada se snaga pražnjenja подели sa protokom vodenog rastvora i izračunava se jednačinom:

$$SED = \frac{P \cdot t}{V} \quad [J/L] \quad (32)$$

gde je P snaga pražnjenja, t – vreme tretmana, a V zapremina tretiranog rastvora u pražnjenju. Vrednost SED- a, posle prvog minuta tretmana korigovana je pri svakom sledećem uzorkovanju, jer se zapremina uzorka smanjivala prilikom uzorkovanja.

3.2.3 Fentonov reagens

Oksidacija Fentonovim reagensom je rađena u bač reaktoru (borosilikatno staklo) na sobnoj temperaturi i uz kontinualno mešanje. Rastvor ibuprofena (60 mg/L) je pripremljen sa bidestilovanom vodom, podešavanjem vrednosti pH na 12, potom spuštanjem vrednosti pH na 3 sa H₂SO₄. Prema literaturi pH 3 je optimalan za promociju [•]OH radikala nakon dodatka vodonik-peroksida (Neyens, Baeyens, 2003). U svakom eksperimentu tretirana zapremina rastvora ibuprofena je bila 400 mL. Koncentracija dodatog Fe²⁺ je bila 25.2 mg/L, a koncentracija H₂O₂ je bila 306 mg/L. Ove vrednosti su odabrane prema literaturi kao i prethodnim analizama, gde se pokazalo da je efikasnost Fentonovog reagensa veća u višku vodonik-peroksida (Jović i saradnici 2013; Eslamii saradnici 2013), ali i tokom izrade disertacije kada su ispitani sledeći odnosi Fe²⁺ i H₂O₂:

2.81 mg/L: 3.74 mg/L,

2.81 mg/L: 170 mg/L i

25.20 mg/L: 306 mg/L

Alikvoti (3 mL) su periodično uzorkovani iz rastvora nakon određenog vremena tretmana od 1, 3, 5, 7, 10, 12 i 15 minuta. Reakcija je zaustavljena dodavanjem nekoliko kapi 25% NH₄OH, kako bi došlo do taloženja Fe³⁺ hidroksida (pH = 9). Svi uzorci su posle toga centrifugirani 10 minuta na 2000 obrtaja, supernatant je filtriran kroz PTFE (0.45 μm, Supelco Bellefonte, USA), a zatim je rastvor analiziran pomoću HPLC-a.

Nakon tretmana od 15 min iz preostalog rastvora višak H₂O₂ je uklonjen katalazom, a gvožđe (Fe³⁺) je uklonjeno na način opisan u slučaju DBD/Fe²⁺ sistema. Dobijeni supernatant je korišćen u ekotoksikološkim testovima.

3.2.4 Elektrohemijska degradacija(EAOP)– boja i ibuprofena

Eksperimenti su urađeni u otvorenoj, termostatiranoj (25°C), nepodeljenoj, dvoelektrodnoj ćeliji cilindričnog oblika. Homogena priroda rastvora je održavana mešalicom (*Speed safe[™] Hanna*). Natrijum-sulfat (0,1 M Na₂SO₄) je korišćen kao osnovni elektrolit. Elektrode od cirkonijuma, paladijuma ili grafita su korišćene kao katode, dok je anoda bila Fišerova platinska elektroda. Tretirana zapremina uzorka je u svim eksperimentima bila 340 mL. Efektivna površina svake katoda je bila 1,80 cm², a anode 25 cm².

Elektrohemijska degradacija boja je rađena pri galvanostatičkim uslovima (napon : 4,5; 6 ili 12V) ili konstantnoj jačini struje (50, 100, 200 mA). U radu je korišćen kao izvor jednosmerne struje PS3010 (0 – 32 V, 0 – 10 A) E – HQ[™]. Tokom optimizovanja procesa degradacija, praćena je promena apsorbance UV-VIS tehnikom, a potom su na svakih 10 min uzimani alikvoti (2mL) i analizirani na HPLC-u.

U slučaju ibuprofena svi eksperimenti su izvođeni pri konstantnoj jačini jednosmerne struje od (50, 100, 200 mA), pri različitim vrednostima pH 3, 7 i 9i uz konstantnu gustinu struje (**j**) sa izvora jednosmerne struje PS3010 (0-32V, 0-10 A) E-HQ[™].

3.3 Efikasnost degradacije i metode analize

3.3.1 Dekolorizacija boja UV-VIS spektrofotometrijom

Efikasnost plazma reaktora za dekolozaciju tri reaktivne azo boje: plava (eng. *Reactive Blue 52*), žuta (eng. *Reactive Yellow 125*) i zelena (eng. *Reactive Green 15*) je testirana u triplikatu. Svaki rastvor boje je pripremljen rastvaranjem komercijalne boje u dejonizovanoj vodi. Rastvori boje susadržali koncentraciju boje od 60 do 1000 mg/L, a pH rastvora je bio ili nativni ili podešen na vrednost 3 ili 9.

Efikasnost dekolozacije izražena je kao procenat smanjenja apsorbance i računala se po jednačini:

$$\text{Dekolorizacija (\%)} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100 \quad (33)$$

gde je A_0 apsorbancia na talasnoj dužini (λ_{max}) svetlosti kada je apsorbancia početnog rastvora boje maksimalna, a A je apsorbancia na λ_{max} rastvora boje nakon tretiranja plazmom. Spektrofotometrijska određivanja izvedena su na spektrofotometru UV-Visible Cintra 10 spectrometer (GBC Scientific Equipment Pty Ltd., Australija) sa kvarcnim kivetama kod kojih je dužina optičkog puta 1 cm, kako bi se pratila promena apsorbance tokom elektrolize.

3.3.2 Određivanje sadržaja H₂O₂ UV-VIS spektrofotometrijom

Koncentracija vodonik-peroksida je određena spektrofotometrijski pomoću reakcije H₂O₂ sa titanil jonom pri kojoj se razvija žuta boja. Apsorbancia rastvora je merena na 407 nm, a boja za spektrofotometrijsko merenje je razvijena mešanjem tretirane vode i reagensa titanil-sulfata u odnosu 2 mL:1mL. Za kalibraciju je korišćen H₂O₂ (30% m/m, Sigma Aldrich). Reagens titanil-sulfat je pravljen modifikovanom metodom koju je originalno opisao Eisenberg (1943 godine), a modifikacija je opisana u disertaciji Biljane P Dojčinović (Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2012).

3.3.3 HPLC analiza

Tečna hromatografija visoke performanse (HPLC, eng. *HighPerformance Liquid Chromatography*) u kombinaciji sa DAD (eng. *Diode Array Detector*) ili UV detektorom je upotrebljena kako bi se pratili proizvodi degradacije.

Promena koncentracije 4-hlorfenola je praćena primenom Waters 1525 Binary HPLC sistemom sa UV detektorom (Waters 2487, Dual λ Absorbance Detector). Kolona, korišćena pri analizi je bila Symetry[®] C18 Waters (150 mm x 4,6 mm, 5 μ m). Zapremina injektovanog uzorka je iznosila 10 μ L, dok je protok mobilne faze iznosio 1,0 mL/min.

Uzorci su eluirani binarnom smešom acetonitrila i vode (HPLC grade, Sigma Aldrich). Gradijent mobilne fazese linearno povećavao od 0 do 20 min sa 30% na 80 % acetonitrila. Talasna dužina detektoraje bila fiksirana na 280 nm. Pikovi sa hromatograma identifikovani su poređenjem sa standardom za 4-hlorfenol ($t_r=7,62$ min). Svi uzorci su neposredno pre analize filtrirani pomoću PTFE filtera (25 mm, pore size 0,45 μ m) proizvođača Supelco (Bellefonte, PA, USA).

Hromatografske analize efikasnosti i kinetike degradacije svih drugih supstanci osim 4-hlorfenola urađene su na instrumentu Dionex UltiMate 3000 sa DAD detektorom. Obrada podataka je rađena pomoću softvera Chromeleon v6.8 (*ThermoFisher Scientific, Bremen, Germany*).

Efikasnost degradacije boje posle elektrolize je praćena HPLC/DAD tehnikom. Analiza boja je urađena za 50% kao i za najviši postignuti procenat dekolorizacije (~100%) boje. Uzorci suneposredno pre HPLC – a koncentrovani sa SPE (eng. *Solid Phase Extraction*) ketridžima firme Phenomenex (Strata-X, 33 μ , 30mg/1mL). Kertridži su prvo kondicionirani metanolom, ekvilibrisani sa bidestilovanom vodom i nakon ovoga nanesen je 1mL uzorka. Uzorak je eluiran metanolom, koji je sadržao kap amonijaka. U HPLC analizi je korišćena *Hypersil Gold C8* (150mm x 3mm, 3 μ m, Thermo Scientific) kolona. Uslovi pri analizi su se razlikovali između RB52 i drugih boja (RY125 i RG 15).

U slučaju RB52 - temperatura radne kolone je bila 25°C, a količina injektovanog uzorka je bila 20 μ L. Vreme eluiranja je trajalo 15 minuta, dok je brzina protoka bila 0,800 mL/min. Kao eluent upotrebljena je smeša metanola (komponenta A) i amonijum-acetata – 5mmol (komponenta B) u gradijentnom sistemu : 70% - 45 % B 10 min, a zatim 45 % B 1 min. Na DAD detektoru je podešena talasna dužina detekcije na :615 nm (odgovara

talasnoj dužini maksimalne apsorpcije plave boje RB52), 254nm (karakteristična apsorpcija anilinjum jona) i 220 nm (apsorpcija karboksilnih kiselina).

U slučaju RY 125 i RG 15 – radna temperatura kolone je podešena na 40°C, a količina injektovanog uzorka je bila 20 µL. Vreme eluiranja iznosilo je 18 min, dok je protok bio 1 mL/min. Mobilna faza za ove boje je bila smeša amonijum – acetata (10 mmol, pH 5) kao komponente A i acetonitrila kao komponente B. Gradijentno eluiranje bilo je 5%-90% B tokom 15 min i 90% B tokom 3 min. Detektor je bio podešen na sledeće talasne dužine 615, 390, 254 i 217 nm.

U slučaju ibuprofena mobilna faza se sastojala od komponente : A – voda sa 0,1% mravlje kiseline i komponente B- acetonitrila. Korišćena je analitička kolona *Hypersil Gold aQ C18* (150 mm x 3 mm, 3 µm, Thermo Scientific) pri radnoj temperaturi od 40°C. Injektovana zapremina uzorka je bila 20 µL. Brzina protoka mobilne faze je bila 0,4 mL/min sa gradijentnim režimom eluiranja: tokom 20 min 20% – 75% B, a zatim 2 min 75% B. Detektor je podešen na sledeće talasne dužine :210, 220, 254 i 260 nm.

3.4 Identifikacija proizvoda degradacije

3.4.1 Odeđivanje neorganskih i organskih anjona jonskom hromatografijom (IC)

Nakon osam prolaza rastvora 4CP kroz DBD reaktor (360kJ/L), procenat degradacije i koncentracija proizvoda degradacije u svim sistemima (4CP/DBD, 4CP/H₂O₂/DBD i 4CP/Fe²⁺/DBD) je određena u rastvorima sa i bez gašenja pratećih oksidacionih reakcija.

Intermedijeri degradacije 4-hlorfenola, kao što su male karboksilne kiseline ili anjoni hlora određeni su pomoću Dionex ICS-3000 koji je bio povezan sa jednocanalnom pumpom, konduktometrijskim detektorom (ASRS ULTRA II(4 mm), recycle mode), generatorom *eluenta* (KOH)Chromeleon® Chromatography Workstation i kompjuterskim programom Chromeleon 6.7 Chromatography ManagementSoftware. Sva razdvajanja su urađena na IonPac AS15 Analytical, 4 x 250 mm i IonPac AG15 Guard, 4 x 50 mm koloni.

Protok mobilne faze je bio 0,5 mL/min, a sastav mobilne faze je menjan tokom analize sledećim redosledom: 0 min - 4 min = 10 mM KOH; 4 min – 20 min = od 10 mM do 60 mM KOH; 20 – 30 min = od 60 mM do 10 mM; 30 min – 35 min = 10 mM KOH. Zabeležena retencionna vremena (t_r) su bila sledeća: sirćetna kiselina – 12,57 min, mravlja kiselina – 13,24 min, hlorid – 19,33 min, malonska kiselina – 25,44 min, maleinska kiselina – 26,38 min, oksalna kiselina – 27,95 min i fumarna kiselina - 28,29 min. Radna temperatura kolone je bila 30°C, zapremina injektovanja 10 µL, a jačina supresor struje je iznosila 75 mA.

3.4.2 Određivanje proizvoda degradacije primenom LC-MS analize

Identifikacija proizvoda degradacije je urađena pomoću tečne hromatografije u kombinaciji sa masenom spektrometrijom (LC-MS TOF). Rastvori supstanci su pripremljeni sa ultra čistom vodom (Ultra pure water, Thermofisher TKA MicroPure water purification system) provodljivosti oko 0,055 $\mu\text{S}/\text{cm}$ i i filtrirani neposredno pre analize.

Uzorci ibuprofena su sakupljeni 15 min nakon tretmana u svim sistemima (DBD, DBD/ Fe^{2+} i Fentonov proces). Analiza je urađena pomoću tečnog hromatografa LC Agilent Technologies 1200 Series (sa DAD detektorom) u kombinaciji samasenim spektrometrom Agilent Technologies 6210 i analizatorom vremena preleta (*eng. Time-of-flight*, TOF). Korišćena je Hypersil GOLD C8 analitička kolona (150 mm x 3 mm, 3 ηm), pri radnoj temperaturi od 40°C. Mobilna faza je bila binarna smeša : A –voda sa 0,2% mravlje kiseline i B- acetonitril. Eluiranje je urađeno pri protoku od 0.4 mL/min u sledećem gradijentu : 0 - 10 min, 5 - 75% B; 10 – 16 min, 75% B; 16 - 17 min, 75 - 5% B; 17 - 20 min, 5% B. Hromatogrami i spektri UV snimljeni su u opsegu od 220 do 450 nm. Uslovi jonizacije i rada masene spektrometrije zasnovane na vremenu preleta su bili : injektovana zapremina uzorka od 20 μL , protok gasa (N_2) od 12 L/min, pritisak u nebulajzeru od 45 psig, temperatura gasa 350°C; kapilarni napon 4000 V, napon fragmentacije 140 V, negativni modi maseni opseg od m/z 100 do 2000. Proizvodi degradacije su idenifikovani softverom Agilent MASSHUNTER WORKSTATION za akviziciju podataka iobrađeni sa Analyst QS.

3.4.3 ICP-OES analiza

Konzistentnost svake katode pri elektrohemijском tretmanu ispitana je metodom ICP-OES tj. induktivno kuplovanom plazmom sa optičkom emisionom spektrometrijom (*eng. Inductively Coupled Plasma- Optic Emission Spectrometry*) kako bi se isključio potencijalni toksični efekat materijala katode. Analiza je rađena na instrumentu Thermo Scientific iCAP 6500 Duo ICP (Thermo Fisher Scientific, Velika Britanija). Kalibracija aparata je urađena sa sertifikovanim multi-elementarnim i jedno - elementarnim ICP-OES standardima proizvođača Alfa Aesar GmbH & Co KG (Nemačka). Optički sistem je bio ispran sa argonom, a Echelle polihromator je termostatiran na 38°C. Snaga radiofrekventnog generatora (RF) iznosila je 1150 W, protok argona za hlađenje je bio 12 L/min, protok argona za formiranje plazme 0,5 L/min i protok argona kroz raspršivač 0,5 L/min. Merenja su izvedena na talasnim dužinama 340,5 nm za Pd i 231,8 nm za Zn.

3.4.4 Određivanje pH vrednosti

Sva pH merenja izvedena su na pH-metru (Microcomputer pH-vision 6071, JENCO Electronics. Ltd., Tajvan) sa kombinovanom elektrodom tipa HI 1131(Hanna Instruments). Za kalibraciju pH-metra korišćeni su biftalatni (pH 4,01) i fosfatni (pH 7,00) puferi (Carlo Erba, Italija).

3.4.5 Određivanje provodljivosti

Provodljivost je merena pomoću konduktometra Cond 330i/SET, WTW Wissenschaftlich, Nemačka. Pre merenja, svi rastvori su bili termostatirani na 25 °C. Za kalibraciju je korišćen rastvor KCl koji ima provodljivost 1330 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Carlo Erba, Italija).

3.5 Ispitivanje efikasnosti dekolorizacije i degradacije pri visokim koncentracijama azo boja

Nakon optimizacije parametara elektrohemijskog tretmana (napona i pH vrednosti), ispitana je i degradacije visoke koncentracije azo boja (1000 mg/L) u svim eksperimentalnim elektrohemijskim sistemima (Pt-Pd, Pt-Zr ili Pt-C). Dekolorizacija je praćena UV-Vis metodom i za svaku boju zaustavljena na maksimalnom procentu dekolorizacije rastvora boje. Prema literaturnim podacima u efluentima tekstilne industrije koncentracija boje može biti na ispustu i preko 600 mg/L (Nigerija) (Yusuff i Sonibare 2004). U ovoj seriji eksperimenata takođe je urađena HPLC analiza i ispitivanje toksičnosti proizvoda degradacije.

3.6 TOC analiza

TOC analiza je rađena na TOC analizatoru LabTOC sa PSA 20.200 random access autosamplerom, po metodi ISO 8245:2007.

3.7 Ispitivanje toksičnosti boja pomoću test organizama *Artemia salina* i *Vibrio fischeri*

Potencijalni toksični efekat proizvoda degradacije zagađujućih supstanci ispitan je nakon svih tretmana primenom dva standardna testa ekotoksičnosti: *Artemia salina* i *Vibrio fischeri*.

3.7.1 Procena toksičnosti tretiranih rastvora primenom *A.salina*

A. salina spp. (vrsta rakova) nastanjuje slana jezera, solane ili brakične vode. Ova vrsta je veoma zahvalan test model, lako se gaji u kulturi, ima kratko vreme generacije, kosmopolitsko rasprostranjenje i komercijalno dostupne ciste (dormantna jaja).

Ciste su malih dimenzija, sferičnog oblika ali velike fizičke i hemijske otpornosti na nepovoljne uslove sredine. Životinje koje se izlegu iz cisti su približnog uzrasta, genotipa i fiziološkog stanja tako da se biološka varijabilnost testa značajno umanjuje (Barahona i Sanchez-Fortun, 1999). Komercijalno dostupan kit sa cistama i priborom za rad naziva se Artoxkit® (Micro-BioTests Inc., Belgija).

Larve *A.salina* su korišćene kao test organizam za toksičnost mnogih zagađujućih supstanci kao što su: metali, tragovi metala, herbicidi, toksini cijanobakterija, proizvodi sagorevanja, antialgin (*eng. antifouling*) jedinjenja, farmaceutski proizvodi, fenolne supstance industrijskih efluenata, organofosforni insekticidi, mikotoksini ili organski rastvarači (Nunes saradnici, 2006).

U toksikološkim testovima pri izradi disertacije *Artemia salina* je korišćena prema metodi Vanhaecke i Persoone (1981), kao i Persoone i Wells (1987). Izleganje larvi (naupliusia) *A. saline* iz cisti (Dajana Pet, Czech Republic) odigralo se u sintetičkoj morskoj vodi, saliniteta $32,0 \pm 0,5$ ‰ (Reef Salt, Aqu Medic, Germany). Rastvori morske vode su pripremljeni sa dejonizovanom vodom ($1.0 - 1.5 \mu\text{S}/\text{cm}$) i filtrirani preko kvalitativnog filter papira (plava traka). Nakon dodavanja cisti rastvor morske vode (500 mL) je prenet u aparaturu za izleganje, koja se sastojala od konusnog levkasa raspršivačem vazduha (Karlie, Nemačka) i pumpom za vazduh (Atman Champion CX-0088, Kina). Medijum je snažno aerisan sa dna, kako bi voda bila zasićena kiseonikom (> 7 mg/L), ali i kako bi se ciste održale u suspenziji.

Temperatura tokom inkubacije je održavana pomoću grejača sa termoregulatorom (grejač ATMAN 100W, Kina) u optimalnom opsegu od 26-28°C, dok je pH vrednost bila u opsegu od 7,5 do 8,0. Svetlosna stimulacija izleganja je postignuta pomoću neonskog osvetljenja (60W). Nakon prvobitnog perioda inkubacije od 24 h larve su skupljene Pasterovom pipetom i prenešene u novi, prethodno aerisani (24 h) medijum i ostavljene još 24 h radi postizanja odgovarajućeg uzrasta prema protokolu testa (metanauplius, subklasa Branchiopoda). Jaja rakova su bogata žumancetom, tako da tokom trajanja eksperimenta (do 4 dana od izleganja) nije potrebno hraniti životinje. Osnovni larveni stupanj rakova je larva nauplius, koja je ovalnog ili sferičnog oblika. Telo je bez vidljive segmentacije sa tri para ekstremiteta koji imaju lokomotornu funkciju: par antenula, par antena i par mandibula. Antenule nisu razgranate, dok su antene i mandibule dvoigrane. Nauplius larva ima jedno temeno oko i kompletno formiran crevni kanal. Izduživanjem i specijalizacijom ekstremiteta nauplius prelazi u metanauplius stupanj—sa diferenciranim trupnim segmentima (Anostraca, Notostraca i Conchostraca) (Petrov i Miličić, 2011).



Slika 21. Fotografski snimak larve *Artemia salina*; Izvor:

http://www.ebpi.ca/index.php?option=com_content&view=article&id=64&Itemid=76

Test akutne toksičnosti zagađujućih organskih supstanci, nakon degradacije različitim AOP-ima rađen je u geometrijskoj seriji koncentracija od pet razblaženja (6,25%, 12,5%, 25%, 50%, i 100%) u tri ili četiri ponavljanja. Testovi su rađeni u mraku, na temperaturi od $26 \pm 1^\circ\text{C}$ i u periodu od 24 h i 48 h (Machera i saradnici, 1996). Vrednost pH rastvora ispitivanih uzoraka je podešena pre početka testova u opsegu od 7,5 do 8,0 pomoću 0,1M NaOH ili 0,1M HCl. Salinitet uzoraka jetakođe podešen dodatkom NaCl ili Na₂SO₄. Broj jedinki korišćen po testu je bio 10 ili 20. Za svaku jedinku se smatralo da je uginula ukoliko se u periodu dužem od 10 sekundi nije kretala.

Kriterijum validnosti testova je ispoštovan i procenat mortaliteta u kontroli nije prešao 10 % (Vanhaecke i saradnici,1981), a biološki odgovor na referentnu supstancu je bio u odgovarajućem opsegu ($K_2Cr_2O_7 = 30 - 50$ mg/L, Svensson i saradnici, 2005). Toksični efekat je praćen preko procenta uginulih jedinki u odnosu na koncentraciju prema sledećoj formuli :

$$M(\%) = \frac{Nm}{No} \times 100 \quad (34)$$

M – Mortalitetindividua u određenom vremenu ekspozicije (%)

Nm – Srednja vrednost uginulih jedinki

No - Početan broj organizama koji se staviu svaku koncentraciju na početku eksperimenta.

Letalne koncentracije rastvora koje su izazvale mortalitet od 50 % ispitivane populacije organizama (LC_{50}) sa intervalom poverenja od 95% su određeneputem Probit i Spearman-Karber regresionog modela, uz pomoć softvera TesTox, v. 1.0. (Teodorovic i Maurić 2003). Efektivna/letalna koncentracija koja izaziva 50% mortaliteta/inhibicije (EC_{50} / LC_{50}) je upotrebljena kako bi se rezultati izrazili u toksičnim jedinicama (TU):

$$TU = 100/ EC_{50}.$$

Karakterizacija toksičnosti tretiranih rastvora je urađena prema klasifikaciji koju je predložio Persoone i saradnici (2003), a na osnovu TUa (*eng. Toxicity Units Acute TUa*).

Tabela 10.Klasifikacija toksičnosti otpadnih voda Pearsoone i saradnici 2003

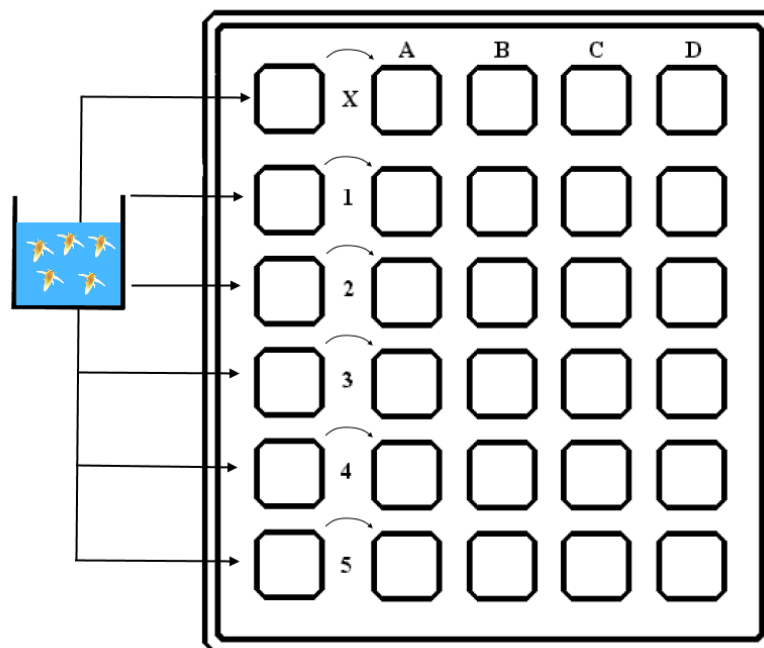
Toksične jedinice TUa	Klasa	Toksičnost
$TUa < 0,4$	I	Nema akutne toksičnosti
$0,4 \leq TUa < 1,0$	II	Nizak nivo toksičnosti
$1,0 \leq TUa < 10,0$	III	Toksično - akutno
$10,0 \leq TUa < 100,0$	IV	Veoma toksično
$TUa > 100,0$	V	Ekstremno toksično

3.7.1.1 Procena toksičnosti rastvora 4CP nakon AOP tretmana

U slučaju 4CP, preliminarni testovi toksičnosti su urađeni sa uzorcima koji su bili izloženi gustini energije od 360kJ/L (VIII prolaza kroz DBD reaktor). Test je postavljen sedam dana nakon plazma tretmana. Uzorci su čuvani u frižideru na temperaturi od 4 °C.

Utvrđeno je da uzorci koji su bili gašeni izazivaju visoku toksičnost ($K_2S_2O_5$), zato su u testovima toksičnosti ispitani samo uzorci gde nije došlo do gašenja reakcije nakon tretmana. Neposredno pre početka testa, podešena je vrednost pH svih uzoraka da bude u opsegu od 7,5 do 8,0, dok je salinitet podešen na vrednost kontrolnog medijuma od $32 \pm 0,5\%$. Odsustvo uticaja rezidualnog H_2O_2 je potvrđeno kolorimetrijski sa reagensom titanil-sulfatom.

Test je postavljen u staklenim čašama (borosilikat) od 100 ml, a zapremina testiranog medijuma je iznosila 50 mL. Urađena je serija od pet koncentracija u tri ponavljanja po koncentraciji i kontrolna grupa sa 6 ponavljanja. Sva razblaženja su pripremljena sa sintetičkom morskom vodom. Pasterovom pipetom po 60 jedinki je preneto u posebne čaše sa kontrolnim medijumom. One su bile namenjene za svaku koncentraciju uzorka i odatle je po 20 jedinki smešteno u svaku čašu. Svi uzorci su inkubirani u mraku na temperaturi od $26 \pm 1^\circ C$ tokom 24 h. Životinje nisu hranjene tokom testa, a kao krajnji ishod beležen je mortalitet larvi. Svaka larva koja se nije pomerila duže od 10 sekundi ili pri blagom nadražaju Pasterovom pipetom smatrana je uginulom. Toksičnost je izražena kao procenat preživljavanja. Vrednost LC_{50} – određene su pomoću Spearman–Karber regresione metode softverom TesTox software (Teodorović i Maurić 2003). Odnos između % preživelih jedinki i koncentracije 4CP je određen pre i nakon DBD tretmana za sve postavljene sisteme degradacije.



Slika 22. Šema postavke testa akutne toksičnosti sa *A.salina*

3.7.1.2 Procena toksičnosti rastvora azo boja tretiranih AOP-ima

Artemia salina je dobar bioindikator toksičnosti efluenata tekstilne industrije, jer se ovakve smeše odlikuju visokim salinitetom i provodljivošću tj. parametrima koji su kritični za opstanak slatkovodnih organizama (Reis i saradnici, 2010).

U akutnom testu toksičnosti larve *A.salina* su izložene dejstvu reaktivnih azo boja u periodu od 24 h. Usled smanjene prozirnosti polaznih uzoraka (visoke koncentracije boja) ispitana zapremina u svakoj čaši je iznosila 10 mL. Serija razblaženja je pripremljena u 7 koncentracija (3,125%; 6,25%; 12,5%; 25%; 50%; 75%; 100%) sa po 3 ponavljanja po koncentraciji i 6 ponavljanja po kontroli. Podešene su vrednosti pH i saliniteta svih uzoraka, jer su bile ispod fiziološki potrebnih vrednosti. Pasterovom pipetom 10 jedinki je postavljeno u svaku čašu. Larve nisu hranjene tokom ekspozicije i medijum nije aerisan. Nakon 24 h zabeležen je broj uginulih jedinki ili jedinki koje su pokazivale subletalne efekte (neuobičajeno kretanje, konvulzije, itd). Ispraćeni su kriterijumi validnosti testova. Efekti toksičnosti su izraženi kao procenat mortaliteta (James i saradnici, 2002), a kako je broj ponavljanja bio isti u svim tretmanima, poređenje toksičnog efekta je urađeno primenom linearne regresije (95 % nivo značajnosti, Microsoft Excel 2007) između %

mortaliteta pre i nakon tretmana u različitim reakcionim sistemima (Pd, C ili Zr), kao i vrednosti TUa.

3.7.1.3 Procena toksičnosti rastvora ibuprofena nakon AOP tretmana

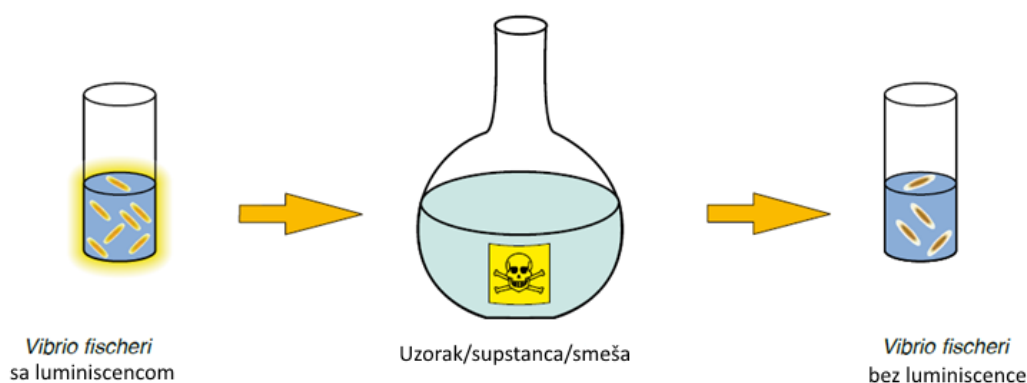
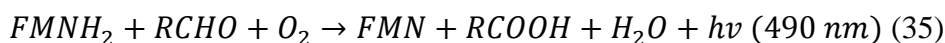
Test akutne toksičnosti polaza i tretiranih rastvora je urađena u staklenim čašama (borosilikatno staklo, Cluster) od 100 mL sa kontrolom i serijom od 5 razblaženja (6,25%; 12,5%; 25%; 50%; 100%) sa tri ponavljanja po koncentraciji i šest po kontroli. Uslovi ekspozicije su bili mrak, temperatura inkubacije od $26\pm 1^{\circ}\text{C}$, kao i vreme ekpozicije od 24 i 48 h (Machera saradnici, 1996). Vrednost pH je podešena sa 0,1 M NaOH, a salinitet sa čvrstim NaCl. Zapremina ispitanog uzorka je bila 20 mL po čaši, dok je Pasterovom pipetom po 20 jedinki ubačeno u svako ponavljanje i kontrolu.

Toksični efekat svakog uzorka prikazan je kao procenat mortaliteta. Kriterijumi validnosti su bili ispunjeni. Vrednost LC_{50} sa 95% intervalom poverenja procenjen je sa Probit i Spearman – Karber regresionom metodom pomoću TesTox software (Teodorović i Maurić, 2003).

3.7.2 Procena toksičnosti tretiranih rastvora primenom *V. fischeri*

Vibrio fischeri - luminiscentna marinska bakterija, gram negativni, halofilni, fakultativni anaerob, koji može živeti slobodno u vodi ili u organima drugih organizama kao patogen ili simbiot (riba ili lignji).

Bioluminiscenca je metabolički proces povezan sa disanjem i veoma je osetljiv na zagađujuće supstance. Biološki odgovor na štetni efekat bilo koje supstance ili smeše je smanjenje bioluminiscence. Reakcija bakterijske luminiscence, katalizovana je luciferazom i podrazumeva oksidaciju alifatičnog aldehida i redukciju flavin mononukleotida (FMNH₂) uz oslobađanje energije u vidu plavo – zelene svetlosti na talasnoj dužini od 490nm:



Slika 23. *Vibrio fischeri*, princip ekotoksikološkog skrininga toksičnosti

Eksperimentalna postavka podrazumeva statički, akutni test u kome se bakterijska suspenzija direktno meša sa uzorkom u kiveti. Nakon određenog vremena (najčešće: 15 ili 30 min) meri se inhibicija bioluminiscence. *V. fischeri* je najčešće korišćeni ekotoksikološki test za brzu procenu toksičnosti medijuma.

Ovaj test se može primeniti pri ispitivanju toksičnosti raznih uzoraka kao što su: otpadne vode, vodeni ekstrakti, površinske i podzemne vode, morske i brakične vode, intersticijalne vode sedimenta, kao i supstanca rastvorenih u vodi.

Toksičnost rastvora nakon AOP-tretmana je ispitana na soju *V.fischeri* NRRL B-11177, prema ISO 11348-3/2007 standardu. Liofilizovana bakterijska kultura je nabavljena od proizvođača BioFix® Lumi (freeze-dried bacteria, Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Duren, Nemačka). Korišćeno je pakovanje za 100 određivanja. Promena luminiscence je određena pomoću luminometra BioFix® Lumi-10 sa detektorom fotona (*eng.Ultra fast single photon counter, $\lambda=380-630$ nm*). Ovaj mobilni aparat se koristi kako za akutne i hronične testove bakterijske luminiscence tako i za praćenje promene hemijske luminiscence.



Sliak 24. Slika luminometra BioFix® Lumi-10 za merenje bakterijske luminiscence

Aparat prvenstveno određuje luminiscencu u kontrolnim kivetama, a potom u svim ostalim, merenja se rade u što pravilnijim vremenskim razmacima. Nakon izloženosti od 30 minuta (u zavisnosti od protokola), luminiscenca se ponovo meri u svim kivetama i aparat preračunava inhibicioni efekat (H_{30}) test uzoraka izražen u procentima. Za procenu odnosa koncentracije – efekta i određivanje EC_{50} vrednosti, izračunava se gama vrednost za svaku test koncentraciju i postavlja na grafik.

$$\Gamma_{30} = H_{30}/(100 - H_{30}) \quad (36)$$

Maksimalna devijacija unutar kontrolnog tretmana je 3%. Glavna napomena pretpostavke testa je da se poznaje priroda uzorka: rastvorljivost, isparljivost, da li reaguje sa rastvorom za razblaživanje ili supstancama u bakterijskoj suspenziji, jer sve to može uticati na rezultate testa. Takođe, smanjenje bioluminiscencije može biti i posledica apsorpcije svetlosti ili rasipanja svetlosti kod obojenih ili zamućenih uzoraka.

