

Mikroelementi u uljnim šejlovima Aleksinca i njihov uticaj na životnu sredinu

Nikoleta Aleksić



Дигитални репозиторијум Рударско-геолошког факултета Универзитета у Београду

[ДР РГФ]

Mikroelementi u uljnim šejlovima Aleksinca i njihov uticaj na životnu sredinu | Nikoleta Aleksić | VIII Memorijalni naučni skup iz zaštite životne sredine „Docent dr Milena Dalmacija“, 2021 | 2021 | |

<http://dr.rgf.bg.ac.rs/s/repo/item/0005759>



VIII

MEMORIJALNI NAUČNI SKUP IZ
ZAŠTITE ŽIVOTNE SREDINE
„DOCENT DR MILENA DALMACIJA“

KNJIGA RADOVA

01-02.04.2021.

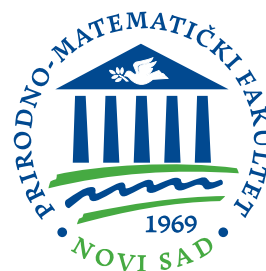


Organizatori



Univerzitet u Novom Sadu

Prirodno-matematički fakultet



**Departman za hemiju, biohemiju
i zaštitu životne sredine**

Fondacija Docent dr Milena Dalmacija



KNJIGA RADOVA

VIII Memorijalni naučni skup iz zaštite životne sredine „Docent dr Milena Dalmacija“

IZDAVAČ

PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET

GLAVNI UREDNIK

dr Dragana Tomašević Pilipović

dr Anita Leovac Maćerak

dr Đurđa Kerkez

CIP - Каталогизacija u publikaciji
Biblioteke Matice srpske, Novi Sad

502.17(082)

МЕМОРИЈАЛНИ научни скуп из заштите животне средине "Доцент др Милена Далмација" (8 ; 2021 ; Нови Сад)

Knjiga radova [Elektronski izvor] / VIII memorijalni naučni skup iz zaštite životne sredine "Docent dr Milena Dalmacija", 1-2.4.2021, Novi Sad ; [glavni urednik Dragana Tomašević Pilipović, Anita Leovac Maćerak, Đurđa Kerkez]. - Novi Sad : Prirodno-matematički fakultet, 2021. - 1 elektronski optički disk (CD ROM) : tekst, graf. prikazi ; 12 cm

Nasl. sa naslovnog ekrana. - Tiraž 100. - Bibliografija uz svaki rad.

ISBN 978-86-7031-567-9

a) Животна средина - Заштита - Зборници

COBISS.SR-ID 36751369

ISBN:978-86-7031-567-9

Tiraž:100; Obrada: dr Dragana Tomašević Pilipović, dr Anita Leovac Maćerak, dr Đurđa Kerkez, Nada Popsavin.

Odbori

Naučni odbor:

- ◆ dr Miladin Gligorić, redovni profesor, Tehnološki fakultet Zvornik, Univerzitet u Istočnom Sarajevu
- ◆ dr Olga Petrović, redovni profesor PMF, Univerziteta u Novom Sadu, u penziji
- ◆ dr Jasmina Agbaba, redovni profesor, PMF, Univerzitet u Novom Sadu
- ◆ dr Srđan Rončević, redovni profesor, PMF, Univerzitet u Novom Sadu
- ◆ dr Dragan Radnović, redovni profesor PMF, Univerziteta u Novom Sadu
- ◆ dr Dušan Mrđa, redovni profesor PMF, Univerziteta u Novom Sadu
- ◆ dr Milena Bečelić-Tomin, redovni profesor PMF, Univerziteta u Novom Sadu
- ◆ dr Miljana Prica, redovni profesor FTN, Univerziteta u Novom Sadu
- ◆ dr Jelena Tričković, redovni profesor PMF, Univerziteta u Novom Sadu
- ◆ dr Snežana Maletić, redovni profesor PMF, Univerziteta u Novom Sadu
- ◆ dr Dejan Krčmar, redovni profesor PMF, Univerziteta u Novom Sadu

Organizacioni odbor:

- ◆ dr Đurđa Kerkez, vanredni profesor, PMF, Univerzitet u Novom Sadu
- ◆ dr Dragana Tomašević Pilipović, vanredni profesor, PMF, Univerzitet u Novom Sadu
- ◆ dr Anita Leovac Maćerak, asistent sa doktoratom, PMF, Univerzitet u Novom Sadu
- ◆ dr Jelena Beljin, docent, PMF, Univerzitet u Novom Sadu
- ◆ dr Aleksandra Tubić, vanredni profesor, PMF, Univerzitet u Novom Sadu
- ◆ dr Marijana Kragulj Isakovski, vanredni profesor PMF, Univerzitet u Novom Sadu
- ◆ dr Vesna Pešić, docent PMF, Univerzitet u Novom Sadu
- ◆ Nada Popsavin, stručni saradnik za odnose sa javnošću, PMF, Univerzitet u Novom Sadu

Sadržaj

Sekcija: Održivi razvoj (OR)

- Olgica Petrović: Uloga i značaj mikroorganizama u zaštiti životne sredine (plenarno predavanje).....OR-01
- Livija Cvetičanin: Mehanicke metastrukture u zastiti zivotne i radne sredine od vibracija (plenarno predavanje).....OR-02
- Mila Krstajić Pajić: Inovativni nanokatalizatori za anodne reakcije u gorivnim spregovima (pozivno predavanje).....OR-03
- Branislav Stanković: Teorijsko proučavanje molekulskih osobina, mutagene aktivnosi i degradacije derivata policikličnih aromatičnih ugljovodonika (pozivno predavanje).....OR-04
- Sanja Živković: Primena spektroskopije laserski indukovane plazme za analiza čvrstih uzoraka (pozivno predavanje).....OR-05
- Dragan Troter, Primena eutektičkih rastvarača sa holin hloridom u heterogeno katalizovanoj etanolizi suncokretovog ulja (pozivno predavanje).....OR-06
- Jelena Senćanski, Milica Vujković, Zoran Nedić, Stevan Blagojević, Jelena Cvijović Maksimović, Maja Pagnacco: Ispitivanje purpurina kao katodnog materijala u vodenim Na-jonskim baterijama.....OR-07
- Jelena Senćanski, Stevan Blagojević, Ivana Stojković Simatović: Sinteza i ispitivanje $ZnMn_2O_4$ kao katodnog materijala za vodene cink-jonske baterije.....OR-08
- Vanja Šeregelj, Gordana Četković, Jasna Čanadanović-Brunet, Vesna Tumbas Šaponjac, Jelena Vulić: Valorizacija karotenoida iz sporednog proizvoda prerade šargarepe.....OR-09
- Nikoleta Aleksić: Mikroelementi u uljnim šejlovima Aleksinca i njihov uticaj na životnu sredinu.....OR-10
- Ružica Erceg, Jelena Maksimović, Maja Pagnacco: Indirektno spektrofotometrijsko određivanje koncentracije pirokatehola korišćenjem oscilatrone reakcije.....OR-11
- Biljana Đorđević, Dragan Troter, Zoran Todorović, Ivica Đalović, Petar Mitrović, Vlada Veljković: Eutektički rastvarači na bazi glicerola kao kosolventi u heterogeno katalizovanoj etanolizi ulja semena crne slačice (*Brassica nigra* L.).....OR-12
-

Sadržaj

Sekcija: Voda (V)

Anita Leovac Maćerak: Sorpcija herbicida na odabranim geosorbentima (*pozivno predavanje*).....V-01

Nataša Šekuljica, Dušan Mijin, Zorica Knežević-Jugović: Biotehnološki postupak uklanjanja sintetičkih boja iz otpadnih voda imobilisanom peroksidazom iz rena (*pozivno predavanje*).....V-02

Dušan Nikolić: Grgeč (*Perca fluviatilis*) kao bioindikator zagađenja akumulacija toksičnim elementima (*pozivno predavanje*).....V-03

Vesna Gvoić, Ispitivanje mogućnosti primene fenton-procesa u tretmanu obojenih otpadnih voda grafičke industrije (*pozivno predavanje*).....V-04

Irina Jevrosimov, Marijana Kragulj Isakovski, Snežana Maletić, Tamara Apostolović, Aleksandra Tubić, Jelena Tričković, Jasmina Agbaba: Ispitivanje adsorpcionog potencijala hidročadi poreklom od rezanca šećerne repe za uklanjanje hlorporifosa.....V-05

Vasiljević Sanja, Tubić Aleksandra, Lončarski Maja, Agbaba Jasmina: Određivanje tačke nultog naelektrisanja mikroplastičnih čestica polietilena.....V-06

Jovana Jokić Govedarica, Dragana Tomašević Pilipović, Vesna Gvoić, Nataša Slijepčević, Anita Leovac Maćerak, Đurđa Kerkez: Optimizacija uklanjanja olova iz sintetičkog vodenog matriksa primenom statističkog modela DSD.....V-07

Marija Ćurčić, Jasmina Nikić, Marko Šolić, Aleksandra Tubić, Jasmina Agbaba: Uklanjanje nikla iz površinske vode primenom jonoizmenjivačke smole.....V-08

Bojan Damnjanović, Ana Matić, Ana Vasić, Ljiljana Tanasić, Igor Dragičević, Marijana Srećković: Kvalitet vode i ekološki potencijal izvorničkog jezera sa aspekta odabranih fizičko-hemijskih i mikrobioloških parametara.....V-09

Kristiana Zrnić Tenodi, Srđan Rončević, Emilijan Mohora, Slaven Tenodi, Nataša Duduković, Aleksandra Tubić, Jasmina Agbaba: Ispitivanje efikasnosti uklanjanja As iz prirodnih vodenih matriksa elektrokoagulacijom sa upotrebom Al i Fe elektroda.....V-10

Sekcija: Sediment (S)

Marko Grgić, Snežana Maletić, Srđan Rončević, Marijana Kragulj Isakovski, Jelena Petrović, Božo Dalmacija: Procena remedijacionog potencijala sedimenta zagađenog prioritetnim organskim zagađujućim materijama (*pozivno predavanje*).....S-01

Sadržaj

Nataša Slijepčević, Dragana Tomašević Pilipović, Đurđa Kerkez, Dunja Rađenović, Nataša Duduković, Dejan Krčmar, Miloš Dubovina: Ispitivanje uticaja starenja na izluživanje metala iz stabilizovanih smeša sedimenta sa OL-nZVI I ML - nZVI	S-02
---	------

Sekcija: Upravljanje otpadom (UO)

Ivana Pajčin, Jovana Grahovac, Vanja Vlajkov, Jelena Dodić, Aleksandar Jokić, Zorana Rončević, Mila Grahovac: Iskorišćenje sirovog glicerola iz proizvodnje biodizela u biotehnološkoj proizvodnji agenasa biološke kontrole	UO-01
--	-------

Ida Zahović, Zorana Trivunović: Valorizacija otpadnog glicerola u biotehnološkoj proizvodnji ksantana: odabir proizvodnog soja	UO-02
--	-------

Sekcija: Zemljište (Z)

Tijana Milićević, Dubravka Relić, Mira Aničić Urošević, Gordana Jovanović, Aleksandar Popović: Integrisani pristup istraživanju potencijalno toksičnih elemenata u sistemu zemljište–biljka–vazduh u različitim vinogradima u Srbiji (pozivno predavanje)	Z-01
---	------

Olja Šovljanski, Ana Tomić, Siniša Markov: Praćenje procesa ureolize kod odabranih bakterijskih sojeva iz zemljišta	Z-02
---	------

Sekcija: Vazduh (Va)

Stevan Đenadić, Vesna Damjanović, Predrag Jovančić, Dragutin Jovković: Mogućnost infracrvene termografije pri detekciji štetnih gasova	Va-01
--	-------

Mirjana Antonijević Nikolić, Jelena Đuričić Milanković, Bojan Damjanović, Procena kvaliteta vazduha u šapcu na osnovu folijarne akumulacije SO ₂ i čvrstih čestica na listovima ligustrum sp	Va-02
---	-------

ULOGA I ZNAČAJ MIKROORGANIZAMA U ZAŠTITI ŽIVOTNE SREDINE

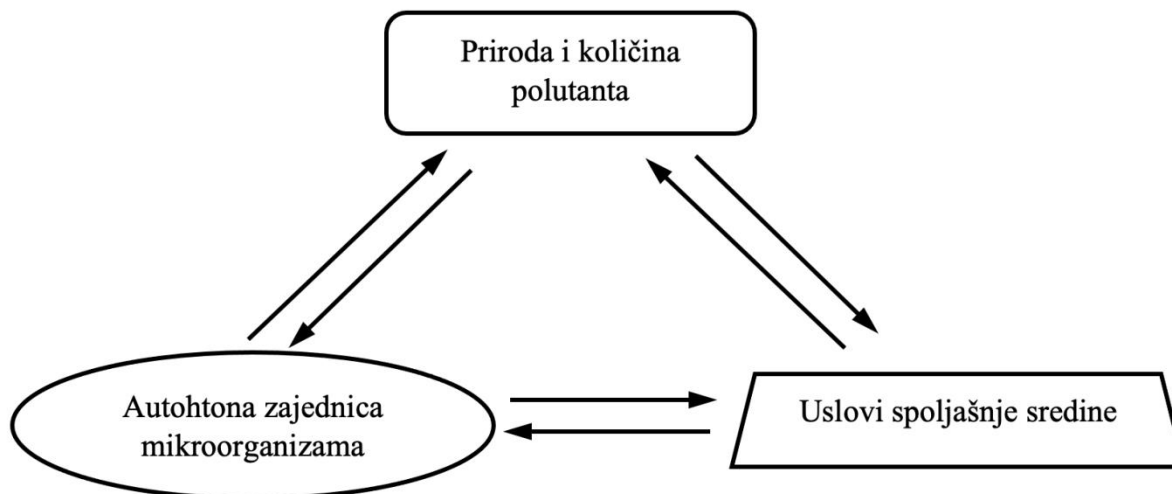
Olga Petrović

*Prirodno-matematički fakultet, Departman za biologiju i ekologiju, Katedra za mikrobiologiju,
Novi Sad, red.prof.u penziji, mail leja@ptt.rs*

Zaštita životne sredine je danas razvijena, aktuelna i veoma značajna oblast naučnih istraživanja. Kao multidisciplinarna oblast, neizbežno je povezana sa mnogim drugim prirodnim i društvenim naukama. Uz hemiju kao bazičnu nauku, najviše je povezana sa biološkim naukama, ekologijom i mikrobiologijom, sa kojima je dokazano usko isprepletena u mnogobrojnim segmentima istraživanja. Stoga nije upitna ključna uloga i neprocenjiv značaj mikroorganizama u zaštiti životne sredine. Već sama činjenica da su mikroorganizmi veoma stari, adaptabilni i ubikvitarni (kosmopolitski) organizmi, govori o značaju njihovog prisustva i aktivnosti na planeti Zemlji. Sam naziv "mikroorganizmi" nije sistematska kategorija već označava veoma brojnu i veoma raznoliku grupu kojoj pripadaju *celularni* (ćelijski), *prokariotski* (bakterije i arhee) i *eukariotski organizmi* (alge, gljive, lisajevi, protozoe), ali i *acelularni* (nećelijski) oblici kao što su virusi, prioni i viroidi. Naziv grupe **mikroorganizmi** (grč. *mikros*-mali) ukazuje da se radi o organizmima mikroskopskih dimenzija, koji se ne mogu videti golim okom jer su sitniji od 0,1 mm. Međutim, ova heterogena grupa obuhvata ipak i neke makroskopske oblike vidljive golim okom (neke višećelijske alge, neke gljive). Najsitnijim mikroorganizmima pripadaju virusi, koji nemaju ćelijsku gradju i imaju ekstremno male dimenzije. Ipak, i pored heterogenosti morfologije, genetike, fiziologije i ekologije mikroorganizama, metode koje se koriste za njihovo proučavanje zajedničke su za većinu ovih organizama.

Život na Zemlji, odnosno BIOGEOSFERU možemo posmatrati u širem i užem smislu, tj. kao *biosferu sensu lato* (atmosfera, pedosfera, litosfera i hidrosfera) i *biosferu sensu stricto* (mikroorganizmi, biljke, životinje, čovek). Sve ove sfere povezane su mnogobrojnim medjuodnosima i interakcijama koje karakteriše specifičnost, stalnost, neraskidivost, uzajamnost i promenljivost. Praktično, život na Zemlji zavisi od dva najvažnija procesa – *proticanja energije* i *kruženja materije* kroz ekosistem i odvija se kroz niz akcija, reakcija i koakcija živog sveta. U kruženju materije najvažniji su *kruženje vode* (hidrološki ciklus vode) i *kruženje hemijskih elemenata* (posebno ugljenika, kiseonika, fosfora, azota, i naravno svih ostalih mnogobrojnih elemenata). Pa, gde su tu onda – mikroorganizmi? U centru su svih zbivanja na planeti jer igraju vitalnu, krucijalnu ulogu u svim ekosistemima kao primarni **producenti**, primarni **konzumenti** i kao osnovni i najznačajniji **dekompozitori** (razgradjivači). Ova biodegradaciona sposobnost mikroorganizama je izuzetno važna i možemo slobodno reći da su mikroorganizmi čistači naše planete! Raznoliki procesi biodegradacije su vrlo kompleksni i kreću se u trouglu koji čine: *priroda i količina polutanata* - *autohtona zajednica prisutnih mikroorganizama* - *uslovi spoljašnje sredine* (slika 1). U spoljašnjoj sredini je veliki broj veoma različitih ekoloških činioca koji vremenski variraju u količini i intenzitetu delovanja, kao što su npr. voda, temperatura, kiseonik, svetlost, zračenje, osmotski i atmosferski pritisak, hemijska jedinjenja, teški metali, površinski napon, kao i prisustvo drugih mikroorganizama kao biokatalizatora i članova bicezoza. Nažalost,

danas je u fokusu i jedan novi, možda i najmoćniji faktor – sam čovek. Kada je u pitanju zaštita životne sredine, čovek je možda učinio kobnu grešku postavljajući sebe iznad prirode.



Slika 1. Međuzavisnost faktora u procesu biodegradacije

Pre nego što iznesemo argumente za veliku ulogu i neprocenjiv značaj mikroorganizama u zaštiti životne sredine, moramo izeti još neke činjenice vezane za ovu grupu organizama. Istina je da ovi organizmi mogu biti prijatelji čoveka, ali i naši veliki neprijatelji! Moramo naglasiti da široku grupu mikroorganizama sa aspekta čoveka možemo posmatrati dvojako – kao „korisne“, ali i kao „štetne“, jer mogu biti pravi „anđeli“ i veliki „đavoli“ samim svojim prisustvom i aktivnošću u bilo kojoj sredini. Dovoljno je samo pomisliti na viruse (aktuelna pandemija COVID-19), ali i na sve druge virusne bolesti čoveka, biljaka, životinja (besnilo, rubeola, poliomijelitis, SARS, mozaična bolest duvana itd) unazad kroz vekove. I ne samo virusi, već svi mikroorganizmi mogu prouzrokovati različite teške bolesti svih živih bića (npr. bakterijske bolesti poput kuge, kolere, tuberkuloze, legionarske bolesti, lajmske bolesti i sl, ili problemi sa gljivama - mikotoksini u hrani, mikotična oštećenja kože, fitopatogene gljive), kao i naneti ogromne štete prirodi, poljoprivredi, industriji, vodoprivredi (napomenimo samo eutrofizaciju vodenih sredina, cijanotoksine, biofilme), izazvati koroziju i još mnoštvo nepoželjnih pojava. S druge strane mnogobrojni mikroorganizmi su zaista pravi „anđeli“ i veoma korisni i delotvorni u oblasti medicine i farmacije (da nije njih ne bi bilo ni antibiotika, ni vakcina), biotehnologiji, poljoprivredi i agronomiji (mikrobiološka đubriva, rizosferni mikroorganizmi), prehrambenoj industriji (mlečno-kiselinski napici, sirevi, alkoholna pića) i nadasve i *u oblasti zaštite životne sredine!* Tako su alge kao fotoautotrofi producenti primarne organske materije, ali i producenti neophodnog kiseonika. Isto se može reći i za cijanobakterije, koje uz druge bakterije i arhee mogu fiksirati atmosferski azot (N₂); cijanobakterija *Spirulina sp.* je odličan izvor proteina, a cijanobakterije i eukariotske alge su veoma dobri i pouzdani bioindikatorii zagađenja, ali istovremeno i aktivni učesnici autopurifikacionih procesa u vodama. Bez obzira na ekonomske štete koje prouzrokuju fitopatogene gljive, u prirodi su gljive nezamenljivi mikroorganizmi, posebno tzv. „mikro fungi“ zbog svojih izvanrednih biodegradacionih sposobnosti različitih materija. Mnoge gljive (npr.

kvasci) značajni su u prehrambenoj tehnologiji, ali i kao jeftini izvori belančevina (proteina) mikrobnog porekla. Bakterije su najčešće prva i osnovna karika u razlaganju organskog zagađenja zbog svoje metaboličke raznovrsnosti, polienzijske prirode i velike mogućnosti adaptacije. Ti nevidljivi, mali, vredni radnici, osnov su procesa prečišćavanja zagađenih voda. I ne samo oni, jer celokupni efekat procesa prečišćavanja zavisi od fiziološke aktivnosti složenog kompleksa konzorcijuma mikroorganizama. Protozoe su takodje aktivni činioci procesa obrade otpadnih voda i idealni pokazatelji kvaliteta i efikasnosti aktivnog mulja! Lišajevi, koji su simbiotski organizmi sastavljeni od alge/cijanobakterije i gljive, koriste se kao idealni pokazatelji kvaliteta atmosfere, čistoće vazduha, jer u zagađenim sredinama javljaju se tzv. "lišajske pustinje". Moglo bi se još mnogo toga reći o dobrobiti mikrobiološke aktivnosti u prirodi, recimo luženje ruda, posebni načini vezivanja rastvorljivih teških metala od strane mikroorganizama, o mnogim bioremediacionim tehnologijama itd. I na kraju, kao na početku, da ponovo spomenemo i "ozloglašene viruse", ovoga puta u pozitivnom kontekstu. Naime, čak i neki virusi kao što su to bakteriofagi („žderači bakterija“) mogu biti veoma korisni u medicini. Korisna su alternativa antibioticima, posebno u sinergističnom delovanju sa njima, što je značajno rešenje problema rezistencije bakterija na ove lekove. U procesu bioremedijacije npr. bakteriofagi mogu da usmeravaju procese kroz regulaciju brojnosti svojih domaćina.

Nakon svega napred izrečenog, logično se postavlja pitanje – šta je to što daje takvu poziciju mikroorganizmima u zaštiti životne sredine, otkuda tako značajna uloga? Odgovor je jednostavan: sve one značajne zajedničke karakteristike mikroorganizama, a to su:

- Mikroskopske dimenzije i ubikvitarnost u prirodi
- brzi rast, brzo razmnožavanje, brzi metabolizam
- raznolikost enzima i biohemijskih procesa (polienzijska priroda sa širokom lepezom ne samo endo-, već i veoma značajnih egzoenzima, što svaku ćeliju čini malim biološkim subreaktorom)
- adaptibilnost na uslove sredine, mogućnost brze izmene metaboličkih puteva, sposobnost formiranja bifilmova
- metabolički diverzitet, tri načina mogućnosti dobijanja energije (fotosinteza, respiracija aerobna i anaerobna, fermentacija)
- postojanje plazmida - vanhromozomskih delova DNK (npr. degradativni plazmidi koji nose gene odgovorne za razgradnju toksičnih supstanci). Razmena genetičkih informacija između različitih vrsta i sojeva putem plazmida znatno ubrzava procese bioinženjstva i rešava teškoće u nedostatku kataboličkih puteva za biodegradaciju određenih ksenobiotika.

Iz svega rečenog jasno je da su mikrobiološka istraživanja u oblasti zaštite životne sredine korisna iz razloga što – već i samo prisustvo, kao i kvantitativna zastupljenost, a posebno metabolička aktivnost određenih grupa mikroorganizama ukazuju na opterećenost sredine specifičnim zagađujućim materijama, na mogućnost njihove razgradnje i prirodu mikrobioloških procesa. Praktično, populacije mikroorganizama su u zagađenim sredinama BIOINDIKATORI specifičnog zagađenja, ali i AKTIVNI ČINIOCI procesa (samo)prečišćavanja.

Naša višedecenijska ispitivanja (Katedra za mikrobiologiju, Departman za biologiju i ekologiju, PMF, Novi Sad) u oblasti *ekološke mikrobiologije vodenih ekosistema*, kako podzemnih, tako i površinskih voda (tekućih i stajaćih), otpadnih voda, voda za piće (vodovodske i flaširane), ali i rečnog sedimenta i zemljišta kontaminiranog naftnim zagadjenjem, kao i biofilmova sveprisutnih u našem okruženju, potvrdila su veliku ulogu i značaj upravo mikroorganizama i njihove aktivnosti u zaštiti životne sredine, bilo da su poslužili kao savršeni bioindikator specifičnih zagadjenja, bilo kao aktivni razgradjivači i eliminatori istih! Još je veliki Luj Paster (*Louis Pasteur, 1822-1895*) na jednom predavanju rečima „*Gospodo, mikrobi će imati poslednju reč*“ proročanski predskazao njihov značaj u životu čoveka, bez obzira što se ponekad njihova aktivnost može ispoljiti kao delo “đavola“, ali i kao delo “anđela“ pravilnim usmeravanjem njihove aktivnosti. S obzirom na to da je danas čovek sebe postavio na vrh sistema, iznad prirode, i postao najmoćniji ekološki faktor odgovoran za opstanak naše plavo-zelene planete, ja bih ovaj tekst završila porukom – *Mikroorganizmi, prijatelji ili ne, izbor je na nama.*

Literatura

- [1] Martinko, J.M., Bender, K. S., Buckley, H. B., Stahl, D. A. 2015. *Brock Biology of Microorganisms*, 14. izdanje, Pearson. ISBN-13: 978-0321897398.
- [2] Dalmacija, B., Petrović, O., Rončević, S., Ivančev -Tumbas, I., Bečelić, M., Simeunović, J., Agbaba, J., Radnović, D., Lazić, N., Đukić, M. 2004. *Naftno zagadjenje područja Ratno ostrvo, mogućnosti prirodne bioremedijacije*. Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet. ISBN 86-7031-050-3.
- [3] Mišković, D., Petrović, O., Babović, J. 2013. *Održivi razvoj i zaštita životne sredine*. Fakultet za ekonomiju i inženjerski menadžment, Novi Sad. ISBN 978-86-87619-52-4.
- [4] Madsen. E. L. 2015. *Environmental Microbiology, From genomes to biogeochemistry*. Wiley-Blackwell.
- [5] Petrović, O., Gajin, S., Matavulj, M., Radnović, D., Svirčev, Z. 1998. *Mikrobiološko ispitivanje kvaliteta površinskih voda*. Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Institut za biologiju. CIP- 556.5:579.68 (075.8).
- [6] Ćirić, S., Petrović, O. 2017. *Aerobne mezofilne bakterije u monitoringu kvaliteta vode*. Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kosovska Mitrovica-Lešak, ISBN 978-86-80737-51-5.

MEHANIČKE METASTRUKTURE U ZAŠTITI ŽIVOTNE I RADNE SREDINE OD VIBRACIJA

Livija Cvetičanin¹

¹Fakultet tehničkih nauka, Trg D. Obradovića 6, 21000 Novi Sad, cveticanin@uns.ac.rs

Izvod

U radu je dat prikaz tri tipa mehaničkih metastruktura koji služe za otklanjanje ili smanjenje nivoa buke i vibracija u radnoj i životnoj sredini. Dato je objašnjenje za metastrukture sa negativnom efektivnom masom, negativnom efektivnom krutošću i negativnim Poasonovim koeficijentom. Poseban osvrt je dat na energetske harvester koji bi se priključio na metastrukturu i služio kao pretvarač mehaničke energije vibracija u električnu energiju koja bi, iako mala, bila dovoljna za napajanje mikro-elektro-mehaničkih sistema i drugih malih potrošača.

Ključne reči: negativna masa, negativna krutost, negativan Poasonov koeficijent, energetske harvester.

Uvod

Jedan od najznačajnijih fizičkih zagađivača životne i radne sredine su vibracije. Vibracije predstavljaju specijalan slučaj periodičnog oscilatornog kretanja tela sa malim amplitudama. Najčešće su posledica dejstva spoljašnjih periodičnih ili neperiodičnih sila. Mogu poticati od prirodnih izvora (zemljotres), ali su ipak najčešće posledica rada mašina i uređaja. Iako se ovaj oblik kretanja koristi kod pojedinih radnih mašina, na pr. sita za razdvajanje materijala, kod vibro-bušilica za bušenje betona, itd. ipak su vibracije najčešće samo negativna posledica rada mašine ili motora. Naime, tada se deo korisne energije potrebne za rad mašine rasipa na vibracije. Kod obrtnih mašina kao i rotora mašina najčešće su vibracije posledica postojanja neuravnoteženosti (ne poklapanja geometrijskog i fizičkog centra rotora usled netačnosti izrade, nehomogenosti materijala i sl.), nesimetričnosti (kao posledica lošeg projektovanja i neravnomernog trošenja i habanja), netačnosti centriranja, itd. Vibracije je moguće meriti. Standardizovana mera za vibracije je efektivna brzina koja se izražava u mm/s. Postoji propisi o dozvoljenim vibracijama koji su i kod nas prihvaćeni. Vibracije se sa primarnog izvora prenose na okolinu pa i na čoveka. Poznato je da dugotrajna izloženost intenzivnim vibracijama dovodi do oštećenja u organizmu čoveka. U zavisnosti od načina dejstva vibracija povrede mogu biti lokalnog karaktera (na rukama, na nogama) ali i na čitavom organizmu. Obično su trajne posledice dejstva vidljive na zglobovima, kičmi ali i pojedinim unutrašnjim organima kod čoveka. Međutim, vibracije obično prati i buka. Deo mehaničke energije vibracija pretvara se u zvučni talas koji daje zvuk neprijatan za čoveka. U zavisnosti od frekvencije buke i jačine buke njegov uticaj na radnu i životnu sredinu se u mnogome razlikuje. Iako ne postoji jedinstveno merilo za buku standardizovana veličina je jačina buke u decibelima (dB). Poznato je da povećana buka remeti efikasnost rada, san, utiče na psihičko-fizičko stanje čoveka, a može da izazove i trajne posledice na zdravlje čoveka. Merenja su pokazala da buka do 30 dB stvara psihičke probleme, buka u intervalu od 30 do 65 dB izaziva probleme sa vegetativnim sistemom, u intervalu od 65 do 90 dB daje probleme sa sluhom, buka od 120 dB izaziva fizičku bol, a od 175 dB može da uzrokuje i smrt. Međutim, uticaj buke ne zavisi samo od njene jačine već i od frekventnog spektra. Nije sve jedno da li je frekvencija buke van ili unutar onog u kojem čovek čuje. Iz tog razloga neophodno je eliminisati ili smanjiti buku u frekventnom opsegu od 100 Hz do 1 kHz u kojem čujemo.

Problem vibracija i buke u životnoj i radnoj sredini nije nov i na njegovom rešavanju se radi već dugi niz godina. Razrađeno je bezbroj metoda i postupaka, urađen niz tehničkih i tehnoloških inovacija, međutim, konačno rešenje za sada nije nađeno. Pored mehaničkih absorbera vrlo često su u upotrebi različiti tipovi izolatora. Iz teorije je poznato da se efikasnost absorbovanja meri transmissionim gubitkom. Proračunato je da gubitak zavisi pre svega od debljine sloja izolatora. Da bi se na datoj frekvenciji redukovao intenzitet zvuka za po 5-6 dB potrebno je udvostručavanje sloj.

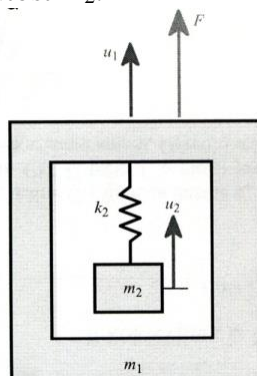
Očigledno je da primena takvog izolatora je nemoguća pre svega kod pokretnih mašina – pre svega vozila kod kojih je masa jedna od ključnih elemenata kvaliteta. Iz tog razloga su intenzivirana istraživanja u oblasti izrade novih materija i struktura sa ciljem prevazilaženje ovog problema. Kao jedna od mogućnosti ukazala se ideja za izradu novih struktura zasnovanih na modelu metamaterijala primenjenih za eliminisanje elektromagnetnih talasa određene frekvencije.

Naime, stela tehnologija je omogućila izradu tzv. električnog metamaterijala koji je veštački material tipe kompozita. Sastoji se od osnovnog materijala sa utisnutim nano kuglicama od drugog materijala. Kod ovog metamaterijala je ustanovljeno da je absorbovanje talasa moguće zahvaljujući negativnoj permeativnosti, negativnoj permitivnosti i negativnom indeksu refleksije. Vodeći se činjenicom da između elektromagnetnog i akustičkog talasa postoji analogija, došlo se na ideju da se napravi materijal koji će imati iste te ali analogne osobine. Ispostavilo se da se od materijala zahteva da ima negativnu masu, negativnu krutost i negativni Poasonov koeficijent. Kao što je poznato, takav prirodni material ne postoji. Međutim, moguća je izrada metastruktura po uzoru na kompozite kod kojih je fiktivna – računaska masa, krutost ili Poasonov koeficijent negativan. Neke od takvih struktura su već i napravljene, a realizacija ostalih je još u povoju.

Cilj ovog rada je da prikaz mogućnosti primene metastruktura za smanjenje buke i vibracija. Rad ima 6 delova. U poglavljima 2, 3 i 4 dat je prikaz metastruktura sa negativnom efektivnom masom, negativnom efektivnom krutošću i negativnim Poasonovim koeficijentom. U 5. delu dat je prikaz dva tipa energetskih harvestera vezanih za metastrukturu. Rad se završava poglavljem Zaključkom.

Metastruktura sa “negativnom efektivnom masom”

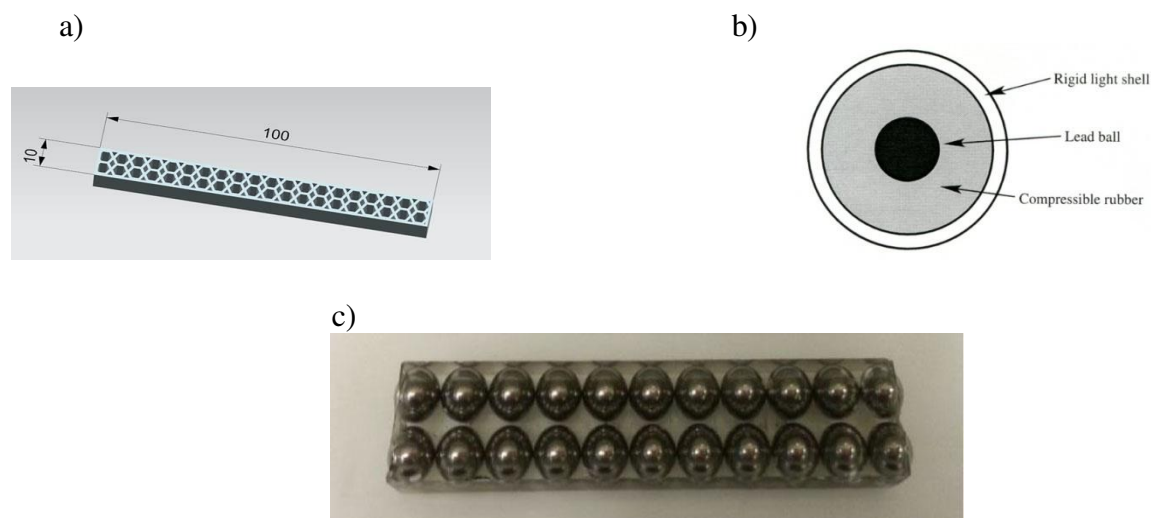
Osnovni element ove metastrukture je sistem masa-u-masi (slika 1). Sastoji se od osnovne mase m_1 kojoj je pridodata masa m_2 i opruga krutosti k_2 .



Sl.1. Model sistema masa-u-masi

Na osnovnu masu deluje spoljašnja pobudna sila F koja izaziva kretanje. Osnovna masa vrši pomeranje u_1 , a dodata nezavisno kretanje u_2 . Istraživanjem je utvrđeno da karakteristike dodate mase i opruge utiču na kretanje osnovne mase. Cilj je da se parametri sistema odaberu tako da se

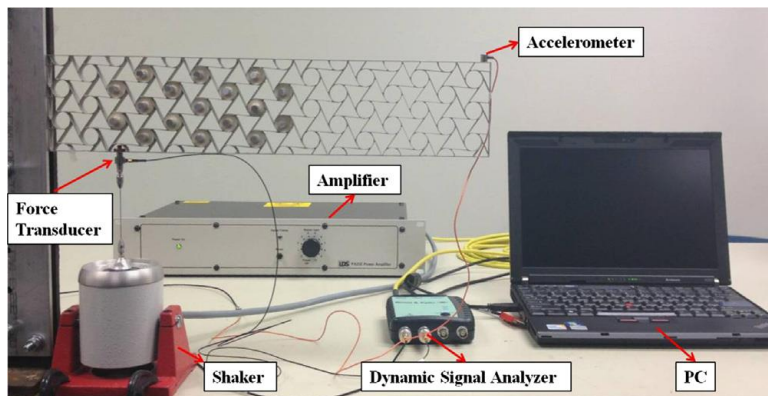
kretanje osnovne mase eliminiše. Ustanovljeno je da za određeni odnos dodatne mase i krutosti opruga osnovna masa se na određenoj frekvenciji ne pomera [1].



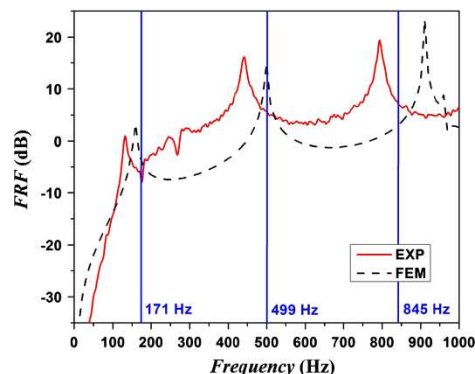
Slika 2. a) osnovna struktura, b) absorber, c) metastruktura sa masa-masi jedinicom

Otuda sledi da sistem masa-u-masi deluje kao absorber vibracija osnovne mase na određenoj frekvenciji. Sva mehanička energija biva pretočena na kretanje dodatne mase na opruzi. Teoretska istraživanja su pokazala da oblast frekvencija u kojoj se javlja prestanak kretanja osnovne mase je utoliko širi što je nelinearnost opruge veća [2,3]. Pored toga, otkriveno je da povezivanjem više ovakvih osnovnih sistema u celinu formira se ploča koja pokazuje iste osobine kao i pojedinačni element. To je ohrabrilo istraživače da prionu na izradu ovakve strukture. Osnovna struktura je izrađena na 3D štampaču u obliku pčelinjih saća. U otvore su postavljane kugle presvučene viskoelastičnim materijalom velike nelinearnosti kako bi se zadovoljio uslov što veće oblasti frekvencija bez vibracija (slika 2).

Da bi se proverila absorpciona sposobnost strukture izvršena su eksperimentalna merenja [4]. Na slici 3 prikazano je merno postrojenje koje se sastoji od davača koji pobuđuje oscilacije, pojačivača signala, akceleratora za merenje izlazne vibradije, dinamičkog analizatora signala i PC računara za obradu signala. Rezultat merenja poređen je sa teorijski dobijenim podacima (slika 4).



Sl.3. Postrojenje za merenje vibracija [4]

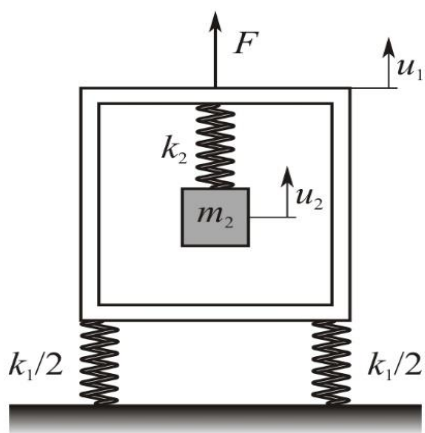


Sl.4. Poređenje rezultata [4]

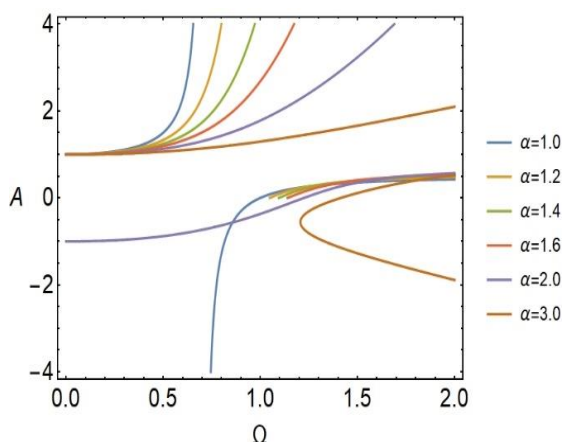
Poređenjem rezultata sa slici 4 se vidi da postoji razlika između analitički i eksperimentalnih rezultata. Razlog tome je u činjenici što pri modeliranju nije uzeto u obzir viskozno prigušenje u sistemu.

Metastruktura sa “negativnom efektivnom krutošću”

Model pod nazivom “masa-u – elastičnom bezmasnom telu” prikazan je na slici 5. U spoljašnje telo zanemarljive mase i krutosti k_1 pridodata je masa m_2 sa oprugom krutosti k_2 . Kretanje spoljašnjeg bezmasnog tela je u_1 , a pridodate mase je u_2 . Sila pobude deluje na spoljašnje telo. Karakteristike dodate mase i opruge su određene tako da ne bude pomeranja spoljašnjeg tela usled dejstva sile. Teorijska razmatranja su pokazala da pri takvim uslovima ovaj model obezbeđuje minimalnu amplitudu oscilovanja A u čitavom frekventnom spektru Ω (slika 6) pri velikoj nelinearnosti α . Tada se može smatrati da element deluje kao izolator, jer se ponaša kao sistem sa negativnom efektivnom krutošću.

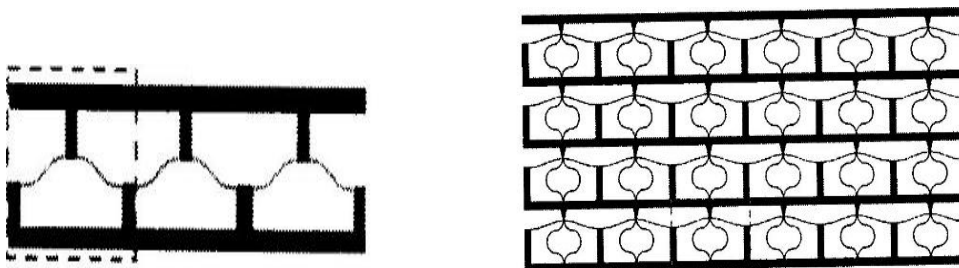


Sl.5. Model “masa-u-elastičnom bezmasnom telu”



Sl.6. Amplitudno-frekventni dijagrami

Ovakva metastruktura je praktično realizovana na različite načine (vidi [5,6]).



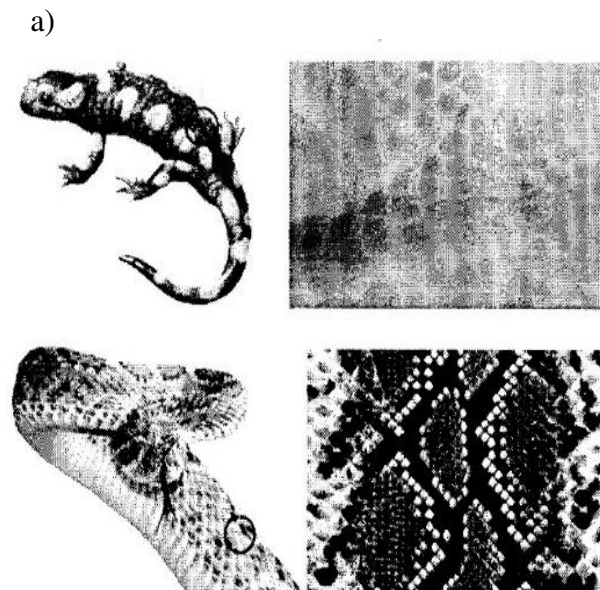
Sl.7. Primeri metastruktura sa “negativnom efektivnom krutošću”

Na slici 7. prikazani su primeri metastruktura. Obično se rade štampanjem na 3D štampaču. Postoji ograničenje oko njihovih dimenzija i vremena izrade.

Metastruktura sa “negativnim Poasonovim koeficijentom”

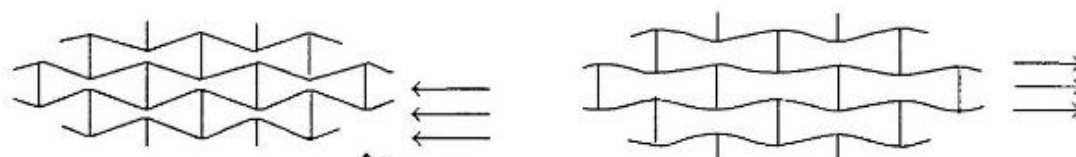
Koža guštera i zmijske pokazuje neobično fizičko ponašanje [7]. Naime, pri zatezanju koža se izdužuje, ali umesto da se pri tome sužava (što je uobičajeno kod većine materijala) ona se širi.

Ustanovljeno je da je ova neobična pojava posledica strukture kože (slika 8) koja se sastoji od konkavnih šestougaonika. Na slici 9 izvršeno je modeliranje kože. Istraživanjem je ustanovljeno da osnovni konkavni heksagonalni element ove structure ima negativan Poasonov koefijent. Ovakva mehanička struktura nazvana je auksetična struktura [8].



Sl.8. a) Gušter i koža guštera, b) zmija i zmijska koža [7]

Ova struktura nije u dovoljnoj meri teorijski istražena. Međutim, urađeni su brojni eksperimenti. Pokazalo se da struktura ima periodičnost i jednostavnost, ali ima i veliki nedostatak koji se ogleda u anizotropnosti.

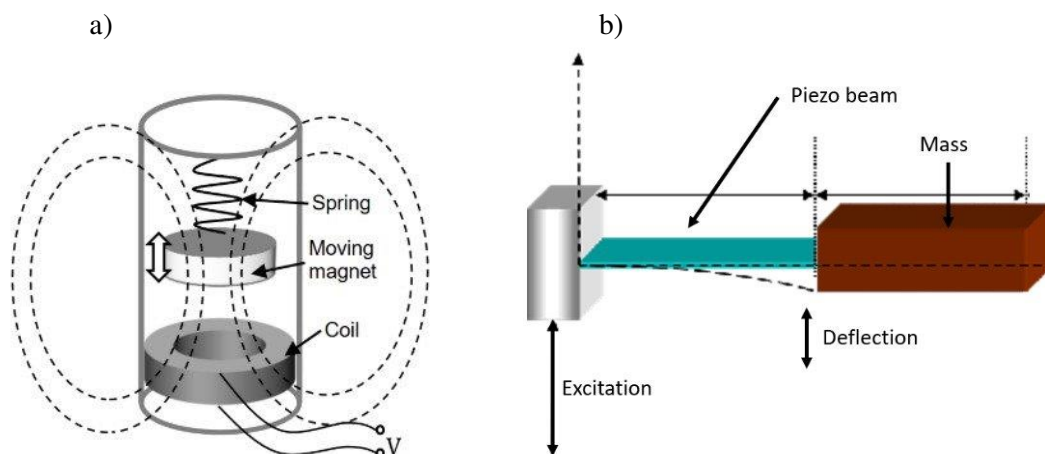


Sl.9. Model auksetične strukture

Pri dejstvu sile u jednom pravcu struktura vrši absorpciju vibracija, dok pri pobudi u drugom pravcu ova osobina strukture nestaje. Auksetična struktura, iako ima malu čvrstoću i krutost, pokazuje dobre osobine oko prijema manjeg udarnog opterećenja [9].

Energetski harvester i metastruktura

Mehaničku energiju vibracija moguće je transformisati u električnu energiju. Na metastrukturu je potrebno vezati odgovarajući harvester koji bi sakupio energiju od kretanja dodate mase absorbera i pretvorio u električnu energiju.



Sl.10. Model harvestera: a) dodata masa je od magnetnog materijala, b) sa piezoelementom.

Na slici 10 prikazane su dva modela. Jedna od mogućnosti je da se dodata masa uradi od magnetnog materijala a druga da se koristi piezoelement. Pogodnost ovakvog sistema je da se rasuta energija vibracija iskoristi i da se poveća stepen korisnog dejstva celine.

Model sistema sa energetskim harvesterom je kombinacija mehaničkog i električnog sistema. Matematički model se sastoji od diferencijalne jednačine drugog reda koja opisuje prinudno kretanja

sistema masa-opruga, i jedne diferencijalne jednačine prvog reda povezane sa električnim karakteristikama kola. Otuda sledi da je sistem zadat sa tri jednačine prvog reda. Analizom ovih nelinearnih jednačina došlo se do konstatacije da se u sistemu može pojaviti i deterministički kaos. Koristeći kriterijum Ljapunovljevog eksponenta ili Meljnikovu teoriju moguće je odrediti parametre koji dovode do haotičnog kretanja u ovakvom sistemu.

Zaključak

U radu su prikazana tri tipa metastrukture sa negativnom efektivnom masom, negativnom krutošću i negativnim Poasonovim koeficijentom. Zaključeno je da svaka od ovih struktura ima prednost u odnosu na postojeće s obzirom na dimenzije i masu, ali i nedostatak zbog svoje komplikovane konfiguracije što otežava njihovu izradu. Prvi tip metastrukture predstavlja absorber vibracija na određenoj frekvenciji. Prednost ove metastrukture je u njenoj masi i mogućnosti da se ugradi u vozila. Drugi tip metastrukture predstavlja izolator vibracija. Zahvaljujući svojoj debljini ova metastrukture bi bila podesna za izolaciju zidova i građevinskih objekata. Treći tip metastrukture daje tzv. auksetična strukturu po uzoru na auksetični materijal. Ova struktura bi imala višestruku namenu s obzirom da je u stanju da primi i mehanički udar.

U radu je zaključeno da je na metastrukture moguće pridodati energetski harvester. Ovaj harvester bi akumulisanu mehaničku energiju vibracija pretvorio u električnu energiju. Iako je količina električne energije koja se pri procesu stvara bila bi dovoljna da posluži kao izvor napajanja za mikro-mehaničke-elektro sisteme, mobilne telefone, mobilne uređaje, semaforu signalizaciju i niz drugih malih potrošača električne energije.

Zahvalnica: Istraživanja prikazana u radu predstavljaju deo projekta Departmana za Mehaniku na Fakultetu tehničkih nauka u Novom Sadu (Proj. Br. 054/2021).

Literatura

- [1] Cveticanin, L. & Zukovic, M. (2017). Negative effective mass in acoustic metamaterial with nonlinear mass-in-mass subsystems. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, 51, 89-104.
- [2] Cveticanin, L., Zukovic, M., Cveticanin, D. (2018). On the elastic metamaterial with negative effective mass. *Journal of Sound and Vibration*, 436, 295-309.
- [3] Cveticanin, L., Zukovic, M., Cveticanin, D. (2018). Influence of nonlinear subunits on the resonance frequency band gaps of acoustic metamaterial. *Nonlinear Dynamics*, 93(3), 1341-1354.
- [4] Zhu, R., Liu, X.N., Hu, G.K., Sun, C.T., Huang, G.L. (2014). A chiral elastic metamaterial beam for broadband vibration suppression. *Journal of Sound and Vibration*, 333(10), 2759-2773.
- [5] Hobeck, J.D., Laurent, C.M.V., Inman, D.J. (2015). 3D printing of metastructures for passive broadband vibration suppression. *20th Int. Conf. on Composite Materials*, Copenhagen, 19-24 July, 1-8.
- [6] Pierce, C.D., Willey, C.L., Chen, .W.V., Hardin, J.O., Berrigan, J.D., Juhl, A.T., Matlack, K.H. (2020). Adaptive elastic metastructures from magneto-active elastomers. *Smart Material Structure*, 29, Article ID 065004, 1-11.
- [7] Mir, M., Ali, M.N., Sami, J., Ansaari, U. (2014). Review of Mechanics and applications of auxetic structures. *Advances in Materials Science and Engineering*, Article ID 753496, 17 pages
- [8] Santulli, C., Langella, C. (2016). Study and development of of concept of auxetic structures in bio-inspired design. *International Journal of Sustainable Design*, 3(1), 20-37.
- [9] Fan, H., Yang, L., Tian, Y., Wang, Z. (2020). Design of metastructures with quasi-zero dynamic stiffness for vibration isolation. *Composite Structures*, 243, Article ID 112244, 1-13.

INOVATIVNI NANOKATALIZATORI ZA ANODNE REAKCIJE U GORIVNIM SPREGOVIMA

Mila N. Krstajić Pajić

*Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, 11000 Beograd,
mpajic@tmf.bg.ac.rs*

Izvod

Pronalazak novih materijala koji bi omogućili komercijalizaciju gorivnih spregova i doprineli smanjenju upotrebe fosilnih goriva u proizvodnji energije je od velikog značaja za razvoj savremenog društva. Kada je u pitanju oksidacija malih organskih molekula kao goriva za gorivni spreg javlja se problem trovanja površine platine ugljen-monoksidom koji se formira kao intermedijar anodne reakcije. U ovom radu nanočestice platine na ugljeničnom nosaču sintetizovane su mikroemulzionim postupkom sa dodatkom različitih količina aditiva HCl tokom sinteze. Pri koncentraciji od 25% HCl sintetizovane su nanočestice kubnog oblika. Ovi katalizatori okarakterisani su fizičko-hemijskim i elektrohemijским metodama. Takođe je na njima ispitana i elektrooksidacija mravlje kiseline i metanola, a katalizator sa nanočesticama kubnog oblika, i većim udelom preferencijalno orijentisanih ravni (100) pokazao je bolju aktivnost za ove reakcije od katalizatora Pt sa konvencionalnim sfernim česticama. Pored oblika nanočestica, ispitan je i uticaj promene sastava površine na katalitičku aktivnost platine pa su sintetizovani su i bimetalni PtAu/C katalizatori pod reprodukovanim uslovima sinteze korišćenim za sintezu Pt/C nanočestica. Detaljnom analizom rezultata ustanovljeno je da je uticaj drugog elementa (Au) u ovom slučaju veći nego uticaj oblika, ali da oba načina doprinose poboljšanju katalitičkih sposobnosti platine, pre svega u reakciji oksidacije mravlje kiseline, zahvaljujući značajnom geometrijskom efektu zlata na platinu.

Ključne reči: *Gorivni spregovi, anodni elektrokatalizatori, kubne nanočestice, bimetalni katalizatori, oksidacija malih organskih molekula, mikroemulziona sinteza nanočestica*

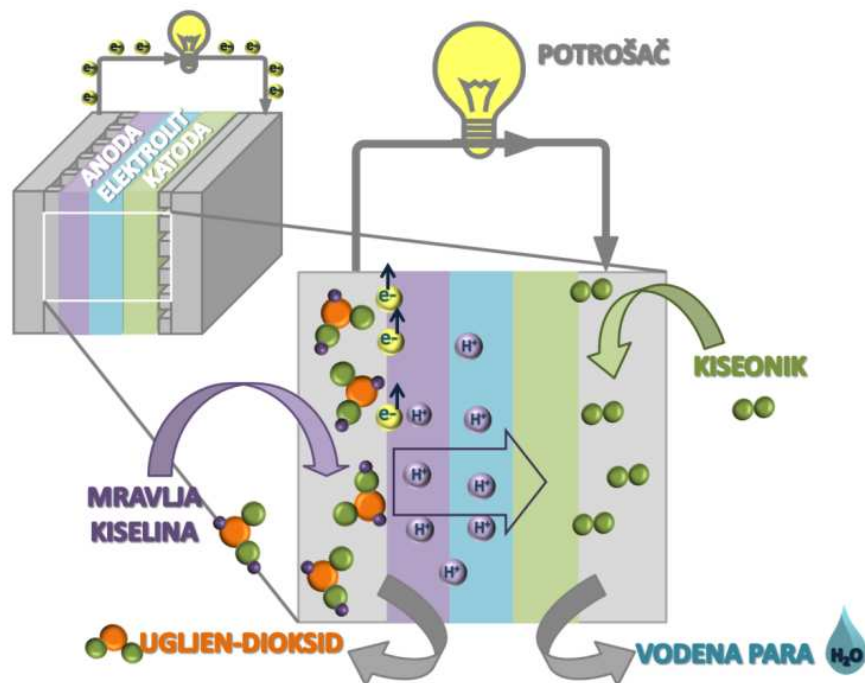
Uvod

Razvoj društva i tehnologije doveo je do veoma teških posledica po životnu sredinu, na koje je proizvodnja energije pretežno iz naftnih rezervi uticala negativno u praktično svim ekosistemima. Naime, eksploatacija energenata dovela je do skoro potpunog iskorišćenja ograničenih prirodnih resursa, a njihovo sagorevanje prouzrokovalo je ispuštanje štetnih gasova u atmosferu, koji su doveli do stvaranja efekta staklene bašte i negativnih klimatskih promena. Pronalaženje čiste i obnovljive energije prepoznato je i od strane Ujedinjenih nacija kao jedan od uslova za građenje održive budućnosti, pa je ovaj cilj svrstan i među 17 ciljeva održivog razvoja Ujedinjenih nacija. Gorivni galvanski spregovi su elektrohemijški sistemi u kojima se energija proizvodi na bezbedan način, bez sagorevanja i u idealnom slučaju bez emisije štetnih gasova. Ekološki najpovoljnije gorivo za gorivni spreg je vodonik, jer se oksidacijom vodonika i redukcijom kiseonika kao jedini proizvod reakcije dobija voda. Međutim, vodonik je rizičan za skladištenje i njegovo dobijanje elektrolizom vode ili reforming procesom metanola vodenom parom zahteva visoka ulaganja.

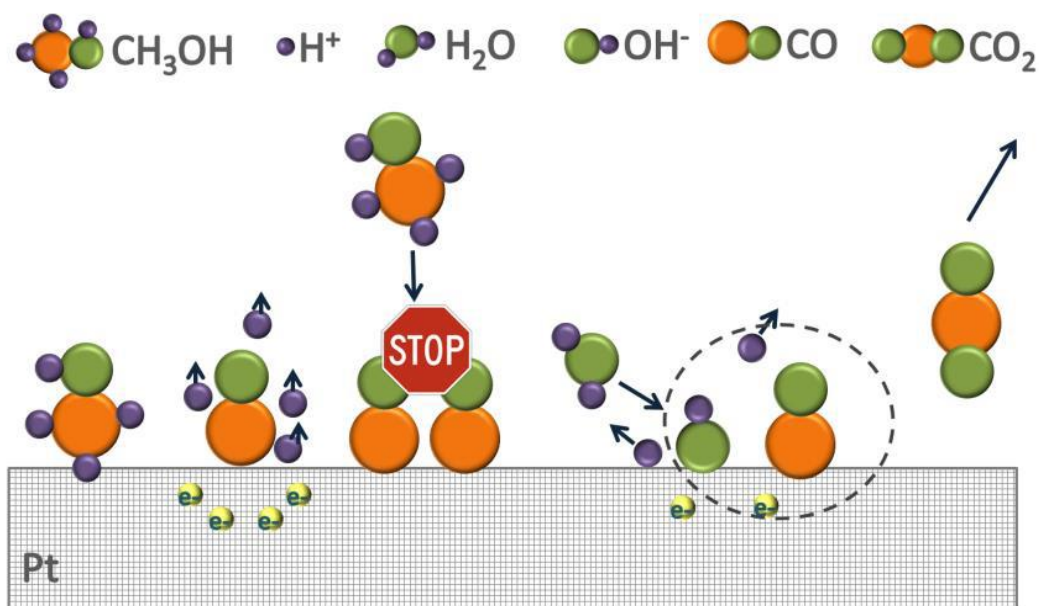
Kao zamena za vodonik mogu se koristiti mali organski molekuli kao što su metanol (Slika 1), etanol ili mravlja kiselina, čije su značajne prednosti u odnosu na vodonik bezbedno skladištenje i transport, jeftina proizvodnja, jednostavna upotreba i implementacija u postojeće sisteme distribucije energenata zahvaljujući mogućnosti njihove upotrebe u tečnom stanju. U slučaju svih

ovih reakcija, prepreka komercijalizaciji ove tehnologije je i njena cena, zbog upotrebe plemenitih metala kao katalizatora, kao i njihova nedovoljna otpornost na tzv. katalitičke otrove, kao što je CO (Slika 2.).

U ovom radu, sintetizovane su nanočestice platine mikroemulzionim postupkom, pri čemu je ispitan uticaj promene oblika čestica, kao i dodatka drugog elementa (zlata), na njihovu aktivnost i stabilnost u reakcijama oksidacije metanola i mravlje kiseline. Promena oblika, i primena bimetalnih katalizatora predloženi su kao načini prevazilaženja opisanih problema. [1,2,3,4]



Slika 1 Shema direktnog metanolskog gorivnog sprega [1]



Slika 2 Prikaz reakcionih stupnjeva elektrohemijske oksidacije metanola na modelu Pt katalizatora [1]

Eksperimentalni deo

Sinteza katalizatora vršena je mikroemulzionim postupkom, predloženim od strane Feliu-a i saradnika [5] sa određenim izmenama u proceduri sinteze, uz dodatak aditiva HCl u vodenu fazu mikroemulzije. Sastav vodene faze, odnosno sadržaj aditiva, je variran kako bi se proizvele promene u obliku nanočestica. Istom procedurom sintetizovani su i bimetalni PtAu/C nanokatalizatori.

Sintetizovani Pt/C katalizatori karakterisani su sledećim fizičko-hemijskim metodama:

- ✚ termogravimetrijskom analizom (TGA) kojom je ispitivan ukupan sadržaj metala na nosaču
- ✚ difrakcijom X-zraka (XRD)
- ✚ transmissionom elektronskom mikroskopijom (TEM) i transmissionom elektronskom mikroskopijom visoke rezolucije (HRTEM)

dok su PtAu/C katalizatori pored navedenih metoda ispitivani i sledećim tehnikama radi detekcije prisutnih elemenata i ispitivanja njihovog udela i prisutnih veza u uzorku:

- ✚ energetsom disperzionom mikroskopijom X-zraka (EDXS) i
- ✚ fotoelektronskom spektroskopijom X-zraka (XPS)

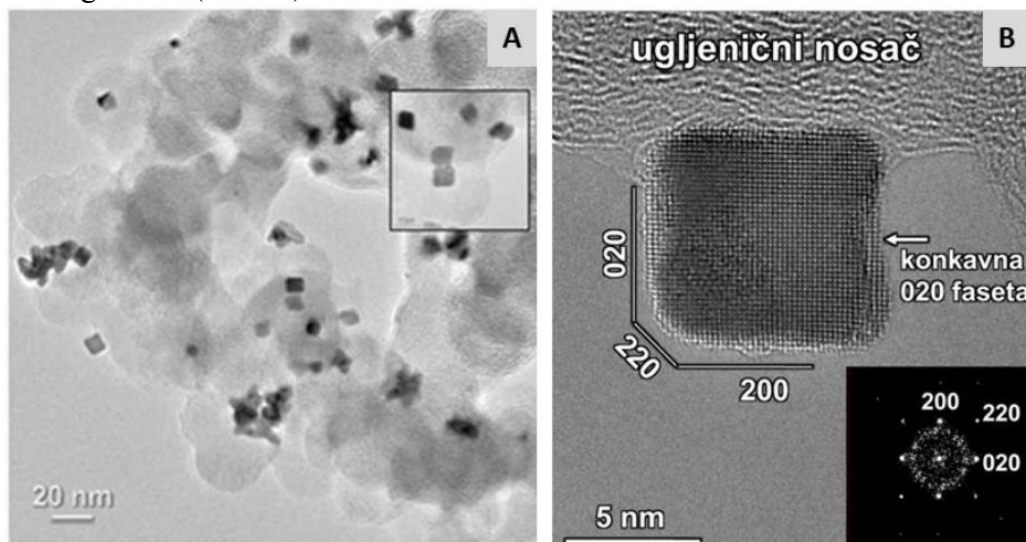
Pored fizičko-hemijske karakterizacije, katalizatori su okarakterisani i elektrohemijski, u troelektrodom sistemu (radna elektroda – disk od staklastog ugljenika sa nanetim katalizatoro, kontra el. – Pt žica, referentna el. – zasićena kalomelova (ZKE)), u kiseljoj sredini

Rezultati i diskusija

Rezultati fizičko-hemijske i elektrohemijske karakterizacije sintetizovanih katalizatora pokazali su uspešnost sinteze nanočestica platine kontrolisanog oblika pri optimalnom sadržaju aditiva, u slučaju Pt/C katalizatora, kao i uspešnost sinteze bimetalnih PtAu/C katalizatora, po prvi put u literaturi korišćenom procedurom. [6]

Pt/C katalizatori – nanočestice kontrolisanog oblika

Fizičko-hemijska karakterizacija potvrdila je uspešnost sinteze Pt/C katalizatora sa udelom metala koji odgovara nominalnom od 20%. U slučaju katalizatora Pt/C(25%HCl) formirane su čestice pretežno kubnog oblika (Slika 3).



Slika 3 A - TEM i B - HRTEM mikrofotografija Pt/C(25%HCl) katalizatora [1,2]

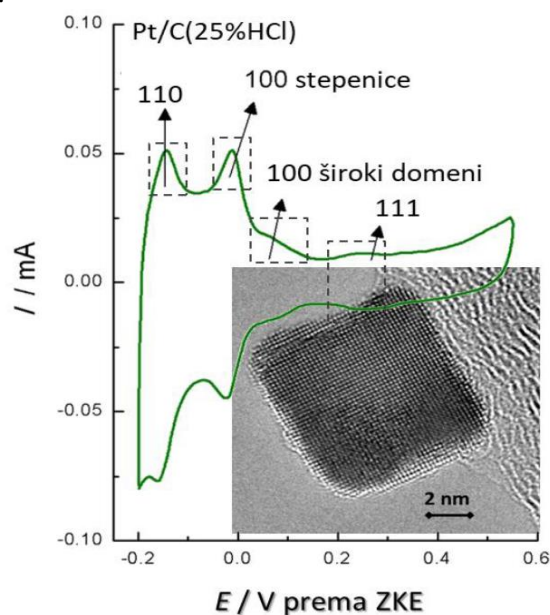
Elektrohemijskim metodama takođe je detektovana promena oblika čestica. Naime, ciklični voltamogram katalizatora sa 25%HCl pokazuje karakteristične voltametrijske profile koji su

posledica adsorpcije/desorpcije vodonika na (100) terasama (Slika 4). Ovi profili nisu jasno izraženi na voltamogramima preostalih katalizatora.

Ispitivanjem strukturno osetljivih reakcija, kao što su oksidacija adsorbovanog CO i amonijaka koji se oksiduje isključivo na (100) ravnima takođe je konstatovan veći doprinos (100) ravni kod katalizatora sa većim udelom HCl.

Ispitivanje oksidacije mravlje kiseline na sintetizovanim Pt/C katalizatora pokazalo je da se ova reakcija odigrava dualnim mehanizmom, odnosno paralelnim odigravanjem i indirektnog reakcionog puta. Poređenjem vrednosti gustine struje na 0,2 V prema ZKE, potencijalu od interesa za gorivni spreg, tokom 100 ciklusa, čime se procenjuje aktivnost i stabilnost katalizatora pokazano je da Pt/C(25%HCl) katalizator sa kubnim nanočesticama pokazuje povećanu aktivnost, ali i stabilnost za ovu reakciju. Isti rezultat testa stabilnosti pokazan je i hronoamperometrijski (praćenjem gustine struje tokom vremena na konstantnom potencijalu). Ovaj rezultat pripisan je najpre olakšanom uklanjanju adsorbovanog CO sa (100) orijentisanih površina koje su zastupljene kod kubnih nanočestica.

Takođe, za oksidaciju metanola je istom metodologijom pokazana povećana aktivnost i stabilnost Pt/C(25%HCl) katalizatora.

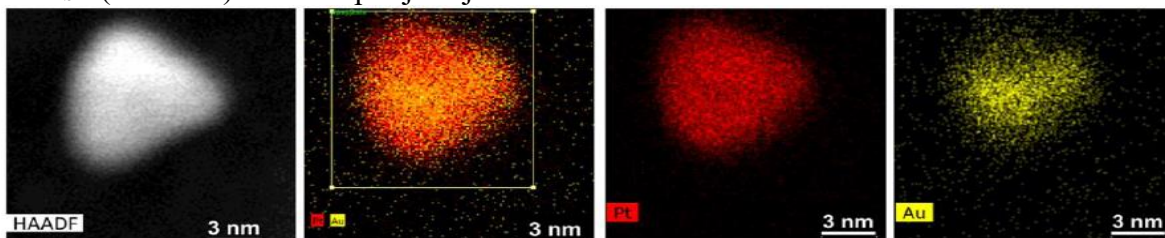


Slika 4 Karakterizacija katalizatora Pt/C(25%HCl): inicijalni voltamogram u osnovnom elektrolitu – vodonična oblast i oblast dvojnog sloja, sa obeleženim doprinosima određenih atomskih orijentacija i HRTEM mikrofotografijom nanočestice kubnog oblika u insetu [1]

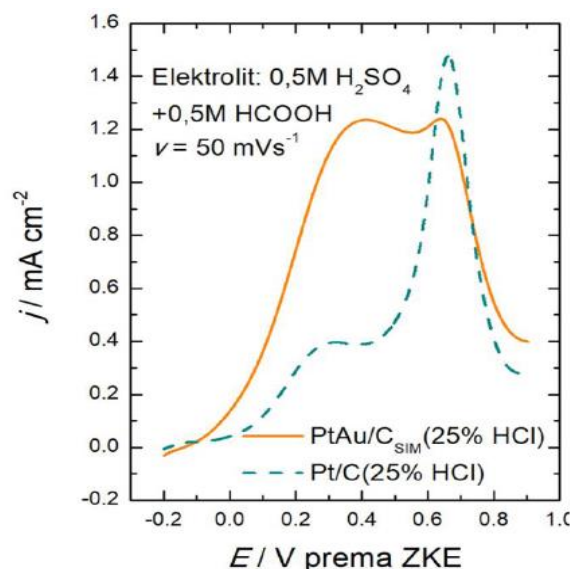
PtAu/C bimetalni katalizatori

Fizičko-hemijska karakterizacija PtAu/C katalizatora pokazala je određen gubitak metala (TGA analiza). Veličina čestica je smanjena u odnosu na Pt/C katalizatore (od 2 do 6 nm prema TEM analizi). Iako je nominalni odnos metala bio 1:1, EDXS i XPS analizom pokazano je da je udeo zlata znatno manji od nominalnog, što ukazuje na to da je gubitak metala zapravo gubitak elementa Au, prouzrokovan prisustvom hlorida, i znatno bržom redukcijom ovog elementa, čime se dobijaju izuzetno sitne čestice Au koje se izgube tokom postupka čišćenja ukoliko nisu tokom sinteze inkorporirane u Pt čestice. Bez obzira na gubitak zlata u sintezi, preostalo zlato je izuzetno fino dispergovano (EDXS) i nisu registrovane čestice koje ne sadrže oba elementa (Slika). Fina dispergovanost bi trebalo da obezbedi izuzetno dobar geometrijski efekat na Pt.

Pored toga, u uzorku sa optimalnim sadržajem aditiva PtAu/C_{SIM}(25%HCl) primećena je i promena oblika, međutim u ovom slučaju čestice su pretežno tetraedarske sa povećanim udelom (111) ravni, koje su u slučaju Pt monokristala najaktivnije za oksidaciju mravlje kiseline. Do promene oblika od kubnog do tetraedarskog dolazi usled simultane redukcije prekursora dva metala, pri čemu se atomi zlata preferencijalno adsorbuju na (100) mesta na platini, što menja odnos relativnih brzina rasta u <100> odnosno <111> pravcu, menjajući i oblik čestica (Slika 5). Elektrohemijska merenja u slučaju bimetalnih uzoraka pokazala su najbolje performanse PtAu/C_{SIM}(25%HCl) katalizatora. Voltamogrami u osnovnom elektrolitu i oksidacija adsorbovanog CO na sva tri katalizatora pokazuju evidentan elektronski efekat Au na Pt, međutim on u ovom slučaju deluje negativno – doprinosi jačanju veze Pt i adsorbovanih vrsta, čime otežava ukljanjanje CO. Međutim, na svim katalizatorima je aktivnost za oksidaciju mravlje kiseline izuzetno povećana u odnosu na Pt katalizatore sintetizovane sa istim udelom HCl. Pri tome, na bimetalnim katalizatorima znatno je povećan doprinos direktnog puta (strujni plato na nižem potencijalu u anodnom smeru) koji ne uključuje formiranje adsorbovanog CO. To ovaj katalizator čini značajno poboljšanim u odnosu na Pt/C uzorke, i posledica je jako fine dispergovanosti Au koja dovodi do izuzetno izraženog geometrijskog efekta Au na Pt, i doprinosi boljoj katalizi bez obzira na negativno izražen elektronski efekat. U slučaju PtAu/C_{SIM}(25%HCl) direktan put je najviše izražen.



Slika 5 HAADF snimak i EDXS mape uzorka PtAu/C_{SIM}(25%HCl)[1]



Slika 6 Oksidacija mravlje kiseline na PtAu/C_{SIM}(25%HCl) i Pt/C(25%HCl): anodna potenciodinamička kriva na netretiranoj površini.[1]

Takođe je zanimljivo i da pored bolje aktivnosti i stabilnosti za oksidaciju mravlje kiseline, bimetalni katalizatori iako imaju smanjenu početnu aktivnost za oksidaciju metanola u odnosu na Pt/C katalizatore (očekivano za PtAu sistem usled negativnog elektronskog efekta), nakon nekoliko ciklusa postaju aktivniji za ovu reakciju.

Zaključak

Rezultati prikazani u ovom radu deo su doktorske disertacije autora, pod naslovom "Nanostruktuirani platinski katalizatori za oksidaciju malih organskih molekula sintetizovani mikroemulzionim postupkom". Njome je pokazana je uspešna sinteza Pt/C i PtAu/C katalizatora modifikovanim mikroemulzionim postupkom, za oksidaciju malih organskih molekula kao potencijalnih goriva za gorivne ćelije. Takođe je pokazano da promena oblika nanočestica koja doprinosi formiranju ravni odgovarajućih za reakcije od interesa može imati pozitivan uticaj na katalizu. Kubne nanočestice, zahvaljujući velikoj zastupljenosti (100) faseta na površini obezbeđuju lakše uklanjanje adsorbovanog CO kao katalitičkog otrova, zahvaljujući njegovom slabijem vezvanju za Pt. Time se doprinosi aktivnosti katalizatora za reakcije oksidacije metanola i mravlje kiseline, tokom kojih može doći do formiranja adsorbovanog CO kao reakcionog intermedijara. Dodatak drugog elementa, Au, višestruko povećava aktivnost platine za oksidaciju mravlje kiseline zahvaljujući geometrijskom efektu kojim dolazi do prekidanja kontinualnih domena platine. Time se favorizuje direktan put oksidacije HCOOH do CO₂, i izbegava formiranje adsorbovanog CO, čime se poboljšava i stabilnost katalizatora i obezbeđuje znatno duži vek ovakvih elektroda. Promena oblika deluje sinergijski sa geometrijskim efektom dajući višestruki benefit u pogledu katalize mravlje kiseline.

Ovo istraživanje doprinosi poboljšanju aktivnosti anodnih katalizatora gorivnih spregova, i njihovoj boljoj stabilnosti i trajnosti, čime se doprinosi smanjenju potrebnog katalitičkog materijala i pristupačnijoj upotrebi direktnog gorivnog sprega sa mravljom kiselinom ili metanolom.

Autor duguje zahvalnost Fondaciji "Docent dr Milena Dalmacija" na dodeljenoj prvoj nagradi za doktorsku disertaciju koja je dala najveći naučni doprinos u oblasti zaštite životne sredine na univerzitetima u Republici Srbiji, za 2019. godinu.

Literatura

- [1] Krstajić Pajić M.N., (2019). Nanostruktuirani platinski katalizatori za oksidaciju malih organskih molekula sintetizovani mikroemulzionim postupkom. Doktorska disertacija, Tehnološko-metalurški fakultet, Beograd
- [2] Krstajić Pajić M.N., Stevanović S.I., Radmilović V.V., Gavrilović-Wohlmuther A., Radmilović V.R., Gojković S.Lj., Jovanović V.M. (2016). Shape evolution of carbon supported Pt nanoparticles: From synthesis to application. *Applied Catalysis B: Environmental* 196, 174-184
- [3] Krstajić Pajić M.N., Stevanović S.I., Radmilović V.V., Rogan J.R., Radmilović V.R., Gojković S.Lj., Jovanović V.M. (2016). Pt/C nanocatalysts for methanol electrooxidation prepared by water-in-oil microemulsion method *Journal of Solid State Electrochemistry* 20, 3405-3414
- [4] Krstajić Pajić M.N., Stevanović S.I., Radmilović V.V., Gavrilović-Wohlmuther A., Zabinski P., Elezović N.R., Radmilović V.R., Gojković S.Lj., Jovanović V.M. (2019) Dispersion effect in formic acid oxidation on PtAu/C nanocatalyst prepared by water-in-oil microemulsion method. *Applied Catalysis B: Environmental* 243, 585-593.
- [5] Martinez-Rodriguez R.A., Vidal-Iglesias F.J., Solla-Gullon J., Cabrera C.R., Feliu J.M. (2014). Synthesis of Pt Nanoparticles in Water-in-Oil Microemulsion: Effect of HCl on Their Surface Structure. *Journal of the American Chemical Society* 136, 1280-1283.

TEORIJSKO PROUČAVANJE MOLEKULSKIH OSOBINA, MUTAGENE AKTIVNOSI I DEGRADACIJE DERIVATA POLICIKLIČNIH AROMATIČNIH UGLJOVODONIKA

Branislav Stanković¹, Bojana Ostojić², Dragana Đorđević²

¹Univerzitet u Beogradu - Fakultet za fizičku hemiju, Studentski trg 12-16, Beograd
branislav@ffh.bg.ac.rs

²Univerzitet u Beogradu –Centar izuzetnih vrednosti za hemiju i inženjering životne sredine,
Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Njegoševa 12, Beograd

Izvod

Policiklični aromatični ugljovodonici, PAU, predstavljaju jedne od najrasprostranjenijih zagađivača. PAU su često mutageni i kancerogeni, a neki od njih mogu biti i teratogeni. U literaturi postoji malo podataka o mnogim od ovih molekula, među kojima su izomeri dimetilnaftalena, dimetilantracena, nitrodibenzofurana, nitrobenzantrona i nitrofluorantena. Cilj sprovedenog istraživanja je da se pronađu parametri koji su u korelaciji sa mutagenom aktivnošću i brzinom biodegradacije derivata PAU-a, kao i da se ispita mogućnosti i mehanizam njihove fotolitičke razgradnje. U tu svrhu korišćene su moderne *ab initio* i metode teorije funkcionala gustine. Pokazano je da postoji linearna korelacija između mutagenih aktivnosti i polarizabilnosti, kao i sa sumama po svim Ramanskim aktivnostima. Iz ovih relacija procenjena je mutagena aktivnost izomera za koje mutagene osobine nisu eksperimentalno određene. Analizirane su konformacione deformabilnosti aromatičnih prstenova. Pokazano je da je energija potrebna za deformaciju prstenova koja omogućava uklapanje u aktivno mesto enzima koji vrši biodegradaciju 1,7 – 2,7 kcal/mol. Pronađena je linearna korelacija između srednjih konstanti rigidnosti aromatičnih prstenova i relativnih energija stabilnosti. Pokazano je da u atmosferskim (ambijetalnim) uslovima, kod nitro-derivata PAU-a, može doći do rotacije nitro- grupe takve da se ostvari povoljan kvantni prinos za reakciju fotolitičkog cepanja veze između nitro- grupe i ostatka molekula.