Svaki uzorak neposredno pre testiranja je pripremljen na sledeći način:

- ✓ Izmerena je koncentracija kiseonika (WTW Oxygen meter 3310, Nemačka), jer je za uslove testa potrebno da koncentracija bude veća od 3mg/L. Ukoliko je izmerena koncentracija manja, potrebno je promešati ili aerisati uzorak
- ✓ Izmerena je pH vrednost i ukoliko je ona bila u rasponu od 6,0 do 8,5 podešavanje nije bilo potrebno. Ukoliko je ipak vrednost pH izašla van opsega urađena je korekcija tako da zapremina dodate kiseline ili baze ne prelazi 5% ukupne zapremine uzorka
- ✓ Zamućeni uzorci su centrifugirani ili filtrirani, a zatim se koristio supernatantodnosno filtrat.

Zbog mešanja jednakih zapremina test uzorka i test suspenzije, najveća koncentracija uzorka koja se ispituje u test kiveti iznosi 50%. Postoji mogućnost i da se testira skoro nerazređeni uzorak (80%), ali je tada potrebna dupla kontrola.

Radna temperatura za test kivete sa kontrolom (NaCl), referentnim supstancama, uzorcima i serijom razblaženja je $15 \pm 1^\circ\text{C}$ i zato se koristi vodeno kupatilo ili termoblok.

Priprema bakterijske suspenzije za akutni test toksičnosti:

Bakterijska suspenzija je pripremljena od komercijalno dostupnih liofilizovanih kultura (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Duren, Nemačka), koje se skladište na temperaturi od -18°C do -20°C , kao i komercijano dostupnih rastvora za rekonstituciju (aktiviranje) i medijum BioFix® *Lumi* (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Duren, Nemačka). U pripremi serije razblaženja korišćen je rastvor 2 % NaCl u dejonizovanoj vodi. Radi provere osetljivosti testa bakterijski soj je testiran sa 3 referentne supstance (cink-sulfat heptahidrat, 3,5-dihloro-fenol i kalijum-dihromat), a kasnije u testu kao negativna kontrola je korišćen samo $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. Sve referentne supstance pripremljene su u 2% rastvoru NaCl u dejonizovanoj vodi.

Tabela 11. Referentne supstance koje izazivaju određeni % inhibicije kod soja *V.fischeri*.

Referentna supstanca	Koncentracija (mg/L)	Inhibicija (%)
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	19.34	72.4
C ₆ H ₄ OCl ₂	6.8	35.7
K ₂ Cr ₂ O ₇	105.8	62.3

Ove koncentracije su dva puta više od očekivanih EC₅₀ vrednosti, jer je razblaženje u kiveti bilo dva puta (50/50).

Priprema štoka (bakterijske) suspenzije:

Bakterijska kultura je neposredno pre rekonstitucije izneta iz zamrzivača, a za rekonstituciju je korišćena hladna (4°C) destilovana voda ili komercijano dostupan rastvor u zapremini od 1mL. Rekonstituisana suspenzija bakterija (oko 108 ćelija/mL) ostavljena je radi aklimatizacije 10 min na 4 ± 1°C i dalje korišćena kao štok (bakterijska) suspenzija.

U erlenmajer je dodato 50 mL medijuma za liofilizirane bakterije, koji je prethodno temperiran na 4 ± 3°C i dobro promešan. U ovaj medijum je dodata zapremina od 1 mL bakterijskog štoka, a potom je 0,5 mL kulture iz erlenmajera preneto u kivete temperirane pomoću termobloka (BioSan CH-100, Letonija) na 15 ± 1°C. Nakon stabilizacije od najmanje 15 min na 15 ± 1°C izmerena je početna bioluminiscencija i odmah nakon merenja u svaku kivetu je dodato 0,5 mL test uzorka, odnosno serije razblaženja, referentne supstance i kontrolnog tretmana koji su već pripremljeni i temperirani na 15 ± 1°C. Svaka kiveta je promešana na vorteksu (Heidolph reax top Strong and Compact Vortex, Nemačka) i vraćena u termoblok (vodeno kupatilo). Nakon 15 i 30 min (5 min je opcionalno) sa jednakim vremenskim intervalima u merenju, određena je inhibicija bioluminiscence.

3.7.2.1 Procena toksičnosti rastvora azo boja i ibuprofena nakon AOP tretmana

Nakon AOP tretmana reaktivnih azo boja (Pt/Pd, Pt/Zr ili Pt/C) i ibuprofena (DBD, DBD/Fe²⁺ ili Fenton) urađen je testsa *V.fischeri* u triplikatu i pet koncentracija – razblaženja uzorka (% , v/v, faktor razblaženja 2) svakog tretiranog rastvora. Osmolaritet svih uzoraka je podešen na 2% NaCl. Vrednost pH svakog uzorka je podešena na 7,0 ± 0,2. Vreme ekspozicije je bilo 30 min, a EC₅₀ vrednost (izražena kao procenat razblaženja) je izračunata pomoću Microsoft Excel 2003 i OriginPro 8.0 software.

Toksični efekat proizvoda degradacije u testu sa luminiscentnom bakterijom *Vibrio fischeri* prikazani su preko inhibitornog efekta (%) ili preko indeksa toksičnosti (eng. *Toxicity impact index*, TII₅₀).

Ovaj indeks TII₅₀ se odnosi na procenat uzorka (razblaženje), a ne na određenu koncentraciju supstance (Farré i saradnici, 2008) i omogućava poređenje toksičnog efekta različitih uzoraka rastvora ili otpadne vode. Izračunava se kao : $TII_{50} = 100/EC_{50}$. Kao Q-SAR metoda za nepoznate proizvode degradacije primenjen je EPA-in program ECOSAR v1.11 preko SMILES strukture dobijene u ChemDraw Ultra 10.0.

4. REZULTATI I DISKUSIJA

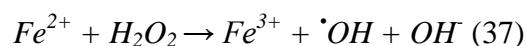
Tema ove disertacije bila je proučavanje degradacije rasprostranjenih organskih zagađujućih supstanci *para*-hlorfenola (4CP), reaktivnih azo boja (Reactive Green 15, Reactive Yellow 125 i Reactive Blue 52) i ibuprofena primenom različitih AOP-a, kao i ispitivanje ekotoksikološkog efekta proizvoda degradacije primenom standardnih test modela. U radu su primenjene sledeće AOP tehnike: Fentonov reagens, neravnotežna plazma i elektrohemijska degradacija (EAOP-i).

Cilj eksperimentalnog rada bio je određivanje ekotoksikološkog efekta rastvora zagađujućih organskih supstanci i proizvoda degradacije nastalih primenom AOP tretmana. Efikasnost degradacija zagađujućih organskih supstanci je optimizovana dodatkom homogenih katalizatora, primenom različitih elektrodnih materijala ili variranjem vremena tretmana. Efikasnost dekolorizacija je praćena UV-VIS tehnikom, efikasnost degradacije je praćena jonskom hromatografijom (IC) i HPLC tehnikom. Identifikacija glavnih proizvoda degradacije (ibuprofen), kao i mehanizmi degradacije određeni su LC-MS (TOF) tehnikom. Upotrebljeni modeli za ispitivanje ekotoksikološkog efekta bili su *A.salina* i *V.fischeri*.

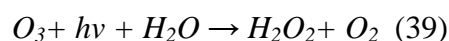
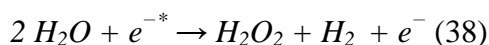
4.1 Efekat homogenog katalizatora i pH podešavanja

Promena koncentracije 4CP u različitim sistemima tokom NTP tretmana u DBD reaktoru predstavljena je na grafiku (Slika 25). Koncentracija 4CP u reaktoru značajno se smanjuje tokom tretmana - degradacije. Nakon prvog prolaza rastvora kroz reaktor (45 kJ/L) u sistemu bez dodatka homogenog katalizatora (DBD) procenat degradacije 4CP iznosio je oko 28%. Tokom drugog prolaza (90 kJ/L) oko 30% degradacije 4CP postignuto je u sva tri sistema (DBD, DBD/H₂O₂, DBD/Fe²⁺). Daljom cirkulacijom rastvora kroz reaktor u DBD/Fe²⁺ sistemu postignut je najveći procenat degradacije 4CP-a. U ovom sistemu, nakon trećeg prolaza (135 kJ/L) procenat degradacije je iznosio dodatnih 5% do 10% po prolazu.

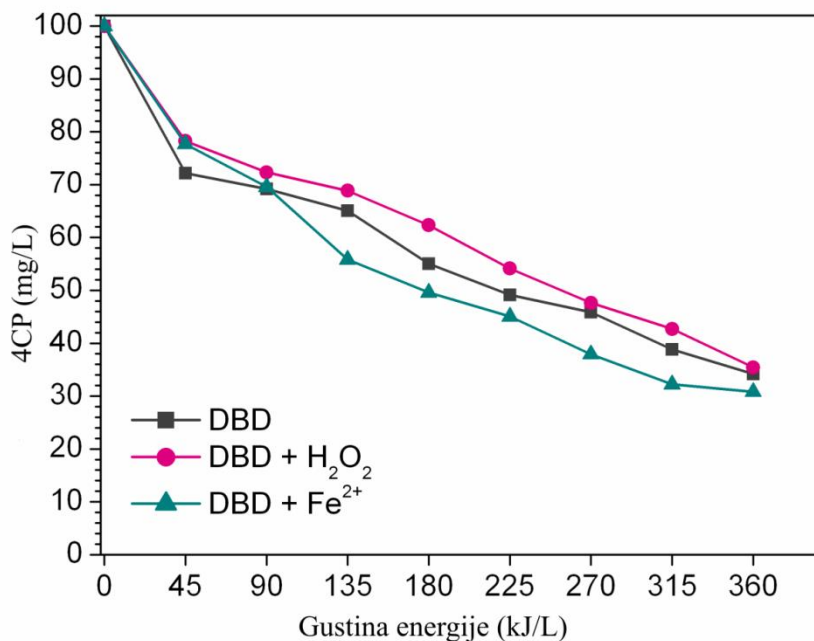
Generisanje dovoljne količine H_2O_2 u DBD reaktoru nakon trećeg prolaza u prisustvu Fe^{2+} bio je odgovarajući preduslov za početak Fentonove reakcije i formiranje $\cdot OH$ radikala (Núñez i saradnici, 2007):



Vodonik-peroksid generisan u DBD reaktoru tokom električnog pražnjenja nastaje kroz reakcije (Malik i saradnici, 2001):

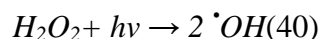


e^{-*} je visokoenergetski elektron, a $h\nu$ je UV zračenje.

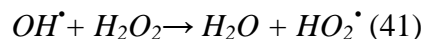


Slika 25. Efekat dodatka homogenog katalizatora H_2O_2 ili Fe^{2+} na efikasnost degradacije 4CP u DBD reaktoru (c_0 : 4CP, 100 mg/L; H_2O_2 , 20 mmol/L; Fe^{2+} , 5 mg/L; gustina energije 45-360 kJ/L, reakcije „gašene“ sa $K_2S_2O_5$ 5 minuta nakon plazma tretmana)

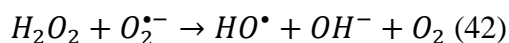
U sistemu DBD/H₂O₂ cilj je bio da se eksterno dodati H₂O₂, pomoću UV svetlosti (u reaktoru) razloži u homolitičkoj reakciji. Razlaganjem jednog molekula H₂O₂ nastaju dva hidroksilna radikala (Núñez i saradnici, 2007, Dojčinović i saradnici, 2011):



Porast koncentracije $\cdot OH$ radikala pospešio je degradaciju 4CP u odnosu na sistem gde katalizator nije bio upotrebljen. U plazma reaktoru putevi nastajanja $\cdot OH$ radikala bili su raznovrsni i doprineli su trošenju H₂O₂, kao i formiranju peroksil radikala kroz reakciju (Núñez i saradnici, 2007):

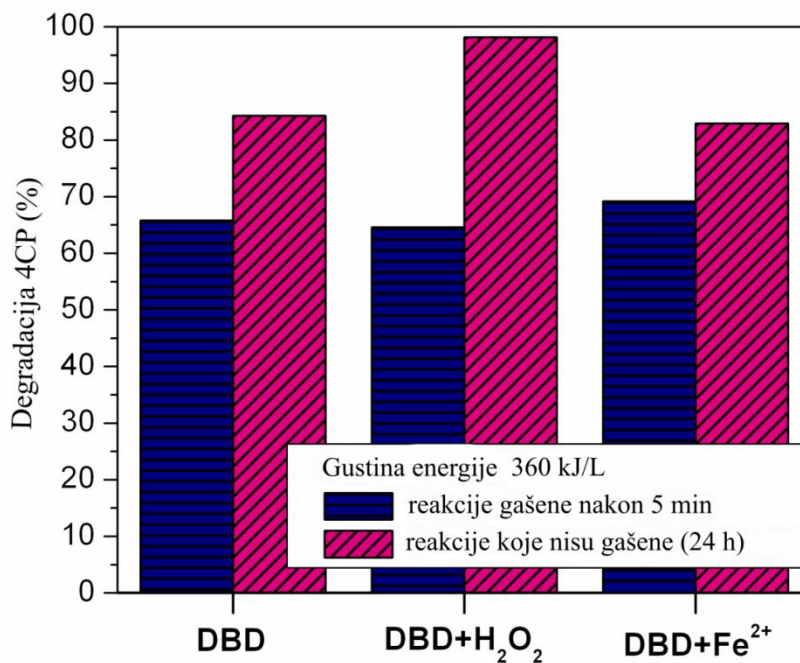


Vodonik-peroksid može takođe reagovati i sa O₂^{-•} koji nastaje u DBD reaktoru i dati OH[•] radikale i hidroksilne anjone (42).



Kada su istovremeno u rastvoru prisutne više koncentracije $\cdot OH$ i H₂O₂, mehanizam njihove interakcije postaje značajan u smanjenju koncentracije oba člana. Tada su niže koncentracije $\cdot OH$ radikala bile dostupne za degradaciju 4CP. U ovoj reakciji nastaju hidroperoksidni radikal (HO₂[•]) sa nižim oksidacionim potencijalom (1,70 V) u poređenju sa $\cdot OH$ radikalom (2,80 V). Posledica ovog mehanizma je smanjenje intenziteta degradacije 4CP i u DBD/H₂O₂ sistemu to je bilo od 5% do 10% u poređenju sa drugim sistemima.

Uzorci u kojima su reakcije oksidacije „gašene“ (pomoću K₂S₂O₅), 5 minuta nakon osmog prolaza (360 kJ/L) rastvora 4CP kroz plazma reaktor, za sve postavljene sisteme pokazali su sličan procenat degradacije tj. oko 65%. U poređenju sa njima uzorci koji su istovremeno uzorkovani i ostavljeni bez gašenja reakcije 24 h nakon plazma tretmana pokazali su značajnu razliku u efikasnosti degradacije 4CP-a (Slika 26).

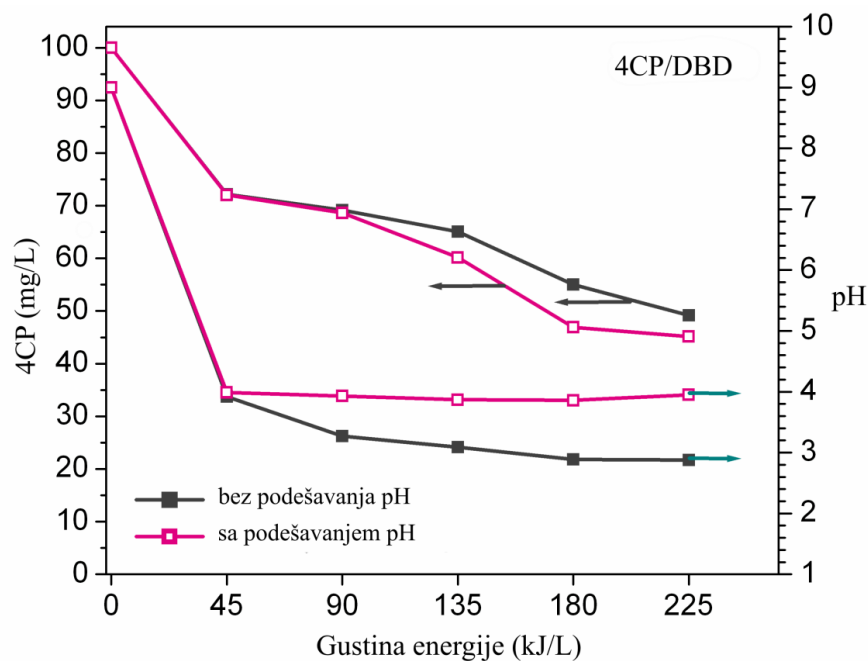


Slika 26. Poređenje efikasnosti degradacije(%) 4CP kada su reakcije gašene 5 min nakon plazma tretmana i kada reakcije nisu „gašene“, 24 h nakon tretmana plazmom (360 kJ/L)

U uzorcima koji su testirani 24 h nakon plazma tretmana uočen je značajan porast u efikasnosti degradacije od 20% u sistemu bez katalizatora (DBD), kao i porast od 15% u sistemu gde je kao katalizator korišćen Fe²⁺ (DBD/Fe²⁺).

Najveće povećanje u efikasnosti degradacije 4CP (100 mg/L) od 33% (24h) u odnosu na DBD, zabeleženo je u sistemu sa dodatkom H₂O₂ (DBD/H₂O₂). Konačni procenat degradacije u ovom sistemu je bio 98%. Reakcije nakon plazma tretmana (izvan reaktora) inicirale su dugoživeće molekulske vrste O₃ i H₂O₂, kao i radikale HO₂[•] (Lukes i saradnici, 2014) utičući tako na efikasnost degradacije 4CP. Prolongirana degradacija supstance nakon tretmana vodenog rastvora plazmom naziva se plazma aktivirana voda (*eng. plasma activated water, PAW*) i ona potiče od dugoživećih vrsta, radikala i peroksinitrita koji nastaju kroz sekundarne reakcije nakon pražnjenja plazme u reakcijama NO₂⁻ i H₂O₂ (Lukes i saradnici, 2014).

Dodatak vodonik-peroksida pre DBD tretmana rezultovao je povećanjem efikasnosti degradacije 4CP. Tokom tretmana zabeležen je pad pH vrednosti rastvora.



Slika 27. Promena koncentracije 4CP i pH vrednosti rastvora u uslovima kada je pH vrednost tokom DBD tretmana podešavana

Kriva na grafiku (Slika 27) pokazuje da pH vrednost značajno opada nakon prvog prolaza kroz reaktor, na vrednost oko 4. Tokom svakog sledećeg prolaza kroz reaktor, pH polako opada na vrednost od 2,9 (nakon 5 prolaza; 225 kJ/L). Promena pH vrednosti je najviše uzrokovana zakišeljavanjem rastvora usled prisustva azotne i azotaste kiseline koje nastaju tokom električnog pražnjenja u vazduhu neposredno iznad površine tretiranog rastvora i formiranjem malih niskomolekularnih karboksilnih kiselina tokom DBD tretmana (Brandenburgi saradnici, 2014).

Uočeno je i da se provodljivost tretiranog rastvora povećava sa brojem prolaza tretiranog rastvora kroz reaktor. Provodljivost početnog rastvora 4CP iznosila je 2,5 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (22°C), nakon pet prolaza 616 $\mu\text{S}/\text{cm}$, a nakon desetog prolaza iznosila je 1449 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (33°C).

Korelacija između pH i provodljivosti, gde pad pH vrednosti korespondira sa povećanjem provodljivosti u slučaju direktnog pražnjenja u vodu objašnjava se kao veća mobilnost H^+ u odnosu na OH^- jone. Nitrati i nitriti nemaju značajnu ulogu u povećanju provodljivosti (Parvulescu i saradnici, 2012). Pad pH vrednosti zabeležen je i u istraživanjima, kada je pražnjenje bilo generisano direktno u vodenom rastvoru (Lukes, 2002). Promene pH vrednosti još uvek nisu u potpunosti razjašnjene.

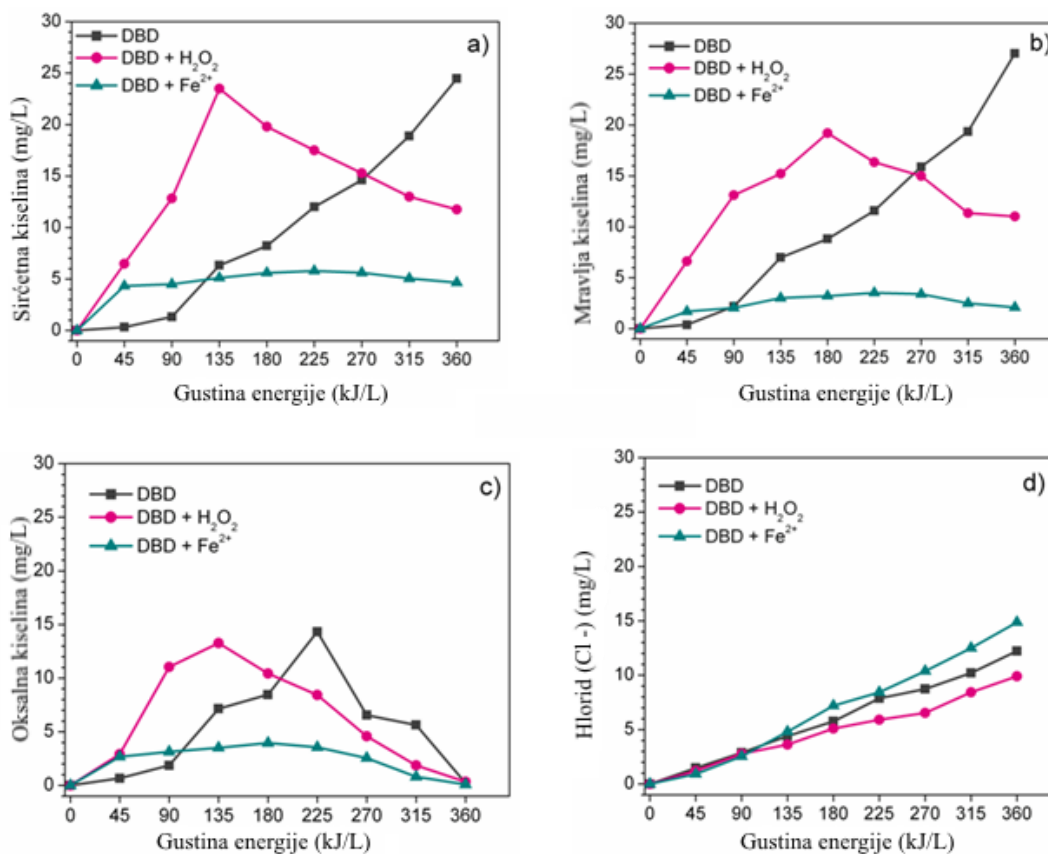
Potencijalni uticaj pH na efikasnost degradacije ispitan je tako što je pH vrednost podešena posle svake recirkulacije rastvora kroz plazma reaktor. Početna vrednost pH rastvora 4CP je podešena na 9,00. Nakon svakog prolaza vrednost pH je ponovo podešena na 9,00 pomoću 0,1 M NaOH. U sistemu sa podešenom početnom vrednošću pH, ona je opadala nakon svakog prolaza kroz DBD reaktor i na kraju tretmana došla na približnu vrednost kao rastvor 4CP u sistemu gde pH vrednost nije podešena.

Poređenjem promene koncentracije 4CP tokom degradacije (Slika 27) uočeno je da podešavanje pH vrednosti nakon svake recirkulacije nije značajno uticalo na efikasnost degradacije 4CP u odnosu na degradaciju (%) kada pH vrednost nije bila podešena. Na osnovu rezultata može se zaključiti da podešavanje pH vrednosti tretirane vode tokom tretmana nema ulogu u efikasnosti degradacije 4CP u NTP reaktoru. U tehnološkom smislu ovo je veoma značajno svojstvo NTP metode, jer obrada vode ne bi zahtevala dodatne procedure ili troškove tokom tretmana.

Tokom svih tretmana, boja tretiranih rastvora 4CP je postala intenzivno žuta što ukazuje na formiranje hromofora; potencijalno aromatičnih sporednih proizvoda degradacije kao što su: 4-hlorokatehol, hidrohionon i *p* – benzohionon. Ovi proizvodi degradacije su detektovani nakon tretmana 4CP sa NTP, kao i nakon drugih AOP tretmana kao što su: ozon (Yuezhong i saradnici, 2002) i sonoliza (Jiang i saradnici, 2006). Posle određenog broja prolaza – vremena tretmana i intenzitet boje se smanjio do bezbojne.

4.2 Proizvodi degradacije – organske kiseline i hlorid

Koncentracija proizvoda degradacije koji nastaju NTP tretmanom rastvora 4CP kao što su organske kiseline, male molekulske mase - sirćetna, mravlja, oksalna kiselina ili hloridi za sve sisteme prikazani su na slici 28.



Slika 28. Koncentracija : a) sirćetne b) mravlje i c) oksalne kiseline, kaoi d) hlorida tokom procesa degradacije 4CP pomoću DBD reaktora sa gustinom energije od 45 do 360 kJ/L (c₀: 4CP, 100 mg/L; H₂O₂, 20 mmol/L; Fe²⁺, 5 mg/L; gustina energije 45-360 kJ/L, reakcije oksidacije u uzorcima gašene su sa K₂S₂O₅, 5 min nakon tretmana plazmom)

Kinetika nastanka monokarboksilnih kiselina (Slika 28a i 28b) je značajno varirala u zavisnosti od primenjenog sistema za degradaciju 4CP. U svim do sada korišćenim sistemima uočeni su slični trendovi nastanka sirćetne i mravlje kiseline. U nekatalitičkom DBD sistemu, koncentracija sirćetne i mravlje kiseline imala je skoro linearan rast nakon drugog prolaza kroz plazma reaktor. U katalitičkom sistemu sa eksterno dodatim vodonik-peroksidom (DBD/H₂O₂), koncentracija obe monokarboksilne kiseline beleži pik nakon trećeg (sirćetna kiselina) i nakon 4 prolaza (mravlja kiselina).

U sistemu DBD/Fe²⁺, zabeležene su najniže koncentracije sirćetne i mravlje kiseline. Njihova koncentracija je bila konstantna, oko 5 mg/Lu odnosu na druga dva sistema za degradaciju. Prema literaturi [•]OH radikali prisutni u DBD reaktoru mogu oksidovati veliki broj organskih supstanci do ugljen-dioksida i vode, osim nekih malih karboksilnih kiselina kao što su mravlja i sirćetna (Bigda, 1995). U nekatalitičkom DBD sistemu koncentracija ove dve kiseline se povećavala tokom tretmana. Primećeni su različiti trendovi koncentracija između dva katalitička sistema.

Koncentracije sirćetne i mravlje kiseline tokm 4CP tretmana bile su niže u sistemu gde je kao katalizator upotrebljeno gvožđe DBD/Fe²⁺ u poređenju sa sistemom gde je kao katalizator primenjen vodonik-peroksid DBD/H₂O₂.

U sistemu DBD/Fe²⁺ ukupna snaga oksidacije u reakciji nalik Fentonovoj, mogla je biti intenzivirana UV svetlošću, koja prati električno pražnjenje u plazma reaktoru.

Sinergističko dejstvo svih procesa dovelo je do povećanja koncentracije [•]OH radikala i oksido-redukciju gvožđa između oksidacionog stanja II i III. Katalizator (Fe²⁺) nije osiromašen, a formiranje [•]OH radikala je zavisilo od UV svetlosti i H₂O₂ (Lukeš, 2001).

Koncentracija oksalne kiseline je rasla od početka procesa degradacije 4CP (Slika 28c) u sva tri sistema, a potom je njena koncentracija opadala sa porastom broja prolaza (SED). Pik koncentracije oksalne kiseline uočen je u nekatalitičkom sistemu DBD posle trećeg prolaza (135kJ/L) i u DBD/H₂O₂ nakon petog prolaza kroz reaktor (225kJ/L). U odnosu na druga dva sistema, koncentracija oksalne kiseline u katalitičkom sistemu DBD/Fe²⁺ bila je veoma niska tokom tretmana (ispod 5 mg/L), a dodatno se smanjila nakon šestog prolaza (270 kJ/L) rastvora 4CP kroz reaktor (Slika 28 c).

Gvožđe (Fe^{2+}) je dominantno katalizovalo degradaciju dikarboksilnih kiselina, koje su mogle da formiraju kompleks sa gvožđem (Andreozzi, i saradnici, 2006). UV svetlost generisana dielektričnim barijernim pražnjenjem, tokom tretmana u DBD/ Fe^{2+} sistemu, delimično podstiče fotolitičku degradaciju proizvoda degradacije 4CP, kao što je oksalna kiselina u reakciji nalik Fentonovoj.

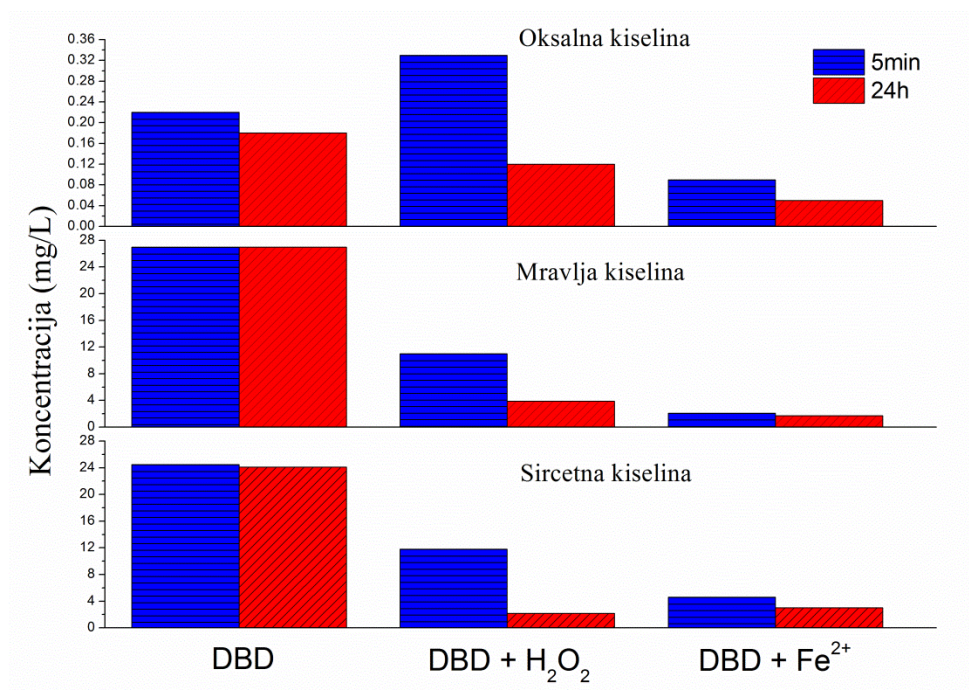
Koncentracija hlorida (Slika 28d) u sva tri sistema je rasla tokom procesa degradacije. Najviša koncentracija hlorida, zabeležena je u sistemu sa dodatkom Fe^{2+} katalizatora. Hloridi dobijeni totalnom mineralizacijom 4CP gde je -OH grupa bila u *orto-/para-* položaju, ukazuju na mehanizam supstitucije ili eliminacije -Cl grupe sa -OH grupama, pod ovim uslovima (Tezuka i Iwasaki, 1998). Koncentracija oslobođenih hlorida bila je u korelaciji sa uklanjanjem 4CP iz tretiranog rastvora (Bigda, 1995). Koncentracije malonske, maleinske i fumarne kiseline tokom procesa degradacije bile su manje od 1 mg/L.

Promene koncentracije sirćetne, mravlje ili oksalne kiseline u sva tri sistema za degradaciju 4CP su predstavljene na slici 30. Rastvori 4CP, koji su bili izloženi gustini energije od 360 kJ/L, uzorkovani su i pripremljeni na dva načina neposredno pre analize koncentracije karboksilnih kiselina. Priprema uzoraka je urađena ili gašenjem reakcija oksidacije ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$) 5 min nakon tretmana ili su uzorci ostavljeni u frižideru 24 h (4°C) pre analize.

Koncentracija monokarboksilnih kiselina u uzorku koji je pripremljen 5 min nakon tretmana, kao i u uzorku ispitanom nakon 24 h, bila je najviša u sistemu bez katalizatora DBD. Možemo reći da u nekatalitičkom DBD sistemu nije došlo do značajnog smanjenja koncentracije svih ispitivanih kiselina.

U sistemu gde je degradacija 4CP pospešena katalizatorom, koncentracije sirćetne i mravlje kiseline bile su znatno niže u odnosu na nekatalizovan sistem. Najniža koncentracija karboksilnih kiselina zabeležena je u sistemu sa dodatkom Fe^{2+} (DBD/ Fe^{2+}).

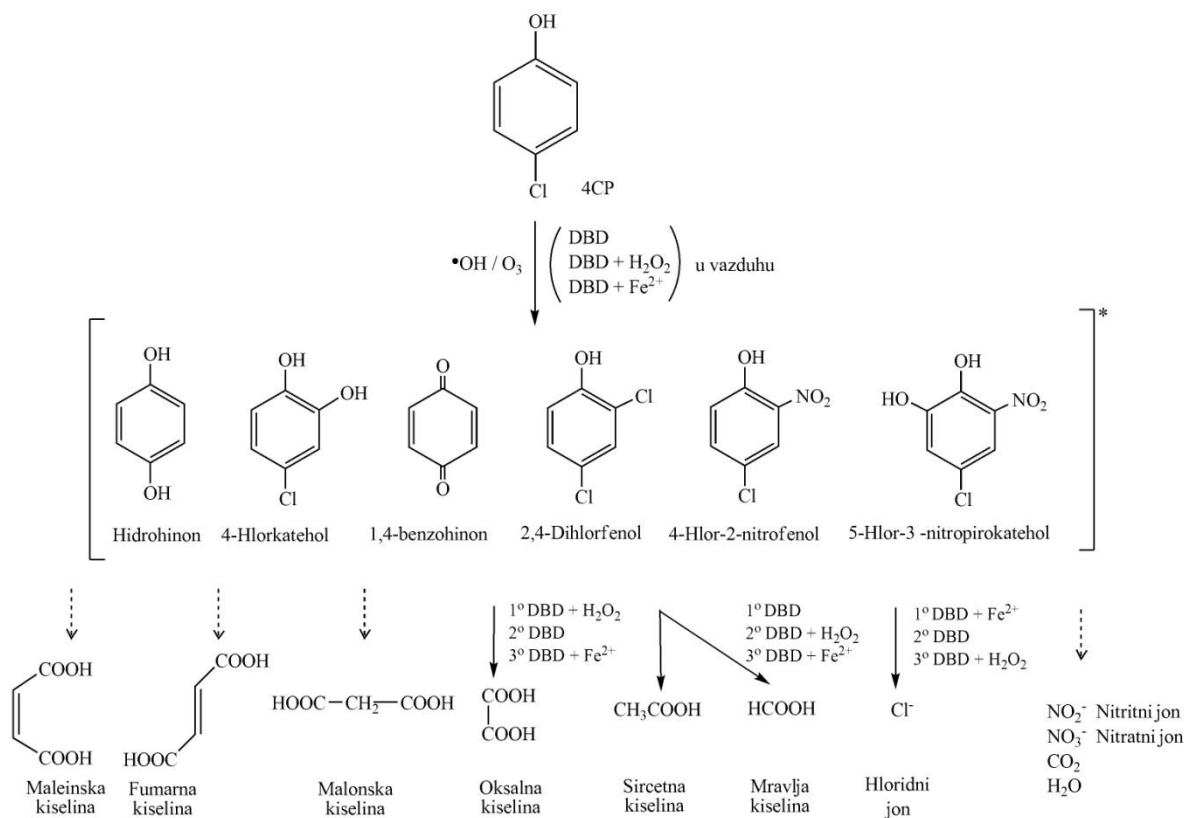
Poređenjem svih eksperimentalnih sistema za degradaciju 4CP-a, uzoraka nakon 5 min od tretmana u odnosu na uzorke ispitane nakon 24 h od plazma tretmana (Slika 29) uočava se da je najznačajnije smanjenje koncentracije anjona postignuto u degradacionom sistemu sa dodatkom H_2O_2 (DBD/ H_2O_2). Koncentracija oksalne kiseline bila je najniža nakon tretmana 4CP u sistemu sa dodatkom Fe^{2+} (DBD/ Fe^{2+}).



Slika 29. Koncentracija sirćetne, mravlje i oksalne kiseline (mg/L) u sva tri sistema zadržavanja, određene 5 min nakon tretmana u slučaju kada su u uzorcima reakcije oksidacije gašene ili određene nakon 24 h u uzorcima gde reakcije nisu gašene (360 kJ/L)

Postoje publikacije u kojima je ispitan mehanizam degradacije 4CP-a tokom DBD tretmana u neutralnom ili kiselom medijumu. Predloženi mehanizam započinje reakcijom hidroksi radikala sa 4-hlorokateholom ili hidrohionom, potom se odvija otvaranje prstena, a zatim dalja degradacija i nastaju organske kiseline, kao i hloridni joni (Chen i saradnici, 2013).

Hidroksilovani proizvodi degradacije u *orto-/para-* položaju na prstenu nastali su eliminacijom HO₂[•] iz peroksil radikala. Mogući mehanizam degradacije za sva tri eksperimentalna sistema na osnovu rezultata prikazan je na slici 30. Praćena je efikasnost degradacije i potencijalna mineralizacija 4CP. Aromatični proizvodi degradacije nisu mereni jer su dobro poznati i opisani u literaturi (Zhang, i saradnici, 2007).



Slika 30. Mehanizam degradacije 4CP u tri eksperimentalna sistema za degradaciju DBD, DBD/ H_2O_2 i DBD/ Fe^{2+}

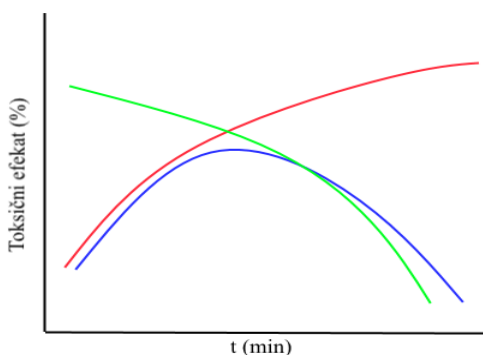
Isprekidane strelice ukazuju na organske kiseline – intermedijere i neorganske molekule koji su proizvodi degradacije 4CP i javljaju se u približno sličnim koncentracijama u sva tri primenjena sistema. Najintenzivniji proces nastanka identifikovanih proizvoda degradacije na slici 30 je označen sa 1°, umeren kao 2° i najnižeg inteziteta kao 3°, nakon osmog prolaza rastvora kroz reaktor (360 kJ/L).

4. 3 Test sa *A.salina* - Procena ekotoksičnosti rastvora 4CP i proizvoda degradacije u nekatalitičkom i katalitičkom (Fe^{2+} ili H_2O_2) NTP tretmanu

Preliminarni testovi ekotoksičnosti proizvoda degradacije određeni su nakon primene DBD tretmana i DBD tretmana sa dodatkom katalizatora Fe^{2+} ili H_2O_2 . Ekotoksični efekat tretiranih rastvora predstavljen je kao procenat preživelih organizama nakon osmog (VIII) prolaza rastvora 4CP kroz plazma reaktor (360 kJ/L).

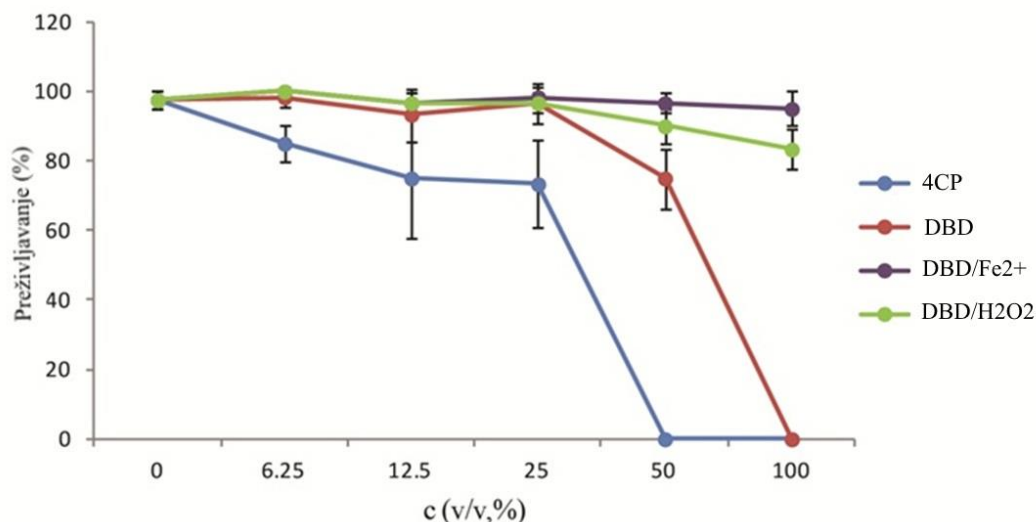
Razlika u preživljavanju (test od 48 h) uočena je između efekata toksičnosti rastvora 4CP pre i nakon DBD tretmana, uključujući uzorke sa dodatkom gvožđa ili vodonik-peroksida (Slika 32). Prednost DBD tretmana u degradaciji 4CP bila je u tome što nije došlo do generisanja toksičnijih proizvoda degradacije od samog početnog rastvora 4CP.

Ovo svojstvo ispitanog reaktora je izuzetno značajno, jer je čest slučaj da nakon AOP tretmana tretirani rastvori ili proizvodi degradacije pokazuju viši efekat toksičnosti na istu vrstu nego početni rastvor. Autor Rizzo (2011) je u opsežnoj reviji pokazao da primenom AOP-a može doći do generisanja proizvoda veće toksičnosti i tokom trajanja tretmana, ali da krajnji ishod može biti okarakterisan kao nisko toksičan ili bezbedan za organizme – tj. kritičan parametar tretmana je vreme (Slika 31). Cilj svake optimizacije AOP-a je da rastvor na kraju tretmana realnih uzoraka ne pokazuje toksični efekat na izabrane test modele (preporučeno 3 modela).



Slika 31. Najčešći tip odgovora test modela na rastvore i proizvode degradacije različitih supstanci primenom AOP-a. Crvena linija – veća toksičnost od početnog rastvora na kraju tretmana, plava linija – promena toksičnosti tokom tretmana, zelena linija – najpoželjniji odgovor u optimizaciji AOP-a, gde je toksičnost početnog rastvora uklonjena

Tokom ispitivanja tretiranih rastvora 4CP u sistemima NTP sa i bez katalizatora procenat preživljavanja se povećao u svim sistemima u odnosu na početni rastvor 4CP. Najinteresantnija činjenica je bila povećanje preživljavanja od 0% do 95 % za 100% (v/v, %) uzorka nakon tretmana u sistemu DBD/Fe²⁺, što u smislu preživljavanja potvrđuje efikasnost homogenog katalizatora u degradaciji 4CP.



Slika 32. Procenat preživljavanja (srednja vrednost sa SD; %) *A. salina* izložena 48 h početnoj koncentraciji *para*-hlorfenola (4CP) i rastvoru 4CP koji je tretiran sa: DBD, DBD/Fe²⁺ ili DBD/H₂O₂ sistemom. Reakcije oksidacije u uzorcima nisu gašene već su testirane 7 dana nakon tretmana plazmom (gustina energije 360 kJ/L; VIII prolaz).

Podaci o preživljavanju su transformisani (arcsin) radi statističke analize i obrađeni u softveru IBM SPSS Statistics 20. Nije bilo statistički značajne razlike između ispitanih grupa (Kruskal-Wallis test: $p > 0.05$), ali kako je broj ponavljanja i jedinki po testu bio isti daljim poređenjem preživljavanja između grupe izložene netretiranom 4CP i svake druge grupe izložene rastvoru 4CP tretiranom u NTP, dokazali smo da postoji statistički značajna razlika (Mann-Whitney U – test: $p < 0.05$) između grupa sa netretiranim 4CP i grupa gde je 4CP rastvor tretiran u plazma reaktoru sa katalizatorom (Fe²⁺ ili H₂O₂, Slika 32).

Visok procenat preživelih jedinki od $95 \pm 5\%$ pri najvišoj testiranoj koncentraciji rastvora (bez razblaženja 100% v/v) bio je u uzorcima tretiranim primenom DBD/Fe²⁺ sistema, a potom u DBD/H₂O₂ sistemu, gde je preživljavanje iznosilo $83\% \pm 6\%$.

Određena je LC₅₀ vrednost za početni rastvor 4CP - 27% (23%-32%), tako da se on može klasifikovati u kategoriju „toksičan“. Nakon primene nekatalitičkog DBD tretmana vrednost LC₅₀ je porasla na 58% (53%-64%), ali ipak ostaje u istoj kategoriji toksičnosti. Uzorci 4CP koji su tretirani u sistemima sa katalizatorom DBD/H₂O₂ ili DBD/Fe²⁺ imali su vrednosti LC₅₀ > 100 %, odnosno TUa < 1 i mogu se klasifikovati u kategoriju „nizak nivo toksičnosti“ do „netoksični“.

U poređenju degradacije 4CP između sistema DBD i sistema gde je efikasnost degradacije 4CP u DBD reaktoru poboljšana homogenim katalizatorom pokazano je da katalitički NTP tretman daje znatno niži toksični efekat.

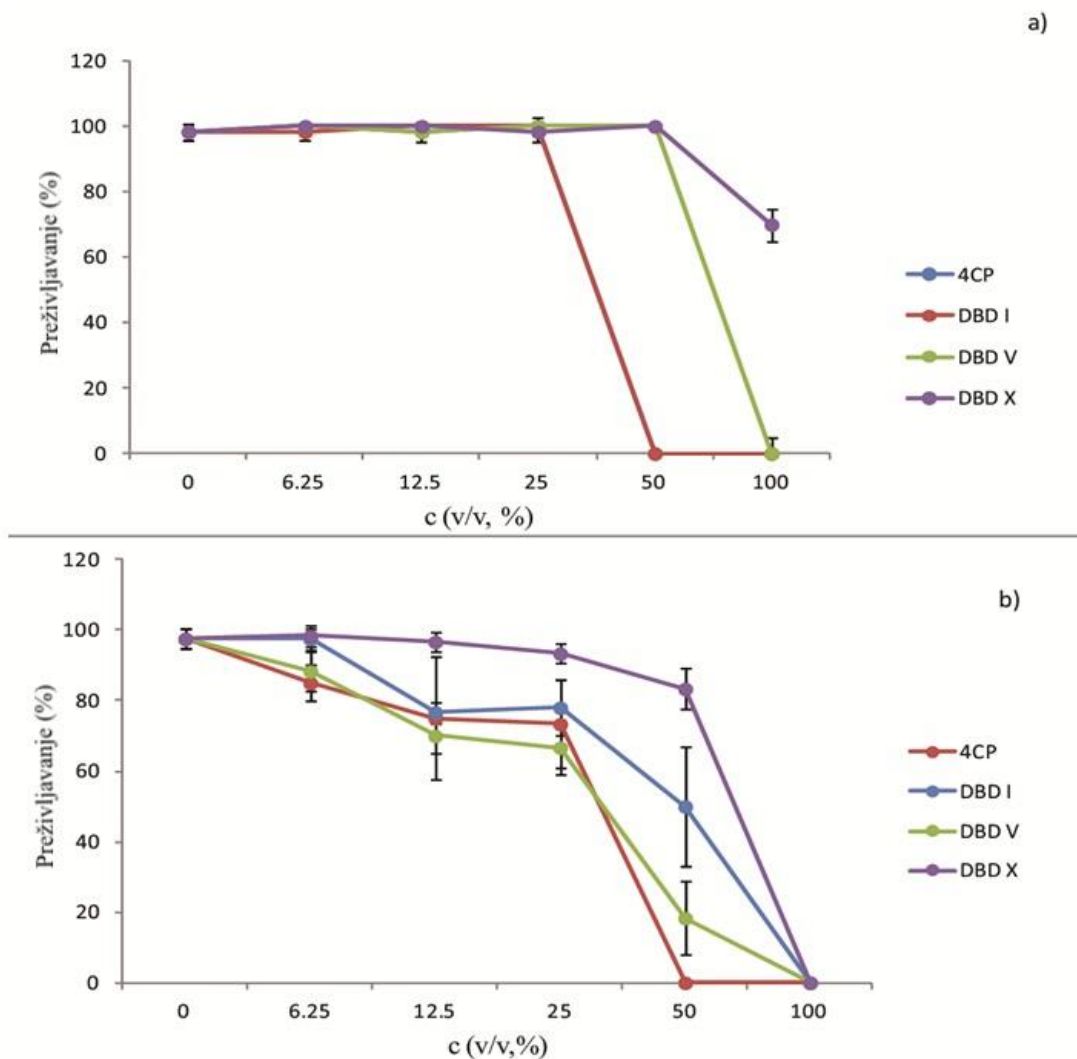
Sistem DBD/H₂O₂ postigao je viši procenat degradacije (98%) 4CP od DBD/Fe²⁺ sistema (83%), ali je i izazvao i intenzivniji odgovor –veći mortalitet organizama (Slika 32). Smanjenje ukupne toksičnosti tretiranog rastvora 4CP u DBD/Fe²⁺ sistemu može se pripisati efikasnoj degradaciji intermedijera putem katalitičkog NTP tretmana sa dodatkom Fe²⁺ i u daljim istraživanjima ispitivan je efekat ovog sistema.

4.4 Efikasnost u smanjenju toksičnosti - poređenje nekatalitičkog sistema DBD i katalitičkog sistema $DBDFe^{2+}$ za degradaciju 4CP

U cilju poboljšanja efikasnosti degradacije 4CP primenom DBD reaktora i smanjenja toksičnog efekta tretmana, dalja ispitivanja su urađena pomoću Fe^{2+} kao katalizatora, a vreme tretmana je produženo na deset (X) prolaza kroz plazma reaktor (SED od 450 kJ/L). Preživljavanje je praćeno u testovima akutne toksičnosti nakon perioda od 24 i 48 h ekspozicije.

Uzorci tretiranog rastvora 4CP su uzimani nakon prvog (DBDI; 45 kJ/L), petog (DBDV; 225 kJ/L) i desetog (DBDX; 450 kJ/L) prolaza rastvora 4CP kroz DBD reaktor. Svi uzorci su skladišteni bez „gašenja“ reakcija oksidacije u frižideru na 4°C i testirani nakon 7 dana od plazma tretmana.

Izlaganjem organizama najvišoj testiranoj koncentraciji (100%, v/v) nakon 24h, procenat preživljavanja *A.salina* u prisustvu početnog rastvora 4CP i rastvora 4CP tretiranih u nekatalitičkom DBD sistemu: DBD I, DBD V i DBD X je iznosio: 0%, 0% i 70 ±5% respektivno (Slika 33a). Početni rastvor 4CP i DBD I (prvi prolaz) izazvali su veoma sličan efekat u preživljavanju. Subletalni efekti su primećeni i nakon desetog prolaza rastvora kroz reaktor (DBD X; 450 kJ/L). Statistički zanačajna razlika nije uočena između grupa (Mann-WhitneyU – test: $p > 0.05$) nakon 24 h ekspozicije *A.salina* početnom i tretiranom rastvoru 4CP.

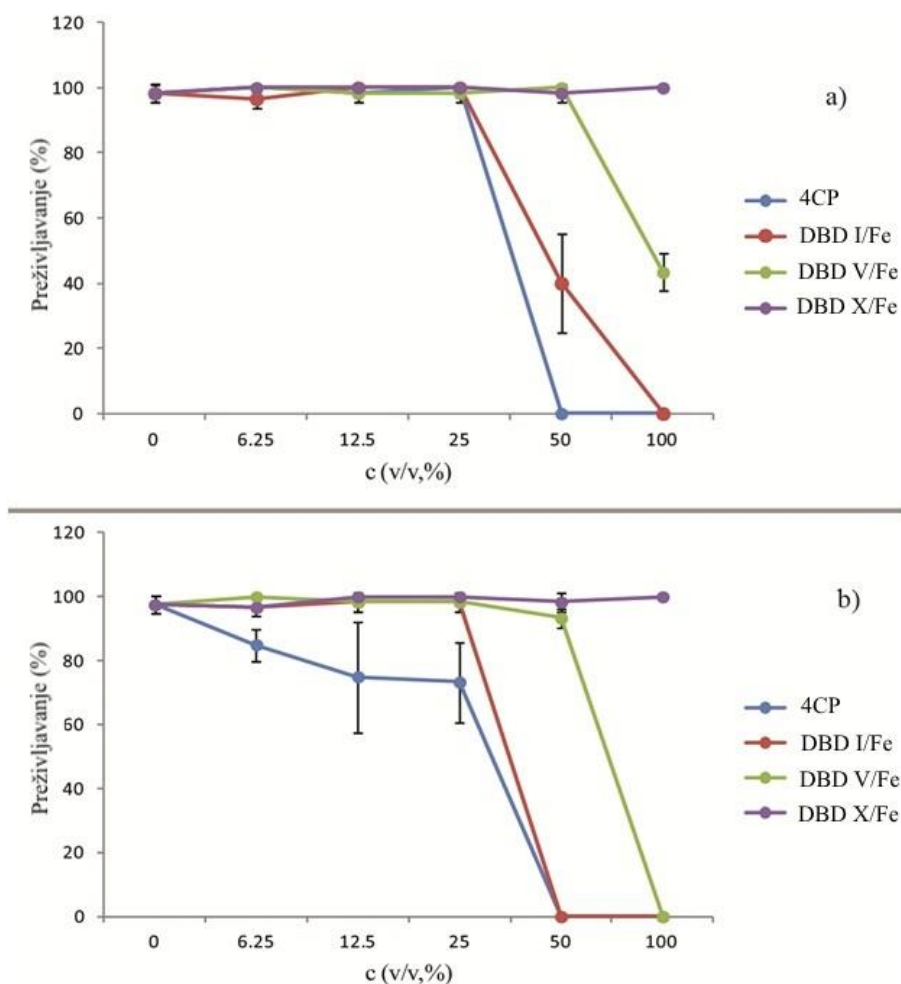


Slika 33. Preživljavanje (srednja vrednost sa SD; %) *A. salina* nakon kontakta od 24 h (a) ili 48 h (b) sa početnim rastvorom 4CP, kao i rastvorima tretiranim u DBD reaktoru (DBD I, DBD V i DBD X)

Nakon izlaganja larvi rastvoru 4CP, tretiranom kroz V prolaza (DBD V), u testu akutne toksičnosti koji je trajao 48 h (Slika 33b) procenat preživljavanje bio je niži u odnosu na početni rastvor 4CP pri koncentracijama ispitanog uzorka od 12.5 % i 25 % (v/v, %). Preživljavanje pri koncentraciji od 50 % (v/v) uzorka, koji je deset puta prošao kroz DBD (DBD X) bilo je $83 \pm 6\%$, dok pri najvišoj testiranoj koncentraciji uzorka DBD X (100%, v/v), nije bilo preživelih jedinki. Razblaživanjem uzorka sa kontrolnim medijumom na 50 % (v/v) uočeno je da se rastvor 4CP recirkulisan deset puta kroz DBD reaktor

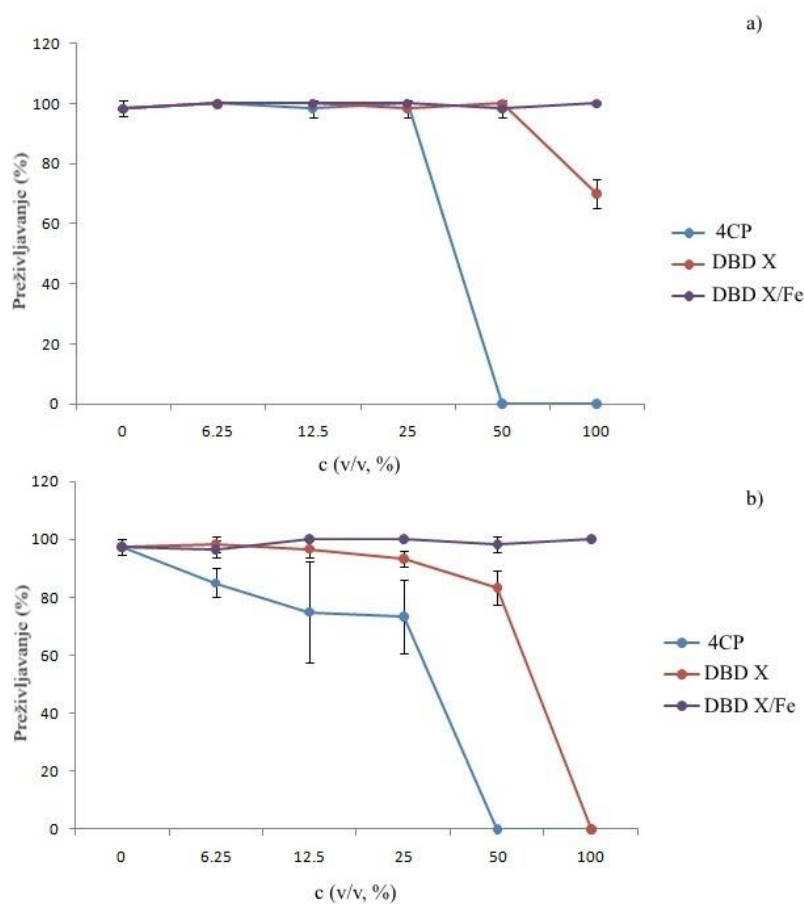
značajno razlikuje u odnosu na ostale rastvore i to 35% u odnosu na DBD I i do 70 % u odnosu na DBD V.

Poređenjem grafika na Slici 33a, gde imamo biološki odgovor “sve ili ništa”, koji je zabeležen za sve uzorke (osim rastvora DBD X) sa podacima na grafiku slike 33b, uočeno je da se krive preživljavanja razlikuju. Zabeleženi su subletalni efekti (npr.konvulzije) i pri koncentraciji od 50% (v/v) ispitivanih uzoraka. Učestalost subletalnih efekata pri ovoj koncentraciji (isključujući 4CP – gde nema preživelih) je bila najmanja u slučaju DBD X.



Slika 34. Preživljavanje (srednja vrednost sa SD; %) *A.salina* nakon kontakta od 24 h (a) ili 48 h (b) sa početnim rastvorom 4CP i rastvorom 4CP tretiranom u DBD reaktor sa dodatkom homogenog katalizatora Fe^{2+}

Nakon desetog prolaza rastvora 4CP kroz DBD reaktor (Slika 34b) preživljavanje, pri najvišoj ispitanoj koncentraciji tretiranog uzorka (100% v/v) posle 48 h testa bilo je 100%. U odnosu na nekatalitički DBD sistem, gde preživljavanje nije detektovano pri istoj koncentraciji uzorka, uvideli smo prednost primene katalizatora. Takođe subletalni efekti nisu uočeni nakon tretmana DBD X/Fe²⁺ u odnosu na DBD X sistem.



Slika 35. Preživljavanje *A. salina* (test od 48h) nakon ekspozicije rastvoru 4CP tretiranom u nekatalitičkom DBD i katalitičkom DBD X /Fe sistemunakon deset prolaza kroz plazma tretman (450 kJ/L)

Dokazano je da postoji statistički značajna razlika (Mann-Whitney U – test: $p < 0.05$; 48 h) u preživljavanju između početnog rastvora 4CP i rastvora tretiranih u DBD reaktoru posle X recirkulacija (DBD X) sa ili bez katalizatora.

Dodavanjem katalizatora Fe^{2+} postignut je znatno veći procenat preživljavanja, tj. smanjenje toksičnog efekta. Ovo je značajna prednost katalitičke NTP metode u tretmanu 4CP zagađujuće supstance.

Preliminarnim ispitivanjem toksičnosti oba DBD sistema sa katalizatorom (Fe^{2+} ili H_2O_2) su imala manji toksični efekat u odnosu na DBD sistem bez katalizatora, ali kada se porede ta dva sistema međusobno uočavamo da je DBD/ H_2O_2 sistem doveo do većeg toksičnog efekta u odnosu na DBD/ Fe^{2+} i zato dalje nije korišćen pri ispitivanju toksičnog efekta nakon degradacije 4CPAOP tretmanima.

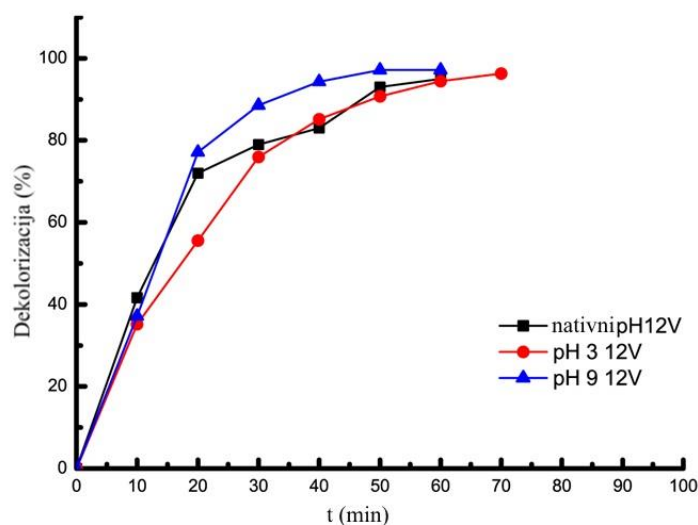
4.5 Azo boje optimizacija pH i napona

U cilju optimizacije procesa dekolorizacije reaktivnih boja RG15, RY125 i RB52, elektroliza je ispitana u model sistemu Pt-Pd pri različitim vrednostim pH (nativni, 3 ili 9) i različitim vrednostima napona (4,5; 6 ili 12V). Nativna vrednost pH zelene boje RG15, žute boje RY125 i plave boje RB52 bila je 6,1; 5,7 i 5,8 respektivno. Uticaj ovih parametara na efikasnost dekolorizacije određena je variranjem napona pri konstantnoj vrednosti pH, a potom variranje vrednosti pH pri konstantnom naponu.

Koncentracija boje je bila 200 mg/L (RG15 i RY125) ili 60 mg/L (RB52) u zapremini od 340 mL (0.1 M Na_2SO_4); sud u kome je rađena elektroliza termostatiran je na 25°C. Pomoćni elektrolit korišćen u eksperimentalnim postavkama elektrolize bio je Na_2SO_4 (umesto NaCl), jer se inače nalazi u realnim uzorcima otpadne vode tekstilne industrije i ne dovodi do formiranja toksičnih nusproizvoda tokom elektrolize (Wang i saradnici, 2008)

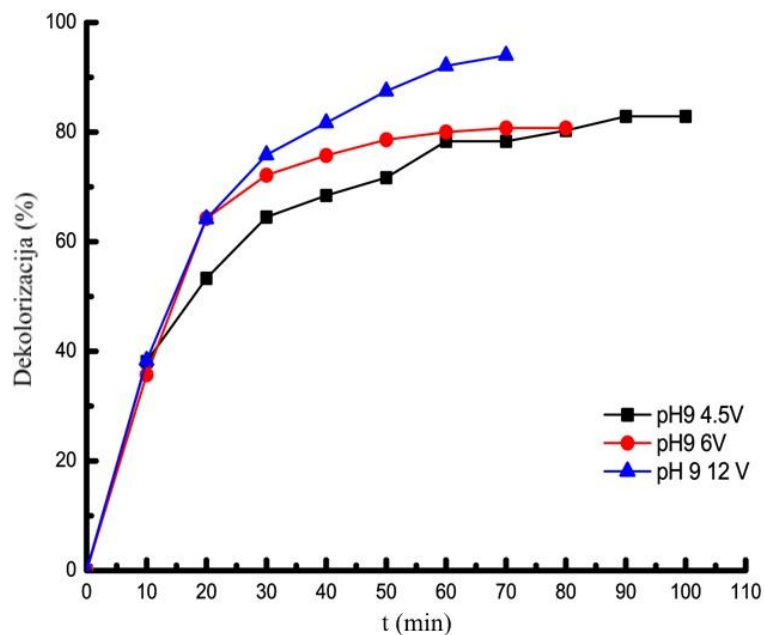
Kao otpimalni uslovi za elektrohemijsku degradaciju dve reaktivne boje RG15 i RY 125 pokazali su se pH 9 i razlika potencijala od 12V u model sistemu (Pt-Pd), što nije bilo primenljivo i za plavu boju RB52.

Postignuti procenat degradacije za RG15 pod ovim parametrima bio je 98%, nakon 60 min tretmana. Kada je primenjen napon od 4,5V ili 6V postignut je procenat dekolorizacije od 90%, ali nakon 90 min. Nativna vrednost pH (6,06) nije odabrana kao povoljan parametar za elektrolizu zelene boje RG15, jer se pokazala kao manje efikasna (Slika 36).



Slika 36. Model sistem Pt-Pd, dekolorizacija (%) reaktivne zelene boje (RG15; koncentracije od 200 mg/L), na 12 V za različite vrednosti pH (nativni (6,06), 3 ili 9)

Dekolorizacija žute boje RY125 koja je postignuta pod optimalnim uslovima je bila 95% nakon 70 min. U slučaju tretmana gde su primenjeni naponi 4,5V ili 6V, postignut je procenat dekolorizacije od 80%. Ovi tretmani su duže trajali i pokazali nižu efikasnost dekolorizacije (Slika 37).



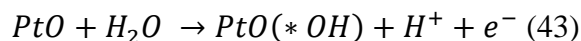
Slika 37. Model sistem Pt-Pd, dekolorizacija (%) reaktivne žute boje 125 (RY125; koncentracije od 200 mg/L), pH 9 za različite napone (4.5, 6 ili 12V).

U svim drugim eksperimentima gde su parametri pH vrednosti i napona ispitani u drugim kombinacijama (za žutu i zelenu boju) efikasnost degradacije je bila manja i/ili je tretman trajao duže od 100 min.

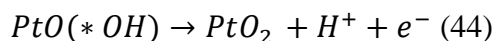
Elektroda Pt se naziva “aktivna” anoda i okarakterisana je visokim procentom dekolorizacije, ali malim nivoom dekontaminacije vode. U različitim studijama je uočeno da se primenom Pt anode ostvaruje smanjeni prinos hidroksi radikala. Na površini anode istovremeno se odigrava adsorpcija hidroksi radikala i reakcija generisanja viših oksida.

Reakcije na anodi:

Prvi korak je indirektna anodna oksidacija i formiranje hidroksi radikala



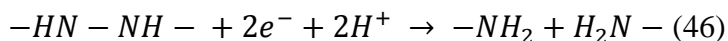
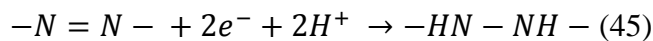
Sledeći korak u degradaciji zavisi od prirode elektrodnog materijala, da li je elektroda tzv. "aktivna" ili "neaktivna". U slučaju aktivnih elektroda hidroksi radikali se adsorbuju na površinu i intereaguju sa elektrodom. Na ovaj način dolazi do formiranja viših oksida na površini elektrode.



Redoks par PtO/PtO₂ predstavlja medijator u konverziji ili selektivnoj oksidaciji organskih zagađujućih supstanci na "aktivnoj" elektrodi.

Reakcije na katodi:

Na katodi dolazi do redukcije azo grupa do odgovarajućih amina:



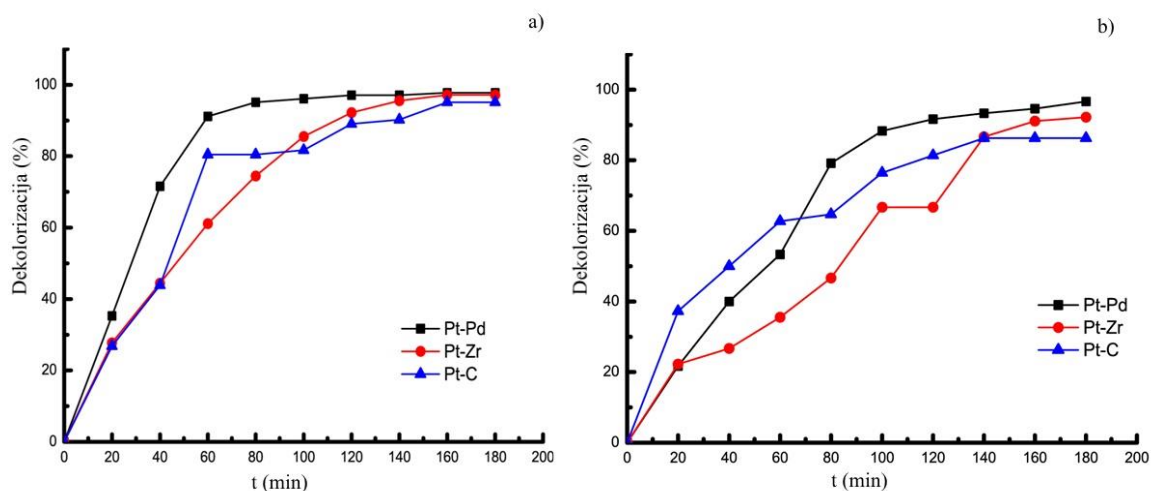
Nakon elektrolize tretirani rastvor je imao malu vrednost pH (pH 2-3). Takođe u studijama gde je korišćena Pt kao anoda u tretmanu - dekolizaciji otpadnih voda tekstilne industrije detektovane su organske kiseline tipa: sirćetna, oksalna i maleinska (Hamzai saradnici, 2009). Vrednost pH, u uzorcima nakon elektrolize je podešena radi ekotoksikoloških testovana pH 8 (0,1M NaOH), kako pH ne bi imao uticaj na fiziološki odgovor organizama.

4.6 Degradacija reaktivnih boja (RG15, RY125) u visokoj koncentraciji

Kada su optimalni parametri elektrohemijske degradacije azo boja (RG15 i RY125) određeni, početna koncentracija boja je povišena na 1000 mg/L i dalje je ispitana efikasnost degradacije u različitim reakcionim sistemima Pt-Pd, Pt-Zr i Pt-C. Dekolorizacija je praćena UV-Vis metodom, a elektroliza je zaustavljena na najvišem postignutom procentu dekolozacije.

Tretirani rastvor reaktivne boje je analiziran u ekotoksikološkim testovima za procenu potencijalnog toksičnog efekta rastvora. Objašnjenje za ispitivanje tako visokih koncentracija boje pronađeno je u literaturi, gde se navodi da u efluentima bazena za bojenje (Nigerija) koncentracije boja prevazilaze 600 mg/L (Yusuff i Sonibare, 2004). Vrednost pH svakog rastvora je podešen na 9 sa 0,1 M NaOH.

Dužina tretmana – dekolozacije, kao što je i očekivano bila je produžena sa povećanjem koncentracije u svim ispitanim sistemima u poređenju sa model sistemom (Pt-Pd). Najefikasnija dekolozacija RG15 od 97,77% , pri visokoj početnoj koncentraciji azo boje postignuta je u sistemu Pt-Pd nakon 160 min tretmana (Grafik na Slici 38a). U drugimsistema procenat degradacije nakon 160 min iznosio je: 97,14% u sistemu Pt-Zr i 95,12% u sistemu Pt-C. Dekolorizacija RG15 u sistemu Pt-Pd nakon 80 min iznosila je 97%. Produžavanjem vremena dekolozacije dalje je postignut svega 1% dekolozacije. Reakcioni sistemi Pt-Zr i Pt-C za 80 min tretmana postigli su manje od 80 % procenat dekolozacije.