Ključne reči: policiklični aromatični ugljovodonici, mutagena aktivnost, biodegradabilnost, fotodegradacija, teorijska hemija.

Uvod

Poliaromatični ugljovodonici, PAU, su jedna od klase organiskih jedinjenja kojom je životna sredina zagađena. Glavni putevi kojima PAU dospevaju u životnu sredinu su spaljivanje organske materije i upotreba fosilnih goriva. Osim toga, putem hemijskih reakcija PAU se mogu prevesti uoksi-, nitro- i druge derivate, koji su često mutageniji, kancerogeniji i teratogeniji od molekula od kojih su nastali [1].

Ispitivanje mutagene aktivnosti i razgradnje PAU-a sa stanovišta teorijskih (kvantno-hemijskih) izračunavanja naročito je važno jer omogućava da se potvrde eksperimentalni rezultati, kao i da se dobiju mnoge veličine koje je eksperimentalno teško meriti. Takođe, s obzirom da su eksperimentalna ispitivanja vremenski obimna, ovakvo ispitivanje je ekonomičniji, ali često, usled nemogućnosti izolovanja konkretnog molekula, i jedini mogući način kojim se mogu ispitati neki od molekula PAU-a. Osim toga, samim teorijskim pristupom izbegava se direktan rad sa opasnim supstancama.

Cilj ove rada je da se izvrši teorijsko predviđanje fizičko-hemijskih osobina nekih od molekula PAU-a, kao da se odrede koje od njih se mogu iskoristiti za prodviđanje mutagenih aktivnosti i brzina biodegradacije, kao i da se proceni mehanizam i mogućnost fotolitičke degradacije ovih jedinjenja. Preciznije, proučavane su različite fizičko-hemijske osobine izomera nitrodibenzofurana (NDF) i nitrodibenzantrona (NBA), kao i njihova povezanost sa mutagenim aktivnostima, zatim stabilnost, konformaciona fleksibilnost, aromatičnost i druge molekulske osobine izomera dimetilnaftalena (DMN) i izomera dimetilantracena (DMA), kao i njihov mogući uticaj na biodegradaciju i na posletku ispitana je mogućnost fotohemijske razgradnje nitrofluorantena (NFL).

Teorijski deo

U istraživanju su korišćene savremene kvantno-hemijske *ab initio* i metode teorije funkcionala gustine. Ravnotežne geometrije su optimizovane B3LYP metodom i 6-311+G(2df,p) bazisnim skupom. Elektronske energije su korigovane energijama osnovnog vibracionog stanja. Ovakvim pristupom, kao i B3LYP/6-311++G(df,pd) nivoom teorije, izračunati su i srednja polarizabilnost i njena anizotropija i IC i Ramanski spektri. Dipolni momenti (μ) su izračunati pri B3LYP/cc-pVTZ nivou teorije. Vrednosti jonizacionog potencijala (IP) i afiniteta prema elektronu (EA) su izračunate pri B3LYP/6-311++G(2d,2p) nivou teorije, na osnovu kojih su izračunate vrednosti hemijske tvrdoće (η) i indeksa elektrofilnosti (κ). Aromatičnosti prstenova supstituisanih naftalena i antracena izračunate su pomoću dva NICS indeksa, NICS(1) i NICS(1)_{zz}, za šta je iskorišćen GIAO/6-311+G(d,3dp) nivo teorije. Izračunavanje konstante rigidnosti prstenova (k) urađeno je pri MP2/cc-pVDZ nivou teorije po metodi koju su uveli Šiškin i saradnici [2]. Za ove izomere, korišćenjem B3LYP/cc-pVTZ nivoa teorije, izračunate su i vrednosti Fukuijeve funkcije i dualni deskriptor. Svi do sada pomenuti proračuni bili su urađeni korišćenjem Gaussian programskog paketa. Deo proračuna je proveren korišćenjem CCSD(T)/aug-cc-pVDZ nivoa teorije, kao jednog od standarda preciznosti, za šta je korišćen Molpro programski paket. Analiza hemijskih veza između nitro- grupe i ostatka nitrodibenzofurana, između kiseonika i prstena furana, metil- grupa i ostatka izomera dimetilnaftalena, kao i veze između dva prstena u ovim izomerima urađena je ETS-NOCV metodom. Relativistički efekti su uračunati kroz ZORA aproksimaciju. Korišćen je TZ2P bazisni set u kombinacijom sa BP86-D i BLYP funkcionalima, a proračuni su urađeni korišćenjem ADF programskog paketa.

Rezultati i diskusija

Analizom izomera NDF-a [3] pokazano je da je 1-NDF jedini isomer kod koga nitro- grupa nije u ravni prstena za koji je vezana. Kako je ovo i jedini isomer koji nije mutagen, dobijeni rezultati ukazuju na mogućnost neuklapanja ovog izomera u aktivno mesto enzima koji vrši njegovu mutagenu aktivaciju. Uobičajeno korišćeni deskriptori mutagenosti IP , EA , η i κ , nisu u korelaciji sa eksperimentalno pronađenom mutagenom aktivnošću u testu sa *S. typhimurium* TA98 - S9 [4], što ukazuje da oksido-redukcione reakcije nisu presudne za mutagenu aktivaciju izomera NDF-a. Analizom veze između nitro- grupe i ostatka molekula, kao i veza između kiseonika i ugljenika u srednjem prstenu kod izomera NDF-a pokazano je da je mutagena aktivnost veća kod izomera kod kojih su ove veze slabije. Ovo ukazuje da ove veze imaju važnu ulogu u procesu mutagene aktivacije. Veće vrednosti polarizabilnosti, anizotropije polarizabilnosti i sume Ramanskih aktivnosti po svim vibracionim modovima nađene su kod izomera kod kojih je nitro-grupa orijentisana duž najduže molekulske ose. Vrlo dobra korelacija je nađena između ovih veličina i eksperimentalno određenih direktnih mutagenih aktivnosti sa korelacionim koeficijentima $R = 0.99$, $R = 0.99$ i $R = 0.93$, redom. Daljom analizom Ramanskih spektara

pokazano je da intenzitet ν_{sNO_2} vibracionog moda raste po redosledu 1-NDF < 4-NDF < 2-NDF < 3-NDF. Kako je ovo redosled po kome rastu i vrednosti direktnih mutagenih aktivnosti, zaključeno je da su intermolekulske interakcije favorizovane duž ove koordinate u procesu mutagene aktivacije. Postojanje jasne korelacije između parametra povezanih sa preraspodelom naelektrisanja i mutagene aktivnosti ukazuje da su polarizacione i disperzione interakcije odgovorne za razlike u mutagenoj aktivnosti ispitivanih izomera.

Analizom izomera NBA-a [5] utvrđeno je da se kod 1-NBA-a i 11-NBA-a javlja kako neplanarnost aromatičnih prstenova, tako i neplanarnost nitro- grupe i prstena za koji je vezana. S druge strane, nitro- grupa nije planarna sa ravni prstenova kod 3-NBA-a, 4-NBA-a, 6-NBA-a i 8-NBA-a. Slaba mutagenost koju pokazuju 1-NBA-a i 11-NBA-a [6] bi mogla biti posledica neadekvatnog uklapanja u aktivno mesto enzima koji vrši njegovu mutagenu aktivaciju. Potvrđena je ranije poznata činjenica [7] da kod izomera nitrobenzantrona ne postoji jasna veza između veličine diedarskih uglova i mutagene aktivnosti. Kao i u slučaju izomera NDF-a, pokazano je da se stabilnost izomera NBA-a ne može povezati sa njihovom mutagenošću. Postoje male razlike između vrednosti IP -a izomera NBA-a, pa je zaključeno da oksidativni procesi nisu u korelaciji sa mutagenom aktivnošću izomera. Mada se izomeri NBA-a znatno više razlikuju među sobom po vrednostima EA , ova veličina nije u korelaciji sa mutagenim aktivnostima u sojevima *S. typhimurium* TA98, što ukazuje da redukcija nitro- grupe nije stupanj koji determiniše mutagenu aktivaciju u testovima sa ovom bakterijom. Kao i u slučaju izomera NDF-a, vrednosti μ ne prate dobro porast mutagenih aktivnosti izomera NBA-a, pa elektrostatičke interakcije mogu da budu od manje važnosti za stabilizaciju enzim – supstrat kompleksa koji nastaje pri mutagenoj aktivaciji. Ustanovljeno je da postoji vrlo dobra korelacija između parametra povezanih sa polarizabilnošću molekula i logaritma mutagene aktivnosti u testovima sa sojevima *S. typhimurium* ($R > 0.90$). Pronađeno je da se, kod svih parametra, najbolja korelacija javlja kod TA100 soja. S druge strane, suma po Ramanskim aktivnostima je parametar koji se generalno najbolje koristiti za procenu mutagene aktivnosti u svim razmatranim sojevima ($R > 0.99$). Zaključeno je da induktivne i disperzione interakcije mogu imati bitnu ulogu u mehanizmu mutagene aktivacije izomera NBA-a. Kod izomera koji poseduju izuzetno niske mutagene aktivnosti ne postoji izražen pik u Ramanskom spektru koji uključuje istežuće vibracije N-O i C-N veza. Na osnovu dobijenih rezultata predviđen je trend u ispoljavanju mutagene aktivnosti izomera za koje nema eksperimentalnih podataka. Tako bi mutagene aktivnosti 6-NBA-a i 8-NBA-a u sojevima *S. typhimurium* mogle da budu između vrednosti mutagenih aktivnosti izomera 11-NBA-a i 2-NBA-a, a vrednosti 4-NBA-a, 5-NBA-a i 10-NBA-a između vrednosti 2-NBA-a i 9-NBA-a.

U delu u kome su ispitivani izomeri DMN-a [8] pokazano je da su aromatični prstenovi ovih molekula visoko fleksibilni. Za promenu jednog od diedarskih uglova za 20° potrebno je uložiti energiju od 1,7 – 2,5 kcal/mol. Pronađena je linearna korelacija između srednjih konstanti rigidnosti prstenova i relativnih energija stabilnosti izomera DMN-a. Pokazano je da prisustvo dve metil- grupe ne menja znatno stepen aromatičnosti naftalenovih prstenova. Činjenica da izomeri dimetilnaftalena poseduju znatnu konformacionu deformabilnost značajna je sa stanovišta razumevanja vezivanja ovih izomera za aktivno mesto enzima koji vrši njihovu biorazgradnju. ETS-NOCV metodom je utvrđeno je da na stabilnost veze između prstenova u najvećoj meri utiče orbitalna interakcija. Pokazano je da je HOMO orbitala celokupnog sistema $\pi + \pi$, vezivna orbitala i da stabilnost ove orbitale prati redosled stabilnosti izomera. Glavni kanal promene elektronske gustine pri formiranju ove veze je prenos naelektrisanja σ orbitale centralne C-C veze okolnim π molekulskim orbitalama. Energetski doprinos koji prati ovu promenu prati redosled stabilnosti odgovarajućih izomera. Drugi po veličini kanal preraspodele elektronske gustine potiče od donacije naelektrisanja asimetrične σ_A simetričnoj σ_S orbitali. Pokazano je da je veza između jedne od metil- grupa i ostatka molekula DMN ima veći udeo orbitalne nego elektrostatičke interakcije. Dominantan član preraspodele elektronske gustine predstavlja stvaranje σ veze, dok je

drugi po veličini član hiperkonjugacija. Oba kanala podjednako stabilišu sistem metil- grupa – – ostatak molekula DMN-a kod svih izomera. Pokazano je i da je član koji opisuje jačinu odbojnih interakcija kod izomera DMN-a, onaj koji određuje stabilost ovih izomera.

Ispitivanjem izomera DMA-a [9,10] utvrđeno je da svi izomeri (osim 1,9-DMA-a i 9,10-DMA-a) imaju planarnu ravnotežnu geometriju. Kao i kod izomera DMN-a, stabilnost izomera DMA-a opada sa smanjenjem broja metil-grupa na β -pozicijama. Pokazano je da su razlike između najviše i najniže vrednosti IP , EA i η izomera DMA-a male. Utvrđeno je da su najpozitivniji delovi Fukuijeve funkcije kod svih izomera lokalizovani na meso-pozicijama i C1-C2, C3-C4, C5-C6 i C7-C8 vezama, te da su oblasti koje su podložne elektrofilnom napadu iste za sve izomere. Kod svih izomera DMA-a, osim 1,9-DMA-a i 2,6-DMA-a, i kod svih izomera DMN-a, najnegativnija vrednost dualnog deskriptora je po apsolutnoj vrednosti veća od najpozitivnije vrednosti. Drugim rečima, potvrđeno je da su izomeri DMA-a i DMN-a podložniji elektrofilnom nego nukleofilnom napadu. Na osnovu vrednosti dualnog deskriptora može se reći da se elektrofilni napad odvija na α - i meso-pozicijama. Imajući u vidu veličine izomera DMA-a može očekivati da su svi izomeri biorazgradivi. Zaključeno je da oksido-redukциони mehanizam ne igra ključnu ulogu u mutagenoj aktivaciji (tj. biorazgradnji) ovih izomera. Izomeri DMA-a su nepolarni/blago polarni, tj. imaju niske vrednosti dipolnih momenata, stoga je zaključeno da elektrostatičke interakcije nisu presudne za stabilizaciju enzim-supstrat kompleksa. Pokazano je da su vrednosti parametara povezanih sa polarizabilnošću molekula najveće za β,β -DMA izomere, a najniže za izomere sa supstituentima na meso- i α - pozicijama, kao i da između vrednosti ovih parametara postoje linearne koleracije. Na osnovu ovih rezultata pretpostavljeno je da su β,β -izomeri DMA-a najmutageniji (i najlakše razgradljivi), a da su α,m - i m,m - izomeri najmanje mutageni (i da se najsporije razlažu). Aromatičnost prstenova antracena se ne menja bitno sa uvođenjem metil- grupa. Utvrđeno je da prstenovi svih izomera DMA-a pokazuju visoku konformacionu fleksibilnost, tj. da se za povećanje najfleksibilnijeg diedarskog ugla za 20° treba uložiti energija između 1,7 i 2,7 kcal/mol. Izomere sa većim brojem metil- grupa na α - pozicijama je lakše deformisati. Relativna stabilnost izomera DMA-a je u korelaciji sa konformacionom deformabilnošću. Pokazano je da uvođenje metil- grupe snižava vrednost najniže frekvencije vibracija, čime je potvrđeno da se konformacionalna deformabilnost povećava dodavanjem metil-grupa. Iz prikupljenih rezultata je zaključeno da se izomeri DMA-a mogu deformisati tako da stanu u aktivno mesto enzima koji vrši njihovu biorazgradnju.

Za fotodegradaciju izomera NFL-a jedan od ključnih faktora može biti veličina uglova između nitro- grupe i prstenova. Izračunate su energije potrebne da se ugao ravnotežne vrednosti dostigne vrednost od 90° . Pokazano je da se ova vrednost ne menja značajno zavisno od sredine u kojoj se nalazi molekul. Utvrđeno je da se 1-NFL, 3-NFL i 7-NFL mogu lakše razgraditi od 2-NFL-a i 8-NFL-a fotolizom nitro- grupe. S druge strane, kod 2-NFL-a i 8-NFL-a, dominantan process je fosforescencija, mada je sam process fotolizom moguć u atmosferskim (ambijetalnim) uslovima.

Zaključak

U okviru ovog rada urađena je detaljna analiza molekulskih osobina niza derivata policikličnih aromatičnih ugljovodonika primenom kvantno-hemijskih metoda sa ciljem da se pronađe koje od njih se mogu povezati sa mutagenim aktivnostima i brzinama razgradnje. Predmet izučavanja su bili svi izomeri nitrodibenzofurana (NDF), nitrobenzantrona (NBA), dimetilnaftalena (DMN), dimetilantracena (DMA) i nitrofluorantena (NFL). Iz optimizovanih geometrija pronađeni su: jonizacioni potencijali, afiniteti prema elektronu, relativne elektronske i energije korigovane na nulti vibracioni nivo, dipolni momenti, srednje vrednosti polarizabilnosti, anizotropije polarizabilnosti, sume po intenzitetima u IC spektrima, sume po Ramanskim aktivnostima.

Utvrđeno je da od svih ispitivanih parametara sa eksperimentalno pronađenim vrednostima mutagenih aktivnosti izomera NDF-a i NBA-a najbolju korelaciju pokazuju parametri povezani sa polarizabilnošću. Zaključeno je da je za visoku mutagenu aktivnost pojedinih izomera NDF-a zaslužna jačina disperzionih i indukcionih interakcija između molekula i enzima koji vrši mutagenu aktivaciju, suprotno od ustaljenog mišljenja da je presudan faktor sklonost nitro- grupe ka redukciji. Takođe, pokazano je da je mutagena aktivnost veća kod izomera sa slabijim vezama u kolijma učestvuju heteroatomi, kod kojih su vibracije u kojima učestvuje nitro- grupa intenzivnije, čime je utvrđeno da polarizacija duž ovih unutrašnjih koordinata ima značaja pri uspostavljanju interakcija sa enzimom. Na osnovu dobijenih rezultata, za izomere za koje ne postoje eksperimentalno određene mutagene aktivnosti, izvršeno je predviđanje. Pokazano je da aromatični prstenovi izomera DMN-a i DMA-a pokazuju visoku fleksibilnost za promenu konformacije, jer je za odgovarajuću promenu konforamcija potrebnu da dođe do biorazgradnje potrebno uložiti 1,7–2,7 kcal/mol. Između srednjih konstanti rigidnosti prstenova i relativnih energija postoji korelacija. Takođe, pokazano je da elektrostatičke i dipol – indukovani dipol interakcije, nemaju presudnog uticaja ni na biodegradaciju. Pokazano je da se vrednosti polarizabilnosti vrlo razlikuju u zavisnosti od mesta supstitucije dveju metil- grupa u izomerima DMN-a i DMA-a i to tako da rastu idući od izomera koji imaju dve supstituisane metil- grupe u meso- poziciji do izomera sa dve metil-grupe u β -poziciji. Utvrđeno je da se može očekivati da su svi izomeri DMN-a i DMA-a biorazgradivi. Predviđen je da trend u biodegradaciji ovih izomera koji prati vrednosti polarizabilnosti. Ispitana je mogućnost i mehanizam fotolize izomera NFL-a i pokazano da su svi izomeri razgradljivi u atmosferskim (ambijetalnim) uslovima. Takođe utvrđeno je da kvantni prinos ovog procesa zavisi od sposobnosti rotacije nitro- grupe, tj. dostizanja položaja koji je povoljan za fotohemijsu reakciju.

Literatura

- [1] Schwarzenbach, R.P., Gschwend, P.M, Imboden, D.M. (2003) *Environmental Organic Chemistry*, 2nd ed. Hoboken, New Jersey, John Wiley & Sons, Inc.
- [2] Shishkin, O.V., Gorb, L., Luzanov, A.V., Elstner, M., Suhai, S., Leszczynski, J. (2003) Structure and conformational flexibility of uracil: A comprehensive study of performance of the MP2, B3LYP and SCC-DFTB methods, *Journal of Molecular Structure*, 625(1-3), 295-303.
- [3] Stanković, B. Ostojić, B., Popović, A., Gruden, M., Đorđević, D. (2016) Theoretical study of nitrodibenzofurans: A possible relationship between molecular properties and mutagenic activity, *Journal of Hazardous Materials*, 318(15), 623-630.
- [4] Watanabe, T., Hanasaki, Y., Hirayama, T., Fukui, S. (1989) Mutagenicity of nitro- and amino-substituted phenazines in *Salmonella typhimurium*, *Mutation Research Letters*, 225(3), 75-82.
- [5] Ostojić, B., Stanković, B., Đorđević, D. (2014) The molecular properties of nitrobenzanthrone isomers and their mutagenic activities, *Chemosphere*, 104 228-23.
- [6] Takamura-Enya, T., Suzuki, H, Hisamatu, Y. (2006) Mutagenic activities and physicochemical properties of selected nitrobenzanthrones, *Mutagenesis*, 21(6), 399-404.
- [7] Onchoke, KK. (2011) DFT/TD-DFT Investigation of Optical Absorption Spectra, Electron Affinities, and Ionization Potentials of Mono-nitrated Benzanthrone, *Computational Theoretical Chemistry*, 963 (1) 40-50.
- [8] Stanković, B., Ostojić, B., Popović, A., Gruden, M., Đorđević, D. (2016) Substituted naphthalenes: Stability, conformational flexibility and description of bonding based on ETS-NOCV method, *Chemical Physics Letters*, 661(16), 136–142.
- [9] Ostojić, B., Stanković, B., Đorđević, D. (2014) Theoretical study of the molecular properties of dimethylantracenes as properties for the prediction of theirs biodegradation and mutagenicity, *Chemosphere*, 111, 144-150.

[10] Ostojić, B., Stanković, B., Đorđević, D. (2014) Aromaticity and conformational deformability of some environmental pollutants - methylated anthracenes, *Fresenius Environmental Bulletin*, 23 (12), 3036-3040.

PRIMENA SPEKTROSKOPIJE LASERSKI INDUKOVANE PLAZME ZA ANALIZA ČVRSTIH UZORAKA

Sanja Živković

Laboratorija za fizičku hemiju, Institut za nuklearne nauke „Vinča” - Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Univerzitet u Beogradu, Beograd, Srbija, sanjaz@vinca.rs

IZVOD

Ova doktorska disertacija posvećena je razvoju nove analitičke metode koja se zasniva na spektroskopiji laserski indukovane plazme (eng. *Laser Induced Breakdown Spectroscopy – LIBS*). Analitičke mogućnosti ove metode zavise kako od parametara vezanih za samo lasersko zračenje, uslove ozračivanja i akviziciju podataka, tako i od fizičko-hemijskih osobina uzorka. Praktično za svaku specifičnu namenu (svaki tip uzorka) potrebno je optimizovati eksperimentalne uslove. U tom cilju izvršena je optimizacija originalnog LIBS sistema zasnovanog na impulsnom ugljedioksidnom laseru (TEA CO₂), u potpunosti razvijenom i konstruisanom u okviru Instituta Vinča, za kvalitativnu i kvantitativnu analizu uzoraka biološkog i geološkog porekla kao i metala i metalnih legura. U ovom radu prikazan je pregled samo dela rezultata iz disertacije koji se odnosi na analizu praškastih, bioloških uzoraka.

Ključne reči: spektroskopija laserski indukovane plazme, zelena analitička hemija, analiza čvrstih uzoraka

UVOD

Spektroskopija laserski indukovane plazme je savremena metoda analitičke hemije čiji ubrzani razvoj započinje sa razvojem modernih laserskih i detektorskih sistema. Ova tehnika koristi optički emisioni signal iz laserski generisane plazme i omogućava brzu i multielementalnu analizu svih vrsta materijala, najčešće bez potrebe za prethodnim pripremom uzorka u realnom vremenu i na licu mesta. LIBS ima neke jedinstvene karakteristike koje je čine superiornom u odnosu na druge standardne analitičke metode. Može se koristiti za analizu svih elemenata periodnog sistema, nezavisno od agregatnog stanja dok je istovremeno masa uzorka potrebna za analizu vrlo mala. Takođe, ova metoda je skoro nedestruktivna. LIBS se može koristiti za analizu uzoraka različite prirode i porekla zbog čega je našao primenu u brojnim oblastima, od istraživanja u svemiru preko forenzičkih analiza i . U oblasti zaštite životne sredine LIBS je pogodan za monitoring i brzu analizu sadržaja teških metala i drugih zagađivača u vodi, zemljištu, biljkama, vazduhu, kao i za karakterizaciju otpada. Analiza uzoraka biološkog porekla predstavlja poseban izazov savremene analitičke hemije. U okviru ove teze, uzorci alge spirulina i čaja od nane su korišćeni za uspostavljanje kvantitativne LIBS metode.

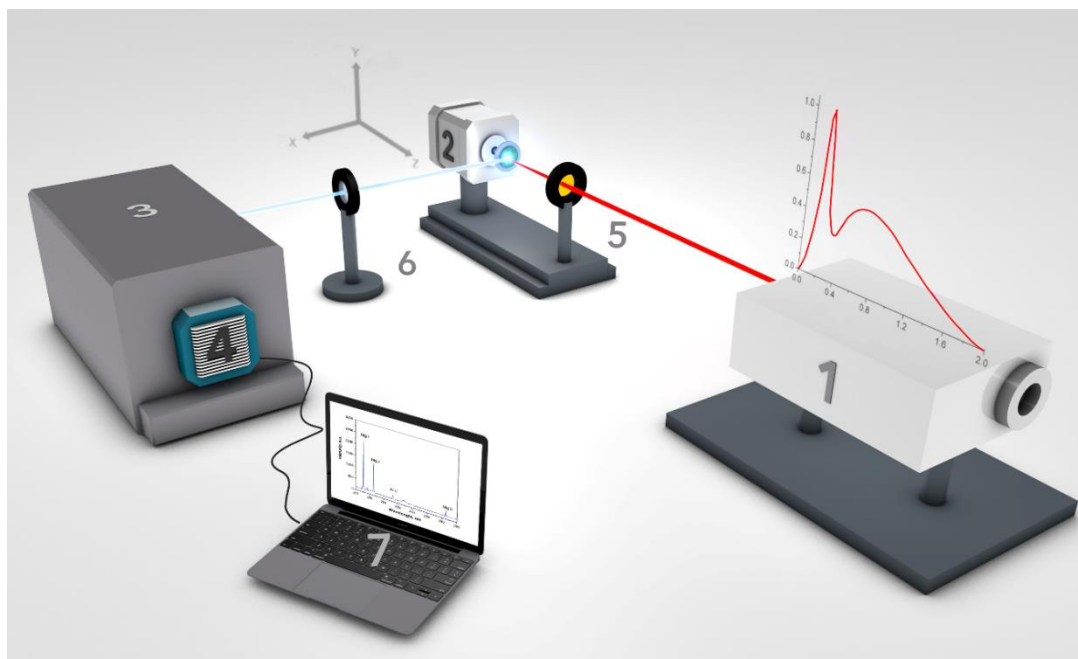
EKSPERIMENTALNI DEO

Ugljendioksidni laser koji je korišćen u ovim istraživanjima, kao što je već rečeno, razvijen je i konstruisan u Institutu Vinča. Ovaj kompaktni, impulsni, gasni laser korišćen je za ablaciju i generisanje plazme na uzorcima spiruline i nane. Izlazni parametri ovog lasera sumirani su u tabeli 1.

Tabela. 1 Parametri TEA CO₂ lasera

Parametar	TEA CO ₂ laser
Gasna smeša	CO ₂ /N ₂ /He= 1/1/4,5 (zapreminski odnos)
Izlazna energija	do 200 mJ
Impulsna snaga	do 60 MW cm ⁻²
Talasna dužina	10,6 μm
Frekvencija	1,2-1,3 Hz

U procesu ozračivanja uzorka, laserski snop ovog lasera fokusiran je pomoću ZnSe sočiva na uzorak, slika 1. Ovo sočivo čija je žižna daljina 13,0 cm i koje je propusno za infracrveno zračenje, smešteno je na poseban metalni držač koji omogućava njegovo precizno pomeranje, slika 1. Držač uzorka povezan je sa kontinualnim motorom koji obezbeđuje okretanje uzorka brzinom od 0,5 obrtaja u minuti. Rotiranje uzoraka je neophodno za formiranje stabilne i reproducibilne plazme. Spektroskopska merenja emisije laserski indukovane plazme vršena su pomoću *Carl Zeiss PGS-2* monohromatora spregnutog sa *Apogee CCD* kamerom.



Slika 1. LIBS eksperimentalna postavka: 1) TEA CO₂ laser sa vremenskim profilom laserskog impulsa; 2) Držač uzorka sa preciznim pomeračem; 3) Monohromator; 4) CCD kamera; 5) ZnSe sočivo; 6) Ahromatsko sočivo i 7) Računar.

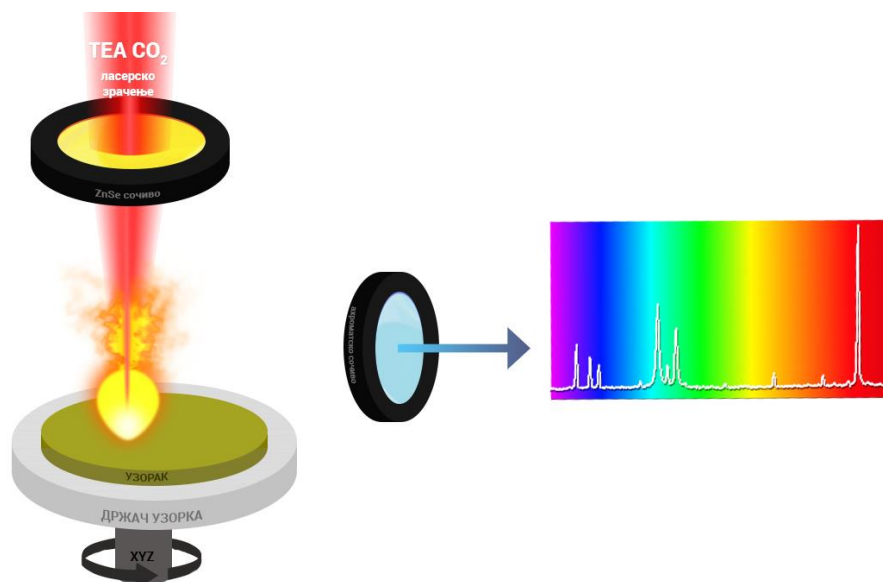
Uzorci

Kao predstavnici bioloških uzoraka u ovim eksperimentima korišćeni su uzorci modrozelenih algi spiruline i čaj pitome nane. Za kvantitativnu LIBS analizu uzoraka spiruline primenjen je klasični pristup - *konstruisanje kalibracione krive*. Pripremljena su 3 seta kalibracionih standarda primenom 3 različite metode. Prva metoda obuhvatala je mešanje odgovarajuće mase spiruline sa odgovarajućim količinama sertifikovanih rastvora Ba, Sr, Mn, Fe i Mg (J.T. Baker). Dobijene smeše dodatno su razblažene sa jednakim količinama bidestilovane vode radi obezbeđivanja bolje homogenizacije standarda. Tako dobijene smeše sušene su 12 sati na temperaturi od 60 °C. Nakon sušenja, smeše su homogenizovane i korišćene za pripremu pastila presovanjem u modli od čelika. Drugi metod pripreme obuhvatao je mešanje dobijenih standarda iz metode 1 sa vakuum mašću kao vezujućim sredstvom u odnosu 1:2. Dobijene smeše nanete su na aluminijumski nosač. Metoda 3 obuhvata mešanje spiruline i hlorela, druge vrste zelenih algi, u različitim odnosima.

Uzorak pitome nane nabavljen je u lokalnoj prodavnici zdrave hrane. Ovaj uzorak, koji je korišćen za ispitivanje *metodom standardnog dodatka*, prethodno je samleven u električnom mlinu, a zatim prosejan pomoću milimetarskog sita. Set od 5 uzoraka napravljen je odmeravanjem istih količina usitnjenog i homogenizovanog osnovnog uzorka čaja, a zatim dodavanjem različitih količina sertifikovanih standardnih rastvora Ba i Mn.

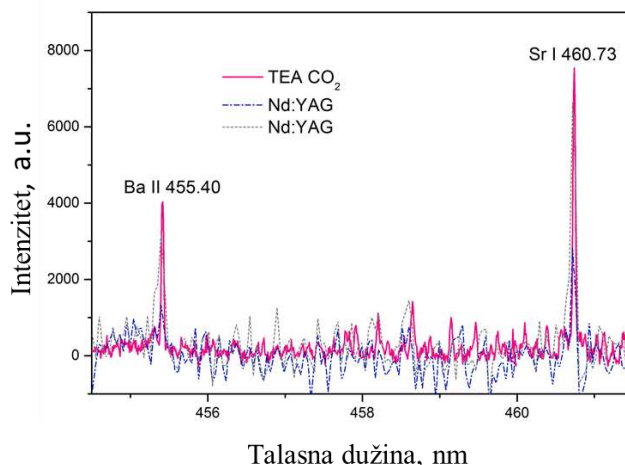
REZULTATI I DISKUSIJA

Uzorci nane i spiruline bili su pričvršćeni na aluminijumski nosač dvostrukom lepljivom trakom, slika 2. Nosač je povezan sa kontinualnim motorom koji je omogućavao rotiranje mete brzinom od 0,5 obrtaja u minuti. Plazma je indukovana ozračivanjem uzorka impulsnim laserom na atmosferskom pritisku



Slika 2. Šematski prikaz LIBS eksperimenta za analizu bioloških uzoraka

Kvalitativna analiza poslužila je za određivanje elementnog sastava kao i za odabir analita od interesa za kvantitativnu analizu, slika 3. Rezultati kvalitativne analize spiruline dobijeni korišćenjem laboratorijskog LIBS sistema na bazi TEA CO₂ lasera upoređeni su sa rezultatima dobijenim upotrebom komercijalnog LIBS sistema sa Nd:YAG laserom i vremenskom rezolucijom signala. Premda se primenjeni laseri razlikuju u energiji fotona, trajanju i energiji impulsa, ovi rezultati su pokazali da je za praškaste uzorke biološkog porekla TEA CO₂ laser superiorniji u odnosu na primenjeni Nd:YAG laser u pogledu detektabilnosti i granica detekcije, kao i da su kvalitetniji spektri sa oštrijim linijama i relativno nižim intenzitetom pozadine dobijeni iz emisije plazme indukovane ugljendioksidnim laserom.



Slika 3. Segment LIBS spectra dobijen analizom uzorka spiruline

Takođe, u okviru ovog eksperimenta razvijena je metoda za pripremu kalibracionih LIBS standarda, za praškaste uzorke, čija je koncentracija određena standardnom spektrohemijskom metodom (ICP-OES). Pomoću ovih standarda konstruisane su kalibracione krive. Linearna zavisnost intenziteta LIBS signala od koncentracije analita u uzorku spiruline postignuta je za Ba, Fe, Mg, Mn i Sr. Koeficijenti regresije bili su iznad 0,92 dok je preciznost merenja bila između 1,9-8,6 % u zavisnosti od elementa. Dobijeni rezultati kvantitativne analize pokazali su dobro slaganje sa ICP-OES metodom. Pored toga, procenjene granice detekcije su uporedive sa rezultatima drugih autora koji su koristili različite LIBS sisteme za analizu uzoraka sa sličnom osnovom.

Tabela 2. Rezultati analize čaja od pitome nane

El.	ICP-OES (ppm)	Intenzitet		Normalizovan intenzitet na pozadinu		Normalizovan intenzitet na Sr	
		Dobijena vrednost (ppm)	RE (%)	Dobijena vrednost (ppm)	RE (%)	Dobijena vrednost (ppm)	RE (%)
Ba	11,51 ± 0,19	9,70	18,3	10,25	9,6	11,48	7,1
Mn	82,05 ± 0,15	91,06	43,6	87,68	20,3	83,95	11,3

Metoda standardnog dodatka upotrebljena je za kvantitativnu analizu Mn i Ba u uzorcima čaja od nane. Kalibracione krive su konstruisane sa tri različita pristupa: direktnim nanošenjem zavisnosti izmerenih LIBS intenziteta u funkciji koncentracije analita i normalizacijom izmerenih LIBS intenziteta na intenzitet pozadine ili na intenzitet emisije unutrašnjeg standarda, tabela 2.

Dobijeni rezultati potvrđeni su ICP-OES metodom. Najbolje slaganje rezultata postignuto je kada je primenjena normalizacija na intenzitet Sr kao elementa koji je izabran za unutrašnji standard, čime je potvrđeno da kod ekscitacionih izvora sa značajnim fluktuacijama, kakva je laserski indukovana plazma, ovaj pristup značajno poboljšava analitičke rezultate.

ZAKLJUČAK

Na osnovu rezultata dobijenih u ovoj studiji može se zaključiti da je predložena LIBS metoda koja koristi TEA CO₂ laser kao ekscitacioni izvor, originalna i direktna analitička tehnika koja se može uspešno primeniti za elementalnu analizu čvrstih uzoraka. Pored toga, ova metoda je u skladu sa principima zelene analitičke hemije jer omogućava brzu analizu bez ili sa veoma jednostavnom prethodnom pripremom uzoraka, ne zahteva upotrebu agresivnih i potencijalno toksičnih hemikalija i nema hemijskog otpada. Dosadašnja istraživanja na različitim tipovima uzoraka pokazala su da je TEA CO₂ LIBS sistem po performansama u potpunosti uporedljiv sa komercijalnim uređajima u odnosu na koje je naš system znatno kompaktniji i ekonomski isplativiji.

Literatura

[1] Živković, S.M. (2019). *Primena spektroskopije laserski indukovane plazme za kvalitativnu i kvantitativnu analizu čvrstih uzoraka*, Beograd, Srbija: Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu.

PRIMENA EUTEKTIČKIH RASTVARAČA SA HOLIN HLORIDOM U HETEROGENO KATALIZOVANOJ ETANOLIZI SUNCOKRETOVOG ULJA

Dragan Z. Troter

Tehnološki fakultet, Univerzitet u Nišu, Bulevar oslobođenja 124, 16000 Leskovac, Srbija, drtroter@gmail.com

Izvod

Hidrofilni eutektički rastvarači na bazi holin hlorida sa ureom, 1,3-dimetilureom, tiouream, propilen glikolom, etilen glikolom ili glicerolom u molskom odnosu holin hlorid:donor vodonične veze od 1:2 su testirani kao kosolventi za sintezu etil estara masnih kiselina (EEMK). U šaržnom postupku kao izvor triacilglicerola korišćeno je suncokretovo ulje kome je istekao rok upotrebe, a kao katalizator je korišćen CaO, nežaren ili prethodno aktiviran žarenjem. Eutektički rastvarači sa polioliima su se pokazali efikasnijim kosolventima. Reakcija sa sistemom nežareni CaO/holin hlorid:glicerol je predložena za dalju optimizaciju.

Ključne reči: CaO, etanoliza, eutektički rastvarači, holin hlorid, kosolventi, ulje suncokreta

Uvod

Klasična metoda sinteze biodizela podrazumeva upotrebu jestivih biljna ulja i metanola uz homogene bazne katalizatore. Međutim, u porastu su istraživanja koja koriste otpadne i nejestive masti i ulja, etanol i bezbednije heterogene katalizatore. Upotrebom otpadnih uljanih sirovina omogućava se njihovo iskorišćenje uz pojeftinjenje tehnološkog procesa. Etil estri masnih kiselina (EEMK) poseduju niz poželjnih svojstava u odnosu na metil estre masnih kiselina (MEMK) [1,2], ali probleme predstavljaju sporija reakcija, veći utrošak energije, skuplji proces, osetljivost reakcije na prisustvo vode, dobijanje stabilnijih emulzija i poteškoće u razdvajanju EEMK od glicerola (nus-proizvoda reakcije). Pogodnosti heterogenih katalizatora za sintezu biodizela su bezbednije rukovanje, jednostavnije izdvajanje iz reakcione smeše, smanjen rizik od korozije i opasnosti po životnu sredinu, moguće dobijanje iz prirodnih otpadnih sirovina i ponovna upotreba. Međutim, heterogeni katalizatori pružaju manju brzinu reakcije, uz opasnost u pogledu deaktivacije i luženja u proizvod [3]. CaO se istakao kao poželjan heterogeni katalizator u proizvodnji biodizela zbog niza pogodnih svojstava: visoke baznosti, nekoroziivnosti, netoksičnosti, dostupnosti, niske cene, dobijanja iz otpadnih i prirodnih materijala i efikasnosti u šaržnim i kontinualnim procesima [4,5]. Ipak, aktiviranje CaO pre upotrebe je neophodno da bi se smanjio uticaj CO₂ i vlage iz vazduha i izbeglo smanjenje njegove katalitičke aktivnosti. Aktivacija je najčešće termička na visokoj temperaturi [6], što je skuplji proces, pa se kao alternativa preporučuje aktivacija hemijskim agensima [7]. Poslednjih godina primena eutektičkih rastvarača u proizvodnji biodizela dobija na većem značaju [8-10]. Prisustvo eutektičkih rastvarača kao kosolvenata u reakcionom sistemu za sintezu biodizela omogućava bržu reakciju, suzbijanje sporedne reakcije (saponifikacije), lakše izdvajanje i prečišćavanje proizvoda [8-11]. Ovaj rad se bavi primenom hidrofilnih eutektičkih rastvarača na bazi holin hlorida sa ureom, 1,3-dimetilureom, tiouream, propilen glikolom, etilen glikolom ili glicerolom u molskom odnosu holin hlorid:donor vodonične veze od 1:2 u etanolizi komercijalnog suncokretovog ulja kome je istekao rok upotrebe. Kao heterogeni katalizator odabran je komercijalni CaO, nežareni i prethodno žareni. Reakcija je izvedena u šaržnom reaktoru sa mešalicom na atmosferskom pritisku na temperaturi od 70 °C. Molski odnos etanol:ulje je bio 12:1, a količina kosolventa 20 % u odnosu na masu ulja.

Pored poređenja efikasnosti eutektičkih rastvarača kao kosolvenata u etanolizi i izbora optimalnog eutektičkog rastvarača, poređeno je i vreme trajanja odvajanja faza posle završetka reakcije.

Hemikalije

Za pripremu eutektičkih rastvarača korišćeni su holin hlorid, etilen glikol i 1,3-dimetilurea (≥ 98 %, Sigma Aldrich, Sent Luis, SAD), propilen glikol i glicerol (stepena čistoće po Ph Eur, MeiLab, Beograd, Srbija), urea i tiourea (99,5 %, Zorka, Šabac, Srbija). Za transesterifikaciju je korišćeno komercijalno suncokretovo ulje (Dijamant, Zrenjanin, Srbija) kome je istekao rok upotrebe. CaO (≥ 99 %) je nabavljen iz Sigma Aldrich (Sent Luis, SAD). Takođe, korišćeni su sledeći rastvarači: apsolutni etanol (99,5 %, Lachema, Neratovice, Češka Republika), *n*-heksan (HPLC čistoće, LGC Promochem, Wesel, Nemačka i HPLC čistoće, JT Baker, Center Valley, Pensilvanija, SAD), 2-propanol (HPLC čistoće, JT Baker, Center Valley, Pensilvanija, SAD), metanol (HPLC čistoće, LGC Promochem, Wesel, Nemačka) i koncentrovana HCl (36 %, Centrohem, Beograd, Srbija). Standardi smeše etil estara palmitinske, stearinske, oleinske, linolne i linolenske kiseline (po 20 % od svakog estera), monoolein, diolein i triolein kupljeni su od Sigma Aldrich (Sent Luis, SAD).

Priprema eutektičkih rastvarača

Holin hlorid je pomešan sa odabranim donorem vodonične veze (propilen glikolom, etilen glikolom, glicerolom, ureom, 1,3-dimetilureom ili tioureom) u molskom odnosu 1:2. Smeša je stavljena u stakleni balon sa okruglim dnom koji je postavljen na rotacioni isparivač na 75 °C do formiranja homogene i transparentne tečnosti. Eutektički rastvarači su čuvani u zatvorenim staklenim bocama u eksikatoru sa CaCl₂.

Transesterifikacija

Reakcija etanolize je vršena u dvogrlom balonu sa okruglim dnom, zapremine 250 cm³, sa magnetnom mešalicom (600 obrtaja/min) i povratnim kondenzatorom na 70 °C i atmosferskom pritisku. Balon je postavljen u staklenu komoru, gde je temperatura održavana konstantnom pomoću vode koja cirkuliše iz vodenog kupatila pomoću pumpe. Sprovedene su dve serije eksperimenata, i to sa žarenim i nežarenim CaO. U prvoj seriji, CaO je žaren pre upotrebe na 550 °C tokom 2 h [6], ohlađen i čuvan u zatvorenoj staklenoj bočici u eksikatoru sa CaCl₂. U drugoj seriji nežareni CaO je korišćen direktno iz komercijalnog pakovanja, bez ikakvog predtretmana. Kod svih eksperimenata etanol (14,38 g), katalizator (3,8 g) i eutektički rastvarač ili njegova komponenta (4,6 g) su dodati u balon. Suspenzija je držana na željenoj temperaturi uz mešanje tokom 30 min, nakon čega je mešalica isključena i u balon sipano ulje (22,98 g), prethodno zagrejano na 70 °C. Zatim je mešalica ponovo uključena i reakcija je praćena uzimanjem uzoraka (1 cm³) mikropipetom u definisanim vremenskim intervalima. Reakcija je prekidana dodatkom potrebne količine vodenog rastvora HCl (5 M) radi neutralizacije CaO, a uzorci su potom centrifugirani u centrifugi (Sigma 2-6E, Nemačka; 3500 min⁻¹, 10 min). Gornji sloj (EEMK frakcija) je izvlačen mikropipetom, rastvoren u smeši 2-propanol/*n*-heksan (5:4 v/v) u odnosu 1:200 i filtriran kroz filter (0,45 μm, Millipore). Dobijeni filtrat je korišćen za kvalitativno i kvantitativno određivanje sastava reakcione smeše.

Separacija proizvoda

Reakciona smeša nakon etanolize je sipana u levak za odvajanje i gravitaciono razdvojena na sobnoj temperaturi. U toku separacije formirana su tri sloja. Gornji sloj se sastoji od EEMK i manjih količina triacilglicerola, diacilglicerola, monoacilglicerola i CaO, srednji sloj sadrži višak etanola, glicerola i korišćenog kosolventa, a donji sloj je izdvojeni CaO talog.

Analitičke metode

Sastav reakcione smeše je određivan metodom tečne hromatografije pod pritiskom (HPLC), pomoću hromatografa Agilent 1100 Series, koji je opremljen degaserom, binarnom pumpom, termostataranom kolonom (Zorbax Eclipse XDB-C18, 4,6x150 mm, 5 μ m) i UV/VIS detektorom. Zapremina injektiranog uzorka je 20 μ l, a protok smeše metanola (rastvarač A) i 2-propanol/*n*-heksan (5/4 v/v, rastvarač B) 1 cm³/min, sa linearnim gradijentom od 100 % A do 40 % A + 60 % B za 15 min. Temperatura kolone je 40 °C. Komponente su detektovane na 205 nm. Kalibracione krive, dobijene korišćenjem standardne smeše EEMK i standardom triacilglicerola [9,12], korišćene su za kvantifikaciju EEMK i triacilglicerola. Sadržaji triacilglicerola, diacilglicerola, monoacilglicerola i EEMK su izračunati iz površina odgovarajućih pikova.

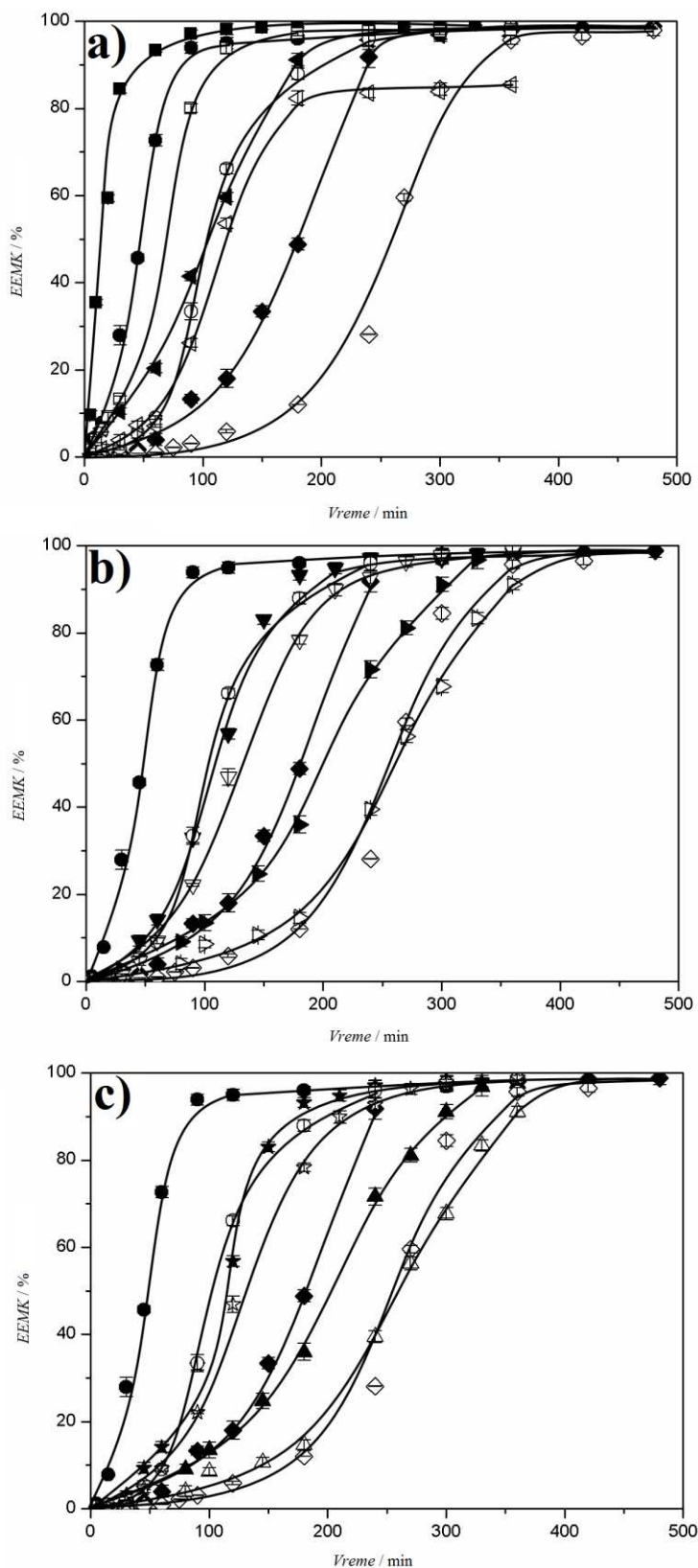
Rezultati i diskusija

Usled više raspoloživih aktivnih centara na površini čestica, žareni CaO katalizator je aktivniji od nežarenog CaO. Sigmoidalna zavisnost sadržaja EEMK od vremena, tipična za ovaj trofazni reakcioni sistem, pripisuje se ograničenju prenosa mase na početku reakcije. U oba slučaja sadržaj EEMK se povećava sporo tokom početne faze reakcije zbog spore konverzije triacilglicerola. Sadržaj EEMK od skoro 50 % je dobijen posle 3 h korišćenjem žarenog CaO, što je četiri puta više nego kod reakcije katalizovane nežarenim CaO (**Slika 1**). Posle 5 h sa žarenim CaO postignut je sadržaj EEMK od 97,8 \pm 2,1 %, više nego sa nežarenim CaO (84,5 \pm 1,4 %).

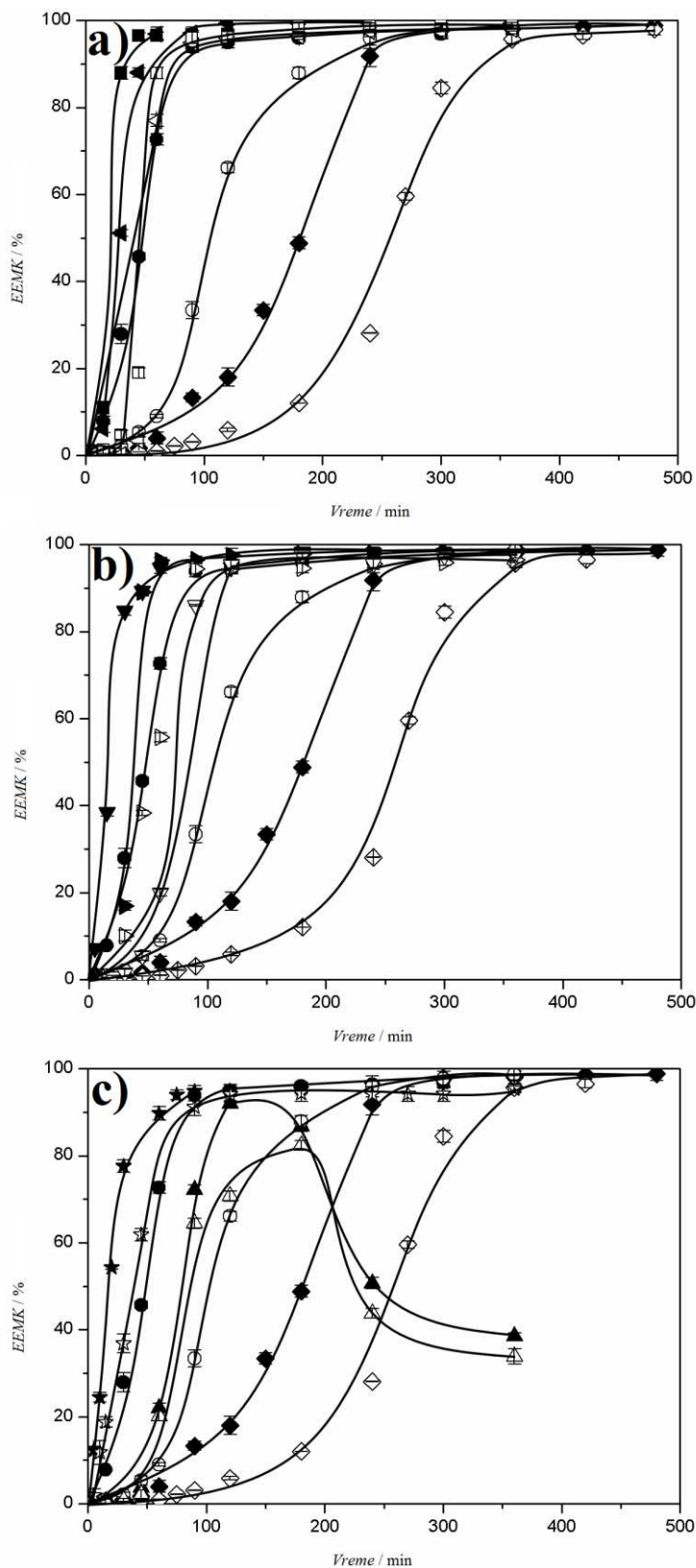
Prisustvo holin hlorida značajno ubrzava reakciju sa žarenim CaO. Sa ureom u reakcionim sistemima sa nežarenim i žarenim CaO reakcija je znatno brža nego u sistemima bez uree. Etanoliza sa ureom i žarenim CaO je brža od etanolize sa ureom i nežarenim CaO. Dok prisustvo 1,3-dimetiluree, takođe, pospešuje etanolizu, tiourea ima slab uticaj na brzinu etanolize, pa su reakcije etanolize u prisustvu tiouree vrlo slične reakcijama bez nje (**Slika 1**). Tiourea negativno utiče na katalitičku aktivnost žarenog CaO zbog porasta viskoznosti reakcione smeše, što inhibira maseni prenos između faza.

Dodatkom eutektičkih rastvarača sa ureom, 1,3-dimetilureom ili tioureom u reakcione sisteme sa žarenim ili nežarenim CaO dolazi do brže etanolize u odnosu na reakcije bez eutektičkih rastvarača (**Slika 1**). Pošto eutektički rastvarači rastvaraju i uklanjaju CaCO₃ i Ca(OH)₂ sa površine CaO katalizatora, katalitička aktivnost CaO je veća. Razlike u aktivnostima eutektičkih rastvarača se mogu pripisati njihovim različitim gustinama i viskoznostima, kao i različitoj rastvorljivosti u etanolu [9]. Među ovim eutektičkim rastvaračima samo je holin hlorid:urea tečnost na sobnoj temperaturi, dok su druga dva čvrste supstance, pa uprkos zagrevanju i rastvaranju u etanolu uz mešanje, eutektički rastvarači sa 1,3-dimetilureom i tioureom imaju uticaj na maseni prenos.

Sva tri poliolna donora vodoničnih veza su ubrzala etanolizu ulja i povećala stepen konverzije i sa žarenim i sa nežarenim CaO, u poređenju sa reakcijama gde su prisutni samo CaO ili holin hlorid (**Slika 2**). Pozitivni uticaj poliola na reakciju je izraženiji sa žarenim CaO nego sa nežarenim. U prisustvu glicerola sadržaj EEMK se povećava u početnoj fazi reakcije, dostiže maksimum i potom opada. Smanjenje sadržaja EEMK pripisuje se povratnoj reakciji usled povećanja koncentracije glicerola (nus-proizvoda transesterifikacije). Takođe, manja viskoznost etilen glikola i propilen glikola u poređenju sa glicerolom doprinosi njihovom efikasnijem uticaju na brzinu reakcije. Eutektički rastvarači sa poliolima doprinose bržoj etanolizi i boljem stepenu konverzije ulja sa žarenim nego sa nežarenim CaO (**Slika 2**). Bolji rezultati sa eutektičkim rastvaračima sa poliolima od onih sa amidima se mogu objasniti većom rastvorljivošću CaO, CaCO₃ i Ca(OH)₂ u poliolnim eutektičkim rastvaračima [9]. Takođe, sva tri poliolna eutektička rastvarača su tečni na sobnoj temperaturi i imaju manju viskoznost u odnosu na amidne eutektičke rastvarače, pa je rastvorljivost CaO u etanolu veća kada su ovi eutektički rastvarači prisutni u reakcionoj smeši.



Slika 1 Promene sadržaja EEMK u toku etanolize ulja katalizovane žarenim (crni simboli) ili nežarenim (prazni simboli) CaO bez dodatka amidnih donora vodoničnih veza ili eutektičkih rastvarača na bazi amida (romb) i sa dodatkom holin hlorida (krug) (a, b i c), uree (levi trougao), holin hlorid:uree (kvadrat) (a), 1,3-dimetiluree (desni trougao), holin hlorid: 1,3-dimetiluree (trougao dole) (b), tiouree (trougao gore) i holin hlorid:tiouree (zvezda) (c).



Slika 2 Promene sadržaja EEMK u toku etanolize ulja katalizovane žarenim (crni simboli) ili nežarenim (prazni simboli) CaO bez dodatka polioličnih donora vodoničnih veza ili eutektičkih rastvarača na bazi poliola (romb) i sa dodatkom hlorida (krug) (a, b i c), etilen glikola (levi trougao), hlorid:etilen glikola (kvadrat) (a), propilen glikola (desni trougao), hlorid:propilen glikola (trougao dole) (b), glicerola (trougao gore) i hlorid:glicerola (zvezda) (c).

Kako izabrati „najbolji“ kosolvent za reakciju? Iako se u reakcijama sa žarenim CaO i različitim donorima vodoničnih veza i eutektičkim rastvaračima dobijaju veći stepeni konverzije ulja u EEMK, one su ekonomski i energetski zahtevnije nego reakcije katalizovane nežarenim CaO. Zbog toga je veliki doprinos eutektičkih rastvarača koji omogućavaju brzu etanolizu i sa nežarenim CaO. Poliolni eutektički rastvarači su efikasniji kosolventi od amidnih eutektičkih rastvarača, čak i sa nežarenim CaO. Eutektički rastvarači sa etilen glikolom ili propilen glikolom su efikasniji od eutektičkog rastvarača sa glicerolom, pa se čini da su oni najbolji izbor kao kosolventi za reakciju etanolize. Međutim, zbog toksičnosti etilen glikola, prednost treba dati propilen glikolu. Pošto je glicerol nus-proizvod reakcije, manje aktivni eutektički rastvarač holin hlorid:glicerol bi bio pogodniji kosolvent jer će njegova upotreba smanjiti ukupne troškove procesa. Zbog toga je sistem nežareni CaO/holin hlorid:glicerol predložen za dalju optimizaciju.

Separacija EEMK

Razdvajanje faza reakcione smeše nakon reakcije sa eutektičkim rastvaračima je brže; smeše koje sadrže eutektičke rastvarače sa ureom, propilen glikolom, etilen glikolom ili glicerolom se izdvajaju u tri sloja u separacionom levku posle 1 min. Kod eutektičkih rastvarača sa 1,3-dimetilureom i tioureom vreme izdvajanja je duže (10 min). Ovaj fenomen se objašnjava smanjenim stepenom saponifikacije u prisustvu eutektičkih rastvarača, što olakšava izdvajanje faza [10,11]. Sistemi koji sadrže CaO bez ili sa ureom, 1,3-dimetilureom, tioureom, propilen glikolom, etilen glikolom, glicerolom ili holin hloridom su ostali veoma viskozni čak i posle 24 h stajanja na sobnoj temperaturi, a izdvajanje faza nije bilo spontano.

Zaključak

Hidrofilni eutektički rastvarači na bazi holin hlorida su testirani kao kosolventi u etanolizi komercijalnog suncokretovog ulja kome je istekao rok upotrebe sa žarenim ili nežarenim CaO. Etanoliza sa žarenim ili nežarenim CaO u prisustvu eutektičkih rastvarača je brža u odnosu na etanolizu bez eutektičkih rastvarača. Eutektički rastvarači sa polioliima su se pokazali efikasnijim kosolventima i sa nežarenim CaO, što je sa ekonomske tačke jako važno za industrijske procese. Pošto je glicerol nus-proizvod transesterifikacije, njegova upotreba za pripremu eutektičkog rastvarača doprinela bi dodatnom smanjenju troškova procesa, pa je reakcija sa sistemom nežareni CaO/holin hlorid:glicerol predložena za dalju optimizaciju.

Zahvalnica: Rad sadrži rezultate iz doktorske disertacije “Primena eutektičkih rastvarača sa holin hloridom u heterogeno katalizovanoj etanolizi suncokretovog ulja” odbranjene 14.02.2019. godine na Tehnološkom fakultetu u Leskovcu, Univerziteta u Nišu. Sastav komisije: prof. dr Vlada B. Veljković (Tehnološki fakultet u Leskovcu, Univerzitet u Nišu; predsednik), prof. dr Zoran B. Todorović (Tehnološki fakultet u Leskovcu, Univerzitet u Nišu; mentor i član), dr Miodrag V. Zdujić, naučni savetnik (Institut tehničkih nauka SANU, Beograd; član) i dr Marija R. Miladinović, naučni saradnik (Tehnološki fakultet u Leskovcu, Univerzitet u Nišu; član). Doktorska disertacija je urađena u Laboratoriji za hemijsko inženjerstvo Tehnološkog fakulteta u Leskovcu, Univerziteta u Nišu, u okviru projekta „Nanostrukturni funkcionalni i kompozitni materijali u katalitičkim i sorpcionim procesima“ (ev. br. III 45001). Rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Program finansiranja naučnoistraživačkog rada na Tehnološkom fakultetu u Leskovcu Univerziteta u Nišu, grupa istraživača III 45001, ev. br. 451-03-68/2020-14/200133 i 451-03-9/2021-14/200133).

Literatura

- [1] Stamenković, O.S., Veličković, A.V., Veljković, V.B. (2011). The production of biodiesel from vegetable oils by ethanolysis: Current state and perspectives. *Fuel*, 90(11), 3141-3155.
- [2] Li, Q., Xu, J., Du, W., Li, Y., Liu, D. (2013). Ethanol as the acyl acceptor for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 25, 742-748.
- [3] Veljković, V.B., Banković-Ilić, I.B., Stamenković, O.S. (2015). Purification of crude biodiesel obtained by heterogeneously-catalyzed transesterification. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 49, 500-516.
- [4] Kesić, Ž., Lukić, I., Zdujić, M., Mojović, L., Skala, D. (2016). Calcium oxide based catalysts for biodiesel production: a review. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 22(4), 391-408.
- [5] Marinković, D.M., Stanković, M.V., Veličković, A.V., Avramović, J.M., Miladinović, M.R., Stamenković, O.S., Veljković, V.B., Jovanović, D.M. (2016). Calcium oxide as a promising heterogeneous catalyst for biodiesel production: Current state and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 56, 1387-1408.
- [6] Veljković, V.B., Stamenković, O.S., Todorović, Z.B., Lazić, M.L., Skala D.U. (2009). Kinetics of sunflower oil methanolysis catalyzed by calcium oxide. *Fuel*, 88(9), 1554-1562.
- [7] Esipovich, A., Danov, S., Belousov, A., Rogozhin, A. (2014). Improving methods of CaO transesterification activity. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 395, 225-233.
- [8] Troter, D.Z., Todorović, Z.B., Đokić-Stojanović, D.R., Stamenković, O.S., Veljković, V.B. (2016). Application of ionic liquids and deep eutectic solvents in biodiesel production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 61, 473-500.
- [9] Troter, D.Z., Todorović, Z.B., Đokić-Stojanović, D.R., Veselinović, Lj.M., Zdujić, M.V., Veljković, V.B. (2018). Choline chloride-based deep eutectic solvents in CaO-catalyzed ethanolysis of expired sunflower oil. *Journal of Molecular Liquids*, 266, 557-567.
- [10] Mamtani, K., Shahbaz, K., Farid, M.M. (2021). Deep eutectic solvents – Versatile chemicals in biodiesel production. *Fuel*, 295, 120604.
- [11] Manurung, R., Ramadhani, D.A., Maisarah, S. (2017). One step transesterification process of sludge palm oil (SPO) by using deep eutectic solvent (DES) in biodiesel production. *AIP Conference Proceedings*, 1855, 070004–1–070004–8.
- [12] Stamenković, O.S., Rajković, K., Veličković, A.V., Milić, P.S., Veljković, V.B. (2013). Optimization of base-catalyzed ethanolysis of sunflower oil by regression and artificial neural network models. *Fuel Processing Technology*, 114, 101-108.

ISPITIVANJE PURPURINA KAO KATODNOG MATERIJALA U VODENIM Na-JONSKIM BATERIJAMA

Jelena Senćanski¹, Milica Vujković², Zoran Nedić², Stevan Blagojević¹, Jelena Cvijović Maksimović², Maja Pagnacco³

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za opštu i fizičku hemiju, Studentski trg 12-15, 11000 Beograd, Srbija. (jelenasencanski@gmail.com)

²Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju, Studentski trg 12-15, 11000 Beograd, Srbija.

³Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Njegoševa 12, 11000 Beograd, Srbija.

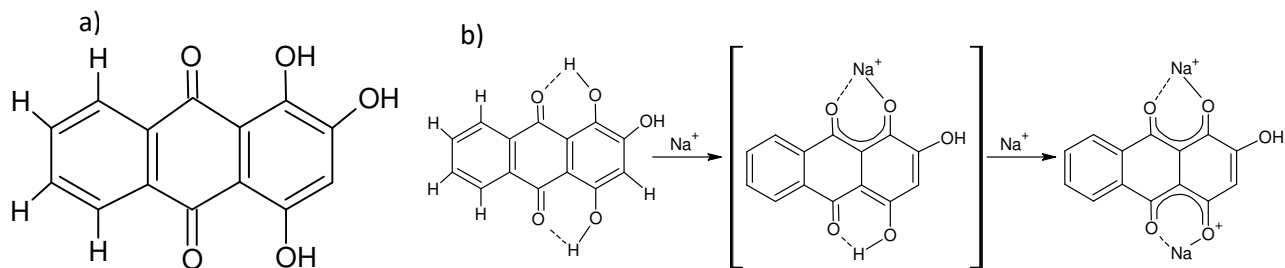
Izvod

Purpurin je organska boja dobijena kao ekstrakt iz biljke Maddre ubrane na planini Kopaonik. U ovom radu, purpurin je korišćen kao potencijalna zamena za katodni materijal koji se koristi u komercijalnim Li-jonskim baterijama, baziran na neorganskim komponentama kao što su Co, Ni, Mn i Fe. U poređenju sa navedenim neorganskim supstancama, purpurin je potpuno prirodna organska boja koja ne zagađuje životnu sredinu. Organski rastvarač koji se obično koristi u Li jonskim baterijama je toksičan i zapaljiv, tako da je jedna od ideja ovog rada bila da se ispita ponašanje purpurina u vodenom elektrolitu. Pošto je Li slabo rasprostranjen u rudama i teško se dobija, te je time i njegova cena viša, ekperiment je rađen u vodenom rastvoru NaNO₃ ne bi li se ispitala zamena Li ekonomičnijim Na. Strukturna određivanja purpurina vršena su IC-om, dok su elektrohemijska merenja vršena cikličnom voltametrijom. Dobijeni rezultati pokazuju da vodeni rastvor NaNO₃ nije pogodan rastvarač kada je u pitanju vrednost i stabilnost kapaciteta.

Ključne reči: purpurin, Na-jonske baterije, vodeni elektrolit

Uvod

Li-jonke baterije predstavljaju veliku opasnost po životnu sredinu. Katodni materijali koji sadrže Co, Ni, Mn i Fe [1], kao i toksični i zapaljiv elektrolit koji se obično koristi, predstavljaju ozbiljnu pretnju po životnu sredinu. U ovom radu je ispitivan purpurin kao potencijalna zamena za komercijalne katodne materijale. Takođe, organski elektrolit je zamenjen vodenim elektrolitom. Umesto organskog rastvora Li soli, korišćen je vodeni rastvor Na soli zbog veće dostupnosti i niže cene Na u poređenju sa Li soli. Pretpostavljeni mehanizam hemijske reakcije interkalacije i deinterkalacije Na u i iz purpurina je prikazan na Slici 1. (čista i sodirana forma purpurina su date na slikama 1 a) i b)) [2,3].



Slika 1. Purpurin a) interkalacija natrijuma u purpurin b)[2,3]

Pomenuti material je već ispitivan od strane Reddija [3] i saradnika u organskom rastvoru 1M LiPF₆ 1:1 (v/v) etilen hlorida u smeši sa dietil hloridom u kome je pokazao dobre osobine koje se tiču vrednosti i stabilnosti kapaciteta.

Ovaj rad ispituje zamenu štetnih organskih elektrolita vodenim elektrolitom kao i primenu manje toksičnih katodnih materijala dobijenih iz biljaka dostupnih u Republici Srbiji.

Eksperimentalni deo

Materijal purpurin je dobijen prema referenci [4]. Sakupljanje purpurina je vršeno iz biljke Maddre ubrane na planini Kopaonik u Južnoj Srbiji. Karakterizacija materijala je vršena pomoću IC-a i ciklične voltametrije.

Infra crveni spektar purpurina je snimljen ATR (Attenuated Total Reflection infrared spectroscopy) tehnikom, na NICOLET 6700 FT-IR Thermo Scientific instrumentu, pri rezoluciji od 4 cm⁻¹, i pri 32 skeniranja uzorka.

Merenje cikličnom voltametrijom je vršeno u troelektrodnom režimu u 6M vodenom rastvoru natrijum nitrata. Korišćene su platinska i zasićena kalomelska elektroda kao pomoćna i referentna elektroda. Radna elektroda se sastojala iz staklaste ugljenične elektrode na koju je nanesen purpurn kao aktivni materijal, karbon crno i polivinildienfluorid kao organsko vezivo rastvoreno u N-metil piroolidonu (85:10:5). Korišćena je aparatura Gamry PCI4/300 Potentiostat/Galvanostat. Brzina polarizacije bila je 20 mV s⁻¹.

Rezultati i diskusija

Infra crveni spektar je prikazan na slici 2. Talasni brojevi apsorbancija su u saglasnosti sa talasnim brojevima referentnog spektra dobijenog u bazi podataka IRUG (kartica IOD00119) [5]

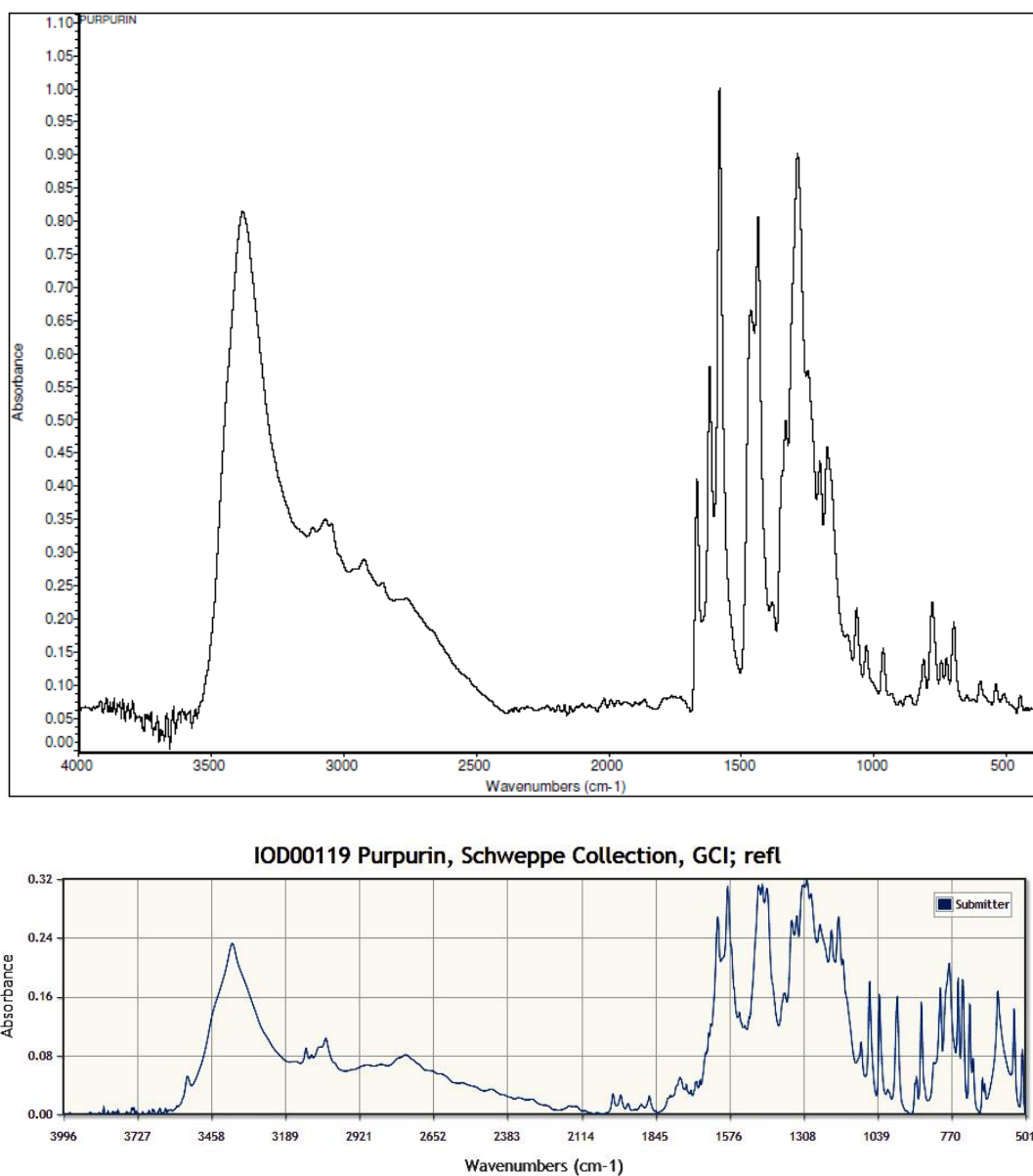
Vrednosti talasnih brojeva su popisani u Tabeli 1.

Tabela 1. Talasni brojevi dobijenog i referentnog IC spektra

Dobijeni spektar $\tilde{\nu}(\text{cm}^{-1})$	IOD00119 $\tilde{\nu}(\text{cm}^{-1})$	Dobijeni spektar $\tilde{\nu}(\text{cm}^{-1})$	IOD00119 $\tilde{\nu}(\text{cm}^{-1})$
3381,8	3377,0	1175,9	1178,0
3070,1	3112,0	1028,2	1031,0
1619,4	1617,0	965,0	966,0
1582,2	1580,0	812,5	808,0
1464,9	1459,0	779,5	777,0
1437,1	1455,0	745,6	744,0
1332,6	1347,0	725,8	727,0
1288,3	1299,0	698,3	702,0
1203,6	1203,0	598,5	600,0

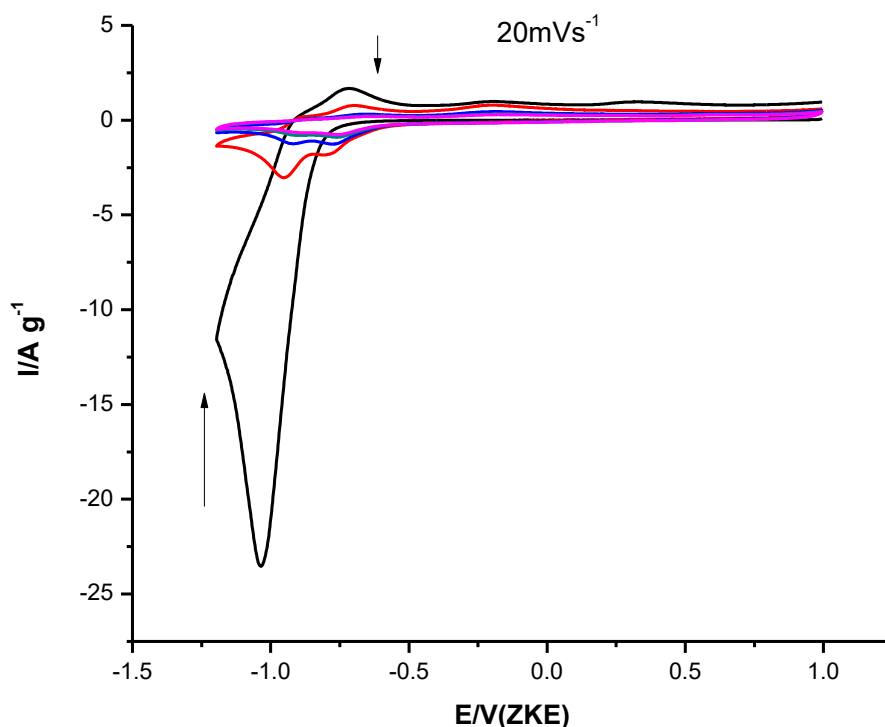
Može se iz tabele zaključiti da je dobijeni spektar u saglasnosti sa referentnim spektrom u pogledu slaganja vrednosti talasnih brojeva.

Spektri, iz koji su popisivani talasni brojevi, prikazani spektri su na slici 2 a) i b)



Slika 2: Dobijeni infra crveni spektar purpurina **a)**
Referentni IC spektar dobijen iz baze IRUG (kartica IOD00119) [5] **b)**

Ciklični voltamogrami prvog, petog, desetog, petnaestog i dvadesetog ciklusa su prikazani na slici 3. Može se primetiti katodni pik pozicioniran na $-1,03\text{V}$ (ZKE) kome odgovaraju anodni pikovi pozicionirani na $-0,2\text{V}$ i $-0,71\text{V}$ (ZKE). Međutim, tokom cikliranja javljaju se po dva katodna i dva anodna pika pozicionirana na vrednostima datim u tabeli 2. Takođe se može primetiti sa slike 3. da vrednosti struje i napona opadaju sa cikliranjem.



Slika 3. Ciklični voltmogrami purpurina snimani u vodenom rasvoru NaNO_3 . Prikazani su prvi, peti, deseti, petnaesti i dvadeseti ciklus

Vrednosti katodnih i anodnih pikova su prikazani u Tabeli 2.