Slika 38. Dekolorizacija (%) RG15 (a) i RY125 (b) u elektrohemijском procesu pomoću različitih reakcionih sistema (Pt-Pd, Pt-Zr ili Pt-C) pH 9 i 12 V

Reakcioni sistem Pt-Pd se pokazao kao veoma efikasan tretman i u dekolorizaciji žute boje RY125, pri čemu je postignut procenat dekolorizacije od 96,67% (%) nakon 80 min tretmana. U drugim sistemima je postignut procenat dekolorizacije od 92,23% u Pt-Zr i 86,27% u Pt-C (Slika 38b). Produžavanjem vremena tretmana žute boje RY125 u svim sistemima, postignut je viši procenat dekolorizacije od 97,10% ,ali nakon tretmana od 300 min i to samo u Pt–Zr sistemu.

Poređenjem učinka Pt-Pd tretmana za dekolorizaciju obe boje, uočili smo da se ovaj sistem pokazao kao daleko efikasniji u dekolorizaciji zelene (RG15) u odnosu na žutu boju (RY125). Dvostruko više vremena je bilo potrebno kako bi se postigao približno isti procenat dekolorizacije u tretmanu žute boje.

Tokom tretmana – dekolorizacije, uočeno je formiranje pene u svim sistemima (Pt-Pd, Pt-Zr i Pt-C). Prema autoru Zheng (2012) pena potiče od molekula boje, jer pri odvajanju amin ili metil grupe sa molekula boje, struktura molekula se menja iz polarne u nepolarnu, a samim tim smanjuje se rastvorljivost supstance. Tokom elektrolize, mehuri vodonika koji se formiraju na katodi doprinose izdizanju pene na površinu tretiranog rastvora. Sličan trend dekolorizacije uočen je za obe boje između elektrohemijских sistema

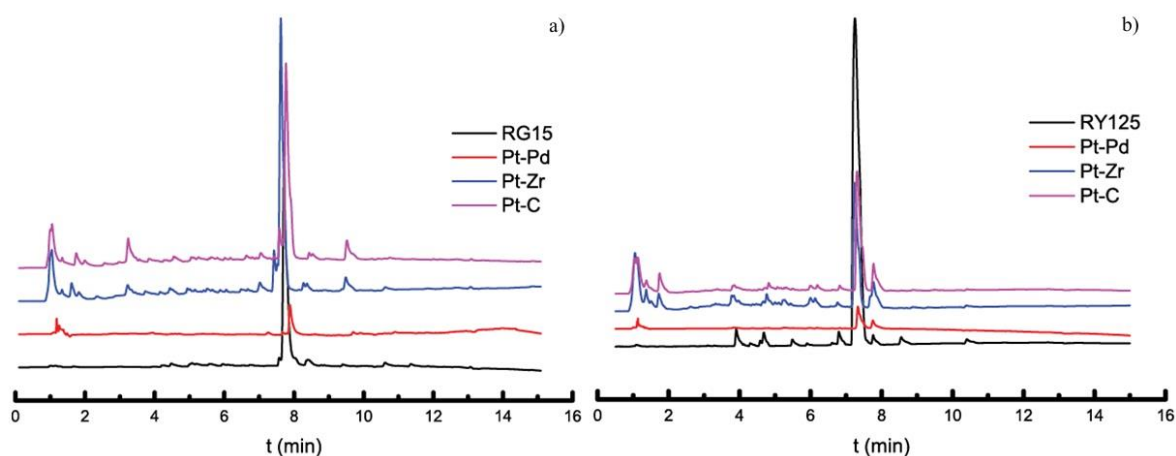
Pt-Zr i Pt-C, što se takođe može uočiti na hromatogramima ovih sistema pri dekolizaciji od 50% (Slika 39).

4.7 HPLC analiza degradacije reaktivnih boja RG15 i RY125

Kako bi pored dekolizacije potvrdili degradaciju reaktivnih boja (1000 mg/L) u svim sistemima (Pt-Pd, Pt-Zr i Pt-C), uzorci boja RG15 i RY125 su uzimani pri dekolizaciji od 50 % i pri najvišem postignutom procentu dekolizacije nakon elektrohemijskog tretmana.

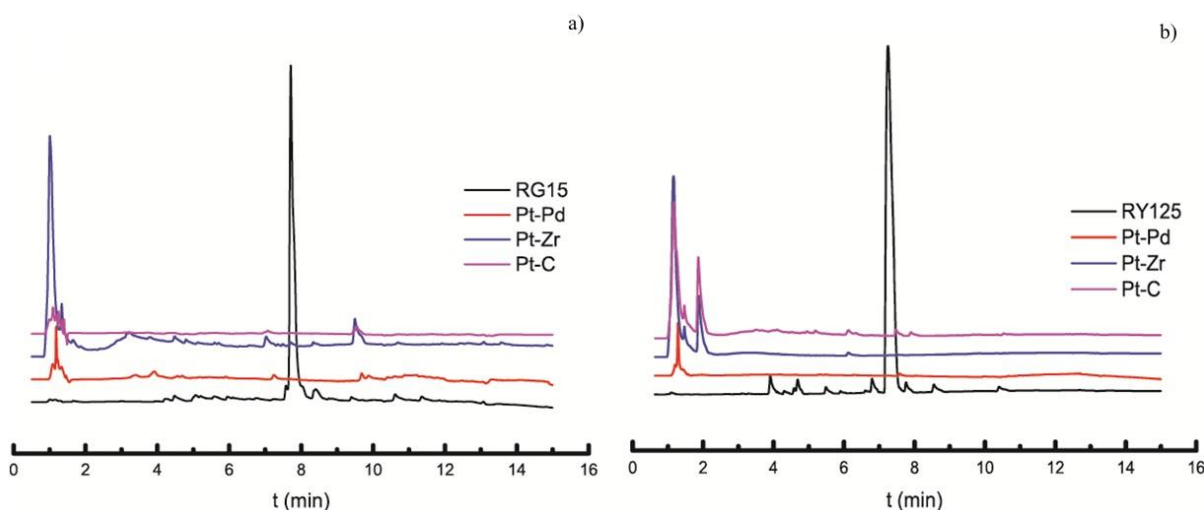
Smanjenje apsorbance rastvora tokom EAOP tretmana ukazuje na to da je došlo do raskidanja $-N=N-$ veze u aromatičnoj strukturi. Značajna korelacija između degradacije aromatičnih supstanci i procenta dekolizacije (%) boje opisana je kao metoda za procenu efikasnosti samog procesa degradacije boje (Sanromán i saradnici, 2004).

Početni rastvor RG15 beleži pik pri $t_r = 7,66$ min na hromatogramu, nakon čega je uočeno progresivno smanjenje površine pika usled degradacije hromatofore u sva tri sistema (Slika 40a). Ista metoda je upotrebljena za praćenje efikasnosti degradacije RY125 boje ($t_r = 7.25$ min) u sva tri sistema (Slika 39b).



Slika 39. Proizvodi degradacije RG15 (a) i RY125 (b) rastvora boje pri 50 % dekolizacije, postignuta je pomoću Pd, Zr ili C kao elektrode ($\lambda = 254$ nm)

Ovakav trend je takođe potvrđen i analizom uzoraka rastvora boje na maksimalno postignutom procentu dekolorizacije (Slika 40a i 40b). Detektor je bio podešen na 254 nm (talasna dužina apsorbanca aromatičnih struktura) i na hromatogramima se uočava da su prisutne supstance koje nisu bile pristune u početnom rastvoru boja. Značajne količine proizvoda degradacije su uočene u rastvoru nakon tretmana RY125 boje pomoću sistema Pt-Zr i Pt-C pri maksimalno postignutom procentu dekolorizacije.



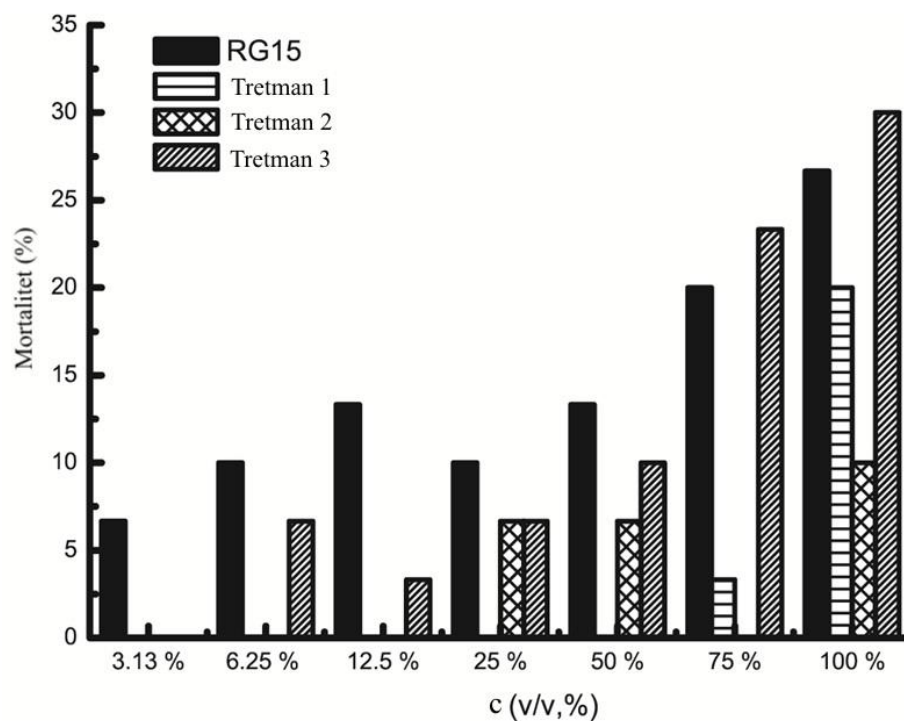
Slika40. Proizvodi degradacije azo boje RG15 (a) i RY125 (b) pri maksimalnom procentu dekolorizacije pomoću Pd, Zr ili C kao elektrode ($\lambda = 254$ nm)

Na osnovu prikazanih hromatograma može se smatrati da je mehanizam degradacije u svim sistemima bio isti, ali je efikasnost degradacije obe boje bila najznačajnija pomoću Pt-Pd sistema. Druga dva sistema su okarakterisana kao manje efikasna (Pt-Zr i Pt-C) u degradaciji RG15 i RY 125.

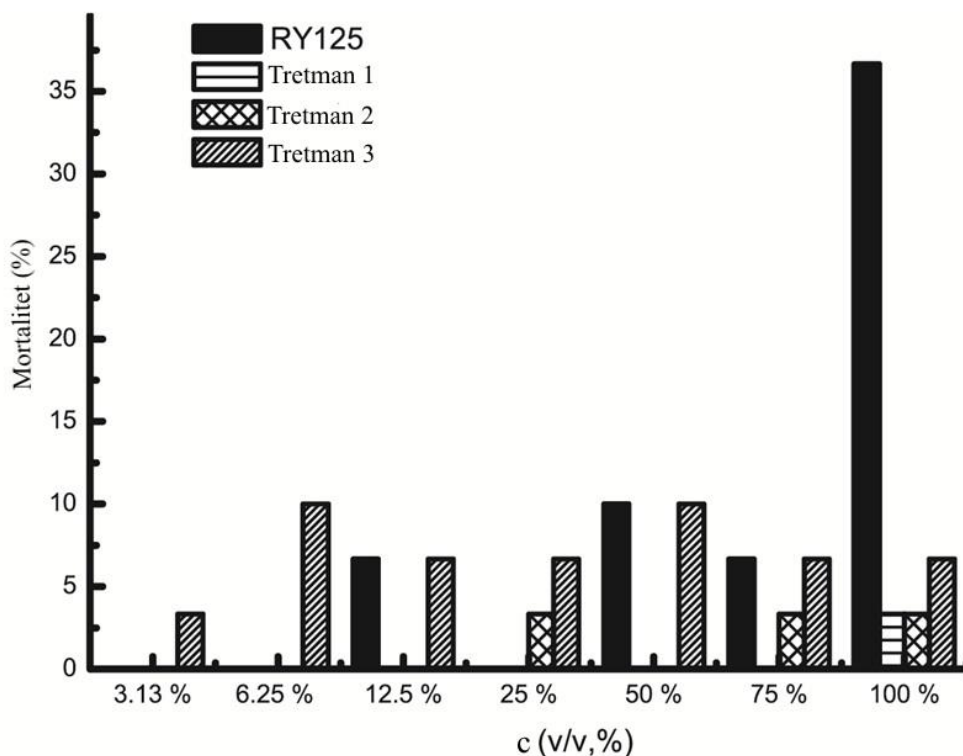
4.8 Procena toksičnog efekta

Natrijum-hlorid nije korišćen kao elektrolit u eksperimentalnim postavkama, jer dovodi do formiranja toksičnih organohlorinih nusproizvoda koji su otporni na dalju oksidaciju (Chatzisyneon i saradnici, 2006). Natrijum-sulfat je korišćen kao elektrolit, jer je prisutan u realnim uzorcima otpadnih voda tekstilne inustrije. Druga prednost ovog elektrolita je što tokom elektrolize ne dolazi do formiranja toksičnih i reaktivnih nusproizvoda. Uzorci za ekotoksikološke testove su uzimani od početnog rastvora pre tretmana i pri najvišem stepenu dekolozacije rastvora - nakon tretmana, kako bi se ispitao toksični efekat proizvoda degradacije. Mortalitet nije zabeležen u kontrolnoj grupi, tako da je osnovni kriterijum validnosti testa bio ispunjen (stopa preživljavanja viša od 90%), kao i odgovor u pozitivnoj kontroli koji je bio u odgovarajućem opsegu. Najviša testirana koncentracija (100%, v/v) netretiranih rastvora obe boje (RG15 i RY125) imala je viši toksični efekat na larve (mortalitet (%)) nego bilo koji tretirani rastvor boje, osim u slučaju Pt-C tretmana zelene boje (Slika 41 i Slika 42). U Pt-C sistemu mortalitet (%) izazvan proizvodima degradacije RG15 boje bio je približno isti (30 %) kao i u ispitivanju toksičnosti početnog rastvora RG 15 (27 %).

Dobijene vrednosti mortaliteta (%) su transformisane (arcsin) neposredno pre statističke analize. U slučaju RG15 boje statistički značajna razlika u mortalitetu (Slika 41) je uočena između svih tretmana (Kruskal-Wallis test: $p < 0.05$). Poređenjem efekata u svakom sistemu sa početnim (netretiranim) rastvorom boje pomoću Mann-Whitney U-testa ($p < 0.05$) uočena je statistički značajna razlika između netretiranog rastvora RG15 i rastvora RG15 tretiranog u Pt-Pd (Tretman 1) i Pt-Zr (Tretman 2) sistemu. U mortalitetu između netretiranog rastvora RG15 boje i rastvora boje tretiranog u Pt-C sistemu (Treatment 3) nije uočena statistički značajna razlika.



Slika 41. Toksični efekat (%) reaktivne zelene boje RG15 pre i nakon elektrohemijškog tretmana pomoću Pt-Pd (Tretman 1), Pt-Zr (Tretman 2) i Pt-C (Tretman 3) sistema



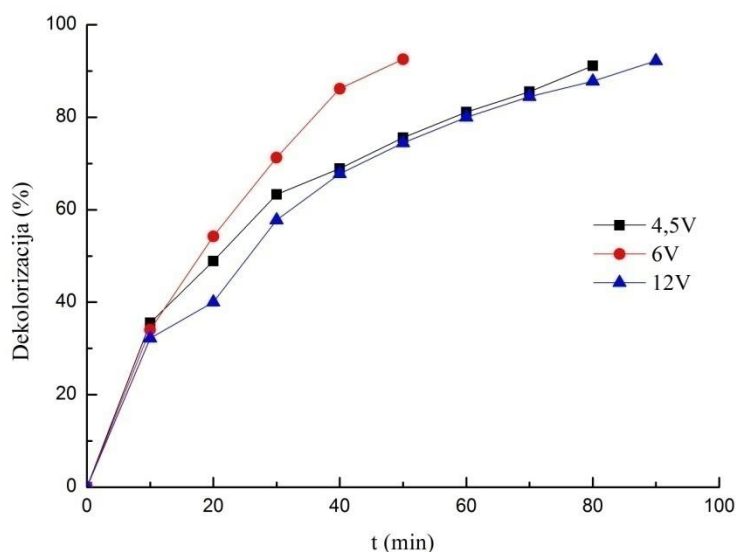
Slika 42. Toksični efekat (%) reaktivne žute boje RY125 pre i nakon elektrohemijskog tretmana pomoću Pt- Pd (Tretman 1), Pt-Zr (Tretman 2) i Pt-C (Tretman 3) sistema

U slučaju reaktivne žute boje RY125 statistički značajna razlika u mortalitetu je uočena između svih tretmana (Kruskal-Wallis test: $p < 0.05$). Uporednim poređenjem primenom Mann-Whitney U-testanije uočena statistički značajna razlika ($p > 0.05$) između netretiranog rastvora RY125 boje irastvora tretiranog u Pt-Pd sistemu (Tretman 1), Pt-Zr (Tretman 2) ili Pt-C (Tretman 3) sistemu. U svakom slučaju, najviša testirana koncentracija 100% (v/v) rastvora RY125 nakon svih tretmana, uočena je značajna razlika u mortalitetu (%) (Slika 42).

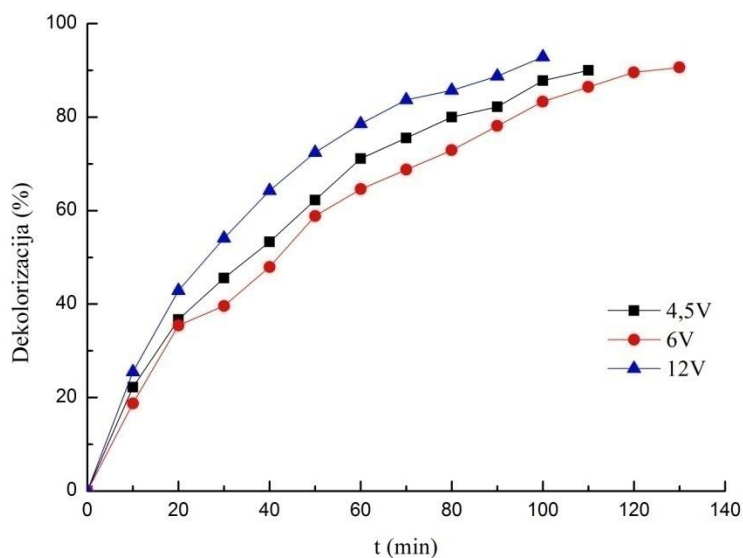
Nakon postizanja maksimalnog stepena dekolorizacije žute boje RY125 primenom Pt-Pd ili Pt-Zr sistema toksični efekat na *A.salina* je bio manji od kriterijuma validnosti za kontrolnu grupu (10%). U uzorcima koji su tretirani Pt-Pd sistemom pri bilo kojoj testiranoj koncentraciji (razblaženju) toksični efekat (mortalitet %) je bio najniži ili nije zabeležen za obe boje. Mortalitet od 50 % nije uočen za početne rastvore reaktivnih boja, a nije ni postignut nakon rocesa dekolorizacije i degradacije boja RG15 i RY125. Vrednost LC_{50} bila bi iznad 100% testiranog uzorka (teorijski), odnosno $TU_a < 1$ i tretirani rastvori boja se mogu smatrati „niskotoksični“ ili čak „netoksični“.

Parametri koji su bili optimalni za degradaciju boja RG15 i RY125, nisu imali istu efikasnost pri degradaciji boje RB52. Kao najpovoljniji parametar degradacije RB52 (60 mg/L, nativni pH= 5,85) pokazala se vrednost pH 3 (Jović i saradnici, 2013) i potom su svi reakcioni sistemi (Pt-Pd, Pt-Zr ili Pt-C) ispitani pri ovoj vrednosti za različite vrednosti napona (4,5; 6 i 12 V).

Sistem Pt-Pd (Slika 43) omogućava najbržu dekolorizaciju RB52 boje (92%) u vremenskom intervalu od 50 min, na pH 3 i primenom potencijala od 6V.

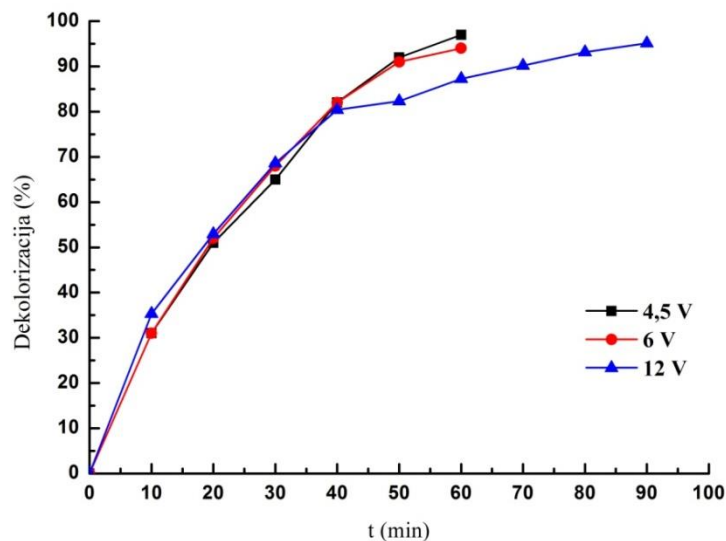


Slika 43. Efikasnost dekolorizacije RB52 pri konstantnim uslovima pH 3 i promeni napona (4,5V; 6V i 12 V) u Pt-Pd sistemu



Slika 44. Efikasnost dekolorizacije RB52 boje pri konstantnim uslovima pH 3 i promeni napona (4,5V; 6V i 12 V) u Pt-C sistemu

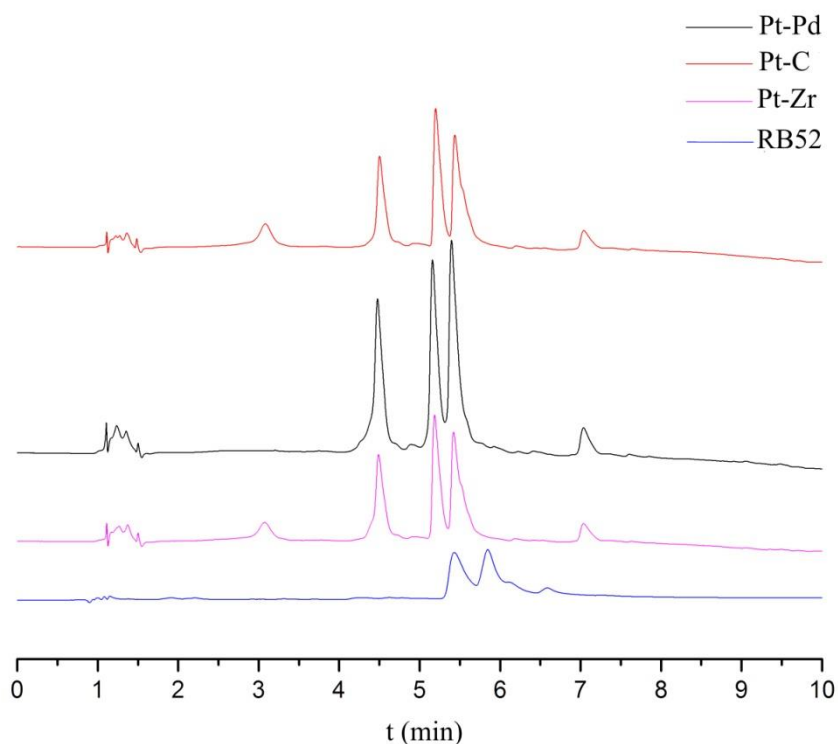
Reakcioni sistem Pt-C postigao je najviši stepen dekolorizacije za duplo duže vreme tretmana (92%, 100 min) u odnosu na Pt-Pd, na pH 3 i primenom napona od 12 V.



Slika 45. Efikasnost dekolorizacije RB52 boje pri konstantnim uslovima pH 3 i promeni napona (4,5V; 6V i 12 V) u Pt-Zr sistemu

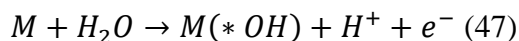
U slučaju plave boje RB52 kao najefikasniji sistem za dekolorizaciju pokazao se Pt-Zr sistem, gde je nakon 90 min postignut najviši procenat dekolorizacije od 95%. Optimalni uslovi za dekolorizaciju ovom sistemu bili su pH 3 i napon 4,5 V.

Hromatogrami su snimljeni nakon tretmana rastvora RB52 u sva tri sistema, primaksimalno postignutom procentu degradacije u optimalnim uslovima za efikasnost degradacije. Najizraženija razlika u proizvodima degradacije uočena je u sistemu Pt-Pd, gde se naretencionom vremenu od oko 3 min vidi odsustvo proizvoda degradacije koji se javlja u drugim sistemima (Pt-Zr i Pt-C) (Slika 46). Takođe, proizvod degradacije zabeležen na $t_r=5.5$ min u Pt-Pd sistemu blago je pomeren na niže vrednosti i ima drugačiji oblik pika što ukazuje na to da nije isti kao u drugim sistemima za degradaciju. Površina pika RB52 je potpuno redukovana i ne uočava se na hromatogramima tretiranih rastvora.

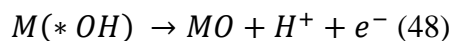


Slika 46. Degradacija RB52boje (60 mg/L), pri pH3 i najpovoljnijim uslovima degradacije za svaki sistem (Pt-Pd, Pt-Zr ili Pt-C); početni rastvor plave boje RB52 sa $t_r= 5.32$ min

U sva tri elektrohemijška sistema Pt elektroda je korišćena kao anoda (“aktivna anoda”). Prema literaturi, reakcija na anodi započinje oksidacijom molekula vode, što dovodi do pojave fizisorbovanog hidroksil radikala $M(*OH)$ (47).

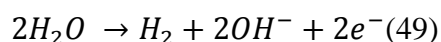


U sledećem koraku dolazi do formiranja višeg oksidnog stanja ili superoksida MO koji nastaju na standardnom potencijalu koji je viši od potencijala za nastanak kiseonika. Redoks par MO/M posreduje u degradaciji azo boja (48).

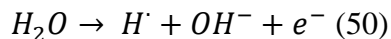


U praksi, na anodi seistovremeno odvijaju reakcije oksidacije organskih zagađujućih supstanci i formiranje kiseonika. Kao uopšteno pravilo javlja se to da što je reverzibilni potencijal redoks para na površini elektrode bliži potencijalu nastanka kiseonika veća je aktivnost anode.

Reakcije koje se odigravaju na Zr ili C katodi bile bi:



Dominantna reakcija na Pd elektrodi, za razliku od Zr i C elektroda, je formiranje nascentnog vodonika kroz reakciju:



Elektrodni materijali radi korišćenja u EAOP metodama, moraju ispuniti dva uslova: dobru provodljivost i stabilnost, tj, otpornost na koroziju. Metodom ICP-OES utvrđeno je da nije došlo do trošenja katoda tokom elektrohemijškog tretmana reaktivnih azo boja.

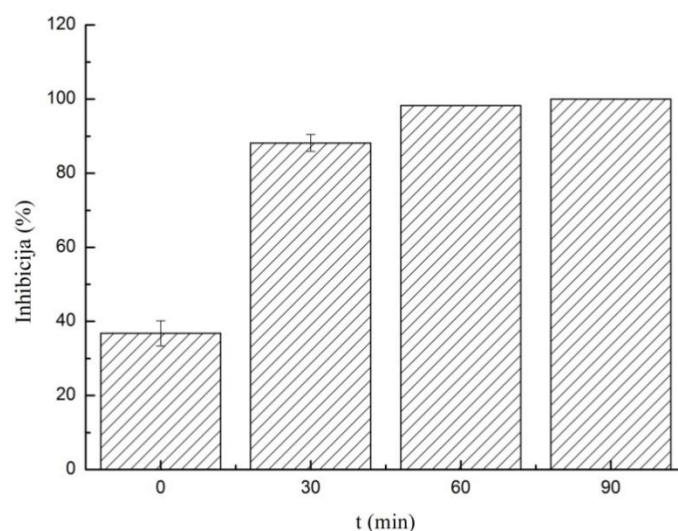
Kada su uslovi optimizovani za sve sisteme, povećana je koncentracija RB52 (1000 mg/L) i urađeni su testoviekotoksičnosti. U slučaju *A.salina* početni rastvor boje RB52 je pokazao manju toksičnost u odnosu na rastvore tretirane u sva tri sistema (Pt-Pd, Pt-Zr ili Pt-C) do postizanja najvišeg procenta dekolorizacije. Uočena je statistički značajna razlika između početnog rastvora boje u odnosu na rastvor boje tretiranom u bilo kom sistemu (Mann-Whitney U – test: $p < 0.05$), ali ne i između tri sistema elektrohemijske degradacije. Toksičnost proizvoda degradacije je bila veća od toksičnosti polaznog molekula boje što je i pokazano izračunavanjem LC_{50} vrednosti (Tabela 12), gde nakon svih tretmana ona opada za oko 40%.

Tabela 12. *A.salina* test akutni toksičnosti (24h), LC_{50} vrednosti (TesTox softvera, Teodorović i Maurić 2003) početnog rastvora plave boje RB52 (1000 mg/L) i rastvora tretiranih različitim EAOP sistemima (Pt-Pd, Pt-Zr ili Pt-C)

<i>A.salina</i> 24 h LC_{50}	
RB52	$LC_{50} = 92,59\%$ (63,56-134,88)
Pt-Pd	$LC_{50} = 55,64\%$ (54,52-56,78)
Pt-Zr	$LC_{50} = 52,59\%$ (44,81-61,72)
Pt-C	$LC_{50} = 53,91\%$ (47,50-61,19)

Sistem Pt-Zr se pokazao kao najefikasniji u dekolorizaciji RB52, ponovili smo eksperiment sa višom koncentracijom boje (1000 mg/L), pri optimalnim uslovima za dekolorizaciju (pH 3 i 4,5V) i uzorkovali po 5 mL tretiranog rastvora pre tretmana, kao i nakon 30, 60 i 90 min tretmana. Ekotoksičnost tretiranih rastvora boje ispitali smo na *V.fischeri* kako bi utvrdili da li je samo *A.salina* osetljiva na proizvode degradacije.

Najviša testirana koncentracija tretiranog uzorka je bila 50% (c, v/v), usled razblaženja uzorka u kivetu bakterijskom suspenzijom (ISO, 2007), a vreme ekspozicije je bilo 30 min (H_{30}). Uočeno je (Slika 47) da se toksični efekat tretiranog rastvora ispoljava i na soju *V.fischeri*. Intenzitet inhibicije bioluminiscence (%) je pozitivno korelisan ($r=0.865$) u odnosu na vreme tretmana.



Slika 47. Inhibicija (%) bioluminiscence *V.fischeri* ispitanog rastvora RB52 (1000mg/L) nakon dekolorizacije u Pt-Zr sistemu (srednja vrednost \pm SD).

Veću osetljivost oba test modela na proizvode degradacije plave boje RB52 primenom EAOP-a, možemo objasniti ili slabom efikasnošću degradacije aromatičnih amina koji nastaju degradacijom početnog molekula boje usled sukcesivne oksidacije i redukcije u nepodeljenoj elektrohemskoj ćeliji. Drugi razlog može biti oslobađanje Cu iz kompleksa boje usled degradacije molekula boje.

4.9 Degradacija ibuprofena pomoću „AOP“-a

Vodosnadbavanje u našoj zemlji koristi i površinske vodotokove u pripremi vode za piće. Eksperimentalni rad urađen u ovoj disertaciji spada u okvir projekta koji ispituje optimizaciju i primenu AOP-a za tretman realnih uzoraka vode. Tokom izrade disertacije, korišćen je model sistem rastvora supstance i NTP-a, pod opisanim uslovima i koncentraciji IBP-a od 60 mg/L. Upotrebljena koncentracija IBP-a bila je znatno veća nego u realnim uzorcima vode (η g/L- μ g/L), kako bi se detektovali, identifikovali i ispitali ekotoksikološki efekti proizvoda degradacije.

Efikasnost degradacije IBP -a u rastvoru koji je tretiran u DBD reaktoru, kao i pomoću Fentonove reakcije praćena je primenom HPLC-DAD tehnike i izražena kao procenat degradacije početne supstance pomoću jednačine (η , %):

$$\eta = \left(\frac{P_0 - P_t}{P_0} \right) * 100 \quad (51)$$

P_0 - površina pika početne koncentracije IBP-a (mAU*min);

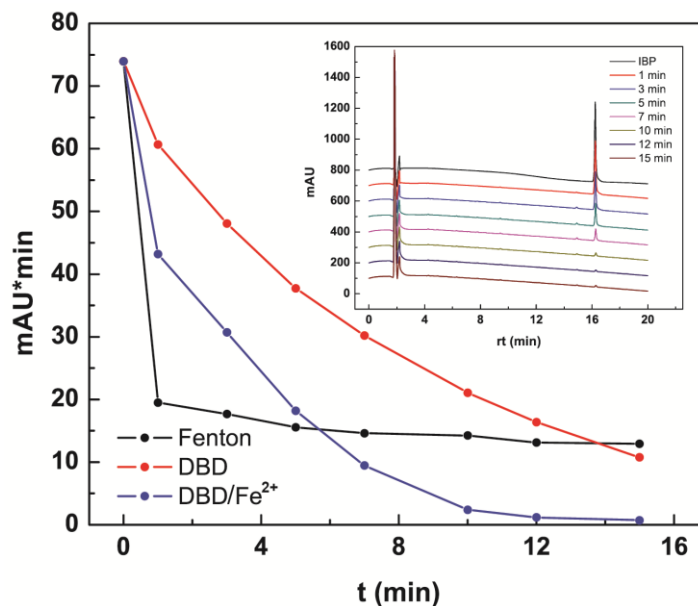
P_t - površina pika rezidualne koncentracije IBP-a pri odgovarajućoj SED vrednosti ili vremenu tretmana (mAU*min).

Efikasnost degradacijetokom tretmana određena je poređenjem površine pika početnog rastvora IBP-a i tretiranog rastvora preko smanjenja površine pika (mAU*min). Standardni rastvor IBP-a na hromatogramu zabeležio je pik na $t_r=16,2$ min.

Efikasnost degradacije IBP u NTP reaktoru nakon 15 min tretmana bila je 85% (nekatalitički DBD) i 99% pri dodatku homogenog katalizatora (DBD/Fe²⁺). Dinamika degradacije IBP-a bila je efikasnija u DBD/Fe²⁺ sistemu, gde je tokom prvih 10 min tretmana, za istu vrednost SED jedinica efikasnost bila veća za 30% u odnosu na druga dva sistema. Nakon 12 min razlika u % degradacije, između tretmana, smanjila se na 20%, a nakon sledećih 15 min tretmana razlika u % degradacije je bila ispod 20%, pri čemu je degradacija u DBD/Fe²⁺ tretmanu dostigla plato.

Uočeno je, da dodatak homogenog katalizatora značajno utiče na efikasnost degradacije IBP-a u NTP tretmanu. Fentonov tretman je doveo do značajnog smanjenja pika IBP-a, samo nakon jednog minuta. Efikasnost degradacije u tom trenutku bila je 78%, a daljim tretmanom njena vrednost nije prešla 85% do dostizanja platoa.

Ovi rezultati su predstavljeni na Slici 49. kao poređenje efikasnosti degradacije IBP-a, na osnovu redukcije površine pika (mAU*min) tokom 15 min tretmana u Fentonu i DBD u odnosu na DBD/Fe²⁺. Vrednosti SED jedinica date su u Tabeli 1, a u sliku 48, umetnut je hromatogram koji predstavlja efikasnost degradacije IBP-a, tokom tretmana (min) u samom sistemu DBD/Fe²⁺.



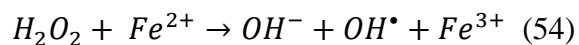
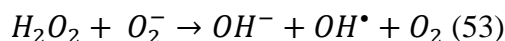
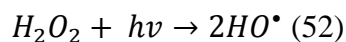
Slika 48. Efikasnost degradacije (%) IBP primenom netermalne plazme (NTP) u DBD reaktoru bez katalizatora DBD, sa dodatkom katalizatora DBD/Fe²⁺ i Fenton tretmanu. Umetnuti hromatogram prikazuje analizu rastvora ibuprofena nakon 1,3,5,7,10,12 i 15 min tretmana u DBD/Fe²⁺ sistemu ($\lambda = 220\text{nm}$)

Tabela 13. Specifična gustina energije (SED) u svakom intervalu uzorkovanja IBP-a tokom degradacije u DBD reaktoru

Vreme tretmana (min)	SED [kJ/L]
1	11
3	33
5	56
7	79
10	114
12	137
15	172

U DBD/Fe²⁺ sistemu, gde je dodat homogeni katalizatori nakon 15 min tretmana pik IBP nije zabeležen. U DBD reaktoru, hidroksi radikali mogu nastati razlaganjem vodonik-peroksida (52), kao i u reakciji vodonik-peroksida sa superoksidnim radikalom (53).

U DBD/Fe²⁺ tretmanu, u prisustvu jona gvožđa inicirana je Fentonova reakcija. Gvožđe (Fe²⁺) je stimulisalo razlaganje vodonik-peroksida, koji nastaje u DBD reaktoru i dovelo do formiranja dodatne količine hidroksi radikala (54). Ovo je dalje moglo da dovede do uklanjanja IBP-a. Viša efikasnost degradacije u DBD/Fe²⁺ tretmanu, objašnjava se prisustvom homogenog katalizatora, koji je posredovao u formiranju dodatnih količina •OH radikala.

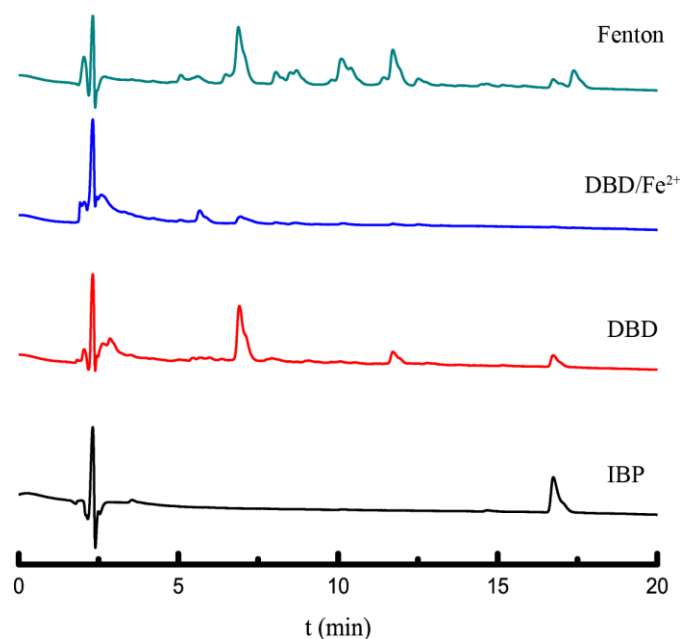


Pojedini autori su publikovali studije, gde se magnetit sa vodonik-peroksidom i natrijum-persulfatom koristi za inciranje Fentonove reakcije na neutralnoj vrednosti pH –

6,6 (Sabri i saradnici 2012), pri čemu ove studije nisu ispitale dalji toksikološki efekat proizvoda degradacije nakon tretmana.

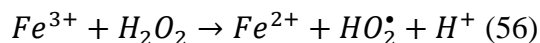
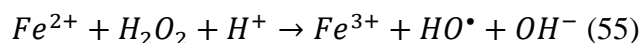
Klavarioti i saradnici (2009), navode da su optimalni uslovi u AOP tretmanu: kisela sredina, prisustvo svetlosti, vodonik-peroksida i gvožđa, kao katalizatora. Navedeni uslovi su bili korišćeni uprimenjenim AOP tretmanima, tokom izrade ove disertacije.

Na hromatogramu (Slika 49) uočena je smanjenje površine pika IBP u svim tretmanima, pri poređenju sa početnim rastvorom IBP-a. Različiti proizvodi degradacije (pikovi), prema retencionom vremenu su zabeleženi na hromatogramima (min), ali bez dalje kvantifikacije.



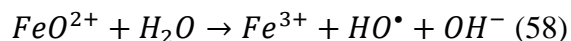
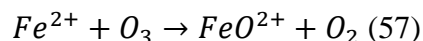
Slika 49. Degradacija ibuprofena (IBP) $t_r=16,2$ min, nakon 15 min DBD, DBD/Fe²⁺ i Fenton tretmana ($\lambda = 254$ nm)

U katalitičkom sistemu DBD/Fe²⁺ joni Fe²⁺ se obično koriste kao katalizatori sa ciljem povećanja oksidacione moći vodonik-peroksida koji se generiše u DBD reaktoru preko formiranja [•]OH radikala u Fentonovoj reakciji:



Joni Fe²⁺ se oksiduju pomoću vodonik-peroksida do jona Fe³⁺, hidroksilnih radikala i hidroksilnog anjona (45). Jon Fe³⁺ se zatim redukuje nazad do Fe²⁺ i HO₂[•] radikala (56).

Hidroksi radikali mogu nastati i reakcijom Fe²⁺ sa ozonom iz DBD reaktora (Sauleda, Brillas, 2001):



Koncentracije jona Fe²⁺ u eksperimentima bile su 5 mg/L za DBD/Fe²⁺ sistem i 25,2 mg/L u Fentonovom tretmanu. Sistem NTP sa Fe²⁺ je pokazao veću efikasnost degradacije u odnosu na nekatalitički DBD tretman (Slika 48). Najefikasniji sistem degradacije je bio Fe²⁺/DBD sistem (5 mg/L) u kome je postignuto potpuno uklanjanje ibuprofena za SED 172 kJ/L (Slika 49).

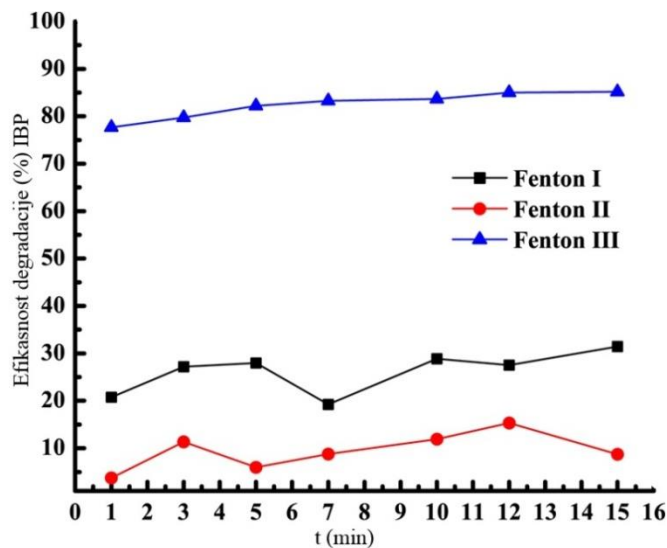
Odabrana koncentracija Fe²⁺ u Fenton bač tretmanu ispitana je poređenjem efikasnosti degradacije IBP-a primenom različitih odnosa koncentracije gvožđa (Fe²⁺) i vodonik-peroksida (H₂O₂) u sledećim odnosima:

2,81 mg/L: 0,11 mmol (Fenton I),

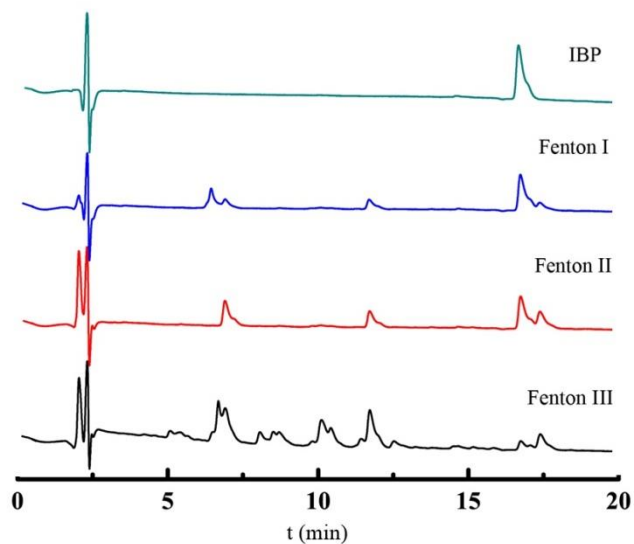
2,81 mg/L: 5,00 mmol (Fenton II) ili

25,20 mg/L: 8,90 mmol (Fenton III).

Efikasnost degradacije je parećena HPLC-DAD metodom, rezultati su prikazani na slici 50, a proizvodi degradacije za najefikasniji sistem su određeni pomoću LC-MS (TOF) tehnikom.



Slika 50. Efikasnost degradacije (%) IBP pomoću Fentona: Fenton I (2,81 mg/L: 0,11 mmol), Fenton II (2,81 mg/L: 5,00 mmol) i Fenton III (25,20 mg/L: 8,90 mmol)



Slika 51. Degradacija (IBP), $t_r=16,2$ min, nakon 15 min Fenton tretmana: I, II i III ($\lambda = 254$ nm)

Najefikasnija degradacija (85%) IBP-a u Fenton bač eksperimentu dobijena je za odnos Fenton III (25,20 mg/L: 8,90 mmol), koji je dalje i korišćen radi poređenja sa katalitičkim tretmanom IBP-a u DBD reaktoru.

Postoji veliki broj publikovanih studija o degradaciji farmaceutskih rezidua primenom AOP-a, približno koliko ima i različitih tipova i modifikacija AOP tretmana (Klavarioti i saradnici 2009). Degradacija IBP-a NTP tretmanom sa dodatkom homogenog katalizatora radi poboljšanja efikasnosti degradacije, kao i procena ekotoksikološkog efekta proizvoda degradacije predstavlja novi aspekt istraživanja u oblasti tretmana realnih uzoraka vode. Svaki plazma reaktor je poseban sistem i originalni dizajn autora. Primenom dva opisana plazma reaktora težimo optimizovanju primene NTP –a kao ekološki prihvatljivog i ekonomski isplativog tretmana.

Poređenje dobro poznatog AOP tretmana kao što je Fenton prema nekatalitičkom i katalitičkom AOP tretmanu IBP-a u NTP reaktoru je urađeno kako bi ispitali i poboljšali efikasnost degradacije zagađujuće supstance. Električno pražnjenje u reaktoru dovodi do formiranja H_2O_2 koji u kontaktu sa dodatkom Fe^{2+} katalizatora predstavlja reakciju nalik Fentonovoj. Odnosno, u NTP reaktoru nije bilo potrebno dodavati H_2O_2 za iniciranje Fenton reakcije, niti je potrebno dodatno podešavati pH tokom tretmana. Takođe je utvrđeno, da za razliku od nekatalitičkog tretmana, dodavanjem katalizatora u reaktor dolazi do poboljšanja efikasnosti degradacije IBP-a kroz reakciju nalik Fentonovoj.

Svetlost (UV), koja nastaje električnim pražnjenjem u plazma reaktoru uz katalizator omogućava efekat foto-Fentona, jer UV doprinosi formiranju hidroksi radikala (Ravina i saradnici, 2002, Perez-Estrada i saradnici, 2005; Shemer i saradnici, 2006) i efikasnoj degradaciji IBP-a.

4.10 Formiranje proizvoda oksidacije

U ispitivanju reakcija intermedijera i mehanizma degradacije IBP-a, tokom AOP tretmana, rastvori su uzorkovani 15 min od početka tretmana i analizirani pomoću LC-MS TOF. Ibuprofen i degradacioni proizvodi su identifikovani prema sledećim karakteristikama masenog spektra: tačnoj masi i stepenu nezasićenja (*eng. Double Bond Equivalent, DBE*).

Stepen nezasićenja predstavlja zbir aromatičnih prstenova, dvostrukih i trostrukih veza u datom jedinjenju. Računa se preko formule:

$$\text{stepen nezasićenja} = C - \frac{H}{2} - \frac{X}{2} + \frac{N}{2} + 1 \quad (59)$$

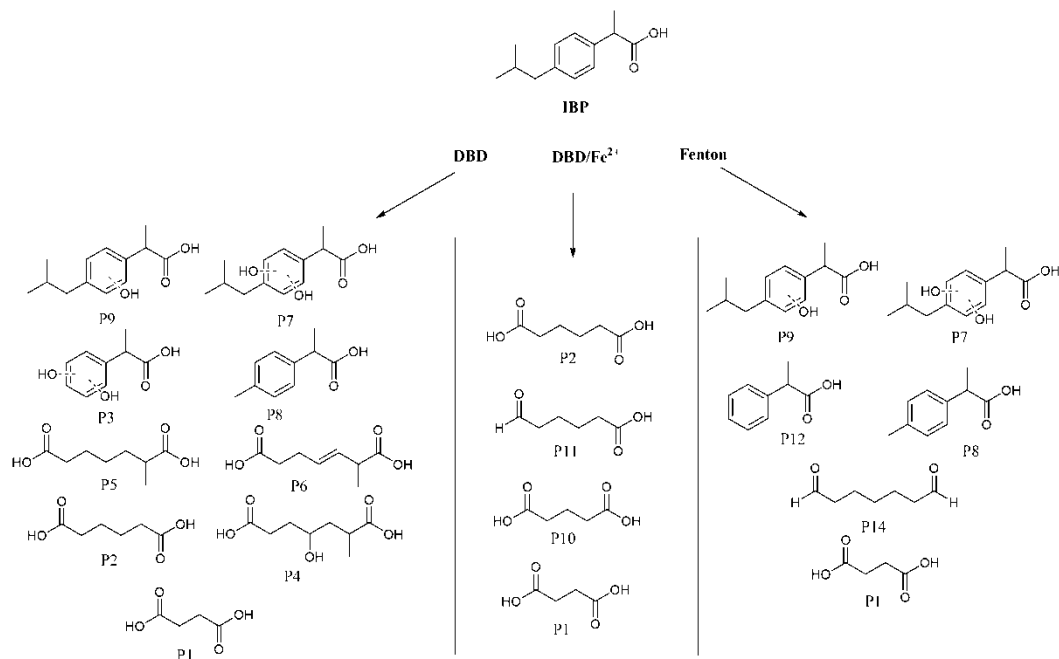
gde je C – broj atoma ugljenika, H – broj atoma vodonika, X – broj atoma halogena i N – broj atoma azota. Kiseonik i drugi dvovalentni atomi ne doprinose stepenu nezasićenja ($2 - 2 = 0$). Aromatični prsten i dvostruka veza predstavljaju jedan stepen nezasićenja, a trostruka veza predstavlja dva stepena nezasićenja.

Za potvrdu strukture proizvoda korišćeni su sofveri *ChemCalc* i *Chem Draw*. Relativna greška određivanja mase (Δm) proizvoda je izražena u ppm, i računa se preko formule:

$$\Delta m = \frac{\text{teorijski } m/z - \text{eksperimentalni } m/z}{\text{teorijski } m/z} \cdot 10^6 \quad (60)$$

Prilikom određivanja strukture degradacionih proizvoda prihvaćene su one strukture kod kojih je greška određivanja mase bila manja od 5 mg/L.

Identifikovani proizvodi degradacije IBP-a su prikazani na slici 52, a u tabeli 14 su navedene molekulske formule, DBE, kao i teorijske i eksperimentalne mase sa relativnom greškom pri određivanju mase (Δm) izraženom u ppm (mg/L).



Slika 52. Proizvodi degradacije ibuprofena (IBP) nakon 15 min tretmana u: DBD, DBD/Fe²⁺ i Fenton sistemu.

Tabela 14. Karakteristike masenog spektra ibuprofena i proizvoda degradacije identifikovani nakon 15 min izlaganja DBD, DBD/Fe²⁺ i Fenton tretmanu

Proizvod	t _r (min)	Degradacioni sistem	Molekulska formula	DBE ^a	Teorijska m/z, [M-H] ⁻	Eksperimentalna m/z, [M-H] ⁻	ppm ^b
P1	3.688	DBD	C ₄ H ₆ O ₄	2	117.0193	117.0193	0.00
P2	5.143		C ₆ H ₁₀ O ₄	2	145.0506	145.0508	1.38
P3	5.173		C ₉ H ₁₀ O ₄	5	181.0506	181.0511	2.76
P4	6.359		C ₈ H ₁₄ O ₅	2	189.0768	189.0775	3.70
P5	6.822		C ₈ H ₁₄ O ₄	2	173.0819	173.0826	4.04
P6	7.639		C ₈ H ₁₂ O ₄	3	171.0663	171.0667	2.34
P7	9.231		C ₁₃ H ₁₈ O ₄	5	237.1132	237.1138	2.53
P8	9.960		C ₁₀ H ₁₂ O ₂	5	163.0764	163.0768	2.45
P9	10.71		C ₁₃ H ₁₈ O ₃	5	221.1183	221.119	3.17
IBP	12.01		C ₁₃ H ₁₈ O ₂	5	205.1234	205.1244	4.88
P1	3.661	DBD/Fe ²⁺	C ₄ H ₆ O ₄	2	117.0193	117.0193	0.00
P10	4.653		C ₅ H ₈ O ₄	2	131.0350	131.0354	3.05
P2	5.156		C ₆ H ₁₀ O ₄	2	145.0506	145.0508	1.38
P11	6.660		C ₆ H ₁₀ O ₃	2	129.0557	129.0563	4.65
P1	3.669	Fenton	C ₄ H ₆ O ₄	2	117.0193	117.0193	0.00
P12	7.207		C ₉ H ₁₀ O ₂	5	149.0608	149.0614	4.03
P14	8.245		C ₇ H ₁₂ O ₂	2	127.0764	127.0770	4.72
P7	9.290		C ₁₃ H ₁₈ O ₄	5	237.1132	237.1138	2.53
P8	9.683		C ₁₀ H ₁₂ O ₂	5	163.0764	163.0768	2.45
P9	10.71		C ₁₃ H ₁₈ O ₃	5	221.1183	221.1190	3.17
IBP	12.01		C ₁₃ H ₁₈ O ₂	5	205.1234	205.1244	4.88

^a DBE – stepen nezasićenja^b ppm – relativna greška mase (Δ m).

$$\Delta m = (m/z \text{ teorijska} - m/z \text{ eksperimentalna}) / m/z \text{ teorijska} \cdot 10^6$$

Primenjena tehnika MS-TOF (ESI) (masene rezolucije 13486) se odlikuje “mekom jonizacijom” pa samim tim imalim stepenom fragmentacije. Molekulske formule proizvoda degradacije su temeljno utvrđene na osnovu stepena nezasićenja (DBE)strukture i relativne greške mase (Δm) na 4 decimale. Odgovarajući analitički standardi za većinu proizvoda degradacije nisu bili dostupni.

U svim ovim tretmanima, identifikovano je 12 proizvoda degradacije IBP-a: pet aromatičnih i sedam alifatičnih proizvoda. Analiza masenih spektara je pokazala, da prilikom različitih tretmana postoji razlika u proizvodima degradacije.

Tokom DBD tretmana identifikovano je 9 proizvoda degradacije, od čega su: četiri aromatična i pi saradniciifatičnih karboksilnih kiselina. U plazma reaktoru, između dve faze (vazduh - voda) usled prisustva visokoreaktivnih vrsta mogući su i različiti mehanizmi degradacije. Dominantan put degradacije ostvaren je kroz brz i direktan napad hidroksi radikala na IBP.

Hidroksilovani molekuli IBP-a su prvi zabeleženi proizvodi degradacije: proizvod P9 (nastao napadom jednog hidroksi radikala), proizvod P7 (nastao napadom dva hidroksi radikala). Proizvod P7 (2-[2-hidroksi-4-(1-hidroksi-2-metilpropil) fenil] propionska kiselina) takođe je identifikovan i nakon tretmana pulsnom radiolizom (Illés i saradnici 2013). Proizvod P3, verovatno je nastao uklanjanjem izobutil grupe sa proizvoda P7. Proizvod P8, identifikovan je u DBD tretmanu i nastaje uklanjanjem tri metil grupe iz IBP-a. Hidroksi radikali napadaju aromatični prsten formirajući hidroksilovane proizvode, a potom dovode do otvaranja aromatične strukture. Ovo je dokazano kroz identifikaciju aromatičnih karboksilnih kiselina (P1, P2, P4, P5 i P6), koje su bile finalni proizvod degradacije. Najzastupljeniji proizvod u DBD tretmanu bila je alifatična karboksilna kiselina P5.

U DBD/ Fe^{2+} tretmanu identifikovano je samo četiri proizvoda degradacije, i svi su bili alifatične karboksilne kiseline. Ovo pokazuje, da dodatak homogenog katalizatora u DBD reaktor, ne samo da značajno poboljšava degradaciju već i stopu mineralizacije.

Aromatična struktura IBP-a, kroz oskidacione reakcije, podleže otvaranju prstena a potom i transformaciji u alifatične kiseline: adipinsku kiselinu(P2); 6-oksi heksansku kiselinu (P11), glutarnu kiselinu (P10) i ćilibarnu kiselinu. Proizvodi P11 i P10 nisu identifikovani nakon DBD tretmana bez dodatka homogenog katalizatora.

Nakon Fentonovog tretmana identifikovano je šest proizvoda degradacije: 4 aromatična i dva alifatična proizvoda. U degradaciji IBP -a, •OH radikal ima ključnu ulogu u oksidaciji, znatno više nego oksidacija kroz H₂O₂ (Méndez-Arriaga i saradnici, 2008). Ovde je identifikovan nov proizvod degradacije P12, koji nije zabeležen nakon prethodna dva tretmana. Zabeleženi su i proizvodi koji su identifikovani nakon DBD tretmana bez katalizatora (P7,P8 i P9). Proizvod degradacije P1 je identifikovana nakon tretmana u sva tri sistema, a P14 je identifikovan samo nakon Fenton tretmana rastvora IBP -a. Pored već navedenih proizvoda degradacije nakon Fenton tretmana, identifikovani su i proizvodi P6 (C₈H₁₂O₄, Δ m = 5.26 ppm), P13 (C₁₁H₁₆O₅, Δ m = 5.28 ppm) i P15 (C₁₂H₁₆O₄, Δ m= 6.28 ppm), gde su P13 i P15 visoko hidrosilovani proizvodi identifikovani samo u rastvoru IBP nakon Fenton tretmana, ali je relativna greška na četiri decimale bila malo iznad 5 ppm, tako da ovi proizvodi nisu uneti u konačnu tabelu ili publikaciju.

Poređenjem procenta degradacije i broja intermedijera najefikasnija degradacija IBP-a je postignuta tretmanom u DBD reaktoru sa dodatkom homogenog katalizatora (DBD/Fe²⁺).

Efikasnost mineralizacije tretmana Fenton, DBD i DBD/Fe²⁺ poređena je na osnovu TOC vrednosti. Početna vrednost TOC-a za rastvor IBP-a je bila 41 mg/L. Nakon tretmana od 15 min Fentonom ova vrednost je smanjena za 15 %. Tretman DBD je slabo umanjio TOC vrednost (< 10%), a katalitički NTP tretman (DBD/Fe²⁺) je najefikasnije redukovao TOC vrednost - 35%.

Moguć nedostatak metoda može biti neophodna neutralizacija nakon sva tri tretmana radi ponovne upotrebe vode.

4.11 Procena toksičnosti

Iz literature je poznato da AOP –i uspešno degradiraju farmaceutске supstance, ali ne do mineralizacije nego do proizvoda koji mogu biti manje toksični ili podložniji biodegradaciji u odnosu na početne supstance.

Nakon više preliminarnih istraživanja, izabrana su dva test modela kako bi odredili efikasnost AOP tretmana u odnosu na ekotoksični efekat tretiranih rastvora. Praćenjem efikasnosti degradacije pomoću HPLC-DAD metode, preko smanjenja površine pika ibuprofena, tretman je u svim sistemima zaustavljen nakon 15 min. Rastvori su ostavljeni u mraku dodatnih 24 h neposredno pre nego što je toksičnost testirana na *V.fischeri* i *A. salina*.

4.11.1 *Vibrio fischeri*

Inhibicija bioluminescence je upotrebljena kako bi se odredila EC₅₀ vrednosti TII₅₀ vrednost tretiranih rastvora ibuprofena. Literaturna vrednost LC₅₀/EC₅₀ ibuprofena za *V.fischeri* iznosi 12 – 19,1 mg/L (Ferréi saradnici 2001).

Tabela 15. Toksičnost rastvora (IBP) nakon DBD, DBD/Fe²⁺ i Fenton tretmana za *V. fischeri*, izražen preko inhibicije bioluminescence od 50% (EC₅₀) sa intervalom poverenja od 95% (u zagradi) i indeksom toksičnog uticaja (TII₅₀); ND – toksičnost nije detektovana

Treated solution of IBP	EC ₅₀ (% v/v)	TII ₅₀
DBD	ND	ND
DBD/Fe ²⁺	ND	ND
Fenton	10,41 (7,30-14,84)	9,61

Nakon Fenton tretmana vrednost TII₅₀ je bila visoka (9,61) i ovaj rastvor se može klasifikovati kao toksičan. Neki od proizvoda degradacije koji su identifikovani nakon Fenton tretmana (P1, P7, P8 i P9) su takođe identifikovani nakon tretmana u DBD i DBD/Fe²⁺ tretmanu (samo proizvod P1). Oba tretmana DBD i DBD/Fe²⁺ nisu ispoljila toksični efekat pri najvišoj testiranoj koncentraciji (50%, v/v) u kiveti sa bakterijskom suspenzijom.

Smatramo da je ovo rezultat snažnog oksidativnog dejstva koje imaju neselektivni •OH radikali na mnoge organski zagađujuće supstance (Magureanu i saradnici, 2010).

Takođe dugoživeći molekuli koji nastaju u NTP tretmanu kao što su ozon i vodonik-peroksid su stabilni molekuli koji mogu reagovati sa zagađujućom supstancom i van reaktora (Dojcinovic i saradnici, 2011), tako da imamo produženi efekat degradacije aromatične strukture do manje toksičnih intermedijera. Vodonik-peroksid koji je generisan u reaktoru sa dodatkom homogenog katalizatora poboljšao je sveukupni oksidujući efekat plazme kroz Fenton reakciju (Foto-Fenton) i unapredio efikasnost plazma tretmana (Bubnov i saradnici, 2006).

Publikovane su studije u kojima je potvrđen toksični efekat proizvoda degradacije ibuprofena nakon foto-Fenton tretmana na *V.fischeri*, ali i to datoksičnost nije bila izazvana vodonik-peroksidom (Klammerth i saradnici, 2010). Rezidualne koncentracije vodonik-peroksida su nakon svakog tretmana ipak analizirane kolorimetrijskom metodom (UV/VIS) pomoću titanil-sulfatnog reagensa.

Vodonik-peroksid u tretmanima DBD i DBD/Fe²⁺ formiran je pri električnom pražnjenju u vodi, a u Fenton tretmanu vodonik-peroksid je eksterno dodat na početku eksperimenta kako bi se inicirala Fentonova reakcija (306 mg/L). Određena koncentracija vodonik-peroksida nakon DBD, DBD/Fe²⁺ i Fenton tretmana je bila: 11,24; 2,60 i 28,68 mg/L, respektivno. Najniža koncentracija H₂O₂ uočena je nakon DBD/Fe²⁺ tretmana pri poređenju sa nekatalitičkim DBD tretmanom.

Gvožđe (Fe²⁺) kao katalizator troši H₂O₂ koji nastaje tokom pražnjenja i dovodi do formiranja dodatne količine •OH radikala (1 – 3). Vrednost LC₅₀/EC₅₀ vodonik-peroksida za *V. fischeri* je 10,20 mg/L (Ságim i saradnici 2014). Tretmani DBD i DBD/Fe²⁺ nisu pokazali toksični efekat i dalje nisu ispitivani, ali je koncentracija vodonik-peroksida nakon Fenton tretmana bila dva puta veća od literaturne LC₅₀/EC₅₀ vrednosti i iznosila je 28,68 mg/L.

Izgledalo je kao da rezidualna količina vodonik-peroksida izaziva toksični efekat u testu sa *V.fischeri*. Radi provere ove hipoteze upotrebljena je katalaza kako bi se uklonila rezidualna količina vodonik-peroksida iz tretiranog rastvora. Uzorci su ponovo centrifugirani 10 min, a supernatant je ispitan u testovima toksičnosti na *V.fischeri*.

Nakon primene katalaze, određena je koncentracija vodonik-peroksida i ona je iznosila 11,12 mg/L, tj. približno koncentraciji koja je uočena nakon DBD tretmana (11,24 mg/L). Toksični efekat rastvora IBP-a koji je tretiran u bač eksperimentu (Fenton III) smanjen je i vrednost LC_{50}/EC_{50} (% ,v/v) je bila 69,34 (62,04-76,64) u odnosu na vrednost LC_{50}/EC_{50} pre upotrebe katalaze (Tabela 15) i TII_{50} je bio dosta niži (1,44).

Uprkos tome što je koncentracija rezidualnog vodonik-peroksida smanjena na vrednost približnu DBD tretmanu, toksični efekat IBP-a rastvora nakon Fenton tretmana je merljivi može se kategorisati kao klasa III – “toksičan” (Pearsoone i saradnici, 2003).

U odnosu na DBD tretman proizvodi degradacije P7, P8 i P9 koji su takođe identifikovani nakon Fenton tretmana, imali su dva do tri puta viši intenzitet [cps], što bi moglo da objasni razliku u toksičnom efektu proizvoda degradacije.

U analizi proizvoda degradacije P12 i P14 primenjen je ECOSAR v1.11 softvertako što su njihove strukture prenete iz ChemDraw softvera u ovaj program. Prema strukturi proizvoda degradacije i klasi sa određenim ekotoksičnim efektom, kojoj identifikovana supstanca pripada, procenjeni ekotoksični efekat P12 supstance, svrstane u neutralne organske supstance, bio je da može da izazove efekte u vidu narkoze, ali programom predviđene vrednosti nisu bile zabrinjavajuće. Vrednost EC_{50}/LC_{50} za ribe, dafnije ili alge je iznosio i preko nekoliko g/L. Proizvod degradacije P14 je klasifikovan kao poli-aldehidna struktura i predviđene vrednosti EC_{50}/LC_{50} (mg/L) za ribe, dafnije zelene alge u hroničnim i akutnim testovima su bile veoma niske, čak ispod 1 mg/L. U bazi podataka ovog programa nije pronađena konkretna vrednost za *V. fischeri*, ali predviđena toksičnost strukture P14 može biti objašnjenje toksičnog efekta na *V. fischeri*.

Pomoću HPLC-a utvrdili smo da je koncentracija IBP-a, nakon 15 min tretmana u Fentonu iznosila 9,82 mg/L. Ekotoksikološkim ispitivanjem dobijena je EC_{50}/LC_{50} vrednost od 10,41% (v/v). Koncentracija IBP-a u tom razblaženju uzorka je iznosila 1,02 mg/L, što je značajno ispod EC_{50}/LC_{50} vrednosti za ibuprofen (12-19,1 mg/L) tj. ekotoksični efekat rastvora nakon Fenton tretmana je posledica novonastalih proizvoda degradacije.

4.11.2 Procena toksičnosti primenom *A.salina*

U ekotoksikološkim testovima, rezultati toksičnosti na zglavkarima mogu se koristiti za predikciju akutne toksičnosti u testovima sa ribama. Ispitani rastvori nakon tretmana u svim sistemima (DBD, DBD/Fe²⁺ ili Fenton) nisu izazvali mortalitet *A. salina* veći od 50% pri najvišoj koncentraciji 100% (c, v/v) testiranog uzorka.

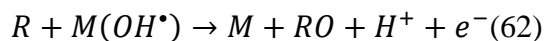
Vrednosti EC₅₀/LC₅₀ nisu mogle da se izraze, jer bi onda teorijski njihova vrednost bila viša od 100% testiranog uzorka odnosno TUa <1 (TII50 <1), a tretirani rastvori se mogu smatrati „nisko toksičnim“ do „netoksičnim“ (Persoone i saradnici, 2003). Kriterijumi validnosti- preživljavanje u negativnoj kontroli > 90% i odgovor na pozitivnu kontrolu (referentnu supstancu) su bili ispunjeni.

4.12 Degradacija IBP-a primenom EAOP-a

Degradacioni mehanizam uključuje formiranje hidroksilnih radikala na površini elektrode, zbog čega se elektrohemijske metode ubrajaju u AOP -e, nazivajući se još i EAOP -i (eng. *Electrochemical Advanced Oxidation Processes*). Prema Cominelliis i saradnici, (2008).



Nastali [•]OH radikali zatim reaguju sa organskom zagađujućom supstancom:

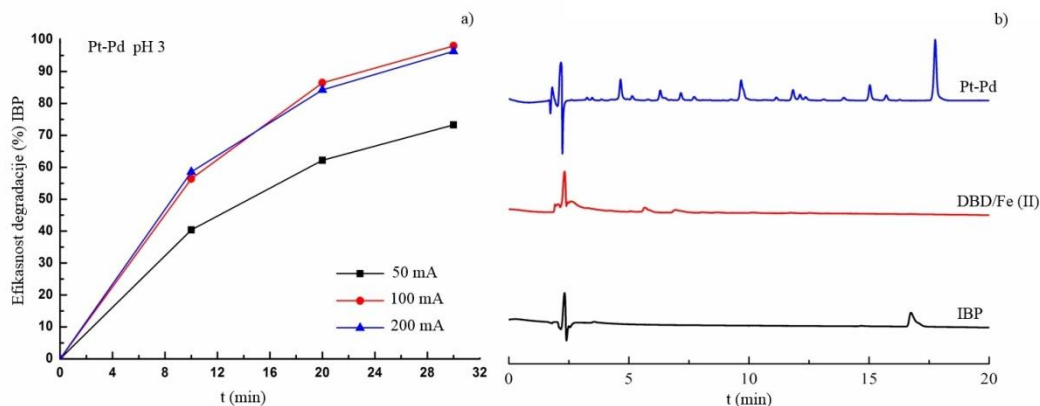


Ispitanasu tri različita elektrodnasistema za degradaciju IBP-a: Pt-Pd, Pt-Zr i Pt-C, a efikasnost degradacije je određena preko smanjenja površine pika.

U disertaciji je ispitana degradacija ibuprofena (60 mg/L) u nepodeljenoj, dvoelektrodnoj elektrohemijskoj ćeliji sa natrijum-sulfatom kao osnovnim elektrolitom. Cilj je bio odrediti optimalne uslove u pogledu elektrodnog materijala, jačine struje i pH vrednosti. Ispitani susledeći parametri:

- 1) jačina struje koja je primenjena u elektrohemijskoj ćeliji (50, 100 i 200 mA)
- 2) pH vrednost (3 i 7)
- 3) uticaj elektrodnog materijala gde je Fišerova Pt elektroda korišćena kao anoda, a Zr, Pd ili C kao katoda.