Tabela 2. Katodni i anodni pikovi prvog, petog, desetog, petnaestog i dvadesetog ciklusa

Broj ciklusa	Katodni pikovi/V		Anodni pikovi/V	
1	-1,03		-0,2	-0,71
5	-0,95	-0,79	-0,90	-0,70
10	-0,72	-0,77	-0,88	-0,67
15	0,89	-0,85	-0,88	-0,66
20	-0,89	-0,75	-0,88	-0,66

Početni kapacitet je iznosio 73 mAh g^{-1} . Kao što se primećuje, kapacitet značajno pada već posle prvog ciklusa dostižući minorne vrednosti u dvadesetom ciklusu. Ovo ukazuje da vodeni rastvor NaNO_3 nije pogodan elektrolit za primenu purpurina kao katodnog materijala.

Zaključak

U ovom radu je ispitivana potencijalna primena purpurina dobijenog iz prirodnog materijala koji je apsolutno netoksična supstanca kao katodnog materijala za vodene Na-jonske baterije. Rezultati pokazuju da navedeni prirodni organski material nije perspektivan u pogledu komercijalne primene pod datim uslovima koji uključuju vodeni rastvor NaNO_3 , što ukazuje da dalja istraživanja treba da budu usmerena na ispitivanje ovog materijala u vodenom rastvoru soli drugog elementa periodnog sistema.

Literatura

- [1] Senčanski, J., Bajuk-Bogdanović, D., Majstorović, D., Tchernychova, E., Papan, J., Vujković, M. (2017). The synthesis of $\text{Li}(\text{CoMnNi})\text{O}_2$ cathode material from spent-Li ion batteries and the proof of its functionality in aqueous lithium and sodium electrolytic solutions. *Journal of Power Sources*, 342, 690-703.
- [2] Xu, Y., Zhou, M., Lei, Y. (2017). Organic materials for rechargeable sodium-ion batteries. *Materials Today*, 21(1), 60-78.
- [3] Reddy, A. L. M., Nagarajan, S., Chumyim, P., Gowda, S. R., Pradhan, P., Jadhav, S. R., Ajayan, P. M. (2012). Lithium storage mechanisms in purpurin based organic lithium ion battery electrodes. *Scientific reports*, 2, 960.
- [4] Marković, Z. S., Manojlović, N. T., Jeremić, S. R., Živić, M. (2013). HPLC, UV-vis and NMR spectroscopic and DFT characterization of purpurin isolated from *Rubia tinctorum* L. *Hemijska industrija*, 67(1), 77-88.
- [5] <http://www.irug.org/jcamp-details?id=1535>

SINTEZA I ISPITIVANJE $ZnMn_2O_4$ KAO KATODNOG MATERIJALA ZA VODENE CINK-JONSKJE BATERIJE

Jelena Senćanski¹, Stevan Blagojević¹, Ivana Stojković Simatović²

¹Univerzitet u Beogradu, Institut za opštu i fizičku hemiju, Studentski trg 12-15, 11000 Beograd, Srbija. (jelenasencanski@gmail.com)

²Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju, Studentski trg 12-15, 11000 Beograd, Srbija.

Izvod

Cink je element koji se već decenijama koristi kao anoda u alkalnim baterijama, a u poslednje vreme jedna od alternativa litijum-jonskih baterija su i cink-jonske baterije koje se sve više ispituju. U cilju korišćenja baterija koje su ekološki prihvatljive ideja je da se toksičan i zapaljiv elektrolit zameni vodenim elektrolitom. U ovom radu je uređena sinteza i karakterizacija $ZnMn_2O_4$ koji bi se koristio kao katodni materijal u vodenim cink-jonskim baterijama. $ZnMn_2O_4$ je sintetisan glicin-nitratnim postupkom. Struktura je potvrđena XRD-om dok su elektrohemijske osobine ispitivane u vodenom rastvoru $ZnCl_2$ metodom ciklične voltametrije. Dobijeni kapaciteti su bili stabilni pri različitim brzinama polarizacije i tokom većeg broja ciklusa punjenja i pražnjenja, ali su njihove vrednosti bile niske. Dalje strategije u ispitivanju ovog materijala, a u cilju povećanja kapaciteta bi trebalo da budu usmerene na dopiranje dobijenog katodnog materijala, dodavanje ugljeničnog materijala radi povećanja provodljivosti kao i elektrohemijsko ispitivanje u rastvorima soli drugih elemenata.

Ključne reči: $ZnMn_2O_4$, Zn-jonske baterije, vodeni elektrolit

Uvod

Komercijalne litijum-jonske baterije imaju široku primenu u različitim prenosivim uređajima kao i u automobilske industriji. Kako je litijum manje zastupljen u prirodi, a njegova cena visoka, sve je veći fokus na pronalaženju baterija koje bi zamenile litijum-jonske baterije. Jedna od alternativa su i cink-jonske baterije. Sa druge strane, u litijum-jonskim baterijama je problem i toksičan i zapaljiv elektrolit [1]. Jedno od rešenja je njegova zamena vodenim elektrolitom koji je jeftiniji, ima za dva reda veličina veću provodljivost jona litijuma i proizvodnja takvih baterija je daleko jednostavnija, a same baterije su bezbednije za čovekovu okolinu jer nisu zapaljive i toksične. Međutim, problem je pronaći elektrodni par koji se u relativnom uskom prozoru potencijala može koristiti kao katoda i anoda u punjivim vodenim baterijama.

Materijali koji se mogu koristiti kao anodni i kao katodni u cink-jonskim baterijama su zapravo isti tipovi materijala koji se koriste u litijum-jonskim baterijama. Materijal koji se najviše ispituje je $ZnMn_2O_4$ kao katodni materijal, a izbor metode sinteze je bitan jer se na taj način može uticati na veličinu čestica, pa samim tim i na njegove osobine. Sol-gel metode su pogodne jer su polazni rastvori homogeni, a dodatak goriva i kompleksirajućeg agensa tokom sinteze dovodi do nastajanja čestica nanometarskih dimenzija, a zbog nastanka gasovitih produkata tokom sinteze čestice međusobno nisu slepljene za razliku od reakcije u čvrstom stanju.

$ZnMn_2O_4$ se pokazao kao materijal koji ima i visok i stabilan kapacitet kako u organskim tako i u vodenim baterijama. Jedan od primera je ispitivanje koje su vršili Zhang [2] i saradnici materijala $ZnMn_2O_4$ kao katodnog materijala u 3M vodenom rastvoru $Zn(CF_3SO_3)_2$. Merenje je vršeno galvanostatskim punjenjem i pražnjenjem. Dobijeni kapacitet bio je 150 mAh g^{-1} dok je

zadržavanje kapaciteta bilo 94% posle 500 ciklusa pri brzini polarizacije od 500 mA g⁻¹. Li [3] sa saradnicima je vršio eksperimente sa pokrivanjem ZnMn₂O₄ niklom, kao katode, posle čega je dobio zadržavanje kapaciteta u iznosu od 98,8% posle 1200 ciklusa metodom ciklične voltametrije. Sheklar i saradnici [4] su ispitivali elektrohemijske osobine ZnMn₂O₄ kao anode u 1.0 M NaClO₄ rastvorenom u 1 : 1 (v/v) smeši etilen karbonata sa etilen karbonatom. Dobijen je stabilni kapacitet sa početnom vrednosti od 170 mAh g⁻¹ koji je zadržao vrednost posle 1000 ciklusa pri brzini polarizacije od 100 mA g⁻¹ galvanostatskim punjenjem pražnjenjem.

U ovom radu je urađena sinteza ZnMn₂O₄ glicin nitratnim postupkom i ispitivano je elektrohemijsko ponašanje sintetisanog materijala u vodenom rastvoru ZnCl₂ korišćenjem ciklične voltametrije koja se pokazala kao brza i jednostavna metoda za ispitivanje elektrodnih materijala i njihove potencijalne primene u punjivim vodenim baterijama.

Eksperimentalni deo

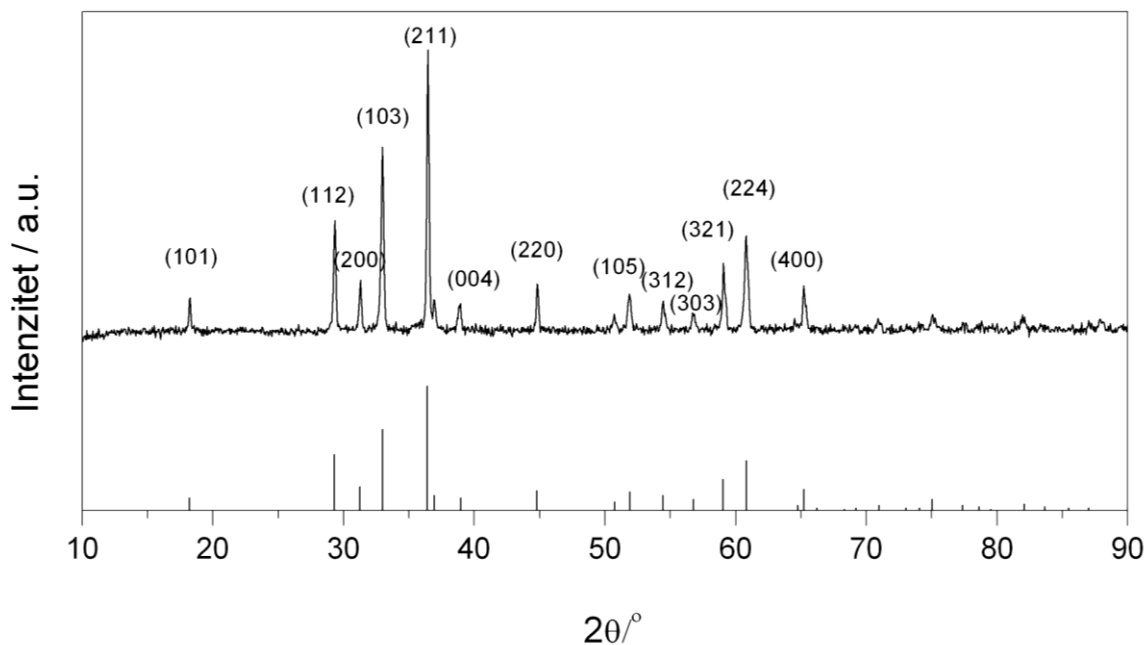
Sinteza ZnMn₂O₄ je izvršena glicin nitratnim postupkom. U stehiometrijskom odnosu su izmešani 1M rastvori Mn(NO₃)₂·6H₂O i Zn(NO₃)₂·6H₂O, a u dobijeni rastvor je dodat glicin tako da je molski odnos glicina i ukupnih nitrata 1,2. Rastvor je zagrevan u sušnici na 200 °C do samopaljenja, a dobijeni prekursorski prah je potom žaren na 800 °C četiri sata u vazduhu.

Struktura i fazni sastav dobijenog praha je određivana rendgenskom difrakcijom na prahu na uređaju Rigaku Ultima IV korišćenjem CuK α zračenja ($\lambda=1.54178$ Å) sa Ni filterom. Intenziteti difrakcionih maksimuma prikupljeni su u intervalu od 4 do 90° 2 θ sa korakom od 0,02 ° pri brzini snimanja od 2° min⁻¹.

Metoda ciklične voltametrije je primenjena za elektrohemijsko ispitivanje materijala kao brza i jednostavna metoda kojom se mogu odrediti vrednost i stabilnosti kapaciteta tokom većeg broja ciklusa. Merenje je vršeno na potenciostatu Gamry PCI4/300 Potentiostat/Galvanostat pri brzini polarizacije od 5 i 100 mV s⁻¹. Ispitivanja su vršena u troelektrodnoj ćeliji, a kao elektrolit je korišćen zasićeni vodeni rastvor ZnCl₂. Kao pomoćna elektroda je korišćena platinska elektroda, a zasićena kalomelska elektroda (ZKE) kao referentna elektroda. Kao radna elektroda je korišćena staklasta ugljenična elektroda na koju je nanesa pasta napravljena od ZnMn₂O₄, ugljeničnog crnog i polivinildienfluorida (PVDF) u masenom odnosu 85:10:5. Pasta je dobijena tako što su ZnMn₂O₄, ugljenično crno i PVDF dispergovani u N-metil pirolidonu, a potom tretirana ultrazvukom u ultrazvučnom kupatilu oko 60 minuta radi dobijanja homogene paste. Nakon nanošenja paste na elektrodu od staklastog ugljenika, ista je sušena na 80 °C na vazduhu, a zatim 4h pod vakuumom na 130° C.

Rezultati i diskusija

Struktura i fazni sastav praha sintetisanog glicin nitratnom metodom određeni su metodom rendgenske difrakcije na prahu. Snimljeni difraktogram je prikazan na Slici 1. Sve refleksije koje se uočavaju na difraktogramu odgovaraju refleksijama tetragonalnom ZnMn₂O₄ spinelne strukture (JCPDS No.24-1133) [5-7]. Prosečna veličina kristalita je izračunata korišćenjem Šererove jednačine za refleksije (103), (211) i (224) i dobijena je vrednost od 65 nm.

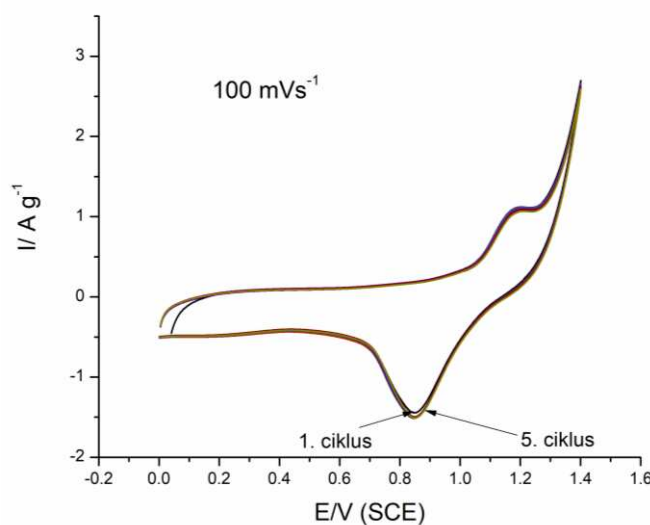
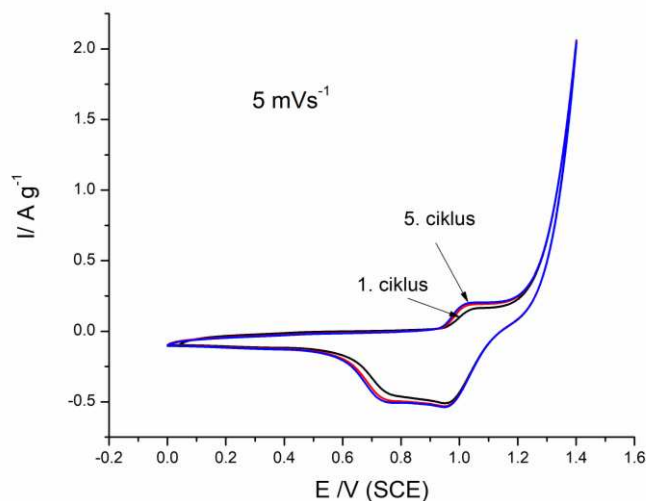


Slika 1: XRD difraktogram $ZnMn_2O_4$.

Kako bi se ispitala mogućnost interkalacije/deinterkalacije jona Zn^{2+} iz vodenog rastvora $ZnCl_2$ u/iz strukture $ZnMn_2O_4$, materijal je ispitivan u troelektrodnom sitemu pomoću ciklične voltametrije u intervalu potencijala od 0 do 1,4 V u odnosu na zasićenu kalomelsku elektrodu pri dvema brzinama polarizacije, od 5 i 100 $mV s^{-1}$. Dobijeni ciklovoltamogrami su prikazani na Slici 2.

Materijal je pokazao izuzetnu stabilnost i strukture i kapaciteta tokom ispitivanja pri obe brzine polarizacije, što upućuje da se materijal može koristiti i za sporije i za veće brzine punjenja i pražnjenja, što je značajno za njegovu potencijalnu primenu. Takođe, pri obe brzine polarizacije se mogu uočiti reverzibilni pikovi koji odgovaraju procesima deinterkalacije (pozitivne struje) i interkalacije (negativne struje). Pri brzini polarizacije od 5 $mV s^{-1}$ položaj anodnog pika je 1,05 V u odnosu na ZKE dok se u smeru interkalacije javljaju dva katodna pika na 0,77 i 0,96 V u odnosu na ZKE. Pojava dva katodna pika najverovatnije je posledica potrebne različite vrednosti Gibsove slobodne energije prilikom interkalacije prve polovine Zn^{2+} jona i druge polovine Zn^{2+} koja je otežana. Sličan način interkalacije jona Li^+ se dešava kod istog tipa materijala, $LiMn_2O_4$ [8]. Pri brzini polarizacije od 100 $mV s^{-1}$ položaj anodnog i katodnog pika je 1,19 i 0,85 V u odnosu na ZKE, redom.

Međutim, vrednost kapaciteta je dosta niska, pa se buduća istraživanja moraju bazirati na povećanju njegove vrednosti. To je moguće ako se jedan deo jona Mn zameni nekim drugim jonima prelaznih metala, ako se poboljša provodljivost samog materijala dodavanjem ugljeničnog materijala nakon sinteze ili korišćenjem druge soli cinka ili čak i korišćenjem vodenih rastvora drugih elemenata kao sto su soli litijuma, natrijuma i magnezijuma što bi dalo mogućnost primene ovog materijala i u drugim ekološkim baterijama kao što su vodene litijum-jonske, natrijum-jonske ili magnezijum-jonske baterije.



Slika 2. Ciklični voltmogram sniman u vodenom rastvoru ZnCl_2 pri brzini polarizacije od a) 5 i b) 100 m V s^{-1} .

Zaključak

U ovom radu je ZnMn_2O_4 uspješno sintetisan glicin-nitratnim postupkom što je potvrđeno rendgenostrukturnom analizom. Cikličnom voltametrijom je ispitano elektrohemijsko ponašanje dobijenog materijala u vodenom rastvoru ZnCl_2 pri različitim brzinama polarizacije. Materijal je pokazao stabilan, ali nizak kapacitet, i pri velikim i pri malim brzinama punjenja i pražnjenja što omogućava njegovu primenu u različitim režimima punjenja i pražnjenja. Međutim, da bi ovaj materijal mogao da nađe komercijanu primenu, neophodno je povećati kapacitet što je moguće postići na više načina: pronalaženje odgovarajućeg elektrolita, dopiranja samog katodnog materijala ili dodatkom ugljenika nakon sinteze.

Literatura

- [1] Senćanski, J., Bajuk-Bogdanović, D., Majstorović, D., Tchernychova, E., Papan, J., Vujković, M. (2017). The synthesis of $\text{Li}(\text{CoMnNi})\text{O}_2$ cathode material from spent-Li ion batteries and the proof of its functionality in aqueous lithium and sodium electrolytic solutions. *Journal of Power Sources*, 342, 690-703.
- [2] Zhang, N., Cheng, F., Liu, Y., Zhao, Q., Lei, K., Chen, C., Chen, J. (2016). Cation-deficient spinel ZnMn_2O_4 cathode in $\text{Zn}(\text{CF}_3\text{SO}_3)_2$ electrolyte for rechargeable aqueous Zn-ion battery. *Journal of the American Chemical Society*, 138(39), 12894-12901.
- [3] Li, Y., Wei, Z., Ding, M., Ma, L., Zhu, X., Liang, J. (2019). Synthesis and electrochemical properties of nickel oxide coated ZnMn_2O_4 nanocomposites. *Journal of the Ceramic Society of Japan*, 127(10), 747-753.
- [4] Sekhar, B. C., Packiyalakshmi, P., Kalaiselvi, N. (2017). Custom designed ZnMn_2O_4 /nitrogen doped graphene composite anode validated for sodium ion battery application. *RSC advances*, 7(32), 20057-20061.
- [5] Choi, S. H., Kang, Y. C. (2013). Characteristics of ZnMn_2O_4 nanopowders prepared by flame spray pyrolysis for use as anode material in lithium ion batteries. *Int. J. Electrochem. Sci*, 8, 6281-6290.
- [6] Morán-Lázaro, J. P., Guillen-López, E. S., López-Urias, F., Muñoz-Sandoval, E., Blanco-Alonso, O., Guillén-Bonilla, H., Olvera-Amador, M. D. L. L. (2018). Synthesis of ZnMn_2O_4 nanoparticles by a microwave-assisted colloidal method and their evaluation as a gas sensor of propane and carbon monoxide. *Sensors*, 18(3), 701.
- [7] Ma, L., Wei, Z., Zhu, X., Liang, J., Zhang, X. (2019). Synthesis and Photocatalytic Properties of Co-Doped $\text{Zn}_{1-x}\text{Co}_x\text{Mn}_2\text{O}$ Hollow Nanospheres. *Journal of Nanomaterials*, 2019.
- [8] Cvjeticanin N., Stojkovic I., Mitric M., Mentus S. (2007), Cyclic voltammetry of $\text{LiCr}_{0.15}\text{Mn}_{1.85}\text{O}_4$ in an aqueous LiNO_3 solution, *Journal of Power Sources* 174, 1117–1120.

VALORIZACIJA KAROTENOIDA IZ SPOREDNOG PROIZVODA PRERADE ŠARGAREPE

Vanja Šeregelj¹, Gordana Četković¹, Jasna Čanadanović-Brunet¹, Vesna Tumbas Šaponjac¹, Jelena Vulić¹

¹Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1, Novi Sad, vanjaseregelj@tf.uns.ac.rs

Primenom različitih tehnoloških postupaka prerade voća i povrća nastaju velike količine otpadnog materijala, koji, osim ekonomskog deficita za samu industriju, predstavlja i značajan ekološki problem. Imajući u vidu da ovako dobijeni sporedni proizvodi predstavljaju značajan izvor bioaktivnih jedinjenja, velika pažnja posvećena je mogućnostima njihovog iskorišćenja. Sporedni proizvod prerade šargarepe čini i do 50% sirovine u kojem zaostaje značajna količina karotenoida. Istraživanja u ovom radu su bila usmerena ka valorizaciji sporednog proizvoda prerade šargarepe u cilju dobijanja visokovrednog ekstrakta. Kako su savremene tehnike ekstrakcije fokusirane na upotrebu "zelenih" rastvarača, suncoketovo ulje je korišćeno kao ekstragens za ekstrakciju karotenoida iz sporednog proizvoda šargarepe. Kao rezultat obogaćivanja suncokretovog ulja karotenoidima, gde je β -karoten dominantan karotenoid, postigao se izuzetan pomak u antioksidativnom delovanju uljanog ekstrakta, što opravdava njegovu potencijalnu primenu u gotovim proizvodima prehrambene, farmaceutske ili kozmetičke industrije.

Ključne reči: sporedni proizvod šargarepe, suncoketovo ulje, ekstrakcija, karotenoidi, antioksidativna aktivnost.

Uvod

Prehrambena industrija je jedna od vodećih privrednih grana, sa dugom tradicijom i velikim značajem za celokupnu privredu širom sveta. Međutim, razvoj prehrambene industrije dovodi do stvaranja velike količine otpadnog materijala, čije iskorišćenje predstavlja imperativ sa socijalnog, ekološkog i ekonomskog aspekta. Prema definiciji Direktive Evropskog parlamenta (2008/98/EC, 2008), prehrambeni otpad predstavlja biorazgradivi materijal koji podleže aerobnoj i anaerobnoj fermentaciji. Odlaganje ovakve vrste biootpada predstavlja značajan ekološki problem, s obzirom na to da su zbog visokog sadržaja vode i aktivnih enzima podložni mikrobiološkoj razgradnji i autooksidaciji, uz nekontrolisanu potrošnju kiseonika i emisiju gasova sa efektom staklene bašte. Sa druge strane, ovaj problem karakteriše i ekonomski deficit, gde se pored hrane i poljoprivrednih inputa tokom proizvodnje hrane gube i resursi poput energije i vode [1].

Prema podacima Organizacije za hranu i poljoprivredu (Food and Agriculture Organisation – FAO), duž lanca snabdevanja prehrambenim proizvodima u svetu zaostaje, odnosno ne bude iskorišćena trećina proizvedene hrane, što iznosi oko 1,3 milijarde tona na godišnjem nivou [2]. U okviru Evropske unije, prema izveštaju Evropske komisije (2017), isti problem doseže vrednost od 90 miliona tona na godišnjem nivou, od čega 39% potiče iz prehrambene industrije [3]. Iako prema zakonskim propisima Evropske unije ove materije imaju status otpada, u prehrambenoj industriji se koristi termin "sporedni proizvod". Prema procenama FAO, do 2050. godine broj stanovnika u svetu će dostići 9,1 milijardi, usled čega će biti neophodno da se i proizvodnja poljoprivredno-prehrambenih proizvoda poveća za 60% u odnosu na prosek iz perioda prethodnih deset godina, što ukazuje na značaj ovog problema [2]. Poslednjih decenija, na rešavanju globalnog problema bacanja hrane rade stručnjaci različitih profila, gde iskorišćenje otpada prehrambene industrije uz

primenu savremenih tehnoloških procesa i rezultata naučnih istraživanja, predstavlja jedan od važnijih pristupa.

Prema hijerarhiji prioriteta upravljanja otpadom Direktive Evropskog parlamenta, prevencija/minimizacija nastajanja otpada je na prvom mestu, a odmah iza nje je iskorišćenje sporednih proizvoda za ishranu ljudi. S obzirom na to da mnogi sporedni proizvodi poljoprivredne i prehrambene industrije obiluju brojnim nutritivnim i biološki aktivnim jedinjenjima, počeli su učestalije da se razmatraju kao važan izvor za dobijanje različitih funkcionalnih jedinjenja, a samim tim i potencijal za razvoj proizvoda sa dodatom vrednošću [4].

Šargarepa pripada korenastom povrću koja se koristi širom sveta i ujedno predstavlja jednu od najvažnijih kultura sa godišnjom proizvodnjom preko 37 miliona tona [2]. Povećanje proizvodnje i prerade šargarepe u različite proizvode, kao i nedostatak odgovarajućih načina rukovanja i infrastrukture, doveli su do stvaranja ogromne količine otpadnog materijala. Sporedni proizvodi šargarepe nakon industrijske prerade čine od 30-50% sirovine. Karotenoidi se smatraju najvrednijim jedinjenjima koji se mogu valorizovati iz sporednog proizvoda šargarepe, čije se interesovanje ne odnosi samo na njihovu provitaminsku aktivnost, već i na njihovu sposobnost hvatanja slobodnih radikala.

Ekstrakcija predstavlja prvi korak u valorizaciji ciljanih bioaktivnih jedinjenja iz odabrane sirovine, u ovom slučaju karotenoida iz sporednog proizvoda prerade šargarepe. U ovom radu je korišćena tzv. "zeleno ekstrakcija", uz primenu suncokretovog ulja kao ekstragensa. Dobijeni uljani ekstrakt sporednog proizvoda šargarepe okarakterisan je u pogledu sadržaj ukupnih i pojedinačnih karotenoida, tokoferola i masnih kiselina, kao i antioksidativne aktivnosti.

Eksperimentalni deo

Sporedni proizvod šargarepe dobijen je iz industrije "Nectar" iz Bačke Palanke, nakon proizvodnje soka. Dobijeni sporedni proizvod šargarepe je zamrznut, liofiliziran u toku 48 h na -40°C , i kao takav skladišten na -20°C do upotrebe. Suncokretovo ulje korišćeno za ekstrakciju sporednog proizvoda šargarepe kupljeno je u supermarketu, a proizvedeno u kompaniji "Dijamant AD", Zrenjanin, Srbija.

U cilju valorizacije karotenoida iz liofiliziranog sporednog proizvoda šargarepe, ekstrakcija je sprovedena suncokretovim uljem mešanjem u blenderu u trajanju od 30 minuta, pri odnosu 1:10 w/v. Postupak ekstrakcije se izvodio sa povremenim pauzama uz hlađenje, i u posudi zaštićenoj od svetlosti. Centrifugiranjem u trajanju od 10 minuta na 4000 o/min, supernatant, odnosno uljani ekstrakt bogat karotenoidima, je odvojen i čuvan u frižideru na 4°C , u posudi zaštićenoj od svetlosti i vazduha do dalje upotrebe.

Za određivanje karotenoida, kao i antioksidativne aktivnosti, uljani uzorci rastvoreni su u smeši metanola i dihlormetana (50:50 v/v) u koncentraciji od 2 mg/ml, filtrirani kroz $0,2\ \mu\text{m}$ PTFE filtere, i analizirani HPLC metodom prema Riso i Porini [5]. Tokoferoli su određeni prema IUPAC standardnoj metodi 2.432 [6]. Uljani uzorci rastvoreni su u smeši heksana i izopropanola (90:10 v/v), u koncentraciji od 2 mg/ml, filtrirani kroz $0,2\ \mu\text{m}$ PTFE filtere, i analizirani HPLC metodom prema Brandolini i sar. [7]. Suncokretovo ulje i uljani ekstrakt sporednog proizvoda šargarepe podvrgnuti su transesterifikaciji u prisustvu bor(III)-fluorida, prema procedure opisanoj od strane Karlović i Andrić [8]. Gasno-hromatografska analiza (GC) je izvršena na uređaju Agilent 7890A sa plameno jonizujućim detektorom (FID), prema metodi Csangeri i sar. [9]. Antioksidativna aktivnost određena je β -karoten bleaching metodom, prema metodi opisanoj od strane Al-Shaikhan i sar. [10]. Za izradu kalibracione krive je korišćen Troloks, a rezultati su izraženi kao ekvivalenti Troloksa (TE) u 100 g uzorka tj. ulja (mg TE/100 g).

Rezultati i diskusija

U cilju valorizacije, odnosno ekstrakcije bioaktivnih jedinjenja iz različitih materijala, poznato je da se upotrebljavaju velike količine rastvarača, od kojih je većina opasna po zdravlje ljudi i okolinu. Još 1991. godine hemičar P.T. Anastas naglasio je potrebu za smanjenjem štetnih rastvarača kroz specifičan program nazvan "zeleni hemija" (*green chemistry*), a nekoliko godina kasnije utvrdio principe iste [11]. Danas, 30 godina kasnije, taj koncept je uveliko izašao iz akademskih krugova, što se može zaključiti i po tome što je zakonodavstvo Evropske Unije na polju zaštite okoline za period 2010-2050. godine stavku o smanjenju korišćenja opasnih rastvarača stavilo među prioritete [3].

Jedna od obećavajućih alternativa tradicionalnim metodama ekstrakcije karotenoida je upotreba jestivih biljnih ulja kao "zelenih" rastvarača. Prednost biljnih ulja za ekstrakciju karotenoida ogleda se u postizanju visokog prinosa ovih jedinjenja s obzirom njihovu lipofilnost, ali i zbog barijerne uloge ulja protiv kiseonika usled čega se usporava vreme oksidacije i razgradnja ekstrakta karotenoida. Takođe, u zavisnosti od hemijskog sastava ulja i profila masnih kiselina, njihova konzumacija može predstavljati dobrobit za zdravlje ljudi. Međutim, relativno visoka viskoznost biljnog ulja predstavlja ograničavajući faktor za njihovu efikasnu primenu u procesu ekstrakcije. Generalno, tokom postupka ekstrakcije, visoka viskoznost rastvarača obično je povezana sa pogoršanom migracijom rastvarača kroz matricu, što utiče na efikasnost ekstrakcije. Sachindra and Mahendrakar [12] proučavali su ekstrakciju karotenoida iz škampi i primetili da je najveći prinos dobijen korišćenjem suncokretovog ulja, pa je u ovom radu suncokretovo ulje izabrano kao rastvarač za izolovanje karotenoida iz sporednog proizvoda šargarepe. Karakteristike u pogledu ukupnog sadržaja karotenoida, tokoferola, i masnih kiselina u suncokretovom ulju i uljanom ekstraktu sporednog proizvoda prerade šargarepe prikazane su u Tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj karotenoida, tokoferola i masnih kiselina u suncokretovom ulju i uljanom ekstraktu sporednog proizvoda prerade šargarepe

Karakteristika	Suncokretovo ulje	Uljani ekstrakt sporednog proizvoda šargarepe
<i>Karotenoidi (mg/kg)</i>		
α -karoten	nd	13.97 \pm 1.49
β -karoten	nd	40.10 \pm 4.27
cis β -karoten	nd	6.56 \pm 0.70
<i>Tokoferoli (mg/kg)</i>		
α -tokopherol	559.40 \pm 6.69 ^a	488.80 \pm 4.19 ^b
β -tokopherol	22.8 \pm 1.54 ^a	21.1 \pm 0.63 ^a
γ -tokopherol	4.90 \pm 0.12 ^a	4.8 \pm 0.01 ^a
<i>Masne kiseline (%)</i>		
C 16:0 (Palmitinska)	5.84 \pm 0.13 ^a	5.95 \pm 0.12 ^a
C 16:1 (Palmitoleinska)	0.07 \pm 0.01 ^a	0.08 \pm 0.01 ^a
C 18:0 (Stearinska)	3.47 \pm 0.06 ^a	3.21 \pm 0.04 ^a
C 18:1n9c (Oleinska)	35.84 \pm 0.24 ^a	36.42 \pm 0.11 ^a
C 18:2n6c (Linolna)	54.78 \pm 0.33 ^a	54.33 \pm 0.26 ^a

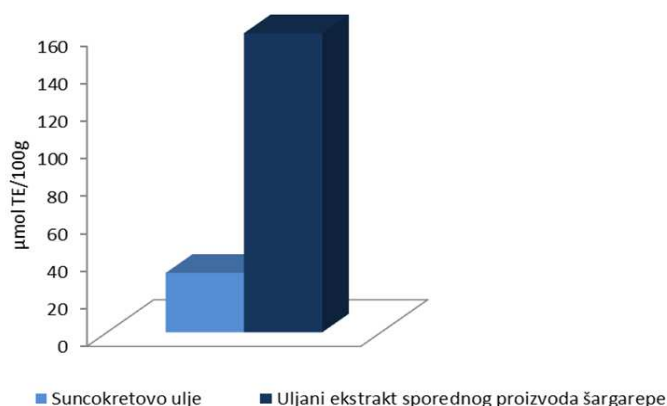
Prikazani podaci predstavljaju srednju vrednost \pm standardna devijacija (n = 3); nd – nije detektovano; Različita slova u eksponentu u istom redu tabele ukazuju na statistički značajnu razliku između vrednosti, pri nivou značajnosti od $p < 0,05$

Prema literaturnim podacima, suncoketovo ulje karakteriše odsustvo karotenoida [13]. Prisustvo karotenoida zabeleženo je u lanenom ulju i ulju semena bundeve, što je od velikog značaja zbog same stabilnosti ulja i antioksidativnog delovanja. Odsustvo karotenoida u suncokretovom ulju potvrđeno je u našem radu, što ga čini idealnim medijumom za obogaćivanje karotenoidima iz sporednog proizvoda prerade šargarepe. Nakon ekstrakcije sporednog proizvoda prerade šargarepe, postignut je sadržaj karotenoida od 60,63 mg/kg ulja, sa visokim sadržajem β -karotena (40,10 mg/kg), i manjim sadržajima α -karotena (13,97 mg/kg), i cis- β -karotena (6,56 mg/kg).

Pored karotenoida, prisustvo tokoferola u ulju je od izuzetne važnosti, kako zbog vitaminskih i antioksidativnih svojstava, tako i zbog njihovog zaštitnog delovanja kada je u pitanju oksidacija nezasićenih masnih kiselina bilo *in vivo* u biološkim sistemima, ili *in vitro* pri čuvanju ili korišćenju ulja. α -Tokoferol je dominantan homolog u suncokretovom ulju i čini 95% ukupnih karotenoida, dok preostalih 5% čine β + γ -tokoferol. Generalno, α -tokoferol povećava biološku vrednost biljnih ulja, dok β i γ -izomeri utiču na povećanje oksidativne stabilnosti ulja. Na ukupan sadržaj tokoferola, kao i prisustvo određenih izomera utiče mnogo činilaca, od sortnih karakteristika semena vrste ulja, preko klimatskih uslova, do postupaka izdvajanja ulja i metode određivanja tokoferola. Nakon ekstrakcije nisu utvđene statistički značajne razlike u sadržaju β - i γ -tokoferola između suncokretovog ulja i uljanog ekstrakta sporednog proizvoda šargarepe, dok se sadržaj α -tokoferola smanjio za 12,6%. Silva i sar. [14], takođe su prijavili smanjenje sadržaja α -tokoferola nakon obogaćivanja suncokretovog ulja β -karotenom iz šargarepe, što se može objasniti kao posledica procesa ekstrakcije.

Nisu zabeležene značajne razlike u sadržaju masnih kiselina između suncokretovog ulja i uljanog ekstrakta sporednog proizvoda šargarepe. Prema sastavu masnih kiselina dominantne su linolna kiselina (~54,5%) i oleinska kiselina (~35,5%), dok su u tragovima pronađena palmitinska, stearinska i palmoleinska kiselina. Standardno suncoketovo ulje čini oko 90% nezasićenih masnih kiselina (linolna i oleinska), a preostalih 10% čine zasićene kiseline (palmitinska i stearinska), što je odgovaralo našim rezultatima. Na sastav masnih kiselina, koje utiču na fizičke i hemijske karakteristike ulja, utiče poreklo hibrida, životna sredina i uslovi rasta. Tokom ispitivanja suncokreta gajenih u regionu istočnog Mediterana, Akkaya [15] je izvestio da visoke temperature i niže količine kiše tokom vremena sazrevanja semena povećavaju sadržaj oleinske kiseline. Visok sadržaj oleinske kiseline doprinosi otpornosti ulja pri izlaganju visokim temperaturama i oksidacije, što je značajno jer prehrambena industrija zahteva visokokvalitetna biljna ulja.

β -Karoten *bleaching* test za procenu antioksidativne aktivnosti ima visoku specifičnost za lipofilna jedinjenja, i zasniva se na oksidativnoj degradaciji β -karotena u emulziji β -karoten-linolna kiselina. Do oksidacije β -karotena dolazi tokom slobodnoradikalne reakcije sa lipidnim radikalima, pri čemu β -karotena gubi dvostruke veze, što dovodi do gubitka hromofore. Dodatkom antioksidanta u sistem, sprečava se apstrakcija vodonika iz dialilnih metilenskih grupa linolne kiseline, čime se indirektno sprečava oksidacija β -karotena. α -tokoferol se smatra efikasnim antioksidantom koji deluje u lipidnom okruženju i reaguje sa peroksil radikalima, zaustavljajući lančane reakcije posredovane slobodnim radikalima. Prema Fiedor i Burda [16], α -tokoferol i β -karoten deluju sinergistički, što je doprinelo ukupnom antioksidativnom kapacitetu uljanog ekstrakta bogatim karotenoidima (slika 1).



Slika 1. Antioksidativna aktivnost suncokretovog ulja i uljanog ekstrakta sporednog proizvoda prerade šargarepe

Zaključak

Upotreba suncokretovog ulja u cilju valorizacije sporednog proizvoda prerade šargarepe predstavlja efikasan pristup za dobijanje kvalitetnog ekstrakta bogatog karotenoidima, tokoferolima, masnim kiselinama, i značajne antioksidativne aktivnosti, koji dalje može biti inkorporirani u različite forme proizvoda prehrambene, farmaceutske industrije i kozmetičke industrije. Takođe, ovim postupkom se utiče i na rešavanje globalnog problema odlaganja otpada kroz iskorišćenje sporednog proizvoda prehrambene industrije.

Literatura (APA standard)

- [1] Galanakis, C.M. (2015). Food waste recovery processing technologies and industrial techniques. London, UK: Academic Press.
- [2] FAO, FAOSTAT. (2017). Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- [3] European Commission (2017). Preparatory study on food waste across EU – Technical report.
- [4] EPA (2017). Food Recovery Hierarchy. <https://www.epa.gov/sustainable-management-food/food-recovery-hierarchy>
- [5] Riso, P., & Porrini, M. (1997). Determination of carotenoids in vegetable foods and plasma. *International Journal for Vitamins and Nutrition*, 67, 47–54.
- [6] IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). (1987). IUPAC Standard Methods 2.302, 2.432, 2.504. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates. Oxford, Great Britain: Blackwell Scientific.
- [7] Brandolini, A., Hidalgo, A., Gabriele, S., & Heun, M. (2015). Chemical composition of wild and feral diploid wheats and their bearing on domesticated wheats. *Journal of Cereal Science*, 63, 122–127
- [8] Karlović, Đ., & Andrić, N. (1996). Kontrola kvaliteta semena uljarica. Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, Savezno ministarstvo za nauku tehnologiju I razvoj, Savezni zavod za standardizaciju, Beograd.
- [9] Csengeri I., Čolović, D., Rónyai, A., Jovanović, R., Péter-Szűcsné, J., Sándor, Z., & Gyimes, E. (2013). Feeding of common carp on floating feeds for enrichment of fish flesh with essential fatty acids. *Food and Feed Research*, 40, 59–70.
- [10] Al-Saikhan, M.S., Howard, L.R., & Millerm Jr.J.C. (1995). Antioxidant activity and total phenolics in different genotypes of potato (*Solanum tuberosum*, L.). *Journal of Food Science*, 60, 341-343.
- [11] Anastas, P.T., & Warner, J.C. (1998). Principles of green chemistry. In: P.T.Anastas (Eds.), Green chemistry: Theory and practice, pp. 29-56, New York, USA: Oxford University Press.

- [12] Sachindra, N.M., & Mahendrakar, N.S. (2005). Process optimization for extraction of carotenoids from shrimp waste with vegetable oils. *Bioresource Technology*, 96, 1195-1200.
- [13] Rafalowski, R., Zofa, Z., Kuncewicz, A., & Zbigniew, B. (2008). Fatty Acid Composition, Tocopherols and Beta-Carotene Content in Polish Commercial Vegetable Oils. *Pakistan Journal of Nutrition*, 7, 278-282.
- [14] Silva, H.R.P., Iwassa, I.J., Marques, J., Postau, N., Stevanato, N., & Silva, C. (2020). Enrichment of sunflower oil with β -carotene from carrots: Maximization and thermodynamic parameters of the β -carotene extraction and oil characterization. *Journal of Food Processing and Preservation*, e14399.
- [15] Akkaya, M. (2018). Fatty acid compositions of sunflowers (*Helianthus annuus* L.) grown in east Mediterranean region. *Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 2018, 239-247.
- [16] Fiedor, J., & Burda, K. (2014). Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health and Disease. *Nutrients* 6, 466-488.

MIKROELEMENTI U ULJNIM ŠEJLOVIMA ALEKSINCA I NJIHOV UTICAJ NA ŽIVOTNU SREDINU

Nikoleta Aleksić¹

¹*Rudarsko-geološki fakultet, Univerziteta u Beogradu, Dušina 7, Beograd,
nikoleta.aleksic@rgf.bg.ac.rs*

Izvod

U radu su prikazani prvi rezultati analize 56 mikroelemenata i sumpora za 16 površinskih uzoraka uljnih šejlova Aleksinca. Analiza mikroelemenata izvršena je metodom masene spektrometrije indukovane kuplovne plazme (ICP-MS), sa ciljem sagledavanja geohemijskih karakteristika ležišta, sadržaja mikroelemenata u ispitivanim uzorcima i mogućnosti uticaja toksičnosti i drugih negativnih ekoloških aspekata na životnu sredinu, ukoliko bi u budućnosti bila vršena eksploatacija, radi proizvodnje nafte iz uljnih šejlova. Rezultati analize mikroelemenata uljnih šejlova Aleksinca pokazali su blago povišene vrednosti pojedinih elemenata (Mo, Cu, Pb, Ni, Ag, Mn, V, As, U, Th) međutim, poređenjem dobijenih vrednosti sa sadržajem mikroelemenata u genetski sličnoj formaciji „Green River“, zaključeno je da koncentracija ni jednog mikroelementa nije povišena u meri koja bi imala negativne ekološke posledice na životnu sredinu.

Ključne reči: uljni šejlovi, mikroelementi, životna sredina

Uvod

Ležište uljnih šejlova „Aleksinac“ nalazi se u eksploatacionom području Aleksinačkih rudnika mrkog uglja u Aleksinačkoj kotlini, između dve reke: Južne Morave i Moravice. Pruža se neposredno od grada Aleksinca u pravcu sever-severozapad u dužini od 10 kilometara, dok je površina produktivne serije oko 13 km². Ležište je deo prostranog aleksinačkog tercijarnog basena koji se nalazi između vrhova Jastrepca i Karapto-Balkanida na istoku. Centralni deo ovog basena, po bogatstvu rezervi uljnih šejlova, predstavlja za sada ekonomski najznačajniji prostor u Srbiji. (Petrović i sarad., 2012).

Uljni šejlovi su finozrne sedimentne stene tipa glinaca, laporaca i krečnjaka, koje pri zagrevanju na visokim temperaturama (oko 500 °C) daju tečne ugljovodonike, veoma slične sirovoj nafti, kao i nešto gasa. Uljni šejlovi sadrže kerogen, disperznu organsku supstancu, iz kojeg se stvara nafta tek nakon izlaganja visokim temperaturama, odnosno pirolizi. Za kvalitet uljnog šejla od presudnog značaja su sadržaj kerogena, prinos ulja i litološki sastav. Istorijski, geološki i ekonomski, najpoznatija ležišta uljnih šejlova nalaze se u zapdanom delu SAD-a (formacija Green River), Rusiji, Estoniji, Kongu, Brazilu i Škotskoj (Kostić, 2015). Sam postupak eksploatacije uljnih šejlova povezan je sa zaštitom životne sredine i njenim promenama. Tokom eksploatacije, pripreme i prerade uljnih šejlova stvaraju se velike količine jalovine iz otkrivki i šljake čije nekontrolisano odlaganje može negativno uticati na životnu sredinu. Deponije uljnog šejla i šljake ponekad sadrže značajne količine mikroelemenata koji se mogu različitim procesima (bujičnim tokovima, spiranjem) prenositi na veća rastojanja, i na taj način stvarati oreol rasejavanja toksičnih supstanci na širem području oko ležišta. Osnovni zagađivači vazduha su prašina – koja se mora obarati vodom (zavisno od metoda eksploatacije); gasovi – od kojih se kao primarni posebno izdvajaju SO₂, CO, NO_n, H₂S i izmenjeni gasoviti ugljovodonici, kao i leteći pepeo koji može sadržati veću količinu toksičnih i radioaktivnih elemenata. Analize sadržaja, distribucije i načina pojavljivanja mikroelemenata, a naročito potencijalno toksičnih (As, Be, Cd, Co, Cr, Cu,

Hg, Mn, Ni, Pb, Sb, Se) i radioaktivnih su od velikog značaja za zaštitu životne sredine. Na osnovu ovih podataka može se predvideti stepen zagađenja vazduha, zemljišta i vode tokom eksploatacije i kasnije proizvodnje nafte iz uljnih šejlova, kao i negativan uticaj na zdravlje ljudi. Ispitivanja su pokazala (Suderman, 1979 i Querol *et al.*, 1995) da određene količine As, Cd, Cr i Ni izazivaju maligna oboljenja kod ljudi, dok Be, Cd, Co, Cr, Mn, Ni, Pb imaju kancerogeno dejstvo na životinje. Osim kancerogenih i mutagenih efekata koje imaju As i dr., konstatovana su različita oboljenja respiratornih organa, a ređe kožnih.

Eksperimentalni deo

Prva analiza 16 površinskih uzoraka uljnih šejlova izvršena je u Vankuveru (Kanada) za 56 mikroelemenata, sa ciljem odredbe njihovog sadržaja i sagledavanja mogućeg uticaja na životnu sredinu pri površinskoj eksploataciji.

Metoda ICP-MS

Ispitivanja mikroelemenata vršena su ICP-MS metodom (metodom indukovane kuplovne plazme) koja je dala izuzetno precizne rezultate, visoke pouzdanosti.

Metoda ICP-MS podrazumeva prvobitno sušenje uzoraka na temperaturi od 60 °C, a potom i prosejavanje sedimenata do granulacije od -80 meša (-180 µm). Vegetacija koja je prisutna u steni sprasuje se na temperaturi od 475 °C. Oko 70 % sedimenta melje se na granulaciju od 10 meša (2 µm), dok se preostali deo stene melje do granulacije od 200 meša (75 µm). Pri završetku pripreme uzoraka dodaje se 10 ml kiselog rastvora u odnosu 2:2:1 H₂O-HF-HClO₄-HNO₃ koji se zagreva na vrućoj ploči dok u potpunosti ne ispari. U preostali, manji ostatak uzorka dodaje se 4 ml 50 %-HCl-a i zagreva u mikrotalasnoj peći. Nakon hlađenja, tako dobijeni rastvori se sipaju u epruvete sa polipropilenom i 10 ml 5% - HCl-a.

Pre postavljanja uzoraka u aparaturu za analizu neophodno je izvršiti kalibraciju standarda. Napravljeni rastvori ubacuju se u Perkin Elmer Elan 6000 ICP maseni spektrometar na osnovu kojeg se dobijaju analize o prisutnim mikroelementima u ispitivanim uzorcima. U poslednjoj fazi analize mikroelemenata ICP-MS metodom, neophodno je izvršiti kontrolu kvaliteta koja uključuje pripremi blanko uzorak G1 koji se koristi kroz sve stadijume pripreme za analizu i verifikaciju podataka. Sama analitička kontrolna serija podrazumeva 36 dodatnih uzoraka, duplikat pulpe za praćenje različitih varijacija (odnosi se na jezgra bušotine), blanko reagens, kao i standardne ili referentne materijale STD DST 6, Oreans 24P ili Oreans 45P. Nakon završenog kontrolnog procesa i analize, finalni rezultati proveravaju su od strane British Columbia Certified Assayer koji potvrđuje validnost podataka pre iznošenja uzoraka.

Rezultati i diskusija

U okviru rezultata ispitivanja u radu je dat prikaz tabele (tabela 1) sa prvim rezultatima analize 56 mikroelemenata iz uljnih šejlova Aleksinca, dobijenih metodom ICP-MS, kao i njihov uporedni prikaz sa prosečnim svetskim vrednostima za uljne šejlove (Shpirt & Punanova, 2007), crne šejlove (podkategorija uljnih šejlova), argillite, zatim sa prosečnim vrednostima ovih sirovina u Zemljama Zajednice Nezavisnih Država kao i sa referentnom formacijom "Green River" (SAD). Poređenjem srednjih vrednosti koncentracije mikroelemenata u površinskim uzorcima povlatnog paketa Aleksinačkog ležišta sa prosečnim svetskim vrednostima za uljne šejlove, dolazi se do zaključka da je sadržaj mikroelemenata Mo, Cu, Pb, Mn, Ag, As, U, Th, Sr, Li i odnosa V/Ni povišen (tabela 1). Kada se srednje vrednosti za 56 ispitivanih mikroelemenata uporede sa prosečnim vrednostima za "crne šejlove" mikroelementi Cu, Pb, Ag, Co, Mn, Th, Sr, Li, Ga i Cs

imaju takođe nešto viši sadržaj. Poređenjem uljnih šejlova Aleksinca sa prosečnim vrednostima za argilite, povišene koncentracije imaju Mo, Cu, Pb, Ag, As, U i Li, dok je sadržaj Th niži. Povišen sadržaj mikroelemenata u uljnim šejlovima Aleksinca u odnosu na Zajednicu Nezavisnih Država odnosi se na Cu, Pb, V, Li i odnos V/Ni.

U pogledu formacije „Green River“ (SAD) koja je po svojoj genezi i geološkim karakteristikama slična ležištu uljnih šejlova Aleksinca srednja vrednost Cu, u 16 ispitivanih površinskih uzoraka Aleksinčkog uljnog šejla, iznosi 81,14 ppm što je znatno više u poređenju sa ovom formacijom gde je ta vrednost 44,00 ppm. Povišene koncentracije sadržaja u uzorcima uljnih šejlova Aleksinca pokazuje i Ni sa vrednošću od 38,33 ppm dok njegova vrednost kod „Green River“ formacije iznosi 29,00 ppm. Th takođe daje povišene vrednosti pri čemu je njegov sadržaj u Aleksinačkom ležištu 9,24 ppm dok u uljnim šejlovima „Green River“- a iznosi 4,80 ppm. Vanadijum takođe pokazuje povišenu koncentraciju od 116,87 ppm, međutim u poređenju vrednosti ovog mikroelementa sa sadržajem u formaciji „Green River“ od 130 ppm, ona je niža. Na osnovu vrednosti prikazanih u tabeli 1 može se zaključiti da je Cs prisutan u koncentraciji od 7,07 ppm. Sagledavanjem koncentracije prisutnih mikroelemenata u uljnim šejlovima Aleksinca i poređenjem sa referentnom formacijom „Green River“ dolazi se do zaključka da je sadržaj toksičnog As, zatim U i Li u uljnim šejlovima Aleksinca znatno niža.

Odnos V/Ni koji se koristi kao indikator za uljne šejlove zbog svoje migrativnosti i mogućnosti obaranja i vezivanja za sredine sa povišenom koncentracijom organske supstance, ima prosečnu vrednost od 3,09 ppm i odgovara opsegu vrednosti formacije „Green River“ koje se kreću od 2-4 ppm. Takođe je i sadržaj ukupnog sumpora izuzetno nizak svega 0,07 %, dok je vrednost organskog ugljenika C_{org} nešto viša u odnosu na uljne šejlove „Green River“ formacije i iznosi 5,84 %. Ostali mikroelementi u ispitivanim uzorcima Aleksinca u odnosu na „Green River“ nemaju povišene vrednosti.

Rezultati analize mikroelemenata za 16 površinskih uzoraka uljnih šejlova Aleksinca u poređenju sa prosečnim svetskim vrednostima za uljne šejlove, crne šejlove, argilite, uljne šejlove Zajednice Nezavisnih Država kao i formacije „Green River“ ukazuju na blago povišene koncentracije navedenih mikroelemenata (Cu, Ni, Mo, Pb, Mn, Ag, Sr, V, Th, U, Li i Cs) pri čemu se kao posledica toga uzima da nije uzorkovan samo površinski sloj uljnog šejla Aleksinačkog ležišta, već su uzorkovani i analizirani uljni šejlovi zajedno sa povlatnim bituminoznim slojevima i argilitima, što je doprinelo povećanju sadržaja pojedinih mikroelemenata u ispitivanim uzorcima. S toga prvi zaključak, na osnovu izvršenih analiza manjeg obima, ukazuje na to da povlatni paket uljnih šejlova, koji bi se otkopavao u slučaju površinske eksploatacije, ne bi imao ekološki nepovoljne karakteristike u poređenju sa prosečnim svetskim vrednostima.

Tabela 1. Uporedni prikaz rezultata analize mikroelemnata uljnih šejlova Aleksinca sa prosečnim svetskim vrednostima.

Mikroelementi i elementi	Mo (ppm)	Cu (ppm)	Pb (ppm)	Zn (ppm)	Ag (ppm)	Ni (ppm)	Co (ppm)	Mn (ppm)	Fe (%)	As (ppm)	U (ppm)	Au (ppm)	Th (ppm)	Sr (ppm)	Cd (ppm)	Sb (ppm)
Uljni šejlovi, prosečno*	2**	45.60	22.00	100.00	0.08	60.50	19.00	510.00	ND	13.00	3.30	0.70	4.80	270.00	5.00	5.00
"Crni šejlovi" prosečno*	20.00	69.50	21.00	128.00	1.00	70.30	18.00	400.00	ND	29.90	8.50	0.01	6.96	189.00	0.90	3.40
Argiliti prosečno*	2.00	57.00	20.00	80.00	0.10	95.00	19.00	850.00	ND	13.00	3.70	0.00	12.00	450.00	0.30	ND
Uzorci "Aleksinac" min-max		51-100	16-45	59-120	0.094-0.181	31-49	13.7-21.1	565-862		15-40.6	1.5-9.7	> 0.1	6-16.3	219-678	0.15-0.37	0.72-2.13
Maksimalna zastupljenost:	+	+	+			-				+	+	-	+			
Zajednica Nezavisnih Država (prosečno)	50.00	10.00	10.00			20.00				?	?		?			
Green River formacija (prosečno)*	27.00	44.00	27-100			29.00				67.00	5.40		4.80			
Aleksinac šejl (aritmetička sredina)	14.80	81.14	26.44	80.35	116.50	38.33	19.30	721.93	4.34	25.47	4.25	0.10	9.24	422.67	0.27	1.13
1	53.06	99.93	35.27	115.40	127	43.60	20.60	679.00	5.09	15.80	9.70	<0.10	9.00	239.00	0.15	1.79
2	4.70	57.51	16.93	59.20	124	26.40	12.9	824.00	3.11	16.50	6.00	<0.10	8.50	678.00	0.23	0.72
3	10.32	75.30	26.69	88.50	139	41.30	18.6	788.00	4.70	25.90	4.00	<0.10	10.60	524.00	0.35	0.95
4	17.56	121.80	45.62	101.20	172	31.90	17.3	767.00	5.96	24.20	6.90	<0.10	14.80	230.00	0.37	2.13
5	12.76	72.35	24.11	89.7	115	37.70	16.6	565.00	3.30	18.80	2.00	<0.10	6.60	435.00	0.29	0.79
6	6.63	70.22	28.71	89.1	128	33.20	15.00	862.00	4.43	16.40	3.60	<0.10	10.40	398.00	0.16	1.00
7	18.66	98.95	36.47	120.40	135	43.10	18.30	764.00	5.37	22.90	4.10	<0.10	11.10	265.00	0.27	1.46
8	4.99	55.29	20.21	87.30	109	35.70	17.60	767.00	3.89	31.30	3.80	<0.10	11.40	535.00	0.18	0.87
9	9.72	99.72	28.71	98.90	146	42.30	18.20	675.00	4.67	22.00	2.30	<0.10	6.00	219.00	0.22	1.24
10	5.59	73.40	22.52	92.30	131	36.50	13.70	723.00	4.25	15.10	7.10	<0.10	16.30	438.00	0.32	0.89
11	25.93	114.80	26.83	99.80	181	48.90	21.40	610.00	5.09	40.40	1.50	<0.10	3.10	425.00	0.35	1.02
12	7.78	79.59	25.70	76.20	140	42.70	19.80	740.00	3.84	35.40	2.40	<0.10	8.20	463.00	0.29	1.45
13	21.47	51.42	16.24	71.80	94	31.90	15.10	601.00	2.98	40.60	2.50	<0.10	8.40	601.00	0.31	0.96
14	11.72	79.40	20.01	91.60	134	41.90	20.60	741.00	4.46	35.10	1.60	<0.10	4.40	403.00	0.23	0.74
15	11.09	67.37	22.51	81.90	98	37.90	21.10	703.00	4.01	21.60	6.20	<0.10	9.80	486.00	0.26	0.95
16	11.88	20.84	8.22	165.90	38.00	23.10	94.00	1330.00	10.89	33.20	1.60	< 0.1	4.40	173.00	0.08	0.60

*Shpirt & Puanova, 2007

Bi (ppm)	V (ppm)	Ca (ppm)	P (%)	La (ppm)	Cr (ppm)	Mg (%)	Ba (ppm)	Ti (%)	Al (%)	Na (%)	K (%)	W (ppm)	Zr (ppm)	Sn (ppm)	Be (ppm)	Sc (ppm)	S (%)	Y (ppm)	Ce (ppm)	Pr (ppm)	Nd (ppm)
ND	130.00	ND	ND	36.00	100.00	ND	560.00	0.13	ND	ND	ND	2.20	160.00	5.00	3.00	15.00	ND	26.00	80.00	-	-
ND	205.40	ND	ND	27.90	96.00	ND	500.00	0.30	ND	ND	ND	2.90	120.00	3.90	2.00	12.00	ND	26.00	58.00	4.20	33.00
0.17	130.00	ND	ND	90.00	100.00	ND	800.00	0.45	ND	ND	ND	1.80	200.00	10.00	3.00	10.00	ND	26.00	50.00	7.10	26.00
0.54-2.03	75-193	2.8-8.7	0.016-0.17	16.7-28.8	55-82	1.24-4.17	364-536	0.24-0.43	4.15-8.33	0.92-2.7	1.28-1.92	1.3-3-3	15.5-29.3	1.6-3.2	1.00-3.00	8.5-23.3	0.04-0.17	11-32.3	31-56	4.2-7.9	15.2-29.4
+	-																				
?	100.00																				
?	130.00																				
1.11	116.87	5.13	0.06	23.05	73.07	2.67	411.87	0.33	6.52	1.46	1.62	2.03	20.09	2.65	1.77	13.53	0.08	20.53	39.55	5.86	22.07
2.03	126.00	3.34	0.147	19.30	81.00	1.67	393.00	0.370	7.93	2.270	1.55	3.10	19.00	3.20	2.00	10.30	0.05	21.90	34.56	5.40	21.00
1.18	82.00	8.70	0.056	19.50	62.00	4.17	369.00	0.242	4.27	1.065	1.44	1.50	16.80	2.20	<1.00	10.80	0.08	18.20	34.58	4.70	17.10
1.02	114.00	6.31	0.043	27.70	76.00	3.22	449.00	0.339	6.19	1.020	1.59	2.50	17.60	2.50	2.00	17.20	<0.04	21.10	49.48	7.00	25.70
1.94	193.00	2.76	0.097	28.80	94.00	1.34	459.00	0.395	8.56	2.711	1.61	3.00	15.90	3.50	3.00	23.30	<0.04	32.30	56.21	7.90	29.40
0.92	103.00	5.14	0.024	22.30	67.00	2.53	378.00	0.323	6.43	0.921	1.75	1.50	18.20	2.90	2.00	8.50	0.07	17.50	37.50	4.90	17.70
0.90	102.00	4.70	0.064	27.90	79.00	1.89	536.00	0.433	8.33	1.348	1.60	2.50	25.80	3.20	2.00	13.40	<0.04	27.70	56.73	7.50	29.40
1.30	152.00	2.97	0.078	23.80	82.00	1.76	462.00	0.397	7.78	1.960	1.35	3.30	16.90	3.10	2.00	12.80	<0.04	23.20	40.04	6.90	25.50
0.74	97.00	7.23	0.054	25.60	70.00	2.44	423.00	0.318	6.38	1.351	1.92	1.50	29.30	2.40	3.00	13.60	0.04	21.60	46.11	5.40	23.80
1.39	140.00	2.57	0.017	22.00	81.00	2.28	390.00	0.387	7.56	1.321	1.79	2.40	22.70	2.80	2.00	13.80	0.06	14.20	38.71	5.60	19.60
0.94	119.00	4.88	0.170	25.90	73.00	2.62	436.00	0.339	6.33	1.110	1.73	1.80	18.40	2.60	2.00	15.10	0.05	30.60	46.32	6.80	25.70
1.09	116.00	4.58	0.016	16.70	76.00	2.68	368.00	0.316	6.62	1.342	1.39	1.40	26.20	2.60	1.00	11.70	0.08	11.50	32.52	4.40	17.00
1.09	102.00	6.31	0.037	25.80	70.00	2.70	383.00	0.294	5.80	1.391	1.95	1.50	19.60	2.30	1.00	12.40	0.05	19.10	46.85	6.10	24.10
0.54	75.00	7.15	0.023	19.10	55.00	3.69	364.00	0.225	4.15	1.312	1.28	1.20	15.50	1.60	<1.00	11.60	0.16	17.90	33.69	4.50	17.70
0.82	130.00	4.84	0.018	18.30	72.00	3.72	384.00	0.319	5.84	1.187	1.39	2.00	22.00	2.50	1.00	15.10	0.05	11.00	31.39	4.20	15.20
0.79	102.00	6.43	0.069	23.00	68.00	3.10	384.00	0.290	5.57	1.663	1.88	1.30	17.40	2.30	1.00	13.30	0.17	19.90	42.62	5.60	22.30
0.28	31.00	4.71	0.14	11.30	30.00	0.29	58.00	0.14	1.87	0.21	0.36	14.90	16.30	0.90	<1	4.20	>10	10.80	25.86	2.90	11.10

Sm (ppm)	Eu (ppm)	Gd (ppm)	Tb (ppm)	Dy (ppm)	Ho (ppm)	Er (ppm)	Tm (ppm)	Yb (ppm)	Lu (ppm)	Hf (ppm)	Li (ppm)	Rb (ppm)	Ta (ppm)	Nb (ppm)	Cs (ppm)	Ga (ppm)	Hg (ppm)	V/Ni	Ukupan S (%)	C org (%)
-	-	-	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.90	60.00	139.10	0.70	17.20	5.00	20	0.18	1.86	ND	>20
5.40	1.20	4.70	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.20	31.00	74.00	-	11.00	3.40	16	0.27		ND	10-20 %
4.50	0.95	3.80	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	3.00	60.00	139.00	1.50	11.00	ND	20	0.05		ND	<10%
2.7-5.6	0.5-1.5	2.3-5.7	0.4-1.1	2.1-5.9	0.4-1.2	1-3.3	0.1-0.5	0.9-3.2	0.1-0.5	0.51-1.04	24.8-281	41.3-81.4	0.3-0.6	6.2-11.6	0.72-2.13	11.3-21.9	0.01-0.05		0.03-0.13	1.6-14.6
											+	-					-		-	
											10.00							5		
											147.00							2.00-4.00	1.53	3.2
4.05	0.97	3.85	0.70	3.70	0.75	2.01	0.29	1.82	0.26	0.71	76.47	65.57	0.50	9.28	7.07	17.36	0.03	3.09	0.07	5.84
4.20	0.80	4.40	0.70	4.20	0.90	3.00	0.50	3.20	0.50	0.63	37.40	50.02	0.60	10.61	7.00	21.25	0.03	2.89	0.07	3.56
3.20	0.80	3.20	0.50	3.20	0.70	2.10	0.30	2.00	0.30	0.66	62.40	70.00	0.40	6.92	5.60	11.69	0.03	3.11	0.06	7.45
4.80	1.00	3.70	0.80	4.10	0.80	2.10	0.30	1.80	0.20	0.73	70.80	62.30	0.50	9.43	6.60	17.07	0.03	2.76	0.06	4.54
5.60	1.40	5.70	1.10	5.90	1.20	3.30	0.50	2.70	0.40	0.51	24.80	61.80	0.60	10.77	8.80	21.91	0.05	6.05	0.04	2.14
3.10	1.10	2.90	0.80	2.50	0.50	1.10	0.20	1.00	0.10	0.66	63.20	66.80	0.50	9.46	7.20	17.04	0.01	2.73	0.08	5.82
5.80	1.50	5.30	1.00	4.70	1.00	2.60	0.40	2.40	0.30	0.93	53.90	48.20	0.60	11.60	6.90	21.57	0.02	3.07	0.04	1.59
4.90	1.10	5.00	0.90	4.70	0.90	2.30	0.30	1.90	0.30	0.56	39.40	41.30	0.60	11.10	7.10	21.13	0.05	3.53	0.07	2.19
4.30	1.10	4.00	0.70	3.70	0.80	1.90	0.30	2.10	0.30	1.04	71.70	68.40	0.50	9.05	8.80	16.80	0.03	2.72	0.06	6.04
3.50	0.70	3.10	0.50	2.70	0.60	1.50	0.20	1.20	0.20	0.98	98.00	60.00	0.50	10.05	8.10	19.73	0.03	3.31	0.11	5.29
5.10	1.10	5.10	0.80	5.50	1.10	3.10	0.50	2.90	0.40	0.56	47.50	73.10	0.50	9.65	7.40	17.12	0.02	3.26	0.06	9.33
2.70	0.50	2.30	0.40	2.10	0.40	1.20	0.10	1.00	0.10	0.71	112.00	65.80	0.60	8.92	8.60	17.23	0.02	2.37	0.03	4.33
4.10	1.10	3.50	0.70	3.50	0.70	1.70	0.20	1.30	0.20	0.70	57.70	83.30	0.60	8.09	5.90	15.19	0.03	2.39	0.06	8.08
3.10	0.90	3.20	0.60	3.00	0.60	1.40	0.20	1.20	0.20	0.47	55.40	69.10	0.30	6.20	4.50	11.26	0.02	2.35	0.1	14.53
2.70	0.60	2.60	0.40	2.30	0.40	1.00	0.10	0.90	0.10	0.92	280.90	70.90	0.50	8.99	7.70	16.69	0.03	3.1	0.12	4.08
3.70	0.90	3.70	0.80	3.40	0.70	1.80	0.30	1.70	0.30	0.55	71.90	81.40	0.40	8.42	5.8	14.98	0.03	2.69	0.13	8.66
2.00	0.40	2.20	0.40	2.20	0.40	1.00	0.20	1.00	0.20	0.45	13.20	24.80	0.20	2.82	0.60	4.92	<0.001	1.34	11.25	41.9

Zaključak

U radu su prikazani prvi rezultati analize 56 mikroelemenata, dobijenih na osnovu ICP-MS metode za 16 uzoraka uljnih šejlova Aleksinca, uzetih iz povlatnog paketa, kao i njihov uporedni prikaz sa svetskim vrednostima, sa ciljem odredbe povišenih koncentracija pojedinih mikroelemenata u ispitivanim uzorcima.

Poređenjem sadržaja mikroelemenata u uljnim šejlovima Aleksinca sa prosečnim vrednostima za uljne šejlove genetski slične formacije „Green River“ zaključeno je da je sadržaj Cu, Ni i Th viši u aleksinačkom uljnom šejlu pri čemu se kao posledica toga uzima uzorkovanje uljnog šejla zajedno sa bituminoznim slojem i argilitima. Sadržaj As, U i Li u uljnim šejlovima Aleksinca je znatno niži u odnosu na referentnu formaciju „Green River“.

U pogledu odnosa prosečnih vrednosti uljnih šejlova u svetu i uljnih šejlova Aleksinca povišene koncentracije mikroelemenata u aleksinačkom uljnom šejlu imaju: Mo, Cu, Pb, Mn, Ag, As, U, Th, Sr, Li, Cs i odnos V/Ni. Poređenjem sa „crnim šejlovima“ povišen sadržaj pokazuju: Cu, Pb, Ag, Co, Mn, th, Sr, Li, Ga i Cs, dok u odnosu sa argilitima povišene koncentracije imaju: Mo, Cu, Pb, Ag, As, U i Li. Povišen sadržaj mikroelemenata u uljnim šejlovima Aleksinca u odnosu na Zajednicu Nezavisnih Država imaju Cu, Pb, V, Li i odnos V/Ni.

Na osnovu izvršenih analiza manjeg obima koje su se odnosile na sadržaj mikroelemenata u povlatnom sloju uljnih šejlova Aleksinca, zaključuje se da u slučaju buduće površinske eksploatacija ne bi došlo do ispoljavanja negativnih ekoloških uticaja na životnu sredinu područja u kom se nalazi ležište.

Literatura:

- KOŠTIĆ. A. (2015). *Ležišta i istraživanje nafte i gasa. Udžbenik*, 224-226. Rudarsko-geološki fakultet, Univerziteta u Beogradu.
- PETROVIĆ. M., i saradnici, 2012: *Elaborat o rezervama uljnih škriljaca "Aleksinac" – polje "Dubrava"* (JP PEU Resavica), 216 str.
- QUEROL, Xavier; FERNÁNDEZ-TURIEL, JoséLuis; LÓPEZ-SOLER, Angel. (1995). *Trace elements in coal and their behaviour during combustion in a large power station. Fuel*, 74.3, 331-343.
- SHPIRT. M. YA, S.A.PUNANOVA & STRIZHAKOVA.YU.A. (2007). *Trace elements in black and oil shales. Solid Fuel Chemistry*, 41, 119-127.
- SUDERMAN, D. R.; CUNNINGHAM, F. E. (1979). *Detection of elements in poultry skin by energy dispersive analysis of X-rays with the scanning electron microscope. Poultry Science*, 58.5, 1224-1227.

INDIREKTNO SPEKTROFOTOMETRIJSKO ODREĐIVANJE KONCENTRACIJE PIROKATEHOLA KORIŠĆENJEM OSCILATRONE REAKCIJE

Ružica Erceg¹, Jelena Maksimović¹, Maja Pagnacco²

¹Univerzitet u Beogradu, Fakultet za fizičku hemiju, Studentski trg 12-16, Beograd,
e-mail: ruskaerceg96@gmail.com

²Univerzitet u Beogradu, Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Njegoševa 12, Beograd

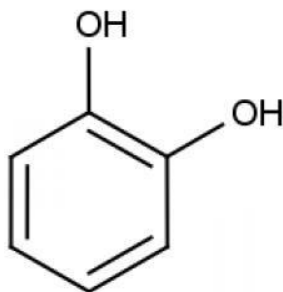
Izvod

Bray-Liebhafsky (BL) reakcija je najstarija poznata oscilatorna reakcija u kojoj se koncentracije reaktanata i produkata menjaju kaskadno, dok koncentracije intermedijera osciluju u vremenu. Reakcija se sastoji od tri reaktanta (kalijum-jodat, sumporna-kiselina i vodonik-peroksid) koji omogućavaju njenu laku dostupnost. Pirokatehol (1,2-dihidroksibenzen) nalazi svoju široku primenu u poljoprivrednoj i prehrambenoj industriji, ali i u proizvodnji pesticida, kozmetičkih preparata i industriji boja, što rezultuje čestom potrebom za njegovim određivanjem. U ovom radu BL reakcija je korišćena kao matrica za kvantitativna određivanja pirokatehola indirektnom spektrofotometrijskom metodom. Pirokatehol različitih koncentracija je injektiran u oscilatornom režimu, pri čemu je mereno vreme inhibicije. Sa povećanjem koncentracije pirokatehola raste vreme inhibicije τ , pri čemu je dobijena linearna zavisnost: $\tau = 9,4 \cdot 10^5 \cdot C_{\text{pirokatehola}} + 51,2$. Ova zavisnost se može koristiti za određivanje nepoznate koncentracije pirokatehola. S obzirom na male koncentracije pirokatehola ($\ll 10^{-3}$ M) koje utiču na oscilatorni sistem, predložena metoda se potencijalno može koristiti za određivanje koncentracije pirokatehola u otpadnim vodama. Takođe, dobijeni rezultati su značajni i sa stanovišta instrumentalnih metoda jer apsorpciju pirokatehola iz ultraljubičaste oblasti direktno "preslikavaju" u vidljivu oblast (460 nm), omogućujući praćenje koncentracije supstance koja apsorbuje u UV oblasti bez korišćenja UV lampe.

Ključne reči: Bray-Liebhafsky reakcija, spektrofotometrijska metoda, pirokatehol, analitička kriva, kvantitativna analiza

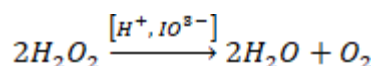
Uvod

Pirokatehol ($C_6H_6(OH)_2$) ili orto izomer benzendiola je bezbojna ili bela kristalna supstanca sa karakterističnim mirisom i njegova strukturna formula je prikazana na slici 1. Rastvoran je u vodi, alkoholu i acetatima. Svoju široku primenu nalazi u proizvodnji pesticida, lekova, aroma ili u kozmetici zbog čega se smatra zagađivačem okoline (Shakir i dr., 2008). Katehol je među najzastupljenijim organskim sastojcima duvanskog dima koji je štetan za ljude i životnje čak i u niskim koncentracijama (Khachatryan i dr., 2006). Američka agencija za zaštitu životne sredine (EPA) svrstala je fenole na 11. mesto na listi 126 toksičnih hemikalija koji su označeni kao prioritetni zagađivači (Ahammad i dr., 2009).



Slika 1. Strukturna formula pirokatehola (Vollhardt & Schore, 2003)

Bray–Liebhafsky (BL) reakcija predstavlja katalitičko razlaganje vodonik-peroksida na vodu i kiseonik u prisustvu vodoničnih (H^+) i jodatnih (IO_3^-) jona kao katalizatora (Bray & Liebhafsky, 1931):

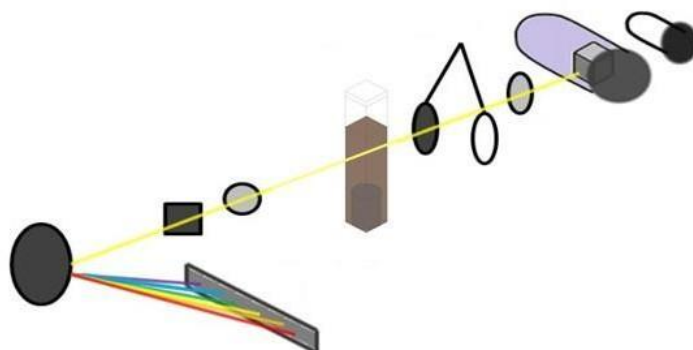


Ova reakcija na prvi pogled izgleda jednostavno, ali je karakteriše veoma složen mehanizam koji se odvija preko niza intermedijera I_2 , I , HIO , HIO_2 i drugi. Globalni model mehanizma reakcije koji je dao Bray kako bi objasnio oscilatornost, zasnovao je na činjenici da vodonik-peroksid može biti i oksidaciono i redukciono sredstvo (Kolar-Anić & Schimtz, 1992).

Sama kinetička metoda kvantitativne analize zasniva se na postojanju funkcionalne zavisnosti između koncentracije analita i odziva matričnog sistema (u ovom radu kao matrični sistem korišćena je BL reakcija). Poznato je da je oscilatorna reakcija izuzetno osetljiva matrica na dodatak različitih analita. Dodatak različitih analita uglavnom inhibira gasi oscilatornu dinamiku, pri čemu se meri vreme inhibicije u funkciji od koncentracije dodatog analita. Na osnovu ovakve zavisnosti, gde je kao odziv matričnog sistema korišćeno vreme od trenutka dodavanja analita do ponovne pojave oscilacije, konstruiše se kalibraciona kriva koja se dalje koristi za određivanje nepoznate koncentracije analita. U ovom radu je po prvi put korišćeno indirektno spektrofotometrijsko određivanje koncentracije pirokatehola, korišćenjem oscilatorne reakcije. Spektrofotometrijsko praćenje oscilatorne reakcije vršeno je na 460 nm (λ_{max} joda), pri čemu je praćen uticaj dodatka pirokatehola na jedan od ključnih intermedijera BL reakcije – jod (I_2) i mereno vreme inhibicije oscilatorne dinamike u funkciji poznate koncentracije pirokatehola.

Eksperimentalni deo

Vremenska evolucija BL sistema je praćena spektrofotometrijski na 460 nm u radnom režimu *Kinetics*, dok je za snimanje bazne linije korišćena dejonizovana voda. U ovom radu je korišćen UV/VIS spektrofotometar *Agilent 8453* čija je šema prikazana na slici 2. Eksperimenti su izvođeni u zatvorenoj, kvarcnoj kiveti reakcione zapremine od 3 ml. Konstantna temperatura reakcionog rastvora ($65,0 \pm 0,1$) °C regulisana je pomoću termostata (*Julabo*) koji je povezan sa kivetom. Ravnomerno mešanje rastvora u cilju ostvarivanja homogenosti sistema i ravnomerne raspodele temperature postignuto je korišćenjem okruglog magneta. Kiveta sa magnetom prikazana je na slici 3.



Slika 2. Optički sistem spektrofotometra Agilent 8453

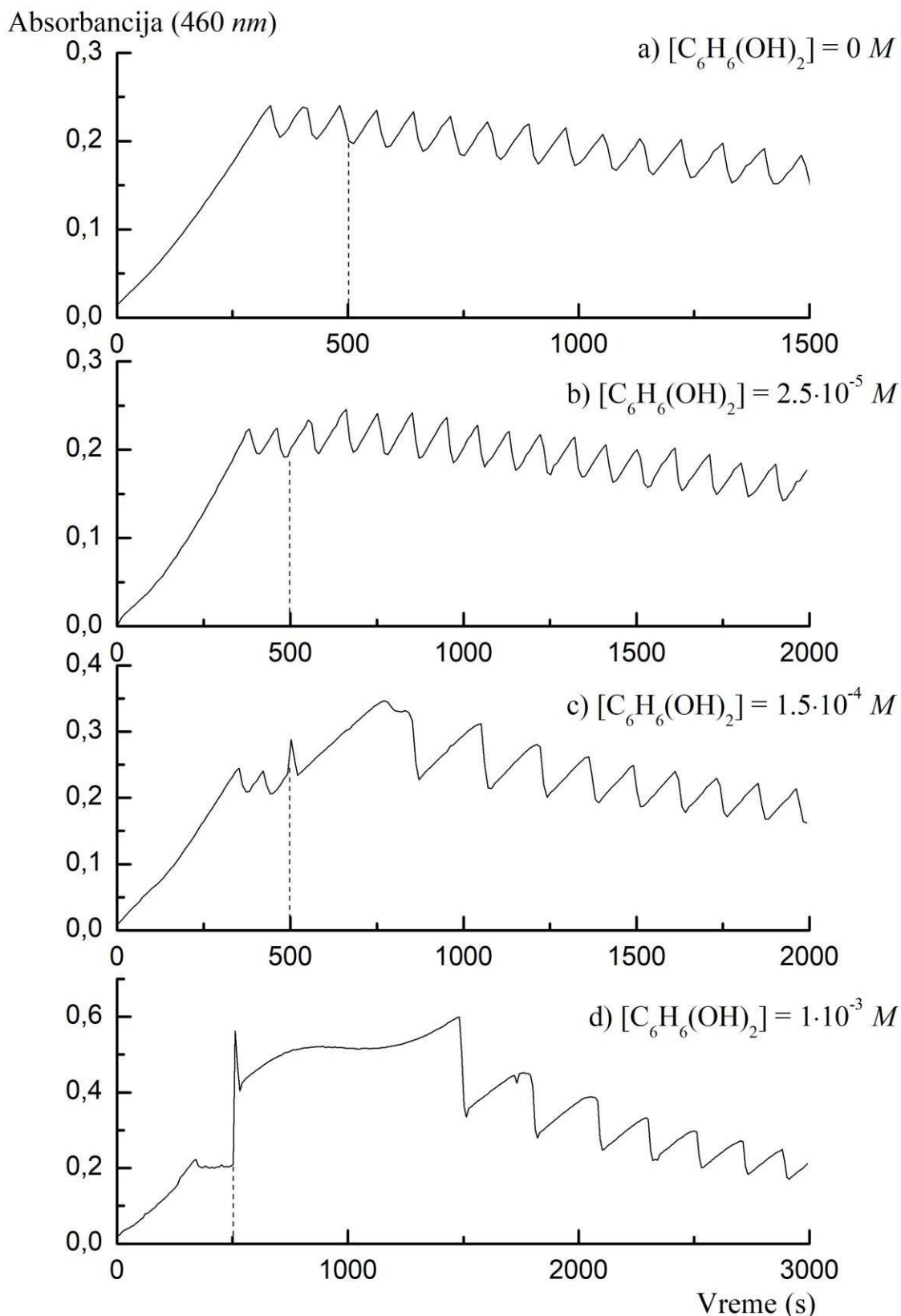


Slika 3. Prikaz kivete sa magnetom

Hemikalije (vodonik-peroksid, kalijum-jodat i sumporna kiselina) koje su korišćenje za BL reakciju su p.a. čistoće i Merck-ove proizvodnje. Sve ove hemikalije su korišćenje za pravljenje rastvora bez dodatnog prečišćavanja, dok su njihovi vodeni rastvori pravljeni sa dejonizovanom vodom specifičnog otpora $18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$. Koncentracije reaktanata u sistemu bile su: $[\text{KIO}_3]_0 = 0,046 \text{ mol/dm}^3$, $[\text{H}_2\text{SO}_4]_0 = 0,075 \text{ mol/dm}^3$ i $[\text{H}_2\text{O}_2]_0 = 0,196 \text{ mol/dm}^3$. Koncentracije pirokatehola u sistemu bile su: $2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol/dm}^3$, $1,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol/dm}^3$ i $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol/dm}^3$. Pirokatehol je dodavan u alikvotu od $50 \mu\text{l}$, 500 s od početka reakcije. Za početak reakcije uzima se momenat dodatka vodonik-peroksida.

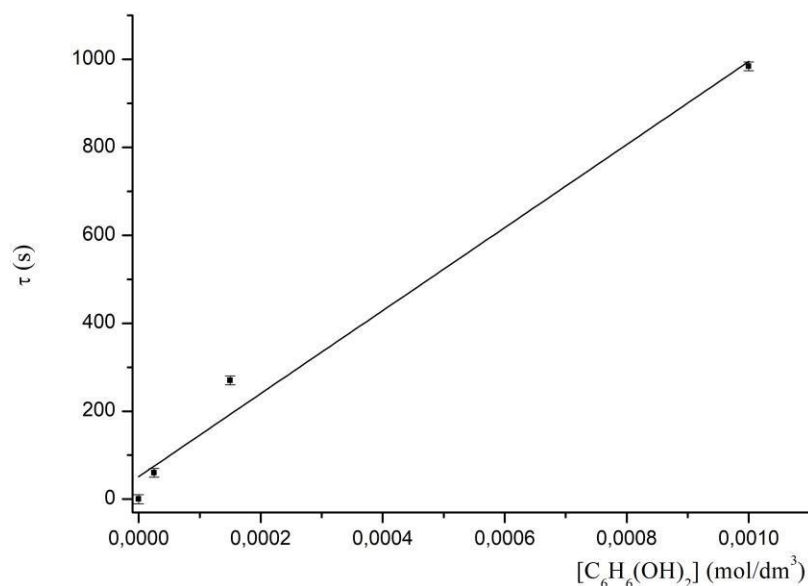
Rezultati i diskusija

Spektrofotometrijski dobijeni Bray-Liebhafsky oscilogrami na 460 nm prikazani su na slici 5. Može se uočiti da sistem ulazi u oscilatornu dinamiku nakon inducionog perioda od $330 \pm 50 \text{ s}$. Za date eksperimentalne uslove, sistem pokazuje testeraste promene absorbancije joda na 460 nm (slika 5a). Na slici 5 a) prikazan je BL oscilogram bez dodatka pirokatehola, dok je na slici 5 b), c), d) prikazana vremenska evolucija BL sistema u prisustvu različitih koncentracija pirokatehola dodatih u 500 s .



Slika 4. BL oscilogrami bez dodatka pirokatehola a) i BL oscilogrami sa dodatkom pirokatehola u 500 s od početka oscilatorne reakcije b), c), d). Oscilogrami su dobijeni pri sledećim eksperimentalnim uslovima $[KIO_3]_0 = 0,046 \text{ mol/dm}^3$, $[H_2SO_4]_0 = 0,075 \text{ mol/dm}^3$ i $[H_2O_2]_0 = 0,196 \text{ mol/dm}^3$, $T=65,0^\circ C$, u ukupnoj zapremini od 3 ml

Iz dobijenih oscilograma se može zaključiti da dodatak pirokatehola menja oscilatornu evoluciju Bray-Liebafsky sistema. Dodavanje male koncentracije (reda veličine 10^{-3} M i manje) pirokatehola uzrokovalo je inhibiranje oscilatorne dinamike, tj. produžavanje vremena do pojave naredne oscilacije, kao i povećanje amplituda oscilacija nakon dodatka analita (slike 5 b), c), d)). Sa povećanjem koncentracije pirokatehola raste vreme inhibicije τ , tj. raste vreme potrebno za ponovno uspostavljanje oscilatorne dinamike. Na slici 6. prikazana je kalibraciona kriva za određivanje nepoznate koncentracije pirokatehola i ona predstavlja vezu između vremena inhibicije oscilatorne dinamike (τ) i koncentracije pirokatehola. Dobijena zavisnost je linearna, $\tau = 9,4 \cdot 10^5 \cdot C_{\text{pirokatehola}} + 51,2$ i može se koristiti za određivanje nepoznate koncentracije pirokatehola.



Slika 5. Grafik zavisnosti vremena inhibicije oscilatornog sistema, τ , od koncentracije pirokatehola

Dobijeni rezultati pokazuju indirektno (praćenjem absorpcije joda na 460 nm) određivanje nepoznate koncentracije pirokatehola, korišćenjem BL hemijskog oscilatora. Ova metoda zasniva se na činjenici da je pirokatehol inhibitor BL oscilacija, pri čemu se meri vreme inhibicije za određenu koncentraciju pirokatehola i pravi kalibraciona kriva. Poznato je da je pirokatehol inhibitor oscilacija u sistemima kao što su Briggs-Rauscher i Belousov-Zhabotinsky (Cervellati i dr., 2001), a ovo je prvi put da je spektrofotometrijski praćen uticaj inhibicije pirokatehola u Bray-Liebafsky oscilatornom sistemu. Važno je napomenuti da je pik absorpcije pirokatehola (na 276 nm) potpuno maskiran pikovima ostalih komponenti BL reakcije koje apsorbuju u UV oblasti i direktno praćenje pirokatehola (na 276 nm) je onemogućeno velikom apsorbancijom reakcionog sistema. Dobijeni rezultati su značajni i sa stanovišta instrumentalnih metoda jer apsorbanciju (koncentraciju) pirokatehola ($\lambda_{\text{max}}=276$ nm) iz ultraljubičaste oblasti (UV), direktno “preslikavaju” u vidljivu (VIS) oblast (460 nm), omogućujući praćenje koncentracije supstance koja apsorbuje u UV oblasti bez korišćenja UV lampe.

Zaključak

U ovom radu, Bray-Liebafsky oscilatorna reakcija se koristi kao analitički sistem za indirektno spektrofotometrijsko (na 460 nm) određivanje koncentracije pirokatehola. Pirokatehol različitih



koncentracija je injektiran u oscilatornom režimu, pri čemu je mereno vreme inhibicije, tj. vreme do ponovnog uspostavljanja oscilatorne dinamike. Sa povećanjem koncentracije pirokatehola raste vreme inhibicije τ , pri čemu je dobijena linearna zavisnost: $\tau = 9,4 \cdot 10^5 \cdot C_{\text{pirokatehola}} + 51,2$. Ova zavisnost se može koristiti za određivanje nepoznate koncentracije pirokatehola. S obzirom da je koncentracija pirokatehola koja utiče na oscilatorni sistem $\ll 10^{-3}$ M, predložena metoda se potencijalno može koristiti za određivanje koncentracije pirokatehola u otpadnim vodama. Takođe, dobijeni rezultati su značajni i sa stanovišta instrumentalnih metoda jer apsorpciju pirokatehola iz ultraljubičaste oblasti direktno “preslikavaju” u vidljivu oblast (460 nm), omogućujući praćenje koncentracije supstance koja apsorbuje u UV oblasti bez korišćenja UV lampe.

Literatura

- Ahammad, A.J., Sarker, S., Rahman, M.A., Lee, J.J. (2009). Simultaneous Determination of Hydroquinone and Catechol at an Activated Glassy Carbon Electrode. *Electroanalysis*, 22(6), 694-700.
- Bray W. C., & Liebafsky H. A. (1931). Reaction involving hydrogen peroxide, iodine and iodate ion. I. Introduction, *Journal of American Chemical Society*, 53, 38-44.
- Cervellati R., Höner K., Furrow S., Neddens C., & Costa S. (2001). The Briggs-Rauscher reaction as a test to measure the activity of antioxidants. *Helvetica Chimica Acta*, 84, 3533-3547.
- Kolar-Anić Lj., & Schmitz G. (1992). Mechanism of the Bray-Liebafsky reaction: Effect of the oxidation of iodous acid by hydrogen peroxide. *Journal of the Chemical Society Faraday Transactions*, 88, 2343-2349.
- Lavrent Khachatryan, L., Adoukpe, J., Maskos Z., Dellinger B. (2006). Formation of Cyclopentadienyl Radical from the Gas-Phase Pyrolysis of Hydroquinone, Catechol, and Phenol. *Environmental Science & Technology*, 40(16), 5071-5076.
- Maksimović, J.,
- Shakir K., Ghoneimy, H.F., Elkafrawy, A.F., Beheir, Sh.G., Refaat M. (2008). Removal of catechol from aqueous solutions by adsorption onto organophilic-bentonite. *Journal of Hazardous Materials*, 150(3), 765-773.
- Vollhardt, L.P., Schore, N.E. (2003). *Organic chemistry: Structure and Function (IV edition)*, New York, USA: Freeman.

EUTEKTIČKI RASTVARAČI NA BAZI GLICEROLA KAO KOSOLVENTI U HETEROGENO KATALIZOVANOJ ETANOLIZI ULJA SEMENA CRNE SLAČICE (*Brassica nigra* L.)

Biljana S. Đorđević¹, Dragan Z. Troter¹, Zoran B. Todorović¹, Ivica G. Đalović², Petar M. Mitrović², Vlada B. Veljković^{1,3}

¹*Tehnološki fakultet, Univerzitet u Nišu, Bulevar oslobođenja 124, 16000 Leskovac, Srbija, djbiljana89@gmail.com*

²*Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Maksima Gorkog 30, Novi Sad, 21000, Srbija*

³*Srpska akademija nauka i umetnosti, Knez Mihailova 35, 11000 Beograd, Srbija*

Izvod

Eutektički rastvarači na bazi glicerola sa holin hloridom ili lecitinom su korišćeni kao kosolventi u etanolizi hladno ceđenog ulja semena crne slačice (*Brassica nigra* L.) katalizovanom komercijalnim žarenim CaO. Reakcija je izvedena u šaržnom reaktoru sa mešalicom pri sledećim reakcionim uslovima: temperatura 70 °C, molski odnos etanol:ulje 12:1, količina kosolventa 20 % u odnosu na masu ulja i količina CaO 10 % u odnosu na masu ulja. Oba eutektička rastvarača su znatno ubrzala reakciju, dok je razdvajanje faza finalne reakcione smeše brže u njihovom prisustvu. Pošto su oba eutektička rastvarača dobijena od jeftinih i prirodnih komponenti, biodegradabilni i “zeleni”, katalitički sistemi koji kombinuju žareni CaO sa njima preporučuju se za primenu kao kosolvent i dalju optimizaciju procesa transesterifikacije.

Ključne reči: *Brassica nigra* L., etil estri masnih kiselina; eutektičke smeše, glicerol, holin hlorid, lecitin

Uvod

U odnosu na goriva fosilnog porekla, biodizel ima pogodna svojstva u vidu biorazgradivosti, obnovljivosti, manje toksičnosti, manje emisije štetnih gasova, kao i mogućnost samostalnog korišćenja ili mešanja sa dizel gorivom za vozila sa dizel motorima [1]. Iako se komercijalni procesi za proizvodnju biodizela zasnivaju na upotrebi jestivih biljna ulja i metanola u prisustvu homogenih baznih katalizatora, novija istraživanja uključuju upotrebu drugih sirovina i katalizatora pri različitim reakcionim uslovima. Upotrebom nejestivih ulja, pored pojeftinjenja procesa, izbegava se upotreba jestivih ulja, dok se upotrebom otpadnih ulja i masti rešava i problem njihovog odlaganja. Dobrobit biodizela iz ulja crne slačice (*Brassica nigra* L.) je smanjena emisija ugljovodonika [2], a u kombinaciji sa dizel gorivom poboljšavaju se njegova fizičko-hemijska svojstva, bez potrebe za modifikacijom dizel motora [3].

Heterogeni katalizatori za sintezu biodizela pružaju manji rizik od korozije, manju opasnost po životnu sredinu, lako izdvajanje iz reakcione smeše i višestruko korišćenje, uz smanjenje troškova proizvodnje, ali su njihovi nedostaci manja brzina reakcije, kao i moguća deaktivacija i luženje u proizvod [4]. Jedan od najčešće testiranih heterogenih katalizatora za proizvodnju biodizela je CaO zbog niske cene, lake dostupnosti, visoke baznosti, nekorozičnosti, netoksičnosti, mogućnosti dobijanja iz otpadnih i prirodnih materijala biljnog ili životinjskog porekla i efikasnosti u šaržnim i kontinualnim procesima bez značajnog gubitka katalitičke aktivnosti [5,6]. Usled osetljivosti CaO na CO₂ i vlagu iz vazduha, što dovodi do građenja CaCO₃ i Ca(OH)₂ na površini čestica katalizatora i smanjenja njegove katalitičke aktivnosti,

aktiviranje CaO pre upotrebe je neophodno. Aktivacija se obično vrši termički na visokoj temperaturi [7] ili hemijski [8,9].

Zamena metanola etanolom u proizvodnji biodizela se opravdava manjom toksičnošću etanola, većom rastvorljivošću u uljima i mogućnošću njegovog dobijanja iz biljnog materijala, čime se dobija potpuno agrarno gorivo [10,11]. Etil estri masnih kiselina (EEMK) se karakterišu većim toplotnim sadržajem i cetanskim brojem, većom oksidativnom stabilnošću, nižim jodnim brojem, boljim lubrikantnim svojstvima i nižim temperaturama zamagljenja i tečenja nego metil estri masnih kiselina (MEMK) [10,11], manjom emisijom izduvnih gasova [10] i većom biorazgradivošću u vodi [11]. Međutim, etanolizu karakterišu sporija reakcija, veća cena, formiranje stabilnijih emulzija, otežano razdvajanje EEMK i glicerola iz reakcione smeše, veća potrošnja energije i veći uticaj vode na prinos EEMK, dok su dobijeni EEMK viskoziji i većeg kiselinskog broja [10]. Zato se današnja istraživanja dobijanja biodizela etanolizom fokusiraju na rešavanje ovih problema.

Jedan od načina povećanja brzine prenosa mase u višefaznim šaržnim reaktorima je dodavanje kosolvenata u reakcionu smešu, čime se pospešuje uzajamna mešljivost reaktanata i omogućava formiranje pseudo-homogenog reakcionog sistema [12]. U proizvodnji biodizela, eutektički rastvarači su se pokazali kao efikasni kosolventi [13]. Oni su netoksični, nezapaljivi, neisparljivi, biodegradabilni, imaju dobre hemijske i fizičke osobine, stabilni su pri visokim temperaturama i mogu se dobiti iz jeftinih, lako dostupnih i prirodnih jedinjenja, uz mogućnost reciklaže [13,14]. Pri tome, oni mogu suzbiti sporedne reakcije, kao što je saponifikacija, što olakšava razdvajanje i prečišćavanje proizvoda [15-17].

Ovaj rad se bavi primenom eutektičkih rastvarača na bazi glicerola sa holin hloridom ili lecitinom u heterogeno katalizovanoj etanolizi hladno ceđenog ulja iz semena crne slačice (*Brassica nigra* L.). Reakcija je izvedena u šaržnom reaktoru sa mešalicom pri sledećim reakcionim uslovima: temperatura 70 °C, molski odnos etanol:ulje 12:1, količina kosolventa 20 % (u odnosu na masu ulja) i količina CaO katalizatora 10 % (u odnosu na masu ulja).

Eksperimentalni deo

Hemikalije

Za pripremu eutektičkih rastvarača korišćeni su holin hlorid ($\geq 98,0$ %; Sigma Aldrich, Sent Luis, SAD), lecitin (iz soje, TCI, Nemačka) i glicerol (stepena čistoće po Ph Eur; MeiLab, Beograd, Srbija). Za transesterifikaciju je korišćeno hladno ceđeno ulje iz semena crne slačice. Apsolutni etanol (99,5 %) je obezbeđen od Sani-Hem-a (Novi Bečej, Srbija). CaO (p.a. 95,0 %) je nabavljen od Centrohema (Stara Pazova, Srbija). Takođe, korišćeni su sledeći rastvarači: *n*-heksan i 2-propanol (HPLC čistoće, JT Baker, Center Valley, Pensilvanija, SAD) i metanol (HPLC čistoće, LGC Promochem, Wesel, Nemačka). Standardi smeše etil estara (palmitinske, stearinske, oleinske, linolne i linolenske kiseline, po 20,0 % od svakog estara), monoolein, diolein i triolein kupljeni su od Sigma Aldrich (Sent Luis, SAD).

Dobijanje hladno ceđenog ulja iz semena crne slačice

Seme crne slačice je dobijeno iz Instituta za ratarstvo i povrtarstvo iz Novog Sada (Srbija) i čuvano u papirnom pakovanju. Ulje je dobijeno postupkom hladnog presovanja semena pužnom presom (KOMET, Nemačka). Posle ceđenja, ulje je filtrirano kroz sterilnu gazu pod vakuumom radi uklanjanja čvrstih ostataka, a zatim kroz filter papir radi uklanjanja finijih čvrstih nečistoća.

Priprema eutektičkog rastvarača

Glicerol je kombinovan sa holin hloridom ili lecitinom u molskom odnosu 2:1. Ova smeša je sipana u jednogrlni stakleni balon sa okruglim dnom, zapremine 100 cm³, koji je postavljen na rotacioni vakuum uparivač na 70 °C i mešana do formiranja homogene tečnosti. Dobijeni eutektički rastvarači su čuvani u dobro zatvorenim staklenim bocama u eksikatoru sa CaCl₂.

Transesterifikacija

Reakcija etanolize je vršena u dvogrlom balonu sa okruglim dnom, zapremine 250 cm³, sa magnetnom mešalicom (maksimalna brzina mešanja) i povratnim kondenzatorom, na 70 °C i atmosferskom pritisku. Balon je postavljen u staklenu komoru, gde je temperatura održavana konstantnom pomoću vode koja cirkuliše iz vodenog kupatila pomoću pumpe. U toku reakcije, uzimani su uzorci reakcione smeše u određenim vremenskim periodima, radi određivanja njenog sastava. CaO je žaren pre upotrebe na 550 °C tokom 2 h [7], ohlađen i čuvan u dobro zatvorenoj, staklenoj bočici u eksikatoru sa CaCl₂ i KOH. U svim eksperimentima u reakcionom balonu su dodati etanol (23,308 g), katalizator (4 g) i kosolvent (8 g). Suspenzija je držana na željenoj temperaturi, uz mešanje, tokom 30 min, nakon čega je mešalica isključena, a u balon sipano ulje (40 g), prethodno zagrejano na 70 °C. Zatim je mešalica ponovo uključena i napredovanje reakcija je praćeno uzimanjem uzoraka (1 cm³) mikropipetom u definisanim vremenskim intervalima. Reakcija je prekidana dodatkom potrebne količine vodenog rastvora HCl (5 M) radi neutralizacije CaO, a uzorci su potom centrifugisani (Sigma 2-6E, Nemačka; 3500 min⁻¹, 10 min). Gornji sloj (EEMK frakcija) je izvlačen mikropipetom, rastvoren u smeši 2-propanol/*n*-heksan (5:4 v/v) u odnosu 1:200 i filtriran kroz filter (0,45 μm, Millipore). Dobijeni filtrat je korišćen za kvalitativno i kvantitativno određivanje sastava reakcione smeše.

Separacija proizvoda

Reakciona smeša dobijena nakon završetka etanolize je sipana u levak za odvajanje i gravitaciono razdvojena na sobnoj temperaturi. U toku separacije formirana su tri sloja. Gornji sloj se sastoji od EEMK i manjih količina triacilglicerola (TAG), diacilglicerola (DAG), monoacilglicerola (MAG) i CaO, srednji sloj sadrži višak etanola, glicerola i korišćenog kosolventa, a donji sloj je CaO talog.

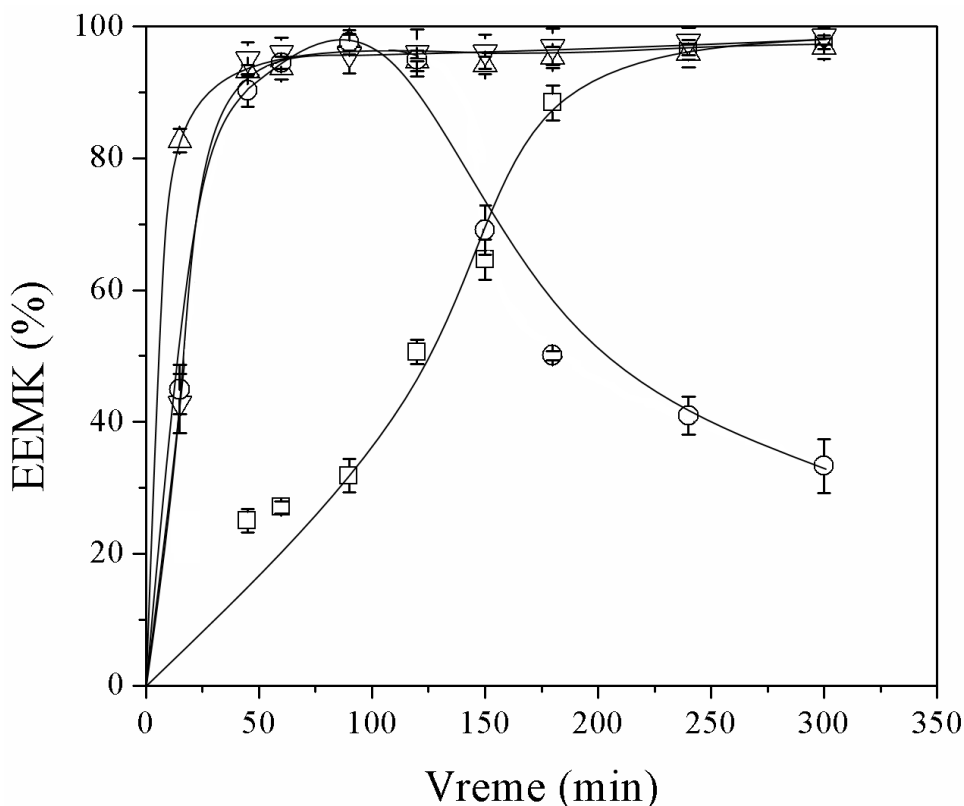
Analitičke metode

Sastav reakcione smeše

Sastav reakcione smeše je određivan metodom tečne hromatografije pod pritiskom (HPLC), pomoću hromatografa Agilent 1100 Series, koji je opremljen degaserom, binarnom pumpom, termostatisanom kolonom (Zorbax Eclipse XDB-C18, 4,6x150 mm, 5 μm) i UV/VIS detektorom. Zapremina injektiranog uzorka je 20 μl, a protok smeše metanola (rastvarač A) i 2-propanol/*n*-heksan (5/4 v/v, rastvarač B) 1 cm³/min, sa linearnim gradijentom od 100 % A do 40 % A + 60 % B za 15 min. Temperatura kolone je 40 °C. Komponente su detektovane na 205 nm. Kalibracione krive, dobijene korišćenjem standardne smeše EEMK i standardom TAG [18], korišćene su za kvantifikaciju EEMK i TAG. Sadržaji TAG, DAG, MAG i EEMK su izračunati iz površina odgovarajućih pikova.

Rezultati i diskusija

Promene sadržaja EEMK u toku etanolize hladno ceđenog ulja semena crne slačice u prisustvu ili odsustvu CaO, sa dodatkom eutektičkih rastvarača na bazi glicerola, prikazane su na slici 1. U odsustvu CaO nije primećena reakcija između ulja i etanola, što ukazuje da eutektički rastvarači ne pokazuju katalitičku aktivnost.



Slika 1 Promene sadržaja EEMK u toku etanolize hladno ceđenog ulja semena crne slačice u prisustvu žarenog CaO (□) bez dodatka kosolventa i sa dodatkom eutektičkih rastvarača lecitin:glicerol (1:2) (△) i holin hlorid:glicerol (1:2) (▽), kao i glicerola (○) (temperatura 70 °C, molski odnos etanol:ulje 12:1, količina kosolventa 20 % u odnosu na masu ulja i količina CaO katalizatora 10 % u odnosu na masu ulja)

Kod CaO-katalizovane etanolize hladno ceđenog ulja semena crne slačice primetna je katalitička aktivnost žarenog CaO, što se objašnjava postojanjem aktivnih centara na površini katalizatora koji su aktivirani žarenjem. Sigmoidalna zavisnost sadržaja EEMK od vremena, tipična za ovaj trofazni reakcioni sistem, pripisuje se ograničenju prenosa mase na početku reakcije, što je karakteristično za reakcije etanolize drugih biljnih ulja u prisustvu CaO [15,19]. Sadržaj EEMK se povećava sporo tokom početne faze reakcije zbog spore konverzije TAG. Korišćenjem žarenog CaO kao katalizatora, sadržaj EEMK posle 120 min je $50,6 \pm 1,8$ %, a $96,17 \pm 1,2$ % posle 240 min; nadalje, sadržaj EEMK se sporije povećava.

Ova reakcija se odvija znatno brže u prisustvu kosolventa (eutektičkog rastvarača). U prisustvu hidrofobnog eutektičkog rastvarača lecitin:glicerol (1:2), visoki sadržaji EEMK se ostvaruju već posle 45 min ($93,25 \pm 0,9$ %), nakon čega se sadržaj povećava sporije. Prisustvo hidrofilnog eutektičkog rastvarača holin hlorid:glicerol (1:2) ima, takođe, pozitivan uticaj na reakciju ali je on u početnoj fazi reakcije manji od uticaja hidrofobnog kosolventa. Tako je sadržaj EEMK u prisustvu kosolventa holin hlorid:glicerol (1:2) samo $42,8 \pm 4,5$ % posle 15 min, što je značajno manje od sadržaja EEMK koji se za isto vreme postiže u prisustvu hidrofobnog eutektičkog rastvarača ($82,7 \pm 1,8$ %). Međutim, sadržaj EEMK posle 45 min u prisustvu kosolventa holin hlorid:glicerol (1:2) ($95,1 \pm 2,5$ %) je sličan sadržaju EEMK u prisustvu hidrofobnog eutektičkog rastvarača lecitin:glicerol (1:2). Daljim napredovanjem reakcija sa eutektičkim rastvaračima sadržaj EEMK se neznatno povećava. Kada je kao kosolvent korišćen čist glicerol, sadržaj EEMK se povećava u početnoj fazi reakcije, dostiže maksimum (sadržaj EEMK od $97,62 \pm 1,3$ % posle 90 min) i potom počinje da se smanjuje. Smanjenje sadržaja EEMK pripisuje se povratnoj reakciji usled povećanja koncentracije glicerola (proizvoda transesterifikacije) u reakcionoj smeši [15].

Separacija EEMK

Razdvajanje faza reakcione smeše nakon završene etanolize koja sadrži eutektičke rastvarače znatno je brže od razdvajanja faza reakcione smeše koja ne sadrži eutektičke rastvarače. Tako, smeše sa eutektičkim rastvaračem se izdvajaju u tri sloja posle 30 min. Ovaj fenomen se može pripisati smanjenom stepenu formiranja sapuna u prisustvu eutektičkih rastvarača, kao što je primećeno kod etanoliza drugih uljnih sirovina [15-17], što olakšava izdvajanje faza. S druge strane, sistemi koji sadrže CaO i glicerol su ostali veoma viskozni čak i posle 12 sati stajanja na sobnoj temperaturi, a izdvajanje faza je bilo jako sporo.

Zaključak

Eutektički rastvarači na bazi glicerola su korišćeni kao kosolventi u CaO-katalizovanoj etanolizi hladno ceđenog ulja semena crne slačice. Hidrofobni lecitin:glicerol (1:2) se pokazao uspešnijim kosolventom od hidrofilnog hlorid:glicerola (1:2) u početku reakcije, dok je posle 45 min reakcije njihova efikasnost približna. Čist glicerol, kao kosolvent, ubrzava reakciju do 90 min, nakon čega prinos EEMK opada. Oba kosolventa su ubrzala izdvajanje estara iz finalne reakcione smeše.

Zahvalnica: Ovaj rad je finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Program finansiranja naučnoistraživačkog rada na Tehnološkom fakultetu u Leskovcu Univerziteta u Nišu, grupa istraživača III 45001, ev. br. 451-03-68/2020-14/200133).

Literatura

- [1] Živković, S. B., Veljković, M. V., Banković-Ilić, I. B., Krstić, I. M., Konstantinović, S. S., Ilić, S. B., Avramović, J. M., Stamenković, O. S., Veljković, V. B. (2017). Technological, technical, economic, environmental, social, human health risk, toxicological and policy considerations of biodiesel production and use. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 79, 222-247.
- [2] Sanjid, A., Masjuki, H.H., Kalam, M.A., Abedin, M.J., Ashrafur Rahman, S. M. (2014). Experimental investigation of mustard biodiesel blend properties, performance, exhaust emission and noise in an unmodified diesel engine. *APCBEE Procedia*, 10, 149-153.
- [3] Senthil, R., Ravichandiran, N., Silambarasan, R. (2015). Experimental investigation of single cylinder C.I engine using mustard and neem oil as a biodiesel. *International Journal of ChemTech Research*, 7(6), 2738-2744.
- [4] Veljković, V.B., Banković-Ilić, I.B., Stamenković, O.S. (2015). Purification of crude biodiesel obtained by heterogeneously-catalyzed transesterification. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 49, 500-516.
- [5] Kesić, Ž., Lukić, I., Zdujić, M., Mojović, L., Skala, D. (2016). Calcium oxide based catalysts for biodiesel production: a review. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 22(4), 391-408.
- [6] Marinković, D.M., Stanković, M.V., Veličković, A.V., Avramović, J.M., Miladinović, M.R., Stamenković, O.S., Veljković, V.B., Jovanović, D.M. (2016). Calcium oxide as a promising heterogeneous catalyst for biodiesel production: Current state and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 56, 1387-1408.
- [7] Veljković, V.B., Stamenković, O.S., Todorović, Z.B., Lazić, M.L., Skala D.U. (2009). Kinetics of sunflower oil methanolysis catalyzed by calcium oxide. *Fuel*, 88(9), 1554-1562.
- [8] Esipovich, A., Danov, S., Belousov, A., Rogozhin, A. (2014). Improving methods of CaO transesterification activity. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 395, 225-233.

- [9] Lopez Granados, M., Alba-Rubio, A.C., Vila, F., Martin Alonso, D., Mariscal, R. (2010). Surface chemical promotion of Ca oxide catalysts in biodiesel production reaction by the addition of monoglycerides, diglycerides and glycerol. *Journal of Catalysis*, 276(2), 229-236.
- [10] Stamenković, O.S., Veličković, A.V., Veljković, V.B. (2011). The production of biodiesel from vegetable oils by ethanolysis: Current state and perspectives. *Fuel*, 90(11), 3141-3155.
- [11] Li, Q., Xu, J., Du, W., Li, Y., Liu, D. (2013). Ethanol as the acyl acceptor for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 25, 742-748.
- [12] Todorović, Z.B., Stamenković, O.S., Stamenković, I.S., Avramović, J.M., Veličković, A.V., Banković-Ilić, I.B., Veljković, V.B. (2013). The effects of cosolvents on homogeneously and heterogeneously base-catalyzed methanolysis of sunflower oil. *Fuel*, 107, 493-502.
- [13] Troter, D.Z., Todorović, Z.B., Đokić-Stojanović, D.R., Stamenković, O.S., Veljković, V.B. (2016). Application of ionic liquids and deep eutectic solvents in biodiesel production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 61, 473-500.
- [14] Vanda, H., Dai, Y., Wilson, E.G., Verpoorte, R., Choi, Y.H. (2018). Green solvents from ionic liquids and deep eutectic solvents to natural deep eutectic solvents. *Comptes Rendus Chimie*, 21(6), 628-638.
- [15] Troter, D.Z., Todorović, Z.B., Đokić-Stojanović, D.R., Veselinović, Lj.M., Zdujić, M.V., Veljković, V.B. (2018). Choline chloride-based deep eutectic solvents in CaO-catalyzed ethanolysis of expired sunflower oil. *Journal of Molecular Liquids*, 266, 557-567.
- [16] Manurung, R., Ramadhani, D.A., Maisarah, S. (2017). One step transesterification process of sludge palm oil (SPO) by using deep eutectic solvent (DES) in biodiesel production. *AIP Conference Proceedings*, 1855, 070004-1-070004-8.
- [17] Manurung, R., Winarta, A., Taslim, Indra, L. (2017). Biodiesel production from ethanolysis of palm oil using deep eutectic solvent (DES) as co-solvent. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 206, 012023-1-012023-8.
- [18] Stamenković, O.S., Rajković, K., Veličković, A.V., Milić, P.S., Veljković, V.B. (2013). Optimization of base-catalyzed ethanolysis of sunflower oil by regression and artificial neural network models. *Fuel Processing Technology*, 114, 101-108.
- [19] Veličković, A.V., Avramović, J.M., Stamenković, O.S., Veljković, V.B. (2016). Kinetics of the sunflower oil ethanolysis using CaO as catalyst. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly*, 22(4), 409-418.

SORPCIJA HERBICIDA NA ODABRANIM GEOSORBENTIMA

dr Anita Leovac Maćerak

Prirodno matematički fakultet, Univerzitet u Novom Sadu, Trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Srbija, anita.leovac@dh.uns.ac.rs

Izvod

Ispitivanje sorpcije trifluralina, alahlora i atrazina je sprovedeno na četiri sorbenta (dve organski modifikovane gline, jednom model sedimentu i jednom prirodnom sedimentu) u tri vodena matriksa. Ispitivan je uticaj karakteristika sorbenta i vodenih matriksa na sorpciju. Sve adsorpcione izoterme pripadaju Frojndlihovom tipu izotermi. Na osnovu dobijenih K_d vrednosti, dokazano je da su organski modifikovan bentonit i model sediment najefikasniji sorbenti za ispitivane herbicide. Izvršeno je koreliranje sorpcionih koeficijenata (K_d) sa sadržajem TOC u sorbentima. Korelacija između K_d vrednosti i sadržaja TOC ($R^2 = 0,886$) je bila prihvatljiva jedino u slučaju trifluralina i sintetičkog vodenog matriksa pri najnižem koncentracionom nivou (0,01 mg/l). Odsustvo jasne linearne korelacije između K_d i %TOC upućuje na moguću važnost interakcija mineralne faze i herbicida. Dodatno, rezultati pokazuju različite uticaje tipa i koncentracije rastvorenog organskog ugljenika u vodenoj fazi na sorpciju herbicida, u zavisnosti od primenjenog tipa sorbenta i koncentracionog nivoa sorbata. Dobijeni podaci su značajni sa aspekta remedijacije zagađenih područja.

Ključne reči: *adsorpcija, sorbenti, organska materija, herbicidi, vodeni matriksi*

Uvod

Prisustvo organskih zagađujućih supstanci u akvatičnoj sredini predstavlja jedan od najvećih izazova za održivo upravljanje vodama, naročito u sušnim regionima, gde se nameće potreba ponovne upotrebe vode. Sorpcioni procesi različitog tipa koji mogu imati mehanizme adsorpcije i jonske izmene značajni su za mnoge procese u tretmanu voda. Sorpcija se odvija na prelazu faza gde je vodena faza u kontaktu sa nekim čvrstim materijalom, pri čemu može doći do akumulacije i retardacije organskih supstanci. To mogu biti prirodni materijali izvorišta na kojima se odvijaju procesi (bio)filtracije spontano ili kontrolisano tokom obalske filtracije. U okviru hidrološkog ciklusa se dešava samoprečišćavanje na prirodnim geosorbentima sorpcijom i biodegradacijom. Geosorbent je prirodni sorbent poput zemljišta i materijala vodonosnih slojeva. Geosorbenti predstavljaju heterogenu fazu čiji sastav direktno utiče na sorpciju i zadržavanje organskih ksenobiotika. Sastoje se iz mineralnog i organskog dela. Poznato je da organska materija sedimenta ima ključni uticaj na sorpciju organskih polutanata [1]. Među neorganskim komponentama, prisutnim u geosorbentu, minerali gline i raznih oksida (oksidi, hidroksidi i oksihidroksidi Al i Fe) su pokazali značajni doprinos sorpciji pesticida [2], usled čega se može zaključiti da sorpcioni kapacitet geosorbenta prema pesticidima zavisi od minerala prisutnih u glini, sadržaja Fe- i Al-oksida, kao i od sadržaja i sastava organske materije.

U slučaju kontaminiranih područja moguće je primeniti i specijalne sorbente. Prirodne gline imaju slab afinitet prema većini hidrofobnih organskih jedinjenja, i zbog toga se retko koriste kao sorbenti. Međutim, organogline se koriste kao efikasni sorbenti za uklanjanje organskih jedinjenja iz vode i vazduha, kao sorptivne barijere za remedijaciju kontaminiranih podzemnih voda i deponija. Sanchez-Himenez i sar. [3] su ispitivali mogućnost nekoliko vrsta glina kao

materijala koji će služiti kao barijere na lokalnim deponijama za sprečavanje izluživanja otpadnih voda u podzemlje. Ispitivana je sorpcija organskih ksenobiotika različite polarnosti i rastvorljivosti u vodi (atrazina, benzamida, metomila, parakvata i toluena) na glinama koje potiču sa nekoliko lokacija u Španiji. Dobijeni podaci su modelovani Lengmirovom izotermom. Veći adsorpcioni kapaciteti su dobijeni za parakvat (50 – 62 mmol/kg) i toluen (19 – 34 mmol/kg), dok su manje hidrofobna jedinjenja imala manje adsorpcione kapacitete (0,7 – 2,5 mmol/kg). Zaključeno je da ispitivane gline mogu biti korišćene kao barijere u kontrolisanim gradskim deponijama. Chen i sar. [4] su ispitivali sorpciju naftalena, p-nitrotoluena, nitrobenzena i m-dinitrobenzena iz vode na prirodnom bentonitu i cetiltrimetilamonijum-bentonitu (CTMA-bentonit). Afiniteti jedinjenja prema prirodnom bentonitu su bili izuzetno slabi sa K_d vrednostima od 0,41 do 0,94 ml/g. Međutim, sorpcija ovih jedinjenja se drastično povećala u prisustvu CTMA-bentonita, a K_d vrednosti su se povećale 5360, 780, 40 i 200 puta za naftalen, p-nitrotoluen, nitrobenzen i m-dinitrobenzen, redom.

Adsorpcija rastvorenih organskih supstanci na sedimentu je veoma važna u atenuaciji organskih ksenobiotika prilikom obalske filtracije ili prilikom remedijacije, s obzirom da različiti sorbenti mogu sprečiti izluživanje organskih jedinjenja u reke, jezera i podzemne vode.

Odabrani su ksenobiotici različite rastvorljivosti, hidrofobnosti i donorsko-akceptorskih osobina, koji pripadaju različitim klasama herbicida (dinitroanilinski - trifluralin, hloraacetamidni - alahlor i triazinski - atrazin). Ispitano je njihovo adsorpciono ponašanje na dunavskom i model sedimentu i na dvema organoglinama (tetrametilamonijum-bentonit i tetrametilamonijum-kaolinit) u uslovima sintetičkog i prirodnog vodenog matriksa (površinske i podzemne vode). Sadržaj DOC je iznosio u opsegu od 0,5 do 7,2 mg/l. Ciljevi rada su bili: (1) određivanje i poređenje sorpcionih koeficijenata herbicida na ispitivanim geosorbentima, (2) ispitivanje uticaja karakteristika geosorbentata i vodenih matriksa (tip i koncentracija DOC) na adsorpciju herbicida sa ciljem postuliranja mehanizama adsorpcije. Ovaj rad je baziran pre svega na ispitivanu adsorpcije u prirodnim vodenim matriksima koji su približniji uslovima u životnoj sredini.

Eksperimentalni deo

Hemikalije

Svi herbicidi (čistoće >99%) kupljeni su kao čvrste supstance od Sigma Aldrich Chemical Company. Njihovi odgovarajući rastvori su napravljeni u metanolu (oko 1000 µg/ml). Svi ostali rastvarači i hemikalije korišćene pri gasnohromatografskoj (GC) analizi su bili GC i *p.a.* čistoće.

Geosorbenti i vodeni matriksi

Prirodni sediment (D sediment) predstavlja sediment reke Dunav koji je uzet u blizini izvorišta Štrand, Novi Sad. Nekoliko uzoraka je uzeto sa različitih dubina, u opsegu od 0 do 30 cm, od čega je napravljen kompozit kako bi se dobio reprezentativan uzorak. Model sediment (M sediment) je pravljen prema OECD standardu (75% kvarc, 20% kaolin i 5% treset) [5]. Organski modifikovani bentonit i kaolinit (tetrametilamonijum-bentonit-TMA-B i tetrametilamonijum-kaolinit-TMA-K, redom) su pripremani prema proceduri Groisman i sar., (2004) [6].

Ispitivani geosorbenti imaju različit sadržaj ukupnog organskog ugljenika koji iznosi 0,14%; 1,20%; 2,20% i 3,92%, za TMA-K, D, M i TMA-B, redom. Elementalna analiza je pokazala da je ukupni azot prisutan u malim količinama u svim sorbentima (< 0,1%), izuzev kod TMA-B koji je sadržao 0,35% N. Ukupni sadržaj C je opadao u nizu: 4,87% (TMA-B) > 2,88% (D) > 2,60% (M) > 0,27% (TMA-K). Podaci o specifičnoj površini i zapremini pora ukazuju na veću specifičnu površinu organoglina u odnosu na prirodni i model sediment (17,7 m²/g i 84,1 m²/g za TMA-K i

TMA-B, redom), kao i zapreminu pora određenu BJH metodom (za M and D $\sim 0,02 \text{ cm}^3/\text{g}$ i za TMA-B i TMA-K $\sim 0,2 \text{ cm}^3/\text{g}$). T-test metod je ukazao na prisustvo mikropora samo u slučaju TMA-B ($0,007 \text{ cm}^3/\text{g}$), dok je HK metod pokazao da svi sorbenti sadrže mikropore, među kojima TMA-B ima najveći i najznačajniji sadržaj mikropora. Vodeni matriksi korišćeni u radu su: sintetički vodeni matriks ($0,01 \text{ mol}/\text{dm}^3$ rastvor CaCl_2 u destilovanoj vodi, uz dodatak $100 \text{ mg}/\text{l}$ NaN_3 kao biocida), površinska voda reke Dunav ($\text{DOC} = 7,2 \text{ mg}/\text{l}$) i podzemna voda bogata prirodnim organskim materijama uzeta sa dubine od 400 m iz akvifera na području mesta Bački Petrovac ($\text{DOC} = 3,5 \text{ mg}/\text{l}$).

Sorpcioni eksperimenti

Na osnovu kinetičkih ispitivanja odabrano je vreme uravnotežavanja za uzorke dunavskog sedimenta od 24 h za sva tri herbicida, za model sediment $5, 48$ i 24 h za trifluralin, alahlor i atrazin, redom. Vreme uravnotežavanja u slučaju TMA-K i TMA-B je 24 h za trifluralin i alahlor, a za atrazin 48 h [7]. Početne koncentracije herbicida u šaržnim eksperimentima su se kretale od 100 do $2000 \text{ }\mu\text{g}/\text{l}$, a koncentracija dodatog metanola u konačnom rastvoru bila je $<0,1\%$ (v/v). Količina geosorbenata u svakom eksperimentu je podešena tako da dobijeni odnos geosorbent/rastvor rezultuje sorpcijom organskog jedinjenja u opsegu od $60-80\%$.

Analiza herbicida

Alikvoti svake vodene faze (1 ml za analizu trifluralina i 30 ml za analizu alahlora i atrazina) su ekstrahovani heksanom (1 ml) (J.T. Baker, za analizu organskih tragova). Analiza trifluralina je vršena primenom modifikovane metode [8] koja je razvijena i akreditovana u Laboratoriji za hemijska ispitivanja životne sredine „dr Milena Dalmacija“, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad. Analiza alahlora i atrazina je vršena prema modifikovanoj EPA metodi [9]. Nakon 15 minuta tečno-tečne ekstrakcije, $0,5 \text{ ml}$ ekstrakta je preneto u vijal od čega je $2 \text{ }\mu\text{l}$ injektovano za analizu gasnom hromatografijom sa detektorom sa zahvatom elektrona (GC/ μECD ; Agilent Technologies 6890 with 63Ni ECD) na DB-XLB koloni (J&W Scientific, $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,25 \text{ }\mu\text{m}$).

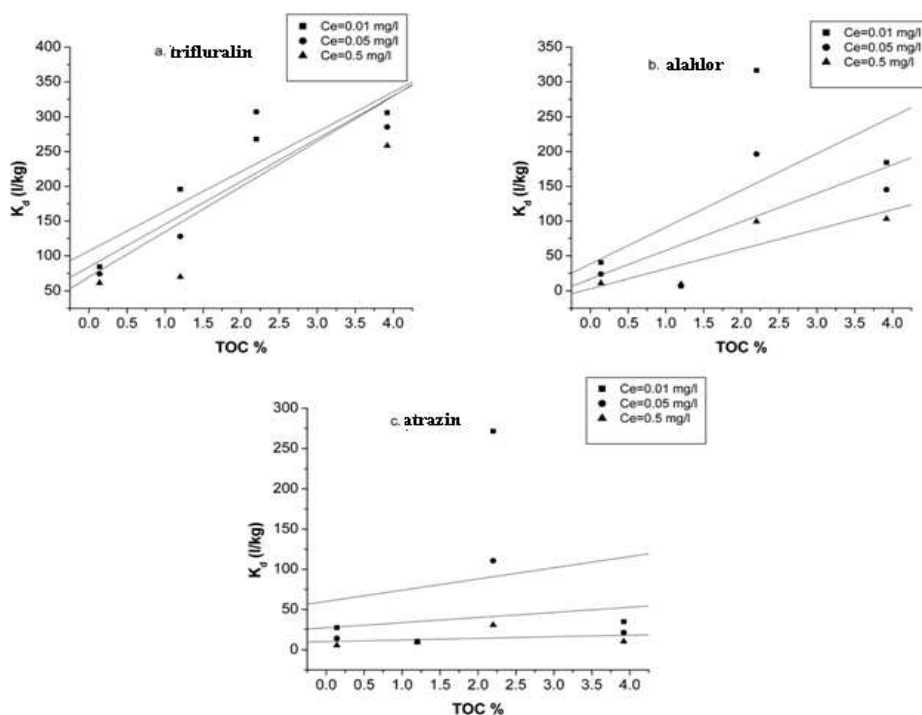
Analiza podataka

Za obradu podataka korišten je Frojndlihov model sorpcije, $q = K_F C_e^n$, gde su: q_e – masa jedinjenja sorbovana po jedinici mase sorbenta ($\mu\text{g}/\text{g}$), C_e – ravnotežna koncentracija jedinjenja u vodi (mg/l), K_F – Frojndlihova konstanta ($(\mu\text{g}/\text{g})/(\text{mg}/\text{l})^n$) i n – Frojndlihov eksponent. Koeficijent raspodele (K_d , l/kg) je računat prema izrazu $K_d = K_F C_e^{n-1}$.

Rezultati i diskusija

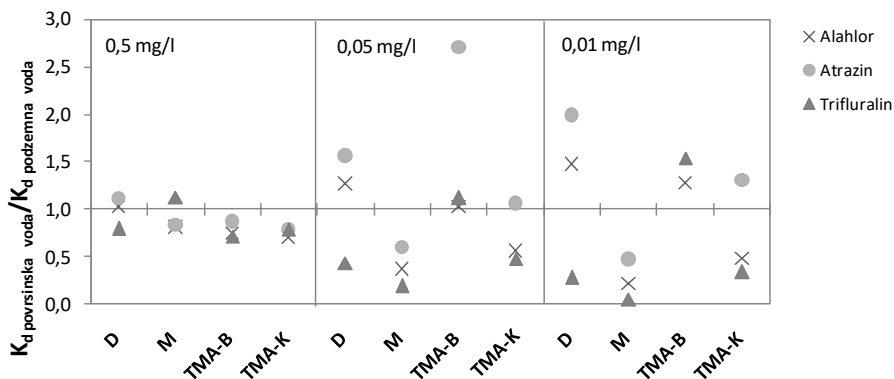
Na osnovu K_d vrednosti dobijenih u šaržnim eksperimentima, dokazano je da su TMA-B ($K_d = 10,5 - 483 \text{ l}/\text{kg}$) i model sediment ($K_d = 16,4 - 761 \text{ l}/\text{kg}$) najefikasniji sorbenti za ispitivane herbicide. Na dunavskom sedimentu i na TMA-K vrednosti K_d bile su u opsezima $4,7 - 233,6 \text{ l}/\text{kg}$ i $5,7 - 275,1 \text{ l}/\text{kg}$, redom. Dva sorbenta imaju najveći sadržaj TOC, dok TMA-B ima najveću specifičnu površinu, zapreminu pora i sadržaj mikropora. Model sediment ima malu specifičnu površinu, i deset puta manju zapreminu pora u odnosu na TMA-K, ali je pokazao bolje sorpcione karakteristike u odnosu na ostala dva sorbenta, najverovatnije zbog visokog sadržaja ugljenika i mogućih interakcija polutanata sa mineralnom fazom. Izvršeno je koreliranje sorpcionih

koeficijenta (K_d) sa sadržajem TOC u sorbentima. Na slici 1 su prikazane korelacije dobijene u sintetičkom matriksu. Korelacija između K_d vrednosti i sadržaja TOC ($R^2 = 0,886$) je bila prihvatljiva jedino u slučaju trifluralina i sintetičkog vodenog matriksa pri najnižem koncentracionom nivou (0,01 mg/l). Odsustvo jasne linearne korelacije između K_d i %TOC upućuje na moguću važnost interakcija mineralne faze i herbicida. Nedostatak jasne linearne korelacije može biti posledica različite prirode TOC u različitim uzorcima sorbenata (samo organogline imaju TOC iste strukture), kao i doprinosa mineralne faze sorpciji. Poređenjem sedimenata međusobno kao i organoglina međusobno dolazi se do zaključka da povećanje sadržaja TOC povećava vrednost K_d za oba tipa sorbenata. Sva tri herbicida mogu formirati vodonične veze sa sorbentima. Hidrofilne grupe u strukturi alahlora mogu imati afinitet za H-vezivanje sa elektropozitivnim funkcionalnim grupama na površini glina i/ili za H-veze sa O- i N-funkcionalnim grupama koje se nalaze na makromolekulima HS. U slučaju atrazina, postoji mogućnost H-vezivanja između polarnih grupa (C=O, OH) prisutnih na površini sorbenata i N atoma u atrazinovom prstenu. Trifluralin, učestvuje u H-vezama preko elektropozitivnih nukleusa funkcionalnih grupa kao što su -OH, -NH, Si-OH ili Al-OH prisutnih na mineralnim česticama sorbenata. Na osnovu K_d rezultata dobijenih za istraživane ravnotežne koncentracije, M sediment i TMA-B (2,20% i 3,92% OC) su pokazali najveće K_d vrednosti (30,6 – 373,7 l/kg za M sediment i 10,5 – 306 l/kg za TMA-B). TMA-B ima najveću specifičnu površinu (84,1 cm²/g), najveći sadržaj organskog ugljenika (3,92%), mikropora (0,0324 cm³/g) i azota (0,35%) u svojoj strukturi. Model sediment ima malu specifičnu površinu (1,73 cm²/g) i neznatan sadržaj mikropora (0,0006 cm³/g), ali i dalje visok sadržaj organskog ugljenika (2,20%) (manji od TMA-B, ali veći od ostalih sorbenata). Prisustvo kaolinita (20%) u njegovoj strukturi može biti korisno za sorpciju herbicida. Kaolinit ima i visok afinitet za organske komponente u poređenju sa ostalim glinama. Literaturni podaci [10] pokazuju da je svega 25% površine kaolinita hidrofilno, dok je ostatak ili neutralan ili hidrofoban. Dodatno, prisustvo treseta može doprineti sorpciji preko prenosa naelektrisanja ili hidrofobnih interakcija između benzenovog prstena herbicida i aromatičnog nukleusa treseta. Međutim, na osnovu dobijenih rezultata ne može se utvrditi jasan doprinos mineralne i organske faze.



Slika 1 Korelacija između K_d (l/kg) i % TOC za ispitivane herbicide u sintetičkom vodenom matriksu

Na slici 2 je prikazan odnos K_d vrednosti u površinskoj vodi i K_d vrednosti u podzemnoj vodi za ispitivane herbicide pri različitim koncentracijama. Može se zaključiti da postoje zavisnosti sorpcionih koeficijenata od tipa matriksa i da su one prisutne pri nižim koncentracijama. Za trifluralin, komponentu sa najvećom $\log K_{OW}$ vrednosti i najnižom rastvorljivosti, odnos K_d površinska voda/ K_d podzemna voda < 1 je zapažen u većini slučajeva (K_d u podzemnoj vodi su veći u 9 slučajeva od ukupno 12). Međutim, pri C_e nivou od 0,5 mg/l model sediment ima veći K_d u površinskoj vodi. Pri 10 – 50 puta nižoj koncentraciji herbicida (0,01 i 0, 05 mg/l), povećana sorpcija je zapažena samo na TMA-B.



Slika 2 Odnos K_d površinska voda/ K_d podzemna voda za sorpciju herbicida iz prirodnih voda pri različitim koncentracijama

U slučaju atrazina, isto sorpciono ponašanje je zapaženo kao i kod alahlora pri najvećem koncentracionom nivou (D sediment je bio jedini koji ima veće K_d vrednosti u površinskoj vodi). Pri nižim koncentracijama, pored D sedimenta, obe organogline imaju veće K_d u površinskoj vodi. M sediment jedini ima veće K_d u podzemnoj vodi. Na kraju, K_d su veći u podzemnoj vodi u 5 od ukupno 12 slučajeva (K_d površinska voda/ K_d podzemna voda < 1). Može se zaključiti da za supstance sa nižim $\log K_{OW}$ vrednostima, sorpcija za većinu sorbenata biva favorizovana u površinskoj vodi, najverovatnije usled nižeg sadržaja huminskih supstanci kao potencijalnih kompetitora za sorpciona mesta i/ili solubilizacionog efekta koji može biti prisutan u podzemnoj vodi.

Zaključak

Na osnovu K_d vrednosti dobijenih u šaržnim eksperimentima, dokazano je da su TMA-B ($K_d = 10,5 - 483$ l/kg) i model sediment ($K_d = 16,4 - 761$ l/kg) najefikasniji sorbenti za ispitivane herbicide. Što se tiče uticaja matriksa, rezultati pokazuju da su važni i tip i koncentracija rastvorenog organskog ugljenika u vodenoj fazi za sorpciju herbicida, u zavisnosti od primenjenog tipa sorbenta i koncentracionog nivoa sorbata.

Literatura

- [1] Liu, P., Zhu, D., Zhang, H., Shi, X., Sun, H., Dang, F. (2008) Sorption of polar and non polar aromatic compounds to four surface soils of eastern China. *Environmental Pollution*, 156, 1053-1060.
- [2] Ehlers, G. A. C., Loibner, A. P. (2006) Linking organic pollutant (bio) availability with geosorbent properties and biomimetic methodology: A review of geosorbent characterisation and (bio) availability prediction. *Environmental Pollution*, 141, 494-512.
- [3] Sanchez-Himenez, N., Sevil, M. T., Cuevas, J., Rodriguez, M., Procopio, J.R. (2012) Interaction of organic contaminants with natural clay type geosorbents: Potential use as geologic barrier in urban landfill. *Journal of Environmental Management*, 95, 182-187.
- [4] Chen, B., Huang, W., Mao, J., Lv, S. (2008) Enhanced sorption of naphthalene and nitroaromatic compounds to bentonite by potassium and cetyltrimethylammonium cations, *Journal of Hazardous Materials*, 158, 116-123.
- [5] OECD, Guidelines for testing of chemicals. Test no. 106 adsorption-desorption using batch equilibrium method, 2000, ISBN-9789264069602.
- [6] Groisman, L., Rav-Acha, C., Gerstl, Z., Mingelgrin, U. (2004) Sorption of organic compounds of varying hydrophobicities from water and industrial wastewater by long- and short-chain organoclays, *Applied Clay Sciences*, 159-166.
- [7] Leovac, A., Vasyukova, E., Ivancev-Tumbas, I., Uhl, W., Kragul, M., Trickovic, J., Kerkez Đ., Dalmacija B. (2015) Sorption of atrazine, alachlor and trifluralin from water onto different geosorbents. *RSC Advances*, 25, 8122-8133.
- [8] Metoda C1.054. Određivanje prioriternih pesticida (pentahlorbenzena, heksahlorbenzena i trifluralina) u vodi primenom GC/ μ ECD tehnike, Laboratorija za hemijska ispitivanja životne sredine „dr Milena Dalmacija“, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad.
- [9] EPA, Method 551.1: Determination of chlorination disinfection byproducts, chlorinated solvents, and halogenated pesticides/herbicides in drinking water by liquid-liquid extraction and gas chromatography with electron-capture detector. U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati, Ohio, 1995.
- [10] Moyo, F., Tandlich, R., Wilhelmi B.S., Balaz, S. (2014) Sorption of Hydrophobic Organic Compounds on Natural Sorbents and Organoclays from Aqueous and Non-Aqueous Solutions: A Mini-Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11, 5020-5048.

BIOTEHNOLOŠKI POSTUPAK UKLANJANJA SINTETIČKIH BOJA IZ OTPADNIH VODA IMOBILISANOM PEROKSIDAZOM IZ RENA

Nataša Šekuljica¹, Dušan Mijin², Zorica Knežević-Jugović²

¹*Inovacioni Centar Tehnološko-metalurškog fakulteta u Beogradu, Karnegijeva 4, 11120 Beograd, nsekuljica@tmf.bg.ac.rs*

²*Tehnološko-metalurški fakultet, Univerzitet u Beogradu, Karnegijeva 4, 11000 Beograd*

Izvod

Opšte je poznata činjenica da postoji veliki ekološki problem zagađenja životne sredine otpadnim vodama što zahteva kolektivne napore da bi se sprečila nadolazeća ekološka katastrofa. U ovom radu je razvijen postupak utemeljen na principima biotehnologije, tačnije peroksidaza iz rena je primenjena u tretmanu sintetičkih boja koje su neizostavna komponenta otpadnih voda. Novi biotehnoški postupak je razmatran sa aspekta ekološki prihvatljive tehnike imobilizacije korišćenjem oksidovanog pektina kao agensa za aktiviranje Purolite[®] A109 nosača koji je biokompatibilan, sa ciljem dobijanja stabilne i efikasne imobilisane peroksidaze iz rena za primenu u tretmanu sintetičkih boja iz otpadnih voda. Za aktivaciju makroporozne polistirenske jonoizmenjivačke smole, Purolite[®] A109 korišćen je oksidovani pektin (1% w/v). Specifična aktivnost peroksidaze imobilisane na pektinom modifikovan Purolite[®] A109 iznosila je $37,58 \pm 2,21$ IU/mg. Imobilisana peroksidaza se pokazala kao veoma efikasna u biorazgradnji antrahinonske boje, $92,03 \pm 7,32$ % AV109 boje je uklonjeno nakon 30 minuta tretmana. Pored toga, imobilisani enzim je značajno doprineo kvalitetu tretirane obojene otpadne vode potvrđene testovima hemijske potrošnje kiseonika (HPK) i ukupnog organskog ugljenika (UOU). Operativna stabilnost je potvrđena nakon 10 ciklusa primene sa 45 % zadržane aktivnosti.

Ključne reči: peroksidaza iz rena, sintetičke boje, otpadne vode, imobilizacija, pektin

1. Uvod

Intezivan rad u oblasti enzimskih tehnologija je omogućio izvođenje značajnih zaljučaka koji su olakšali primenu enzima u jednom od vodećih ekoloških problema današnjice, tretmanu zagađenih otpadnih voda. 70 % površine Zemlje je pokriveno vodom ali samo 1 % se smatra kao izvor sveže vode [1, 2]. Najveći zagađivači životne sredine su svakako industrije, gde se tekstilna industrija smatra kao vodeći zagađivač. U procesu proizvodnje i obrade tkanine koristi se velika količina vode, što znači značajno iscrpljivanje prirodnih resursa koji iz godine u godinu postaju sve više ugroženi, a pored toga tekstilna industrija ima dugačak spisak negativnih uticaja na životnu sredinu. Tako je, na primer, prilikom proizvodnje tkanine za uzgoj pamuka potrebno od 8000-40,000 l vode/1kg pamuka, za obradu tekstila je potrebno oko 700 l vode/1kg tekstila i prosečno nastane preko 600 l otpadne vode/1kg tekstila. Sintetičke boje su komponenta otpadnih voda tekstilne industrije koja izaziva najveću zabrinutost jer se 10-15 % upotrebljenih boja (u zavisnosti od klase boja; azo, antrahinonske, reaktivne itd.) ne vezuje za tkaninu, već napuštaju proizvodni proces u obliku obojene otpadne vode, koja se u većini razvijenih zemalja koristi za navodnjavanje poljoprivrednog zemljišta [3, 4]. Procenjeno je da se godišnje u životnu sredinu posredstvom otpadnih voda ispusti preko 280,000 tona sintetičkih boja na globalnom nivou [3, 5]. Negativni uticaji sintetičkih boja na ljude i vodene organizme su naučno detaljno ispitani i potvrđeni, ali uprkos tome, od 4000 dostupnih boja i dalje postoji preko 100 različitih klasa boja

za koje je potvrđeno dasu štetne, kancerogene, toksične, mutagene, ali se i dalje mogu naći u upotrebi. Evidentno je da je cena koštanja tekstila visoka, a u današnje vreme ta cena je plaćena zdravljem ljudi i kvalitetom životne sredine u kojoj svi mi živimo. Zabrinutost za otpadne vode obojene sintetičkim bojama je posledica karakteristika sintetičkih boja. To su izuzetno stabilna jedinjenja, otporna na degradaciju, koja ostaju dug vremenski period u vodama i tako ispoljavaju hronične i akutne efekte na žive organizme. Pored toga, intenzivno obojenje nastaje pri malim koncentracijama boja, što sprečava nesmetan prolazak sunčeve svetlosti, pa je proces fotosinteze drastično umanjen što otežava rast, razvoj i reprodukciju [6]. U brojnim studijama je zabeležena kancerogenost kod radnika zaposlenih u fazama bojenja prouzrokovana sintetičkim bojama [7, 8]. Ovakve vode, zbog svog sastava i negativnog uticaja na okolinu moraju da prođu izvesne tretmane kako bi se prevele u tokove u kojima se sadržaj zagađujućih materija nalazi u granicama dozvoljenim zakonom. Otpadne vode/industrijski otpadni tokovi se u današnje vreme tretiraju enzimima poreklom iz biljaka i mikroorganizama u cilju prevođenja postojećih, toksičnih jedinjenja u bezopasne proizvode. Ovi biomolekuli ne samo da su ekološki prihvatljivi već ispoljavaju specifičnost u smanjenju štetnog otpada. Grupa enzima koja se nalazi na vrhu liste biokatalizatora koji se koriste u tretmanu otpadnih voda su peroksidaze. Peroksidaze pripadaju grupi oksidoredukcionih enzima (EC 1.11.1.7) koji su strogo specifični prema brojnim supstratima. Enzimski katalizovano uklanjanje brojnih zagađivača iz životne sredine je izuzetno atraktivan pristup zbog svoje jednostavnosti, efikasnosti, blagih reakcionih uslova i specifičnosti enzima prema određenom supstratu. Peroksidaza iz rena pokazala se kao izvanredan i primenljiv biokatalizator za uklanjanje sintetičkih boja i, što je najvažnije, različitih klasa sintetičkih boja, zahvaljujući svojoj lakoj dostupnosti, niskoj ceni i sposobnosti da katalizuje razgradnju zagađivača na selektivan način, sa minimalnim sporednim proizvodima i bez upotrebe toksičnih materijala. Potvrđeno je da tretman peroksidazama značajno menja karakteristike voda koje ne samo da su ekološki prihvatljivije zahvaljujući umanjenju sadržaja ciljanog zagađivača već su takve vode značajno podložnije nekom dopunskom tretmanu ukoliko je to potrebno. Međutim, postoje brojni izazovi kod razvoja pilot postrojenja za enzimski tretman otpadnih voda, a oni su uglavnom posledica slabe stabilnosti i nemogućnosti izolacije i ponovne upotrebe enzima. Enzimi su izuzetno osetljivi na ekstremne uslove pH, temperature, prisustvo hemikalija zbog čega se koriste samo jednom u šaržnom procesu i ne mogu se reciklirati, što značajno ograničava njihovu upotrebu. Ova ograničenja i problemi mogu se prevazići njihovom imobilizacijom na različite nosače čime se dobijaju stabilniji enzimi, sprečava njihova inaktivacija i smanjuje osetljivost na mikrobnu kontaminaciju. Međutim, razvoj efikasnog, stabilnog, dovoljno ekonomičnog imobilisanog sistema sa peroksidazom koji ima veliki kapacitet opterećenja i zadržanu aktivnost, i koji je pogodan za upotrebu u dugoročnom kontinualnom procesu, još uvek ima mnogo nerešenih pitanja.

Peroksidaza iz rena imobilisana je na brojne nosače različitim tehnikama imobilizacije i primenjena u tretmanu razgradnje sintetičkih boja, međutim podaci o imobilizaciji peroksidaze na sintetički nosač Purolite® A109 su oskudni. Shodno tome, ispitana je mogućnost kovalentne imobilizacije peroksidaze iz rena na sintetički nosač koji je prethodno aktiviran oksidovanim pektinom. Oksidovani pektin (1 % w/v) je izabran kao sredstvo za aktivaciju primarnih $-NH_2$ grupa nosača i potencijalno kovalentno vezivanje enzima. Ovako aktiviran nosač biće ispitan sa aspekta aktivnosti imobilisane peroksidaze iz rena, pri čemu će se efikasnost imobilizacije ispitati variranjem početne koncentracije enzima u opsegu 1-5 mg/ml. Za dobijenu imobilisanu peroksidazu iz rena, utvrdiće se optimalni uslovi biorazgradnje antrahinonske boje Acid Violet 109 (AV109) ispitivanjem uticaja početne koncentracije vodonik-peroksida i boje. Takođe, ispitaće se i operativna stabilnost imobilisane peroksidaze. Dobijeni, tretirani efluent će se ispitati sa aspekta bezbednosti, tačnije ispitaće se HPK i UOU.

2. Eksperimentalni deo

2.1 Materijali

Peroksidaza iz rena (EC 1.11.1.7) komercijalni preparat specifične aktivnosti 250 purpurogalin jedinica/mg kao i pektin iz jabuke ($M_m \sim 30000$ g/mol, stepen esterifikacije ~ 74 %) korišćeni u ovom radu su proizvodi kompanije Sigma-Aldrich (Misuri, SAD). Nosač za imobilizaciju peroksidaze iz rena Purolite[®] A109 je proizvod kompanije Purolite (Pensilvanija, SAD). Koncentracija vodonik-peroksida korišćenog u ovom radu 3 % (v/v) utvrđivana je korišćenjem njegovog molarnog ekstincionog koeficijenta $\epsilon=43,6$ M⁻¹ cm⁻¹ na 240 nm razblaživanjem 30 % (w/w) vodonik-peroksida koji je proizvod kompanije Sigma-Aldrich (Misuri, SAD). Sintetička boja korišćena kao model antrahinonska boja, AV 109 je proizvod kompanije DCC colorants (Ningbo, 315199 Kina). Svi ostali reagensi neophodni za pripremu rastvora, pufera su bili komercijalni, analitičkog stepena čistoće.

2.2 Metode

2.2.1 Oksidacije pektina perjodatom

Oksidovani pektin pripremljen je kao što je prethodno opisano u literaturi. Ukratko, 2 g pektina je rastvoreno u 20 % etanolu (v/v). Zatim je u ovaj rastvor dodato 3 ml 0,5 M NaIO₄ ($M_m=213,89$ g/mol) a pH smeše je podešen i održavan tokom reakcije razblaženom hlorovodoničnom kiselinom na 3,5. Sud sa smešom je obavijen aluminijumskom folijom i inkubiran u mraku 2 h na 30 °C uz konstantno mešanje, 150 o/min (KS 4000 i control, IKA, Štaufen, Nemačka). Po završetku inkubacije, oksidovani pektin je izdvojen iz ostatka smeše taloženjem 2-propanolom u višku [9]. Oksidovani pektin je potom izdvojen vakuum filtracijom praćenom ispiranjem i sprej sušenjem (Cris BETA 2-8 plus liofilizator, Osterode, Nemačka) preveden u praškasti proizvod.

2.2.2 Imobilizacija peroksidaze iz rena na Purolite[®] A109 aktiviran oksidovanim pektinom

Prvi korak u dobijanju imobilisane peroksidaze iz rena je aktivacija nosača oksidovanim pektinom. U tu svrhu, u ependorfe zapremine 2 ml odmereno je 20 mg suvog nosača Purolite[®] A109 a zatim je dodato 1 ml rastvora pektina (1 %, w/v) pripremljenog u 0,1 M fosfatnom puferu, pH 7. Celokupna smeša je inkubirana 24h na sobnoj temperaturi uz konstantno mešanje 100 o/min (RM1, Biostellar, Kina). Kada je aktivacija završena, nosač je odvojen od rastvora, a zatim je ispiran sa 1 ml pufera i osušen u vakuum sušnici (vakuum sušnica VD23, Binder, Tutlingen, Nemačka). Dobijeni aktivirani nosač je potom upotrebljen za imobilizaciju peroksidaze iz rena na sledeći način: 20 mg nosača se inkubira 24h sa 1 ml rastvora enzima pripremljenog u ,1 M fosfatnom puferu, pH 7 različitim početnih koncentracija 1-5 mg/ml na sobnoj temperaturi, uz konstantno mešanje ((RM1, Biostellar, Kina). Nakon imobilizacije odvaja se supernatant od imobilisanog enzima, a zatim se nosač sa imobilisanim enzimom ispira sa istom zapreminom fosfatnog pufera upotrebljenog za imobilizaciju. Supernatant i rastvor dobijeni nakon ispiranja imobilisane peroksidaze su analizirani na sadržaj proteina i aktivnost peroksidaze kako bi se utvrdila efikasnost imobilizacije. Aktivnost imobilisane peroksidaze iz rena je utvrđena standardnom metodom, korišćenjem pirogalola kao supstrata.

2.2.3 Određivanje aktivnosti peroksidaze iz rena pirogalolom kao standardnim supstratom

Aktivnost peroksidaze se određuje spektrofotometrijski na 420 nm, korišćenjem pirogalola kao standardnog supstrata. Za određivanje aktivnosti imobilisane peroksidaze pripremi se 13 mM rastvor pirogalola u puferu (fosfatni, 0,1 M, pH 7), rastvor vodonik-peroksida (0,97 mM) i odmeri određena masa imobilisanog enzima. Postupak merenja aktivnosti je sledeći: u kivetu se odmeri 3 ml supstrata, 30 μ L vodonik-peroksida i imobilisana peroksidaza. U trenutku kada se pomešaju sve tri komponente, prati se promena apsorbance svakih 30 s narednih 3 min. Aktivnost peroksidaze se izražava u IU/mg u slučaju imobilisane peroksidaze. 1 IU se definiše kao količina peroksidaze koja katalizuje konverziju pirogalola do 1 mg purpurogalina u datim reakcionim uslovima.

2.2.4 Određivanje sadržaja protein

Efikasnost imobilizacije praćena je merenjem aktivnosti i sadržaja proteina. Sadržaj proteina u polaznom rastvoru za imobilizaciju i supernatantu dobijenom nakon imobilizacije praćen je modifikovanom Lorigevom metodom [10].

2.2.5 Biorazgradnja AV 109 boje imobilisanom peroksidazom iz rena

Biotehnološki postupak uklanjanja sintetičke boje koja pripada grupi antrahinonskih boja, AV 109 optimizovan je sa aspekta uticaja početne koncentracije vodonik-peroksida i boje. Optimizacija postupka vršena je u šaržnom reaktoru zapremine 100 ml na sobnoj temperaturi i uz konstantno mešanje (KS 4000 i control, IKA, Štaufen, Nemačka). Uticaj početne koncentracije vodonik-peroksida ispitivan je u rastvoru AV109 boje ($M_m=823,52$ g/mol), pripremljenom u acetatnom puferu (pH 4,0; 0,1 M) koncentracije 0,036 mM variranjem početne koncentracije vodonik-peroksida u opsegu 0,1-1,0 mM i početne koncentracije boje u opsegu 0,012-0,12 mM. Biorazgradnja AV 109 boje praćena je 30 minuta spektrofotometrijski (Ultrospec 3300 pro, Ameris Cham, Bioscience), očitavanjem promene A_{590nm} u jasno definisanim vremenskim intervalima (5 minuta). Masa boje zaostala u rastvoru u toku biorazgradnje utvrđivana je pomoću kalibracione krive AV 109 boje pripremljene za različite početne koncentracije boje 10-100 mg/l, dok je za stepen biorazgradnje uzimana u obzir A_{590nm} (0) na početku reakcije i promena apsorbance u određenom trenutku reakcije A_{590nm} (t).

2.2.6 Operativna stabilnost imobilisane peroksidaze iz rena

Operativna stabilnost kovalentno imobilisane peroksidaze iz rena ispitana je praćenjem stepena biorazgradnje AV 109 boje pod optimalnim uslovima u 10 uzastopnih ciklusa. Nakon završenog ciklusa biorazgradnje, imobilisana peroksidaza se ispira sa puferom (0,1 M fosfatni, pH 7) i ponovo primenjuje u novom ciklusu biorazgradnje. Finalno, nakon 10 ciklusa primene, preostala aktivnost je upoređena sa početnom aktivnosti imobilisane peroksidaze.

2.2.7 Ispitivanje hemijske potrošnje kiseonika (HPK)

Hemijska potrošnja kiseonika u uzorcima pre i posle enzimskog tretmana je određena zatvorenim refluksnom metodom. 2 ml testiranog uzorka se pipetira u vijale (10 ml zapremina, 19 mm prečnik) koje sadrže 0,9 ml digestivnog rastvora i 2,1 ml kiselog rastvora sumporne kiseline. Digestivni rastvor se priprema na sledeći način: 10,216 g K_2CrO_7 , 167 ml koncentrovane H_2SO_4 i 33,3 g $HgSO_4$ se rastvori u 1 l destilovane vode. Kiseli rastvor sumporne kiseline se dobija

rastvaranjem 5,5 g Ag_2SO_4 u 1 kg koncentrovane H_2SO_4 i ostavi da stoji preko noći kako bi se Ag_2SO_4 rastvorio u potpunosti. Slepa proba je pripremana na isti način samo je umesto 2 ml uzorka dodavana destilovana voda. U refluksnom HPK reaktoru rastvori se zagrevaju 2 h na 148–150 °C, a potom hlade 45 min na sobnoj temperaturi. HPK ($\text{mg O}_2 \text{ l}^{-1}$) u uzorcima je određivan spektrofotometrijski korišćenjem HANNA, HI 83099 spektrofotometra.

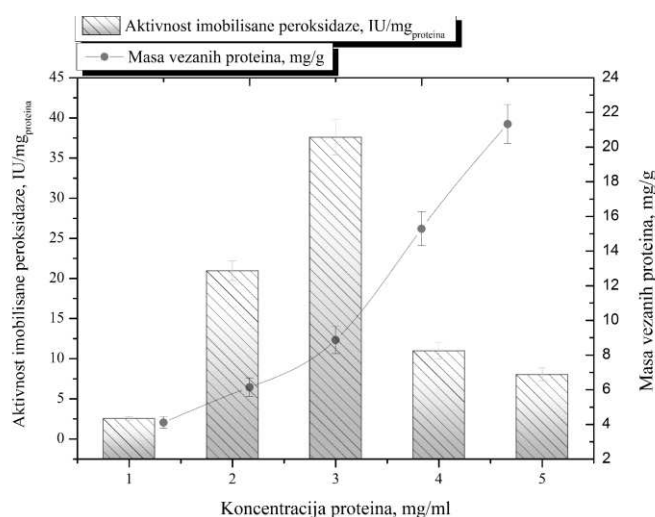
2.2.8 Ispitivanje ukupnog organskog ugljenika (UOU)

Ukupan organski ugljenik (UOU) u uzorcima pre i nakon enzimskog tretmana određen je standardnom metodom SRPS ISO 8245:2007 korišćenjem TOC–VCPA analizatora (Shimadzu, Kjoto, Japan).