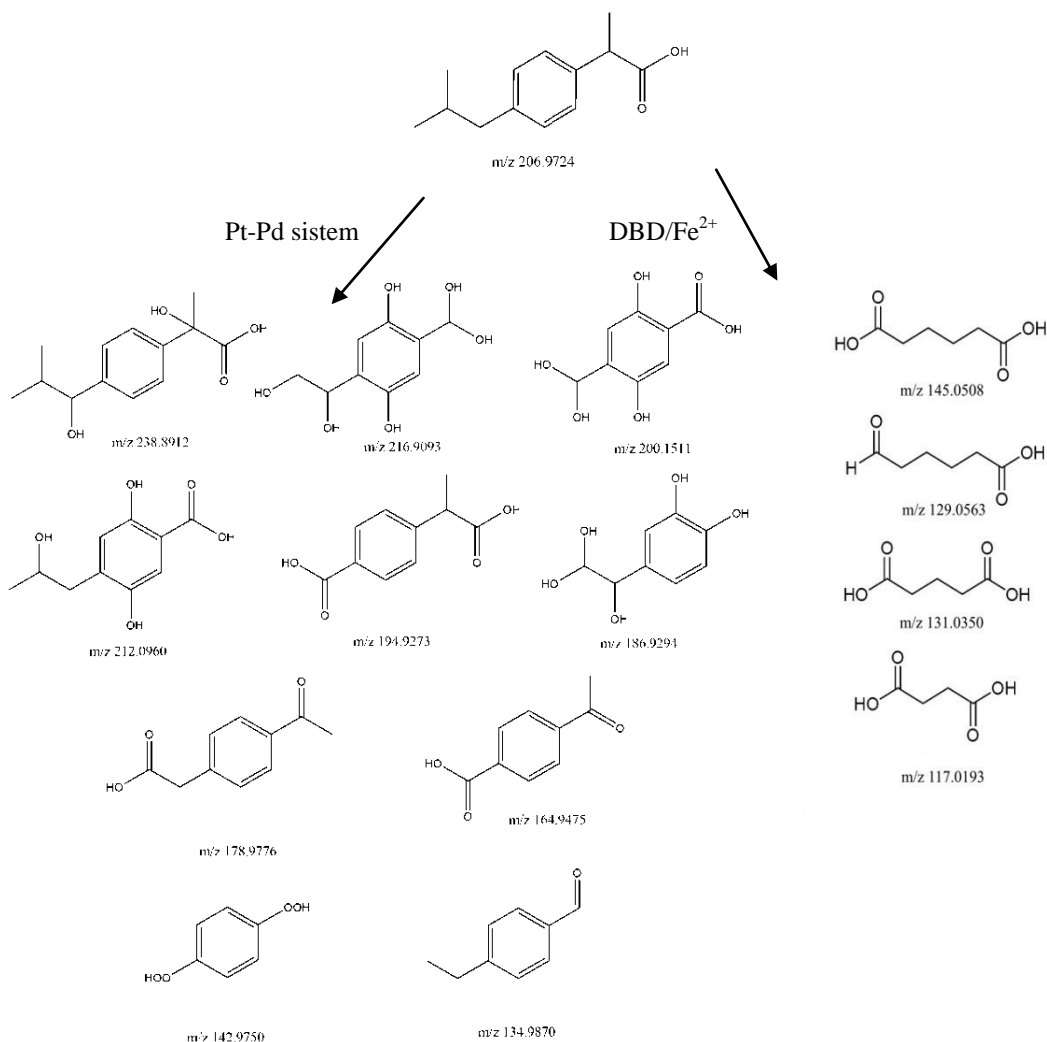
Najviši procenat degradacije IBP-a, primenom EAOP- aje postignut tretmanom rastvora u Pt - Pd sistemu - 98%, pri jačini struje od 100 mA i pH 3 (Slika 54a). U druga dva sistema najviši postignuti procenat degradacije IBP-a je bio 88,5% nakon Pt – Zr tretmana i 82% nakon Pt - C tretmana. Radi poređenja efikasnosti degradacije IBP (60 mg/L) između najefikasnijeg EAOP-a i najefikasnijeg AOP-a prikazan je hromatogram na slici 53b.



Slika 53. Efikasnost degradacija IBP – a (60mg/L) a) u elektrohemijskom sistemu Pt-Pd, pH 3 i različitim intenzitetima struje (50, 100 i 200 mA) i b) Poređenje efikasnosti degradacije IBP-a između katalitičkog NTP tretmana (DBD/Fe (II)) i EAOP sistema Pt-Pd

Možemo uočiti da i ako je postignut sličan procenat degradacije IBP-a u Pt - Pd sistem - 98% u odnosu na DBD/Fe (II) tretman – 99%, postoji razlika u efikasnosti uklanjanja IBP-a i proizvoda degradacije iz tretiranog rastvora.

U slučaju Pt-Pd sistema, nakon tretmana od 30 minu tretiranom rastvoru IBP-a identifikovani su samo proizvodi degradacije sa aromatičnom strukturom, dok u katalitičkom plazma tretmanu (DBD/Fe²⁺) nakon 15 min identifikovani su samo proizvodi degradacije sa alifatičnom strukturom (Slika 54).



Slika 54. Degradacioni proizvodi ibuprofena nastali prilikom elektrohemijskog tretmana (Pt-Pd, levo) i proizvodi degradacije IBP-a nastali katalitičkim plazma tretmanom DBD/Fe²⁺

Analiza masenih spektara je otkrila da nije došlo do otvaranja aromatičnog prstena već do oksidacije početnog molekula ibuprofena i uklanjanja bočnih supstituenata. Međutim, nije došlo do otvaranja aromatičnog prstena, što znači da nije došlo do smanjenja TOC vrednosti. U tom pogledu se može zaključiti da su se prethodni tretmani pokazali efikasnijim, ali ne treba isključiti elektrohemijski tretman, jer se primenom drugih elektrodnih materijala (BDD) ili jačine struje mogu dobiti drugačiji rezultati.

4.12.1 Procena ekotoksičnosti rastvora IBP-a nakon EAOP tretmana primenom *V. fischeri*

Nakon tretmana rastvora IBP-a u Pt-Pd sistemu, najviša testirana koncentracija (50%, v/v) izazvala je procenat inhibicije bioluminescence od 35% do 45 %, tako da vrednosti LC₅₀/EC₅₀ nisu određene.

4.12.2 Procena ekotoksičnosti rastvora IBP-a nakon EAOP tretmana primenom primenom *A.salina*

Toksični efekat mortalitet (%) *A. salina* rastvora IBP-a tretiranog u Pt-Pd sistemu bio je ispod 30% pri najvišoj testiranoj koncentraciji od 100% (c, v/v). *A.salina* model nije pokazao značajan toksični efekat tretiranog rastvora IBP-a u odnosu na *V.fischeri* koji je u slučaju Pt-Pd tretmana osetljiviji model za procenu toksičnog efekta proizvoda degradacije IBP-a.

A.salina i *V.fischeri* su standardni test modeli, koji se veoma često koriste za brze i pouzdane procene ekološke toksičnosti uzoraka nakon AOP tretmana (Rizzo L, 2011). U laboratorijskim uslovima *A.salina* test se primenjuje kao preliminarni test za procenu biohemijske aktivnosti različitih supstanci, još od početka 80-tih (Vhanecka i Pearsons; Song i Brown, 1998; Brix i saradnici, 2003; Nunes i saradnici, 2005; Da Silva i saradnici, 2014). *V. fischeri* kao test model se koristi više od 30 godina u proceni toksičnosti efluenta (*eng. whole effluent toxicity testing*) Coleman i Qureshi (1985), proceni efikasnosti tretmana otpadnih voda (Araujo i saradnici, 2005; Zgajnar Gotvajna i saradnici, 2009) i

osnovnim istraživanjima o načinu delovanja i toksikološkoj dinamicirazličitih supstanci i smeša (Backhause i saradnici, 2000; Fulladosa i saradnici, 2005).

Drugi modeli ekotoksikoloških testova poput *Danio rerio* i *Lemna minor* nisu bili dostupni tokom izrade ove doktorske disertacije, ali će biti obuhvaćeni u planiranim istraživanjima u oblasti optimizacije AOP-a za tretman realnih uzoraka vode.

4.13 Poređenje konvencionalnih mikrobioloških tretmana i AOP tehnika u uklanjanju ibuprofena iz vode

Farmaceutske supstance su dizajnirane da imaju biohemijski efekat u veoma malim koncentracijama i otpornost na biološku degradaciju (Chatzitakis i saradnici, 2008; Mendez-Arriaga i saradnici, 2008). Značajne koncentracije IBP-a (od 432 do 1105 ng/L) su izmerene u vodotoku Temze, nizvodno od postrojenja za tretman vode (jugozapadni deo Londona) (Jonathani saradnici, 2006; Roberts i Thomas 2006).

U SAD čak 15 različitih zagađujućih supstanci, među kojima je i ibuprofen, izmereno je u količinama od µg/L -ng/L u pijaćoj vodi (Benotti 2009). U radu De la Cruz i saradnika (2012) detektovano je 32 farmaceutska rezidua u otpadnoj vodi efluenata postrojenja za preradu vode – tj. nisu uklonjeni klasičnim tretmanima za dekontaminaciju vode.

Najčešće primenjeni biološki tretman tj. biodegradacija u tretmanu zagađujućih supstanci (voda) je metoda aktivnog mulja pri aerobnim uslovima. Ova metoda pokazuje veliku efikasnost uklanjanja IBP-a (70 - 99%), ali efikasnost ne samo ovog već svih mikrobioloških tretmana varira u odnosu na temperaturu, aeraciju, vreme zadržavanja otpadne vode u rezervoarima za sedimentaciju (Tauxe-Wuersch i saradnici, 2005; Clara i saradnici, 2005), porekla mulja (konzorcijuma), načina primene i sezonskih varijacija.

Tehnike AOP ne mogu zameniti biološki tretman u prečišćavanju voda, ali mogu biti upotrebljeni kao odgovarajući pred-tretman kako bi se povećala biodegradabilnost ili kao post-tretman za uklanjanje perzistentnih organskih zagađujućih supstanci.

U NTP reaktoru, u bilo kom od tretmana DBD ili DBD/Fe²⁺ nema potrebe za dodatnim podešavanjem temperature ili pH vrednosti, izvorom UV svetlosti ili dodatnim

količinama H_2O_2 tokom rada reaktora. Takođe, molekuli koji nastaju pražnjenjem u NTP reaktoru kao što su ozon i vodonik-peroksid kao stabilni molekuli mogu uticati na degradaciju aromatičnih struktura zagađujućih supstanci i van reaktora (Dojčinovići saradnici, 2011) do manje toksičnih intermedijera. Sekundarni (čvrsti) otpad ne nastaje nakon NTP tretmana. Odnosno, AOP i EAOP tehnike treba upotrebiti radi efikasnije degradacije organski zagađujućih supstanci u tretmanu otpadnih voda i voda za piće.

5. ZAKLJUČAK

U okviru ove disertacije ispitana je degradacija različitih organskih zagađujućih supstanci primenom unapređenih oksidacionih procesa (*eng. Advance Oxidation Processes, AOP*) kao metode za njihovo uklanjanje iz vode, sa posebnim osvrtom na ekotoksičnost tretiranih uzoraka. Ispitana je degradacija 4CP (*para*-hlorfenola), reaktivnih azo boja i ibuprofena pomoću sledećih procesa: Fentonov reagens, NTP (neravnotežne plazme, *eng. „non-thermal plasma”*) tretman u DBD (*eng. Dielectric Barrier Discharge*) reaktoru, kao i elektrohemijske degradacije. Efikasnost degradacije zagađujućih supstanci primenom DBD reaktora je modifikovana dodavanjem homogenih katalizatora (Fe^{2+} ili H_2O_2) u cilju poboljšanja efikasnosti procesa degradacije i smanjenja ekotoksikološkog efekta.

Pored optimizovanja samih procesa degradacije optimizovane su i HPLC metode za praćenje efikasnosti degradacije, kao i LC-MS (TOF) metode za identifikaciju proizvoda degradacije nakon AOP (EAOP, *eng. Electrochemical Advanced Oxidation Processes*) tretmana. Efikasnost mineralizacije zagađujućih organskih supstanci određena je preko TOC (*eng. Total Organic Carbon*) vrednosti. Identifikacija proizvoda degradacije ne samo da otkriva mehanizam i glavne korake u degradaciji već i objašnjava ekotoksikološke efekte tretiranih rastvora.

Tretman NTP u DBD reaktoru je ispitan tokom degradacije 4CP do manje toksičnih intermedijera. Eksperimentalni rad je obuhvatio tri sistema za degradaciju 4CP: DBD, DBD/ H_2O_2 i DBD/ Fe^{2+} . Praćena je efikasnost degradacije rastvora 4CP u funkciji broja prolaza tretiranog rastvora kroz DBD reaktor. Koncentracija 4CP, kao i koncentracija pojedinih proizvoda degradacije merene su nakon svakog prolaza.

U svim sistemima za degradaciju 4CP uočeni su slični trendovi u nastanku sirćetne i mravlje kiseline. Koncentracije obe kiseline tokom tretmana bile su niže u sistemu gde je kao katalizator upotrebljeno Fe^{2+} u poređenju sa sistemom gde je kao katalizator primenjen vodonik-peroksid (DBD/ H_2O_2). Sistem DBD/ Fe^{2+} se pokazao kao najefikasniji tretman za uklanjanje 4CP i malih organskih kiselina nastalih tokom degradacije iz vode. U odnosu na druga dva sistema u sistemu DBD/ Fe^{2+} zabeležen je slab pik oksalne kiseline.

Koncentracija hlorida u sva tri sistema je rasla tokom procesa degradacije, a najviša koncentracija hlorida je zabeležena u sistemu sa dodatkom Fe^{2+} katalizatora. Koncentracija oslobođenih hlorida bila je u korelaciji sa uklanjanjem 4CP iz tretiranog rastvora. Koncentracije malonske, maleinske i fumarne kiseline tokom procesa degradacije bile su manje od 1 mg/L.

Procena toksičnosti početnog rastvora 4CP, kao i tretiranih rastvora u sva tri sistema ispitana je pomoću *A. salina*. U odnosu na početni (netretirani) rastvor 4CP, nakon tretmana DBD/ Fe^{2+} procenat preživelih larvi *A. salinase* povećao za 95%. Subletalni efekti koji su zabeleženi izlaganjem larvi tretiranim rastvorima 4CP u DBD i DBD/ H_2O_2 sistemu nisu uočeni u katalitičkom NTP tretmanu (DBD/ Fe^{2+}). Sistem u kome je Fe^{2+} dodato kao homogeni katalizator, dao je manji nivo toksičnog efekta u odnosu na sistem sa dodatkom H_2O_2 . Obješnjenje za ovo može biti potrošnja vodonik-peroksida u DBD/ Fe^{2+} sistemu kroz reakciju nalik Fentonovoj u odnosu na DBD/ H_2O_2 sistem.

Degradacija reaktivnih azo boja (RG15 - eng. *Reactive Green*, RY125 - eng. *Reactive Yellow* i RB52- eng. *Reactive Blue*) primenom EAOP metoda ispitana je u nepodeljenoj dvoelektrodnoj ćeliji, gde je kao anoda primenjena Fišerova platinska elektroda, a kao katoda korišćene su: Pd, Zr ili C elektrode. Prvobitno je urađeno optimizovanje efikasnosti degradacije reaktivnih boja i ustanovljeno je da se vrednosti kao primenjeni pH i napona razlikuju. Optimalni uslovi degradacije za RG15 i RY125 bili su napon od 12V i pH vrednost 9, dok je degradacija RB52 bila znatno efikasnija pri vrednosti pH3.

Efikasnost degradacije pri optimalnim uslovima za degradaciju RG15 i RY125 je dalje ispitana u tri različita EAOP tretmana: Pt-Pd, Pt-Zr ili Pt-C.

Uočeno je da setretman sa elektrodnim sistemom Pt-Pd usvim ispitanim eksperimentalnim postavkama pokazao kao najefikasniji tretman u degradaciji reaktivnih azo boja. Zabeleženi procenat degradacije pri tretmanu koncentracije od 1000 mg/L svake boje pojedinačno bio je 98% za RG15 i 97% za RY125. Tretmani sa elektrodnim sistemima Pt-Zr i Pt-C takođe mogu biti primenjeni za dekolORIZACIJU i degradaciju molekula boje.

Ekotoksikološki efekat za obe boje bio je najniži ili nije detektovan u rastvoru boja nakon Pt-Pd tretmana. Statistički značajna razlika ($p < 0,05$) u mortalitetu (%) određena je

između početnog rastvora RG15 i rastvora tretiranih u Pt-Pd i Pt-Zr sistemu. Statistički značajna razlika nije utvrđena ($p > 0,05$) između početnog rastvora RY125 i rastvora nakon svih primenjenih EAOP tretmana. Rastvori reaktivnih boja RG15 i RY125 nakon EAOP tretmana ne prevazilaze toksičnost početnih rastvora boja i prema rezultatima testova akutne toksičnosti za *A. salina* $LC_{50} > 100\%$ (TUa <1) svi rastvori mogu biti klasifikovani kao „nisko toksični“ do „netoksični“.

Parametri koji su bili optimalni za degradaciju RG15 i RY125, nisu imali istu efikasnost pri degradaciji RB52. Kao najpovoljniji parametar degradacije RB52 pokazala se vrednost pH 3 i potom su svi reakcioni sistemi (Pt-Pd, Pt-Zr ili Pt-C) ispitani na ovoj vrednosti za različite vrednosti napona (4,5; 6 i 12 V). Utvrđeno je da su optimalni uslovi za dekolizaciju RB52 bili pH 3 i napon od 4,5 V u Pt-Zr sistemu (95%). Takođe, uočeno je da postoji statistički značajna razlika u ekotoksikološkom efektu na *A. salina* između početnog rastvora boje u odnosu na rastvor boje tretirane u bilo kom sistemu (Mann-Whitney U – test: $p < 0,05$), ali ne i između tri sistema elektrohemijske degradacije.

Toksičnost proizvoda degradacije nakon svih tretmana izražena kao LC_{50} vrednost bila je za oko 40% veća od toksičnosti polaznog rastvora RB52 boje. Sistem Pt-Zr se pokazao kao najefikasniji u dekolizaciji RB52, zato je ispitivanje ponovljeno sa većom koncentracijom boje. Uočeno je da se toksični efekat tretiranog rastvora ispoljava i na soju *V. fischeri*. Efekat je bio intenzivniji što je tretman RB52 u Pt-Zr sistemu duže trajao i nakon 90 min dostiže 100% inhibicije. Veća osetljivost oba test modela na proizvode degradacije RB52 primenom EAOP-a, upućuje na to da ova tehnika u opisanim uslovima nije optimizovana za degradaciju RB52 i da buduća istraživanja treba usmeriti na druge AOP tehnike.

U slučaju ibuprofena (IBP), degradacija pomoću Fentona, nekatalitičkog i katalitičkog DBD tretmana je bila veoma efikasna. Nakon kratkotrajnog tretmana od 15 min u DBD i Fenton tretmanu procenat degradacije IBP-a je iznosio 80%, dok je u sistemu DBD/ Fe^{2+} dostigao 99%. Dodatak homogenog katalizatora je poboljšao DBD tretman i doprineo efikasnosti degradacije i mineralizacije zagađujuće supstance u odnosu na nekatalitički DBD i Fenton tretman. U svim tretmanima analizom masenih spektara, identifikovano je 12 proizvoda degradacije IBP-a: pet aromatičnih i sedam alifatičnih

proizvoda. Tokom nekatalitičkog DBD tretmana identifikovano je 9 proizvoda degradacije, od čega su: četiri aromatična i pet alifatičnih karboksilnih kiselina. Nakon Fentonovog tretmana identifikovano je 6 proizvoda degradacije: četiri aromatična i dva alifatična proizvoda. Nakon DBD/Fe²⁺ tretmana detektovane su samo 4 alifatične karboksilne kiseline. One su ujedno bile i krajnji produkti degradacija. Tokom izrade ove doktorske disertacije prvi put je primenjen pristup katalitičkog NTP tretmana u degradaciji ibuprofena.

Ekotoksikološki efekat tretiranih rastvora u DBD reaktoru nije detektovan, ni u slučaju kada je Fe²⁺ korišćeno kao katalizator. U odnosu na *A.salina*, *V.fischeri* je pokazao veću osetljivost na proizvode degradacije nastale tokom Fenton tretmana. Nakon Fenton tretmana vrednost LC₅₀/EC₅₀ = 10,41% (7,30-14,84) i prema vrednosti TII₅₀ (9,61) ovaj rastvor se može klasifikovati kao „toksičan“. Kada je uklonjena rezidualna koncentracija vodonik-peroksida, vrednost LC₅₀/EC₅₀ = 69,34 % (62,04-76,64), pa je i TII₅₀ bio dosta niži (1,44), tj.tretirani rastvor je izazvao manji odgovor (toksični efekat) kod organizama. Toksični efekat rastvora IBP-a nakon Fenton tretmana je merljiv i može se kategorisati kao klasa III – „toksičan“. Bač tretman je doveo do formiranja visoko hidroksilovanih proizvoda degradacije, tako da se mora uzeti u obzir ekotoksikološki efekat.

Najviši procenat degradacije IBP-a prmenom EAOP- a je postignut tretmanom rastvora u Pt - Pd sistemu - 98%, pri jačini struje od 100 mA i pH 3. U druga dva sistema najviši postignuti procenat degradacije IBP-a je bio 88,5% nakon Pt – Zr tretmana i 82% nakon Pt - C tretmana. Analiza masenih spektara je otkrila da dolazi do nastajanja samo aromatičnih produkata (10) hidroksilacijom početnog molekula ibuprofena, ali i oksidacijom i uklanjanjem bočnih supstituenata. Međutim, nije došlo do otvaranja aromatičnog prstena, što znači da nije došlo do smanjenja TOC vrednosti.

Rastvor IBP-a nakon EAOP tretmana u testu sa *V. fischeri* doveo je do inhibicije bioluminescence od 35% do maksimalno 45 %, kada je koncentracija testiranog uzorka iznosila (50%, v/v), tako da vrednost od 50 % inhibicije nije dostignuta.

Efekat rastvora IBP-a tretiranog u Pt-Pd sistemuna mortalitet (%) *A. salina* je bio ispod 30%, pri najvišoj testiranoj koncentraciji od 100% (c, v/v), a *V.fischerise* pokazao kao osjetljiviji test za procenu ekotoksičnog efekta proizvoda degradacije IBP-a nakon EAOP (Pt-Pd) tretmana.

Katalitički NTP tretman pokazao se kao najefikasniji tretman za degradaciju 4CP i ibuprofena u odnosu na nekatalitički NTP tretman. EAOP - i su se pokazali kao potencijalno efikasni tretmani u degradaciji reaktivnih azo boja, ali ne i ibuprofena. Tehnike AOP –a, ne mogu zameniti klasične tretmane u prečišćavanju voda, ali mogu biti upotrebene kao odgovarajući pred-tretman kako bi se povećala biodegradibilnost ili kao post-tretman za uklanjanje perzistentnih organskih zagađujućih supstanci. Takođe, mora postojati kontrola ekotoksikološkog efekta proizvoda degradacije pre nego što se tretirani efluenti ispuste u životnu sredinu.

6. LITERATURA

A

- Ahlborg, U.G., Thunberg, T.M.(1980)Chlorinated phenols: occurrence toxicity metabolism an environmental impact, *CRC Cr. Rev. Toxicol.*7, 1-35.
- Ahmadi, M., Mohseni. M., Vahabzadeh F. (2008) Study on trend of biodegradability of phenolic compounds during photo-fenton advanced oxidation process,*Iran J Chem Eng* 5, 23–32.
- Akira, F., Tata, N.R., Donald, A.T.(2000) Titanium dioxide photocatalysis, *J. Photochem. and PhotobiolC: Photochem. Rev.*1, 1–21.
- Al-Kdasi A., Idris A., Saed K., Guan C.T. (2004) Treatment Of Textile Wastewater By Advanced Oxidation Processes, *Global Nest: the Int. J.* 6, 222-230.
- Ambuludi, S.L., Panizza, M., Oturan, N., Özcan, A., Oturan, M.A.(2013)Kinetic behavior of anti-inflammatory drug in aqueous medium during its degradation by electrochemical advance oxidation, *Environ Sci Pollut Res* 20, 2381 – 2389.
- Anantha, N.S.,Venkatesha,R., Venkatarangaiah, T. (2014)The Effect of Cathode Materials on Indirect Electrochemical Oxidation of Methyl Orange, Malachite Green and Methylene Blue, *Port. Electrochim. Acta*32.<http://dx.doi.org/10.4152/pea.201403213>
- Andreozzi, R., Canterino, M., Marotta, R. (2006)Fe(III) homogeneous photocatalysis for the removal of 1,2-dichlorobenzene in aqueous solution by means UV lamp and solar light, *Water Res.* 40, 3785-3792.
- Andreozzi, R., Marotta, R., Pinto, G., Pollio, A. (2002) Carbamazepine in water: persistence in the environment, ozonization treatment and preliminary assessment on algal toxicity.*Water Research* 36, 2869 – 2877.
- Anglada, A., Urtiaga, A., Ortiz, I.(2009)Contributions of electrochemical oxidation to waste-water treatment: fundamentals and review of applications,*J Chem Technol Biotechnol*84, 1747–1755.

- Araujo, C.V.M., Nascimento, R.B., Oliveira, C.A., Strotmann, U.J., Da Silva, E.M.**(2005)The use of Microtox to assess toxicity removal of industrial effluents from the industrial district of Camacari (BA, Brazil) *Chemosphere*, **58**, 1277-1281.
- Ayoub, K, Van Hullebusch, E.D., Cassir, M., Bermond, A.**(2010)Application of advanced oxidation processes for TNT removal: a review. *J Hazard Mater* **178**, 10–28.

B

- Backhause, T., Altenburger, R., Boedeker, W., Faust, M., Scholze, M., Grimme, L. H.** (2000) Predictability of the toxicity of a multiple mixtures of dissimilarly acting chemicals to *Vibrio fischeri*, *Environ. Toxicol. Chem.***19**, 2348-2356.
- Bandala, E. R., Pelaez, M. A., Garcia. A. J., Salgado, M. J., Moeller, G.** (2008)Photocatalytic decolorization of synthetic and real textile wastewater containing benzidinebased azo dyes, *Chem Eng Process.***47**, 169–176.
- Barahona, M.V., Sanchez-Fortun, S.** (1999) Toxicity of carbamates to the brine shrimp *Artemia salina* and the effect of atropine, BW284c51, iso- OMPA and 2-PAM on carbaryl toxicity, *Environ Pollut* **104**, 469–76.
- Bard, J., Allen, Faulkner, R., Larry** (2001) Electrochemical methods, Fundamentals and Applications, Department of Chemistry and Biochemistry University of Texas at Austin, John Wiley & Sons, Inc,156-176.
- Beckman, J.S., Koppenol, W.H.**(1996)Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* **271**,1424– 1437.
- Beckman, J.S., Beckman, T.W., Chen, J., Marshall, P.A., and Freeman, B.A.**(1990)Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite - implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **87**, 1620– 1624.
- Benotti, M.J., Trenholm R.A., Vanderford, B.J., Holady, J.C., Stanford, B.D., Snyder, S.A.** (2009) Pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in US drinking water.*Environ. Sci. Technol.* **43**, 597–603.

- Bigda, R. J.**(1995) Consider Fenton chemistry for wastewater treatment, *Chem. Eng. Prog.***91**, 62–66.
- Bloecher, C.** (2007) Elimination of micropollutants and hazardous substances at the source in the chemical and pharmaceutical industry. *Water Sci Technol***56**, 119–23.
- Bowling, J. W., Leversee, G. J., Landrum, P. F., and Giesy, J. P.**(1983) Acute mortality of anthracene-contaminated fish exposed to sunlight. *Aqu Toxicol***3**, 79-90.
- Boye, B., Dieng, M.M., Brillas, E.,** *Environ. Sci. Technol.* **36** (2002) 3030.
- Brandenburg, R., Kovačević, V. V., Schmidt, M., Basner, R., Kettlitz M., Sretenović G.B., Obradović, B. M., Kuraica, M. M., Weltmann, K.D.**(2014) Plasma-Based Pollutant Degradation in Gas Streams: Status, Examples and Outlook. *Contrib. Plasm. Phys***54**, 202-214.
- Brezonik, P. L., Fulkerson-Brekken, J.**(1998) Nitrate-induced photoysis in natural waters: controls on concentrations of hydroxyl radical photo-intermediates by natural scavenging agents. *Environ Sci Technol* **32**, 3004–3010.
- Brillas, E., Garrido, J.A., Rodríguez, R.M., Arias, C., Cabot, P.L., Centellas F.**(2008) Wastewaters by electrochemical advanced oxidation processes using a BDD anode and electrogenerated H₂O₂ with Fe(II) and UVA light as catalysts. *Port Electrochim Acta* **26**, 15–46.
- Brillas, E., Martinez-Huitle, C. A.**(2011) Synthetic diamond films: preparation, electrochemistry, characterization and application. Wiley, New Jersey
- Brillas, E., Sires, I., Oturan, M. A.** (2009) Electro-Fenton process and related electrochemical technologies based on Fenton's reaction chemistry. *Chem Rev* **109**, 6570–6631.
- Brisset, J.L., Benstaali, B., Moussa, D., Fanmoe, J., and Njoyim-Tamungang, E.** (2011) Acidity control of 3. 4. plasma-chemical oxidation: Applications to dye removal, urban waste abatement and microbial inactivation. *Plasma Sources Sci. Technol.*, **20**, 034021.
- Brix, K., Cardwell, R., Adams, W.** (2003) Chronic toxicity of arsenic to the Great Salt Lake brine shrimp, *Artemia franciscana*. *Ecotox Environ Safe* **54**, 169-175.

- Bubnov, A. G., Grinevich, V. I., Kuvykin, N. A.** (2004) Phenol Degradation Features in Aqueous Solutions upon Dielectric-Barrier Discharge Treatment, *High Energy Chemistry*, **38**, 338–343.
- Bubnov, A. G. E., Burova, Y., Grinevich V. I., Rybkin, V. V., Kim, J. K., Choi, H. S.**(2006) Plasma-catalytic decomposition of phenols in atmospheric pressure dielectric barrier discharge *Plasma Chem. Plasma Process.* **26** (2006), 19–30.
- Butler, E., Hung, Y. T., Yeh, R. L. Y.** (2011) Mohammed Suleiman Al Ahmad Electrocoagulation in Wastewater Treatment, *Water Res.* **3**, 495-525;
- Buxton G.V., Greenstock C.L.**(1988) Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, *J. Phys. Chem. Ref. Data* **17**, 513–886.

C

- Carlos A., Martínez-Huitle, Brillas, E.** (2008), Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods: A general review, *Applied Catalysis B: Environmental*, **41**,10481.
- Carneiro P.A., Boralle, N., Stradiotto, N.R., Furlan, M., Zanoni, M.V. B.** (2004)*J. Braz. Chem. Soc.*, **15**, 587–594.
- Carneiro, P.A., Fugivara, C.S., Nogueira, R.F.P., Boralle, N., Zanoni, Port, M.V. B.** (2003)*Electrochim. Acta*, **21**, 49–67.
- Castiglioni, S., Bagnati, R., Fanelli, R., Pomati, F., Calamari, D., Yuccato, E.** (2006) Removal of pharmaceuticals in sewage treatment plants in Italy, *Environ Sci. Tech.***40**, 357-363.
- Chang, J., Lawless, P., and Yamamoto, T.** (1991) Corona discharge processes. *IEEE Trans. Plasma Sci.* **19**, 1152– 1166.
- Chatzisyneon, E., Xekoukoulotakis, N.P., Coz, A., Kalogerakis, N., Mantzavinos, D.**(2006) Electrochemical treatment of textile dyes and dyehouse effluents. *J. Hazard. Mater. B.* **137**, 998 – 1007.
- Chatzitakis, A., Berberidou, C., Paspaltsis, I., Kyriakou, G., Sklaviadis, T., Poulios, I.**(2008)Photocatalytic degradation and drug activity reduction of chloramphenicol. *Water Res* **42**, 386–94.

- Chen G.** (2004) Electrochemical technologies in wastewater treatment. *Sep Purif Technol*, **38**, 11–41.
- Chen N., Rioux R.M., Ribeiro H.**, (2004) *Appl. Catal.*, 271 85–94.
- Chen, X., Bian W., Song, X., Liu, D., Zhang, J.** (2013) Degradation of 4-chlorophenol in a dielectric barrier discharge system, *Sep. Purif. Technol.* **120**, 102–109.
- Chen, R.Z. and Pignatello, J. J.** (1997) Role of quinone intermediates as electron shuttles in Fenton and photoassisted Fenton oxidations of aromatic compounds. *Environ. Sci. Technol.* **31**, 2399– 2406.
- Chen, Y.S., Zhang, X. S., Dai, Y. C. and Yuan, W. K.**(2004) Pulsed high-voltage discharge plasma for degradation of phenol in aqueous solution. *Sep. Purif. Technol.*, **34**,5-12.
- Coleman R.N., Qureshi A. A.** (1985) Microtox and Spirillum volutans Tests for Assessing Toxicity of Environmental Samples. Bull. Environ. *Contam. Toxicol.* **35**, 443-451.
- Commission Directive** 2001/59/EC of 6 August 2001 adapting to technical progress for the 28th time Council Directive 67/548/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions relating to the classification, packaging and labeling of dangerous substances. OJEC L225 (2001) 1–333.
- Comninellis, C.** (1994) Electrocatalysis in the electrochemical conversion/combustion of organic pollutants for waste water treatment, Proceedings of the Symposium on Water Purification by Photocatalytic, Photoelectrochemical and Electrochemical Processes, 94-19 Pennington, NJ: The Electrochemical Society, 75–86.
- Comninellis, C., Kapalka, A., Malato, S., Parsons. S. A., Poulios, I., Mantzavinos, D.** (2008) Perspective Advanced oxidation processes for water treatment: advances and trends for R&DJ, *Chem Technol Biotechnol.* **83**, 769–776
- Comninellis, C., Pulgarin, C.** (1993) Electrochemical oxidation of phenol for wastewater treatment using SnO₂ anodes. *J Appl Electrochem* **23**, 108–112
- Connell, D., Lam, P., Richardson, B. and Wu, R.** (1999): Introduction to ecotoxicology. Blackwell Science Ltd, London, United Kingdom, 2-5, 145-155.

- Connell, Des, W., Lam, Paul, and Richardson, Bruce.**(2009) Introduction to Ecotoxicology. Hoboken, NJ, USA: Wiley-Blackwell 44-80.
- Conrads, H., Schmidt, M.,**(2000) Plasma generation and plasma sources, *Plasma Sources Sci. Technol.* **9**, 441–454.
- Contrerasa, S., Rodriguezb, M., Momania, F.A., Sansa, C., Esplugas, S.,** (2003) Contribution of the ozonation pre-treatment to the biodegradation of aqueous solutions of 2,4-dichlorophenol, *Water Res.* **37**, 3164–3171.
- Cooper, W. J., Herr, F. L.** (1987) Introduction and Overview. In: Zika RG, Cooper WJ, eds., in Photochemistry of Environmental Aquatic Systems, Chap. 1. Washington, DC: American Chemical Society, 1–8.
- Cooper, J. and Dobson, H.** (2007) The benefits of pesticides to mankind and the environment. *Crop Protection* **26**, 1337-1348.
- Cornelissen, G., VanNoort, P. C. M., Parsons, J. R. and Govers, H. A. J.**(1997) Temperature dependence of slow adsorption and desorption kinetics of organic compounds in sediments, *Environ Sci Technol.* **31**, 454-460.
- Crosby, D.G.**(1994) Photochemical aspects of bioavailability, in Bioavailability Physical, Chemical and Biological Interactions, Hammelink JL, Landrum PF, Bergman HL, Benson WH, eds Lewis Publishers, 109-118.

D

- De la Cruz, N., Giménez, J., Esplugas, S., Grandjean, D., de Alencastro, L. F., Pulgarín, C.** (2012) Degradation of 32 emergent contaminants by UV and neutral photo-fenton in domestic wastewater effluent previously treated by activated sludge, *Water Res.* **46**, 1947-1957
- Del Río, A.I., Molina, J., Bonastre, J., Cases, F.** (2009) Influence of electrochemical reduction and oxidation processes on the decolourisation and degradation of C.I. Reactive Orange 4 solutions, *Chemosphere* **75**, 1329–1337.
- Dirany, A., Sires, I., Oturan, N., Oturan, M. A.** (2010) Electrochemical abatement of the antibiotic sulfamethoxazole from water, *Chemosphere* **81**, 594–602.