3. Rezultati i diskusija

3.1 Imobilizacija peroksidaze iz rena na Purolite® A109 aktiviran pektinom oksidovanim perjodatom

Prilikom razvoja imobilisanog biokatalizatora na bazi peroksidaze iz rena sa ciljem primene u tretmanu sintetičkih boja veoma je važan dobar odabir nosača. U okviru ovog rada izabrana je anjonska jonoizmenjivačka smola Purolite® A109 koja sadrži primarne amino grupe i učestalo se koristi u uklanjanju organskih materija iz otpadnih voda. Ovaj nosač je veoma atraktivan zbog mogućnosti lake modifikacije amino grupa i mogućnosti formiranja kovalentnih veza sa proteinima. Pored toga, prosečna veličina čestica od 400 μm čini ga veoma atraktivnim za primenu u različitim konfiguracijama bioreaktora kao što su bioreaktor sa pakovanim ili fluidizovanim slojem [11]. Nakon aktivacije nosača oksidovanim pektinom i obogaćivanjem površine nosača karbonilnim grupama, peroksidaza iz rena je imobilisana kovalentno na modifikovan nosač. Ispitan je uticaj početne koncentracije enzima na masu vezanih proteina i aktivnost dobijene imobilisane peroksidaze, a dobijeni rezultati su prikazani na slici 1.



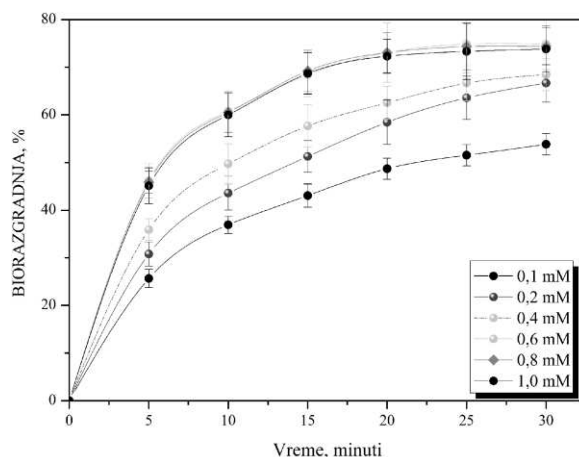
Slika 1. Ispitivanje uticaja početne koncentracije proteina na aktivnost kovalentno imobilisane peroksidaze iz rena na Purolite® A109 (uslovi: vreme imobilizacije 24h, pH 7,0, masa nosača 20 mg)

Povećanje dostupnog broja molekula peroksidaze koji mogu da ostvare vezu sa modifikovanom površinom Purolite® A109 pozitivno utiče na masu vezanih proteina u celokupnom ispitivanom

opsegu početnih koncentracija peroksidaze iz rena (1-5 mg/ml). Preciznije, povećanjem početne koncentracije proteina sa 1 mg/ml na 5 mg/ml zabeležen je značajan porast mase vezanih proteina na površini nosača od $4,12 \pm 0,34$ do $21,33 \pm 1,12$ mg/g. Međutim, povećanje broja molekula peroksidaze iz rena koji su se vezali na površini nosača višestruko su umanjili aktivnost imobilisanog enzima. Naime, povećanjem početne koncentracije proteina 1-3 mg/ml beleži se intenzivan porast specifične aktivnosti imobilisane peroksidaze sa $2,56 \pm 0,23$ na $37,58 \pm 2,21$ IU/mg. Daljim povećanjem početne koncentracije proteina iznad 3 mg/ml dobija se imobilisana peroksidaza specifične aktivnosti $10,99 \pm 0,98$ IU/mg koja ostaje skoro nepromenjena sa daljim povećanjem početne koncentracije proteina.

3.2. Utvrđivanje optimalnih uslova biorazgradnje AV 109 boje peroksidazom iz rena kovalentno imobilisanom na Purolite® A109

Reakcija uklanjanja sintetičkih boja katalizovana peroksidazom iz rena je dvosupstratni sistem gde je peroksidazu iz rena neophodno aktivirati vodonik-peroksidom da bi se nastavio ciklus i enzim preveo u stanje u kojem je moguća reakcija sa drugim aromatičnim donorom, u ovom slučaju antrahinonskom bojom. Međutim, vodonik-peroksid mora pažljivo da se dozira jer u povećanim koncentracijama vrlo lako može da deluje inhibitorno i da sa enzimom izgradi neaktivni kompleks. Shodno tome, da bi se mogućnost nastanka neaktivnog kompleksa izbegla ili svela na minimum, ispitan je uticaj početne koncentracije vodonik-peroksida (0,1-1,0 mM) na biorazgradnju antrahinonske boje AV 109 katalizovanu sa 0,1 IU imobilisane peroksidaze iz rena. Dobijeni rezultati su prikazani na Slici 2.

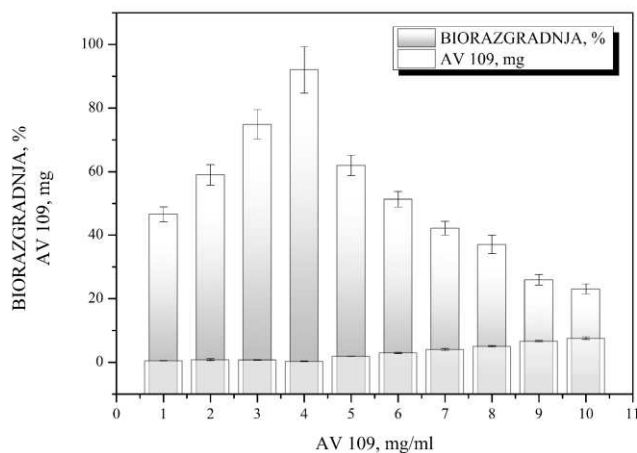


Slika 2. Uticaj početne koncentracije vodonik-peroksida na biorazgradnju antrahinonske boje AV 109 u šaržnom reaktoru katalizovanu kovalentno imobilisanom peroksidazom iz rena (uslovi reakcije: vreme reakcije 30 minuta, pH 4,0, koncentracija boje 0,036 mM, 0,1 IU imobilisane peroksidaze iz rena, zapremina reakcionog sistema 0,1 l).

Variranjem početne koncentracije vodonik-peroksida, utvrđen je porast stepena biorazgradnje ispitivane model boje u celokupnom opsegu početnih koncentracija vodonik-peroksida. Tako je sa porastom početne koncentracije vodonik-peroksida od 0,1 mM do 1,0 mM zabeležen trend porasta biorazgradnje od $53,85 \pm 2,23$ do $73,80 \pm 4,89$ %. Evidentno je sa Slike 2 da je prilikom imobilizacije peroksidaza iz rena postala značajno otpornija na inhibitorni uticaj vodonik-peroksida. Naime, prethodne studije su potvrdile da vodonik-peroksid značajno inhibira slobodnu peroksidazu iz rena. Tako je zabeležen pad u stepenu biorazgradnje od 20 % u slučaju povećanja početne koncentracije vodonik-peroksida u sistemu sa 0,4-1,0 mM [12]. Međutim, izražen

inhibitorni uticaj vodonik-peroksida i na peroksidazu iz rena imobilisanu u obliku umreženih enzimskih agregata je zabeležen. Početna koncentracija vodonik-peroksida u ovom sistemu je bila dovoljna za biorazgradnju 75 % ispitivane boje, dok je dalji porast iznad 0,1 mM prouzrokovao oštar pad u biorazgradnji pa je 1,0 mM vodonik-peroksida u sistemu doprineo biorazgradnji svega 25 % boje [13]. Primetno je da je kovalentna imobilizacija na Purolite® A109 aktiviran prirodni biomolekulima kao što je oksidovani pektin pozitivno uticala na peroksidazu iz rena u pogledu otpornosti i aktivnosti u prisustvu povećanih koncentracija vodonik-peroksida.

Da su enzimi kao katalizatori oksidacije zagađujućih materija u otpadnim vodama izuzetno osetljivi na dejstvo sintetičkih boja, dokazano je brojnim studijama. Tako je na primer zabeležen intenzivan pad u biorazgradnji azo boje (*Direct Blue-6*) sa 97 % na 20 % kada je u reakcionom sistemu katalizovanom imobilisanom peroksidazom iz rena početna koncentracija boje povećana sa 20 mg/l na 100 mg/l [14]. Imobilizacijom u umrežene poliakrilamidne gelove dobijen je imobilisana peroksidaza iz rena koja je primenjena takođe u biorazgradnji azo boje, meil-oranž. I u okviru ove studije uočen je snažan inhibitorni uticaj ispitivane sintetičke boje, pa je drastičan pad u efikasnosti imobilisane peroksidaze zabeležen u sistemu gde je početna koncentracija boje iznad 10 mg/l. Shodno dostupnim literaturnim podacima koji jasno potvrđuju činjenicu da su sintetičke boje jedinjenja koja su postojana, toksična i otporna na biorazgradnju, ispitan je uticaj početne koncentracije boje na biorazgradnju AV 109 boje katalizovanu kovalentno imobilisanom peroksidazom iz rena na Purolite® A109 i dobijeni rezultati su prikazani na Slici 3.



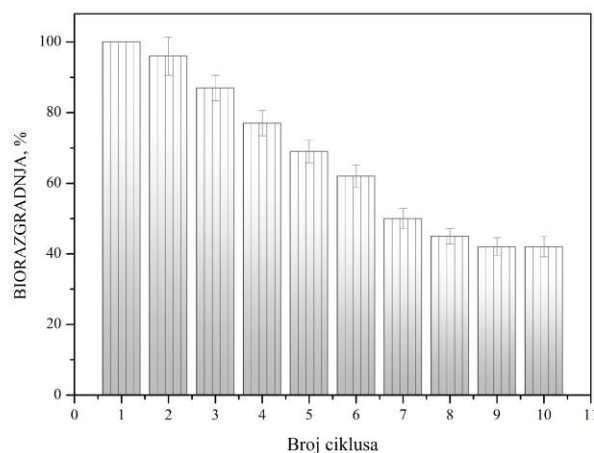
Slika 3. Uticaj početne koncentracije boje na biorazgradnju antrahinonske boje AV 109 u šaržnom reaktoru katalizovanu kovalentno imobilisanom peroksidazom iz rena (uslovi reakcije: vreme reakcije 30 minuta, pH 4,0, koncentracija vodonik-peroksida 0,6 mM, 0,1 IU imobilisane peroksidaze iz rena, zapremina reakcionog sistema 0,1 l)

Veliki afinitet enzima prema ispitivanoj boji u opsegu početnih koncentracija boje 1-4 mg/ml je prikazan na Slici 3. U navedenom opsegu ispitivanih početnih koncentracija boje 1-4 mg/ml zabeležen je porast biorazgradnje od $46,62 \pm 2,32$ % do $92,03 \pm 7,32$ %. Tačnije, ukoliko se u sistemu na početku reakcije nalazi 4 mg AV 109 boje nakon 30 minuta tretmana kovalentno imobilisanom peroksidazom iz rena na Purolite® A109 u sistemu zaostaje 0,32 mg boje. Dalji porast početne koncentracije boje iznad 4 mg/ml ima snažan inhibitorni uticaj na enzim. Naime, povećanjem početne koncentracije boje u sistemu iznad 4 mg/ml dovodi do značajnog pada u stepenu biorazgradnje, pa se pri početnoj koncentraciji boje od 1 mg/ml postiže samo $23,11 \pm 1,56$ %. Pad u stepenu biorazgradnje sa povećanjem početne koncentracije boje može se pripisati i proizvodima razgradnje koji mogu da prekrivaju aktivni centar enzima što će usled difuzionih

limitacija značajno umanjiti aktivnost peroksidaze [14]. Shodno navedenim rezultatima, može se izvesti zaključak da je kovalentno imobilisana peroksidaza iz rena na Purolite® A109 izuzetno efikasan biokatalizator koji razgradi $92,03 \pm 7,32$ % AV109 boje. Pored visokog stepena biorazgradnje, neophodno je naznačiti i da je za postizanje visokog stepena biorazgradnje neophodno kratko vreme, 30 minuta, što je veoma značajno u slučajevima hazardnih situacija kada je za kratko vreme neophodno sanirati izvestan u ovom slučaju ekološki problem.

3.3. Operativna stabilnost peroksidaze iz rena kovalentno imobilisanom na Purolite® A109

Glavna barijera za primenu enzima na industrijskom nivou je visoka cena. Međutim, ukoliko je enzim dovoljno stabilan i postoji mogućnost upotrebe istog enzima u više uzastopnih šarži u jednom inustrijskom procesu, primena enzima kao skupih biokatalizatora na industrijskom nivou će biti u potpunosti ekonomski opravdana. U ovom radu dobijena je imobilisana peroksidaza iz rena visoke efikasnosti pa se nameće potreba da se imobilisani enzim ispita sa aspekta operativne stabilnosti. Operativna stabilnost kovalentno imobilisane peroksidaze ispitana je pod optimalnim uslovima dobijenim za biorazgradnju antrahinonske boje AV 109 i rezultati su prikazani na Slici 4.



Slika 4. Operativna stabilnost peroksidaze iz rena kovalentno imobilisane na Purolite® A109 (uslovi reakcije: vreme reakcije 30 minuta, pH 4,0, koncentracija vodonik-peroksida 0,6 mM, 0,1 IU imobilisane peroksidaze iz rena, koncentracija boje 4 mg/ml, zapremina reakcionog sistema 0,1 l)

Peroksidaza iz rena kovalentno imobilisana na Purolite® A109 ima veliki potencijal za primenu u sistemima većih razmerama. Pored velike efikasnosti u uklanjanju antrahinonskih boja potvrđene korišćenjem AV 109 boje kao modela, utvrđena je izuzetna stabilnost imobilisane peroksidaze (slika3). Peroksidaza iz rena kovalentno imobilisana na Purolite® A109 je primenjena u 10 uzastopnih ciklusa biorazgradnje AV 109 boje sa zadržanom aktivnosti 45 % nakon desetog ciklusa primene. Pored toga, neznatan pad u stepenu biorazgradnje je zabeležen nakon svakog ciklusa, 10 %. Evidentno je da je napravljen pravi izbor nosača i tehnike imobilizacije jer je razvijen biokatalizator visoke efikasnosti i izuzetne stabilnosti. Jedan od najčešće primenjivanih reagenasa za uvođenje karbonilnih grupa na nosače koji poseduju $-NH_2$ grupe je glutaraldehid za koji je potvrđeno da je izuzetno toksično jedinjenje. U ovom radu je pokazano da se prirodni biomolekuli kao što je pektin mogu jednostavnim postupcima prevesti u jedinjenja koja poseduju iste funkcionalne, karbonilne grupe kao glutaraldehid kojima je moguće obogatiti površinu nosača sa $-NH_2$ grupama. Takođe, ovako dobijen agens za aktivaciju nosača je pokazao veliki afinitet

prema peroksidazi iz rena pa je kao rezultat spoja biokompatibilnog nosača i agensa za aktivaciju nastao imobilisani biokatalizator izuzetnih performansi.

3.4. HPK I UOU enzimski tretiranog rastvora boje AV109

Sintetičke boje u otpadnim vodama značajno utiču na estetski izgled voda jer su izuzetno vidljive čak i u malim koncentracijama. Prisustvo sintetičkih boja u otpadnim vodama narušava prodor sunčeve svetlosti i na taj način životni ciklus vodenih organizama. U prvoj fazi istraživanja je potvrđeno da se imobilisanom peroksidazom iz rena postiže biorazgradnja 92 % AV 109 boje prisutne u otpadnim vodama pri čemu se rešava navedeni problem narušene fotosinteze. Međutim, prilikom biorazgradnje nastaju proizvodi reakcije za koje je dokazano da nekada mogu da budu i toksičniji od polaznih jedinjenja [15]. Shodno tome, potrebno je proceniti zagađenje dobijenim obezbojenim efluentom što je u ovom slučaju učinjeno merenjem HPK i UOU. Naime, u uzorku pre enzimskog tretmana izmerena je HPK vrednost $712,32 \pm 12,23$ mg O₂/l dok je nakon enzimskog tretmana ta vrednost iznosila $509,11 \pm 7,24$ mg O₂/l. Dakle, nakon enzimskog tretmana smanjena je HPK vrednost u uzorku $28,53 \pm 1,21$ %. Dalje, zabeležen je isti trend promene UOU u uzorcima. Pre enzimskog tretmana sadržaj UOU u uzorku iznosio je $823,21 \pm 32,13$ mgC/l, dok je nakon enzimskog tretmana sadržaj UOU u uzorku iznosio $623,45 \pm 21,56$ mgC/l, što ukazuje da se dešava smanjenje UOU nakon enzimskog tretmana od $24,26 \pm 2,22$ %.

4. Zaključak

Rezultati prikazani u ovom radu ukazuju na mogućnost razvoja ekološki prihvatljivog i održivog rešenja za tretman otpadnih voda obojenih sintetičkim bojama. Dobijena imobilisana peroksidaza iz rena pod blagim reakcionim uslovima je visoko efikasna u biorazgradnji antrahinonske AV 109 boje, gde se nakon samo 30 minuta reakcije postiže stepen biorazgradnje 92 %. Takođe, ovaj imobilisani enzim je bilo moguće primeniti u 10 uzastopnih ciklusa biorazgradnje sa zadržanom aktivnosti nakon desetog ciklusa 45 %. U procesu biorazgradnje antrahinonske boje potvrđena je značajna promena HPK vrednosti što je direktan dokaz da enzim ne deluje samo na hromofornu grupu, već izaziva značajne promene u strukturi molekula boje. Operativna stabilnost i efikasnost u posmatranoj reakciji usmerava dalja istraživanja ka primeni ovog imobilisanog sistema u različitim konfiguracijama bioreaktora sa posebnim naglaskom na optimizaciji procesnih parametara u sistemima uvećanih razmera.

Zahvalnica

Izradu ovog rada podržalo je Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ugovor br. 451-03-9/2021-14/200287).

Literatura

- [1] Antošova, Z., Herkommerova, K., Pichova, I., Sychrova, H. (2017). Efficient secretion of three fungal laccases from *Saccharomyces cerevisiae* and their potential for decolorization of textile industry effluent—a comparative study. *Biotechnology Progress*, 34, 69–80.
- [2] Tehrani-Bagha, A.R. and Holmberg, K. (2013). Solubilization of hydrophobic dyes in surfactant solutions. *Materials*, 6, 580–608.
- [3] Julkapli, N.M., Bagheri, S., Hamid, S.B.A. (2014). Recent advances in heterogeneous photocatalytic decolorization of synthetic dyes. *The Scientific World Journal*, vol. 2014, Article ID 692307, 25 pages, 2014.

- [4] Wonga, J.K.H., Taa, H.K., Laua, S.Y., Yapa, P.S., Danquah, M.K. (2019). Potential and challenges of enzyme incorporated nanotechnology in dye wastewater treatment: A review. *Environmental Chemical Engineering*, 7, 2019, 103261.
- [5] Singh, K. and Arora S. (2011). Removal of Synthetic Textile Dyes From Wastewaters: A Critical Review on Present Treatment Technologies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 41, 807-878.
- [6] Darwesh, O.M., Matter, I.A., Eida, M.F. (2019). Development of enzyme immobilized magnetic nanoparticles for bioremediation of textile wastewater dyes. *Engineering*, 7, 102805.
- [7] Nilsson, R., Norlinder, R., Wass, U., Meding, B., Belin, L. (1993). Asthma, rhinitis, and dermatitis in workers exposed to reactive dyes. *British Journal of Industrial Medicine*, 50, 65–70.
- [8] Morikawa, K., Shiomi, Y., Ishihara, N. Matsuura (1997). Triple primary cancers involving kidney, urinary bladder, and liver in a dye worker. *American Journal of Industrial Medicine*, 31, 44–49.
- [9] Talekar, S., Nadar, S., Joshi, A., Joshi, G. (2014). Pectin cross-linked enzyme aggregates (pectin-CLEAs) of glucoamylase. *RSC Advances*, 103, 1-35.
- [10] Hartree, E.F. (1972). Determination of protein: a modification of the Lowry method that gives a linear photometric response. *Analytical Biochemistry*, 48, 422–427.
- [11] Mihailović, M., Stojanović, M., Banjanac, K., Carević, M., Prlainović, N., Milosavić, N., Bezbradica, D. (2014). Immobilization of lipase on epoxy-activated Purolite® A109 and its post-immobilization stabilization. *Process Biochemistry*, 49, 637–646.
- [12] Šekuljica, N., Prlainović, N., Stefanović, A., Žuža, M., Čičkarić, D., Mijin, D., Knežević-Jugović, Z., (2015). Decolorization of Anthraquinonic Dyes from Textile Effluent Using Horseradish Peroxidase: Optimization and Kinetic Study. *Scientific World Journal*, 37625, (2015), 12 pages.
- [13] Šekuljica, N., Prlainović, N., Jakovetić, S., Grbavčić, S., Ognjanović, N., Knežević-Jugović, Z., Mijin, D., 2016. Removal of anthraquinone dye by cross-linked enzyme aggregates from fresh horseradish extract. *Clean Soil Air Water*, 44, 891–900.
- [14] Bayramoglua, G., Akbulut, A., Arica, M.Y. (2021). Utilization of immobilized horseradish peroxidase for facilitated detoxification of a benzidine based azo dye, *Chemical Engineering Research and Design*, 165, 435–444.
- [15] Cordoba, A., Magario, I., Ferreira, M.L. (2013). Evaluation of hematin–catalyzed Orange II degradation as a potential alternative to horseradish peroxidase. *International Biodeterioration Biodegradation*, 73, 60–72.

GRGEČ (*Perca fluviatilis*) KAO BIOINDIKATOR ZAGAĐENJA AKUMULACIJA TOKSIČNIM ELEMENTIMA

Dušan Nikolić¹

¹Univerzitet u Beogradu – Institut za multidisciplinarna istraživanja, Odsek za biologiju i zaštitu kopnenih voda, Kneza Višeslava 1, 11030 Beograd, Srbija, dusan@imsi.rs

Izvod

Istraživanje je vršeno 2017. godine na šest akumulacija u Srbiji izgrađenih sa različitim namenom: vodosnabdevanje (Garaši), proizvodnja električne energije (Vlasina, Perućac, Zaovine i Međuvršje) i rekreacija (Savsko jezero), različitih karakteristika i stupnjeva eutrofikacije. Analiza As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, i Zn u uzorcima vode, sedimenta, jetri, škragama i mišiću grgeča izvršena je optičkom emisionom spektroskopijom sa induktivno spregnutom plazmom (ICP-OES). Histopatološke (HP) analize jetre i škrge i Fultonov faktor kondicije (CF) korišćeni su kao biomarkeri. Izračunate su vrednosti indeksa opterećenja zagađenjem (PLI), stepena kontaminacije (C_d), potencijalnog ekološkog rizika (RI) i rizika po zdravlje ljudi (THQ i TR). Koncentracije elemenata varirale su značajno između tkiva, kao i između ispitivanih akumulacija. Škrge su bile pod najvećim pritiskom zagađenja. Zabeležen je nizak nivo HP promena. Prema vrednosti PLI, sediment svih ispitivanih akumulacija bio je kontaminiran, ali su niske vrednosti zabeležene za C_d i RI. Veće vrednosti PLI, C_d , RI, i TR imale su akumulacije za proizvodnju električne energije. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da su akumulacije za proizvodnju električne energije pod najvećim antropogenim pritiskom i/ili imaju lošiju politiku upravljanja zagađenjem u poređenju sa ostalim tipovima akumulacija.

Ključne reči: riba, ksenobiotici, veštačka jezera, bioakumulacija, histopatologija, rizik po zdravlje ljudi.

Uvod

Tokom prošlog i ovog veka kao posledica intenziviranog procesa industrijalizacije, urbanizacije, poljoprivrede, sagorevanja fosilnih goriva, rudarstva, metalurgije itd., koncentracije mnogih elemenata su povećane u prirodnim ekosistemima, što predstavlja razlog za brigu ^{[1], [2]}. Određivanje koncentracija toksičnih elemenata prisutnih u vodi i sedimentu ima važnu ulogu u razmatranju njihove biodostupnosti. S druge strane, analiza samo vode ili sedimenta ne daje dovoljno informacija o posledicama koje ovi elementi imaju na ekosistem. Stoga je upotreba akvatičnih organizama kao bioindikatora neophodna jer bolje ukazuju na stanje i uslove koji vladaju u datom ekosistemu ^{[2], [3]}.

Ribe se izdvajaju kao jedna od najznačajnijih i najčešće korišćenih bioindikatorskih grupa organizama za procenu zagađenja vodenih ekosistema ^{[2], [4]}. Razlozi za opravdanje ove tvrdnje su brojni: (1) lako se uzorkuju; (2) imaju dug životni vek; (3) akumuliraju različite ksenobiotike tokom života; (4) taksonomija i fiziologija riba dobro su proučene; (5) visoka pozicija u akvatičnim lanacima ishrane i (6) značajan su izvor hrane za ljude ^{[1], [5]}. Tri tkiva kod riba imaju poseban značaj u istraživanjima koja se bave proučavanjem uticaja ksenobiotika na životnu sredinu ^[5]: (1) škrge, zbog direktnog kontakta sa spoljašnjom sredinom i potencijala da odraze nivo toksičnih elemenata u njoj ^[6]; (2) jetra, zbog svoje uloge u akumulaciji i biotransformaciji ksenobiotika ^{[1], [6]}; (3) mišić, zbog upotrebe u ljudskoj ishrani ^[1].

Grgeč (*Perca fluviatilis*) značajan je bioindikator u studijama koje se bave životnom sredinom, a to ogleda kroz njegovu: (1) trofičku poziciju –na vrhu je akvatičnih lanaca ishrane ^[7]; (2) veliku ekološku plastičnost i ontogenetsku promena ekološke niše ^{[7], [8]}; (3) abundantnost – često se sreće i brojan je u gotovo svim akumulacijama u Srbiji; (4) nutricionu vrednost – ima nizak nivo masti u mišićnom tkivu (oko 1%) ^[9]; (5) značajnost za komercijalni i sportski ribolov ^{[8], [9]}; (6) mogućnost lova tokom čitave godine ^[10].

Ciljevi ovog istraživanja bili su: određivanje koncentracija As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Pb, i Zn u vodi, sedimentu, mišiću, škragama i jetri grgeča iz ispitivanih akumulacija; poređenje dobijenih koncentracija sa maksimalno dozvoljenim koncentracijama (MDK) propisanim nacionalnom i međunarodnom legislativom; utvrđivanje nivoa histopatoloških promena na grgeča iz ispitivanih akumulacija; ispitivanje korelacija između akumulacije elemenata u tkivima i kondicije riba, kao i između histopatoloških promena na jetri i škragama; procena potencijalnog ekološkog rizika i stepena kontaminacije; procena rizika po zdravlje ljudi; utvrđivanje postojanja veza između ispitivanih pojava i karakteristika veštačkih jezera i davanje odgovarajućih preporuka i zaključaka.

Eksperimentalni deo

Terenska istraživanja vršena su tokom leta 2017. godine na šest veštačkih jezera (akumulacija) u Srbiji: Garaši, Vlasina, Perućac, Zaovine, Međuvršje i Savsko jezero. Veštačka jezera se nalaze na različitim nadmorskim visinama, imaju različite karakteristike, kao i različite namene.

Uzorci vode, sedimenta i tkiva grgeča su prikupljeni i pripremljeni za analizu koncentracije elemenata, kao i uzorci jetre i škrge za HP analizu, prema metodologiji koju su koristili Nikolić et al. ^{[11], [12]}. Nakon merenja totalne dužine (TL, cm) i težine (W, g), ribe su disekovane. Određen je i Fultonov faktor kondicije (CF) prema Ricker ^[13]. Analiza elemenata izvršena je pomoću optičke emisione spektroskopije sa induktivno spregnutom plazmom (ICP-OES, Spectro Genesis EOP II, Spectro Analytical Instruments DmbH, Nemačka). Procenjene su koncentracije sledećih 7 elemenata: As, Cd, Cr, Cu, Hg, Pb, i Zn. Blank uzorci procesuirani su na isti način kao i uzorci tkiva, sedimenta i vode, a radi utvrđivanja i kontrole prisustva analiziranih elemenata u korišćenim hemikalijama. Semikvantitativni sistem skorovanja koji je razvijen od strane Bernet et al. ^[14] korišćen je za kvantifikaciju (HP) promena na jetri i škragama.

Koncentracije elemenata u vodi, sedimentu i mišićnom tkivu upoređene su sa propisanim maksimalno dozvoljenim koncentracijama (MDK) za vodu ^[15], sediment ^[15] i riblje meso prema nacionalnoj regulativi ^[16] i regulativi Evropske komisije ^[17]. Procena ukupnog statusa toksičnosti uzorka (koncentracije metala u tkivima grgeča i sedimentu) izvršena je upotrebom indeks zagađenja metalima (MPI) prema formuli iz Usero et al. ^[18], i indeks opterećenja zagađenjem (PLI) prema formuli iz Islam et al. ^[19]. Potencijalni ekološki rizik (RI) i stepen kontaminacije (C_d) izračunati su korišćenjem metodologije koju je predložio Hakanson ^[20], a zdravstveni rizik (THQ i TR) određen je prema metodologiji razvijenoj od strane USEPA ^[21].

U slučaju kada su podaci imali normalnu distribuciju, korišćena je jednosmerna ANOVA praćena Tukey-evim HSD *post-hoc* testom. U suprotnom, korišćen je Kruskal-Wallis *H* testa praćen Mann-Whitney *U* testom. Korelacije su ispitane korišćenjem Spearman-ovog korelacionog testa rangova. Obrada podataka vršena je u programu STATISTICA Software Package, Version 7.0, StatSoft Inc. Nivo vrednosti verovatnoće $p \leq 0,05$ smatrao se statistički značajnim za sve sprovedene testove.

Rezultati i diskusija

Dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 1. Koncentracije elemenata u vodi bile su uglavnom niže u poređenju sa koncentracijama u tkivima grgeča i sedimentu, i nisu prelazile MDK vrednosti propisane za vodu. Zabeležene su veće koncentracije elemenata u sedimentu u poređenju sa tkivima riba. Koncentracija Cr za Zaovine i Cu za Međuvršje prelazile MDK vrednosti propisane za sediment.

Tabela 4. Koncentracija elemenata u vodi ($\mu\text{g/mL}$), sedimentu mišiću ($\mu\text{g/g}$), škrgama i jetri grgeča ($\mu\text{g/g}$), kao i indeks opterećenja zagađenjem (PLI), stepen kontaminacije (C_d), potencijalni ekološki rizik (RI), zdravstveni rizik (TTHQ i TR), kondicija riba (CF, kao i vrednosti HP indeksa organa (I_G i I_L) i ukupnog HP indeksa (I_T) za šest ispitivanih veštačkih jezera. Vrednosti su predstavljene kao srednja vrednost \pm standardna devijacija, dok ND znači da su koncentracije bile ispod praga detekcije.

	Tkivo	Garaši	Vlasina	Perućac	Zaovine	Međuvršje	Savsko jezero
As	Mišić	0,15 \pm 0,18	0,23 \pm 0,19	0,19 \pm 0,19	0,40 \pm 0,30	0,41 \pm 0,38	0,35 \pm 0,39
	Škrge*	0,06 \pm 0,09 ^a	0,28 \pm 0,24 ^{bc}	0,29 \pm 0,24 ^{bc}	0,66 \pm 0,37 ^c	0,18 \pm 0,24 ^{ab}	0,44 \pm 0,35 ^{bc}
	Jetra*	0,07, 1,02 ^{***a}	0,06 \pm 0,16 ^a	0,04 ^{***a}	0,60 \pm 0,40 ^b	0,46, 0,03 ^{***a}	0,23 \pm 0,36 ^{ab}
	Voda	0,002	0,002	0,005	0,008	0,004	0,003
	Sediment	7,30	1,49	3,02	1,08	8,31	3,56
	TR	4,66 $\times 10^{-7}$	1,26 $\times 10^{-6}$	5,51 $\times 10^{-7}$	1,52 $\times 10^{-6}$	1,12 $\times 10^{-6}$	9,31 $\times 10^{-7}$
Cd	Mišić	0,12 \pm 0,05	0,16 \pm 0,05	0,14 \pm 0,04	0,07 \pm 0,09	0,14 \pm 0,06	0,09 \pm 0,08
	Škrge	0,20 \pm 0,12	0,33 \pm 0,21	0,25 \pm 0,05	0,08 \pm 0,11	0,24 \pm 0,07	0,18 \pm 0,14
	Jetra*	0,04 \pm 0,07 ^{ac}	0,37 \pm 0,48 ^b	0,02 \pm 0,03 ^a	0,14 \pm 0,24 ^{abc}	0,45 \pm 0,63 ^{abc}	0,70 \pm 0,82 ^{bc}
	Voda	0,005	0,004	0,004	0,004	0,005	0,005
	Sediment	0,82	1,57	1,03	1,33	0,98	0,79
Cr	Mišić*	0,23 \pm 0,05 ^c	0,16 \pm 0,11 ^{abc}	0,21 \pm 0,08 ^{bc}	0,06 \pm 0,07 ^a	0,12 \pm 0,09 ^a	0,29 \pm 0,65 ^{ab}
	Škrge*	0,46 ^{**ab}	0,07 \pm 0,12 ^{ab}	ND ^a	0,13 \pm 0,13 ^b	ND ^a	ND ^a
	Jetra	0,23 \pm 0,13	0,28 \pm 0,26	0,30 \pm 0,13	0,14 \pm 0,06	0,21 \pm 0,40	0,15 \pm 0,21
	Voda	0,052	0,053	0,054	0,050	0,052	0,054
	Sediment	25,66	48,01	79,29	949,58	93,73	48,81
Cu	Mišić	0,02 ^{**}	ND	ND	0,10 ^{**}	ND	0,44 ^{**}
	Škrge*	ND ^a	0,62 \pm 1,30 ^{ab}	ND ^a	0,62 \pm 0,58 ^b	ND ^a	13,63 ^{**ab}
	Jetra*	1,95 \pm 2,54 ^a	9,91 \pm 8,69 ^{ab}	6,97 \pm 3,26 ^b	12,90 \pm 9,28 ^b	17,96 \pm 21,29 ^b	12,88 \pm 9,86 ^b
	Voda	0,024	0,024	0,026	0,016	0,019	0,024
	Sediment	9,34	17,63	31,83	11,46	110,26	22,31
Hg	Mišić*	1,35 \pm 0,86 ^{ab}	0,52 \pm 0,23 ^a	1,16 \pm 0,47 ^b	1,07 \pm 0,34 ^b	0,59 \pm 0,17 ^a	1,19 \pm 0,47 ^b
	Škrge*	0,54 \pm 0,63 ^{ab}	0,30 \pm 0,28 ^{ab}	0,35 \pm 0,15 ^b	0,50 \pm 0,17 ^b	0,19 \pm 0,14 ^a	0,44 \pm 0,30 ^{ab}
	Jetra	0,79 \pm 0,48	0,48 \pm 0,18	0,71 \pm 0,12	0,54 \pm 0,11	0,53 \pm 0,31	0,66 \pm 0,28
	Voda	0,038	0,036	0,038	0,037	0,035	0,038
	Sediment	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Pb	Mišić*	0,05 \pm 0,06 ^a	0,18 \pm 0,16 ^{abc}	0,28 \pm 0,20 ^{bc}	0,06 \pm 0,11 ^a	0,28 \pm 0,15 ^c	1,45 \pm 4,45 ^{ab}
	Škrge*	0,23 \pm 0,29 ^{ab}	0,43 \pm 0,35 ^{bc}	0,58 \pm 0,30 ^c	0,10 \pm 0,15 ^a	0,58 \pm 0,32 ^c	2,15 \pm 5,52 ^{bc}
	Jetra*	0,12 \pm 0,12 ^{ab}	0,32 \pm 0,23 ^c	0,26 \pm 0,25 ^{abc}	0,12, 0,29 ^{***a}	0,35 \pm 0,41 ^{bc}	2,95 \pm 9,05 ^{ab}
	Voda	0,036	0,041	0,042	0,040	0,043	0,043
	Sediment	46,07	69,45	64,52	32,23	55,62	50,95
	TR	2,96 $\times 10^{-8}$	1,75 $\times 10^{-7}$	1,52 $\times 10^{-7}$	1,69 $\times 10^{-7}$	3,26 $\times 10^{-8}$	7,11 $\times 10^{-7}$
Zn	Mišić*	18,64 \pm 4,13 ^{ab}	18,88 \pm 5,01 ^a	22,85 \pm 5,27 ^{abc}	23,89 \pm 6,52 ^{abc}	27,27 \pm 9,28 ^c	23,22 \pm 7,18 ^{bc}
	Škrge*	59,78 \pm 14,17 ^{bc}	71,10 \pm 17,61 ^{bc}	62,06 \pm 7,72 ^b	69,63 \pm 5,23 ^c	70,0 \pm 6,85 ^c	80,91 \pm 10,85 ^a
	Jetra*	58,76 \pm 10,74 ^a	71,28 \pm 33,30 ^a	57,36 \pm 8,55 ^a	77,41 \pm 24,23 ^{ab}	74,20 \pm 30,16 ^{ab}	101,0 \pm 11,27 ^b
	Voda	0,014	0,024	0,006	0,019	0,025	0,013
	Sediment	43,85	89,82	198,97	65,20	114,82	62,66
MPI	Mišić	0.05	0.19	0.14	0.16	0.11	0.18
	Škrge	0.10	0.15	0.29	0.22	0.41	0.16
	Jetra	0.13	0.25	0.13	0.27	0.41	0.25
PLI		3,61	4,44	5,43	5,11	7,61	4,30
C_d		2,69	4,06	4,24	3,52	6,23	3,10

RI	34,50	56,48	43,08	46,52	52,59	33,42
TTHQ	0.58	0.39	0.53	0.32	0.36	0.48
CF	1.65±0.16	1.42±0.11	1.40±0.12	1.43±0.17	1.38±0.09	1.34±0.11
I _G	14.9±6.5	19.8±7.3	22.5±10.4	26.0±7.2	18.0±3.5	17.6±3.0
I _L	7.4±4.2	12.4±8.9	13.8±6.7	11.2±7.7	18.0±8.7	13.6±4.8
I _T	21.7±6.7	32.8±10.8	34.8±12.8	36.7±10.1	36.0±5.3	31.2±6.0

a,b,c,d,e Vrednosti sa različitim slovima u istom redu ukazuju na statistički značajne razlike (Mann-Whitney U test, $p \leq 0,05$ ili Tukey HSD post-hoc test, $p \leq 0,05$).

* Statistički značajne razlike između veštačkih jezera (Kruskal-Wallis H test, $p \leq 0,05$ ili jednosmerna ANOVA $p \leq 0,05$).

** Koncentracije iznad granica detekcije samo u jednom uzorku.

*** Koncentracije iznad granica detekcije samo u dva uzorka.

Pronađene su statistički značajne razlike između veštačkih jezera za sve elemente. Koncentracije elemenata u mišićnom tkivu bile su uglavnom niže u poređenju sa škragama i jetrom, što je u skladu sa podacima objavljenim u literaturi [3]. Rezultati su pokazali da nivo Hg u mišiću opada sa porastom nadmorske visine na kojoj se akumulacija nalazi. Manji antropogeni uticaj na višim nadmorskim visinama rezultat je manjeg broja naselja u ovim oblastima. Koncentracije Cd kod osam jedinki iz Vlasine, dve jedinke iz Zaovina, jedne jedinke iz Međuvršja, zatim Hg kod dve jedinke iz Garaša i jedne jedinke iz Perućca, kao i Pb kod jedne jedinke iz Savskog jezera prelazile su MDK vrednosti za pomenute elemente. Razlog za brigu jeste veliki broj uzoraka u kojima Cd prelazi propisanu MDK vrednost, jer su akutna trovanja ljudi ovim elementom dovode do promena na jetri, plućima i testisima [22]. IARC [23] klasifikuje Cd kao karcinogen kategorije 1, uprkos tome što sam po sebi ne predstavlja mutagen [22]. Statistički značajnih korelacija između akumulacije elemenata i kondicije riba nije bilo, što je zabeleženo kod više vrsta riba uzorkovanih kako na lokalitetima sa različitim stepenom zagađenja [24].

Mišić je tkivo koje je najmanje izloženo pritisku zagađenja metalima u svim akumulacijama, dok su škrge najizloženije pomenutom zagađenju. Kod jedinki iz akumulacije Garaši uočen je najmanji uticaj zagađenja metalima, dok su jedinke iz Savskog jezera bile izložene najvećem zagađenju. Ovakav rezultat za Garaše je očekivan, zato što se ova akumulacija koristi za vodosnabdevanje i pod malim je antropogenim pritiskom [25]. S druge strane, Savsko jezero je indirektno, preko reke Save i zbog blizine gradskog centra i intenziteta gradskog saobraćaja, kao što je već pomenuto, izloženo jakom antropogenom uticaju [3]. Sledeća akumulacija po veličini MPI indeksa jeste Međuvršje koje je takođe pod jakim antropogenim pritiskom [26]. Sve PLI vrednosti bile su veće od 1, što ukazuje da je sediment u svim akumulacijama kontaminiran, pri čemu je u akumulacijama za proizvodnju električne energije konstatovano veće zagađenje sedimenta od jezera za vodosnabdevanje i rekreaciju. Yi et al. [27] uočili su da se toksični metali akumuliraju više u lentičkim u poređenju sa lotičkim ekosistemima zbog većeg protoka vode u rekama.

Nisu dobijene statistički značajne razlike između ispitivanih veštačkih jezera u pogledu HP indeksa za jetru i škrge, kao ni za ukupni HP indeks. Kod uzorkovanih jedinki iz akumulacije Vlasina utvrđen je najniži intenzitet HP promena. Takođe, nisu nađene ni statistički značajne korelacije između pojedinih HP indeksa. Jetra je bila manje zahvaćena promenama u odnosu na škrge. Činjenica da je branhijalni aparat u konstantnom kontaktu sa vodenom sredinom, uzimajući u obzir i njegovu fiziološku ulogu (usvajanje kiseonika, oslobađanje ugljen-dioksida, osmoregulacija, ekskrecija azota, kiselinsko-bazna regulacija, metabolizam hormona, čulna funkcija), kao i to da je njegova građa veoma delikatna, čini ovaj organ najosetljivijim prema zagađivačima u vodi [14].

Zabeležen je nizak stepen kontaminacije u svim ispitivanim akumulacijama, a najviše vrednosti zabeležene su za akumulacije za proizvodnju električne energije. Takođe, zabeležen je nizak potencijalni ekološki rizik za sve ispitivane akumulacije, pri čemu su više vrednosti zabeležene za akumulacije za proizvodnju električne energije.

Indeks rizika pruža brzu i jednostavnu kvantitativnu procenu potencijalnog ekološkog rizika određene kontaminacije u ispitivanom akvatičnom ekosistemu^{[20], [27]}. Vrednosti TTHQ (indeks opasnosti) u svakoj akumulaciji bile su manje od 1 (prag količnika ciljane opasnosti), što ukazuje na odsustvo nekancerogenog rizika po zdravlje ljudi usled unosa ispitivanih elemenata^[28]. TR ukazuje na rastuću verovatnoću da se kod određenog čoveka razvije kancer tokom životnog ciklusa, kao rezultat izlaganja potencijalnim kancerogenima. Više vrednosti ciljnog kancerogenog faktora rizika (TR) zabeležene su za As u odnosu na Pb. Najniže vrednosti TR za neorganski As i Pb zabeležene su za Garaše, dok su najviše vrednosti zabeležene za veštačka jezera za proizvodnju električne energije.

Zaključak

Rezultati ukazuju na to da su akumulacije za proizvodnju električne energije pod većim antropogenim pritiskom i/ili je politika upravljanja zagađenjem lošija u poređenju sa ostalim tipovima veštačkih jezera uključenih u ovo istraživanje, naročito u poređenju sa akumulacijom za vodosnabdevanje.

Literatura (APA standard)

- [1] Uysal, K., Köse, E., Bülbül, M., Dönmez, M., Erdoğan, Y., Koyun, M., ... & Özmal, F. (2009). The comparison of heavy metal accumulation ratios of some fish species in Enne Dame Lake (Kütahya/Turkey). *Environmental Monitoring and Assessment*, 157(1), 355-362.
- [2] Zuliani, T., Vidmar, J., Drinčić, A., Ščančar, J., Horvat, M., Nečemer, M., ... & Milačić, R. (2019). Potentially toxic elements in muscle tissue of different fish species from the Sava River and risk assessment for consumers. *Science of the Total Environment*, 650, 958-969.
- [3] Kostić, J., Kolarević, S., Kračun-Kolarević, M., Aborgiba, M., Gačić, Z., Paunović, M., ... & Vuković-Gačić, B. (2017). The impact of multiple stressors on the biomarkers response in gills and liver of freshwater breams during different seasons. *Science of the Total Environment*, 601, 1670-1681.
- [4] Di Giulio, R.T., & Hinton, D.E. (2008). Introduction. In: Di Giulio, R.T., Hinton, D.E. (Eds.), *The Toxicology of Fishes*. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group, pp. 3-7.
- [5] Kroon, F., Streten, C., & Harries, S. (2017). A protocol for identifying suitable biomarkers to assess fish health: A systematic review. *PloS One*, 12(4), e0174762.
- [6] Van der Oost, R., Beyer, J., & Vermeulen, N.P. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 13(2), 57-149.
- [7] Freyhof, J., & Brooks, E. (2011). *European red list of freshwater fishes*. Luxembourg: Publications Office of the European Communities, pp. 1-60.
- [8] Skov, C., Jansen, T., & Arlinghaus, R. (2017). 62 years of population dynamics of European perch (*Perca fluviatilis*) in a mesotrophic lake tracked using angler diaries: The role of commercial fishing, predation and temperature. *Fisheries Research*, 195, 71-79.
- [9] Järv, L., Kotta, J., & Simm, M. (2013). Relationship between biological characteristics of fish and their contamination with trace metals: a case study of perch *Perca fluviatilis* L. in the Baltic Sea. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences*, 62(3).
- [10] Službeni glasnik Republike Srbije No. 56/2015, 2015. Naredba o merama za očuvanje i zaštitu ribljeg fonda. Preuzeto iz www.pravnoinformacionisistem.rs/SIGlasnikPortal/eli/re-p/sgrs/ministarstva/naredba/2015/56/1/reg
- [11] Nikolić, D., Skorić, S., Rašković, B., Lenhardt, M., & Krpo-Ćetković, J. (2020a). Impact of reservoir properties on elemental accumulation and histopathology of European perch (*Perca fluviatilis*). *Chemosphere*, 244, 125503.

- [12] Nikolić, D., Skorić, S., Lenhardt, M., Hegediš, A., & Krpo-Ćetković, J. (2020b). Risk assessment of using fish from different types of reservoirs as human food—A study on European perch (*Perca fluviatilis*). *Environmental Pollution*, 257, 113586.
- [13] Ricker, W.E. (1975). Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. *Bulletin - Fisheries Research Board of Canada*, 191, 1-382.
- [14] Bernet, D., Schmidt, H., Meier, W., Burkhardt-Holm, P., & Wahli, T. (1999). Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution. *Journal of Fish Diseases*, 22(1), 25-34.
- [15] Službeni glasnik Republike Srbije No. 50/2012, 2012. Uredba o graničnim vrednostima zagađujućih materija u površinskim i podzemnim vodama i sedimentu i rokovima za njihovo dostizanje. Preuzeto iz <http://www.rdvode.gov.rs/doc/dokumenta/podzak/Uredba%20o%20-granicnim%20vrednostima%20zagadjujucih%20materija%20u%20povrsinskim%20i%20podzemnim%20vodama%20i%20sedimentu%20i%20rokovima%20za%20njihovo%20dostizanje.pdf>
- [16] Službeni glasnik Republike Srbije Nos. 22/2018 & 90/2018, 2018. Pravilnik o maksimalno dozvoljenim količinama ostataka sredstava za zaštitu bilja u hrani i hrani za životinje i o hrani i hrani za životinje za koju se utvrđuju maksimalno dozvoljene količine ostataka sredstava za zaštitu bilja. Prilog 5 – Maksimalno dozvoljene količine određenih kontaminanata u hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog porekla Preuzeto iz www.pravno-informacioni-sistem.rs/SlGlasnikPortal/prilozi/5.html&doctype=reg&abc=cba&eli=true&eliActId=427071®actid=427071
- [17] EU (2006). Commission Regulation (EC) No. 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs (Text with EEA relevance). Official Journal of the European Union No. 1881/2006, 364: 5-24.
- [18] Usero, J., Gonzalez-Regalado, E., & Gracia, I. (1997). Trace metals in the bivalve molluscs *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* from the Atlantic Coast of Southern Spain. *Environment International*, 23(3), 291-298.
- [19] Islam, M. S., Ahmed, M. K., Raknuzzaman, M., Habibullah-Al-Mamun, M., & Islam, M. K. (2015). Heavy metal pollution in surface water and sediment: a preliminary assessment of an urban river in a developing country. *Ecological Indicators*, 48, 282-291.
- [20] Hakanson, L. (1980). An ecological risk index for aquatic pollution control. A sedimentological approach. *Water Research*, 14(8), 975-1001.
- [21] USEPA (1989). Risk assessment guidance for superfund. In: Human Health Evaluation Manual Part A, Interim Final, vol. I. Washington DC, United States Environmental Protection Agency: EPA/540/1-89/ 002.
- [22] Bertin, G., & Averbeck, D. (2006). Cadmium: cellular effects, modifications of biomolecules, modulation of DNA repair and genotoxic consequences (a review). *Biochimie*, 88(11), 1549-1559.
- [23] IARC (1993). Beryllium, cadmium, mercury and exposures in the glass manufacturing industry, in: International Agency for Research on Cancer Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, vol. 58. Lyon, IARC Scientific Publications: 119–237.
- [24] Fonseca, V. F., Vasconcelos, R. P., Tanner, S. E., França, S., Serafim, A., Lopes, B., ... & Cabral, H. N. (2015). Habitat quality of estuarine nursery grounds: Integrating non-biological indicators and multilevel biological responses in *Solea senegalensis*. *Ecological Indicators*, 58, 335-345.
- [25] Sunjog, K., Kolarević, S., Kračun-Kolarević, M., Višnjić-Jeftić, Ž., Skorić, S., Gačić, Z., ... & Vuković-Gačić, B. (2016). Assessment of status of three water bodies in Serbia based on tissue metal and metalloid concentration (ICP-OES) and genotoxicity (comet assay). *Environmental Pollution*, 213, 600-607.
- [26] Djikanović, V., Skorić, S., Spasić, S., Naunovic, Z., & Lenhardt, M. (2018). Ecological risk assessment for different macrophytes and fish species in reservoirs using biota-sediment accumulation factors as a useful tool. *Environmental Pollution*, 241, 1167-1174.

- [27] Yi, Y., Yang, Z., & Zhang, S. (2011). Ecological risk assessment of heavy metals in sediment and human health risk assessment of heavy metals in fishes in the middle and lower reaches of the Yangtze River basin. *Environmental Pollution*, 159(10), 2575-2585.
- [28] Zheng, N., Wang, Q., Zhang, X., Zheng, D., Zhang, Z., & Zhang, S. (2007). Population health risk due to dietary intake of heavy metals in the industrial area of Huludao city, China. *Science of the Total Environment*, 387(1-3), 96-104.

ISPITIVANJE MOGUĆNOSTI PRIMENE FENTON-PROCESA U TRETMANU OBOJENIH OTPADNIH VODA GRAFIČKE INDUSTRIJE

Vesna Gvoić

*Univerzitet u Novom Sadu, Fakultet tehničkih nauka, Trg Dositeja Obradovića 6, Novi Sad, Srbija
e-mail: kecic@uns.ac.rs*

Izvod

Predmet rada je ispitivanje mogućnosti primene homogenog, heterogenog i Fenton-sličnog procesa u tretmanu obojenih otpadnih voda grafičke industrije. Kao Fenton katalizatori korišćeni su sintetisani gvožđe(III)-molibdat i nano nula valentno gvožđe i komercijalni gvožđe(II)-sulfat. Optimizacija Fenton procesa u tretmanu sintetičkih rastvora grafičkih boja izvršena je primenom nove statističke metode, *definitive screening design*. U cilju postizanja maksimalnog stepena obezbojavanja i mineralizacije tretiranog uzorka ispitan je uticaj sledećih procesnih parametara: inicijalne koncentracije boje, koncentracije gvožđa, pH vrednosti i koncentracije vodonik-peroksida. Nakon ustanovljenih optimalnih uslova i izvršene verifikacije predloženog optimuma, sproveden je tretman realnog efluenta. Stepem mineralizacije tretiranog efluenta ustanovljen je na osnovu vrednosti sadržaja ukupnog organskog ugljenika i hemijske potrošnje kiseonika. U cilju razumevanja mehanizma degradacije grafičkih boja u Fenton procesu, kao i identifikacije prirode degradacionih produkata, izvršena je kvalitativna gasno-hromatografska/maseno spektrometrijska analiza. Dobijeni rezultati su ukazali na moguću primenu Fenton procesa u tretmanu grafičkih boja usled postizanja visokih efikasnosti obezbojavanja i mineralizacije tretiranih efluenata. Nedostatak primenjene metode se ogleda u činjenici da je većina uzoraka okarakterisana kao visoko toksična, a ujedno i izrazito kisela, budući da je ustanovljena optimalna pH vrednost Fenton tretmana 2 - 3.

Ključne reči: Fenton proces, grafička boja, otpadna voda, optimizacija, *definitive screening design*.

Uvod

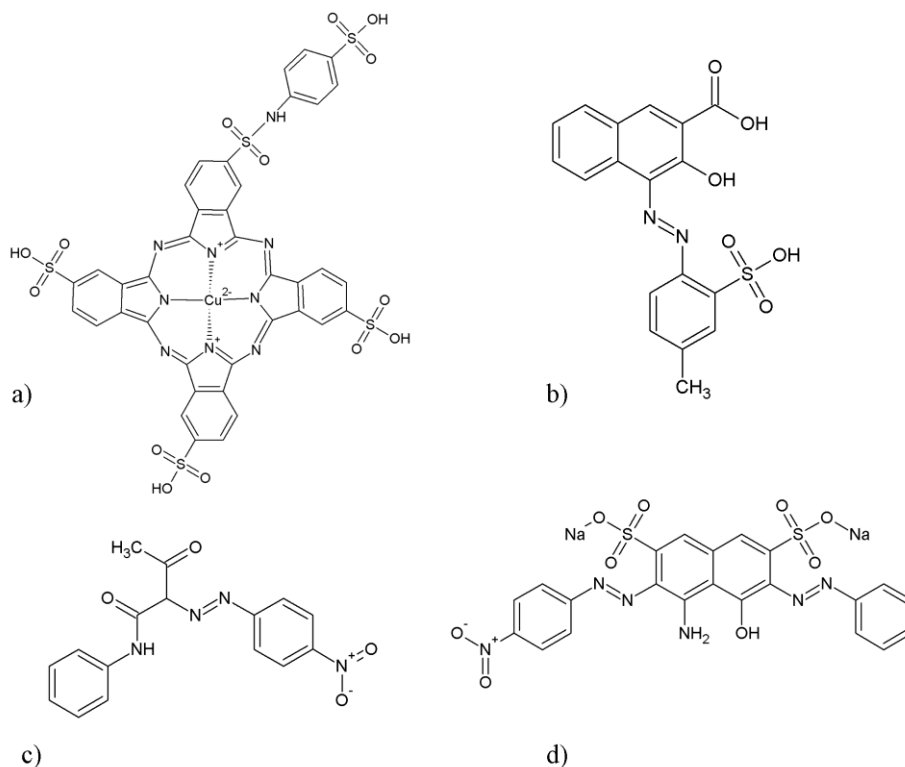
Jedan od primarnih ekoloških problema u grafičkoj industriji je ispuštanje generisanih netretiranih obojenih efluenata u recipijente. S obzirom na to da su prethodna istraživanja bazirana prvenstveno na tretman otpadnih voda poreklom iz tekstilne industrije, postoji izražena potreba za detaljnim istraživanjima u oblasti remedijacije otpadnih voda grafičke industrije, uz definisanje i primenu najefikasnije i ekonomski prihvatljive metode za prečišćavanje otpadnih voda generisanih nakon procesa štampe [1, 2]. U poslednjih nekoliko godina istraživači su akcenat stavili na primenu unapređenih procesa oksidacije, kao tehnika koje zauzimaju istaknuto mesto među tretmanima za smanjenje koncentracije neorganskih i organskih polutanata u industrijskim efluenatima. Prednosti pomenutih procesa se ogledaju u generisanju hidrosil radikala, moćnih oksidacionih vrsta, sa izraženom tendencijom degradacije teško biodegradabilnih jedinjenja, ili transformacije zagađujućih supstanci u manje toksične produkte malih molekulskih masa putem brzih i neselektivnih radikalskih reakcija [3].

Predmet izučavanja rada je ispitivanje mogućnosti primene Fenton procesa u tretmanu otpadnih voda grafičke industrije generisanih nakon procesa flekso štampe, a obojenih osnovnim procesnim bojama: cijan, magentom, žutom i crnom (CMYK). U tu svrhu su korišćena tri katalizatora:

komercijalni gvožđe(II)-sulfat, sintetisani gvožđe(III)-molibdat i nano nula valentno gvožđe (eng. *nano zero valent iron* - nZVI) sintetisano iz ekstrakta lišća hrasta. Cilj istraživanja je optimizacija homogenog ($\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$), heterogenog ($\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3/\text{H}_2\text{O}_2$) i Fenton-sličnog procesa ($\text{nZVI}/\text{H}_2\text{O}_2$), koji bi svoju praktičnu primenu mogli da ostvare u okviru tretmana realnih efluenata grafičke industrije, a u pogledu rešavanja problema dospeća rezidualnih koncentracija grafičkih boja u rečne vodotokove kao krajnjeg recipijenta.

Eksperimentalni deo

Eksperimenti su izvršeni na vodenim rastvorima sintetičkih CMYK boja, koje pripadaju grupi ftalocijanskih i azo boja (slika 1). Kao realan efluent korišćena je otpadna voda iz jedne flekso štamparije u Novom Sadu, za koju je ustanovljeno da tečni otpad ne sakuplja i ne odlaže, već ga ispušta u recipijent bez prethodno sprovedenog tretmana. Obojene otpadne vode su generisane nakon procesa štampe, kao rezultat neophodnog čišćenja i pranja sistema valjaka za nanos boje i komora za boju.



Slika 1. Strukturna formula: a) cijan boje; b) magenta boje; c) žute boje; d) crne boje

„Zelena“ sinteza nZVI čestica je sprovedena prikupljanjem opalog lišća hrasta (lat. *Quercus Peatrea*) iz Nacionalnog Parka Fruška gora, u Vojvodini. Priprema materijala za ekstrakciju je sprovedena u nekoliko koraka: lišće je usitnjeno u kuhinjskoj seckalici, a zatim prosejano kroz sito sa okcima veličine 2 mm. Za dalju ekstrakcionu proceduru je korišćeno lišće prečnika manjeg od 2 mm koje je sušeno tokom 48 sati na temperaturi od 50 °C. Ekstrakcija je vršena prema uputstvu autora Machado i sar. [4].

Heterogeni Fenton katalizator, $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$, je sintetisan prema proceduri autora Tian i sar. [5], pri čemu je korišćen vlažni hemijski postupak. Rastvor amonijum-hidroksida (2 M) je dodat rastvoru amonijum molibdata-tetrahidrata (0,01 M), a potom je u smešu koja se mešala na magnetnoj mešalici u kapima dodat rastvor gvožđe(III)-nitrata monohidrata (0,093 M). Nakon dodate celokupne zapremine gvožđe(III)-nitrata, rastvor je mešan na magnetnoj mešalici 2h na sobnoj temperaturi. Dobijeni precipitat je filtriran i ispiran sa dejonizovanom vodom, a zatim sušen na 105 °C tokom 24h. Kalcinacija osušenog precipitata je vršena na 550 °C tokom 2h, što je uslovalo smanjenja specifične površine i eliminaciju nečistoća.

Morfološke i strukturne karakteristike sintetisanih katalizatora, nZVI i $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$, su utvrđene putem skenirajuće elektronske mikroskopije praćene rendgenskom spektroskopijom (eng. *scanning electron microscopy/energy dispersive spectrometry* - SEM/EDS), transmisione elektronske mikroskopije (eng. *transmission electron microscopy* - TEM), rendgenske fluorescentne analize (eng. *X-ray fluorescence* - XRF), infracrvene spektroskopije sa Furijeovom transformacijom (eng. *Fourier-transform infrared spectroscopy* - FTIR), rendgenske difrakcione analize (eng. *X-ray diffraction* - XRD), određivanjem specifične površine i poroznosti (eng. *Brunauer -Emmett -Teller* - BET), putem određivanja raspodele veličine čestica, kao i testa toksičnosti.

Ispitivanje efikasnosti obezbojavanja vodenog rastvora grafičke boje vršeno je serijom eksperimenata na aparaturi za JAR test (FC6S Velp scientific, Italija). Eksperimenti su sprovedeni mešanjem 0,25 l vodenog rastvora grafičke boje koncentracije 20 - 180 mg/l sa Fenton katalizatorom (koncentracija gvožđa 0,75 - 60 mg/l). Nakon podešavanja pH vrednosti (AD110 Adwa), dodatkom 0,1 M rastvora ccH_2SO_4 ili NaOH, uzorci su mešani u vremenskom periodu od 60 minuta, pri brzini mešanja od 120 o/min i konstantnoj temperaturi od 23 °C. Nakon isteka reakcionog vremena, merena je apsorbancija na talasnoj dužini karakterističnoj za tretiranu boju [6]. Sva spektrofotometrijska merenja, uključujući određivanje apsorpcionih maksimuma (λ_{max}) za ispitivanu boju kao i praćenje promene apsorbancije tokom eksperimenata, vršena su na UV/VIS spektrofotometru (Genesys 10S, Thermo Fisher). Efikasnost obezbojavanja vodenog rastvora grafičke boje i realnog efluenta izračunata je prema jednačini (1):

$$E (\%) = A_0 - A_t / A_0 * 100 \quad (1)$$

gde je: A_0 - početna apsorbancija obojenog vodenog rastvora boje ili efluenta, a A_t - apsorbancija vodenog rastvora uzorka nakon izvršenog Fenton procesa.

Fizičko-hemijska karakterizacija efluenta pre i nakon Fenton tretmana je obuhvatila merenje pH vrednosti, električne provodljivosti, temperature (AD110 Adwa instrument), mutnoće (Turb 430 IR WTW), hemijske potrošnje kiseonik (HPK), biološke potrošnje kiseonika (BPK), (H1.002 - Velp Scientifica Italia, Lowibond i WTW), i sadržaja ukupnog organskog ugljenika (eng. *total organic carbon* - TOC), (LiquiTOC II - Elementar, Germany). HPK je sprovedena primenom volumetrijske metode kalijum-dihromata - SRPS ISO 6060:1994. Određivanje BPK posle 5 dana na 20 °C izvršeno je manometarskom metodom - H1.002, dok je metoda SRPS ISO 8245:2007 primenjena za određivanje TOC vrednosti, koja je korišćena za procenu stepena mineralizacije tretiranih efluenata [6].

U cilju identifikacije degradacionih produkata tretiranog efluenta primenjena je gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (GC Agilent 7890A/MSD 5975C), pri čemu je karakterizacija imobilizacionih i formiranih intermedijera izvršena na automatskom gasno-sorpcionom analizatoru (Quantachromeautosorb iQ2, Nemačka). Pored uzoraka efluenata pre i nakon tretmana, GC-MS analizi su podvrgnuti i uzorci slepe probe koji su sadržali samo Fenton katalizator i vodonik-peroksid u optimalnoj dozi u dejonizovanoj vodi. Priprema uzorka je izvršena u ekstrakciji sa heksanom i dihlormetanom [7] u skladu sa metodom EPA 3510C. Identifikacija

jedinjenja je izvršena korišćenjem NIST i AMDIS biblioteka masenih spektara, pri čemu su identifikovana ona jedinjenja koja su prepoznata sa verovatnoćom > 70% [6].

Statistička analiza, DSD, je korišćena kako bi se ispitaio uticaj četiri procesna parametra: početne koncentracije boje (20 - 180 mg/l), koncentracije gvožđa kao katalizatora u Fenton procesu (0,75 - 60 mg/l), pH vrednosti (2 - 10) i koncentracije vodonik-peroksida (1 - 11 mM). Radne verzije regresionih modela su usvajane, a eksperimentalni podaci modelovani korišćenjem stupnjevite regresione analize, iterativnog postupka u okviru kojeg se dodaju ili eliminišu nezavisne promenljive regresione jednačine, u cilju postizanja jednog od unapred usvojenih kriterijuma optimalnosti. Stupnjevita regresiona analiza je obuhvatila glavne faktore, njihove interakcije i kvadratne faktore, pri čemu je statistička značajnost razmatrana za p vrednosti $\leq 0,05$ [8, 9]. Svi eksperimenti su rađeni u duplikatu sa dodatkom još dve centralne tačke, pri čemu je za četiri numerička faktora softver Jump 13, koji je korišćen za statističku analizu podataka u ovoj studiji, generisao tabelu sa 28 eksperimenata.

Rezultati i diskusija

Na osnovu rezultata ispitivanja morfoloških i strikturnih karakteristika ustanovljeno je da su sintetisane nZVI čestice sfernog oblika, bez izražene agregacije, prosečne veličine 65 nm, sa prečnikom mono-modalnog tipa. Rezultati BET analize ukazuju na specifičnu površinu 1,45 m²/g i ukupnu zapreminu pora od 0,008 cm³/g, pri čemu mikropore nisu uočene. Rezultati određivanja mineralnog sastava nanomaterijala su potvrdili izražen udeo gvožđa sa 85% u odnosu na manje zastupljene elemente, poput silicijuma, fosfora, sumpora, nikla i cinka. XRD spektar je ukazao da se tokom sinteze nZVI čestica stvara pretežno amorfan materijal. Evaluacijom toksičnosti na *Vibrio fischeri* bakterijama utvrđeno je da sintetisan nanomaterijal spada u netoksične uzorke. Ispitivanje morfologije Fe₂(MoO₄)₃ katalizatora ukazuje da je sinteza rezultovala formiranjem kristalnih čestica monokliničke strukture, nepravilnog oblika, mikrometarskih dimenzija, sa izraženom heterogenom unutrašnjom strukturom i specifičnom površinom od 7,5 m²/g. Rezultati XRD analize ukazuju na formiranje kristalnih Fe₂(MoO₄)₃ čestica, čime je potvrđena uspešnost sinteze heterogenog Fenton katalizatora.

Na osnovu dobijenih rezultata nakon primenjenog tretmana zaključuje se da su svi Fenton procesi optimizovani u uskom opsegu pH 2 - 3, sa maksimalnom efikasnošću obezbojavanja sintetičkih rastvora boja do 88% za cijan i crnu boju, odnosno 97% za magenta i žutu boju. Nešto niža, ali ne i zanemarljiva efikasnost obezbojavanja sintetičkog rastvora boja je ustanovljena u blago kiseloj i neutralnoj sredini pri pH 5 - 7 u svim uzorcima boja primenom homogenog Fenton procesa (69% za cijan, 98% za magentu, 65% za žutu i 63% za crnu boju). Ipak, homogen Fenton proces sproveden pri neutralnoj pH vrednosti odlikuje se generisanjem određene količine mulja, što predstavlja nedostatak ove vrste procesa, jer zahteva dodatni koraka u tretmanu ispitivanih efluenta, kako bi se nastali mulja uklonio. Svi optimizovani procesi su verifikovani u okviru statističkog modela, pri čemu je ustanovljeno da se predložene optimizovane efikasnosti obezbojavanja uklapaju u 95%-ni interval poverenja, čime je potvrđen odabir odgovarajućeg modela za opis procesa uklanjanja boje primenom Fenton tretmana.

Nakon izvršene optimizacije, realan efluent generisan nakon procesa flekso štampe i obojen CMYK bojama podvrgnut je Fenton tretmanima pri ustanovljenim optimalnim vrednostima procesnih parametara. U tretmanu cijan boje, koja pripada grupi ftalocijanskih boja, najveći potencijal je ostvario Fenton-sličan nZVI katalizator, koji je doprineo uklanjanju boje od 77%. Njega slede heterogen Fe₂(MoO₄)₃ katalizator i homogen FeSO₄ katalizator, čija je primena omogućila 59%, odnosno 37% efikasnosti obezbojavanja realnog efluenta. Na osnovu izvršene fizičko-hemijske karakterizacije efluenta u svim uzorcima je ustanovljena povećana provodljivost i BPK vrednost nakon primenjenog tretmana, što ukazuje na formiranje brojnih degradacionih

produkata i oslobađanje neorganskih jona, koji mogu da ostvare kompeticiju sa Fenton katalizatorima, budući da ispoljavaju ulogu „hvatača“ hidroksil radikala. Time je objašnjena smanjena efikasnost Fenton procesa u tretmanu realnog efluenta u poređenju sa sintetičkim rastvorom grafičke boje. Najveći stepen mineralizacije, određen na osnovu HPK i TOC vrednosti, postignut je primenom nZVI/H₂O₂ Fenton procesa i rezultovao je redukcijom HPK od 78%, odnosno TOC od 67%. Nakon izvršene evaluacije toksičnosti, ustanovljena je smanjena toksičnost u uzorcima cijan boje tretirane FeSO₄/H₂O₂ i nZVI/H₂O₂ Fenton procesom, dok je uzorak tretiran Fe₂(MoO₄)₃/H₂O₂ Fenton procesom okarakterisan kao visoko toksičan, budući da izaziva inhibiciju *Vibrio fischeri* bakterija od 99%.

U tretmanu magenta, žute i crne boje najveću katalitičku aktivnost je ispoljio FeSO₄ homogen Fenton katalizator, koji je rezultovao sa 96%, 79% i 68% uklanjanja magenta, žute i crne boje, respektivno. Neznatno niža efikasnost uklanjanja boje je ostvarena primenom nZVI/H₂O₂ Fenton procesa i iznosila je 88% za magenta boju, 78% za žutu boju i 61% za crnu boju. Pri optimalnim uslovima tretmana došlo je do smanjenja TOC i HPK vrednosti, koji su doprineli mineralizaciji boje. Procenat uklanjanja HPK za magenta, žutu i crnu boju je iznosio 71%, 60% i 47%, respektivno, dok je stepen smanjenja TOC iznosio 50%, 79% i 58%, respektivno. Tretirani efluenti žute i crne boje se odlikuju visokom toksičnošću (do 99%), dok je povećanje toksičnosti u slučaju magenta boje ustanovljeno samo primenom Fe₂(MoO₄)₂/H₂O₂ Fenton procesa i iznosi 96%.

Mehanizam degradacije CMYK boja je razmatran sa aspekta formiranja brojnih intermedijera i degradacionih proizvoda, koji u nekim slučajevima mogu da imaju duži životni vek i da budu toksičniji od samog molekula boje. Kvalitativna gasno-hromatografska/maseno spektrometrijska analiza je korišćena za identifikaciju prirode produkata degradacije tretiranih efluenata, na osnovu čega su predloženi reakcioni mehanizmi degradacije CMYK boja. Ustanovljeno je da je proces degradacije CMYK boja iniciran oksidativnim napadom hidroksil radikala i raskidanjem ftalocijanske, odnosno azo grupe u hromofori molekula boje. Dalje se mehanizam degradacije odvija putem sukcesivnih radikalskih reakcija deaminacije, desulfonacije i hidroksilacije, kao i putem uklanjanja nitrozo grupe, što rezultuje razgradnjom aromatičnih struktura benzenovog i izoindolskog prstena. Mehanizam degradacije boje se dalje odvija do izdvajanja prostijih aromatičnih i alifatičnih jedinjenja, poput alkohola i karboksilnih kiselina, vodeći u idealnom slučaju ka oksidaciji do krajnjih produkata CO₂, H₂O i neorganskih soli. Ipak, karboksilni intermedijeri ne podležu daljoj razgradnji, budući da formiraju stabilne komplekse gvožđa i na taj način inhibiraju reakciju sa peroksidom, a time i potpunu mineralizaciju boje. U skladu sa detektovanim degradacionim proizvodima i predloženim mehanizmima degradacije su i apsorpcioni spektri uzoraka realnog efluenta pre i nakon tretmana tretiranih boja. U svim uzorcima su identifikovani karakteristični pikovi koji odgovaraju hromofori boje, a čiji se intenzitet smanjuje nakon sprovedenih tretmana u skladu sa postignutim stepenom mineralizacije.

Na osnovu analiziranih rezultata zaključuje se da su homogen i Fenton-sličan proces ostvarili najveću mogućnost uklanjanja CMYK boja iz realnog efluenta koja je praćena i visokim stepenom mineralizacije. Prednost primene Fenton-sličnog procesa se ogleda u tome što je kiselost nZVI Fenton katalizatora doprinela smanjenju potrošnje hemikalija za podešavanje pH vrednosti u izrazito kiseloj sredini, što predstavlja značajnu prednost pri korišćenju nZVI čestica u Fenton procesu. Nedostatak Fenton tretmana se ogleda u uskom opsegu pH primenljivosti, odnosno optimizovanoj pH vrednosti 2 - 3, koja je nepovoljna sa aspekta ispuštanja izrazito kiselih efluenata u recipijent. Pored toga, efluenti CMYK boja, sa izuzetkom magenta i cijan boje tretirane homogenim i Fenton-sličnom procesom, okarakterisani su kao visoko toksični uzorci, budući da ostvaruju izraženu inhibiciju luminescencije *Vibrio fischeri* bakterija.

Zaključak

Rezultati prikazani u radu su značajni sa aspekta primene ekološki prihvatljivih tretmana obojenih otpadnih voda grafičke industrije. Sprovedena istraživanja su doprinela kako razjašnjenju mehanizama degradacije grafičkih boja tokom Fenton procesa, tako i definisanju faktora sa najizraženijim uticajem na sam tok odvijanja primenjenog tretmana. U svetlu činjenice da je predložen tretman primenljiv u svim drugim tehnikama štampe koje generišu obojene otpadne vode, buduća istraživanja bi trebala da budu usmerena ka ispitivanju mogućnosti tretmana i drugih vrsta grafičkih boja sa fokusom na primenu Fenton procesa u neutralnoj sredini.

Zahvalnica

Rezultati prikazani u radu su segment istraživanja koja se realizovani u okviru Projekata (451-03-9/2021-14/200125 i 451-03-9/2021-14/200156) finansiranih od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Literatura

- [1] Karimifard, S., Moghaddam, M. (2018) Application of response surface methodology in physicochemical removal of dyes from wastewater: A critical review. *Science of the Total Environment*, 640-641, 772-797.
- [2] Katheresan, V., Kansedo, J., Lau S.Y. (2018) Efficiency of various recent wastewater dye removal methods: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6, 4676-4697.
- [3] Pavithra, K., Kumar, P., Jaikumar V., Rajan, P. (2019) Removal of colorants from wastewater: A review on sources and treatment strategies. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 75, 1-19.
- [4] Machado, S., Pinto, S., Grosso, J., Nouws, H., Albergaria, J., Delerue-Mato C. (2013) Green production of zero-valent iron nanoparticles using tree leaf extracts. *Science of the Total Environment*, 445-446, 1-8.
- [5] Tian, S., Tu, Y., Chen, D., Chen, X., Xiong, Y. (2011) Degradation of Acid Orange II at neutral pH using $\text{Fe}_2(\text{MoO}_4)_3$ as a heterogeneous Fenton-like catalyst. *Chemical Engineering Journal*, 169, 31-37.
- [6] Kecić, V., Kerkez, Đ., Prica, M., Lužanin, O., Bečelić-Tomin, M., Tomašević Pilipović, D., Dalmacija, B. (2018) Optimization of azo printing dye removal with oak leaves-nZVI/ H_2O_2 system using statistically designed experiment. *Journal of Cleaner Production*, 202, 65-80.
- [7] Jozwiak, W., Mitros, M., Kaluzna-Czaplinska, J., Tosik, R. (2007) Oxidative decomposition of Acid Brown 159 dye in aqueous solution by $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$ and ozone with GC/MS analysis. *Dyes and Pigments*, 74, 9-16.
- [8] Gabbay, R., Kenett, R., Scaffaro, R., Rubinstein, A. (2018) Synchronizing the release rates of salicylate and indomethacin from degradable chitosan hydrogel and its optimization by definitive screening design. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 125, 102-109.
- [9] Pereira, A., Reis M., Leca, J., Rodrigues, P., Marques, J. (2018) Definitive screening designs and latent variable modelling for the optimization of solid phase microextraction (SPME): Case study - Quantification of volatile fatty acids in wines. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 179, 73-81.

ISPITIVANJE ADSORPCIONOG POTENCIJALA HIDROČADI POREKLOM OD REZANCA ŠEĆERNE REPE ZA UKLANJANJE HLORPIRIFOSA

Irina Jevrosimov¹, Marijana Kragulj Isakovski, Snežana Maletić, Tamara Apostolović, Aleksandra Tubić, Jelena Tričković, Jasmina Agbaba

¹Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 3,
E-mail: irinaj@dh.uns.ac.rs

Izvod

U ovom radu ispitan je adsorpcioni potencijal hidročađi poreklom od rezanca šećerne repe dobijen na tri različite temperature i to 180, 200 i 220°C za uklanjanje hlorspirifosa primenom šaržnih testova adsorpcije. Rezultati karakterizacije ukazuju na to da sa porastom temperature raste specifična površina ispitivanih adsorbenata. Na osnovu rezultata eksperimenata kinetike utvrđeno je da vreme potrebno za uspostavljanje ravnoteže iznosi 24-48h u zavisnosti od primenjenog materijala. Freundlich-ov model za sorpcione izoterme dao je zadovoljavajuće koeficijente korelacije ($R^2=0,982; 0,988$) za ispitivani adsorbat na svim adsorbentima. Ispitivani adsorbent dao je nelinearne izoterme za sva ispitivana jedinjenja, što znači da afinitet za sorpciju opada sa porastom koncentracije sorbata. Takođe, najveći adsorpcioni koeficijent K_F dobijen je za adsorpciju hlorspirifosa na HTCR_200, dok je najmanji adsorpcioni koeficijent K_F dobijen za adsorpciju hlorspirifosa na HTCR_220.

Ključne reči: adsorpcija, organofosforni pesticidi, hidročađ

Uvod

Organofosforni pesticidi (OPP) su najčešće korišćena grupa pesticida zbog toga što su relativno jeftini, imaju široku primenu i visoku efikasnost uništavanja štetočina. Međutim, primena ovih pesticida smatra se velikim rizikom za ljudsko zdravlje i životnu sredinu usled zagađenja poljoprivrednih proizvoda, vode i zemljišta. Takođe, određeni organofosforni pesticidi su se pokazali kao kancerogeni i mutageni [1]. Hlorpirifos, spada u grupu organofosfornih pesticida, koristi se kao insekticid u poljoprivredi za suzbijanje štetočina [2].

Hidročađ spada u grupu ugljeničnih materijala koji se mogu primenjivati za uklanjanje organskih polutanata iz akvatične sredine. Ovaj materijal se dobija procesom hidrotermalne karbonizacije biomase, na relativno niskim temperaturama u opsegu od 180-250°C i pod pritiskom u vodi nekoliko sati [3]. Karakteristike dobijene hidročađi zavise od vrste sirovine i uslova procesa kao što su temperatura karbonizacije, vreme zadržavanja, odnos čvrste faze i vode. Tokom procesa hidrotermalne karbonizacije, fizička struktura biomase može se modifikovati hemijskim reakcijama kao što su hidroliza, dehidracija, aromatizacija, kondenzacija i dekarboksilacija [4]. S druge strane, prisustvo funkcionalnih grupa koje sadrže kiseonik čine hidročađ dobrim adsorbentom za veliki broj polarnijih polutanata [5].

Imajući sve ovo u vidu, cilj ovog rada bio je da se ispita adsorpcioni potencijal hidročađi poreklom od rezanca šećerne repe dobijene na tri različite temperature (180, 200 i 220°C) za uklanjanje hlorspirifosa iz vodenog medijuma i to primenom statičkih adsorpcionih testova.

Eksperimentalni deo

Sinteza i karakterizacija ispitivanih adsorbenata

Hydročad poreklom od rezanca šećerne repe proizvedena je postupkom hidrotermalne karbonizacije na tri različite temperature 180, 200 i 220°C (HTCR_180, HTCR_200, HTCR_220) primenom autoklava zapremine od 3000 ml (*Deutsch and Neumann, model 10253, Germany*). Količina od 200 g odgovarajuće biomase pomešana je sa 2000 ml destilovane vode da bi se dobio maseni odnos 1:10. Smeše su zagrevane u reaktoru do 180, 200 i 220°C brzinom od 2°C/min, a zatim održavane na navedenim reakcionim temperaturama pod autogenim pritiskom tokom 1 h i mešane (150 o/min) magnetnom mešalicom tokom celog procesa, kako bi se izbeglo lokalno pregrevanje. Nakon reakcionog perioda, autoklav je ohlađen na sobnu temperaturu (20±0,5°C), zaostali gas je ispušten iz sistema, a sakupljeni su čvrsti i tečni proizvodi. Hydročadi su odvojene od procesne vode, a zatim isprane destilovanom vodom nekoliko puta, potom su sušene na 105°C u peći tokom 24 h i čuvane u papirnim kesama do dalje karakterizacije i primene. Opseg temperature je izabran u skladu sa hemijskim sastavom upotrebene sirovine.

Fizičko-hemijska i morfološka karakterizacija ispitivanih hydročadi poreklom od rezanca šećerne repe obuhvatala je određivanje specifične površine, zapremine pora, srednjeg dijametra svih pora kao i površinskog sadržaja ugljenika. Specifična površina (SP), mikropore, ukupna zapremina mezopora i svih pora i srednji dijametar svih pora za ispitivane adsorbente mereni su primenom adsorpcije azota na 77 K upotrebom analizatora za određivanje specifične površine i veličine pora (Autosorb™ i Quantochrome Instruments, USA). SP je izračunata pomoću BET metode (Brunauer-Emmett-Teller). Zapremina mezopora je određena primenom desorpcionih izoterma BJH (Barrett-Joyner-Halenda) modela. Zapremina mikropora je izračunata upotrebom metode t-testa i Horvath-Kawazoe (HK). Skenirajuća elektronska mikroskopija (SEM, Hitachi TM3030) sa energo-disperzivnom rendgenskom spektrometrijom (EDS, Bruker Quantax 70 X-ray detector system) je korišćena za određivanje procentualnog sadržaja ugljenika i kiseonika na površini ispitivanih adsorbenata.

Ispitivanje adsorpcione kinetike i adsorpcionih izoterma na odabranim hydročadima

Adsorpcija hlorspirifosa ispitana je na hydročadi poreklom od rezanca šećerne repe dobijene na tri različite temperature (180, 200 i 220°C). Adsorpcioni eksperimenti izvedeni su na sobnoj temperaturi (20±2°C) i postavljeni su na sledeći način: u staklene vijale odmerena je određena masa odgovarajuće hydročadi, a zatim je dodata određena zapremina osnovnog rastvora (rastvor 0,01 M CaCl₂, 100 mg/l NaN₃ u destilovanoj vodi) tako da je za eksperimente kinetike finalna koncentracija hlorspirifosa u vodi bila 200 µg/L, dok je za adsorpcione izoterme opseg koncentracija bio 100-1000 µg/L. Vijali su zatim podvrgnuti kontinualnom mešanju tokom 96 h. Količina adsorbenta u svakom eksperimentu je podešena tako da dobijeni odnos hydročad/rastvor rezultuje adsorpcijom organskog jedinjenja u opsegu od 20-80%. Nakon završenog uravnotežavanja, sadržaj vijala je centrifugiran nakon čega su uzimani uzorci bistrog supernatanta određene zapremine za analizu organskog jedinjenja. Uzorci su analizirani primenom gasne hromatografije sa masenom spektrometrijom (GC 7890A/MSD 5975C).

Kako bi se izbegle eventualne greške u koliko postoji gubitak adsorbata usled drugih procesa osim adsorpcije (npr. adsorpcija na zidovima suda, isparavanje, razgradnja), kao i greške u toku same analize, uz svaku seriju uzoraka postavljena su i dva kontrolna uzorka bez adsorbenta koji su tretirani na isti način kao i uzorci.

Rezultati i diskusija

Fizičko-hemijske i strukturne karakteristike ispitivanih adsorbenata

U tabeli 1 predstavljeni su rezultati karakterizacije ispitivanih hidročađi poreklom od rezanca šećerne repe dobijene na tri različite temperature (HTCR_180, HTCR_200 i HTCR_220°C).

Tabela 1. Karakterizacija ispitivanih adsorbenata

Parametar	HTCR_180	HTCR_200	HTCR_220
BET (m ² g ⁻¹)	3,87	4,06	5,53
Mikropore t-test (cm ³ g ⁻¹)	0	0	0
Mikropore HK metod (cm ³ g ⁻¹)	0,0011	0,0012	0,0016
BJH ukupna zapremina mezopora (cm ³ g ⁻¹)	0,023	0,025	0,027
Srednji dijametar pora (Å)	238	252	200
Ukupna zapremina pora (cm ³ g ⁻¹)	0,0230	0,0256	0,0277
	Za pore manje od radijusa 1861 Å	Za pore manje od radijusa 1804 Å	Za pore manje od radijusa 1893 Å
SEM-EDS (% wt)			
C	62,6	64,3	66,5
O	37,4	35,7	33,5
prinos%	45,5	42,5	39,7

BET specifična površina za sve ispitivane adsorbente bila je u opsegu od 3,87 do 5,53 m²/g. Ukoliko se poredi specifične površine hidročađi rezanca šećerne repe može se uočiti trend da sa porastom temperature raste specifična površina ispitivanih adsorbenata. Zapremina mezopora (dijametar pora 2-50 nm) analizirana je primenom Barrett-Joyner-Halenda (BJH) modela iz desorpcionog dela izoterme, dok je analiza mikropora (dijametar pora <2 nm) izvršena primenom t-testa i Horvath-Kawazoe (HK) metode. V-t metod (t-test) koristi se za određivanje zapremine mikropora u prisustvu mezopora, dok HK metod omogućava određivanje mikropora od niskog regiona relativnog pritiska adsorpcione izoterme. Generalno je poznato da hidročađi imaju izuzetno malu mikroporoznost i malu površinu, a njihove karakteristike teksture pre svega zavise od sirovine i uslova koji se primenjuju u procesu hidrotermalne karbonizacije [6].

Vrednosti sadržaja mezopora prema BJH modelu izraženi su kao BJH ukupna zapremina pora (cm³/g) i kreću se u opsegu od 0,023 do 0,027 cm³/g, redom. Ispitivane hidročađi poreklom od rezanca šećerne repe imaju zapreminu mikropora koja je bila u opsegu od 0,0011 do 0,0016, određena Horvath-Kawazoe (HK) metodom, dok primenom t-testa nije pokazano prisustvo mikropora u ispitivanim materijalima. Takođe, može se uočiti da zapremina mikropora, mezopora, kao i ukupna zapremina pora za sve ispitivane hidročađi raste sa porastom temperature od 180°C do 220°C. Porast poroznosti ispitivanih materijala sa porastom temperature termalne konverzije pokazali su i drugi autori [7,8].

Dodatno, srednji dijametar pora određen je prema količini adsorbovanog azota kada je odnos P/P_0 blizak vrednosti 1. Srednji dijametar pora za sve analizirane adsorbente bio je u opsegu od 200 Å (20 nm) do 252 Å (25,2 nm). Jasan trend promene srednjeg dijametra pora sa porastom temperature nije uočen. Najveća vrednost srednjeg dijametra pora dobijena je za HTCR_200.

Generalno, na osnovu sprovedenih analiza fizičke karakterizacije može se uočiti da je u pitanju materijal sa dominantnim sadržajem mezopora, kojeg karakteriše mala vrednost specifične površine. Takođe se može uočiti da sa povećanjem temperature karbonizacije dolazi do porasta specifične površine. Pored toga, poroznost svih ispitivanih materijala raste sa porastom reakcione temperature procesa.

Rezultati EDS analize svih hidročađi predstavljeni su u tabeli 1, dok su SEM mikrografije ispitivanih materijala predstavljene na slici 1.

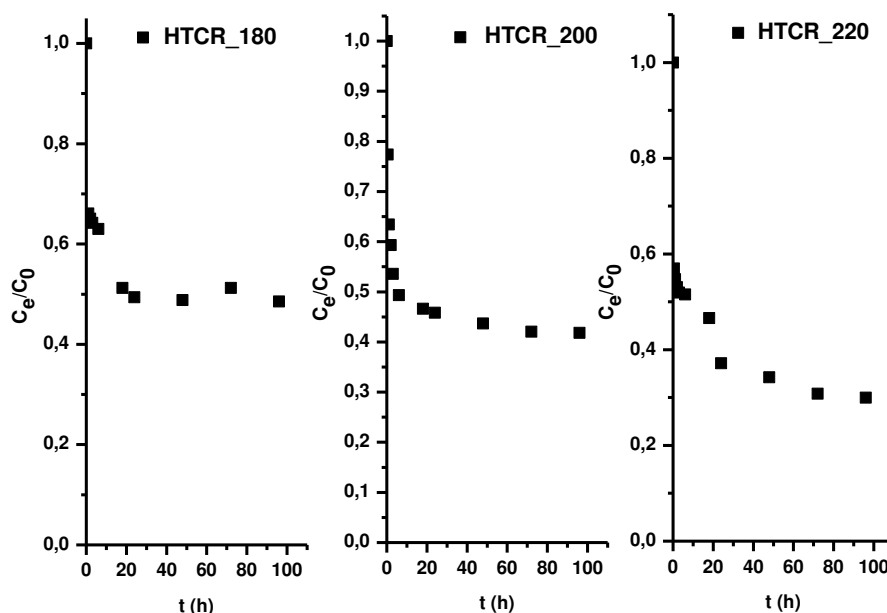


Slika 1. SEM mikrografije:
a) HTCR_180°C; b) HTCR_ 200°C i, c) HTCR_ 220°C.

Promene površine hidročađi nakon procesa termalne oksidacije se jasno uočavaju na SEM slikama, što može biti posledica formiranja različitih aromatičnih i alifatičnih ugljeničnih funkcionalnih grupa na površini materijala. Pored toga, intenzivno se odvijaju transformacije celuloze i hemiceluloze, što rezultuje formiranjem mikrosferičnih čestica koje uzrokuju da površina postaje voluminozna što ide u prilog povećanju SP i poroznosti hidročađi (slike 1a-b). U prilog ovoj činjenici ide i visok sadržaj ugljenih-hidrata (celuloze 20-24%, hemiceluloze 18-30% i redukujućih šećera 1,2-15%) u izluženom rezancu šećerne repe [9]. Na osnovu rezultata EDS analize može se uočiti da je procentualni sadržaj ugljenika u adsorbentima dobijenim na 180°C iznosio 62,6%, dok je za 200°C i 220°C iznosio 64,3% i 66,5%, redom, na osnovu čega se može zaključiti da u procesu termalne konverzije sa porastom temperature konverzije biomase dolazi do blagog porasta sadržaja ugljenika. Takođe, može se zaključiti da se procentualni sadržaj kiseonika smanjuje sa porastom temperature u ispitivanim materijalima.

Ispitivanje adsorpcione kinetike hlorspirifosa na odabranim hidročađima

Adsorpciona kinetika hlorspirifosa na hidročađima poreklom od rezanca šećerne repe ispitana je putem šaržnih eksperimenata adsorpcije. Kinetički eksperimenti imali su za cilj da se ispita vreme neophodno za uspostavljanje adsorpciono-desorpcione ravnoteže. Na slici 2 predstavljeni su rezultati kinetike adsorpcije tokom 96 h. Na osnovu prikazanih rezultata iz dobijenih zavisnosti C_t/C_0 od t može se uočiti da se uspostavljanje adsorpciono-desorpcione ravnoteže ispitivanog jedinjenja za HTCR (180 °C) dešava nakon 24 h, dok se za HTCR (200 °C) i HTCR (220 °C) ravnoteža uspostavlja nakon 48 h.



Slika 2. Kinetika adsorpcije hlorspirifosa na hidročadima poreklom od rezanca šećerne repe

Adsorpcione izoterme hlorspirifosa na ispitivanim hidročadima

Adsorpcioni eksperimenti izvedeni su na sobnoj temperaturi ($20 \pm 2^\circ\text{C}$). Cilj ispitivanja adsorpcije bio je pronalaženje veze između parametara adsorpcije na tri hidročadi za hlorspirifos i fizičko-hemijskih osobina hlorspirifosa na osnovu čega se može proceniti koje osobine materijala značajno utiču na mehanizam adsorpcije. Adsorpcione izoterme za hlorspirifos na hidročadima poreklom od rezanca šećerne repe prikazane su na slici 3, a dobijeni parametri Freundlich-ovog modela adsorpcije dati su u tabeli 2.

Tabela 2. Parametri Freundlich-ovog modela adsorpcije za ispitivane adsorbente

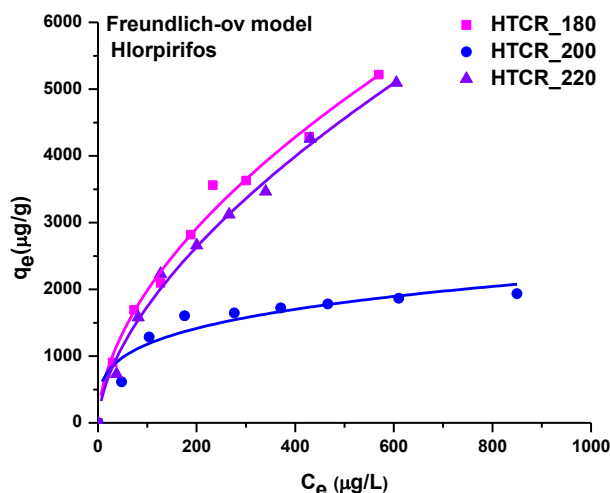
		Freundlich-ov model					
Jedinjenje	Adsorbent	R^2	n	K_F ($\mu\text{g/g}/(\mu\text{g/L})^n$)	$\text{Log}K_d$		
					$0.01S_w$	$0.1S_w$	$0.5 S_w$
Hlorspirifos	HTCR_180	0,982	0,555	153,936	6,012	5,567	5,256
	HTCR_200	0,796	0,265	348,274	6,905	6,170	5,656
	HTCR_220	0,988	0,598	110,714	5,789	5,387	5,106

Na osnovu prikazanih rezultata iz tabele 2, može se utvrditi da Freundlich-ov model za adsorpcione izoterme daje zadovoljavajuće koeficijente korelacije za HTCR_180 i HTCR_220 ($R^2=0,982$; $0,988$), što ukazuje na heterogena mesta na površini adsorbenata [10], dok je za HTCR_200 dobijen nešto manji koeficijent korelacije ($R^2=0,796$).

Ispitivani adsorbenti dali su nelinearne izoterme za ispitivani adsorbat, i to u opsegu od $n=0,265$ - $0,598$. Nelinearnost dobijenih izoterma pokazuje da afinitet adsorpcije adsorbenta opada sa porastom koncentracije ispitivanog jedinjenja.

Adsorpcioni koeficijenti (K_F) prikazani su u tabeli 2 i kreću se u opsegu od $K_F=153,936-348,274$ ($\mu\text{g/g}/(\mu\text{g/L})^n$), na osnovu čega generalno možemo zaključiti da je najveći adsorpcioni koeficijent dobijen za adsorpciju hlörpirifosa na HTCR_200.

Međutim, direktno poređenje K_F vrednosti nije moguće zbog različitih jedinica, koje su posledica nelinearnosti adsorpcionih izotermi, stoga su izračunati afiniteti adsorpcije (K_d) za tri odabrane ravnotežne koncentracije ($C_e=0,01S_w$, $0,1S_w$ i $0,5S_w$) koristeći Freundlich-ovu jednačinu i parametre prikazane u tabeli 2. Pomenute koncentracije odabrane su tako da pokriju širok opseg ravnotežnih koncentracija (1%-50% rastvorljivosti u vodi).



Slika 3. Freundlich-ove adsorpcione izoterme za hlörpirifos na ispitivanim hidročađima

Kada su u pitanju ispitivani materijali dobijeni afiniteti adsorpcije K_d rastu u sledećem nizu: HTCR_220 < HTCR_180 < HTCR_200 što je u skladu sa dobijenim prečnikom pora. Pozitivna korelacija ukazuje da sa porastom veličine pora raste i afinitet adsorpcije. Tako su najniže K_d vrednosti uočene za hidročađ koji je dobijen na temperaturi konverzije od 220°C, dok su veći afiniteti adsorpcije uočeni za hidročađ koja je dobijena na temperaturi konverzije od 200°C. Dakle, pozitivna korelacija između afiniteta adsorpcije i prečnika pora pokazuje da se ispitivani molekul hlörpirifosa adsorbuje u unutrašnjost pora hidročađi. Dodatno, uočeno je da sa porastom koncentracije ispitivanih adsorbata, dobijeni afiniteti adsorpcije opadaju za sve ispitivane hidročađi, što može biti posledica povećanog koncentracionog gradijenta koji prouzorkuje da molekuli hlörpirifosa prodiru u pore hidročađi u kojima ostaju zarobljeni. Na slična zapažanja ukazuju autori Liu i sar. [4], Huang i sar. [11] koji su ispitivali adsorpciju odabranih organskih polutanata na biouglju i hidročađi, pri čemu su uočili da veličina pora utiče na afinitet adsorpcije.

Zaključak

U ovom radu ispitana je adsorpcija hlörpirifosa na tri hidročađi dobijene postupkom hidrotermalne konverzije biomase na tri različite temperature (180; 200 i 220°C). Dobijeni rezultati karakterizacije hidročađi pokazuju da sa porastom temperature raste specifična površina i zapremina pora hidročađi. Parametri adsorpcije pokazuju da sa porastom veličina pora ispitivanih hidročađi nelinearna adsorpcija hlörpirifosa raste. Tako su najveće K_d vrednosti dobijene za hlörpirifos i to za hidročađ dobijenu pri konverziji biomase na 200°C. Dobijena pozitivna korelacija između afiniteta adsorpcije i prečnika pora ukazuje na značaj adsorpcije adsorbata u unutrašnjost pora

ispitivanih materijala. Međutim, za donošenje konačnih zaključaka dalja istraživanja treba usmeriti na detaljniju karakterizaciju dobijenih hidročadi u smislu elementarne analize kao i na ispitivanje većeg seta organskih molekula koja imaju različite fizičko-hemijske osobine.

Zahvalnica: Istraživanja je finansiralo Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ev.br. 451-03-9/2021-14/ 200125)

Literatura

- [1] Wanjeri, V.W.O., Sheppard, C.J., Prinsloo, A.R.E., Ngila, J.C., Ndungu, P.G. (2020). Isotherm and kinetic investigations on the adsorption of organophosphorus pesticides on graphene oxide based silica coated magnetic nanoparticles functionalized with 2-phenylethylamine. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 6, 1333-1346.
- [2] Vigneshwaran, S., Preethi, J., Meenakshi, S. (2019). Removal of chlorpyrifos, an insecticide using metal free heterogeneous graphitic carbon nitride (g-C₃N₄) incorporated chitosan as catalyst: Photocatalytic and adsorption studies. *International Journal of Biological Macromolecules* 132, 289-299.
- [3] Serelis K., Mantzos, N., Meintani, D., Konstantinou, I. (2021). The effect of biochar, hydrochar particles and dissolved organic matter on the photodegradation of metribuzin herbicide in aquatic media. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 9, 105027.
- [4] Liu, Z., Wang, Z., Chen, H., Cai, T., Liu, Z. (2021). Hydrochar and pyrochar for sorption of pollutants in wastewater and exhaust gas: A critical review. *Environmental Pollution* 268, 115910.
- [5] Nzediegwu, C., Naeth, M.A., Chang, S.X. (2021). Carbonization temperature and feedstock type interactively affect chemical, fuel, and surface properties of hydrochars. *Bioresource Technology* 330, 124976.
- [6] Wang, T., Zhai, Y., Zhu, Y., Li, C., Zeng, G. (2018). A review of the hydrothermal carbonization of biomass waste for hydrochar formation: Process conditions, fundamentals, and physicochemical properties. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 90, 223-247.
- [7] Kambo, H.S., Dutta, A. (2015): A comparative review of biochar and hydrochar in terms of production, physico-chemical properties and applications. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 45, 359-378.
- [8] Suo, F., Xie, G., Zhang, J., Li, J., Li, C., Liu, X., Zhang, Y., Ma, Y., Ji, M. (2018). A carbonised sieve-like corn straw cellulose-graphene oxide composite for organophosphorus pesticide removal. *RSC Advances* 14, 7315-7898.
- [9] Vučurović, D. (2015). Model bioprocesa proizvodnje etanola iz među- i nusproizvoda prerade šećerne repe, doktorska disertacija, Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet, Novi Sad.
- [10] Delgado-Moreno, L., Bazhari, S., Gasco, G., Méndez, A., Azzouzi, M.E., Romero, E. (2021). New insights into the efficient removal of emerging contaminants by biochars and hydrochars derived from olive oil wastes. *Science of the Total Environment* 752, 141838.
- [11] Huang, H., Niu, Z., Shi, R., Tang, J., Lv, L., Wang, J., Fan, Y. (2020). Thermal oxidation activation of hydrochar for tetracycline adsorption: the role of oxygen concentration and temperature. *Bioresource Technology* 306, 123096.

ODREĐIVANJE TAČKE NULTOG NAELEKTRISANJA MIKROPLASTIČNIH ČESTICA POLIETILENA

Vasiljević Sanja, Tubić Aleksandra, Lončarski Maja, Agbaba Jasmina

*Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad
e-mail: sanjav@dh.uns.ac.rs*

Izvod

Poslednjih godina mikroplastika predstavlja predmet brojnih istraživanja, s obzirom da je dugotrajna primena plastike dovela do značajne emisije ovih čestica u sve delove životne sredine. Sve veća proizvodnja i upotreba plastike je dovela do zagađenja pre svega vodenih ekosistema, a samim tim je povećan i njen potencijal za transport organskih polutanata i drugih jedinjenja, kao i ugrožavanje organizama na različitim trofičkim nivoima. Pregled dostupne literature ukazuje na to da je još dosta toga nepoznato o uticaju različitih faktora na ponašanje mikroplastike u vodi. U ovom radu određivana je tačka nultog naelektrisanja polietilena, kao najrasprostranjenije vrste mikroplastike, kako bi se utvrdilo površinsko naelektrisanje ovih čestica, koje može da utiče na njihova sorpciona svojstva. Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja može se zaključiti da sastav vodenog matriksa utiče na tačku nultog naelektrisanja. To ukazuje na različito naelektrisanje polietilenskih čestica u različitim vodenim matriksima, što može imati potencijalni uticaj na sorpciju različitih jona na površini mikroplastičnih čestica.

Ključne reči: mikroplastika, polietilen, tačka nultog naelektrisanja

Uvod

Upotreba plastike u različitim proizvodima se sve više povećava, gotovo iz dana u dan i verovatno će dostići 33 milijarde tona u globalnoj proizvodnji plastike do 2050. godine. Uz veliku potrošnju i neadekvatno odlaganje, veliki broj plastičnih ostataka se ispušta u vodene ekosisteme i tako uzrokuje zagađenje životne sredine [1]. U savremenom društvu, preterana eksploatacija, urbanizacija, odlaganje otpada, klimatske promene i zagađenje, potencijalne su opasnosti po vodeni ekosistem kao i brojne organizme u njima. Međutim, jedna od najvećih pretnji zbog ljudskih aktivnosti na kopnu ili u moru jeste plastika. Plastični ostaci se smatraju velikim ekološkim problemom i rizikom po životnu sredinu, a posebno oni malih dimenzija koje nazivamo mikroplastikom [2]. Ona uključuje mikroskopske čestice, vlakna, i granule kao najrasprostranjenije oblike plastičnog otpada u vodenim ekosistemima. Najčešće detektovane vrste mikroplastike u životnoj sredini su polietilen (PE), u oko 93% uzoraka, ali takođe se mogu pronaći i polipropilen (PP), polietilen tereftalat (PET), najlon itd. [3]. S obzirom da je veoma stabilna, mikroplastika ima sposobnost da akumulira različite organske polutante i teške metale, a takođe može predstavljati i nosače ovih polutanata u vodenim ekosistemima. Kako bi se utvrdilo koliko lako neki čvrst supstrat može da adsorbuje druga jedinjenja, pored ostalog, određuje se i vrednost tačke nultog naelektrisanja. Poznavanje vrednosti tačke nultog naelektrisanja je značajno i pri proceni sorpcionih svojstava čvrste supstance [4].

U ovom radu vršeno je određivanje tačke nultog naelektrisanja u cilju određivanja površinskog naelektrisanja polietilena i uticaja na adsorpciju drugih polutanata u vodi.

Eksperimentalni deo

Određivanje tačke nultog naelektrisanja vršeno je prema proceduri *Ofomaja i sar. (2008)*. Tokom ovih eksperimenata korišćene su dve vrste vodenih matriksa: sintetički i destilovana voda. Sintetički vodeni matriks činila je destilovana voda obogaćena solima CaCl_2 , NaHCO_3 i $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Istraživanje je vršeno na standardu polietilena (PE) i polietilenu izolovanom iz kozmetičkih preparata (PE_PCP₁ i PE_PSP₂). Mikročestice PE izolovana su iz dva proizvoda za ličnu negu pri čemu je izolovanje vršeno prema modifikovanoj metodi *Nuelle M-T i sar. (2014)* uz dodatak 30% H_2O_2 . U seriju vijala (40 ml) dodato je 30 ml sintetičkog vodenog matriksa nakon čega je podešena pH vrednost korišćenjem HNO_3 i NaOH različitih koncentracija (0,1-1M) u opsegu pH od 2-10. U svaku bocu je dodato 10-20 mg/l mikroplastike nakon čega su uzorci stavljeni na mućkanje pri brzini od 200 o/min tokom 48 h na sobnoj temperaturi. Konačna pH vrednost (pH_f) vodenog matriksa je izmerena nakon 48 h, nakon čega je grafički prikazana zavisnost razlike konačne i inicijalne pH (ΔpH) i inicijalne pH (pH_i) pri čemu je tačka nultog naelektrisanja (pH_{TNN}) mikroplastike bila pH vrednost pri kojoj kriva seče nulu *y-ose*. Isti postupak ponovljen je i u destilovanoj vodi [5].

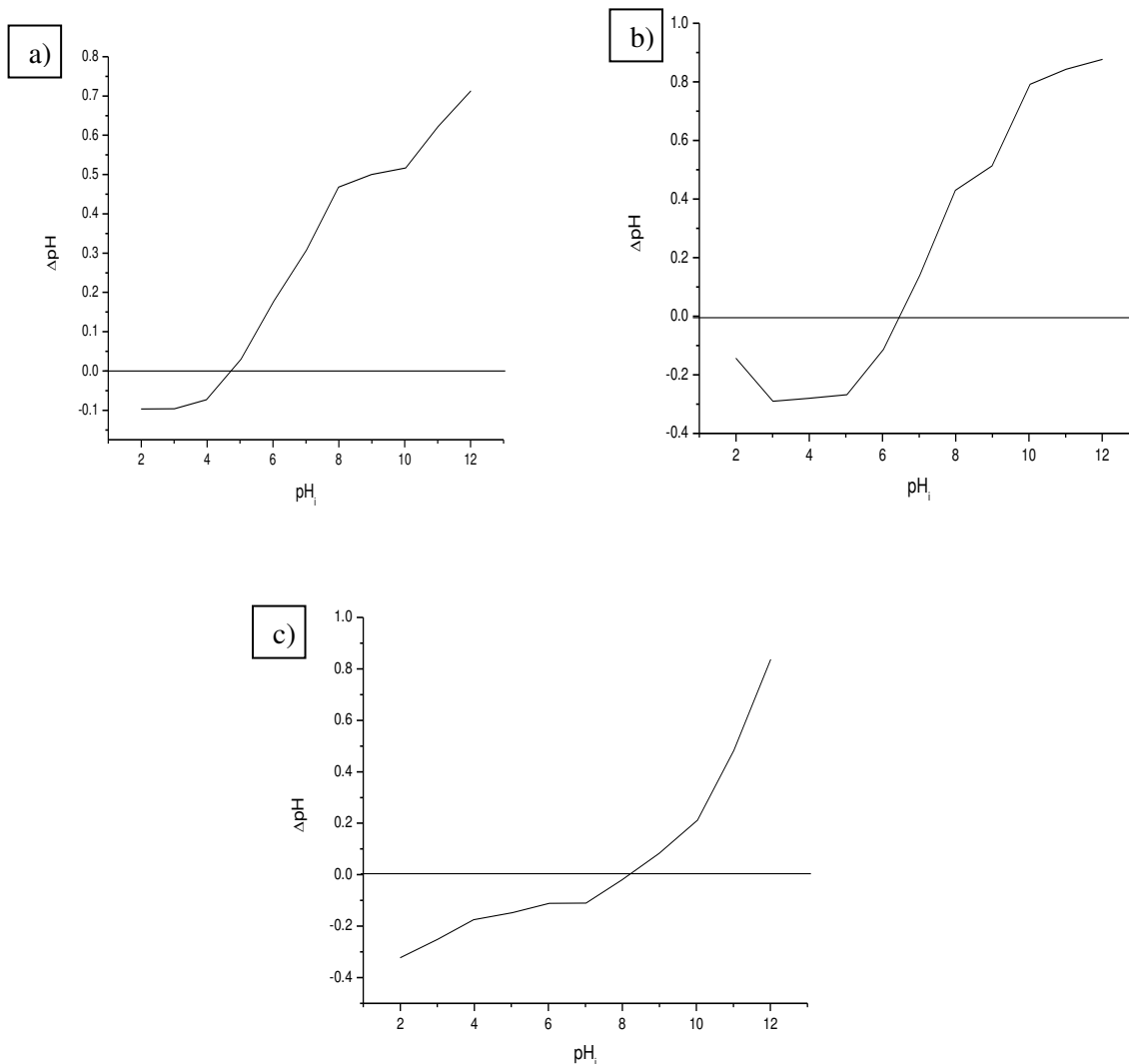
U laboratorijskim ispitivanjima korišćen je polietilen (Thermo Fisher Scientific), polietilen izolovan iz kozmetičkih preparata, anhidrovani kalcijum hlorid (CaCl_2), natrijum hidrogen karbonat (NaHCO_3), magnezijum sulfat heptahidrat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) proizvođača Sigma-Aldrich, 30% vodonik-peroksid (NRK, Inženjering Beograd) i destilovana voda.

Rezultati i diskusija

Tačka nultog naelektrisanja (pH_{TNN}) je veoma važan parametar za objašnjenje sorpcionog ponašanja polutanata. Ona ukazuje na pH vrednost pri kojoj je materijal neutralno naelektrisan, s obzirom na to da se sa promenom pH vrednosti menja jonizujuće stanje materijala. Grafički prikaz tačke nultog naelektrisanja za odabrane vrste mikroplastike prikazane su na slikama 1 i 2, a pH vrednosti u tabeli 1.

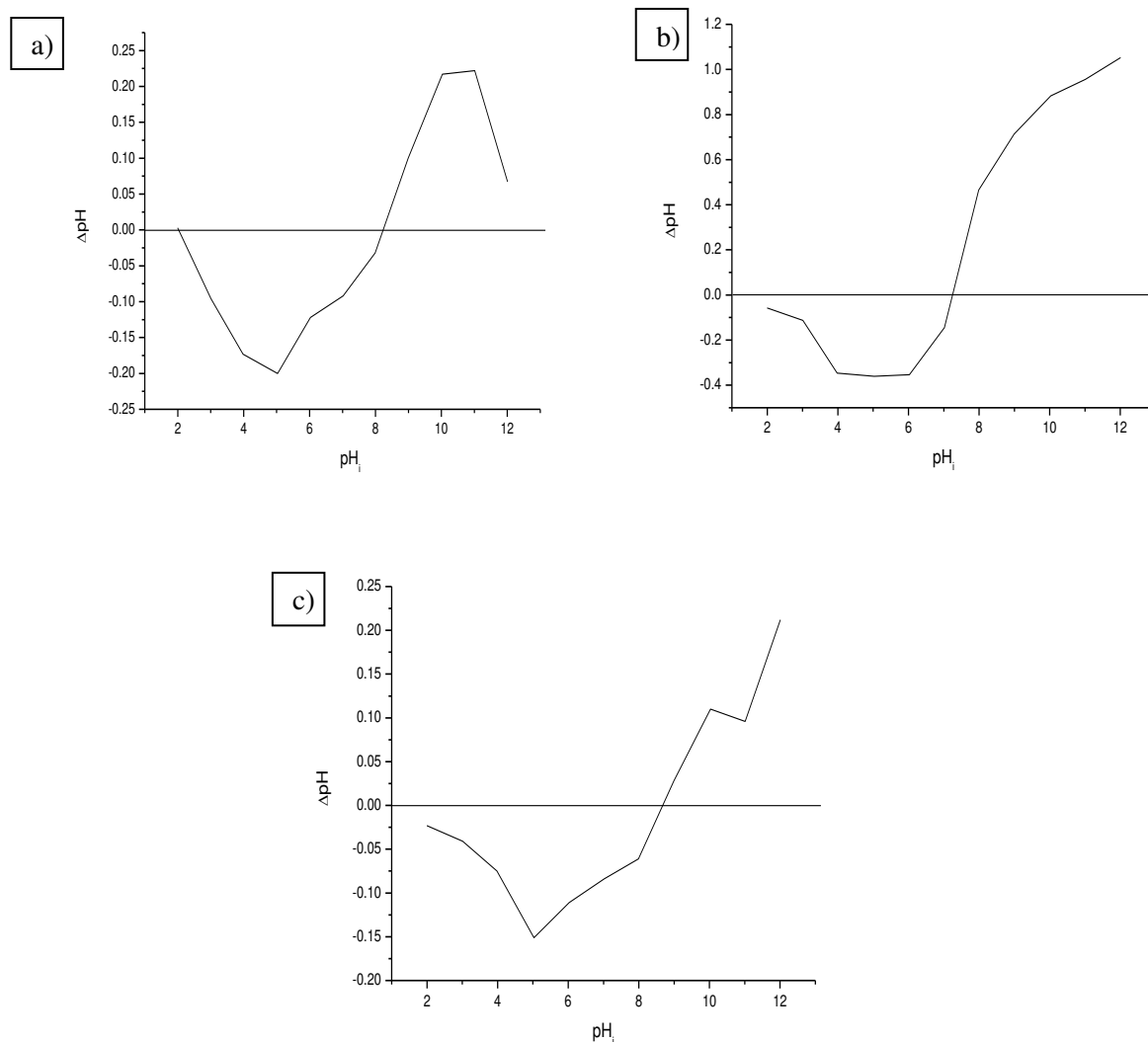
Tabela 1: pH vrednosti dobijene na osnovu određivanja tačke nultog naelektrisanja

Vrsta mikroplastike	pH	
	Destilovana voda	Sintetički matriks
PE	4,70	8,21
PE_PCP ₁	6,44	7,29
PE_PCP ₂	8,17	8,71



Slika 1. Tačka nultog naelektrisanja mikroplastike u destilovanoj vodi a) PE, b) PE_PCP₁, i c) PE_PCP₂

Na osnovu rezultata dobijenih utvrđivanjem tačke nultog naelektrisanja standarda polietilena i polietilena izolovanog iz kozmetičkih preparata prikazanih na slici 1, može se uočiti da je pH_{TNN} polietilena u destilovanoj vodi iznosila 4,70, dok je kod polietilena izolovanog iz kozmetičkih preparata izmerena vrednost 6,44 za PE_PCP₁ i 8,17 za PE_PCP₂. Razlika u tačkama naelektrisanja kod polietilena izolovanog iz kozmetičkih preparata (PE_PCP₁ i PE_PCP₂) može se objasniti mogućom modifikacijom površine mikročestica polietilena tokom proizvodnje.



Slika 2. Tačka nultog naelektrisanja mikroplastike u sintetičkom matriksu a) PE, b) PE_PCP₁, i c) PE_PCP₂

Rezultati prikazani na slici 2, ukazuju da je tačka nultog naelektrisanja standarda polietilena (PE) i polietilena izolovanog iz kozmetičkih preparata (PE_PCP₁ i PE_PCP₂), u sintetičkom matriksu, imala sličnu vrednost i iznosila je 8,21, 7,29 i 8,71 redom. Bliske pH_{TNN} vrednosti ukazuju na da modifikacije polietilena ne utiču značajno na površinsko naelektrisanje ovih materijala u vodi koja sadrži soli.

Grupa autora *Fotopoulou i Karapanagioti (2012)*, ispitivala je tačku nultog naelektrisanja polietilena u morskoj vodi. Dobijena pH_{TNN} vrednost PE iznosila je 8,2, što je u skladu sa rezultatima prikazanim u ovom radu. Kako navode *Fotopoulou i Karapanagioti (2012)*, ovakva vrednost pH_{TNN} čini PE manje povoljnim za sorpciju hidrofobnih jedinjenja, ali povoljnijim za sorpciju polarnijih jedinjenja kao što su PAM, boje, metali itd. Prema dobijenim rezultatima, pretpostavlja se da PE vremenom degradira te mu se menjaju fizička i hemijska svojstva površine. Što duže ostaje u morskom okruženju on postaje polarniji. Tako vremenom čestice PE menjaju svojstva i prestaju da budu hidrofobni medijumi, ali postaju materijal koji interaguje sa

drugim komponentama više nego pre. To dovodi do zaključka da PE ne treba posmatrati kao običan otpad, već kao otpad koji nosi polutante [6].

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata istraživanja može se zaključiti da sastav vodenog matriksa može uticati na tačku nultog naelektrisanja polietilena. To je najizraženije kod čistog polietilena, što znači da bi u različitim vodenim matriksima polietilen mogao da ima različito površinsko naelektrisanje, što bi moglo da utiče na njegovo različito sorpciono ponašanje.

Zahvalnica: Istraživanja je finansiralo Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ev.br. 451-03-68/2020-14/ 200125).

Literatura

- [1] Yin L., Liu H., Chen B., Li L., Wu F. (2019) Impacts of polystyrene microplastics on the behaviour and metabolism in a marine demersal teleost, black rockfish (*Sebastes schlegelii*), *Journal of Hazardous Materials*, 380.
- [2] GESAMP (2015) Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: a global assessment, *International maritime organization*, London, 1020-4873.
- [3] Auta H.S., Emenike C.U., Fauziah S.H., (2017) Distribution and importance of microplastics in the marine environment: A review of the sources, fate, effects, and potential solutions, *Environment International*, 102, 165-176.
- [4] Kosmulski, M. (2009) Surface charging and points of zero charge. Boca Raton, Florida (USA): CRC Press, 1st edition, From the series, Surfactant Science Series, Vol. 145, (Santa Barbara Science Project, CA)
- [5] Ofomaja A. (2008) Kinetic study and sorption mechanism of methylene blue and methyl violet onto mansonia (*Mansonia altissima*) wood sawdust, *Chemical Engineering Journal*, 143, 85-95.
- [6] Fotopoulou K., Karapanagioti H. (2012) Surface properties of beached plastic pellets, *Marine Environmental Research*, 81, 70-77.

OPTIMIZACIJA UKLANJANJA OLOVA IZ SINTETIČKOG VODENOG MATRIKSA PRIMENOM STATISTIČKOG MODELA DSD

Jovana Jokić Govedarica¹, dr Dragana Tomašević Pilipović¹, dr Vesna Gvoić², dr Nataša Slijepčević¹, Anita Leovac Maćarek¹, dr Đurđa Kerkez¹

¹Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 3,
E mail: jovanaj@dh.uns.ac.rs

²Univerzitet u Novom Sadu, Fakultet tehničkih nauka, Departman za grafičko inženjerstvo
i dizajn, Trg Dositeja Obradovića 6, 21000 Novi Sad

Izvod

U ovom radu olovo je izabran kao prioritetni polutant, jer njegove povećane koncentracije u površinskim i podzemnim vodama mogu biti prozrokovane ispuštanjem netretiranih efluenta iz proizvodnje baterija, mineralnih ulja, akumalatora, štamparskih i metalurških industrija. Pored toga što se smatra ekološki prihvaljivom metodom, nano nula valentno gvožđe sintetisano lišćem predstavlja stabilan i efikasan materijal. Uticaj procesnih uslova je ispitan primenom statističkog modela nove generacije – *definitive screening design*, koji je značajnu ulogu ostvario i u samoj optimizaciji celokupnog eksperimenta. Ispitan je uticaj 3 procesna parametra na efikasnost uklanjanja olova: početna koncentracija olova (od 1 mg/l do 9 mg/l), doza nZVI (od 2 ml do 16 ml) i pH vrednost (od 2 do 10). Na efikasnost uklanjanja olova najviše uticaja su imali pH vrednost, koncentracija olova i doza nZVI. Pored pojedinačnih uticaja koncentracija olova i pH vrednost međusobno daju i dvofaktorski značajnu interakciju. Pri optimalnim uslovima doza nZVI 9 ml, koncentracija olova 6,84 mg/l i pH vrednost 6, efikasnost uklanjanja je 99,41%. Predložena pH vrednost je blago neutralna, što je pozitivno sa ekološkog i ekonomskog aspekta. Na osnovu verifikacije i intervala poverenja, utvrđeno je da je usvojeni model odgovarajući i da dobro opisuje proces uklanjanja olova iz sintetičkog vodenog matriksa.

Ključne reči: olovo, nano nula valentno gvožđe, Definitive screening design

Uvod

Mali procenat tretiranih otpadnih voda u Republici Srbiji (oko 10%) predstavlja jedan od ključnih izvora zagađanja površinskih i podzemnih voda. Nanomaterijali su široko primenjivani u remedijaciji različitih medijuma životne sredine, zbog svojih prednosti u pogledu isplativosti, efikasnosti i ekološke prihvatljivosti. Nanočestice su sačinjene od jezgra i ljuske oksidnog sloja Fe(II) i Fe(III), koji nastaje usled brze oksidacije gvožđa. Svojim visokim redukcionim potencijalom, gvožđe uklanja različite vrste zagađujućih materija iz životne sredine. Nanočestice nula valentnog gvožđa u vodenoj sredini reaguju sa vodom i kiseonikom formirajući spoljni sloj gvožđe(hidra)oksid, koji reaguje kao efikasan adsorbent za potencijalno toksične metale. Glavni mehanizmi uklanjanja su adsorpcija/kompensiranje, adsorpcija/redukcija. Metal poput olova (Pb²⁺) prvo biva imobilisan na površini nZVI inherentnom adsorpcijom. Nakon toga većina adsorbovanog Pb²⁺ redukovana je do Pb⁰. Nastali OH⁻ reakcijom između vode i čestica gvožđa reaguje sa neadsorbovanim Pb²⁺ i u ovoj fazi olovo precipitira u obliku Pb(OH)₂ [1]. U laboratorijskim uslovima ispitivanja jedan od bitnih uslova za adsorpciju metala iz vode je odgovarajući odnos doze nZVI i koncentracije metala. *Definitive screening design* (DSD) model korišćenje za dizajn eksperimenta. Princip DSD statističke metode je baziran na primeni

numeričkog algoritma koji maksimizira determinantu matrice modela glavnog efekta. Na ovaj način koncipirana analiza koristi se za određivanje optimalnih uslova, značajnih faktora, kao i njihovih dvofaktorskih interakcija. Prednost primene DSD analize je smanjen broj izvedenih eksperimenata sa maksimalnom preciznošću[2]. Cilj ovog rada baziran je na ispitivanju primene nano nula valentnog gvožđa sintetisanog pomoću lišća hrasta za uklanjanje olova iz sintetičkog vodenog matriksa. Primenom DSD analiza ispitani su uticaji procesnih parametara: doza nZVI, koncentracija olova i pH vrednost na uklanjanje olova. Optimizacija celokupnog procesa je takođe urađena.

Eksperimentalni deo

Sinteza katalizatora

Predhodno osušeno lišće hrastana 50°C tokom 48 sati samleveno je pomoću kuhinjske seckalice i prosejano kroz sito od 2 mm. Na ovaj način pripremljeno lišće korišćeno je dalje u proizvodnji nula valentnih nanočestica gvožđa. U 100 ml dejonizovane vode, odmeri se 3,7 g predhodno pripremljenog lišća. Tokom 20 minuta smeša se meša pomoću magnetne mešalice na 80°C. Prohlađenu smešu filtrirati kroz Büchnerov vakuum levak, a filtrat je korišćen za dalju zelenu sintezu nZVI. Ekstrakt lišća se meša sa 0,1 M rastvorom Fe(III) u odnosu 3:1. U radu *Slijepčević i sar., 2021* FRAP metoda, ukupni sadržaj polifenola, pseudo ukupni sadržaj metala i pH vrednost su korišćeni za karakterizaciju nanomaterijala sintetisanog iz lišća hrasta koji je upotrebljen u ovoj studiji.

Eksperimentalna procedura

Dodavanjem različitih doza nZVI od 2 ml, 9 ml i 16 ml vodenim rastvorima sa početnim koncentracijama olova od 1 mg/l, 5 mg/l i 9 mg/l pri pH vrednosti od 2, 6 i 10 ispitivana je efikasnost uklanjanje olova iz sintetičkog vodenog matriksa. Boce sa uzorcima su podvrgnute mućkanju u trajanju od 60 minuta na 180 o/min. Nakon mućkanja uzorci su centrifugirani i filtrirani. Rezidualne koncentracije olova u uzorcima određene su ICP-MS analizom (ICP-MS, Agilent Technologies 7700 Series).

Rezultati i diskusija

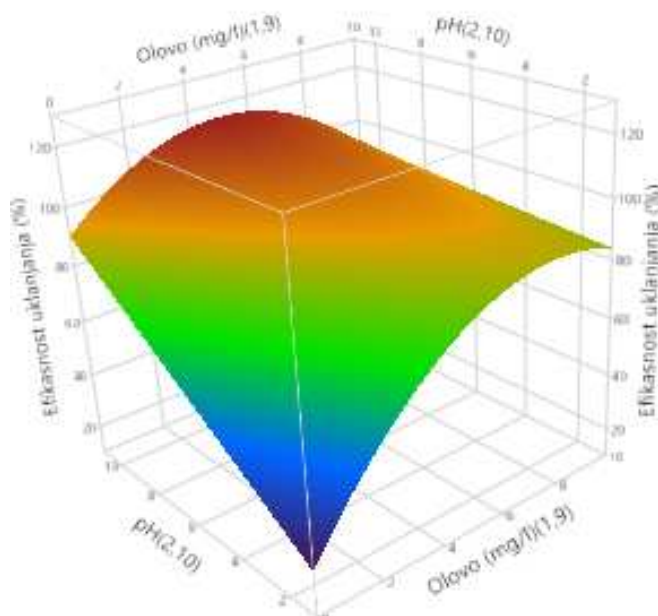
Rezultati ispitivanja uklanjanja olova iz sintetičkog vodenog matriksa ukazuju na efikasnost uklanjanja u opsegu od 31,74% do 98,09%. Odgovarajući regresioni model odabran je na osnovu standardnih kriterijuma vrednosti BIC (Bayesian Information Criterion), AIK (Akaike Information Criterion) i RMSE (Root Mean Square Error) parametara. Koeficijent određivanja za uklanjanje olova iznosi $R^2=0,878$. Približne vrednosti AIC i BIC podrazumevaju dobru aprkosimaciju podataka.

Faktori od statističke važnosti za uklanjanje prikazani su boldovanim vrednostima u tabeli 1. Za efikasnost uklanjanja olova značajni faktori su pH vrednost, koncentracija olova i doza nZVI. Pored navedenih pojedinačnih faktora, javlja se i jedna statistički značajna dvofaktorska interakcija između koncentracije olova i pH vrednosti.

Tabela 1. Procenjeni regresioni koeficijent i sortirani po statističkoj značajnosti

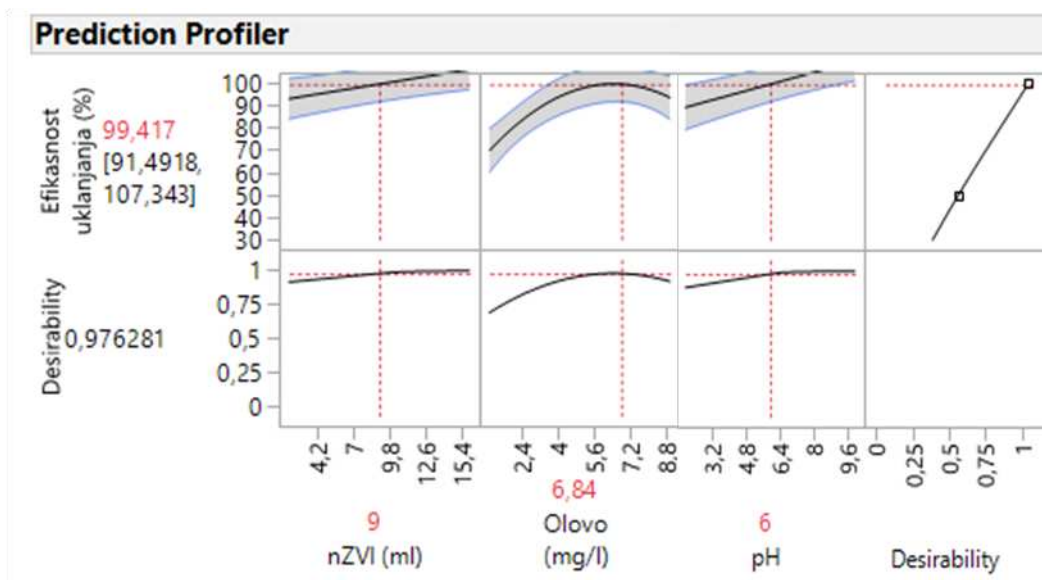
Parametar	Procenjena vrednost	Standardna greška	t vrednost	Verovatnoća > F
Olovo				
pH	14,470	2,085	6,940	<0,0001*
Olovo (mg/l)	11,859	2,085	5,690	<0,0001*
Olovo (mg/l)*pH	-9,118	2,593	-3,520	0,0022*
nZVI (ml)	6,541	2,085	3,140	0,0052*

Dijagram odzivne površine za izdvojenu statistički značajnu dvofaktorsku interakciju između koncentracije olova i pH vrednosti u procesu uklanjanja olova prikazana je na slici 1. Ukoliko se koncentracija olova drži na niskom nivou, a pH vrednost povećava, dolazi do povećanja efikasnosti uklanjanja do pH 10. U zavisnosti od pH vrednosti, olovo se javlja u različitim oblicima: Pb^{2+} , $Pb(OH)^+$, $Pb(OH)_2^0$, $Pb(OH)_3^-$ i $Pb_3(OH)_4^{2-}$. Pri $pH < 7,0$ dolazi do sorpcije Pb^{2+} jonskom izmenom sa površinom nZVI. U pH opsegu od 7 do 10 dominantni oblici koji se javljaju su $Pb(OH)^+$ i $Pb(OH)_2^0$ pa se uklanjanje odvija kroz proces precipitacije $Pb(OH)_2^0$ odnosno sorpcije $Pb(OH)^+$. Daljim povećanjem pH vrednosti u opsegu od 10 do 12, ne dolazi do povećanja efikasnosti uklanjanja, jer dolazi do kompeticije između OH^- i $Pb(OH)_3^-$. Između negativno naelektrisane površine nZVI i negativno naelektrisanog $Pb(OH)_3^-$ pri višim pH vrednostima dolazi do elektrostatičke repulzije, što za posledicu ima smanjenje sorpcije[4].



Slika 1. Statistički značajna dvofaktorska interakcija u procesu uklanjanja olova: olovo i Ph

Statistički model u okviru uklanjanja olova predlaže visoku efikasnost uklanjanja olova od 99,41% pri sledećim optimalnim uslovim: doza nZVI od 9 ml, koncentracija olova 6,84 mg/l i pH vrednost 6 (slika2). Dobijeni rezultati ukazuju da procesu uklanjanja olova pogoduje srednja doza nZVI i približno neutralna pH sredina. Na pH 6 predominantnavrsta je Pb^{2+} pa je uklanjanje isključivo vezano za adsorpciju. U procesu adsorpcije Pb^{2+} na nZVI, Pb^{2+} se redukuje do Pb^0 pomoću Fe^0 i Pb^0 kao takav se sorbuje na sloj oksida gvožđa prema reakciji (1) [4]:

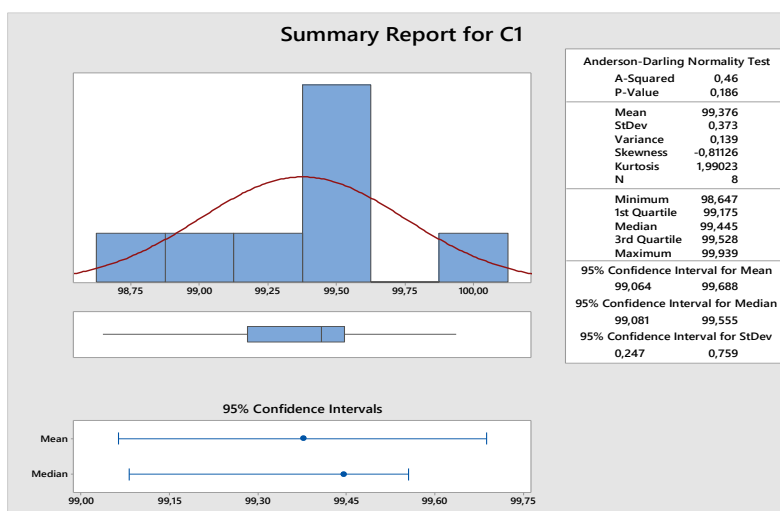


Slika 2. Dijagram optimizacije uklanjanja olova

Proces optimizacije praćen je i verifikacijom predložene efikasnosti uklanjanja olova u okviru statističkog modela. Verifikacija je zasnovana na izvođenju osam istih eksperimenata, pri utvrđenim optimalnim uslovima, na osnovu kojih se računa interval poverenjasa 95% pouzdanosti (tabela 2). Efikasnost uklanjanja koje je softverpredložio u procesu optimizacije, uklapa se u interval poverenja, što potvrđuje da usvojeni regresioni model uspešno prošao test potvrde u ovoj fazi istraživanja.

Tabela 2. Eksperimentalna verifikacija optimizovanih procesa

Proba	Olovo
1	98,65
2	99,37
3	99,52
4	99,43
5	99,53
6	99,94
7	99,46
8	99,11
95% interval poverenja	99,06 – 99,69



Slika3. Verifikacija optimizovanog procesa uklanjanja kadmijuma

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da je nZVI sintetisan lišćem hrasta pogodan za uklanjanje olova iz sintetičkog vodenog matriksa. Primenjeni DSD model doprineo je smanjenom broju izvedenih eksperimenata sa visokom preciznošću. U procesu uklanjanja olova značajni parametri su pH vrednost, koncentracija olova, doza nZVI i dvofaktorska interakcija koncentracije olova i pH vrednosti. Optimizacijom procesa predložena je visoka efikasnost uklanjanja od 99,41% pri pH 6, što predstavlja pogodnost u pogledu ispuštanja u recipijent, bez predhodnog tretmana neutralizacije. Optimizacija procesa je praćena i verifikacijom modela sa intervalom poverenja od 95% pouzdanosti. Preložene efikasnosti se uklapaju u interval, što znači da je na ovaj način potvrđeno da usvojeni regresioni model dobro opisuje proces uklanjanja olova.

Zahvalnica: Istraživanja je finansiralo Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ev.br. 451-03-9/2021-14/ 200125)

Literatura

- [1] Li, S., Yang, F., Li, J., Cheng, K. (2020). Porous biochar-nanoscale zero-valent iron composites: Synthesis, characterization and application for lead ion removal. *Science of The Total Environment*. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141037>
- [2] Kecić, V., Kerkez, Đ., Prica, M., Lužanin, O., Bečelić-Tomin, M., Tomašević Pilipović, D., Dalmacija, B. (2018). Optimization of azo printing dye removal with oak leaves-nZVI/H₂O₂ system using statistically designed experiment. *Journal of Cleaner Production*. 202, 65-80.
- [3] Slijepčević, N., Tomašević Pilipović, D., Kerkez, Đ., Krčmar, D., Bečelić-Tomin, M., Beljin, J., Dalmacija, B. (2021). A cost effective method for immobilization of Cu and Ni polluted river sediment with nZVI synthesized from leaf extract. *Chemosphere*. 263. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127816>
- [4] Wang, Z., Wu, X., Luo, S., Wang, Y., Tong, Z., Deng, Q. (2020) Shell biomass material supported nano-zero valentiron to remove Pb²⁺ and Cd²⁺ in water. *The Royal Society open Science*. <https://doi.org/10.1098/rsos.201192>

UKLANJANJE NIKLA IZ POVRŠINSKE VODE PRIMENOM JONOIZMENJIVAČKE SMOLE

Marija Ćurčić¹, Jasmina Nikić, Marko Šolić, Aleksandra Tubić, Jasmina Agbaba

¹*Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, Trg Dositeja Obradovića 3, 21000 Novi Sad, Republika Srbija
marijac@dh.uns.ac.rs*

Izvod

Poslednjih decenija, kao rezultat velikog industrijskog razvoja širom sveta, mnoge hemijske supstance dovele su do značajnog zagađenja vazduha, vode i zemljišta, do te mere da je zagađenje životne sredine sada ozbiljan svetski problem. Nikl (Ni) je samo jedan u nizu metala u tragovima koji se emituju u životnu sredinu iz prirodnih i antropogenih izvora i predstavlja pretnju po zdravlje ljudi. U ovom radu ispitivana je efikasnosti uklanjanja nikla iz površinske vode, jonskom izmenom. U tu svrhu, primenjena je komercijalna makroporozna katjon-izmenjivačka smola, Lewatit® MonoPlus TP 207. Vreme potrebno za uklanjanje nikla i kapacitet jonoizmenjivačke smole su ispitivani u šaržnom sistemu, dok je u sklopu dinamičkog sistema, ispitivan kapacitet jonoizmenjivačke smole kontinualnim propuštanjem realnog matriksa (površinske vode) kroz ispunu sa jonoizmenjivačkom smolom. Ustanovljeno je da se kinetika uklanjanja nikla najbolje može opisati modelom pseudo-drugog reda, dok je kapacitet smole za nikl iznosio 33,3 µg/g. Ispitivanja u dinamičkom sistemu, ukazala su da se značajna količina ispitivane površinske vode.

Ključne reči: teški metali, nikl, voda za piće, jonska izmena

Uvod

Teški metali predstavljaju veoma toksične zagađujuće materije koje se, ukoliko dospeju u lanac ishrane, akumuliraju u organizmima, što predstavlja veliki rizik po njihovo zdravlje [1, 2].

Nikl se nalazi u vodenim sistemima u vidu rastvorenih soli koje su adsorbovane na česticama gline ili organske materije (detritus, alge, bakterije), ili povezane sa organskim česticama, kao što su huminska i fulvinska kiselina i u sklopu nekih proteina. Nalazi se na 22. mestu po rasprostranjenosti među elementima u stenama zemljine kore. U sedimentu, nikl se pojavljuje u istim oblicima mineralne faze u kojima se nalazi unutar stena, tj. u obliku sulfida i silikata [1, 2].

Prirodnim procesima rastvaranja minerala, usled biološke aktivnosti, erozionim procesima, nikl može dospeti do podzemnih i površinskih voda. Istraživanja su pokazala da koncentracija nikla u prirodnim vodama varira od 2 do 10 µg/l, dok su druga istraživanja polazala da u rekama u nekim područjima (Reka Karoon) koncentracioni opseg nikla može da varira od 69,3 do 110,7 µg/l [3,4].

U prirodnim vodama, u opsegu pH vrednosti od 5-9, nikl se predominantno nalazi u obliku dvovalentnih jona, Ni²⁺, ili kao Ni(H₂O)₆²⁺. U ovom opsegu pH vrednosti, nikl može takođe da se adsorbuje na okside gvožđa i mangana ili da formira komplekse sa neorganskim ligandima (OH⁻, SO₄²⁻, Cl⁻ ili NH₃) [5, 6].

Uzimajući u obzir toksične karakteristike nikla, Svetska Zdravstvena Organizacija (SZO) je preporučila vrednost od 0,02 mg/l, kao makimalno dozvoljenu koncentraciju (MDK) nikla u vodi

za piće. Mnoge zemlje uključujući i Republiku Srbiju su u svom zakonodavstvu takođe preuzele preporučenu vrednost od 0,02 mg/l kao MDK za nikel u vodi za piće [7].

U cilju smanjenja sadržaja nikla u vodi za piće primenjuju se različite konvencionalne tehnike kao što su koagulacija i flokulacija, adsorpcioni, membranski i jonoizmenjivački procesi. Jonska izmena je reverzibilni proces između jona u čvrstoj i jona u tečnoj fazi, pri čemu ne dolazi do permanentne promene strukture čvrste faze. Kao čvrsta faza, najčešće se koristi smola. Kako u procesu tretmana vode za piće, prilikom primene jonoizmenjivačkih smola, dolazi do njenog zasićenja, moguće je primeniti proces regeneracije i ponovne upotrebe iste, umesto korišćenja nove smole. Dakle, zbog svojih brojnih prednosti, uključujući visoku efikasnost, relativno nisku cenu i mogućnosti regeneracije, jonoizmenjivački procesi smatraju se jednom od najpodobnijih tehnika za uklanjanje metala u tretmanu vode za piće.

Cilj ovog rada bio je usmeren na ispitivanje efikasnosti uklanjanja nikla iz površinske vode, jonskom izmenom. U tu svrhu, primenjena je komercijalna makroporozna katjon-izmenjivačka smola, MonoPlus TP 207, a ispitivanja su sprovedena u šaržnom i dinamičkom sistemu.

Eksperimentalni deo

Aktivacija smole

U svrhu ispitivanja efikasnosti uklanjanja nikla iz površinske vode, jonskom izmenom primenjena je komercijalna makroporozna katjon-izmenjivačka smola sa iminodiacetatnom grupom ($-N\{CH_2COOH\}_2$), Lewatit® MonoPlus TP 207. Pre upotrebe, smola je podvrgnuta aktivaciji. Aktivacija smole je izvedena sa 4% rastvorom NaOH tako što je kroz kolonu ispunjenu sa 100 ml smole, navedeni rastvor kontinualno propuštano, brzinom od 20 ml/min. Nakon aktivacije, smola je ispirana destilovanom vodom do neutralne pH vrednosti (pH~7).

Šaržni eksperimenti

Ispitivanje efikasnosti uklanjanja nikla iz površinske vode, jonskom izmenom, u šaržnom sistemu vršeno je u laboratorijskim uslovima, primenom standardnog JAR testa. U cilju određivanja vremena potrebnog za uspostavljanje adsorpcione ravnoteže sprovedeni su najpre kinetički eksperimenti. U staklenu čašu od 1l, odmereno je 1 ml smole i 600 ml površinske vode, koju karakteriše povećan sadržaj nikla. Suspenzija je podvrgnuta mešanju (150 obr/min; 22°C) a pri isteku određenog vremenskog perioda (30, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, 480, 720 i 1440 minuta) supernatanti su odvajani od smole dekantovanjem. Sakupljeni uzorci su konzervisani sa cc HNO₃ i analizirani na sadržaj nikla primenom indukovan kuplovane plazme sa masenim spektrofotometrom (ICP/MS).

Nakon utvrđivanja vremenskog perioda potrebnog za uspostavljanje adsorpcione ravnoteže, adsorpcione izoterme su definisane promenom početne koncentracije Ni (0,1-1 mg/l) pri konstantnom odnosu masa smole/zapremina rastvora (m/v). Kako bi se obezbedio navedeni opseg koncentracija Ni, u površinsku vodu je spajkovana određena zapremina prethodno pripremljenih radnih rastvora nikla. Pripremljene suspenzije su zatim podvrgnute kontinualnom mešanju tokom 6 h (120 obr/min; 22±1°C). Nakon završenog uspostavljanja ravnoteže supernatanti su odvojeni od smole na prethodno opisan način i dalje analizirani na sadržaj nikla.

Dinamički eksperimenti

Uklanjanje nikla jonskom izmenom, u dinamičkom sistemu, ispitivano je prilikom kontinualanog propuštanja realnog matriksa kroz ispunu jonoizmenjivačke smole. Karakteristike kolone i odgovarajući operativni uslovi prikazani su u tabeli 1. Kroz napunjenu kolonu, površinska

voda je kontinualno propuštanja primenom peristaltičke pumpe. Eluati su periodično sakupljeni i analizirani na sadržaj nikla.

Tabela 1. Karakteristike ispunje sa jonoizmenjivačkom smolom

Parametri	Jedinica	Vrednosti
Dijametar kolone	cm	2
Visina kolone	cm	34,5
Zapremina smole	dm ³	0,015
EBCT	min	3
Protok	dm ³ /min	5

Koncentracija nikla u vodenim uzorcima određena je primenom ICP/MS prema metodi USEPA 200.8.

Rezultati i diskusija

Karakterizacija površinske vode

Fizičko-hemijske karakteristike ispitivane površinske vode, koja je primenjena u ovom radu, prikazane su u tabeli 2.

Tabela 2. Karakterizacija ispitivane površinske vode

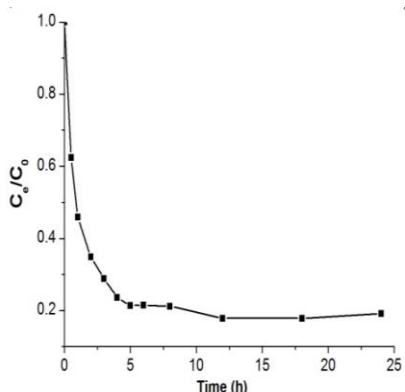
pH	Alkalitet (mmol/l)	Tvrdoća (mg CaCO ₃ /l)	Mg (mg/l)	Ca (mg/l)	TOC (mg/l)	DOC (mg/l)	Ni (µg/l)
7,10	1,10	77,6	18,4	0,686	3,09	2,20	32,0

Ispitivana površinska voda spada u red malo do umereno mineralizovanih voda, dok se u pogledu tvrdoće (77,6 mg CaCO₃/l), svrstava u kategoriju veoma mekih voda. Dominantan sastojak tvrdoće vode je magnezijum, što je odraz geološkog sastava terena, dok je tvrdoća koja potiče od kalcijuma veoma niska (niske vrednosti kalcijuma, u obliku CaCO₃). pH vrednost vode iznosila je 7,10 što je u granicama prihvatljivih vrednosti za prirodne vode. Pored navedenog, u ispitivanoj vodi, utvrđen je sadržaj ukupnog organskog ugljenika (TOC) i rastvorenog organskog ugljenika (DOC) u koncentracijama redom od 3,1 mg/l i 2,20 mg/l. Sadržaj nikla iznosio je 32 µg/l, što je iznad maksimalno dozvoljene vrednosti propisane Pravilnikom o higijenskoj ispravnosti vode za piće od 20 µg/l [6].

Adsorpciona kinetika

Ispitivanja kinetike su važna jer daju informacije o mogućim mehanizmima adsorpcije i omogućavaju razumevanje dinamike procesa što je vrlo važno za praktičnu primenu jonoizmenjivača na industrijskom nivou. Iz tog razloga, a u cilju određivanja vremena potrebnog za uspostavljanja adsorpcione ravnoteže odnosno određivanja parametra adsorpcije nikla na

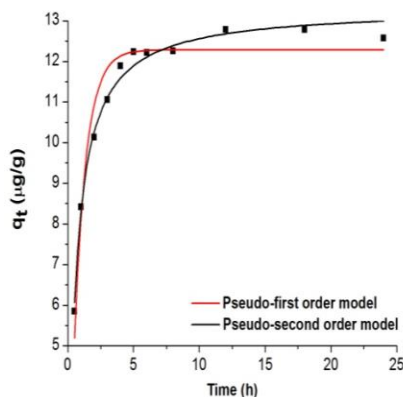
jonoizmenjivačkoj smoli, brzina adsorpcije je praćena tokom 24 h, a dobijeni rezultati prikazani su na slici 1.



Slika 1. Uticaj vremena kontakta na uklanjanje nikla primenom jonoizmenjivačke smole MonoPlus TP 207

Na osnovu grafika predstavljenog na slici 1, može se uočiti da je kinetika uklanjanja Ni brza. Naime tokom prvih 1 h kontakta, sadržaj nikla je smanjen za 50%, što se pak može pripisati velikom broju raspoloživih adsorpcionih mesta na površini smole, na početku procesa. Dalje tokom vremena, usled akumulacije nikla na površini smole i rezultujućeg smanjenja koncentracionog gradijenta, usledila je sporije uklanjanje nikla. Adsorpciono-desorpciona ravnoteža nikla na jonoizmenjivačkoj smoli uspostavila se nakon 4 h kontakta (slika 1).

U cilju opisivanja mehanizma uklanjanja i reakcionih puteva prema kojima se isti odvija, rezultati dobijeni u kinetičkim eksperimentima, su modelovani primenom, Lagergren-ovog modela pseudo-prvog reda i modela pseudo-drugog reda (slika 2). Parametri kinetičkih modela kao i dobijeni koeficijenti determinacije, prikazani su u tabeli 3.



Slika 2. Adsorpciona kinetika nikla na jonoizmenjivačkoj smoli MonoPlus TP 207, izražena u funkciji modela pseudo-prvog i pseudo drugog reda

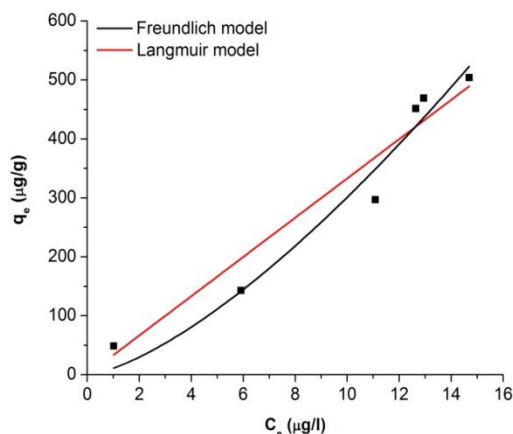
Tabela 3. Determinacioni faktori i konstante primenjivanih kinetičkih modela za opisivanje adsorpcije nikla na jonoizmenjivačkoj smoli MonoPlus TP 207

Pseudo-prvi red			Pseudo-drugi red			
k_1 ($\mu\text{g/h}$)	q_e ($\mu\text{g/g}$)	R^2	k_2 ($\mu\text{g/h}$)	q_e ($\mu\text{g/g}$)	h ($\mu\text{g/g h}$)	R^2
1,08	12,3	0,9463	0,126	13,3	22,3	0,9853

Na osnovu vrednosti koeficijenta determinacije (R^2) može se zaključiti da model pseudo-drugog reda najbolje opisuje adsorpciju nikla na ispitivanoj jonoizmenjivačkoj smoli MonoPlus TP 207, što ukazuje na prisustvo hemijskih interakcija.

Adsorpcione izoterme

Određivanje potencijala Lewatit® MonoPlus TP 207 za uklanjanje nikla iz površinske vode, izvršeno je sprovođenjem adsorpcionih eksperimenata u šaržnom sistemu i sledstvenim modelovanjem eksperimentalnih podataka primenom Freundlich-ove i Langmuir-ove adsorpcione izoterme (slika 3, tabela 4).



Slika 3. Freundlich-ove i Langmuir-ove adsorpcione izoterme nikla na jonoizmenjivačkoj smoli MonoPlus TP 207

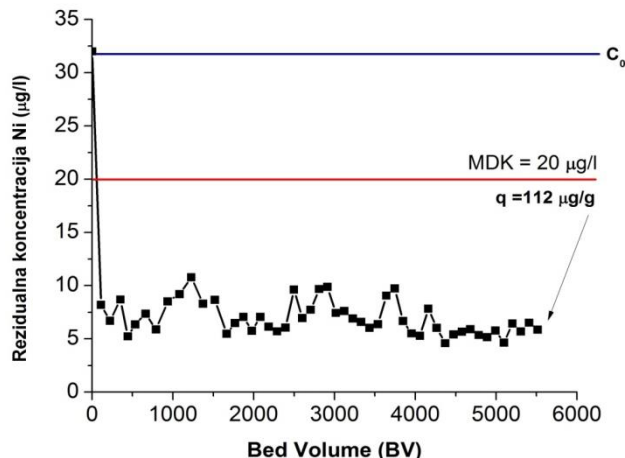
Tabela 4. Determinacioni faktori i konstante Freundlich-ovog i Langmuir-ovog modela za adsorpciju Ni iz površinske vode

Freundlich model			Langmuir model			
K_F ($\mu\text{g/g}$) ($\mu\text{g/l}$) ⁿ	n	R^2	K_L ($\text{l}/\mu\text{g}$)	q_{max} ($\mu\text{g/g}$)	R_L	R^2
11,1	1,43	0,9547	1,62E-7	33,3	1,00	0,9237

Poređenjem koeficijenta determinacije, R^2 , utvrđeno je da se adsorpcija nikla na Lewatit® MonoPlus TP 207, bolje opisuje Freundlich-ovim modelom, što upućuje na višeslojnu adsorpciju. Vrednosti eksponenta, n veći je od 1, što sugerise da je jonoizmenjivački proces nefavorizovan pri datim eksperimentalnim uslovima. Naime, razlog za nefavorizovanu adsorpciju nikla iz površinske vode, na Lewatit® MonoPlus TP 207, može se objasniti malim opterećenjem, odnosno niskim početnim koncentracijama nikla, a koje su pak karakteristične za realne sisteme. Maksimalni adsorpcioni kapacitet, q_{max} na Lewatit® MonoPlus TP 207 za Ni, pri datim eksperimentalnim uslovima, određen primenom Langmuir-ovog modela iznosio je 33,3 $\mu\text{g/g}$, dok je vrednost separacionog faktora, R_L iznosila 1, što znači da je stepen adsorpcije nikla direktno proporcionalan njegovoj koncentraciji u rastvoru.

Dinamički eksperimenti

Kroz kolonu ispunjenu sa jonoizmenjivačkom smolom, površinska voda je kontinualno propuštana a odgovarajuća kriva proboja Ni predstavljena je na slici 4.



Slika 4. Kriva proboja nikla na jonoizmenjivačkoj smoli MonoPlus TP 207
 Uslovi: $C_0(\text{Ni}) = 32 \mu\text{g/l}$, $Q=5 \text{ ml/min}$ (20 BV), $\text{EBCT}=3 \text{ min}$

U toku dinamičkog eksperimenta obrađena je značajna količina ispitivane površinske vode (5500 BV). Na osnovu dobijenih rezultata, uočeno je da se primenom smole MonoPlus TP 207, može obraditi značajna količina površinske vode i zadovoljiti MDK vrednost za nikl u vodi za piće. Kako tačka proboja nikla nije dostignuta u ovom eksperimentu, a imajući u vidu da je rezidualna koncentracija nikla pri obrađenih 5500 BV iznosila oko $6 \mu\text{g/l}$, isto kao i na početku eksperimenta, sugerise se na značajan potencijal ove smole za tretman ispitivane površinske vode.

Zaključak

U ovom radu, ispitivana je efikasnost uklanjanja nikla iz površinske vode, jonskom izmenom sa komercijalnom jonoizmenjivačkom smolom. Ispitivanja u šaržnom sistemu ukazala su i potvrdila da je hemisorpcija dominantan mehanizam uklanjanja nikla na jonoizmenjivačkoj smoli. Maksimalni adsorpcioni kapacitet jonoizmenjivačke smole, q_{max} iznosio je $33,3 \mu\text{g/g}$. Ispitivanja u dinamičkom sistemu, ukazala su da se značajna količina ispitivane površinske vode može obraditi, pre nastupanja tačke proboja. Na osnovu izloženog, može se pretpostaviti da bi primena jonoizmenjivačke smole, Lewatit® MonoPlus TP 207, potencijalno bila efikasno rešenje za uklanjanje nikla iz ispitivanog vodenog resursa.

Literatura

- [1] Senarathne P, Pathiratne KAS (2007). Accumulation of heavy metals in a food fish, *Mystus gulio* inhabiting Bolgoda Lake, Sri Lanka. *Sri Lanka Journal of Aquatic Sciences*, 13(4), 12, 61-75.
- [2] Ikenaka Y, Nakayama S. M. M., Muzandu K., Choongo K., Teraoka H., Mizuno N., Ishizuka M. (2010). Heavy metal contamination of soil and sediment in Zambia. *African Journal of Environmental Science and Technology*. 4, 11, 729- 739.
- [3] Young R.A. (1995). Toxicity summary for nickel and nickel compounds. Toxicity Profiles.
- [4] M. Cempel, G. Nikel. (2006). Nickel: A Review of Its Sources and Environmental Toxicology. Polish J. of Environ. Stud. Vol. 15, No. 3, 375-382.

- [5] K.K. Das, R.C. Reddy, I.B. Bagoji, S. Das, S. Bagali, L. Mullur, J.P. Khodnapur, M.S. Biradar (2019). Primary concept of nickel toxicity-an overview. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 30(2): 141–152.
- [6] S.A. Bhalerao, A.S. Sharma, A.C. Poojari. (2015). Toxicity of Nickel in Plants. *International journal of pure and applied bioscience.* 3 (2): 345-355.
- [7] Pravilnik o higijenskoj ispravnosti vode za piće (1999) Službeni list SRJ, br. 42/98 i 44/99 i Službeni glasnik RS, br. 28/2019.