- Dirany, A., Sires, I., Oturan, N., Ozcan, A., Oturan, M. A.** (2012) Electrochemical treatment of the antibiotic sulfachloropyridazine: kinetics, reaction pathways, and toxicity evolution, *Environ Sci Technol* **46**, 4074–4082.
- Dojčinović, B.P., Manojlović, D., Roglić, G.M., Obradović, B.M., Kuraica, M.M., Purić, J.**(2008) Plasma assisted degradation of phenol solutions, *Vacuum Volume*, **83**, 234-237.
- Dojčinović, B. P., Roglić, G. M., Obradović, B. M., Kuraica, M. M., Kostić, M. M., Nešić, J., Manojlović, D. D.** (2011) Decolorization of reactive textile dyes using water falling film dielectric barrier discharge, *J Hazard Mater.* **192**, 763–771
- Dojčinović, B. P.** (2011) Primena reaktora na bazi dielektričnog barijernog pražnjenja za dekolorizaciju reaktivnih tekstilnih boja, doktorska disertacija, Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu
- Domínguez, J. R., González, T., Palo, P., Sánchez-Martín, J.** (2010) Anodic oxidation of ketoprofen on boron-doped diamond (BDD) electrodes. Role of operative parameters, *Chem. Eng. J.* **162**, 1012–1018.
- Douglas, A., Skoog, Donald, M., West, F., James Holler** (1999) Osnove analitičke kemije, Školska knjiga, Zagreb

E

- Eduardo, B. A., Francisco, R. A. N., Márcia, D.** (2006) Lumped kinetics and acute toxicity of intermediates in the ozonation of phenol in saline media, *J. Hazard. Mater B.* **128**, 182–191.
- Eisenberg, G. M.**(1943) Colorimetric determination of hydrogen peroxide, *Ind Eng Chem. Res.* **15**, 327–328.
- Eliasson, B. and Kogelschatz, U.**(1991) Modelling and applications of silent discharge plasmas, *IEEE Trans. Plasma Sci.* **19**, 309– 323.
- Emmanuel, E., Pierre, M. G., Perrodin, Y.** (2009) Groundwater contamination by microbiological and chemical substances released from hospital wastewater: health risk assessment for drinking water consumers, *Environ Int.* **35**, 18–726.

- EPA(2002) Methods for Measuring the Acute Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater and Marine Organisms 5 th ed. Washington DC.
- Eslami, A., Moradi, M., Ghanbari, F. and Mehdipour, F. (2013) Decolorization and COD removal from real textile wastewater by chemical and electrochemical Fenton processes: a comparative study, *J. Env. Health Sci& Eng.* 11:31.
- Esplugas, S., Bila, D. M., Krause, L. G. T., Dezotti, M.(2007) Ozonation and advanced oxidation technologies to remove endocrine disrupting chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in water effluents, *J Hazard Mater* **149**, 631–42.

F

- Fan, L., Ni, J., Wu, Y., Zhang, Y. (2009) Treatment of bromoamine acid wastewater using combined process of micro-electrolysis and biological aerobic filter, *J Hazard Mater* **162**, 1204–1210.
- Farré, M., Asperger, D., Kantiani, L., González, S., Petrovic, M., Barceló, D.(2008) Assessment of the acute toxicity of triclosan and methyl triclosan in wastewater based on the bioluminescence inhibition of *Vibrio fischeri*, *Anal Bioanal Chem.* **390**, 1999–2007.
- Faust, B. C., Hoigné, J.(1987) Sensitized photooxidation of phenols by fulvic acid and in natural waters. *Environ Sci Technol* **21**, 957–964.
- Fent, K., Weston, A. A., Caminada, D.(2006) Review ecotoxicology of human pharmaceuticals, *Aquat Toxicol.* **76**, 122–159.
- Fenton, H. J. H.(1894) Oxidation of tartaric acid in presence of iron, *J. Chem.Soc Trans.* **65**, 899-910.
- Ferrém, M., Ferrerm, I., Ginebradam, A., Figuerasm, M., Olivellam, L., Tirapum, L.(2000) Determination of drugs in surface water and wastewater samples by

liquid chromatography–mass spectrometry: methods and preliminary results including toxicity studies with *Vibrio fischeri*. *J Chromatogr A*.**938**, 187–97.

Flippin, J. L., Huggett, D., Foran, C. M. (2007) Changes in the timing of reproduction following chronic exposure to ibuprofen in Japanese medaka, *Oryzias latipes*. *Aquat Toxicol***81**, 73–78.

Fridman, A., Chirokov, A., Gutsol, A. (2005) Non-thermal atmospheric pressure discharges, *J Phys D: Appl Phys***38**, R1-R24.

Fridman, G., Friedman, G., Gutsol, A., Shekhter, A., Vasilets, V., Fridman, A.(2008)*Appl. Plasma Med. Plasma Process. Polym.* 5503 – 533.

Fukushima, M., Tatsumi, K. (2001) Degradation pathways of pentachlorophenol by photo-Fenton systems in the presence of iron (III) humic acid and hydrogen peroxide, *Environ Sci Technol***35**, 1771–1778.

Fulladosa, E., Murat, J. C., Villaescusa, I.(2005) Study on the toxicity of binary equitoxic mixtures of metals using the luminescent bacteria *Vibrio fischeri* as a biological target, *Chemosphere* **58**, 551-557.

G

Garrido, J. A., Brillas, E., Cabot, P. L., Centellas, F., Arias, C., Rodríguez, R. M. (2007) Mineralization of drugs in aqueous medium by advanced oxidation processes. *Port Electrochim Acta.* **25**, 19–41.

Giesy, J. P., Bartell, S. M., Landrum, P.F., Leversee, G. J., Bowling, J. W., Bruno, G., Fannin, T. E., Gerould, S.(1982) Haddock JD, LAgora K, Oris, JT and Spacie A Fates and Biological effects of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Aquatic System. EPA -78-DX0290, US, Environmental Protection Agency, Athens, Ga.

Gogate, P. R., Pandit, A. B. (2004) A review of imperative technologies for waste-water treatment I: oxidation technologies at ambient conditions, *Advances in Environmental Research* **8**, 501-551.

Goldman, A., Goldman, M., Sigmond, R.S., and Sigmond, T. (1989) Analysis of air corona products by means of their reactions in water, in ISPC-9: 9th International Symposium on Plasma Chemistry (ed. R.D. Agostino), University of Bari, Pugnochiuso, Italy, 1654.

- Goldstein, S., Squadrito, G.L., Pryor, W.A., and Czapski, G.,** (1996) Direct and indirect oxidations by peroxyxynitrite, neither involving the hydroxyl radical, *Free Radical Biol. Med.* **21**, 965– 974.
- Grabowski, L.R., van Veldhuizen, E.M., and Rutgers, W.R.,**(2005)Removal of phenol from water: a comparison of energization methods.*J. Adv. Oxid. Technol.* **8**, 142– 149.
- Grimwood, Mascarenhas,** Proposed environmental quality standards for 2-, 3- and 4-chlorophenol and 2,4-dichlorophenol in water, Environment Agency Technical Report P46/i688, WRc Report No. EA4215, 1997.
- Grossi, V., Cravo-Laureau, C., Me'ou, A., Raphel, D., Garzino, R., Hirschler-Re'a, A.,** (2007)Anaerobic 1-alkene metabolism by the alkane- and alkene-degrading sulfate reducer *Desulfatibacillum aliphaticivorans* strain CV2803T. *Applied and Environmental Microbiology* **73**, 7882–7890.
- Grymonpre, D.R., Sharma, A.K., Finney, W.C., and Locke, B.R.,**(2001)The role of Fenton's reaction in aqueous phase pulsed streamer corona reactors. *Chem. Eng. J.* , **82**, 189– 207.
- Grymonpre, D.R., W.C. Finney and B.R. Locke,** (1999)Aqueous-phase pulsed streamer corona reactor using suspended activated carbon particles for phenol oxidation: Model-data comparison.*Chem.Eng. Sci.*, **54(15-16)**, 3095-3105.
- Guido, B., Silvia, R., Carlo, A., Laura.** (2008) Technologies for the removal of phenol from fluid streams: A short review of recent developments, *J. Hazard. Mater.* **160**, 265–288.
- Guivarch, E., Trevin, S., Lahitte, C., Oturan, M. A.** (2003)Degradation of azo dyes in water by electro-Fenton process. *Environ Chem Lett* **1**, 38–44.
- Guohua Chen,**(2004) Electrochemical technologies in wastewater treatment, *Separation and Purification Technology* **38**, 11–41.

H

- Hai, F. I., Yamamoto, K., Fukushi, K.,**(2007)Hybrid treatment systems for dye wastewater. *Crit Rev Environ Sci Technol* 37(4):315–377.
- Haiss, K. K.,** (2006) Biodegradability of the X-ray contrast compound diatrizoic acid, identification of aerobic degradation products and effects against sewage sludge micro-organisms. *Chemosphere* 62, 294–302.
- Hao, X. L., Zhou, M. H., Lei, L.C.,** (2007) Non-thermal plasma-induced photocatalytic degradation of 4-chlorophenol in water, *Journal of Hazardous Materials* 141, 475–482.
- Hao, O.J., Kim, H. & Chang, P.C.,** (2000) Decolorization of wastewater. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 30, 449-505.
- Hattori, S., E., Takahashi, T., Kurosu, M., Nara, S., Nakamatsu, Y., Nishiki, T., Furuta, M.,** (2003) Electrolytic decomposition of amaranth dyestuff using diamond electrodes, *Journal of Applied Electrochemistry*33, 85–91.
- Hayashi, D., Hoeben, W., Doms, G., van Veldhuizen, E.M., Rutgers, W.R., and Kroesen, G.M.W.,** (2000) Influence of gaseous atmosphere on corona-induced degradation of aqueous phenol. *J. Phys. D: Appl. Phys.*, 33, 2769– 2774.
- Herney-Ramireza, J., Vicente, M. A., Madeira, L. M.,** (2010) Heterogeneous photo-Fenton oxidation with pillared clay-based catalysts for wastewater treatment: A review, *Applied Catalysis B: Environmental* 98, 10–26
- Hickling, A., and Ingram, M. D.** (1964) Contact glow-discharge electrolysis, *Trans. Farad. Soc.* 60, 783-793.
- Hodson, P.V., Dixon, D.G., Kaiser, K.L.E.,** (1984) Measurement of Median Lethal Dose as a Rapid Indication of Contaminant Toxicity to Fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 3, 243- 254
- Hoeben, W., van Veldhuizen, E.M., Rutgers, W.R., and Kroesen, G.M.W.,** (1999) Gas phase corona discharges for oxidation of phenol in an aqueous solution. *J. Phys. D: Appl. Phys* , 32 (24), L133– L137.
- Hoigne, J.,** (1998) Chemistry of aqueous ozone and transformation of pollutants by ozonation and advanced oxidation processes, in *The Handbook of*

Environmental Chemistry, Vol. 5, Part C, Quality and Treatment of Drinking Water II (ed. J. Hrubec), Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 83–141.

Hunger, K., (2003) Industrial Dyes - Chemistry, properties, applications, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Germany.

Hunsberger, J.F., Standard reduction potentials in: R.C. Weast (Ed.), Handbook of Chemistry and Physics, 58th ed., D141-144, CRC Press, Ohio, 1977 .

I

IARC: Monographs on the evolution of carcinogenic risk to humans. WHO IARC 57, 1993.

Ikehata, K., Naghashkar, N. J., El-Din, M. G., (2006) Degradation of aqueous pharmaceuticals by ozonation and advanced oxidation processes: a review. *Ozone Sci Eng* 28, 353–414.

Illés, E., Takács, E., Dombi, A. (2013) Hydroxyl radical induced degradation of ibuprofen, *Science of the Total Environment* 447, 286–292.

ISO 10253, 1995, LVS EN ISO 10253, 2000: Growth inhibition test for marine algae.

ISO 10706:2000(E): Water quality — Determination of long term toxicity of substances to *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea).

ISO 11348- 3/2007 Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri*, Luminiscent bacteria test

ISO 11348-3, 2007(E): Water quality. Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test). Part 3: Method using freeze-dried bacteria.

ISO 12890, 1999(E): Water quality — Determination of toxicity to embryos and larvae of freshwater fish — Semi-static method. 21/23

ISO 13829, 2000(E): Water quality — Determination of the genotoxicity of water and waste water using the umu-test.

ISO 14442, 1999 Water quality – Guidelines for algal growth inhibition tests with poorly soluble materials, volatile compounds, metals and waste water.

ISO 16240, 2005: Water quality – Determination of the genotoxicity of water and waste water - Salmonella/microsome test (Ames test).

- ISO 20079, 2006(E):** Water quality. Determination of the toxic effect of water constituents and waste water to duckweed (*Lemna minor*). Duckweed growth inhibition test.
- ISO 21427-2, 2006:** Water quality — Evaluation of genotoxicity by measurement of the induction of micronuclei.
- ISO 21338, 2010** Water quality – Kinetic determination of the inhibitory effects of sediment, other solids and coloured samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (kinetic luminescent bacteria test).
- ISO 6341, 1996(E):** Water quality - Determination of the inhibition of mobility of *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea) - Acute toxicity test.
- ISO 8692, 2004(E):** Water quality. Freshwater algal growth inhibition test with unicellular green algae.
- ISO/TS 23893-2, 2007:** Water quality -- Biochemical and physiological measurements on fish – Part 2: Determination of ethoxyresorufin-O-deethylase (EROD).
- ISO/WD 23893-3, 2009:** Water quality – Biochemical and physiological measurements on fish - Part 3: Determination of vitellogenin.

J

- Jain, R., Bhargava, M., Sharma, N.** (2003) Electrochemical studies on a pharmaceutical azo dye: Tartrazine, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **42**, 243–247.
- Jain, R., Varshney, S., Sikarwar, S. J.,** (2007) Removal of Reactofix Navy Blue 2 GFN from aqueous solutions using adsorption techniques, *Colloid Interf. Sci.*, **313**, 248–253.
- Janca, J., Kuzmin, S., Maximov, A., Titova, J., and Czernichowski, A.,** (1999) Investigation of the chemical action of the gliding and “point” arcs between the metallic electrode and aqueous solution. *Plasma Chem. Plasma Process.*, **19**, 53– 67.
- Javier Benitez, F., Beltrán-Heredia, J., Acero, J. L., Rubio, F. J.,** (2000) Rate constants for the reactions of ozone with chlorophenols in aqueous solutions, *J. Hazard. Mater. B79*, 271–285.

- Ji, F., Li, C., Zhang, J., Deng, L.,** (2011) Efficient decolorization of dye pollutants with $\text{LiFe}(\text{WO}_4)_2$ as a reusable heterogeneous Fentonlike catalyst. *Desalination* **269**, 284–290.
- Jiang, Y., Petrier, C., David, T.,** (2006) Waite, Sonolysis of 4-chlorophenol in aqueous solution: Effects of substrate concentration, aqueous temperature and ultrasonic frequency, *Ultrason. Sonochem.* **13**, 415-422.
- Jin, A., Chia-Chi, S., Yi-Chun, T., Ming-Chun, L.,**(2010) Effect of hydrogen peroxide on aniline oxidation by electro-Fenton and fluidized-bed Fenton processes, *Journal of Hazardous Materials* **183**, 888–893.
- Johnson, D. C., and Chang, H. J.,** (1990) Electrocatalysis of Anodic Oxygen-Transfer Reactions Activation of PbO_2 -Film Electrodes in 1.0M HClO_4 by Addition of Bismuth(III) and Arsenic(III,V), *Electrochem. Soc.*,**137**, 2452–2457.
- Johnson, D. C., and Vitt, J.E.** (1992) The Importance of Anodic Discharge of H_2O in Anodic Oxygen-Transfer Reactions, *J. Electrochem. Soc.***139**,774–778.
- Jonathan, P. B., Voulvoulis, N.,** (2006) Predicted and measured concentrations for selected pharmaceuticals in UK rivers: implications for risk assessment. *Water Res* **40**,2885–2892.
- Jović, M.,** (2014) Degradation of triketone pesticides using advanced oxidation processes, PhD thesis, Faculty of Chemistry, University of Belgrade
- Jović, M., Dojčinović, B., Kovačević, V., Obradović, B., Kuraica, M., Gašić, U., Roglič, G.,** (2014) Effect of different catalysts on mesotrione degradation in water falling film DBD reactor. *Chem Eng J* **248**, 63-70.
- Jović, M., Manojlović, D., Stanković, D., Dojčinović, B., Obradović, B., Gašić, U., Roglič, G.,** (2013) Degradation of triketone herbicides, mesotrione and sulcotrione, using advanced oxidation processes. *J Hazard Mater.* **260**, 1092 – 1099.

K

- Karan, V.**, (2010) Ekotoksikologija. Skripta za studente međunarodnih master studija Poljoprivrednog fakulteta, Univerziteta u Beogradu. WUS Austria, 52-73.
- Kariyajjanavar, P., Jogttappa, N., Nayaka, Y.A.**, (2011) Studies on degradation of reactive textile dyes solution by electrochemical method. *J. Hazard. Mater.* **190**, 952-961.
- Keith, L.H., Telliard, W.A.**, (1979) Priority pollutants: a prospective view, *Environ. Sci.Tech.* **13c**, 416-424.
- Kim, H. S., Lee, W. S., Ahn, C. Y., Kim, B. H., Kim, J. E., Oh, H. M.**, (2010) Kinetic correlation between degradation and dechlorination of perchloroethylene in the Fenton reaction. *Korean J Chem Eng*, **27(6)**, 1750–1754.
- Klamerth, N., Rizzo, L., Malato, S., Maldonado, M.I., Agüera, A., Fernández-Alba, A. R.**, (2010) Degradation of fifteen emerging contaminants at $\mu\text{g L}^{-1}$ initial concentrations by mild solar photo-Fenton in MWTP effluents. *Water Research*, **44**, 545–554
- Klavarioti, M., Mantzavinos, D., Kassinos, D.**, (2009) Removal of residual pharmaceuticals from aqueous systems by advanced oxidation processes. *Environ Int* **35**, 402–417.
- Kobayashi, K., Tomita, Y., and Sanmyo, M.**, (2000) *J. Phys. Chem. B* **1049** 6318–26
- Korzeniewska, E., Korzeniewska, A., Harnisz, M.**, (2013) Antibiotic resistant *Escherichia coli* in hospital and municipal sewage and their emission to the environment. *Ecotoxicol Environ Saf* **91**, 96–102.
- Kosjek, T., Heath, E., Krbavcic, A.**, (2005) Determination of nonsteroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) residues in water samples. *Environ Int* **3**, 679–685.
- Kovačević, V. V., Obradović, B. M., Sretenović, G. B., Kuraica, M. M., and Purić, J.**, (2010) Electrical and spectral diagnostics of water falling film DBD in nitrogen and air. *Publ. Astron. Obs. Belgrade No. 89*, 297-300

- Kovalova, L., Siegrist, H., Singer, H., Wittmer, A., McArdell, C. S.,** (2012) Hospital wastewater treatment by membrane bioreactor: performance and efficiency for organic micropollutant elimination. *Environ Sci Technol* **46**, 1536–1545.
- Kreuzinger, N., Clara, M., Strenn, B. B.,** (2004) Vogel Investigation on the behaviour of selected pharmaceuticals in the groundwater after infiltration of treated wastewater. *Water Sci Technol*, **50**, 221–228.
- Krutzler, T., Fallmann, H., Maletzky, P., Bauer, R., Malato, S., Blanco, J.,** (1999) Solar driven degradation of 4-chlorophenol, *Catalysis Today* **54**, 321–327.
- Kühn, R., and Pattard, M.,** (1990): Results of the harmful effects of water pollutants to green algae (*Scenedesmus subspicatus*) in the cell multiplication test. *Water Research* **24**, 31-38.
- Kühn, R., Pattard, M., Pernak, K. and Winter, A.,** (1989): Results of the harmful effects of selected water pollutants to *Daphnia magna* in the 21 day reproduction test. *Water Research* **23**, 501-510.
- Kuraica, M. M., Obradović, B. M., Manojlović, D., Ostojić, D. R., and Purić, J.,** (2004) Ozonized water generator based on coaxial dielectric barrier discharge in air. *Vacuum* **73**, 705-708.

L

- Laasri, L., Elmrani, M.K., Omar, C.,** (2007) Removal of Two Cationic Dyes from a Textile Effluent by Filtration-Adsorption on Wood Sawdust. *Env. Sci. Pollut. Res.* **14** (4), 237- 240.
- Lam, M.W., Tantuco, K., Mabury, S.A.,** (2003) *Environ. Sci. Technol.* **37**, 899.
- Landis, G. W., and Yun, M. H.,** (1995) Introduction to Environmental Toxicology. Impacts of Chemicals Upon Ecological Systems. Lewis Publishers 1-328.
- Legrini, O., Oliveros, E., Braun, A. M.,** (1993) Photochemical Processes for Water Treatment. *Chem. Rev.* **1093**, 671-698.
- Legrini, O., Oliveros, E., and Braun, A.M.** (1993) Photochemical processes for water treatment. *Chem. Rev.* , 93 (2), 671– 698. Bolton, J. and Cater, S. (1994) Homogenous photodegradation of pollutants in contaminated water: An

- introduction, in Aquatic and Surface Photochemistry (eds G. Heiz, R. Zepp, and D. Crosby), Lewis Publishers, Boca Raton, FL, 467–490.
- Lezcano, I., Nuñez, N., Gómez, M.,** (2000) Espino Antibacterial activity of ozonized sunflower oil, oleozón, against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Ozone Sci. Eng.*, **22**, 207–214.
- Li T., Farrell J., Environ. Sci. Technol. 34 (2000) 173–179.**
- Li, J., Sato, M., and Ohshima, T.** (2007) Degradation of phenol in water using a gas-liquid phase pulsed discharge plasma reactor. *Thin Solid Films* **515**, 4283–4288.
- Lishman, L., Smyth, S. A., Sarafin, K., Kleywegt, S., Toito, J., Peart, T., Lee, B., Servos, M., Beland, M., Seto, P.,** (2006) Occurrence and reductions of pharmaceuticals and personal care products and estrogens by municipal wastewater treatment plants in Ontario, Canada. *Sci. Total. Environ.* **367**, 544–558.
- Liu, C. J. , Xu, G. H., Wang, T.,** (1999) Non-Thermal plasma approaches in CO₂ utilization. *Fuel Processess* **58**, 19–34.
- López-Serna, R., Jurado, A., Vázquez-Suñé, E., Carrera, J., Petrović, M., Barceló, D.,** (2013) Occurrence of 95 pharmaceuticals and transformation products in urban groundwaters underlying the metropolis of Barcelona, Spain. *Environ Pollut* **174**, 305–315.
- Lukes, P., Dolezalova, E., Sisrova, I., Clupek, M.,** (2014) Aqueous-phase chemistry and bactericidal effects from an air discharge plasma in contact with water: evidence for the formation of peroxyxynitrite through a pseudo-second-order post-discharge reaction of H₂O₂ and HNO₂. *Plasma Sources Sci. T.* **23**, **15**.
- Lukes, P., and Locke, B.R.,** (2005) Plasmachemical oxidation processes in a hybrid gas-liquid electrical discharge reactor. *J. Phys. D: Appl. Phys.* , **38**, 4074–4081.
- Lukes, P., Clupek, M., Babicky, V., Sunka, P., Skalny, J.D., Stefecka, M., Novak, J., and Malkova, Z.,** (2006) Erosion of needle electrodes in pulsed corona discharge in water. *Czech. J. Phys.* , **56**, B916–B924.
- Lukeš, P., Clupek, M., Sunka, P., Peterka, F., Sano, T., Negishi, N., Matsuzawa, S., and Takeuchi, K.,** (2005) Degradation of phenol by underwater pulsed corona

discharge in combination with TiO₂ photocatalysis. *Res. Chem. Intermediat.*, **31(4-6)**, 285-294.

Lukeš, P., Water treatment by pulsed streamer corona discharge. Ph.D. Thesis, Department of Water Technology and Environmental Engineering, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic (2001).

M

Magureanu, M., Piroi, D., Mandache, N. B., David, V., Medvedovici, A., Parvulescu, V.I., (2010) Degradation of pharmaceutical compound pentoxifylline in water by non-thermal plasma treatment. *Water Res.*, **44**, 3445–3453.

Magureanu, M., Piroi, D., Mandache, N.B., Parvulescu, V.,(2008) Decomposition of methylene blue in water using a dielectric barrier discharge: optimization of the operating parameters. *J. Appl. Phys.* **104**,103306–103307.

Malik, M. A., Ghaffar, A., Malik, S. A.,(2001) Water purification by electrical discharges. *Plasma Sources Sci. T.* **10**,82–91.

Manojlović, D., Mutić, J., Šegan, D., (2010), Osnove elektroanalitičke hemije, Hemijski fakultet, Beograd

Manojlović, D., Ostojić, D.R., Obradović, B.M., Kuraica, M.M., Krsmanović, V.D., and Purić, J.,(2006) Removal of Phenol and Chlorophenols from Water by New Ozone Generator. *Desalination*, **213**,116-122.

Manojlović, D., Popara, A., Dojčinović, B. P., Nikolić, A., Obradović, B. M., Kuraica, M. M., Purić, J.,(2008)Comparison of two methods for removal of arsenic from potable water. *Vacuum* **83**,142-145.

Mantzavinos, D., Psillakis, E. (2004) Enhancement of biodegradability of industrial wastewaters by chemical oxidation pre-treatment, *J. Chem. Tech. Biotech.* **79**, 431–454.

- Marc, P. T., Verónica, G.M., Miguel, A.B., Jaime, G., Santiago E.**(2004) Degradation of chlorophenols by means of advanced oxidation processes: a general review,*App Cataly B: Environ.* **47** 219–256.
- Malik, M. A., GhaffarA., Malik,S. A.** (2001) Water purification by electrical discharges, *Plasma Sources Sci. Technol.* **10**,82–91
- Marotta, E., Ceriani, E., Shapoval, V., Schiorlin, M., Ceretta, C., Rea, M., and Paradisi, C.**(2011)Characterization of plasma-induced phenol advanced oxidation process in a DBD reactor, *Eur. Phys. J.: Appl. Phys.* **55**, 13811.
- McAvoy, K.**(2008) Occurrence of estrogen in wastewater treatment plant and waste disposal site water samples,*Clear Waters* **38**.
- Meggo, R. E. and Schnoor, J. L.** (2011) Abiotic and Biotic Factors Affecting the Fate of Organic Pollutants in Soils and Sediments, in *Biophysico-Chemical Processes of Anthropogenic Organic Compounds in Environmental Systems* (eds B. Xing, N. Senesi and P. M. Huang), John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.
- Méndez-Arriaga F, Torres-Palma RA, Pétrier C, Esplugas S, Gimenez J, Pulgarin C.** (2008) Ultrasonic treatment of water contaminated with ibuprofen,*Water Res* **42**,4243-4248.
- Méndez-Arriaga, F., Esplugas, S., Giménez, J.** (2010) Degradation of the emerging contaminant ibuprofen in water by photo-Fenton,*Water Res* **44**,589–595
- Metclaf, J. S., Lindsay, J., Beattie K. A., et al.** (2002) Toxicity of cylindrospermopsin to the brine shrimp *Artemia salina*: comparisons with protein synthesis inhibitors and microcystins, *Toxicon* **40**, 1115-1120.

Michael, R.H., Scot, T.M., Wonyong, C., Detlef, W., Bahnemannt (1995) Environmental Applications of Semiconductor Photocatalysis, *Chem. Rev.* **95**,69-96.

Minamitani, Y., Shoji, S., Ohba, Y., and Higashiyama, Y. (2008) Decomposition of dye in water solution by pulsed power discharge in a water droplet spray, *IEEE Trans. Plasma Sci.* **36**, 2586– 2591.

Minic D., (2010), Primenjena elektrohemija, Fakultet za fizičku hemiju, Beograd.

Morched, H., Abdelhedi, R., Brillas, E., Sirés, I. (2009) Comparative electrochemical degradation of the triphenylmethane dye Methyl Violet with boron-doped diamond and Pt anodes, *J Electroanaly. Chem.* **627**, 41–50.

Moriarty, F. (1988) Ecotoxicology, The study of Pollutants in Ecosystems, 2nd edn. Academic Press, London.

Moussa, D., Doubla, A., Kamgang-Youbi, G., and Brisset, J.L. (2007) Postdischarge long life reactive intermediates involved in the plasma chemical degradation of an azoic dye. *IEEE Trans. Plasma Sci.* , **35**, 444– 453.

N

Naddeo, V., Meriç, S., Kassinos, D., Belgiorno, V., Guida, M. Fate of pharmaceuticals in contaminated urban wastewater effluent under ultrasonic irradiation *Water Res.* **43**, 4019–4027

Navarro, P., Sarasa, J., Sierra, D., Esteban, S., Ovelleiro, J. L. (2005) Degradation of wine industry wastewater by photocatalytic advanced oxidation, *Water Sci Technol.* **51**, 113-120.

NDRL/NIST Solution Kinetics Database on the Web. (2011) NIST standard reference database 40, <http://kinetics.nist.gov/solution> .

- Neilson, A. H. (2000) Organic Chemicals: An Environmental Perspective, Lewis Publisher 103-177
- Newman, M.C. and Unger, M.A. (2003) Fundamentals of ecotoxicology, 2nd ed. Lewis publishers, USA, 291-301.
- Neyens E., Baeyens J. (2003) A review of classic Fentons peroxidation as an advanced oxidation technique, *J. Hazard. Mater.* **98**, 33-50.
- Nunes, B., Carvalho, F., Guilhermino, L. (2005) Acute toxicity of widely used pharmaceuticals in aquatic species: *Gambusia holbrooki*, *Artemia parthenogenetica* and *Tetraselmis chuii*, *Ecotox Environ Safe* **61**, 413-419.
- Nunes, B. S., Carvalho, F. D., Guilhermino, L. M., Van Stappen, G. (2006) Review Use of the genus *Artemia* in ecotoxicity testing, *Environmental Pollution* **144** 453-462.
- Núñez, L., García-Hortal, J. A., Torrades, F. (2007) Study of kinetic parameters related to the decolourization and mineralization of reactive dyes from textile dyeing using Fenton and photo-Fenton processes, *Dyes Pigments*. **75**, 647-652.
- Nyholm, N., Ingerslev, F., Berg, U.T., Pedersen, J.P., Frimer- Larsen, H., (1996) Estimation of kinetic rate constants for biodegradation of chemicals in activated sludge wastewater treatment plants using short term batch experiments and µg/L range spiked concentrations, *Chemosphere* **33**, 851 -864.

O

- Oehmigen, K., Hahnel, M., Brandenburg, R., Wilke, C., Weltmann, K.D., and von Woedtke, T. (2010) The role of acidification for antimicrobial activity of atmospheric pressure plasma in liquids, *Plasma Process. Polym.* **7**, 250– 257.
- Ohshima, T., Sato, K., Terauchi, H. and Sato, M. (1997) Physical and chemical modifications of high-voltage pulse sterilization, *J. Electrostat.* **42**, 159–166.
- Oliveira, D.P., Carneiro P.A., Sakagami, M.K., Zanoni, M.V.B., Umbuzeiro, G.A. (2007) Chemical characterization of a dye processing plant effluent— Identification of the mutagenic components, *Mut. Res. Gen. Toxicol. and Environ. Mutag.* **626**, 135-142.

- Oller, I., Malato, S., Sanchez-Perez, J. A., (2011) Combination of advanced oxidation processes and biological treatments for wastewater decontamination—a review, *Sci Total Environ.* **409**, 4141–4166.
- Olvera-Vargas, H., Oturan, N., Aravindakumar, C., Sunil, P. M., Sharma, V., Oturan, M. (2014a) Electro-oxidation of the dye Azure B: kinetics, mechanism and by-products, *Environ Sci Pollut R* (in press)
- Orias, F., Perrodin, Y., (2013) Characterisation of the ecotoxicity of hospital effluents: a review, *Sci Total Environ* **455**, 250–276.
- Ortiz de García, S. A., Pinto G. P., García-Encina P. A., Irusta-Mata, R. (2014) Ecotoxicity and environmental risk assessment of pharmaceuticals and personal care products in aquatic environments and wastewater treatment plants, *Ecotoxicology* **23**, 1517–1533.
- Oturan, M.A. and Brillas, E. (2007) Electrochemical Advanced Oxidation Processes (EAOPs) for Environmental Applications, *Portugaliae Electrochimica Acta* **25**, 1-18.
- Oturan, N., Brillas, E., Oturan, M, A., (2012) Unprecedented total mineralization of atrazine and cyanuric acid by anodic oxidation and electro-Fenton with a boron-doped diamond anode, *Environ Chem Lett* **10**, 165–170.
- Owen, E. D. (1971) Principles of photochemical reactions in aqueous solution. In: Faust SD, Hunter JV, eds. Organic Compounds in Aquatic Environments. New York: Marcel Dekker Inc., 387–423.
- Ozcan, A., Sahin, Y., Oturan, M. A. (2013) Complete removal of the insecticide azinphos-methyl from water by the electro-Fenton method—a kinetic and mechanistic study, *Water Res* **47**, 1470–1479.
- Ozcan, A., Sahin, Y., Savas, Koparal, A., Oturan, M. A. (2009) Electro-Fenton removal of the cationic dye Basic Blue 3 by using carbon felt cathode, *Environ Eng Manag J* **19**, 267–275.

P

- Paciolla, M. D., Davies, G., Jansen, S. A.** (1999) Generation of hydroxyl radicals from metal-loaded humic acids, *Environ Sci Technol* **33**, 1814–1818.
- Panizza, M., Cerisola, G.** (2004) Electrochemical oxidation as a final treatment of synthetic tannery wastewater, *Environ Sci Technol* **38**, 5470–5475.
- Panizza, M., Cerisola, G.** (2009) Direct And Mediated Anodic Oxidation of Organic Pollutants, *Chem. Rev*, **109**, 6541–6569.
- Panizza, M., Cerisola, G.** (2007) Removal of colour and COD from wastewater containing acid blue by electrochemical oxidation, *J. Hazard. Mater.* **153**, 83–88.
- Parvulescu, Vasile I., Magureanu, Monica, and Lukes, Petr** (2012) eds. Plasma Chemistry and Catalysis in Gases and Liquids (2nd Edition). Somerset, NJ, USA: John Wiley & Sons.
- Perez, S., Barcelo, D.** (2007) Fate and occurrence of X-ray contrast media in the environment, *Anal Bioanal Chem* **387**, 1235–1246.
- Pérez-Estrada, L. A., Malato, S., Gernjak, W., Agüera, A., Thurman, E. M., Ferrer, I., and Fernández-Alba, A. R.** (2005) Photo-Fenton Degradation of Diclofenac: Identification of Main Intermediates and Degradation Pathway, *Environ, Sci. Technol.* **39**, 8300–8306.
- Persoone, G., Marsalek, B., Blinova, I., Törökne, A., Zarina, D., Manusadzianas, L., Nalecz-Jawecki, G., Tofan, L., Stepanova, N., Tothov, L., Kolar, B.** (2003) A practical and user-friendly toxicity classification system with microbiotests for natural waters and wastewaters, *Environ. Toxicol.* **18**, 395–402.
- Petrov, B. i Miličić, D.** (2011) Biologija rakova Autorizovana skripta sa radnim listovima, Univerzitet u Beogradu Biološki fakultet.
- Pignatello, J. J., Oliveros, E., and MacKay, A.** (2006) Advanced oxidation processes for organic contaminant destruction based on the Fenton reaction and related chemistry, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **36**, 1–84.