KVALITET VODE I EKOLOŠKI POTENCIJAL ZVORNIČKOG JEZERA SA ASPEKTA ODABRANIH FIZIČKO-HEMIJSKIH I MIKROBIOLOŠKIH PARAMETARA

Bojan Damnjanović¹, Ana Matić¹, Ana Vasić¹, Ljiljana Tanasić², Igor Dragičević³, Marijana Srećković¹

¹*Akademija strukovnih studija Šabac, Odsek za medicinske i poslovno-tehnološke studije, Hajduk Veljkova 10, 15000 Šabac, bdamnjanovic@live.com*

²*Akademija strukovnih studija Šabac, Odsek za poljoprivredno-poslovne studije i turizam, Vojvode Putnika 56, 15000 Šabac*

³*Zavod za javno zdravlje Šabac, Jovana Cvijića 1, 15000 Šabac*

Izvod

Ekološki potencijal se određuje na osnovu bioloških, hidromorfoloških i fizičko-hemijskih elemenata kvaliteta. Cilj ovog rada je određivanje kvaliteta vode i ekološkog potencijala Zvorničkog jezera sa aspekta odabranih fizičko-hemijskih i mikrobioloških parametara. Zvorničko jezero je prva akumulacija na reci Drini napravljena između 1948. i 1955. godine izgradnjom hidroelektrane. U priobalju se nalaze brojne male plaže i ugostiteljski objekti, tako da se jezero koristi i za turizam, sportsko-rekreativne svrhe i ribolov. Prema Pravilniku o parametrima ekološkog i hemijskog statusa površinskih voda i parametrima hemijskog i kvantitativnog statusa podzemnih voda Zvorničko jezero se klasifikuje kao značajno izmenjeno vodno telo, odnosno kao akumulacija formirana na vodnom telu TIPA 2. Niska vrednost rastvorenog kiseonika i povećana koncentracija amonijum jona ukazuju na proces eutrofizacije jezera. Kvalitet vode Zvorničkog jezera prema SWQI (*Serbian Water Quality Index*) može se oceniti kao veoma dobar i dobar sa pozitivnim linearnim trendom. Kada je u pitanju ekološki potencijal rezultati takođe ukazuju na pozitivan trend.

Ključne reči: kvalitet vode, SWQI, ekološki potencijal, Zvorničko jezero

Uvod

Pravni status voda i integralno upravljanje vodnim resursima u Republici Srbiji uređuje Zakon o Vodama [1]. Ovaj zakon propisuje standarde kvaliteta voda na teritoriji Srbije, kao i sistem monitoringa i informisanja javnosti o kvalitetu voda,

Najrelevantniji pravni akt Evropske Unije iz oblasti integralnog upravljanja vodama koji propisuje određivanje ekološkog statusa prirodnih vodnih tela, kao i ekološkog potencijala veštačkih i značajno modifikovanih vodnih tela je Okvirna Direktiva o vodama (WFD) [2]. Prema pomenutoj Direktivi ekološki status/potencijal se određuje na osnovu bioloških, hidromorfoloških i fizičko-hemijskih parametara. U cilju usklađivanja nacionalnog zakonodavstva sa propisima Evropske Unije, 2011. godine usvojen je Pravilnik o parametrima ekološkog i hemijskog statusa površinskih voda i parametrima hemijskog i kvantitativnog statusa podzemnih voda [3].

Prema nacionalnom pravilniku [3] ekološki status se takođe određuje na osnovu bioloških, hidromorfoloških i fizičko-hemijskih parametara. Pomenuti pravilnik [3] prepoznaje i mikrobiološke parametre kao značajne indikatore prilikom određivanja ekološkog statusa/potencijala vodnih tela, a koje Okvirna Direktiva o vodama isključuje kao nerelevantne [2]. Međutim, određivanje kvaliteta vode na osnovu mikrobioloških parametara je posebno značajno sa

higijenskog i epidemiološkog aspekta, jer voda može biti put prenošenja infekcija najpre ako se vodno telo koristi za snabdevanje stanovništva vodom za piće, navodnjavanje i u sportsko-rekreativne svrhe [4]. Ukupan broj koliformnih bakterija predstavlja značajan pokazatelj kontaminacije vode fekalnim materijama [5]. Hemijsko zagađenje voda ispoljava akutne i hronične toksične efekte na živi svet te dovodi do gubitka staništa i biološke raznovrsnosti površinskih kopnenih voda, a ujedno predstavlja i pretnju po ljudsko zdravlje [6].

Cilj ovog rada je određivanje kvaliteta vode i ekološkog potencijala Zvorničkog jezera sa aspekta odabranih fizičko-hemijskih i mikrobioloških parametara.

Eksperimentalni deo

Zvorničko jezero je prva akumulacija na reci Drini napravljena između 1948. i 1955. godine izgradnjom hidroelektrane. Nastaje uzvodno od brane izgrađene kod Malog Zvornika u Republici Srbiji i Zvornika u Republici Srpskoj u Bosni i Hercegovini. Pruža se 25 km uzvodno od brane, površine 8.1 km², širine 0.3 – 3 km, maksimalna dubina je 39 m, pri čemu se akumulira oko 90,000,000 m³ vode (Slika 1). U priobalju Zvorničkog jezera se nalaze brojne male plaže, veliki broj ugostiteljskih objekata i vikendica, tako da se jezero koristi i za turizam, sportsko-rekreativne svrhe i ribolov [7].



Slika 1. Mapa istraživanog područja

Uzorkovanje vode na terenu, kao i analize fizičko-hemijskih i mikrobioloških parametara vršene su standardnim i validovanim metodama koje se primenjuju u Zavodu za javno zdravlje Šabac jednom godišnje, tokom leta 2013, 2015, 2016, 2017 i 2018. godine. Tokom 2014. godine zbog poplava tokom maja meseca, nije vršeno uzorkovanje. Analizirani su sledeći parametri: temperatura (°C), pH, rasvoren kisik (mg/dm³), saturacija vode kiseonikom (%), biološka

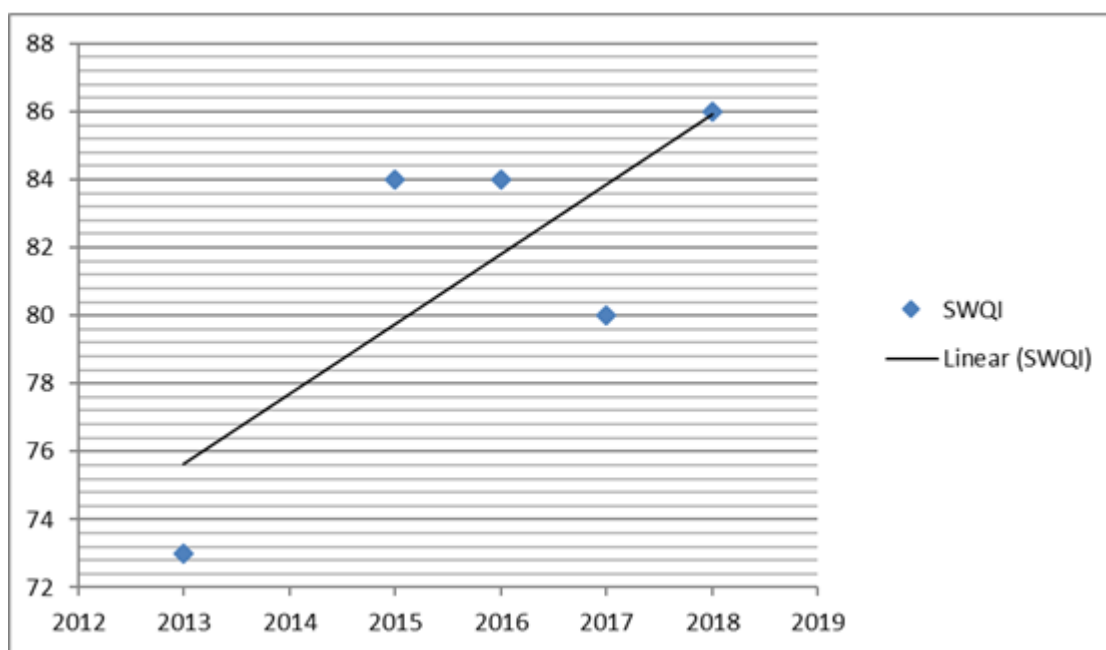
potrošnja kiseonika (mg/dm^3), ukupne suspendovane materije (mg/dm^3), amonijum jon (mg/dm^3), nitrati (mg/dm^3), hloridi (mg/dm^3), ukupne koliformne bakterije.

Kvalitet vode određen je pomoću *Serbian Water Quality Index* (SWQI) metode [8], dok je ekološki potencijal određen na osnovu Pravilnika o parametrima ekološkog i hemijskog statusa površinskih voda i parametrima hemijskog i kvantitativnog statusa podzemnih voda [3]. SWQI zasniava se na standardnoj metodi Water Quality Index (WQI) [9] prema kojoj se deset parametara fizičko-hemijskog i mikrobiološkog kvaliteta objedinjavaju u kompozitni indikator kvaliteta površinskih voda. Indikatori kvaliteta površinskih voda metodom SWQI dobijeni su komparacijom pokazatelja kvaliteta prema staroj nacionalnoj klasifikaciji [10] i originalnoj metodi WQI [9].

Rezultati i diskusija

Odabrani fizičko-hemijski i mikrobiološki parametri, odnosno njihove vrednosti date su u Tabeli 1.

Vrednosti SWQI kretale su se u opsegu 73 – 86, odnosno kvalitet se može oceniti kao dobar do veoma dobar (Slika 1). Indikator Veoma dobar i Dobar ukazuje na vode koje se u prirodnom stanju mogu upotrebljavati za kupanje i rekreaciju građana, za sportove na vodi, za gajenje vrsta riba cyprinidae, ili koje se uz savremene metode prečišćavanja mogu upotrebljavati za snabdevanje naselja vodom za piće i u prehrambenoj industriji [8]. Posmatrajući linearno, zabeležen je pozitivan trend kvaliteta vode Zvorničkog jezera na osnovu SWQI (Slika 2).



Slika 2. Kvantitativna vrednost indikatora SWQI sa linearnim trendom

Zvorničko jezero je prema Pravilniku o parametrima ekološkog i hemijskog statusa površinskih voda i parametrima hemijskog i kvantitativnog statusa podzemnih voda klasifikovano kao značajno izmenjeno vodno telo, odnosno kao Akumulacija formirana na vodnom telu TIPA 2 (Reka Drina) [3]. Ekološki potencijal je u 2013. godini ocenjen kao slab zbog veoma niske koncentracije rastvorenog kiseonika (III klasa). Niske vrednosti rastvorenog kiseonika utiču na smanjenje diverziteta akvatične flore i faune [11]. Vrednosti DO ispod $5 \text{ mg}/\text{dm}^3$ mogu negativno

uticati na rast, razmnožavanje i ponašanje riba, što značajno redukuje brojnost unutar populacija [12]. U 2015. i 2016. godini ekološki potencijal je ocenjen kao umeren zbog povećane koncentracije amonijum jona (III klasa). Nekonrolisana upotreba azotnih đubriva dovodi do nagomilavanja nitrata, nitrita i amonijaka u poljoprivrednom zemljištu, koji spiranjem, erozijom zemljišta, dospevaju u površinska vodna tela [13]. Amonijum jon kao najzastupljeniji oblik „mineralnog azota“ ima značajan uticaj na process eutrofizacije. Tokom 2017. i 2018. godine ekološki potencijal je ocenjen kao dobar i bolji (Tabela 2). Rezultati ukazuju na pozitivan trend, kada je u pitanju ekološki potencijal Zvorničkog jezera.

Tabela 1. Vrednosti odabranih fizičko-hemijskih i mikrobioloških parametara kvaliteta

Fizičko-hemijski parametri						
Parametar	Jedinica	2013	2015	2016	2017	2018
Temperatura	°C	22	19.6	24	24	16.8
pH		7	7	7	7	7
Rastvoreni kiseonik	mg/dm ³	4.1	9.1	8.4	8.5	8.2
Saturacija vode kiseonikom	%	46.5	105	100.2	101.4	97.8
Ukupne suspendovane materije	mg/dm ³	3	4	19	25	24
BPK ₅	mg/dm ³	2.8	2.3	2.4	2.7	2.6
Amonijum jon	mg/dm ³	0.16	0.47	0.19	0.08	0.03
Nitrati	mg/dm ³	1.1	1	0.03	0.02	0.01
Ukupni oksidi azota	mg/dm ³	1.12	1.02	0.19	2.42	1.71
Hloridi	mg/dm ³	32	0.27	21	24.5	17
Mikrobiološki parametri						
Ukupne koliformne bakterije	cfu/100 ml	150	2000	380	6600	2600

Tabela 2. Ekološki potencijal Zvorničkog jezera na osnovu fizičko-hemijskih i mikrobioloških parametara kvaliteta

Fizičko-hemijski parametri						
Parametar	Jedinica	2013	2015	2016	2017	2018
pH		II	II	II	II	II
Rastvoreni kiseonik	mg/dm ³	IV	II	II	II	II
BPK ₅	mg/dm ³	II	II	II	II	II
Amonijum jon	mg/dm ³	III	III	III	II	II
Nitrati	mg/dm ³	II	II	II	II	II
Hloridi	mg/dm ³	II	II	II	II	II
Mikrobiološki parametri						
Ukupne koliformne bakterije	cfu/100 ml	II	II	II	II	II

Zaključak

Kvalitet vode Zvorničkog jezera prema SWQI može se oceniti kao veoma dobar i dobar sa pozitivnim linearnim trendom. Kada je u pitanju ekološki potencijal rezultati takođe ukazuju na pozitivan trend. Prema Pravilniku o parametrima ekološkog i hemijskog statusa površinskih voda i parametrima hemijskog i kvantitativnog statusa podzemnih voda ekološki potencijal je 2013. ocenjen kao slab, 2015. i 2016. kao umeren, dok je 2017. i 2018. godine ocenjen kao dobar i bolji.

Niska vrednost rastvorenog kiseonika i povećana koncentracija amonijum jona ukazuju na process eutrofizacije jezera.

Literatura

- [1] Zakon o vodama, Sl. glasnik RS, br. 30/2010.
- [2] Water Framework Directive (WFD), Directive 2000/60/EC of the European Parliament and of the Council of 23 October 2000 establishing a framework for Community action in the field of water policy 2000/60/EC.
- [3] Pravilnik o parametrima ekološkog i hemijskog statusa površinskih voda i parametrima hemijskog i kvantitativnog statusa podzemnih voda, Sl. glasnik RS, br. 74/2011.
- [4] Meyer, K.J., Appletoft, C.M., Schwemm, A.K., Uzoigwe, J.C. & Brown, E.J. (2005). Determining the source of fecal contamination in recreational waters. *J Environ Health* 68(1):25-30.
- [5] Malaj, E., Von der Ohe, P.C., Grote, M., Kühne, R., Mondy, C.P., Usseglio-Polatera, P., Brack, W., Schäfer, R.B. (2014). Organic chemicals jeopardize the health of freshwater ecosystems on the continental scale. *Proc. Natl. Sci.* 111(26), 9549–9554.
- [6] Coca, C., Moreno, O., Espigares, M., Fernández-Crehuet, M., Gálvez, R. (1996). Chemical and microbiologic indicators of faecal contamination in the Guadalquivir (Spain); *European Water Pollution Control*, 6(3), 7-13.
- [7] <http://zvornikurizam.org/v2/bs/rooms/zvornicko-jezero/> [04.03.2020.]
- [8] <http://www.sepa.gov.rs/index.php?menu=6&id=8007&akcija=showXlinked> [04.03.2020.]
- [9] Development of a Water Quality Index (1976). Scottish Development Department, Engineering Division, Edinburgh
- [10] Uredba o klasifikaciji voda međurepubličkih vodotoka, međudržavnih voda i voda obalnog mora Jugoslavije, Sl. list SFRJ 6/78.
- [11] Varol, M., Gökot, B., Bekleyen, A., Sen, B. (2011). Water quality assessment and apportionment of pollution sources of Tigris River (Turkey) using, multivariate statistical techniques – a case study, *River Res. Applic.* 28(9):1428–1438
- [12] Kibria, G. (2004). Environmental update-Dissolved oxygen: The facts. Outlet. Issue 162. pages 2-4.
- [13] Zhu, Z., Guan, X., Zheng, H., Yang, C., Xingc, Z., and Hu, S. (2018). Determination of nitrate and ammonium ions in water samples by atmospheric pressure glow discharge microplasma molecular emission spectrometry coupled with chemical vapour generation. *J. Anal. At. Spectrom.*, 33, 2153–2159.

ISPITIVANJE EFIKASNOSTI UKLANJANJA As IZ PRIRODNIH VODENIH MATRIKSA ELEKTROKOAGULACIJOM SA UPOTREBOM AL I FE ELEKTRODA

Kristiana Zrnić Tenodi¹, Srđan Rončević¹, Emilijan Mohora², Slaven Tenodi¹, Nataša Duduković¹, Aleksandra Tubić¹, Jasmina Agbaba¹

¹Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine, 21000 Novi Sad, Trg Dositeja Obradovića 3e-mail: kristiana.zrnic@dh.uns.ac.rs
²Univerzitet Singidunum, 11000 Beograd, Danijelova 32

Izvod

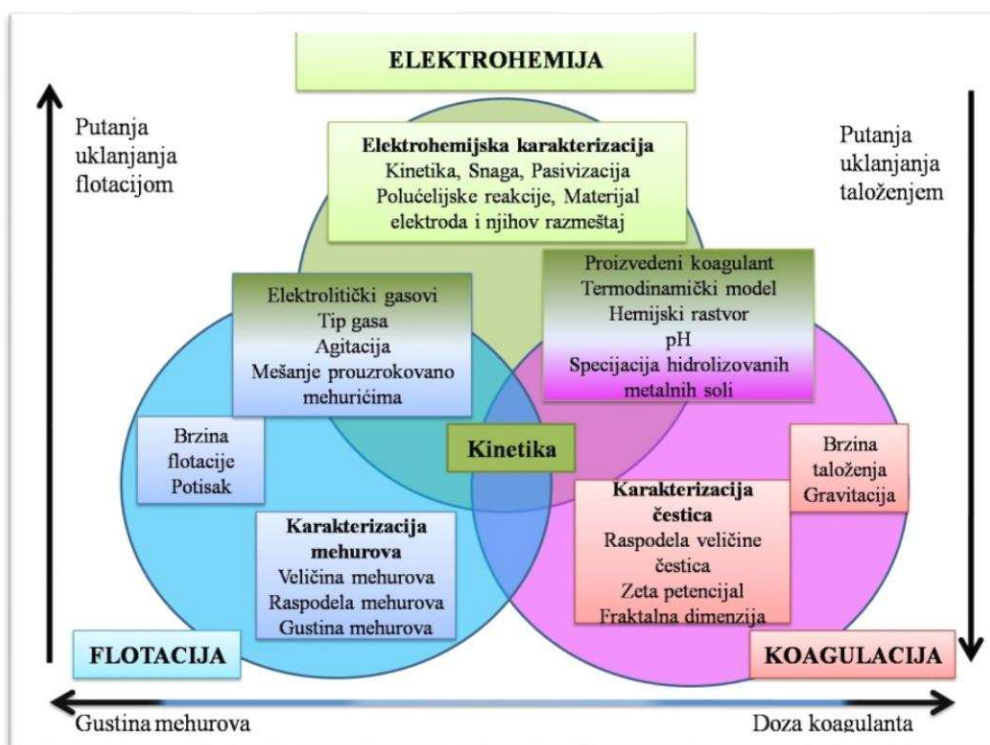
U radu je vršeno ispitivanje uklanjanja arsena (As) iz dva tipa voda (voda I: As \approx 100 μ g/l; voda II: As \approx 250 μ g/l) pomoću elektrokoagulacionog (EKF) tretmana sa upotrebom aluminijumskih (Al) i gvozdernih (Fe) elektroda. Tretman je vršen u protočnom EKF reaktoru pri protoku vode od 12 l/h uz primenu elektroda od Al ili Fe. Praćena je efikasnost uklanjanja As pri jačini struje od 0,15 A i 0,30 A za vodu I, i pri jačini struje od 0,30 A za vodu II. Pri promenama jačine struje za vodu I za elektrode od Al efikasnost uklanjanja As iznosila je 31% i 20%, dok je primena Fe elektroda na ovom tipu voda bila značajno efikasnija (76% i 92%, respektivno), a korekcijom pH vrednosti za Fe elektrode značajno se povećava i efikasnost pri 0,15 A (92%). Za tretman vode II su Fe elektrode takođe pokazale visoku efikasnost i pri tretmanu vode na prirodnoj pH (72%) dok se podešavanjem pH na 7 postiže vrednost od 97% i postiže maksimalno dozvoljena koncentracija (MDK) As u vodi za piće. Al elektrode su za ovaj tip voda pokazale nižu efikasnost uklanjanja arsena, za tretman bez korekcije pH 39%, a za tretman sa korekcijom pH na 7 78%, s tim da se nije postigla MDK za sadržaj As u vodi za piće.

Ključne reči: Elektrokoagulacija, arsen, aluminijumske elektrode, gvozdene elektrode, prirodan matriks

Uvod

Očuvanje vodenih resursa predstavlja najveći izazov u 21. veku. Prisutni su brojni problemi koji u današnjici zahtevaju razvoj efektne tehnologije, kao i pristupa za tretiranje i upravljanje kako pijaćim tako i drugim vodama. U vodama AP Vojvodine jedan od vodećih problema je prisustvo arsena u podzemnim vodama u koncentracijama koje prevazilaze maksimalno dozvoljenu koncentraciju od 10 μ g/l [1]. Ova voda se u najvećoj meri koriste za vodosnabdevanje stanovništva, bez adekvatne pripreme pre distribucije.

Kako bi se ispunila načela održivosti i životne sredine razvila se i elektrohemijska tehnologija, poznatija pod nazivom-elektrokoagulacija (EK) [2]. Elektrokoagulacija predstavlja jednostavnu i relativno jeftinu tehniku za uklanjanje nekoliko vrsta zagađivača prisutnih u vodi, od teških metala do postojećih organskih zagađivača [3]. Tokom sprovođenja elektrokoagulacije teži se formiranju precipitata, oslobađanjem koagulantata sa anode usled elektrolitičkog rastvaranja, koja je najčešće napravljena od gvožđa ili aluminijuma. U blizini elektroda još se proizvodi i gas, kiseonik (anoda) ili vodonik (katoda), što rezultuje efektom elektrokoagulacije-flotacije (EKF) [2]. Odvijaju se tri mehanizma (slika 1), koji mogu biti paralelni i/ili sukcesivni, a to su: elektrohemijski mehanizam (rastvaranje metala, elektrooksidacija polutanta), hemijski mehanizam (promene pH vrednosti sa odnosom kiselo-bazne ravnoteže, redoks reakcija, taloženje hidroksida) i fizički mehanizam (koagulacija, flokulacija i fizička adsorpcija).



Slika 1. Venov dijagram koji predstavlja osnovne procese kojima se može predstaviti elektrokoagulacija (adaptacija Holt et al, 2005[4])

Vrsta koagulanta zavisi od tipa elektrode koje mogu biti izrađene od aluminijuma, gvožđa ili cinka i najčešće su pločastog oblika [2][5][6]. Ranija istraživanja u šaržnim reaktorima su pokazala veću efikasnost Al (95%) u odnosu na Fe (93%) elektrode u tretmanu sintetičkog matriksa u opsegu pH 6,5-7 [7]. Daljim istraživanjima na sintetičkim uzorcima, i prirodnim matriksima podzemne i otpadne vode, Fe elektrode su se pokazale kao superiornije. Niža cena, širi pH opseg delovanja (formiranje hidroksida) i manja toksičnost rezidua predstavljaju prednosti gvozdenih elektroda u odnosu na druge koje se mogu koristiti u EK tretmanu [8].

Ispitivanja prikazana u radi izvođena su u cilju upoređivanja efikasnosti primene Al i Fe u kontinualnom sistemu EK, pri čemu se vršio tretman dva tipa podzemnih voda sa visokim sadržajem As.

Eksperimentalni deo

Za potrebe istraživanja korišćen je protočni EKF reaktor, zapremine 12 l. Korišćene su dve pločaste elektrode od Al ili Fe, (5x14x0,3 cm), na međusobnom rastojanju od 2,4 cm koje su povezane na izvor jednosmerne struje, sa primenjenom strujom od 0,15 A i 0,30 A. Postavka eksperimenta (Fe elektrode) prikazana je na slici 2.



Slika 2. Prikaz reaktora sa Fe elektrodama (a-ulaz, b-izvor jednosmerne struje, c-elektrode, d-izlaz)

Prirodan uzorak vode dopreman je u kanisterima od 25 l, iz kojih je pumpom, brzinom od 12 l/h uvođena voda u EKF reaktor. Kako bi se sprečila pojava pasivizacije, vršili smo naizmeničnu izmenu uloge elektroda (katoda-anoda, tzv. promena polarizacije) u intervalima od 30 minuta. Praćenje efikasnosti uklanjanja As, vršeno je uzimanjem uzoraka u pravilnim intervalima na 30 minuta (u prvih sat vremena na 15 min) i poređenjem sa početnom koncentracijom As. Temperatura vode pri izvođenju eksperimenata iznosila je $19 \pm 1^\circ\text{C}$.

Set eksperimenata koji su rađeni sa korekcijom pH vrednosti vršen je na pH 7, koja je podešavana dodatkom hlorovodonične kiseline. Karakteristike podzemnih voda korišćenih za ispitivanje date su u tabeli 1.

Tabela 1. Karakteristike netretiranih podzemnih voda

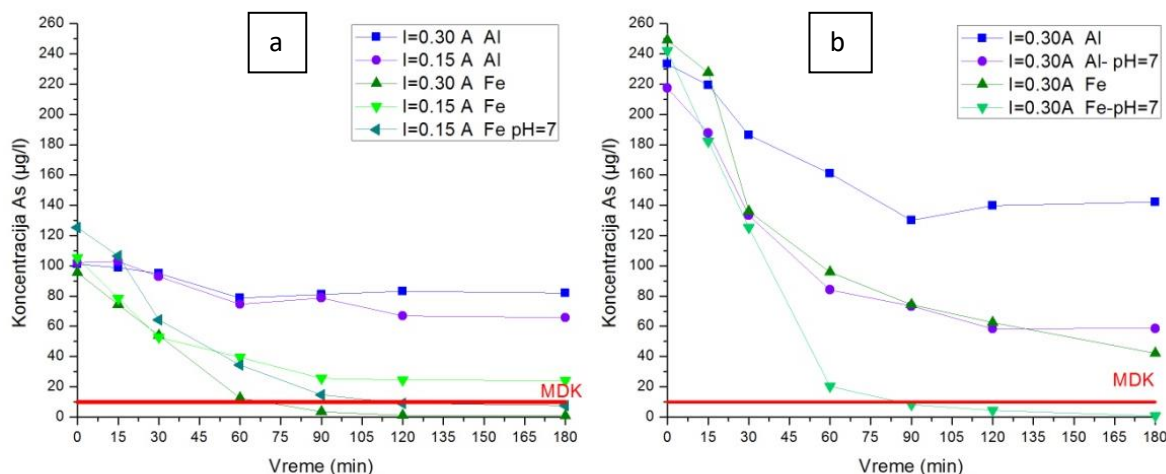
Parametar	Voda I	Voda II	Jedinica mere
pH	8,17	8,15	-
elektroprovodljivost	662	1082	$\mu\text{S/cm}$
koncentracija As	106	242	$\mu\text{g/l}$
ortofosfati	0,414	0,487	mgP/l

Elektroprovodljivost podzemne vode tokom eksperimentalnog rada merena je pomoću laboratorijskog konduktometra WTW InoLab 7110 Cond. pH vrednosti podzemne vode nakon tretmana merene su instrumentom WTW InoLab pH. Temperatura uzoraka merena je laboratorijskim termometrom. Koncentracija ukupnog arsena sadržanog u uzorku pre i u toku tretmana merena je uređajem ICP-MS, EPA metoda 200-8, detekcija elemenata u tragovima induktivno kuplovanom plazmom – sa masenom spektrometrijom (engl. Determination of trace elements in waters and wastes by inductively coupled plasma-mass spectrometry).

Efikasnost EKF tretmana u uklanjanju As računata je na osnovu koncentracije pre i nakon tretmana i izražena u procentima.

Rezultati i diskusija

Promene koncentracija As tokom elektrokoagulacionog tretmana za vode I i II prikazane su na slici 3.

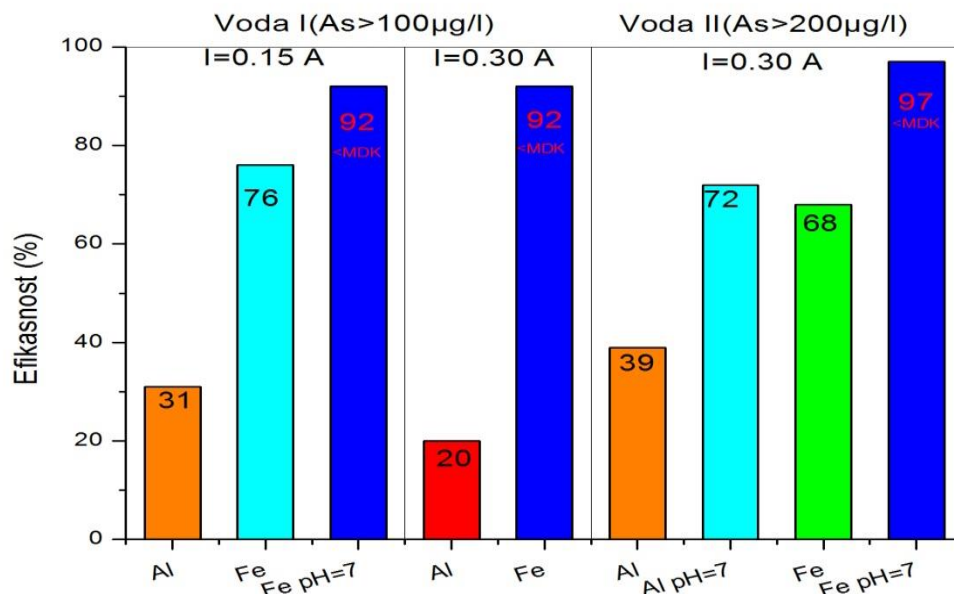


Slika 3. Prikaz promene koncentracije As u vodi I(a) i II (b) tokom EKF tretmana

Sa slike 3a se može videti da je uspostavljen stabilan režim rada nakon 60 minuta za elektrode od Al, dok se stabilan režim za elektrode od Fe uspostavlja nakon 60 minuta uz tendenciju blažeg opadanja. Na osnovu grafika možemo videti da se primenom elektroda od aluminijuma na ispitivanim jačinama struje (0,30 A i 0,15 A) ne postiže značajna efikasnost uklanjanja arsena sa stanovišta zadovoljavanja MDK vode za piće. Upotrebom elektroda od Fe dostižu se MDK za koncentraciju As pri jačini struje od 0,30 A i pri upotrebi jačine struje od 0,15 A uz prethodnu korekciju pH vrednosti sirove vode na pH 7. Prikaz na slici 3b prikazuje promenu koncentracije As u vodi II tokom EKF tretmana. Takođe se uspostavljanje stabilnog režma rada postiže nakon 60 minuta. Primena Al elektroda na ovom tipu voda isto kao i kod vode I se pokazala kao manje efikasna, dok se korekcijom pH vrednosti pre tretmana postiže bolje uklanjanje. Upotreba Fe elektroda ima značajne rezultate i bez korekcije pH vrednosti na 7, a tretmanom sa korekcijom pH vrednosti dostigli smo vrednosti ispod MDK nakon 60 minuta.

Efikasnost uklanjanja arsena tokom elektrokoagulacionog tretmana izražena u procentima za oba tipa voda prikazana je na slici 4.

Na osnovu prikazanih rezultata efikasnosti uklanjanja arsena na slici 4. i promena u koncentracijama prikazanim na slici 3, vidi se da se primenom Al elektroda ne postiže značajna efikasnost (20%, 31%, 39%) sa stanovišta dostizanja MDK vode za piće, dok se korekcijom pH vrednosti pri tretmanu vode II efikasnost uklanjanja podiže sa 39% na 72%. Primenom Fe elektroda na vodu I postiže se efikasnost 76% za primenjenu jačinu struje 0,15 A i 92% za 0,30 A, pri čemu se tretman na 0,15 A sa korekcijom pH vrednosti pokazao kao visokoefikasan. Primena Fe elektroda na vodu II vršena je na 0,30 A pri čemu se tretmanom bez korekcije pH postiže efikasnost od 68% i ne dostiže MDK, dok se korekcijom pH postiže uklanjanje od 97% i zadovoljava kriterijum kvaliteta vode za piće sa stanovišta sadržaja As.



Slika 4. Efikasnost uklanjanja As

Zaključak

Za oba tipa tretiranih voda, I i II, elektrode od Al nisu dale značajne rezultate, dok je EKF tretman sa elektrodama od gvožđa pokazao visok potencijal za uklanjanje As, i kao takav predstavlja potencijalnu tehnologiju za pripremu vode za piće ovakvog (ispitivanog) kvaliteta. Takođe za tipove vode sa pH vrednostima oko 8 pokazalo se da se značajno pospešuje efikasnost kako Fe elektroda tako i Al elektroda ukoliko se pre tretmana voda podvrgne korekciji pH na 7.

Zahvalnica: Istraživanja je finansiralo Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ev.br. 451-03-68/2020-14/ 200125)

Literatura (APA standard)

- [1] "Sl. list SRJ", br. 42/98 i 44/99 i "Sl. glasnik RS", br. 28/2019
- [2] Hakizimana J. N., Gourich B., Chafi M., Stiriba Y., Vial Ch., Drogui P., Naja J., (2017). „*Electrocoagulation process in water treatment: A review of electrocoagulation modeling approaches*“, Desalination 404
- [3] Segura S.G., Eibanda M. M. S.G., Vieira de Melo J., Martínez-Huitlea C. A. (2017). „*Electrocoagulation and advanced electrocoagulation processes: A general review about the fundamentals, emerging applications and its association with other technologies*“, Journal of Electroanalytical Chemistry 801,267–299
- [4] Holt, P. K., Barton, G. W., Mitchell, C. A. (2005). *The future for electrocoagulation as a localised water treatment technology*, Chemosphere, 59, 355-367
- [5] Chen, G. (2004). *Electrochemical technologies in wastewater treatment*, Separation and purification Technology , 38 (1), 11-41
- [6] Kobya, M., Demirbas, E., Ulu, F. (2016). *Evaluation of operating parameters with respect to charge loading on the removal efficiency of arsenic from potable water by electrocoagulation*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 4, 1484–1494.

- [7] Kobya, M., Gebologlu, U., Ulu, F., Oncel, S., Demirbas, E. (2011). *Removal of arsenic from drinking water by the electrocoagulation using Fe and Al electrodes*. *Electrochimica Acta*, 56, 5060–5070.
- [8] Kobya, M., Soltani, R. D. C., Omwene, P. I., Khataee, A. (2020). *A review on decontamination of arsenic-contained water by electrocoagulation: Reactor configurations and operating cost along with removal mechanisms*. *Environmental Technology & Innovation*, 17, 100519.

PROCENA REMEDIJACIONOG POTENCIJALA SEDIMENTA ZAGAĐENOG PRIORITETNIM ORGANSKIM ZAGAĐUJUĆIM MATERIJAMA

Marko Grgić¹, Snežana Maletić¹, Marijana Kragulj Isakovski¹, Srđan Rončević¹, Jelena Petrović²,
Božo Dalmacija¹

¹Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 3,
21000 Novi Sad, Srbija, marko.grgic@dh.uns.ac.rs

²Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina, Bulevar Franš d'Eperea 86,
Beograd, Srbija

Izvod

Akvatični ekosistemi u industrijalizovanim zemljama i zemljama u razvoju konstantno prihvataju zagađenje brojnim zagađujućim supstancama iz različitih izvora. Najproblematičnije zagađujuće supstance su perzistentne organske supstance koje pokazuju toksične karakteristike, perzistentnost u životnoj sredini, imaju osobinu biomagnifikacije i bioakumulacije u ekosistemima. Zbog svoje hidrofobnosti one imaju tendenciju da se u akvatičnim ekosistemima vezuju za sedimentnu fazu, gde se zadržavaju dugi niz godina i predstavljaju izvor sekundarnog zagađenja. Primena bioloških remedijacionih tehnika tretmana je od velikog interesa, s obzirom da je njihov glavni cilj prevođenje toksičnih organskih zagađujućih materija u netoksične produkte dok je drugi pravac razmišljanja fokusiran na ispitivanje uloge koju ugljenikom bogati sorbenti imaju na njihovu sudbinu u sedimentu, kao i na koji način oni mogu biti iskorišćeni za svrhe remedijacije. Cilj rada bio je procena biodegradacionog potencijala odabranih prioritetnih organskih zagađujućih materija u sedimentu i ispitivanje potencijala primene agenasa bogatih ugljenikom, u cilju lokalne promene geohemijskih osobina sedimenta za svrhu imobilizacije i sekvestracije odabranih organskih zagađujućih materija. Sagledavanjem dobijenih rezultata dolazi se do zaključka da su zadovoljavajući rezultati su postignuti: biološkim tretmanom u anaerobnim uslovima i imobilizacijom odabranih jedinjenja u sedimentu primenom aktivnog uglja kao sorbenta pri dozi od 1% ili biouglja i humusa pri dozi od 5%.

Ključne reči: maksimalno sediment, prioritetni polutanti, remedijacija, bioremedijacija, ugljenični materijali

Uvod

Za rešavanje problema sedimenata zagađenog organskim zagađujućim supstancama primenjuju se različite remedijacione tehnike. Primena bioloških (bioremedijacionih) remedijacionih tehnika tretmana je od velikog interesa, s obzirom da je njihov glavni cilj prevođenje toksičnih organskih zagađujućih materija u netoksične produkte kao što su ugljen-dioksid i voda. Njihova primena za remedijaciju sedimenata zagađenih prioritetnim organohalogenim zagađujućim materijama je do sada bila relativno ograničena, zbog njihove perzistentnosti [1]. Međutim, poslednjih godina istraživanja su pokazala da se ova jedinjenja mogu u nekoj meri razgraditi i transformisati, kako u aerobnim tako i u anaerobnim uslovima [2, 3, 4, 5].

Drugi pravac rešavanja problema sedimenata zagađenih prioritetnim organskim zagađujućim supstancama fokusiran je na ispitivanje uloge koju ugljenikom bogati sorbenti imaju na njihovu sudbinu u sedimentu, kao i na koji način oni mogu biti iskorišćeni za svrhe remedijacije [6, 7, 8, 9]. Prednost ove tehnike se ogleda u mogućnosti njene primene kao *in situ* tehnike kada je

zagađena velika količina sedimenta, ali i kao *ex situ* tehnike čijom se primenom omogućava lakše i bezbednije deponovanje ovakvih sedimenata. Efikasnost ovog tretmana pokazana je kroz niz laboratorijskih testova koji su obuhvatali tretman obalskog sedimenta [10, 11, 12], sedimenta dna [13] i dubinskog sedimenta [14] kao i kolonske eksperimente [15, 16, 17, 18, 19]. Kao adsorpciona sredstava za ovu svrhu primenjuju se različiti ugljenikom bogati sorpcioni agensi, a u najvećoj meri ispitan je aktivni ugalj [6, 7, 8, 9]. Međutim, za većinu organohalogenih jedinjenja, kao i jedinjenja alkil fenola postoji realtivno ograničen broj podataka u ovom polju. Takođe, evidentan je i nedostatak podataka o uticaju vremena i starenja na ove tretmane kako bi se procenila dugoročna efikasnost tretmana što predstavlja izazov.

U skladu sa gore navedenim istraživanja u ovom radu imaju za cilj ispitivanje potencijala za remedijaciju sedimenta koji je kontaminiran prioriternim organskim polutantima putem uklanjanja ili prevođenja u netoksičan oblik biološkim i/ili fizičko-hemijskim tehnikama. Specifični ciljevi istraživanja su procena biodegradacionog potencijala odabranih prioriternih organskih zagađujućih materija u sedimentu za svrhu ispitivanja mogućnosti primene tretmana sedimenta tehnikom bioremedijacije i ispitivanje potencijala primene agenasa bogatih ugljenikom, u cilju lokalne promene geohemijskih osobina sedimenta za svrhu imobilizacije i sekvestracije odabranih organskih zagađujućih materija u sedimentu.

Eksperimentalni deo

U svrhu ispitivanja odabrano je šest različitih jedinjenja: pentahlorbenzen, heksahlorbenzen, trifluralin, lindan, 4-oktilfenol i 4-nonilfenol. Prilikom odabira jedinjenja korišćeni su sledeći kriterijumi:

1. Fizičko-hemijske osobine navedenih jedinjenja sa aspekta njihovog ponašanja i raspodele u akvatičnom ekosistemu. Osnovni kriterijumi za izbor jedinjenja, koja su značajna u pogledu njihove distribucije u sedimentu, jesu njihova fizičko-hemijska svojstva, prvenstveno njihova hidrofobnost i rastvorljivost u vodi koja diktira njihov afinitet ka sorpciji za sediment. Naravno, hidrofobnija jedinjenja su manje rastvorljiva u vodi, samim tim imaju veći afinitet vezivanja za čvrstu fazu sedimenta. Kao merilo hidrofobnosti jedinjenja najčešće se koristi koeficijent raspodele oktanol-voda (K_{ow}), prema kome je postavljen kriterijum za procenu da li neko jedinjenje treba pratiti u sedimentu ili vodi (tabela 1) [20].

Tabela 1. Fizičko-hemijske osobine odabranih jedinjenja

Jedinjenje	M (g/mol)	Napon pare (mm Hg na 25°C)	T _t (°C)	T _k (°C)	S (mg/l)	log K _{ow}
Pentahlorbenzen	250	0,002	85-86	277	0,680	5,18
Heksahlorbenzen	285	1,72x10 ⁻⁵	227-231	323-326	0,340	5,73
Lindan	291	4,50x10 ⁻⁵	112-113	323	4,04	4,26
Trifluralin	335	4,58x10 ⁻⁵	49,0	369	24,0	5,34
4-oktilfenol	206	4,80x10 ⁻⁴	44-45	158	3,11	5,50
4-nonilfenol	220	8,18x10 ⁻⁴	43-46	293-297	6,00	5,76

M - molekulska masa,
 T_t - temperatura topljenja,
 T_k - temperatura ključanja,
 S - rastvorljivost u vodi,
 log K_{ow}-koeficijent raspodele oktanol-voda

2. U strukturnom pogledu odabrano je 5 aromatičnih jedinjenja i jedan cikloalkan (lindan-heksahlorcikloheksan). Dva para strukturno i fizičko-hemijski sličnih jedinjenja:

1) planarni organohalogeni molekuli - pentahlorbenzen naspram heksahlorbenzena ima jedan hlorov atom manje, samim tim i manju molekulsku masu i $\log K_{ow}$;

2) 4-oktilfenol naspram 4-nonilfenola ima $-CH_2$ grupu manje samim tim i manju molekulsku masu i $\log K_{ow}$.

3. Značaj sa ekotoksikološkog i zakonodavnog stanovišta. Svih šest odabranih jedinjenja se nalaze na listi prioriternih supstanci prema Uredbi o graničnim vrednostima prioriternih i prioriternih hazardnih supstanci koje zagađuju površinske vode i rokovima za njihovo dostizanje [21], kao i prema Direktivi 2013/39/EU i USEPA [22].

Sva odabrana jedinjenja su dokazani kancerogeni i/ili teratogeni i/ili mutageni i predstavljaju značajan rizik za živi svet u vodenoj sredini, a posredno i van nje [23, 24, 25, 26, 27, 28].

Ispitivanje potencijala biodegradacije odabranih organskih jedinjenja u sedimentu. Za potrebe ispitivanja aerobnih i anaerobnih uslova za degradaciju u vijale od 40 ml odmeravano je po 3 g suvog spajkovanog sedimenta. U sve serije za ispitivanje aerobne degradacije je nakon odmeravanja dodavano po 3 ml inokuluma (Subotica, Pančevo, DDT Begej i Vrbas) i po 0,1 ml mineralnog medijuma. U cilju aeracije vijali su svakodnevno otvarani i aerisani u istom vremenskom periodu po tri minuta. Nakon aeracije vijali su zatvarani, vraćani u termostatiranu mućkalicu ($30^{\circ}C$ i 20 o/min). Potencijal aerobne degradacije praćen je u toku tri nedelje. Nakon isteka odgovarajućeg vremenskog perioda sve probe su uklanjane sa mućkalice, sušene su anhidrovanim natrijum-sulfatom i pristupilo se određivanju odabranih jedinjenja u sedimentima

Za potrebe ispitivanja anaerobnih uslova za degradaciju u vijale od 40 ml odmeravano je po 3 g suvog spajkovanog sedimenta. U sve serije za ispitivanje aerobne degradacije je nakon odmeravanja dodavano po 3 ml inokuluma (Subotica, Pančevo, DDT Begej, Vrbas i Sombor) i po 0,1 ml mineralnog medijuma U cilju uklanjanja kiseonika iz slobodne zapremine vijala, vijali su prođuvavani blagom strujom azota po tri minuta. Nakon prođuvavanja azotom vijali su zatvarani, parafilmisani i postavljeni u termostatiranu mućkalicu ($30^{\circ}C$ i 20 o/min). Potencijal anaerobne degradacije praćen je u toku 10 nedelja. Nakon isteka odgovarajućeg vremenskog perioda sve probe su uklanjane sa mućkalice, sušene su anhidrovanim natrijum-sulfatom i pristupilo se određivanju odabranih jedinjenja u sedimentima. Dodatno, u cilju procene abiotičkog gubitka postavljena je i slepa proba u koju nije dodat inokulum već inhibitor biološke degradacije ($HgCl_2$).

Imobilizacija hidrofobnih organskih jedinjenja u sedimentu primenom ugljeničnih agenasa

U cilju stabilizacije sedimenta kontaminiranog sa prioriternim organskim polutantima u sediment su aplikovana tri različita ugljenična agensa (aktivan ugalj, biougalj i humus). Takođe je praćen uticaj starenja sedimenta sa ugljeničnim agensima gde se određivala efikasnost tretmana nakon isteka različitih vremenskih perioda od postavke eksperimenta. Nulto stanje na samom početku eksperimenta bez dodatka sorpcionih agenasa, nakon 14 dana i nakon 30 dana, 90 dana i 180 dana od dodatka sorpcionih agenasa. Da bi se odredila masa humusa koja treba da se odmeri, grubo je određen sadržaj organske materije humusa kao gubitak žarenjem [29]. Ovom metodom je dobijeno da je grubi sadržaj organske materije iznosio 25,5% i na osnovu ovog podatka su se određivale mase suvog humusa koje su se odmeravale na uzorak sedimenta.

U staklene vijale od 40 ml odmereno je po 1 g spajkovanog suvog sedimenta, odmereni su agensi u određenom odnosu i dodato je po 20 ml rastvora $HgCl_2$ koncentracije 300 mg/l. Ovako pripremljene probe su ostavljene definisan vremenski period (14, 30, 90 i 180 dana) u mraku uz svakodnevno mešanje. Nakon isteka definisanog vremenskog perioda uticaj ugljeničnih agenasa u pogledu njihove doze i uticaja starenja su procenjeni na osnovu ukupno desorbovane količine jedinjenja posredstvom višestepene desorpcije XAD-4 smolom.

Rezultati i diskusija

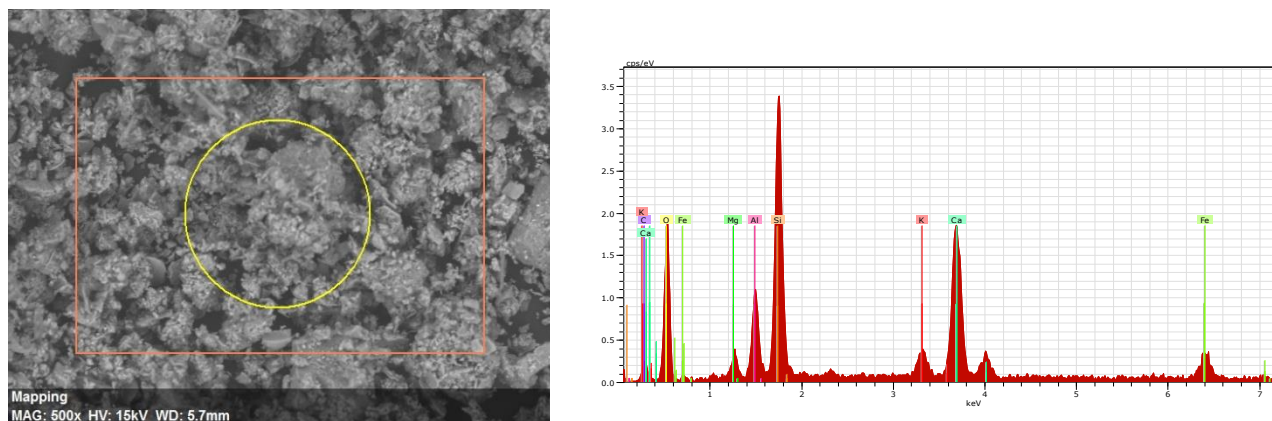
Fizičko-hemijska karakterizacija sedimenta

Sadržaj organske materije, izražen kao gubitak žarenjem, u ispitivanom sedimentu iznosio je 16,0%, dok je sadržaj gline iznosio 31,6%. Relativno visok sadržaj organske materije u sedimentu ukazuje na visok potencijal sedimenta za kompleksiranje dok relativno visok sadržaj gline ukazuje na potencijal sorbovanja zagađujućih materija koje dospevaju u sediment. Posledica toga je smanjenje (bio)dostupne frakcije zagađujućih materija [30, 31]. Neophodno je istaći da 83,0% sedimenta predstavljaju frakcije manje od 63 μm koje imaju veliki afinitet za sorpciju različitih zagađujućih materija. pH vrednost sedimenta je neutralna, dok elektroprovodljivost ukazuje na umeren sadržaj neorganskih i organskih jona u sedimentu.

Ukupna površina sedimenta kao i njegova poroznost je relativno niska. Na osnovu t-testa pokazano je da sediment ne sadrži mikropore, dok je na osnovu dodatnih ispitivanja HK metodom pokazano prisustvo relativno malog sadržaja mikropora. Generalno, na osnovu prikazanih karakteristika sediment se uglavnom sastoji od mezopora. Dodatne informacije o karakteristikama površine sedimenta dobijene su SEM i EDS analizom (slika 1). Dobijeni i normalizovani rezultati pokazali su da uzorak sedimenta sadrži 39,7% kiseonika, 20,5% silicijuma, 17,6% kalcijuma, 7,8% ugljenika, 5,8% aluminijuma, 5,2% gvožđa, 2,4% kalcijuma i 1,6% magnezijuma.

Koncentracije jedinjenja odabranih za eksperimente (pentahlorbenzen, heksahlorbenzen, trifluralin, lindan, 4-oktilfenol i 4-nonilfenol) su bile ispod granice detekcije metoda, što ukazuje da ne postoji istorijsko zagađenje sedimenta ovim zagađujućim supstancama. Nakon spajkovanja koncentracije ispitivanih jedinjenja su bile: 3340 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za pentahlorbenzen, 1466 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za heksahlorbenzen, 3850 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za lindan, 3780 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za trifluralin, 1110 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za 4-oktilfenol i 1230 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za 4-nonilfenol.

Kvalitativnom GC/MS analizom uzoraka sedimenta identifikovan je veliki broj organskih jedinjenja različitih klasa (41-46) za koje je poznata industrijska upotreba kao i upotreba kao aditiv u farmaceutskoj i kozmetičkoj industriji.



Slika 1. SEM slike sedimenta (uvećanje 500x)

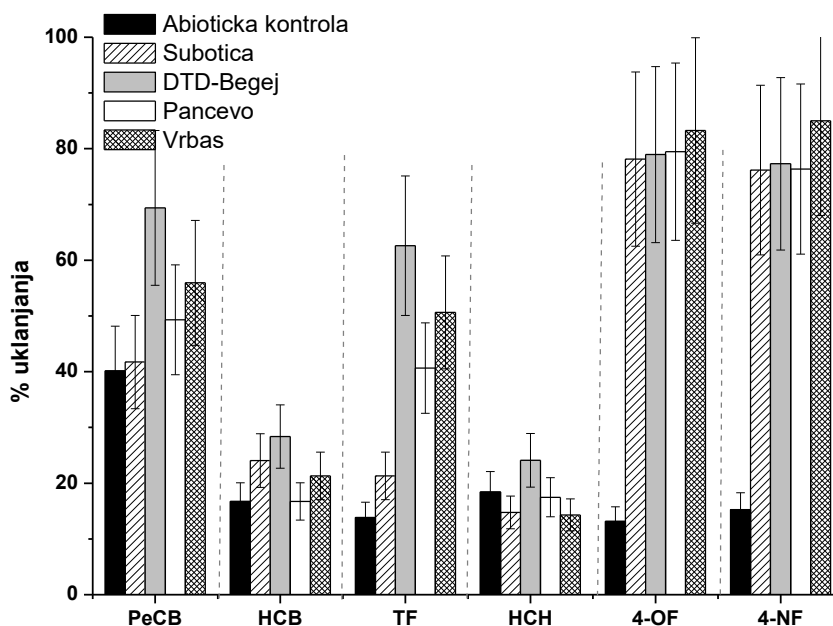
Potencijal aerobne degradacije zagađujućih supstanci u sediment

Rezultati aerobne degradacije odabranih zagađujućih supstanci u sedimentu su prikazani na slici 2. Na osnovu prikazanih rezultata može se uočiti da je biodegradacija hlorbenzena veoma niska, kao i da je glavni gubitak jedinjenja iz sedimenta posledica njihovog abiotičkog gubitka.

Razlika u uklonjenoj količini oba hlorbenzena u odnosu na abiotičku kontrolu uočena je jedino u slučaju inokuluma izolovanog iz sedimenta DTD-Begej, indikujući mogućnost prisutne mikroflore koja eventualno može da metaboliše data jedinjenja. Naime, pokazano je da iako je anaerobna dehalogenacija favorizovan put degradacije ovih jedinjenja, određeni sojevi mikroorganizama (kao što su *Nocardioides*, *Azospirillum* i *Alcaligenes*) mogu da razgrade ova jedinjenja. Pomenuti sojevi bakterija razgrađuju hlorbenzene do različitih hlorovanih fenola koji se zatim dalje razgrađuju do hlorokvinona, a zatim ugljen-dioksida i vode putom sojeva *Pseudomonas*, *Sphingobium*, *Mycobacterium* i *Methylobacterium* [4, 32, 33, 34, 35, 36, 37]. Dodatno, treba napomenuti da se u cilju povećanja efikasnosti aerobne degradacije ovih jedinjenja često koristi adaptirana mikroflora genetskim inženjeringom [4, 37].

Dobijeni podaci za lindan, jedinjenje koje je strukturno slično heksahlorbenzenu ali prema fizičko-hemijskim osobinama značajno različito jedinjenje, ukazuju na potpuno odsustvo biodegradacije ovog jedinjenja ukazujući neadekvatne uslove za aerobnu degradaciju ovog jedinjenja. Međutim, literaturni podaci pokazuju da niz sojeva bakterija i gljiva efikasno mogu da razgrađuju ovo jedinjenje preko metaboličkog puta koji prvo vodi formiranju pentahlor cikloheksana, a zatim penta-, tetra- i tri-hlorbenzena, dihlorfenola, hloro- i hidro kuinona i na kraju ugljen-dioksida i vode [38, 39]. U slučaju trifluralina smanjenje koncentracije u odnosu na abiotičku kontrolu je uočeno primenom inokuluma dobijenih iz sva tri primenjena sedimenta u opsegu od oko 40-60%. Generalno je pokazano da je aerobna bidegradacija trifluralina značajno sporija od anaerobne i da udeo uklonjenog jedinjenja značajno zavisi od karakteristika zemljišta i/ili sedimenta [40, 41, 42]. Takođe, treba napomenuti da aerobnom degradacijom trifluralina ne zaostaju perzistentni metaboliti kao u slučaju anaerobne degradacije [41].

Za razliku od ostalih analiziranih hidrofobnih organskih jedinjenja oba alkil fenola su uklonjena u značajnoj meri (78-85%) u poređenju sa abiotičkom kontrolom. Količina uklonjenih alkil fenola odgovara procenjenoj (bio)dostupnoj frakciji (84-95%), pri čemu je u sedimentu zaostala neznatna količina (bio)dostupne frakcije oba jedinjenja. Dodatno, nije primećena značajna razlika između količine uklonjenih alkil fenola. Ovo je u skladu sa literaturnim podacima koji su pokazali da aerobna degradacija alkil fenola favorizovana i da je prosečno vreme zadržavanja alkil fenola u aerobnoj sredini oko 20 dana. Takođe, pokazano je da većina mikroorganizama odgovornih za razgradnju pripada grupi *Sphingomonas xenophaga*, *Sphingomonas TTNP3* i *Sphingomonas cloacae* koji mogu da koriste alkil fenole kao jedini izvor ugljenika [43, 44, 45].



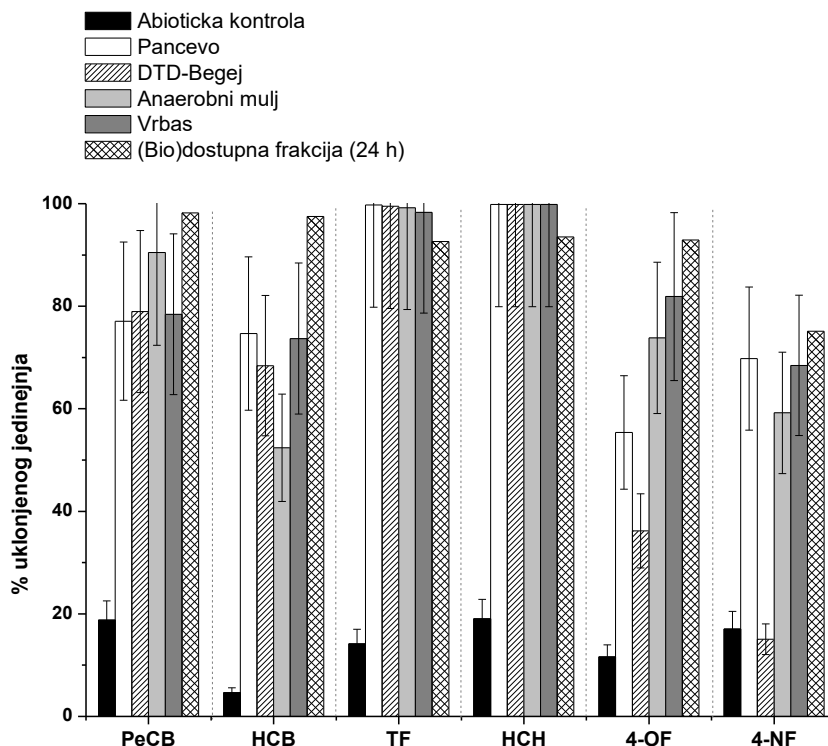
Slika 2. Kumulativni procenat uklanjanja odabranih jedinjenja sa sedimenta aerobnim tretmanom

Potencijal anaerobne degradacije zagađujućih supstanci u sediment

Rezultati anaerobne degradacije odabranih zagađujućih supstanci u sedimentu su prikazani na slici 3. Na osnovu prikazanih rezultata može se uočiti da je biodegradacija hlorbenzena, lindana i trifluralina značajno veća u odnosu na aerobni tretman, dok je u slučaju alkil fenola uočena značajno niži biodegradacioni potencijal u anaerobnim uslovima. Dobijeni rezultati su u skladu sa literaturnim podacima [4, 38, 40, 44]. Primena sva tri sedimenta kao inokuluma rezultovala je smanjenjem koncentracije oba hlorbenzena za oko 70%. U slučaju primene anaerobnog mulja uklonjeno oko 90% pentahlorbenzena i značajno niže heksahlorbenzena oko 52%. Dodatno, treba napomenuti da dolazi do značajne oscilacije koncentracije pentahlorbenzena u toku 10 nedelja tretmana. Ovo je u skladu sa činjenicom da je glavni mehanizam razgradnje hlorbenzena reduktivna dehalogenacija, i da je jedan od prvih intermedijernih produkata razgradnje heksahlorbenzena pentahlorbenzen [4, 32, 33, 34, 35, 36, 37]. Mehanizam reduktivne dehalogenacije prati nastajanje sledećih jedinjenja: heksahlorbenzen → pentahlorbenzen → tetrahlorbenzen → tetrahlorokatehol →→→ ugljen-dioksid i voda [4].

U slučaju lindana i trifluralina pokazano je da je celokupna količina oba jedinjenja u potpunosti uklonjena iz sedimenta. Određene istraživačke grupe [46, 47] su pokazale da se preko 90% lindana može degradirati u anaerobnim uslovima za svega 50 dana što je u skladu sa dobijenim rezultatima u ovom eksperimentu. Takođe, bitno je napomenuti da kao glavni metaboliti mikrobiološke degradacije nastaju jedinjenja monohlorbenzena i benzena, kao i da većina mikroorganizama koji učestvuju u razgradnji hlorbenzena mogu razgrađivati i lindan [38, 39].

Kao što je već rečeno aerobna biodegradacija trifluralina značajno je sporija od anaerobne [40, 41, 42]. Međutim u slučaju anaerobne degradacije trifluralina zaostaju perzistentni metaboliti kao što je α, α, α -trifluoro-5-nitro-N4, N4-dipropil-toluen-3, 4-diamin 3-nitro-N2-dipropil-5-(trifluorometil)-1, 2- benzenediamin [41]. Dobijeni rezultati su u skladu sa rezultatima koje su objavili Mc Farland i saradnici [48] gde su dobili potpuno uklanjanje trifluralina nakon 45 dana anaerobnog tretmana.



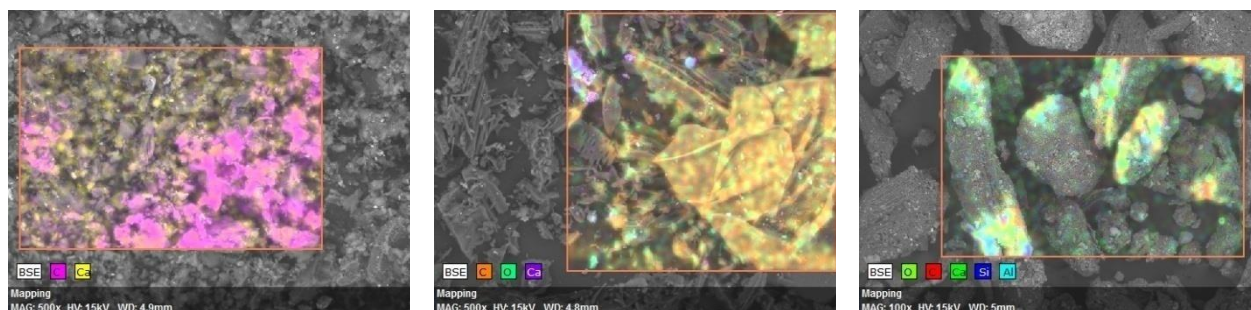
Slika 3. Kumulativni procenat uklanjanja odabranih jedinjenja sa sedimenta anaerobnim tretmanom

Količina uklonjenih alkil fenola kretala se u širokom opsegu od 15-85%, naime, jedino je u slučaju alkilfenola uočena značajna razlika u pogledu primenjenih inokuluma. Najveća efikasnost uklanjanja alkil fenola u pogledu primenjenih inokuluma dobijena je za sediment kanala Vrbasa (70-80%) i Pančeva u slučaju 4-nonil fenola (74%), kao i količini degradiranih jedinjenja dobijenoj prilikom aerobnog tretmana. Ovo je u skladu sa literaturnim podacima koji su pokazali da je anaerobnom degradacijom alkil fenola prosečno vreme zadržavanja alkil fenola u aerobnoj sredini oko 200 dana [43, 44, 45].

Karakterizacija primenjenih sorbenata za imobilizaciju prioriternih organskih polutanata u sediment

Kao što se očekivalo, aktivan ugalj je u odnosu na biougalj i humus imao najvišu vrednost ukupnog organskog ugljenika (83,3%) i koji odražava visoku hidrofobnost i čistoću primenjenog ugljeničnog sorbenta. S druge strane, vrednosti ukupnog organskog ugljenika za biougalj i humus su bile znatno niže (54,7% i 18,5% za ukupan organski ugljenik i 81,0% i 43,3% za ugljenik, respektivno) što govori da su ova dva primenjena ugljenična sorbenta polarnija u odnosu na aktivan ugalj. Pored toga, specifična površina i poroznost biouglja i humusa su niže u odnosu na aktivan ugalj. Tako je aktivan ugalj imao najveću specifičnu površinu i poroznost, nekoliko puta veću od specifične površine i poroznosti ispitivanog biouglja i humusa. Prikazana je karakterizacija i metodom t-testa i rezultati ukazuju da nema prisustva mikropora u uzorcima biouglja i humusa, dok je za aktivan ugalj zapremina mikropora bila 0,18 cm³/g. Međutim, dodatne procene korišćenjem HK metode pokazale su prisustvo mikropora u svim ispitivanim materijalima. Veličine za mikropore su se kretale od 0,0003 cm³/g za biougalj, 0,0007 cm³/g za humus do 0,20 cm³/g za aktivan ugalj. Na osnovu dobijenih rezultata zaključuje se da aktivan ugalj ima mikroporoznu strukturu, dok se biougalj i humus sastoje uglavnom od mezopora.

Dodatno, rezultati SEM analize nam daju normalizovan elementarni sastav primenjenih agenasa (slika 4). Uočava se najviša vrednost ugljenika i kiseonika u sva tri uzorka. Sadržaj ostalih elemenata (Si, Ca, Al, Mg, S, Fe i K) je bio zanemarljiv.



Slika 4. Prikaz SEM analize uvećanje 500x a) aktivan ugalj, b) biougalj i c) humus

Dodatak aktivnog uglja

Aktivan ugalj se u literaturi često spominje kao optimalan sorpcioni agens za širok spektar jedinjenja različitih fizičko-hemijskih osobina. Iz tog razloga se koristio i u ovom eksperimentu [8, 9, 49].

Očekivano dodatak 10% aktivnog uglja je rezultovao najvećim smanjenjem desorbovane količine svih ispitivanih jedinjenja (tabela 2). Nakon samo 14 dana je desorbovana količina svih jedinjenja bila manja od 2,5%.

Bitno je napomenuti da se nakon isteka 30, 90 i 180 dana ovaj trend nije menjao. Desorbovane količine lindana i trifluralina su nakon 90 dana bile ispod granica kvantitacije metode. Dodatno kod ispitivanja alkilfenola sve dobijene vrednosti su bile ispod detekcionog limita metode ispitivanja (10,0 µg/kg).

Sagledavanjem dobijenih rezultata dolazi se do zaključka da se aktivan ugalj pokazao kao efikasan sorpcioni agens. Aktivan ugalj se i po literaturi spominje kao dobar sorpcioni agens sa visokim sorpcionim kapacitetom, zbog njegove hemijske strukture, visoke poroznosti i velike površine po jedinici zapremine [10, 50].

Tabela 2. Količine desorbovanih jedinjenja nakon primene aktivnog uglja

Dani	Pentahlorbenzen (µg/kg)				Trifluralin (µg/kg)				Heksahlorbenzen (µg/kg)			
	14	30	90	180	14	30	90	180	14	30	90	180
0,5%	237	38,0	75,5	49,0	256	526	<10,0	<10,0	388	124	61,8	124
1%	132	1,45	78,1	36,8	464	<10,0	<10,0	<10,0	203	20,5	72,6	81,7
5%	2,43	121	5,17	9,76	153	67,7	<10,0	<10,0	7,60	110	5,12	19,8
10%	14,0	41,1	15,5	2,69	35,7	191	<10,0	<10,0	11,3	20,9	11,0	3,76
Dani	4-oktilfenol (µg/kg)				Lindan (µg/kg)				4-nonilfenol (µg/kg)			
	14	30	90	180	14	30	90	180	14	30	90	180
0,5%	520	457	35,2	<10,0	961	392	127	250	521	484	36,6	<10,0
1%	258	363	49,1	<10,0	852	273	363	191	261	168	61,6	<10,0
5%	118	101	<10,0	<10,0	200	223	<3,07	51,9	<10,0	97,6	<10,0	<10,0
10%	<10,0	<10,0	<10,0	<10,0	71,1	94,2	<3,07	<3,07	<10,0	<10,0	<10,0	<10,0

Kao krajnji zaključak može se izvesti da je dodatak 1% aktivnog uglja dovoljan da se postigne maksimalna moguća stabilizacija odabranih organska jedinjenja, s obzirom da dalje povećanje doze nije dovele do dodatnog smanjenja frakcije jedinjenja koja se može desorbovati sa sedimenta. Dodatno, starenjem sedimenta sa aktivnim ugljem dovodi do daljeg smanjenja desorbabilne

količine odabranih jedinjenja sa sedimenta sve do 90-tog dana tretmana, nakon čega se ova količina daljim starenjem ne menja.

Dodatak biouglja

Primetne su smanjene količine desorbovanog pentahlorbenzena i trifluralina čak i kada se primenila količina od 0,5% biouglja. Dok se za heksahlorbenzen ispitivan biouglj nije pokazao kao optimalan stabilizacioni agens. Na osnovu dobijenih rezultata desorpcije za lindan i alkilfenole može se reći da dolazi do stabilizacije nakon 180 dana od primene biouglja. Kao optimalna doza može da se smatra doza od 5% biouglja.

Primena biouglja u remedijacione svrhe je još uvek nova oblast i potrebna su dalja i opsežnija istraživanja. Dobijeni rezultati nam govore da postoji potencijal primene biouglja u cilju stabilizacije halogenovanih jedinjenja i alkilfenola. Međutim nije uočena najjasnija korelacija između desorbovane količine ispitivanih jedinjenja i doze biouglja. Dodatni problem predstavlja i činjenica da starenjem nakon 90 dana tretmana u većini slučajeva dolazi do povećanja desorbabilne frakcije odabranih jedinjenja tj. do njihove remobilizacije što bi dalje trebalo ispitati.

Tabela 3. Količine desorbovanih jedinjenja nakon primene biouglja

Dani	Pentahlorbenzen (µg/kg)				Trifluralin (µg/kg)				Heksahlorbenzen (µg/kg)			
	14	30	90	180	14	30	90	180	14	30	90	180
0,5%	2685	70,0	159	128	186	83,9	<10,0	<10,0	1495	491	185	543
1%	264	34,9	221	131	144	33,3	<10,0	51,5	1081	371	359	478
5%	1645	26,0	207	468	242	<10,0	<10,0	<10,0	1171	329	142	562
10%	127	15,9	278	159	431	<10,0	<10,0	<10,0	679	323	154	597
Dani	4-oktilfenol (µg/kg)				Lindan (µg/kg)				4-nonilfenol (µg/kg)			
	14	30	90	180	14	30	90	180	14	30	90	180
0,5%	1012	1054	320	<10,0	3202	915	590	152	958	1079	245	<10,0
1%	1102	1028	368	<10,0	2885	757	361	251	1137	1099	399	<10,0
5%	992	920	194	<10,0	2956	643	210	289	1167	1120	115	<10,0
10%	1064	1036	256	<10,0	2683	1180	213	917	1217	1163	125	<10,0

U odnosu na aktivan ugalj biougalj se u pokazao kao značajno manje efikasan sorpcioni agens. Niža efikasnost biouglja u odnosu na aktivan ugalj može biti posledica interakcije biouglja sa organskom materijom ispitivanog sedimenta koja je mogla obložiti čestice biouglja i onesposobiti mesta za sorpciju pesticida [51, 52]. Dodatno Cao i saradnici [53] su dokazali da povišena koncentracija rastvorene organske materije zemljišta može redukovati sorpciju atrazina blokiranjem pora biouglja.

Elektrostatičko privlačenje/odbijanje između organskih zagađujućih supstanci i biouglja je još jedan od mogućih adsorpcionih mehanizama. Površine biougljeva su normalno, negativno naelektrisane, što bi moglo olakšati elektrostatičku privlačnost pozitivno naelektrisanih organskih komponenti. Ovu elektrostatičku privlačnost su primetili Qiu i saradnici [54] i Xu i saradnici [55] u vezi sa studijama adsorpcije katjonskih boja uključujući metil ljubičastu i rodanin iz vode.

Međutim, aromatični π -sistemi u jako polarnim biougljevima proizvedenim na 400°C su bogati u elektron-akceptorskim funkcionalnim grupama. Oni imaju tendenciju ka deficitu elektrona i mogu delovati kao π -akceptor prema donatorima elektrona. I elektron donorske i elektron akceptorske funkcionalne grupe su prisutne prilikom proizvodnje biougljeva na visokim temperaturama i stoga su biougljevi teoretski sposobni za interakciju i sa akceptorima elektrona i sa donatorima elektrona [56].

π - π elektron donor-akceptorska interakcija između površine biouglja koja je bogata π -elektronima i π -elektron deficitarne pozitivno naelektrisane organske materije je uočena od strane

mnogih autora [54, 56, 57]. Međutim, elektrostatičko odbijanje između negativno naelektrisanih anjonskih organskih komponenti i biouglja mogu promovisati vodonične veze i podstaći adsorpciju. Ovo pojavu su primetili i objavili Teixido i saradnici [57] koji su ispitivali adsorpciju sulfametazina na biouglju proizvedenom na 600°C od tvrdog drveta bogatog ligninom. Pretpostavljeno je da se u alkalnim uslovima formiraju jake vodonične veze između sulfametazina i karboksilne ili fenolne funkcionalne grupe dostupne na biouglju.

Dodatno, istraživanja vezana na primenu biouglja su fokusirana na poboljšanje kvaliteta zemljišta i sedimenata u koji se aplikuju. Primena biouglja povećava kapacitet katjonske izmene [58] kapacitet zadržavanja vode, smanjuje potrebu zemljišta za đubrenjem, dovodi do povećanja prinosa na zemljištima gde se aplikuje, a takođe, ima i mnogo niže troškove proizvodnje u odnosu na aktivan ugalj te se zbog ovih razloga primena biouglja promoviše. Međutim, osobine biougljeva se moraju dobro ispitati pre primene u remedijaciji kontaminiranih područja [52].

Dodatak humusa

Humus je složena i prilično otporna mešavina amorfnih i koloidnih organskih jedinjenja, koja nastaju prilikom mikrobiološke razgradnje većih molekula, ali i prilikom mikrobioloških sinteza. Zavisno od jonske jačine i pH medijuma, molekuli huminskih supstanci koje su glavni supstituenti humusa mogu da menjaju konformaciju gradeći hidrofobne šupljine u koje se mogu inkorporirati hidrofobna organska jedinjenja. Takođe humus je predstavnik tzv. mekog ugljenika i do sada nije ispitivan u cilju stabilizacije zagađujućih supstanci u sedimentu. Zbog ovih razloga je ispitivan potencijal primene humusa.

Tabela 4. Količine desorbovanih jedinjenja nakon primene humusa

Dani	Pentahlorbenzen (µg/kg)				Trifluralin (µg/kg)				Heksahlorbenzen (µg/kg)			
	14	30	90	180	14	30	90	180	14	30	90	180
0,5%	2042	132	184	108	361	302	<10,0	<10,0	1320	564	132	296
1%	1862	70,5	117	145	316	68,5	<10,0	<10,0	1382	592	121	494
5%	1067	283	151	143	271	52,9	<10,0	<10,0	1068	358	112	553
10%	417	49,7	159	148	288	<10,0	<10,0	<10,0	658	284	173	592
Dani	4-oktilfenol (µg/kg)				Lindan (µg/kg)				4-nonilfenol (µg/kg)			
	14	30	90	180	14	30	90	180	14	30	90	180
0,5%	1008	799	214	<10,0	3177	952	377	202	1175	1139	186	<10,0
1%	1075	840	131	<10,0	3208	1125	189	321	1161	1176	80,4	<10,0
5%	900	918	159	<10,0	2408	898	152	355	1138	1123	34,7	<10,0
10%	870	832	339	<10,0	2042	891	302	347	1117	1055	374	<10,0

Obzirom da humus nije imao veliku vrednost specifične površine kao aktivan ugalj smatra se da je dominantan mehanizam stabilizacije bio kompleksiranje sa huminskim supstancama humusa. Primećuje se da nema značajne razlike u ponašanju ispitivanih jedinjenja nakon dodatka 0,5 i 1% humusa kao i kod dodatka 5 i 10% humusa (tabela 4). Dodatno kao najoptimalnija doza za tretman sedimenta se smatra doza od 5%.

Primetno je da je potrebno više humusa u odnosu na aktivan ugalj i biougalj da bi se dobile slične, niže, vrednosti desorbovane količine jedinjenja. Međutim količina u ovom slučaju nije eliminacioni faktor jer kada se porede cene i dostupnost ispitivanih sorpcionih agenasa humus je daleko ispred aktivnog uglja i biouglja obzirom na njihovu višu cenu za razliku od humusa koji je široko rasprostranjen i komercijalno dostupan.

Zaključak

Generalno, rezultati ispitivanja u ovom radu u pogledu izbora optimalne remedijacione tehnike zadovoljavajući rezultati su postignuti: biološkim tretmanom u anaerobnim uslovima, s obzirom na anaerobnu prirodu akvatičnih sedimenata ovo je od izuzetnog značaja za dalji razvoj in situ remedijacionih tehnika; i imobilizacijom odabranih jedinjenja u sedimentu primenom aktivnog uglja kao sorbenta pri dozi od 1% ili biouglja i humusa pri dozi od 5%. Dodatno, primena druga dva imobilizaciona agensa, biouglja i humusa, je takođe dala zadovoljavajuće rezultate. Međutim, neophodna su opsežnija istraživanja ova dva sorbenta naročito u pogledu dugoročnih efekata.

Literatura

1. Perelo, L.W., 2010. Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. *Journal of Hazardous Materials* **177**, 81–89.
2. Nyholm, J.R., Lundberg, C., Andersson, P.L., 2010. Biodegradation kinetics of selected brominated flame retardants in aerobic and anaerobic soil. *Environmental Pollution* **158**, 2235–2240.
3. Hoa Duan, T., Adrian, L., 2013. Enrichment of hexachlorobenzene and 1,3,5- trichlorobenzene transforming bacteria from sediments in Germany and Vietnam, *Biodegradation*, **24**(4):513-520, DOI 10.1007/s10532-012-9607-0
4. Uhlik, O., Strejcek, M., Vondracek, J., Musilova, L., Ridl, J., Lovecka, P., Macek, T., 2014. Bacterial acquisition of hexachlorobenzene-derived carbon in contaminated soil. *Chemosphere* **113**, 141–145.
5. Yan, Z., Song, Z., Li, D., Yuan, Y., Liu, X., Zheng, T., 2015. The effects of initial substrate concentration, C/N ratio, and temperature on solid-state anaerobic digestion from composting rice straw. *Bioresource Technology* **177**, 266–273.
6. Chai, Y., Currie, R.J., Davis, J.W., Wilken, M., Martin, G.D., Fishman, V.N., Ghosh, U., 2012. Effectiveness of Activated Carbon and Biochar in Reducing the Availability of Polychlorinated Dibenzop-dioxins/Dibenzofurans in Soils, *Environmental Science & Technology* **46**, 1035–1043.
7. Abel, S., Nybom, I., Mäenpää, K., Hale, E.S., Cornelissen, G., and Akkanen, J. 2017. Mixing and capping techniques for activated carbon based sediment remediation - efficiency and adverse Effects for *Lumbriculus variegatus*, *Water Research* **114**,104-112
8. Hua, S., Gong, J.-L., Zeng, G.-M., Yao, F.-B., Guo, M., Ou, X.-M., 2017. Remediation of organochlorine pesticides contaminated lake sediment using activated carbon and carbon nanotubes. *Chemosphere* **177**, 65-76. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.02.133>.
9. Kah, M., Sigmund, G., Xiao, F., Hofmann, T., 2017. Sorption of ionizable and ionic organic compounds to biochar, activated carbon and other carbonaceous materials. *Water Research* **124**, 673-692. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.070>.
10. Cho, Y.M., Smithenry, D.W., Ghosh, U., Kennedy, A.J., Millward, R.N., Bridges, T.S., Luthy, R.G., 2007. Field methods for amending marine sediment with activated carbon and assessing treatment effectiveness. *Marine Environmental Research* **64**, 541–555.
11. Cho, Y.M., Ghosh, U., Kennedy, A.J., Grossman, A., Ray, G., Tomaszewski, J.E., Smithenry, D.W., Bridges, T.S., Luthy, R.G., 2009. Field application of activated carbon amendment for in-situ stabilization of polychlorinated biphenyls in marine sediment. *Environmental Science & Technology* **43**, 3815–3823.
12. Cho, Y.M., Werner, D., Choi, Y., Luthy, R.G., 2012. Long-term monitoring and modeling of the mass transfer of polychlorinated biphenyls in sediment following pilot-scale in-situ amendment with activated carbon, *Journal of Contaminant Hydrology* **129–130**, 25–37.
13. Beckingham, B., Ghosh, U. 2011. Field-scale reduction of PCB bioavailability with activated carbon amendment to river sediments. *Environmental Science & Technology* **45**, 10567–10574.
14. Cornelissen, G., Krusa, M.E., Breedveld, G.D., Eek, E., Oen, A.M.P., Arp, H.P.H., Raymond, C., Samuelsson, G., Hedman, J.E., Stokland, O., Gunnarsson, J.S. 2011. Remediation of contaminated marine

sediment using thin-layer capping with activated carbon-a field experiment in Trondheim Harbor, Norway. *Environmental Science & Technology* **45**, 6110–6116.