- Pomati, F., Netting, A. G., Calamari, D., Neilan, B. A.**(2004) Effects of erythromycin, tetracycline and ibuprofen on the growth of *Synechocystis* sp. and *Lemna minor*,*Aquat Toxicol.* **67**, 387–396.
- Poyatos, J. M., Muñio, M. M., Almecija, M. C., Torres, J. C., Hontoria, E., Osorio, F.** (2010) Advanced oxidation processes for wastewater treatment: state of the art,*Water Air Soil Pollut.* **205**, 187–204.
- Prabhakaran, D., Kannadasan, T., Ahmed Basha C.** Treatability of resin effluents by electrochemical oxidation using batch recirculation reactor. International Journal of Environment Science and Technology ISSN: 1735-1472 EISSN: 1735-2630 VOL. 6, NUM. 3, 2009, 491-498
- Pravilnik** o klasifikaciji, pakovanju, obeležavanju i oglašavanju hemikalije i određenog proizvoda. **Sl. glasnik RS, br. 25, Beograd, 2011.**
- Pravilnik** o klasifikaciji, pakovanju, obeležavanju i reklamiranju hemikalije i određenog proizvoda. **Sl. glasnik RS br. 59, Beograd, 2010.**

Q

- Quero-Pastor, M. J., Garrido-Perez, M. C., Acevedo, A., Quiroga, J. M.** (2014) Ozonation of ibuprofen: A degradation and toxicity study,*Sci Total Environ* **466–467**, 957–964.

R

- Rahman, M. F., Yanful, E. K., Jasim, S. Y.**(2009) Occurrences of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals in the aquatic environment and their removal from drinking water: challenges in the context of the developing world,*Desalination* **248**,578–85.
- Rai, H. S., Bhattacharyya, M. S., Singh, J., Bansal, T. K., Vats, P., Banerje, U. C.**(2005) Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: a review of emerging techniques with reference to biological treatment,*Crit Rev Environ Sci Technol* **35**, 219–238.
- Rand, G.M.** (1995) Fundamentals of Aquatic Toxicology: Effects, Environmental Fate, and Risk Assessment. 2nd ed. Taylor & Francis, USA, 803-900.

- Ravina, M., Campanella, L., Kiwi, J.** (2002) Accelerated mineralization of the drug Diclofenac via Fenton reactions in a concentric photo-reactor, *Water Res* **36** 3553-3560.
- Reis da Silva, M., Vasconcelos, de Sa L, Russo, C., Scio, E., Ferreira-Leitao, V.**(2010) The use of HPR in decolorization of reactive dyes and toxicological evaluation of their products, *Enzyme Res.* **1–7**.
- Reungoa, J., Macova, M., Escher, B.I., Carswell, S., Mueller, J.F., Keller J.**(2010) Removal of micropollutants and reduction of biological activity in a full scale reclamation plant using ozonation and activated carbon filtration, *Water Res.* **44**, 625–637.
- Rizzo, L.** (2011) Bioassays as a tool for evaluating advanced oxidation processes in water and wastewater treatment, *Water Res.* **45**, 4311-4340.
- Rizzo, L., Meric, S., Guida, M., Kassinos, D., Belgiorno, V.**(2009) Heterogenous photocatalytic degradation kinetics and detoxification of an urban wastewater treatment plant effluent contaminated with pharmaceuticals, *Water Res.* **43**, 4070-4078.
- Roberto, A., Vincenzo, C., Amedeo, I., Raffaele, M.**(1999) Advanced oxidation processes (AOP) for water purification and recovery, *Catalysis Today* **53** 51–59.
- Roberts, P. H., Thomas, K. V.** (2006) The occurrence of selected pharmaceuticals in wastewater effluent and surface waters of the lower Tyne catchment, *Sci Total Environ* **356**, 143–53.
- Robinson, J. A., Bergougnou, M. A., Cairns, W. L., Castle, G. S. P. and Inculet, I.** (1997) *IEEE IAS Ann. Meeting* (New Orleans, LA) **3**.1797–802.
- Robinson, J. W., Ham, M. and Balaster, A. N. J.** (1973) *Appl. Phys.* **44**, 72–75.
- Rodriguez, J., Rodrigo, M. A., Panizza, M., Cerisola, G.**(2009) Electrochemical oxidation of Acid Yellow 1 using diamond anode, *J Appl Electrochem* **39**, 2285–2289.
- Rohweder, U.** (2003) **Arzneimittel in der Umwelt, Auswertung der Untersuchungsergebnisse. Bund/Länderausschuss für**

Chemikaliensicherheit (BLAC), Bericht an die 61. Umweltministerkonferenz, Hamburg.

Rosal, R., Rodríguez, A., Perdigón-Melón, J.A., Petre, A., García-Calvo, E., Gómez, M. J., Agüera, A., Fernández-Alba, A. R. (2010a) Occurrence of emerging pollutants in urban wastewater and their removal through biological treatment followed by ozonation, *Water Res* **44**, 578–588.

Routledge, E., Sumpter, J.P. (1996) Estrogenic activity of surfactants and some of their degradation products assessed using a recombinant yeast screen, *Environ. Toxicol. Chem.* **15**, 241-248.

S

Sabri, N., Hanna, K., Yargeau, V. (2012) Chemical oxidation of ibuprofen in the presence of iron species at near neutral pH, *Sci Total Environ.* **427–428**: 382–389.

Sági, G., Csay, T., Pátzay, G., Csonka, E. Wojnárovits L, Takács E. (2014) Oxidative and reductive degradation of sulfamethoxazole in aqueous solutions: decomposition efficiency and toxicity assessment, *J Radioanal Nucl Chem.* **301**, 475–482.

Sahni, M. (2006) Analysis of chemical reactions in pulsed streamer discharges: an experimental study. PhD Dissertation. Florida State University, Tallahassee, FL.

Sahni, M., Finney, W.C., and Locke, B.R., (2005) Degradation of aqueous phase polychlorinated biphenyls (PCB) using pulsed corona discharges, *J. Adv. Oxid. Technol.* **8**, 105–111.

Sahni, M., Finney, W.C., Clark, R.J., Landing, W., and Locke, B.R. (2002) Degradation of aqueous phase trichloroethylene using pulsed corona discharge, in Proceedings of the 8th International Symposium High Pressure, Low Temperature Plasma Chemistry (Hakone 8) , University of Tartu, Puhajarve, Estonia.

- Sala, M. and Gutiérrez-Bouzán M.C.(2012) Electrochemical Techniques in Textile Processes and Wastewater Treatment, *International Journal of Photoenergy*, Article ID 629103, 12.
- Salazar, R., Brillas, E., Sirés, I.(2012) Finding the best Fe²⁺/Cu²⁺ combination for the solar photoelectro-Fenton treatment of simulated wastewater containing the industrial textile dye Disperse Blue 3, *Appl Catal B Environ* 115–116:107–116.
- Sánchez-Polo, M., López-Peñalver, J., Prados-Joya, G., Ferro-García, M. A., Rivera-Utrilla, J.(2009) Gamma irradiation of pharmaceutical compounds, nitroimidazoles, as a new alternative for water treatment, *Water Res.* 43, 4028–4036.
- Sano, N., Kawashima, T., Fujikawa, J., Fujimoto, T., Kitai, T., Kanki, T., and Toyoda, A. (2002) Decomposition of organic compounds in water by direct contact of gas corona discharge: Influence of discharge conditions, *Ind. Eng. Chem. Res.* 41, 5906–5911.
- Sanromán, M.A., Pazos, M., Ricart, M.T., Cameselle C. (2004) Electrochemical decolourisation of structurally different dyes, *Chemosphere* 57, 233-239.
- Santiago, E., Jaime, G., Sandra, C., Esther, P., Migue, R.(2002) Comparison of different advanced oxidation processes for phenol degradation, *Water Res.* 36,1034–1042.
- Santos, L. H., Araujo, A. N., Fachini, A., Pena, A., Delerue-Matos, C., Montenegro M.C.(2010) Ecotoxicological aspects related to the presence of pharmaceuticals in the aquatic environment, *J Hazard Mater* 175, 45–95.
- Saracco, G., Solarino, L., Specchia, V., Maja, M.(2001) Electrolytic abatement of biorefractory organics by combining bulk and electrode oxidation processes, *Chem Eng Sci* 56, 1571–1578.
- Sato, M., Tokutake, T., Ohshima, T., and Sugiarto, A.T. (2008) Aqueous phenol decomposition by pulsed discharges on the water surface, *IEEE Trans. Ind. Appl.* 44,1397–1402.

- Schwarzenbach, R. P., Gschwend, P. M. and Imboden, D. M. (2003) *Environmental Organic Chemistry*, 2nd ed. Wiley Interscience Hoboken, NJ 580-593, 1198-1208.
- Sharma, H. A. et al. (1997) *Environ Toxicol Chem* **16** (2): 346-50 Available from, as of October 16, 2008: http://cfpub.epa.gov/ecotox/quick_query.htm
- Sharma, A.K., Locke, B.R., Arce, P., and Finney, W.C. (1993) A preliminary-study of pulsed streamer corona discharge for the degradation of phenol in aqueous-solutions, *Waste Hazard. Mater.* **10**, 209– 219.
- Sheahan, D.A., Brighty, G.C., Daniel, M., Jobling, S., Harries, J.E., Hurst, M.R., Kennedy, J., Kirby, S.J., Morris, S., Routledge, E.J., Sumpter, J.P., Waldock, M.J. (2002) Reduction in the estrogenic activity of a treated sewage effluent discharge to an English river as a result of a decrease in the concentration of industrial derived surfactants, *Environmental Toxicology and Chemistry* **21**, 515–519.
- Shemer, H., Kunukcu, Y. K., Linden, K.G. (2006) Degradation of the pharmaceutical Metronidazole via UV, Fenton and photo-Fenton processes, *Chemosphere* **63**, 269-276.
- Shen, Y.J., Lei, L.C., Zhang, X.W., Zhou, M.H., and Zhang, Y. (2008) Effect of various gases and chemical catalysts on phenol degradation pathways by pulsed electrical discharges, *J. Hazard. Mater.* **150**, 713– 722.
- Shu, H. & Chang, M. (2005) Pilot scale annular plug flow photoreactor by UV/H₂O₂ for the decolourization of azo dye wastewater, *J. Hazard. Mater.* **B 125**, 244–251.
- Silva, J. C. C., Teodoro, J. A. R., Cássia, Franco, Afonso, R. J., Aquino, S. F., Augusti R. (2014) Photolysis and photocatalysis of ibuprofen in aqueous medium: characterization of by-products via liquid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry and assessment of their toxicities against *Artemia Salina*, *J Mass Spectrom* **49**, 145–153.
- Sim, W. J., Lee, J. W., Lee, E. S., Shin, S.K., Hwang, S.R., Oh, J. E. (2011) Occurrence and distribution of pharmaceuticals in wastewater from households, livestock farms, hospitals and pharmaceutical manufactures, *Chemosphere* **82**, 179–186.

- Sirés, I., Guivarch, E., Oturan, N., Oturan, M. A. (2008) Efficient removal of triphenylmethane dyes from aqueous medium by in situ electrogenerated Fenton's reagent at carbon-felt cathode, *Chemosphere* **72**, 592–600.
- Sirés, I., Oturan, N., Oturan, M. A., Rodriguez, R. M., Garrido, J.A., Brillas, E. (2007) Electro-Fenton degradation of antimicrobials triclosan and triclocarban, *Electrochim Acta* **52**, 5493–5503.
- Skoumal, M., Rodriguez, R. M., Lluís, P., Cabot (2009) Electro-Fenton, UVA photoelectro-Fenton and solar photoelectro-Fenton degradation of the drug ibuprofen in acid aqueous medium using platinum and boron-doped diamond anodes, *Electrochimica Acta* **54**, 2077–2085.
- Song, M., Brown, J. (1998) Osmotic Effects as a Factor Modifying Insecticide Toxicity on Aedes and Artemi, *Ecotox Environ Safe.* **41**, 195-202.
- Sonune, A., Ghatge, R. (2004) Developments in wastewater treatment methods, *Desalination.* **167**, 55-63.
- Squadrito, G.L. and Pryor, W.A. (1998) Oxidative chemistry of nitric oxide: the roles of superoxide, peroxyxynitrite, and carbon dioxide, *Free Radical Biol. Med.* **25**, 392– 403.
- Stalter D., Magdeburg A., Weil M., Knacker T., Oehlmann J. (2010) Toxication or detoxication In vivo toxicity assessment of ozonation as advanced wastewater treatment with the rainbow trout, *Water Res.* **44**, 439–448.
- Stangroom, S. J. C., Collins, C. D. and Lester, J. N. (2000) Abiotic behaviour of organic micropollutants in soils and the aquatic environment, A review: II. Transformations, *Environ. Technol.* **21**, 865 – 882.
- Steinberg, C.E.W. et al. (1992): Changes of Acute Toxicity of Organic Chemicals to Daphnia magna in the Presence of Dissolved Humic Material (DHM); *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 20(6), 326-332.
- Stirling, L. A., Watkinson, R. J., Higgins, I. J. (1977) Microbial metabolism of alicyclic hydrocarbons: isolation and properties of a cyclohexane-degrading bacterium, *J. Gen. Microbiol.* **99**, 119-125.

- Stuka, C., Sunka, P. and Bense, J. (1995)** Shock Waves @ Marseille III ed R Brun and L Z Dumitrescu (Berlin: Springer) 445–8.
- Suárez, S., Carballa, M., Omil, F., Lema, JM. (2008)** How are pharmaceutical and personal care products (PPCPs) removed from urban wastewaters, *Rev Environ Sci Biotechnol.* **7**, 125–38.
- Sugiarto, A.T. and Sato, M. (2001)** Pulsed plasma processing of organic compounds in aqueous solution, *Thin Solid Films.* **386**, 295– 299.
- Sun, X., Ghosh, U. (2007)** PCB bioavailability control in *Lumbriculus variegatus* through different modes of activated carbon addition to sediments, *Environ Sci Technol.* **41**, 4774-80.
- Sun, B., M. Sato and J.S. (2000)** Clements, Oxidative processes occurring when pulsed high voltage discharges degrade phenol in aqueous solution, *Environ. Sci. Technol.* **34**, 509-513.
- Sun, B., M. Sato and J.S. Clements (1999)** Use of a pulsed high-voltage discharge for removal of organic compounds in aqueous solution, *J. Phys. D Appl. Phys.* **32**, 1908-1915.
- Sunka, P., Babicky, V., Clupek, M, and Stuka, C. (1995)** Shock Waves @ Marseille III ed R Brun and L Z Dumitrescu (Berlin:Springer) 455–8
- Svensson, B., Mathiasson, L., Mårtensson, L., Bergström, S. (2005)** *Artemia salina* as test organism for assessment of acute toxicity of leachate water from landfills, *Environ. Monit. Assess.* **102**, 309-321.

T

- Tang, W. (2004)** Physicochemical treatment of Hazardous waste, CRC Press LLC, Boca Raton London New York Washington, D.C.
- Tarr, M.A. (2003)** Chemical Degradation Methods for Wastes and Pollutants: Environmental and Industrial Applications , Marcel Dekker, Inc., New York.
- Tauxe-Wuersch, L. F., De Alencastro, D., Grandjean, J., Tarradellas. (2005)** Occurrence of several acidic drugs in sewage treatment plants in Switzerland and risk assessment, *Water Res.* **39**, 1761-1772.

Tendero, C., Pascal. C., Tixier, T., Desmaison, J., Leprince, P. (2006) Atmospheric pressure plasmas, *A review Spectrochimica Acta Part B* **6**, 12–30.

Teodorović, I. and Maurić, N., (2003) **TesTox version 1.0.**

Tezuka, M., Iwasaki, M. (1998) Plasma induced degradation of chlorophenols in an aqueous solution, *Thin. Solid Films*. **316**, 123–127.

Treimer, S. E., Feng, J., Scholten, M. D., Johnson, D. C. and Davenport, A. J, J. (2001) *Electrochem. Soc.* **148**, 459–463.

Tsyganok A.I., Otsuka K. (1999) Selective dechlorination of chlorinated phenoxy herbicides in aqueous medium by electrocatalytic reduction over palladium-loaded carbon felt, *Appl. Catal. B* **22**, 15–26.

U

United Nations (2011) Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (GHS), 4th edn. United Nations Publications, New York

V

Vanhaecke, P., Persoone, G., Claus, C., Sorgeloos, P. (1981) Proposal for a short-term toxicity test with *Artemia nauplii*, *Ecotoxicol. Environ. Safety*, **5**, 382–387.

Vaughan, P. P, Blough, N. V. (1998) Photochemical formation of hydroxyl radicals by constituents of natural waters, *Environ Sci Technol* **32**, 2947–2953.

W

Wang, K.S., Chen, H.Y., Huang, L.C., Su, Y.C., Chang, S.H. (2008) Degradation of Reactive Black 5 using combined electrochemical degradation-solar-light/immobilized TiO₂ film process and toxicity evaluation, *Chemosphere*, **72**, 299–305.

Wang, F., D. W. Smith, and M. Gamal El-Din (2003)“Application of Advanced Oxidation Methods for Landfill Leachate Treatment—A Review,”*J. Environ. Eng. Sci.* **2**, 413–427.

Weissenbacher, N., Lenz, K., Mahnik, S., Fuerhacker, M. (2009) Removal of selected trace pollutants from hospital wastewaters: the challenge of on-site treatment optimization. *Technologies and Management for Sustainable Biosystems*

Willberg, D. M., Lang, P. S., Hochemer, R. H., Kratel, A. and Hoffman, M. R.(1996) *Environ. Sci. Technol.* **30**, 2526–34

Winkler, M., Lawrence, J. R., Neu, T. R. (2001) Selective degradation of ibuprofen and clofibric acid in two model river biofilm system, *Water Res.* **35**, 3197–3205.

X

Xiao-yan, Lia, Yu-hong Cuib, Yu-jie Fengb, Zhao-ming Xiea, Ji-Dong Guc. (2005) Reaction pathways and mechanisms of the electrochemical degradation of phenol on different electrodes, *Water Res.* **39**, 1972–1981.

Y

Yan, J.H., Du, C.M., Li, X.D., Sun, X.D., Ni, M.J., Cen, K.F., and Cheron, B. (2005) Plasma chemical degradation of phenol in solution by gas-liquid gliding arc discharge, *Plasma Sources Sci. Technol.* **14**, 637–644.

Yoon, J., Lee, Y., Kim, S. (2001) Investigation of the reaction pathway of OH radicals produced by Fenton oxidation in the conditions of wastewater treatment, *Wat. Sci. Technol.* **44**, 15–21.

Yuezhong Wen, Xuanzhen Jiang, Weiping Liu. (2002) Degradation of 4-Chlorophenol by High-Voltage Pulse Corona Discharges Combined with Ozone, *Plasma Chem. Plasma P.* **22**, 175-185.

Yusuff R.O., Sonibare J.A. (2004) Characterization of textile industries' effluents in Kaduna, Nigerian and pollution implications, *Global Nest: Int. J.*, **6**, 212-221.

Z

- Zgajnar, G. A., Tisler, T., Zagorc-Koncan, J.** (2009) Comparison of different treatment strategies for industrial landfill leachate, *J. Hazard. Mater.* **162**,1446-1456.
- Zhang, Y., Zhou, M, Hao, X., Lei, L.**(2007) Degradation mechanisms of 4-chlorophenol in a novel gas–liquid hybrid discharge reactor by pulsed high voltage system with oxygen or nitrogen bubbling,*Chemosphere.* **67**,702–711.
- Zheng, Y.M., Yunus, R.F., Nadeeshani, K.G., Nanayakkara, Chen, J.P.** (2012) Electrochemical Decolorization of Synthetic Wastewater Containing Rhodamine 6G: Behaviors and Mechanism, *Ind. Eng. Chem. Res.***51**, 5953–5960,
- Zhou, T., Lu, X., Wang J., Wong, F.S., Li Y.**(2009) Rapid decolorization and mineralization of simulated textile wastewater in a heterogeneous Fenton like system with/without external energy, *J. Hazard. Mater.* **165**,193–199.
- Zhu, X., Tian, J., Liu, R., Chen, L.** (2011) Optimization of Fenton and electro-Fenton oxidation of biologically treated coking wastewater using response surface methodology,*Sep Purif Technol* **81**, 444–450.

BIOGRAFIJA I BIBLIOGRAFIJA

Marijana Marković je rođena 22.05.1984. godine u Čačku. Posle završene gimnazije 2003. godine upisala je studije ekologije i zaštite životne sredine na Biološkom fakultetu u Beogradu gde je diplomirala 2009. godine sa prosečnom ocenom 9.71 tokom studija i ocenom 10 na diplomskom radu. Školske 2010/2011. godine upisala je doktorske studije na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, kao stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. Od februara meseca 2012. godine zaposlena je kao istraživač pripravnik u Centru za hemiju, Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju na projektu „Simultana bioremedijacija i soilifikacija degradiranih prostora, za očuvanje prirodnih resursa biološki aktivnih supstanci i razvoj i proizvodnju biomaterijala i dijetetskih proizvoda“ (III 43004). Iste godine je izabrana u istraživačko zvanje istraživač-saradnik.

Tokom doktorskih studija završila je obuke: “EUROTOX -Osnovni kurs toksikologije iz oblasti medicine” (Beograd, 2011), “Zvanično priznavanje i dobra eksperimentalna praksa“ u okviru „Twinning“ projekta, “Usaglašavanje nacionalnih propisa u oblasti registracije i kontrole sredstava za zaštitu bilja sa propisima Evropske unije i primena novih zakonskih propisa“ (Beograd, 2012), “LECOTOX” letnja škola praktične i primenjene ekotoksikologije (Novi Sad, 2012), obuka za rad na Thermo Scientific HPLC sistemu DIONEX Ultimate 3000, sa sistemom Chromeleon 6.8 (Beograd, 2012), “Procenu rizika u oblasti ekotoksikologije” (Beograd, 2012 i 2013), „Petničku školu mikroskopije“ (Valjevo, 2013) i školu primene softvera “MERLIN-Expo tool” za predviđanje ekspozicije hemijskim supstancama u različitim medijumima životne sredine (Beograd, 2015). Aktivni je član Srpskog hemijskog društva i Biohemijskog društva Republike Srbije.

Uža oblast istraživanja Marijane Marković odnosi se na zaštitu životne sredine i obuhvata ekotoksikološka ispitivanja prednosti i posledica primene unapređenih oksidacionih procesa (DBD - dielektričnog barijernog pražnjenja) u tretmanu otpadnih voda. Postignuti naučni rezultati ostvareni su u okviru naučnih projekata koje finansira Ministarstvo prosvete i nauke, Republike Srbije. Marijana Marković je koautor **devet**

naučnih radova publikovanih u međunarodnim časopisima: **četiri rada** u vrhunskim međunarodnim časopisima (**M21**), **jedan rad** u istaknutom međunarodnom časopisu (**M22**) i **četiri rada** u međunarodnim časopisima (**M23**). Održala je **jedno predavanje** po pozivu na međunarodnom skupu štampano u izvodu (**M32**), **četiri** saopštenja na međunarodnim skupovima (**M34**) i **sedam saopštenja** na skupovima nacionalnog značaja (**M64**). Celokupna bibliografija kandidata, kategorisana prema kriterijumima Ministarstva nauke Republike Srbije, data je u Prilogu koji sledi.

PRILOG: Bibliografija kandidata

1.Radovi objavljeni u međunarodnim časopisima kategorije (M20)

1.1 Naučni radovi publikovani u vrhunskim međunarodnim časopisima (M21):

1.1.1 M. Jović, D. Manojlović, D. Stanković, **M. Marković**, I. Anđelković, J. Papan, G. Roglič, „*Electrochemical Treatment of Reactive Blue 52 Using Zirconium, Palladium and Graphite Electrode*“, CLEAN – Soil, Air, Water 41 (2013) 804-808, originalni naučni rad.

ISSN: 1863-0669

Impakt faktor: = 1.838 (2013)

Oblast: Vodni resursi (23/81)

1.1.2 **M. Marković**, M. Jović, D. Stanković, V. Kovačević, G. Roglič, G. Gojgić-Cvijović, D. Manojlović, „*Application of non-thermal plasma reactor and Fenton reaction for degradation of ibuprofen*“, Science of Total Environment, 505 (2015) 1148-1155, originalni naučni rad.

ISSN 0048-9697

Impakt faktor: 3.163 (2013)

Oblast: Nauka o životnoj sredini (35/216)

1.1.3 R. Krgović., J. Trifković, D. Milojković-Opsenica, D. Manojlović, **M. Marković**, J. Mutić, „*Phytoextraction of metals by Erigeron canadensis L. from fly*

ash landfill of power plant Kolubara“, Environmental Science and Pollution Research (2015) 10, originalni naučni rad.

ISSN 0944-1344

Impakt faktor: = 2.75 (2013)

Oblast: Nauka o životnoj sredini (57/216)

1.1.4 I. Andjelkovic, D. N. H. Tran, S. Kabiri, S. Azari, **M. Markovic**, and D. Losic, „*Graphene Aerogels Decorated with α -FeOOH Nanoparticles for Efficient Adsorption of Arsenic from Contaminated Waters*“, ACS Applied Materials and Interfaces, 7 (2015) 9758–9766, , originalni naučni rad.

ISSN= 1944-8244

Impakt faktor: = 5.9 (2013)

Oblast: Nauka materijalima, multidisciplinarna hemija (27/251)

1.2 Naučni rad publikovan u međunarodnom časopisu (M22):

1.2.1 D. Stanković, G. Roglić, J. Mutić, I. Andjelković, **M. Marković** i D. Manojlović, „*Determination of Copper in Water by Anodic Stripping Voltammetry Using Cu-DPABA–NA/GCE Modified Electrode*“, International Journal of Electrochemical Science, 6 (2011) 5617 – 5625, originalni naučni rad.

ISSN 1452-3981

Impakt faktor: = 2.808 (2010)

Oblast: Elektrohemija (9/26)

1.3 Naučni radovi publikovani u međunarodnim časopisima (M23):

1.3.1 B. P. Dojčinović, G. M. Roglić, B. M. Obradović, M. M. Kuraica, T. B. Tosti, **M. D. Marković** i D. Manojlović, „*Decolorization of Reactive Black 5 using a dielectric barrier discharge in the presence of inorganic salts*“, Journal of Serbian Chemical Society, 77 (2012) 535–548, originalni naučni rad.

ISSN 0352-5139

Impakt faktor:= 0.725 (2010)

Oblast: Multidisciplinarna hemija (98/147)

1.3.2 **M. Marković**, M. Jović, D. Stanković, J. Mutić, G. Roglić, D. Manojlović, „*Toxicity Screening after Electrochemical Degradation of Reactive Textile Dyes*“, Polish Journal of Environmental Studies, 23 (2014) 2103-2109, originalni naučni rad.

ISSN 1230-1485

Impakt faktor = 0.600 (2013)

Oblast: Nauka o životnoj sredini (181/216)

1.3.3 I. Andjelkovic, D. Stankovic, M. Jovic, **M. Markovic**, J. Krstic, D. Manojlovic, G. Roglic, „*Microwave-Hydrothermal synthesis of TiO₂ and zirconium doped TiO₂ adsorbents for removal of As(III) and As(V)*“, Journal of Saudi Chemical Society 18 (2014), originalni naučni rad.

ISSN: 1319-6103

Impakt faktor = na SCI (SCI) listi bez impakt faktora,

Oblast: Multidisciplinarna hemija (82/152)

1.3.4 B. D. Kekez, G. D. Gojgic-Cvijovic , D. M. Jakovljevic, J. R. Stefanovic Kojic, **M. D. Markovic**, V. P. Beskoski , M. M. Vrvic, „*High Levan Production by Bacillus licheniformis NS032 Using Ammonium Chloride as the Sole Nitrogen Source*“, Applied Biochemistry and Biotechnology, 175 (2015) 3068-3083, originalni naučni rad.

ISSN 0273-2289

Impakt faktor:= 1.687 (2013)

Oblast: Biotehnologija i primenjena mikrobiologija (102/165)

2. Zbornici međunarodnih naučnih skupova (M30)

2.1 Predavanje po pozivu sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M32)

2.1.1 **M. Marković**, B. Kekez, D. Jakovljević, G. Gojgić-Cvijović, D. Manojlović, V. Beškoski i M. Vrvic, „*Potential environmental application of microbial*

polysaccharides“, 23rd Symposium on Environmental Chemistry u Kjotu, Japan 14-16 maj, 2014. godine, Knjiga apstrakta, str.84.

2.2 Saopštenje sa međunarodnog skupa štampano u izvodu (M34)

2.2.1 **M. D. Marković**, D.D. Manojlović, G. Roglić, B. Obradović, M. Kuraica i B. Dojčinović, „*Determining toxicological effect of Reactive Textile Dye (RB 5) after decolorization treatment using Coaxial Dielectric Barrier Discharge (DBD)*“ usmena prezentacija, YISAC 2011, 18th Young Investigators Seminar on Analytical Chemistry, Novi Sad, Serbia, 2011. godine, Knjiga apstrakta, str 67.

2.2.2 **M. Marković**, M. Jović, B. Dojčinović, J. Papan, I. Anđelković, D. Stanković, G. Roglić i D. Manojlović, „*Degradation of NSAID by Fe(II) as catalyst*“, 23rd Congress of Chemists and Technologist of Macedonia, Knjiga apstrakta, 8- 11 oktobar 2014. godine Ohrid, str 136. (ISBN: 978-9989-668-99-9)

2.2.3 **M. Marković**, G. Gojgić-Cvijović, D.Stanković, V. Kovačević, B. Kekez, G. Roglić i D. Manojlović „*Toxicity screening after application of different AOPs for degradation of ibuprofen*“, „4th Young Environmental Scientist Meeting of SETAC“ od 14 do 19 marta 2015 godine u IS Petnici, Valjevo.

2.2.4 **M. Marković**, I. Anđelković, Lj. Anđelković-Berberian, D.Stanković, M. Zlatar, M. Perić, Goran Roglić, D. Manojlović, „*Utilization of AOPs for degradation of emerging contaminants and reactive dyes*“, International conference Contaminated sites Bratislava, 27 – 29 maj 2015, u Bratislavi, Slovačka, Knjiga apstrakta, str. 220-221

3. Saopštenja sa nacionalnih skupova štampana u izvodu (M64):

3.1 **M. D. Marković**, D.D. Manojlović, G. Roglič, B. Obradović, M. Kuraica i B. Dojčinović, „*Artemia salina* test akutne toksičnosti – određivanje toksikološkog efekta tekstilne boje Reactive black 5 posle obezbojavanja primenom koaksijalnog DBD reaktora“ Usmena prezentacija, Kratki izvodi radova, XLIX savetovanje Srpskog hemijskog društva, Kragujevac, Srbija, 2011. godine str. 65. (ISBN 978-86-7132-045-0; UDC 54(048), 66(048); COBISS.SR-ID 183591692)

3.2 **M. D. Marković**, D.D. Manojlović, M. Jović, D. Stanković, B. Dojčinović, G. Roglič, Procena „*Toksičnosti azo boje Reactive Blue 52 nakon elektrohemijskog tretmana*“, Program i kratki izvodi radova, Prva konferencija mladih hemičara Srbije (19-20. Oktobar, 2012, Beograd, Srbija), Igor Opsenica, Aleksandar Dekanski, Ur., Srpsko hemijsko društvo, Beograd 2012, str 76.

3.3 **M. Marković**, B. Dojčinović, J. Nešić, M. Natić, T. Tosti, B. Obradović, G. Roglič, „*Procena toksičnosti para-hlorfenola, nakon degradacije u DBD reaktoru*“, Knjiga izvoda, 6. Simpozijum Hemija i zaštita životne sredine EnviroChem 2013 sa međunarodnim učešćem, (21-24 Maj 2013. Vršac, Srbija), I. Gržetić, B. Radak, V. P. Beškoski, Ur. Srpsko hemijsko društvo, Beograd, 2013., str. 144 (ISBN 978-86-7132-052-8; UDC 54(048), 66(048); COBISS.SR-ID 198328844).

3.4 M. Stevanović, D. Brkić, **M. Marković**, M. Jović, T. Tunić, V. Knežević, i S. Gašić, Pesticidi u vodi i njihov uticaj na akvatične organizme, „*Delovanje herbicida klomazona na rast vodene vrste Lemna minor*“. Zbornik radova XII Savetovanja o zaštiti bilja, (25-29. novembar 2013. godine), Društvo za zaštitu bilja Srbije, Zlatibor, str. 125 (ISBN 978-86-83017-24-9).

3.5 M. Stevanović, D. Brkić, **M. Marković**, M. Jović, T. Tunić, V. Knežević, i S. Gašić, „*Pesticidi u vodi i njihov uticaj na akvatične organizme, Uticaj klomazona na*

sadržajfotosintetskih pigmenata kod vrste *Lemna minor*“. Zbornik radova XII Savetovanja o zaštiti bilja, (25-29. novembar 2013. godine.) Društvo za zaštitu bilja Srbije, Zlatibor, str.126 (ISBN 978-86-83017-24-9).

3.6 **M. Marković**, M. Jović, J. Papan, D. Stanković, G. Roglić i D. Manojlović, „*Biološki test za procenu toksičnosti elektrohemijske degradacije azo boje pomoću cirkonijum (Zr) i grafitne (C) elektroda*“, Knjiga izvoda, 6. Simpozijum Hemija i zaštita životne sredine EnviroChem 2013 sa međunarodnim učešćem, (21-24 Maj 2013. Vršac, Srbija), I. Gržetić, B. Radak, V. P. Beškoski, Ur. Srpskohemijskodruštvo, Beograd, 2013., str. 142 (ISBN 978-86-7132-052-8;UDC 54(048), 66(048);COBISS.SR-ID 198328844).

3.7 J. M. Papan, M. S. Jović, G. M. Roglić, **M. Marković**, I. B. Anđelković, B. P. Dojčinović, D. M. Stanković, D. D. Manojlović, „*Degradation of triketone herbicides in Danube water, with chlorine-dioxide*“, 51. savetovanje Srpskog hemijskog društva, Niš, Srbija, 5-7 jun 2014. godine, Sofija Sovilj, Igor Opsenica, Aleksandar Dekanski, Ur. Srpsko hemijsko društvo, Beograd 2014. str. 55 (ISBN: 978-86-7132-054-2, COBISS.SR-ID 207407372).

Prilog 1.

Izjava o autorstvu

Potpisana Marijana D. Marković

broj indeksa DH 14/2010

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom

Ispitivanje ekotoksičnosti proizvoda degradacije organskih zagađujućih supstanci u

vodi nakon tretmana unapređenim oksidacionim procesima

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

Potpis doktoranda

U Beogradu, 08.06.2015.

Marijana Marković

Prilog 2.

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora Marijana D Marković _____

Broj indeksa __DH 14/2010_____

Studijski program _____Doktor hemije_____

Naslov rada Ispitivanje ekotoksičnosti proizvoda degradacije organskih zagađujućih supstanci u vodi nakon tretmana unapređenim oksidacionim procesima

Mentor prof. dr Dragan Manojlović

Mentor dr Biljana Dojčinović

Potpisani/a  _____

Potpisani/a _____

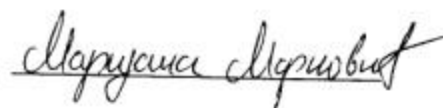
Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la za objavljivanje na portalu **Digitalnog repozitorijuma Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog zvanja 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 doktoranda

U Beogradu, 08.06.2015 _____



Prilog 3.

Izjava o korišćenju

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

Ispitivanje ekotoksičnosti proizvoda degradacije organskih zagađujućih

supstanci u vodi nakon tretmana unapređenim oksidacionim procesima

koja je moje autorsko delo.

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

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

1. Autorstvo
2. Autorstvo - nekomercijalno
3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerade
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima
5. Autorstvo – bez prerade
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci, kratak opis licenci dat je na poledini lista).

Potpis doktoranda

U Beogradu, 08.06.2015



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 prerade. 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 prerade. 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.