15. Zimmerman, J.R., Ghosh, U., Millward, R.N., Bridges, T.S., Luthy, R.G., 2004. Addition of carbon sorbents to reduce PCB and PAH bioavailability in marine sediments: physicochemical tests. *Environmental Science & Technology* **38**, 5458–5464.

16. Zimmerman, J.R., Werner, D., Ghosh, U., Millward, R.N., Bridges, T.S., Luthy, R.G., 2005. Effects of dose and particle size on activated carbon treatment to sequester polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments. *Environmental Toxicology and Chemistry* **24**, 1594–1601.

17. Tomaszewski, J.E., Werner, D., Luthy, R.G., 2007. Activated carbon amendment as a treatment for residual DDT in sediment from a superfund site in San Francisco Bay, Richmond California, USA. *Environmental Toxicology and Chemistry* **26**, 2143–2150.

18. Choi, Y., Cho, Y.M., Gala, W.R., Luthy, R.G., 2013. Measurement and modeling of activated carbon performance for the sequestration of parent-and alkylated-polycyclic aromatic hydrocarbons in petroleum-impacted sediments. *Environmental Science & Technology* **47**, 1024–1032.

19. Choi, Y., Cho, Y.M., Luthy, R.G., 2014. In situ sequestration of hydrophobic organic contaminants in sediments under stagnant contact with activated carbon. 1. Column studies. *Environmental Science & Technology* **48**, 1835–1842.

20. Tričković, J. 2009. Primena sorpcionih parametara odabranih hidrofobnih organskih polutanata na organskoj materiji sedimenta za procenu njihove dostupnosti u sistemima sediment-voda, Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Departman za hemiju, biohemiju i zaštitu životne sredine

21. Sl. glasnik RS, br. 24/2014, 2014. Uredba o graničnim vrednostima prioriternih i prioriternih hazardnih supstanci koje zagađuju površinske vode i rokovima za njihovo dostizanje

22. <https://archive.epa.gov/epawaste/hazard/wastemin/web/html/priority.html>

23. Cabral, J.R., Shubik, P., Mollner, T., Raitano, F., 1977. Carcinogenic activity of hexachlorobenzene in hamsters. *Nature* **269**, 510–511.

24. Cooper, M.T., Porter, T.D., 2000. Mutagenicity of nitrosamines in methyltransferase-deficient strains of *Salmonella typhimurium* coexpressing human cytochrome P450 2E1 and reductase. *Mutation Research* **454**, 45–52.

25. Tabata, A., Kashiwada, S., Ohnishi, Y., Ishikawa, H., Miyamoto, N., Itoh, M., Magara, Y., 2001. Estrogenic influences of estradiol-17 β , p-nonylphenol and bis-phenol-A on Japanese Medaka (*Oryzias latipes*) at detected environmental concentrations. *Water Science and Technology* **43**, 109–116.

26. Gregoraszcuk, E., Ptak, A., Karpeta, A., Fiedor, E., Wróbel, A., Milewicz, T., Falandysz, J., 2012. Hexachlorobenzene and pentachlorobenzene accumulation, metabolism and effect on steroid secretion and on CYP11A1 and CYP19 expression in cultured human placental tissue. *Reprod Toxicol* **43**, 102–110.

27. Croom, E.L., Shafer, T.J., Evans, M.V., Mundy, W.R., Eklund, C.R., Johnstone, A.F., Mack, C.M., Pegram, R.A., 2015. Improving in vitro to in vivo extrapolation by incorporating toxicokinetic measurements: a case study of lindane-induced neurotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* **283**, 9–19.

28. Jambor, T., Greifova, H., Kovacik, A., Kovacikova, E., Tvrda, E., Forgacs, Z., Massanyi, P., Lukac, N., 2018. Parallel. Effect of 4-octylphenol and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) alters steroidogenesis, cell viability and ROS production in mice Leydig cells. *Chemosphere*, **199**, 747–754.

29. SRPS EN 12879:2007 Karakterizacija mulja - Određivanje gubitka žarenjem suve mase

30. Spasojević, J., Maletić, S., Rončević, S., Grgić, M., Krčmar, D., Varga, N., Dalmacija, B., 2018. The role of organic matter and clay content in sediments for bioavailability of pyrene. *Water Science and Technology* **77**, 439–447.

31. Spasojević, J.M., Maletić, S.P., Rončević, S.D., Radnović, D. V., Čučak, D.I., Tričković, J.S., Dalmacija, B.D., 2015. Using chemical desorption of PAHs from sediment to model biodegradation during bioavailability assessment. *Journal of Hazardous Materials* **283**, 60–69.

32. Nishino, S.F., Belcher, L.A., 1992. Chlorobenzene Degradation by Bacteria Isolated from Contaminated Groundwater. *Applied and Environmental Microbiology* **58**(5), 1719–1726.

33. Turunen, L.P., Geyer, R., Wenderoth, D.F., Schlosser, D., 2004. Chlorobenzene biodegradation under consecutive aerobic – anaerobic conditions. *FEMS Microbiology Ecology* **49**, 109–120.
34. Takagi, K., Iwasaki, A., Kamei, I., Satsuma, K., Yoshioka, Y., Harada, N., 2009. Aerobic Mineralization of Hexachlorobenzene by Newly Isolated Pentachloronitrobenzene-Degrading *Nocardioides* sp. Strain PD653. *Applied and Environmental Microbiology* **75**(13), 4452–4458.
35. Brehm, M., Schu, G., Adrian, L., 2015. Anaerobic Microbial Transformation of Halogenated Aromatics and Fate Prediction Using Electron Density Modeling. *Environmental Science & Technology* **49**(10), 6018–6028.
36. Jiang, L., Wang, Q., Liu, H., Yao, J., 2015. Influence of Degradation Behavior of Coexisting on the Anaerobic Reductive Dechlorination of Hexachlorobenzene in Dye Plant Contaminated Soil. *Water Air and Soil Pollution* **226**(9), 1-9.
37. Ito, K., Takagi, K., Iwasaki, A., Tanaka, N., Kanesaki, Y., Martin-Laurent, F., Igimi, S., 2017. Identification of the HCB Gene Operon Involved in Catalyzing Aerobic Hexachlorobenzene Dechlorination in *Nocardioides* sp. Strain PD653. *Appl. Environ. Microbiol.* **83**, 1–18.
38. Phillips, T.M., Seech, A.G., Lee, H., Trevors, J.T., 2005. Biodegradation of hexachlorocyclohexane (HCH) by microorganisms. *Biodegradation* **16**, 363–392.
39. Elcey, C.D., Kunhi, A.A.M., 2010. Substantially Enhanced Degradation of Hexachlorocyclohexane Isomers by a Microbial Consortium on Acclimation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 1046–1054.
40. Lourdes, M. De, William, C., Peralba, C., 2003. Biodegradation of the herbicide trifluralin by bacteria isolated from soil *FEMS Microbiology Ecology* **43**, 191-204.
41. Anon, 2009. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance penoxsulam, EFSA Scientific Report.
42. Zheng, Z., Zhang, T., 2012. Characterization, Modes of Action and Effects of Trifluralin: A Review, in: *Herbicides - Current Research and Case Studies in Use Classification*. Intech, 489–514.
43. Gabriel, F.L.P., Heidlberger, A., Rentsch, D., Giger, W., Guenther, K., Kohler, H.E., 2005. A Novel Metabolic Pathway for Degradation of 4-Nonylphenol Environmental Contaminants by *Sphingomonas xenophaga* Bayram. *Journal of Biological Chemistry* **280**, 15526–15533.
44. Corvini, P.F.X., Schäffer, A., Schlosser, D., 2006. Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols—our evolving view. *Applied Microbiology and Biotechnology* **72**, 223–243.
45. Shibata, A., Inoue, Y., Katayama, A., 2006. Aerobic and anaerobic biodegradation of phenol derivatives in various paddy soils. *Science of the Total Environment* **367**, 979–987.
46. Quintero, J.C., Moreira, M.T., Feijoo, G., Lema, J.M., 2005. Anaerobic degradation of hexachlorocyclohexane isomers in liquid and soil slurry systems. *Chemosphere* **61**, 528–536.
47. Quintero, J.C., Moreira, M.T., Lema, J.M., Feijoo, G., 2006. An anaerobic bioreactor allows the efficient degradation of HCH isomers in soil slurry. *Chemosphere* **63**, 1005–1013.
48. Mc Farland, M.J., Beck, M., Harper, S., Deshmuck, K., 1996. Anoxic treatment of trifluralin-contaminated soil. *Journal of Hazardous Material* **50**(2-3), 129-141.
49. Morillo, E., Villaverde, J., 2017. Advanced technologies for the remediation of pesticide-contaminated soils. *Science of the Total Environment* **586**, 576-597. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.020>.
50. Josko, I., Oleszczuk, P., Pranagal, J., Lehmann, J., Xing, B., Cornelissen, G., 2013. Effect of biochars, activated carbon and multiwalled carbon nanotubes on phytotoxicity of sediment contaminated by inorganic and organic pollutants. *Ecological Engineering* **60**, 50-59.
51. Zhang, N., Yang, Y., Tao, S., Liu, Y., Shi, K.L., 2011. Sequestration of organochlorine pesticides in soils of distinct organic carbon content. *Environmental Pollution* **159**, 700-705.
52. Ahmad, M., Rajapaksha, A.U., Lim, J.E., Zhang, M., Bolan, N., Mohan, D., Vithanage, M., Lee, S.S., Ok, Y.S., 2014. Biochar as a sorbent for contaminant management in soil and water: a review. *Chemosphere* **99**, 19–33. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.10.071>.
53. Cao, X., Ma, L., Liang, Y., Gao, B., Harris W., 2011. Simultaneous Immobilization of Lead and Atrazine in Contaminated Soils Using Dairy-Manure Biochar. *Environmental Science & Technology* **45**(11), 4884-4889

54. Qiu, Y., Zheng, Z., Zhou, Z., Sheng, G.D., 2009. Effectiveness and mechanisms of dye adsorption on a straw-based biochar. *Bioresource Technology* **100**, 5348–5351.
55. Xu, R.K., Xiao, S.C., Yuan, J.H., Zhao, A.Z., 2011. Adsorption of methyl violet from aqueous solutions by the biochars derived from crop residues. *Bioresource Technology* **102**, 10293–10298.
56. Sun, K., Jin, J., Keiluweit, M., Kleber, M., Wang, Z., Pan, Z., Xing, B., 2012. Polar and aliphatic domains regulate sorption of phthalic acid esters (PAEs) to biochars. *Bioresource Technology* **118**, 120–127.
57. Teixido, M., Pignatello, J.J., Beltran, J.L., Granados, M., Peccia, J., 2011. Speciation of the ionizable antibiotic sulfamethazine on black carbon (biochar). *Environmental Science & Technology* **45**, 10020–10027.
58. Safaei Khorram, M., Zhang, Q., Lin, D., Zheng, Y., Fang, H., Yu, Y., 2016. Biochar: A review of its impact on pesticide behavior in soil environments and its potential applications. *Journal of environmental Sciences*, **44**, 269-279.

ISPITIVANJE UTICAJA STARENJA NA IZLUŽIVANJE METALA IZ STABILIZOVANIH SMEŠA SEDIMENTA SA OL-nZVI I ML-nZVI

dr Nataša Slijepčević¹, dr Dragana Tomašević Pilipović, dr Đurđa Kerkez, dr Dunja Rađenović, dr Nataša Duduković, dr Dejan Krčmar, dr Miloš Dubovina

¹Univerzitet u Novom Sadu, Prirodno-matematički fakultet, Trg Dositeja Obradovića 3,
E mail: natasa.slijepcevic@dh.uns.ac.rs

Izvod

U ovom radu je odabran sediment Velikog bačkog kanala, koji je zagađen teškim metalima. Primena stabilizacije, kao tehnike remedijacije, u cilju imobilizacije teških metala iz kontaminiranog rečnog sedimenta se pokazala kao veoma efikasna. Stabilizacija podrazumeva tehniku dodavanja aditiva/imobilizacionih agenasa u cilju smanjivanja izluživanja teških metala iz kontaminiranog sedimenta. U toku 2014. godine za potrebe doktorske disertacije pomenuti sediment Velikog bačkog kanala je stabilizovan dodatkom nanomaterijala, tj. nano nula valentnog gvožđa. Nanomaterijali su produkovani zelenom sintezom pomoću ekstrakta lišća hrasta (eng. *Oak Leaf- Nano Zero Valent Iron*; OL-nZVI) i crnog duda (eng. *Mulberry Leaf- Nano Zero Valent Iron*; ML-nZVI). Predmet istraživanja bio je ispitivanje efikasnosti procesa stabilizacije nakon dugogodišnjeg starenja smeša (nakon šest godina) sedimenta i nanomaterijala. Efikasnost stabilizacije nakon dugogodišnjeg perioda pokazana je praćenjem izluživanja teških metala primenom različitih testova izluživanja: dinamički test DIN 3841-4 S4, Toxicity Characteristic Leaching Procedure-TCLP i California Waste Extraction-WET test. Na osnovu rezultata primenjenih testova izluživanja, pomenute smeše su se pokazale kao neopasan otpad, s obzirom na dobijene vrednosti koje su bile ispod propisanih graničnih vrednosti.

Ključne reči: sediment, nano nula valento gvožđe, teški metali

Uvod

Zagađeni sediment metalima ima direktan uticaj na faunu dna i kao takav predstavlja ekološki problem svetskih razmera usled negativnih ekoloških efekata metala na životnu sredinu i ljude kroz lanac ishrane, putem vode ili direktnog kontakta. Pored ekoloških posledica, zagađenja sedimenta mogu da imaju i ozbiljne posledice na transport, turizam i industriju.

Međutim nauka kako kod nas tako i u svetu, u okviru naučnih projekata se bavi problematikom zagađenog sedimenta i istražuje mnoge inovativne metode remedijacije u cilju zaštite životne sredine. Kao jedna od tih metoda u svojoj početnoj fazi jeste nanotehnologija koja se pokazala uspešnom u remedijaciji voda, sedimenata i zemljišta. U razvoju "zelenih" nanotehnologija svoju primenu u remedijaciji životne sredine pronalazi zelenom sintezom produkovano nano nula valentno gvožđe (Fe^0), u ovom slučaju dobijeno iz ekstrakta lišća hrasta i crnog duda. [1]. Aktivni agensi u ovim prirodnim materijalima smatraju se polifenoli. "Zelena" sinteza ima prednost u odnosu na konvencionalne metode zbog jednostavnosti, niske cene, produkcije stabilnijih materijala i smanjenog negativnog uticaja na životnu sredinu [2].

Testovi izluživanja se upotrebljavaju širom sveta da bi se odredila koncentracija kontaminanata koji su prisutni u stabilizovanom otpadu i njihova verovatna mobilnost. Krajnji cilj svakog testa izluživanja je mogućnost procene opcija remedijacije i uopšte mogućnosti remedijacije u cilju zadovoljenja zakonskih mera [3].

Cilj ovog rada je bio da se ispita uticaj starenja i sazrevanja na smeše (nakon šest godina) sedimenta i nanomaterijala sintetisanih pomoću ekstrakta lišća hrasta i crnog duda. Efikasnost stabilizacije nakon dugogodišnjeg perioda pokazana je praćenjem izluživanja teških metala primenom različitih testova izluživanja (DIN 3841-4, TCLP, WET).

Eksperimentalni deo

Veliki bački kanal prostire se od Bezdana na Dunavu do Bečeja na Tisi u dužini od 123 km (kada je iskopan). Ubrzana industrijalizacija uz nebrigu za prečišćavanje industrijskih i komunalnih otpadnih voda basena Vrbas-Kula-Crvenka tokom druge polovine XX veka pretvorila je Veliki bački kanal u kolektor otpadnih voda, te je danas jedan od najzagađenijih vodotoka u Srbiji. Taloženje sedimenta i zagađenje prouzrokovalo je da je kanal danas suviše plitak za rečna plovila i brodove, opasan je za kupanje, a ujedno se i poboljšavaju uslovi za bujanje rastinja. Zbog svega navedenog je neophodno primeniti određene tehnike remedijacije ovako zagađenog sedimenta. Priprema OL-nZVI odnosno ML-nZVI izvršena je prema proceduri [1] koji su ispitivali optimalno vreme i temperaturu za pripremu ekstrakta lišća hrasta i došli su do zaključka da se na ovaj način dobija ekstrakt sa najvišim antioksidativnim kapacitetom.

Priprema smeša:

Sediment, je tokom 2014. godine najpre sušen na vazduhu, a zatim na 105°C do konstantne mase. Nakon toga su napravljene smeše sedimenta sa 5% i 10% maseno OL-nZVI odnosno ML-nZVI. Smeše su dalje pripremljene prema ASTM D1557-00 proceduri [4]. Nakon dugogodišnjeg perioda sazrevanja i strarenja smeše su podvrgnute testovima izluživanja u jednom koraku DIN [5], TCLP [6] i WET [7] a, takođe u svim smešama je analiziran i pseudo-ukupni sadržaj metala. Pseudo-ukupni sadržaj metala određen je u uzorcima digestiranim po metodi EPA 3051a mikrotalasnom digestijom [8] (Milestone, star E) zatim su uzorci analizirani na atomskom apsorpcionom spektrometru (Perkin Elmer AAnalyst™ 700) u skladu sa procedurom EPA 7010.

Rezultati i diskusija

Pseudo-ukupni sadržaj metala u uzorku sedimenta od pre 6 godina prikazan je u tabeli 1. Kvalitet sedimenta je upoređen sa Uredbom o graničnim vrednostima i rokovima za njihovo dostizanje [9].

Tabela 1. Rezultati analize pseudo-ukupnog sadržaja metala Velikog bačkog kanala od pre 6 godina sa klasifikacijom prema srpskoj evaluacionoj šemi

METALI	mg/kg				Klasifikacija po parametru
	Merena vrednost	Korigovana vrednost	Ciljana vrednost	Remedijaciona vrednost	
Hrom (Cr)	145,22	181,53	100	380	1
Nikal (Ni)	79,30	111,02	35	210	3
Bakar (Cu)	381,37	440,04	36	190	4
Cink (Zn)	464,26	575,19	140	720	2
Kadmijum (Cd)	1,87	1,94	0,8	12	1
Olovo (Pb)	60,99	67,33	85	530	0

Klasa 0 – prirodni fon sedimenta, klasa 1 – neznatno zagađen sediment, klasa 2 – umereno zagađenje, klasa 3 – teško zagađen sediment; klasa 4 (4+) – ekstremno zagađen sediment

Prikazani rezultati u tabeli 1 rađeni su 2014. godine za potrebe istraživanja doktorske disertacije sa kojom su poređeni rezultati procene efikasnosti tretmana [10]. Rezultati iz tabele 1 ukazuju da je sediment 4. klase u odnosu na koncentraciju Cu, a 3. klasa u odnosu na koncentraciju Ni. Na osnovu parametra koji je bio u najlošijoj, najvećoj kategoriji, kako to predviđa model, određen je kvalitet sedimenta. Ako se vrši poređenje sa uzorkom sedimenta pre tretmana, pseudo-ukupna koncentracija metala se smanjivala sledećim redosledom: Zn > Cu > Cr > Ni > Pb > Cd. Pseudo-ukupna koncentracija metala u sedimentu se ne može koristiti kao mera njegove toksičnosti i sposobnosti da se bioakumulira, jer različiti sedimenti pokazuju različit stepen biodostupnosti za isti ukupni sadržaj metala. Podaci o ukupnom ili pseudoukupnom sadržaju teških metala ne pružaju jasnu sliku o njihovom mogućem poreklu, niti o načinu njihovog vezivanja za sediment. Svi uzorci tretirani nakon 6 godina pokazuju znatno smanjenje koncentracije bakra i nikla, u odnosu na početni uzorak sedimenta Velikog bačkog kanala, a u skladu sa koncentracijama dobijenim i tokom 2014.godine (Tabela 2).

Tabela 2. Rezultati analize pseudo-ukupnog sadržaja metala smeša sedimenta i nanomaterijla pre 6 godina i posle 6 godina

Smeša (2014)	Bakar (mg/kg)	Nikl (mg/kg)
5% OL-nZVI	144,97	50,53
10% OL-nZVI	152,99	55,53
5% ML-nZVI	145,47	49,51
10% ML-nZVI	143,43	50,37
Smeša (2020)	Bakar (mg/kg)	Nikl (mg/kg)
5% OL-nZVI	138,67	47,70
10% OL-nZVI	150,29	57,23
5% ML-nZVI	147,22	48,11
10% ML-nZVI	140,83	52,37

Na osnovu tabela 3-5 dolazi se do zaključka da su sve smeše zadovoljavale kriterijume regulisane TCLP i WET testom u pogledu koncentracije metala regulisane Pravilnikom o kategorijama, ispitivanju i klasifikaciji otpada [11] i nalaze se ispod graničnih vrednosti propisanih parametrima za ispitivanje toksičnih karakteristika otpada namenjenog odlaganju u Pravilniku o kategorijama, ispitivanju i klasifikaciji otpada, tako da se otpad može okarakterisati kao neopasan na osnovu DIN testa. Prikaz dobijenih rezultata izluživanja metala nakon 6 godina prema standardnom nemačkom testu izluživanja DIN 3841-4 S4 dat je u tabeli 3.

Vrednosti dobijene za koncentraciju bakra su ispod maksimalno dozvoljenih koncentracija prihvatanja otpada kao inertnog pa se može kategorizovati kao inertan. U slučaju koncentracija Ni, sve smeše sedimenta (5% OL-nZVI, 10% OL-nZVI, 5% ML-nZVI i 10% ML-nZVI) prelaze vrednosti za inertan otpad. Prema Pravilniku o kategorijama, ispitivanju i klasifikaciji otpada može se zaključiti da se sve smeše klasifikuju kao neopasan. Dobijene pH vrednosti ukazuju da je sredina neutralna do slabo bazna i nakon dugogodišnjeg starenja smeša, što je u skladu sa procedurom.

Na osnovu dobijenih rezultata prikazani u tabeli 4 može se zaključiti da sve smeše nakon 6 godina ispunjavaju kriterijume regulisane TCLP testom. TCLP test se koristi kako bi se izvršila procena da li je stabilizacioni proces efikasan za tretiranje otpada, sa aspekta smanjenja mobilnosti i toksičnosti kontaminanata. Rezultati TCLP testa koriste se za kategorizaciju otpada u pogledu njegovih hazardnih karakteristika, a pored toga se na osnovu dobijenih rezultata procenjuje da li je

otpad pogodan za deponovanje. Vrednosti dobijene za pH nakon perioda mućkanja uzoraka svih smeša sedimenta i nanomaterijala pokazuju slabo kiselu do neutralnu sredinu.

Tabela 3. Izluživanje metala nakon 6 godina prema DIN 3841-4 S⁴ testu

Smeše	pH	[mg/kg]	
		Cu	Ni
5 % OL-nZVI	6,80	0,69	0,66
10 % OL-nZVI	6,22	0,48	1,10
5 % ML-nZVI	6,74	0,50	0,44
10 % ML-nZVI	6,56	1,09	1,14
Vrednosti LAGA	7,0-12,5	2	1
Z2*			
Inertan		2	0,4
Neopasan		50	10
Opasan		100	40
A*		2	0,4
B*	≥6	50-100	10-40

* **Z2** gornja preporučljiva vrednost korišćenja, **A** maksimalno dozvoljena koncentracija prihvatanja otpada kao inertnog, L/S=10 (l/kg); **B** maksimalno dozvoljena koncentracija prihvatanja otpada kao neopasnog, L/S=10 (l/kg) (LAGA, 1996; "Sl. Glasnik RS", br. 56/2010)

Tabela 4. Izluživanje metala nakon 6 godina prema TCLP testu

Smeše	pH	[mg/l]	
		Cu	Ni
5 % OL-nZVI	5,85	0,06	0,06
10 % OL-nZVI	6,35	0,09	0,09
5 % ML-nZVI	6,5	0,05	0,15
10 % ML-nZVI	6,22	0,11	0,10
Granična vrednost*		25	20

*Granične vrednosti za metale regulisane Pravilnikom o kategorijama, ispitivanju i klasifikaciji otpada ("Sl. glasnik RS", br. 56/2010)

Koncentracije metala dobijene na osnovu WET testa izluživanja prikazane su u tabeli 5, gde su pomenute koncentracije ispod graničnih vrednosti propisanih regulativom [11]. Sve smeše možemo smatrati i nakon perioda od šest godina neopasnim otpadom, tj. tokom perioda starenja smeša sedimenta i nanomaterijala nije došlo do ponovnog izluživanja teških metala. Na osnovu dobijenih pHvrednosti sredina je bila neutralna do blago kisela.

Tabela 5. Izluživanje metala nakon 6 godina prema WET testu

Smeše	pH	[mg/l]	
		Cu	Ni
5 % OL-nZVI	5,87	1,20	4,12
10 % OL-nZVI	5,62	1,21	4,12
5 % ML-nZVI	6,6	1,38	4,10
10 % ML-nZVI	6,42	1,17	4,54
Granična vrednost*		25	20

*Granične vrednosti za metale regulisane Pravilnikom o kategorijama, ispitivanju i klasifikaciji otpada ("Sl. glasnik RS", br. 56/2010)

Visok afinitet za helatiranje metala citratnog jona u ekstrakcionom agensu primenjivanog u WET testu može objasniti više koncentracije Cu i Ni ekstrahovane WET testom u odnosu na TCLP test [7].

U slučaju metala sa većim redukcionim potencijalom od nanomaterijala, kao što su Cu i Ni mehanizam uklanjanja je opisan kao redukcija posle adsorpcionog procesa, koji je glavni mehanizam u kiselijim uslovima sredine (pH 4,0) [12]. Ako se pH vrednost povećava (pH 6,0), tada se generiše visoko porozni sloj oksida i hidroksida gvožđa, poboljšavajući proces difuzije elemenata prema nZVI jezgru i tako poboljšava sorpcioni kapacitet nZVI čestice [12]., što je u skladu sa dobijenim rezultatima, gde se metali i nakon perioda od šest godina starenja smeša nisu ponovno izlužili iz istih.

Zaključak

Na osnovu prikazanih rezultata možemo zaključiti da su se OL-nZVI i ML-nZVI pokazali kao veoma efikasani i uspešni imobilizacioni agensi prilikom tretmana kontaminiranog rečnog sedimenta. Pored toga, male doze nanomaterijala korišćene u ovom istraživanju su ekonomski korisne, jer to može opravdati primenu već skupih procedura remedijacije, posebno kada se radi o tretiranju materijala koji sadrži smešu zagađujućih materija. Iz istraživanja koje je prikazano u radu možemo zaključiti da tehnika stabilizacije sa nZVI daje dobre rezultate prilikom imobilizacije metala i da nije došlo do izluživanja metala nakon 6 godina, međutim porastom udela imobilizacionih agenasa smanjuje se njihov afinitet prema mineralima a samim tim se povećava njihova dostupnost.

Zahvalnica: Istraživanja je finansiralo Ministarstvo prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (Ev.br. 451-03-9/2021-14/ 200125)

Literatura

- [1] Machado, S., Pinto, S.L., Grosso, J.P., Nouws, H.P.A., Albergaria, J.T., Delerue- Matos C. (2013). Green production of zero-valent iron nanoparticles using tree leaf extracts. *Science of the Total Environment* 445-446, 1-8.
- [2] Poguberović, S., Krčmar, D., Maletić, S., Konya, Z., Tomašević Pilipović, D., Kerkez, Đ., Rončević, S. (2016). Removal of As(III) and Cr(VI) from aqueous solutions using “green”zero-valent iron nanoparticles produced by oak, mulberry and cherry leaf extracts. *Ecological Engineering* 90, 42-49
- [3] Bone, B.D., Barnard, L.H., Boardman, D.I., Carey, P.J., Hills, C.D., Jones, H.M., MacLeod, C.L. and Tryer, M. (2004). Review of scientific literature on the use of stabilisation/solidification for treatment of contaminated soil, solid waste and sludges, Science Report, Environment Agency, Bristol.
- [4] ASTM D1557-00 Standard test method for laboratory compaction characteristics of soil using modified effort American Society for Testing Materials. Annual book of ASTM standards: ASTM D1557-91, vol 4.08. ASTM, Philadelphia
- [5] DIN 38414-4, 1984, Teil 4: Schlamm und Sedimente, Gruppe S., Bestimmung der Eluierbarkeit mit Wasser S4, Beuth Verlag, Berlin.
- [6] USEPA. Toxicity characteristic leaching procedure, method 1311, 2002. www.EPA.gov/SW-846/1311.pdf.
- [7]. Townsend, T., Jang, Young-Chul and Tolaymat, T., (2003). A Guide to the Use of Leaching Tests in Solid Waste Management Decision Making, The Florida Center for Solid and Hazardous Waste Management, University of Florida.
- [8] USEPA Method 3051a. (2007). Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and, Revision 1

- [9] Službeni glasnik RS, 50, 2012, Uredba o graničnim vrednostima zagađujućih materija u površinskim i podzemnim vodama i sedimentu i rokovima za njihovo dostizanje, str. 553.
- [10] Slijepčević, N., (2020), Potencijal primene stabilisanog i „zelenom” sintezom produkovanog nano gvožđa (0) za remedijaciju sedimenta kontaminiranog metalima. Prirodno-matematički fakultet, Novi Sad: Doktorska disertacija.
- [11] Službeni glasnik RS, 56, 2010, Pravilnik o kategorijama, ispitivanju i klasifikaciji otpada, str 256.
- [12] Arancibia-Miranda, N., Baltazar, S.E., García, A., Romero, A.H., Rubio, M.A., Altbir, D. (2014). Lead removal by nano-scale zero valent iron: Surface analysis and pH effect. Materials Research Bulletin 59, 341-348

ISKORIŠĆENJE SIROVOG GLICEROLA IZ PROIZVODNJE BIODIZELA U BIOTEHNOLOŠKOJ PROIZVODNJI AGENASA BIOLOŠKE KONTROLE

Ivana Pajčin¹, Jovana Grahovac¹, Vanja Vlajkov¹, Jelena Dodić¹, Aleksandar Jokić¹, Zorana Rončević¹, Mila Grahovac²

¹Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1, 21000 Novi Sad, Srbija, paj@tf.uns.ac.rs

²Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad, Srbija

Izvod

Proizvodnja biodizela iz ulja i masti biljnog i životinjskog porekla, kao obnovljivih sirovina, beleži značajan porast u prethodnoj deceniji na globalnom nivou. Međutim, osnovnu prepreku ekspanziji industrije biodizela predstavlja generisanje velikih količina sirovog glicerola kao osnovnog nusproizvoda u kome su sadržane sve nečistoće iz procesa proizvodnje biodizela. Zbog velike količine nečistoća odlaganje sirovog glicerola predstavlja problem sa aspekta zaštite životne sredine, a proces njegovog prečišćavanja je skup i neisplativ u poređenju sa cenom hemijski sintetisanog glicerola kao komercijalne hemikalije široke primene. Jedan od načina valorizacije sirovog glicerola predstavlja njegova primena kao izvora ugljenika u procesima mikrobiološke konverzije u proizvode sa dodatom vrednošću. U ovom istraživanju sirovi glicerol iz proizvodnje biodizela iskorišćen je za proizvodnju agenasa biološke kontrole na bazi proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis*, koji su primenjeni za suzbijanje fitopatogena *Xanthomonas campestris*, izazivača crne truleži kupusnjača. Uzorci kultivacione tečnosti dobijeni kultivacijom proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* primenom hranjive podloge na bazi sirovog glicerola pokazuju maksimalne prečnike zona inhibicije od 34,11 mm protiv testiranog fitopatogenog izolata. Stoga rezultati ovog istraživanja ukazuju na potencijal primene sirovog glicerola kao izvora ugljenika u mikrobiološkoj konverziji usmerenoj ka proizvodnji biopesticida i predstavljaju osnovu za optimizaciju uslova i uvećanje razmera ovog biotehnološkog procesa.

Ključne reči: *Bacillus velezensis*, *Xanthomonas campestris*, crna trulež, antimikrobna aktivnost, biopesticidi, Vulfove boce

UVOD

Primena fosilnih goriva u svim granama industrije i saobraćaja, kao i za proizvodnju električne i toplotne energije u domaćinstvima i javnim objektima već duži vremenski period predstavlja neodrživ sistem, sa jedne strane zbog iscrpljenja rezervi fosilnih goriva, a sa druge strane zbog negativnih uticaja njihove primene na životnu sredinu i zdravlje ljudi. Zbog toga se kao alternativa javlja proizvodnja i primena biogoriva, koja se uglavnom dobijaju iz prirodnih sirovina ili otpadnih materijala [1]. Najzastupljenija biogoriva koja su trenutno u upotrebi su bioetanol, biogas i biodizel. Biodizel može da se koristi kao zamena za dizel gorivo proizvedeno iz nafte u konvencionalnim dizel motorima, a po sastavu predstavlja smešu alkil estara koji nastaju reakcijom transesterifikacije triglicerida alkoholom, pri čemu se kao sporedni proizvod reakcije javlja glicerol u količini od oko 10% (w/w) [2]. Kao izvori triglicerida, odnosno sirovine za proizvodnju biodizela, koriste se različita biljna ulja i masti životinjskog porekla [1]. Najčešće se koriste ulja dobijena ceđenjem različitih uljarica, kao što su, na primer, uljana repica, suncokret ili soja [3], ali je u poslednjih nekoliko godina primetan trend sve veće upotrebe otpadnih ulja i masti,

koja potiču iz procesa pripreme hrane u restoranima ili domaćinstvima, kao sirovine za proizvodnju biodizela. Za reakciju transesterifikacije triglicerida najčešće se koristi metanol zbog svoje niske cene. Osim toga, za odvijanje ove reakcije potrebno je i prisustvo baznog katalizatora (KOH ili NaOH). Prilikom reakcije transesterifikacije takođe može da dođe do nastanka neželjenih proizvoda, pre svega sapuna [4]. Sve ove nečistoće, uključujući neželjene proizvode reakcije transesterifikacije, kao i ostatke sirovine i nečistoće koje potiču iz samih sirovina, zaostaju u sirovom glicerolu kao nusproizvodu koji preostaje u najvećoj količini nakon izdvajanja biodizela [5]. Sadržaj glicerola u sirovom glicerolu kreće se u opsegu 65-85% (w/w) [6]. Zbog velike količine prisutnih nečistoća, jednostavno odlaganje sirovog glicerola u životnu sredinu nije moguće, a postupak njegovog prečišćavanja je skup, kompleksan i ekonomski neisplativ kada se uzme u obzir cena proizvodnje glicerola kao komercijalne hemikalije [7]. Svetsko tržište biodizela se povećava iz godine u godinu, uz procenu da će do 2026. godine dostići proizvodnju od 40,5 milijardi litara biodizela [8]. Rešavanje problema prisutnog viška sirovog glicerola, čije će se količine u budućnosti i dalje povećavati, predstavlja jedan od problema u čije je rešavanje uključena naučna zajednica na globalnom nivou. Jedan od predloga za iskorišćenje sirovog glicerola jeste njegova mikrobiološka konverzija u različite proizvode sa dodatom vrednošću, odnosno njegova primena kao izvora ugljenika - jedne od osnovnih komponenti kultivacionog medijuma. Primena bakterija roda *Bacillus* za mikrobiološku konverziju sirovog glicerola delimično je proučena u oblasti proizvodnje fengicina [9], biosurfaktanata [10], polihidroksibutirata [11] i polihidroksialkanoata [12].

Na osnovu prethodnih istraživanja koja su obuhvatala ispitivanje sposobnosti različitih sojeva roda *Bacillus* da metabolišu sirovi glicerol iz proizvodnje biodizela [13], soj *Bacillus velezensis* odabran je kao pogodan biokatalizator za proizvodnju agenasa biološke kontrole primenom kultivacionog medijuma na bazi sirovog glicerola. Biološka kontrola, odnosno primena mikroorganizama i njihovih metabolita u prevenciji, suzbijanju i kontroli biljnih bolesti [14], predstavlja jedno od novih polja interesovanja naučne javnosti, čiji je cilj redukovanje primene hemijskih sredstava u zaštiti bilja i njihova postepena zamena biološkim preparatima koji ne predstavljaju opasnost za životnu sredinu i zdravlje ljudi. Kao test mikroorganizam u ovom istraživanju odabran je soj *Xanthomonas campestris*, izazivač crne truleži biljaka iz roda kupusnjača [15], uzimajući u obzir nutritivni značaj ovih biljaka za ljudsku ishranu, ali i ekonomsku važnost i veličinu tržišta ovih useva. Stoga je cilj ovog istraživanja bio ispitivanje toka kultivacije proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* u Vulfovim bocama primenom hranljive podloge na bazi sirovog glicerola iz proizvodnje biodizela, sa ciljem proizvodnje biokontrolnih agenasa efikasnih protiv fitopatogena *Xanthomonas campestris*.

EKSPERIMENTALNI DEO

Mikroorganizmi

U ovom istraživanju kao proizvodni mikroorganizam korišćen je soj *Bacillus velezensis* izolovan iz mladog sira, dok je kao test mikroorganizam korišćen fitopatogeni izolat *Xanthomonas campestris* izolovan iz kupusa sa simptomima crne truleži. Oba mikroorganizma čuvaju se na temperaturi 4°C na hranljivim podlogama koje su po sastavu identične hranljivim podlogama za osvežavanje proizvodnog i test mikroorganizma (tabela 1).

Hranljive podloge i uslovi kultivacije

U svakoj fazi biotehnološke proizvodnje primenjuju se hranljive podloge odgovarajućeg sastava i odgovarajući uslovi kultivacije, navedeni u tabeli 1. Sirovi glicerol primenjen kao izvor ugljenika u fazi kultivacije proizvodnog mikroorganizma dobijen je iz proizvodnje biodizela iz otpadnih ulja i masti u kompaniji BIODIZEL CO d.o.o. (Beograd, Srbija). Kultivacija *Bacillus velezensis* vršena

je paralelno u četiri Vulfove boce ukupne zapremine 2 l, dok je potrebna zapremina inokuluma iznosila 10% (v/v) u odnosu na radnu zapreminu hranljive podloge. Prilikom kultivacije proizvodnog mikroorganizma u Vulfovima bocama vršeno je eksterno mešanje na laboratorijskoj tresilici i interna aeracija primenom sterilnog vazduha. Sa ciljem praćenja toka kultivacije proizvodnog mikroorganizma vršeno je uzorkovanje kultivacione tečnosti na svakih 12 časova.

Tabela 1. Hranljive podloge i uslovi kultivacije primenjeni u različitim fazama biotehnoške proizvodnje agenasa biološke kontrole

Faza	Naziv i tip hranljive podloge	Proizvođač/Sastav hranljive podloge	Uslovi kultivacije
Osvežavanje proizvodnog mikroorganizma	Hranljivi agar Sintetička podloga	HiMedia, India	Temperatura 28°C Trajanje 48 h
Osvežavanje test mikroorganizma	YMA (<i>Yeast Maltose Agar</i>) Polusintetička podloga	Glukoza 15 g/l, ekstrakt kvasca 3 g/l, sladni ekstrakt 3 g/l, pepton 5 g/l, agar 20 g/l (pH 7,0±0,2)	Temperatura 26°C Trajanje 48 h
Priprema inokuluma	Hranljivi bujon Sintetička podloga	HiMedia, India	Temperatura 28°C Brzina mešanja 150 o/min Spontana aeracija Trajanje 48 h
Kultivacija proizvodnog mikroorganizma	Podloga za kultivaciju Kompleksna podloga	Sirovi glicerol 16,67 g/l, K ₂ HPO ₄ 5 g/l, MgSO ₄ ·7H ₂ O 0,3 g/l (pH 7,0±0,2)	Temperatura 28°C Brzina mešanja 150 o/min Brzina aeracije 1,15 l/min Trajanje 96 h
Testiranje antimikrobne aktivnosti	YMA (<i>Yeast Maltose Agar</i>) Polusintetička podloga	Glukoza 15 g/l, ekstrakt kvasca 3 g/l, sladni ekstrakt 3 g/l, pepton 5 g/l, agar 20 g/l (pH 7,0±0,2)	Temperatura 26°C Trajanje 72 h

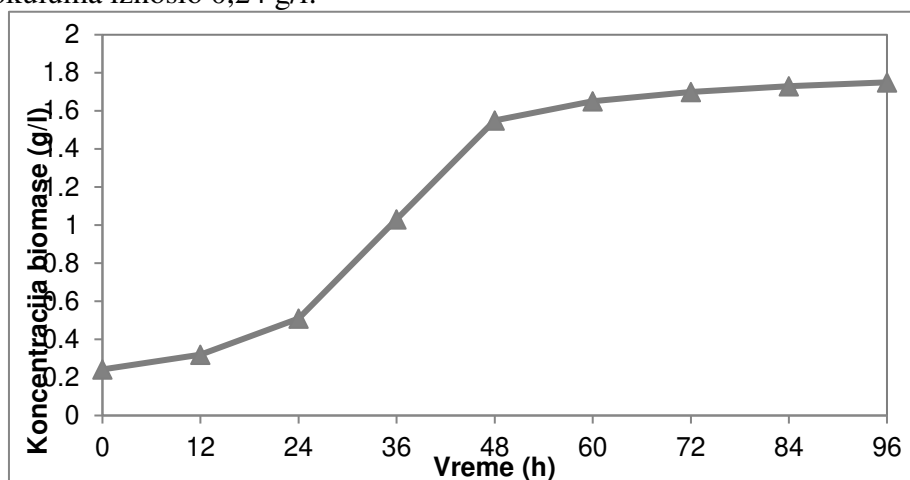
Analitičke metode

Tokom kultivacije proizvodnog mikroorganizma praćeno je nekoliko pokazatelja toka kultivacije. Sadržaj biomase proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* praćen je gravimetrijski, određivanjem sadržaja suve materije biomase izdvojene centrifugiranjem (10000 o/min, 10 min; Rotina 380R, Hettich, Nemačka) iz odgovarajuće zapremine uzorka kultivacione tečnosti (20 ml) uz sušenje do konstantne mase na temperaturi 105°C. Rezidualni sadržaj osnovnih nutrijenata (izvora ugljenika, azota i fosfora) određivan je iz supernatanta uzorka kultivacione tečnosti dobijenog centrifugiranjem (10000 o/min, 10 min; Rotina 380R, Hettich, Nemačka). Sadržaj glicerola određivan je HPLC metodom [16], sadržaj ukupnog azota metodom po Kjeldalu [17], a sadržaj ukupnog fosfora spektrofotometrijskom metodom [18]. Antimikrobna aktivnost uzoraka kultivacione tečnosti protiv test mikroorganizma *Xanthomonas campestris* određena je primenom disk-difuzione metode [19] u tri ponavljanja, pri čemu je zapremina testiranih uzoraka iznosila 10 µl.

REZULTATI I DISKUSIJA

Tokom kultivacije proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* u Vulfovima bocama primenom hranljive podloge na bazi sirovog glicerola praćeni su sledeći pokazatelji toka kultivacije: sadržaj biomase proizvodnog mikroorganizma, rezidualni sadržaj osnovnih nutrijenata (izvora ugljenika, azota i fosfora) i antimikrobna aktivnost uzoraka kultivacione tečnosti protiv test mikroorganizma *Xanthomonas campestris*, izazivača crne truleži biljaka iz porodice kupusnjača. Prikazani rezultati predstavljaju srednje vrednosti iz četiri kultivacije proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* u Vulfovima bocama.

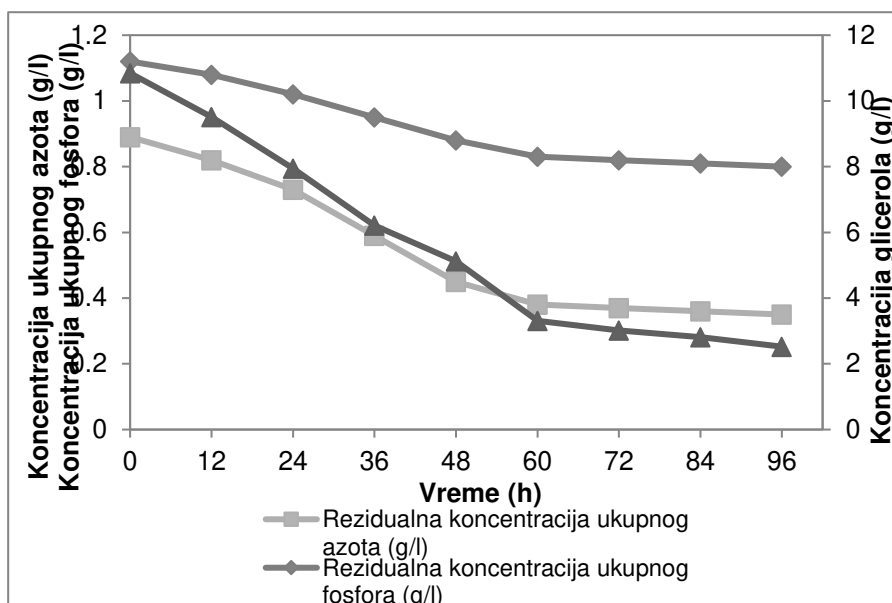
Praćenje toka kultivacije u pogledu sadržaja biomase proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* tokom kultivacije u Vulfovima bocama primenom hranljive podloge na bazi sirovog glicerola prikazano je na slici 1. Prikazani trend promene sadržaja biomase proizvodnog mikroorganizma odgovara tipičnoj krivi rasta bakterija [20], sa lag fazom adaptacije proizvodnog mikroorganizma na uslove kultivacije u periodu do 24. časa kultivacije, nakon čega sledi log faza intenzivnog umnožavanja biomase do 60. časa kultivacije, praćena stacionarnom fazom rasta u kojoj se uočavaju veoma male promene sadržaja biomase do kraja kultivacije. Maksimalna koncentracija biomase proizvodnog mikroorganizma postignuta na kraju kultivacije koja je trajala 96 h iznosila je 1,75 g/l, što ukazuje na povećanje sadržaja biomase proizvodnog mikroorganizma za oko sedam puta u poređenju sa početkom kultivacije, kada je sadržaj biomase nastale u fazi pripreme inokuluma iznosio 0,24 g/l.



Slika 1. Sadržaj biomase proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* tokom kultivacije u Vulfovima bocama

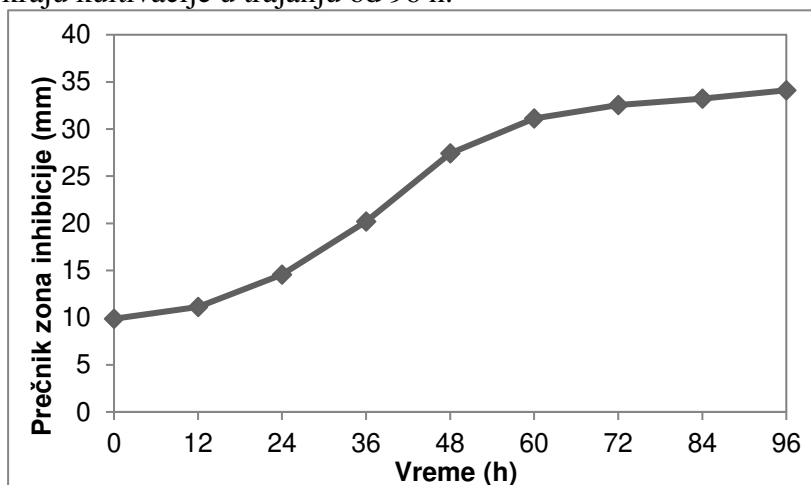
Praćenje rezidualnog sadržaja osnovnih nutrijenata (glicerola, ukupnog azota i ukupnog fosfora) tokom kultivacije proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* u Vulfovima bocama primenom hranljive podloge na bazi sirovog glicerola vršeno je iz supernatanta kultivacione tečnosti dobijenog centrifugiranjem. Iz prikazanih rezultata (slika 2) može se zaključiti da promena rezidualnih koncentracija nutrijenata prati promenu sadržaja biomase proizvodnog mikroorganizma. Može se primetiti intenzivnija potrošnja glicerola, ukupnog azota i ukupnog fosfora u toku prvih 60 časova kultivacije, nakon čega potrošnja nutrijenata postaje manje intenzivna usled nastupanja stacionarne faze rasta. Najveći stepen konverzije uočava se kod glicerola kao izvora ugljenika (76,73%). Kada je u pitanju konverzija azota i fosfora, mogu se primetiti manje vrednosti stepena konverzija ova dva nutrijenta (60,67% i 28,57%, redom), što ukazuje na mogućnost dalje optimizacije sastava hranljive podloge na bazi sirovog glicerola u slučaju izvođenja bioprocasa proizvodnje agenasa biološke kontrole u Vulfovima bocama, kako bi

se smanjile rezidualne koncentracije azota i fosfora i na taj način smanjili troškovi prečišćavanja efluenta ovog bioprocasa.



Slika 2. Rezidualni sadržaj nutrijenata tokom kultivacije proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* u Vulfovima bocama

Antimikrobna aktivnost uzoraka kultivacione tečnosti testirana je na svakih 12 časova tokom kultivacije proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* u Vulfovima bocama primenom hranljive podloge na bazi sirovog glicerola. Kao test mikroorganizam u ovoj fazi istraživanja korišćen je fitopatogeni izolat *Xanthomonas campestris*, izazivač crne truleži kupusnjača. Antimikrobna aktivnost je praćena merenjem prečnika zona inhibicije dobijenih testiranjem uzoraka kultivacione tečnosti proizvodnog mikroorganizma protiv ispitivanog fitopatogenog izolata. Iz prikazanih rezultata (slika 3) može se uočiti da trend promene antimikrobne aktivnosti takođe prati trend promene sadržaja biomase i potrošnje nutrijenata u toku kultivacije u Vulfovima bocama. Maksimalna vrednost prečnika zona inhibicije iznosila je 34,11 mm i postignuta je na kraju kultivacije u trajanju od 96 h.



Slika 3. Antimikrobna aktivnost uzoraka kultivacione tečnosti proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* tokom kultivacije u Vulfovima bocama

Iz prikazanih rezultata takođe se može zaključiti da se bioproces proizvodnje biokontrolnih agenasa na bazi proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* u Vulfovima bocama može skratiti na 60 h umesto 96 h, uzimajući u obzir da se nakon 60. časa kultivacije uočavaju veoma male promene u sadržaju biomase proizvodnog mikroorganizma, ali i sintezi komponenti koje pored biomase proizvodnog mikroorganizma takođe ispoljavaju antimikrobno dejstvo protiv fitopatogena *Xanthomonas campestris*. Na ovaj način postigla bi se značajna ušteda vremena, energije i rada u slučaju uvećanja razmera ovog bioprocasa.

ZAKLJUČAK

Rezultati ovog istraživanja u kome je sirovi glicerol iz proizvodnje biodizela primenjen kao osnovna komponenta hranljive podloge u biotehnoškom procesu proizvodnje agenasa biološke kontrole ukazuju na značajan potencijal primene sirovog glicerola kao izvora ugljenika u ovom tipu mikrobiološke konverzije. Praćenje toka kultivacije proizvodnog mikroorganizma *Bacillus velezensis* u Vulfovima bocama primenom hranljive podloge na bazi sirovog glicerola ukazalo je na zadovoljavajuću antimikrobnu aktivnost proizvedenih biokontrolnih agenasa protiv testiranog fitopatogenog izolata *Xanthomonas campestris*, izazivača crne truleži biljaka iz porodice kupusnjača. Osim toga, uočen je i potencijal za skraćivanje trajanja bioprocasa sa 96 h na 60 h, što predstavlja značajnu uštedu vremena i resursa. Buduća istraživanja u ovoj oblasti biće usmerena na optimizaciju uslova i uvećanje razmera, kao i tehno-ekonomsku analizu ovog bioprocasa sa ciljem razvoja bioprocenog rešenja za komercijalnu primenu u proizvodnji agenasa biološke kontrole za primenu u fitomedicini.

LITERATURA

- [1] Garlapati, V.K., Shankar, U., Budhiraja, A. (2016). Bioconversion technologies of crude glycerol to value added industrial products. *Biotechnology Reports*, 9, 9-14.
- [2] Milazzo, M.F., Spina, F., Vinci, A., Espro, C., Bart, J.C.J. (2013). *Brassica* biodiesels: past, present and future. *Renewable & Sustainable Energy Reviews*, 18, 350–389.
- [3] Zhou, C.H., Beltramini, J.N., Fan, Y.X., Lu, G.Q. (2008). Chemoselective catalytic conversion of glycerol as a biorenewable source to valuable commodity chemicals. *Chemical Society Reviews*, 37, 527–549.
- [4] Tan, H.W., Abdul Aziz, A.R., Aroua, M.K. (2013). Glycerol production and its applications as a raw material: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 118–127.
- [5] Yang, F., Hanna, M.A., Sun, R. (2012). Value-added uses for crude glycerol – a byproduct of biodiesel production. *Biotechnology for Biofuels*, 5(13), 1-10.
- [6] Mu, Y., Tend, H., Zhang, D., Wang, W., Xiu, Z. (2006). Microbial production of 1,3-propanediol by *Klebsiella pneumoniae* using crude glycerol from biodiesel preparations. *Biotechnology Letters*, 28, 1755–1759.
- [7] Ayoub, M., & Abdullah, A.Z. (2012). Critical review on the current scenario and significance of crude glycerol resulting from biodiesel industry towards more sustainable renewable energy industry. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16, 2671–2686.
- [8] OECD/FAO (2017). *OECD-FAO Agricultural Outlook 2017-2026*. Paris, France: OECD Publishing.
- [9] de Faria, A.F., Stéfani, D., Vaz, B.G., Silva, Í.S., Garcia, J.S., Eberlin, M.N., Grossman, M.J., Alves, O.L., Durrant, L.R. (2011). Purification and structural characterization of fengycin homologues produced by *Bacillus subtilis* LSFM-05 grown on raw glycerol. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 38, 863-871.

- [10] de Sousa, M., Dantas, I.T., Felix, A.K.N., de Sant'Ana, H.B., Melo, V.M.M., Gonçalves, L.R.B. (2014). Crude glycerol from biodiesel industry as substrate for biosurfactant production by *Bacillus subtilis* ATCC 6633. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(2), 295-301.
- [11] Moreno, P., Yañez, C., Cardozo, N.S.M., Escalante, H., Combariza, M.Y., Guzman, C. (2015). Influence of nutritional and physicochemical variables on PHB production from raw glycerol obtained from a Colombian biodiesel plant by a wild-type *Bacillus megaterium* strain. *New Biotechnology*, 32(6), 682-689.
- [12] Ribeiro, P.L.L., Silva, G.S., Druzian, J.I. (2016). Evaluation of the effects of crude glycerol on the production and properties of novel polyhydroxyalkanoate copolymers containing high 11-hydroxyoctadecanoate by *Cupriavidus necator* IPT 029 and *Bacillus megaterium* IPT 429. *Polymers for Advanced Technologies*, 27, 542-549.
- [13] Pajčin, I., Rončević, Z., Dodić, S., Jokić, A., Dodić, J., Grahovac, J. (2018). Ispitivanje mogućnosti iskorišćenja sirovog glicerola za proizvodnju antimikrobnih agenasa primenom *Bacillus* spp. VI Memorijalni naučni skup iz zaštite životne sredine „Docent dr Milena Dalmacija“, 29-30. mart 2018., Novi Sad, Srbija, UO-02.
- [14] Pal, K.K., & McSpadden Gardener, B. (2006). Biological control of plant pathogens. *The Plant Health Instructor*.
- [15] Vicente, J.G., Holub, E.B. (2013). *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (cause of black rot of crucifers) in the genomic era is still a worldwide threat to brassica crops. *Molecular Plant Pathology*, 14, 2-18.
- [16] Pajčin, I., Rončević, Z., Dodić, J., Dodić, S., Jokić, A., Grahovac, J. (2018). Production of biocontrol agents using *Bacillus* sp. in a laboratory scale bioreactor. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 22(3), 138-142.
- [17] Herlich, K. (1990). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (15th ed.). Arlington, Virginia, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- [18] Gales, M.E.J., Julian, E.C., Kroner, R.C. (1966). Method for quantitative determination of total phosphorus in water. *Journal of the American Water Works Association*, 58(10), 1363-1368.
- [19] Bauer, A.W.W., Kirby, M.M., Sherris, J.C., Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493-496.
- [20] Sanchez, S., & Demain, A.L. (2002). Metabolic regulation of fermentation processes. *Enzyme and Microbial Technology*, 31(7), 895-906.

VALORIZACIJA OTPADNOG GLICEROLA U BIOTEHNOLOŠKOJ PROIZVODNJI KSANTANA: ODABIR PROIZVODNOG SOJA

Ida Zahović, Zorana Trivunović

Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad, Bul. cara Lazara 1, Novi Sad, Srbija
e-mail adresa: ida.zahovic@tf.uns.ac.rs

Izvod

Visoki troškovi prečišćavanja i degradacija kvaliteta životne sredine razlozi su porasta istraživanja o alternativnim postupcima kojima se sirovi glicerol iz proizvodnje biodizela može prevesti u tržišno vredan proizvod. Obećavajuća alternativna upotreba ovog nusproizvoda je mikroba konverzija u ksantan, komercijalno najznačajniji heteropolisaharid mikrobiološkog porekla. U okviru ovog rada ispitana je mogućnost biosinteze ksantana primenom sojeva *Xanthomonas campestris* izolovanih sa listova paprike sa karakterističnim simptomima bakterioze na medijumu koji sadrži otpadni glicerol generisan u domaćem pogonu za dobijanje biodizela iz otpadnog jestivog ulja. Uspešnost bioprocasa i efikasnost tretmana procenjeni su na osnovu reoloških parametara, količine biosintetisanog ksantana i stepena konverzije najznačajnijih nutrijenata. Dobijeni rezultati ukazuju da je bioproces uspešno izveden svim ispitivanim sojevima, a sadržaj glicerola, ukupnog azota i fosfora po završetku biosinteze redukovano. Visoke vrednosti ispitivanih pokazatelja uspešnosti bioprocasa sugerišu da izolat *Xanthomonas campestris* PFNS PL4 predstavlja najpogodniji proizvodni soj u primenjenim eksperimentalnim uslovima koji se može koristiti za dalja istraživanja. Ovime je potvrđena mogućnost primene otpadnog glicerola iz proizvodnje biodizela u proizvodnji ksantana što predstavlja osnovu za dalja istraživanja.

Ključne reči: zaštita životne sredine, biotehnoško iskorišćenje otpada, otpadni glicerol, *Xanthomonas campestris*, ksantan

Uvod

Sve rasprostranjenija supstitucija tečnih fosilnih goriva obnovljivim izvorima energije, ali i porast cene nafte doveli su do intenziviranja proizvodnje biodizela u brojnim zemljama širom sveta. Intenziviranje proizvodnje biodizela za posledicu ima generisanje značajnih količina efluenta kao što su otpadna voda koja se koristi za ispiranje katalizatora iz estarske faze, neiskorišćeni katalizator, sirovi glicerol, metanol, sapuni, a u malim količinama mogu biti prisutni i peptidi, lecitin, proteini i fosfolipidi [1, 2]. Imajući u vidu da sirovi glicerol, najznačajniji nusproizvod ove industrije, nastaje u količini od 10-20% u odnosu na zapreminu proizvedenog biodizela [3], širom sveta, ali i kod nas generišu se sve značajnije količine pomenutog efluenta čije ispuštanje u prirodne recipijente bez prethodne obrade izaziva brojne ekološke probleme, a tretman pre ispuštanja povećava troškove proizvodnje biogoriva.

Sastav sirovog glicerola zavisi od više faktora zbog čega ga je teško precizno definisati. Glicerol koji se generiše prilikom proizvodnje biodizela obično je čistoće 55-90% i sadrži ostatke poput nekonvertovanog triacilglicerola, metanola, etanola, biodizela, sapuna i drugih materija [4]. Rezultati brojnih istraživanja ukazuju na to da glicerol predstavlja izvor ugljenika za veliki broj mikroorganizama pri čemu nastaju tržišno vredni bioproizvodi među kojima se zbog izvanrednih karakteristika izdvaja ksantan [1, 2, 5, 6].

Ksantan predstavlja netoksičan, biokompatibilan i biorazgradiv polisaharid mikrobiološkog porekla. Zahvaljujući svojim izuzetnim reološkim karakteristikama, ksantan se

koristi u prehrambenoj, farmaceutske, naftno-petrohemije, hemijske i tekstilne industriji [7]. Nastaje metaboličkom aktivnošću bakterija roda *Xanthomonas* na kultivacionom medijumu odgovarajućeg sastava. Industrijski se ksantan proizvodi primenom referentnog soja *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 u optimalnim uslovima, diskontinualno, submerznom aerobnom biosintezom u bioreaktorima zapremine 100 000 l [8].

Iako se glukoza i saharoza već decenijama koriste kao najpogodniji izvori ugljenika u medijumima za biosintezu ksantana porast cene i sve intenzivnija potražnja za pomenutim šećerima ukazuju na neophodnu eksploataciju alternativnih supstrata manje tržišne vrednosti. Naučna istraživanja ukazuju na mogućnost iskorišćenja otpadnog glicerola kao sirovine za dobijanje ksantana zadovoljavajućeg kvaliteta [1, 9]. Međutim, glavni nedostatak primene ovog značajnog otpadnog toka u proizvodnji pomenutog biopolimera ogleda se u ograničenoj sposobnosti referentne proizvodne kulture da metaboliše glicerol kao izvor ugljenika.

Cilj ovog rada je ispitivanje mogućnosti proizvodnje ksantana na medijumu koji sadrži otpadni glicerol iz proizvodnje biodizela kultivacijom različitih sojeva *Xanthomonas campestris* izolovanih sa listova paprike. Uspešnost bioprocasa procenjena je na osnovu količine biosintetisanog ksantana i reoloških parametara, dok je efikasnost tretmana ocenjena pomoću strepena konverzije najznačajnijih nutrijenata.

Ekperimentalni deo

Proizvodni mikroorganizam

Kao proizvodni mikroorganizmi za biosintezu ksantana primenjeni su sojevi *Xanthomonas campestris* PFNS PL2, PFNS PL3 i PFNS PL4 izolovani sa listova paprike sa karakterističnim simptomima bakterioze. Pomenuti proizvodni sojevi se čuvaju na podlozi odgovarajućeg sastava (YMA, HiMedia[®], India) i temperaturi od 4°C uz mesečno presejavanje.

Hranljive podloge i kultivacioni medijum

U okviru ovih istraživanja za osvežavanje i umnožavanje proizvodnih mikroorganizama korišćene su komercijalne podloge YMA (HiMedia[®], India) i YMB (HiMedia[®], India), redosledom. Za biosintezu ksantana primenjen je medijum koji je u svojoj osnovi sadržao otpadni glicerol generisan u domaćem pogonu za dobijanje biodizela iz otpadnog jestivog ulja. Priprema kultivacionog medijuma izvršena je po ugledu na prethodno istraživanje [10].

Proizvodni postupak

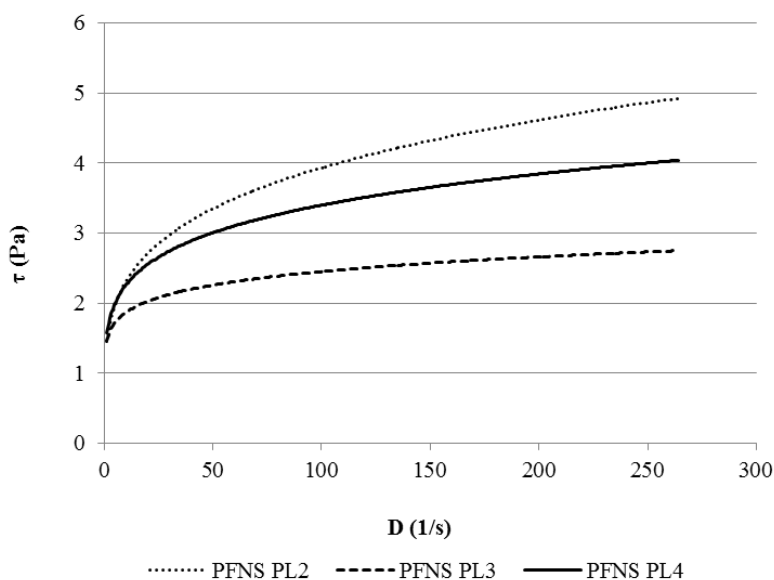
Inokulum za biosintezu ksantana je pripremljen u dve faze: osvežavanje i umnožavanje proizvodnog mikroorganizma prema proceduri opisanoj u prethodnom istraživanju [10]. Pripremljeni inokulum je u proizvodni medijum dodat u količini od 10% (v/v) računato na njegovu zapreminu. Biotehnološki proces proizvodnje ksantana izveden je u Vulfovoj boci ukupne zapremine 2 l (radne zapremine 1,5 l) u trajanju od 168 h, u aerobnim uslovima. Biosinteza se u prvih 48 h odvijala na temperaturi od 25°C, pri protoku vazduha od 1 l/min i brzini mešanja od 150 o/min. Vrednosti navedenih parametara su nakon 48 h povećane na 30°C, 2 l/min i 250 o/min, redosledom. Po završetku bioprocasa kultivaciona tečnost je centrifugirana pri 10000 o/min u trajanju od 15 minuta (Rotina 380 R, Hettich, Germany), a zatim je iz supernatanta ksantan iz kultivacione tečnosti izdvojen taloženjem etanolom (96% v/v) do sadržaja od 60% (v/v) uz dodatak zasićenog rastvora KCl, tako da njegov sadržaj u smeši za taloženje bude 1% (v/v) [10]. Ksantan je iz taložne smeše izdvojen centrifugiranjem pri 4000 o/min (Tehtnica LC-321, Slovenija) u trajanju od 15 minuta. Talog ksantana sušen je na 60°C do postizanja konstantne mase na osnovu koje je izvršeno određivanje prinosa sirovog ksantana.

Analitički postupci

Po završetku biosinteze ksantana uzorci kultivacionih tečnosti su analizirani u pogledu reoloških karakteristika. Reološke karakteristike medijuma određene su na osnovu rezultata merenja rotacionim viskozimetrom "Reotest 2 RV-2" (Medingen GmbH, Deutschland) sa koaksijalnim cilindričnim priborom oznake N uz primenu Ostvald-de-Vaele reološkog modela [11]. Sadržaj glicerola [12], ukupnog azota [13], kao i ukupnog fosfora [14] određivan je neposredno nakon inokulacije i na kraju bioprocasa. Zbog specifičnih zahteva primenjenih metoda pre određivanja sadržaja nutrijenata izvršeno je razdvajanje tečne i čvrste faze kultivacione tečnosti centrifugiranjem u prethodno pomenutim uslovima.

Rezultati i diskusija

U skladu sa definisanim ciljem, u okviru ovih istraživanja ispitana je mogućnost biosinteze ksantana na medijumu čija je osnova otpadni glicerol generisan u domaćem pogonu za proizvodnju biodizela iz otpadnog jestivog ulja kultivacijom različitih sojeva *Xanthomonas campestris* pri optimalnim uslovima. Kako bi se utvrdilo da li je došlo do produkcije ksantana određena su reološka svojstva kultivacionih tečnosti dobijenih u primenjenim eksperimentalnim uslovima. Reološka svojstva su definisana krivama proticanja koje predstavljaju zavisnost napona smicanja od brzine smicanja. Kao što je i očekivano, dobijene krive pokazuju pseudoplastičan tip proticanja (Slika 1) koji je karakterističan za rastvore ksantana [15]. Pseudoplastične karakteristike kultivacionih tečnosti potvrđene su i na osnovu reoloških parametara, odnosno koeficijenta korelacije. Njihove vrednosti prikazane su u Tabeli 1.



Slika 1. Dijagram zavisnosti napona smicanja (τ) kultivacionih tečnosti dobijenih biosintezom ksantana na otpadnom glicerolu primenom različitih sojeva *Xanthomonas campestris* od brzine smicanja (D)

Pseudoplastične karakteristike kultivacionih tečnosti dobijenih biosintezom ksantana na medijumu sa otpadnim glicerolom takođe su potvrđene vrednostima indeksa toka (n) datih u Tabeli 1. Indeks toka predstavlja nivo odstupanja od Njutnovskog ponašanja. Za Njutnovski fluid, indeks toka je jednak 1, veći od 1 za dilatantne i manji od 1 za pseudoplastične fluide [16]. Vrednosti indeksa toka kultivacionih tečnosti analiziranih u ovom istraživanju bile su u intervalu od 0,1183 do 0,2315. Uzimajući u obzir da je faktor konzistencije proporcionalan viskozitetu, različite vrednosti ovog parametra prikazane u Tabeli 1 pokazuju razliku u količini i kvalitetu ksantana proizvedenog u primenjenim eksperimentalnim uslovima primenom različitih izolata

Xanthomonas campestris na medijumu sa otpadnim glicerolom. Kao što se može primetiti, model Ostvald-de-Vaele pokazao je dobro slaganje s eksperimentalnim podacima, jer su koeficijenti određivanja bili veći od 0,90 u svim testovima (Tabela 1). Pored toga, vrednosti prividnog viskoziteta predstavljene u istoj tabeli ukazuju na to da je najveći viskozitet kultivacione tečnosti (29,4222 mPa·s) dobijen primenom soja PFNS PL2, a najmanji prividni viskozitet kultivacione tečnosti (17,5641 mPa·s) pokazivao je medijum dobijen nakon kultivacije soja PFNS PL3.

Tabela 1. Reološki parametri medijuma sa otpadnim glicerolom nakon biosinteze ksantana primenom različitih izolata *Xanthomonas campestris*

Proizvodni mikroorganizam	Faktor konzistencije, K [Pa·s ⁿ]	Indeks toka, n [1]	Koeficijent korelacije, R ²	Prividni viskozitet, η _a [mPa·s]
PFNS PL2	1,3537	0,2315	0,9468	29,4222
PFNS PL3	1,4204	0,1183	0,9438	17,5641
PFNS PL4	1,4982	0,1777	0,9051	24,9065

Pored proizvodnje ksantana, konverzija važnih nutrijenata veoma je značajan pokazatelj uspešnosti bioprocasa. Shodno tome određivan je sadržaj izvora ugljenika, ukupnog azota i fosfora neposredno nakon inokulacije i na kraju bioprocasa. Na osnovu dobijenih rezultata izračunate su ukupne konverzije analiziranih nutrijenata na osnovu čega je procenjena efikasnost tretmana medijuma koji sadrži otpadni glicerol. Dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 2.

Tabela 2. Step konverzije važnih nutrijenata u medijumu sa otpadnim glicerolom nakon biosinteze ksantana primenom različitih izolata *Xanthomonas campestris*

Proizvodni mikroorganizam	Konverzija otpadnog glicerola [%]	Konverzija ukupnog azota [%]	Konverzija ukupnog fosfora [%]
PFNS PL2	53,85	23,78	25,70
PFNS PL3	57,20	33,07	21,77
PFNS PL4	60,38	27,90	31,03

Rezultati predstavljeni u Tabeli 2 ukazuju da je sadržaj glicerola, kao i ukupnog azota i fosfora u medijumu redukovano tokom bioprocasa. Od inicijalnih 20 g/l po završetku kultivacije zaostalo je 7,92 g/l, 9,23 g/l, i 8,03 g/l glicerola čime je ostvaren stepen konverzije izvora ugljenika od 53,85%, 57,20% i 60,38% primenom sojeva PFNS PL2, PFNS PL3 i PFNS PL4, redosledom. Vrednosti stepena konverzije glicerola u ksantan ostvarene u ovom ispitivanju su veće u odnosu na vrednosti ostvarene prilikom kultivacije referentnog soja na medijumu sa otpadnim glicerolom u identičnim eksperimentalnim uslovima [10]. Početni i rezidualni sadržaji ukupnog azota u analiziranom medijumu iznosili su 917,11 mg/l i 698,95 mg/l, 964,03 mg/l i 645,21 mg/l i 946,74 mg/l i 682,63 mg/l primenom sojeva PFNS PL2, PFNS PL3 i PFNS PL4, respektivno. Na ovaj način je ostvaren stepen konverzije ovog nutrijenta od 23,77%, 33,09% i 27,91%, redosledom. Konverzija fosfora ostvarena je u nešto manjem stepenu u odnosu na ostale nutrijente. Početni sadržaj ukupnog fosfora u medijumu iznosio je 655,00 mg/l, 616,18 mg/l i 673,66 mg/l, dok je po završetku kultivacije zaostalo 487,03 mg/l, 482,05 mg/l i 464,58 mg/l ovog nutrijenta primenom sojeva PFNS PL2, PFNS PL3 i PFNS PL4, redosledom. Iz Tabele 2 se može uočiti da je ostvaren stepen konverzije ukupnog fosfora od 25,70%, 21,77% i 31,04% primenom sojeva PFNS PL2, PFNS PL3 i PFNS PL4, redosledom. Iz navedenih rezultata se

može zaključiti da je najveća konverzija glicerola (60,38%) i ukupnog fosfora (31,03%) prilikom biosinteze ksantana na medijumu sa otpadnim glicerolom ostvarena primenom soja PFNS PL4 dok je najveća konverzija ukupnog azota (33,07%) ostvarena primenom soja PFNS PL3 u primenjenim eksperimentalnim uslovima. Kultivacijom izolata vrste *Xanthomonas campestris* na medijumu koji sadrži otpadni glicerol dolazi do smanjenja sadržaja glicerola, azota i fosfora i to u većoj meri u odnosu na biosintezu na istom medijumu u kojoj se kao proizvodni mikroorganizam primenjuje referentni soj *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 [10]. Dobijeni rezultati su od značaja za smanjenje negativnog uticaja na životnu sredinu koje ima odlaganje otpada koji sadrži pomenute nutrijente.

Po završetku bioprocasa ksantan je istaložen i konverzija glicerola u proizvod je određena u cilju utvrđivanja uspešnosti izvedenog bioprocasa. Dobijeni rezultati prikazani su u Tabeli 3. Najveći prinos ksantana u medijumu koji sadrži otpadni glicerol ostvaren je primenom soja PFNS PL4 (8,50 g/l). Rezultati dobijeni u okviru ovih istraživanja pokazuju da sojevi *Xanthomonas campestris* izolovani iz prirodnog okruženja proizvode ksantan u većoj količini nego referentni soj *Xanthomonas campestris* ATCC 13951 na istom medijumu pri identičnim eksperimentalnim uslovima [10].

Tabela 3. Koncentracija ksantana u medijumu sa otpadnim glicerolom nakon biosinteze ksantana primenom različitih izolata *Xanthomonas campestris* i stepen konverzije glicerola u proizvod

Proizvodni mikroorganizam	Koncentracija ksantana, P [g/L]	Konverzija inicijalnog glicerola [%]	Konverzija utrošenog glicerola [%]
PFNS PL2	6,58	32,87	61,05
PFNS PL3	7,22	36,11	63,14
PFNS PL4	8,50	42,50	70,38

Konverzija glicerola u proizvod predstavlja količinu izvora ugljenika koja je konvertovana u ksantan. Prema rezultatima prikazanim u Tabeli 3, konverzija inicijalnog glicerola u željeni metabolit, u primenjenim eksperimentalnim uslovima, bila je u opsegu od 32,87% do 42,50%. S druge strane, konverzija utrošenog glicerola u biopolimer kretala se između 61,05% i 70,38%. Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da vrednost stepena konverzije u velikoj meri zavisi od korišćenih sojeva *Xanthomonas campestris*.

Zaključak

U okviru ovog istraživanja dokazano je uspešno izvođenje biosinteze ksantana na medijumu koji sadrži otpadni glicerol generisan u domaćem pogonu za dobijanje biodizela iz otpadnog jestivog ulja primenom sojeva *Xanthomonas campestris* izolovanih sa listova paprike sa karakterističnim simptomima bakterioze. Kultivacija sojeva PFNS PL 2, PFNS PL3 i PFNS PL4 u preporučenim uslovima rezultovala je odgovarajućom produkcijom ksantana i relativno zadovoljavajućim smanjenjem sadržaja nutrijenata u korišćenom medijumu. Dobijeni rezultati sugerišu da izolat *Xanthomonas campestris* PFNS PL4 predstavlja najpogodniji proizvodni soj u primenjenim eksperimentalnim uslovima koji se može koristiti za razvijanje ekonomski isplative proizvodnje ksantana pri čemu je optimizacija izvođenja bioprocasa neophodna kako bi se povećao prinos biopolimera i efikasnost samog bioprocasa.

Zahvalnica

Ovaj rad rezultat je istraživanja sprovedenih u okviru projekta 451-03-9/2021-14/200134 finansiranog od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije.

Literatura

- [1] Brandão, L.V., Assis, D.J., López, J.A., Espiridião, M.C.A., Echevarria, E.M., Druzian, J.I. (2013). Bioconversion from crude glycerin by *Xanthomonas campestris* 2103: xanthan production and characterization. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 20, 737-746.
- [2] Hejna, A., Kosmela, P., Formela, K., Piszczyk, L., Haponiuk, J. T. (2016). Potential applications of crude glycerol in polymer technology—Current state and perspectives. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 66(C), 449-475.
- [3] Quispe, C.A.G., Coronado, C.J.R., Carvalho, J.J.A. (2013). Glycerol: Production, consumption, prices, characterization and new trends in combustion. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27(C), 475-493.
- [4] Trindade, R.A., Munhoz, A. P., Burket, C.A.V. (2015). Raw Glycerol as an Alternative Carbon Source for Cultivation of Exopolysaccharide-Producing Bacteria. *Journal of Applied Biotechnology*, 3(2), 61-73.
- [5] da Silva, G. P., Mack, M., Contiero, J. (2009). Glycerol: A promising and abundant carbon source for industrial microbiology. *Biotechnology Advances*, 27(1), 30-39.
- [6] Johnson, D.T., & Taconi, K.A. (2007). The glycerin glut: Options for the value-added conversion of crude glycerol resulting from biodiesel production. *Environmental Progress* 26 (4), 338-348.
- [7] Petri, D.F.S. (2015). Xanthan Gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications. *Journal of Applied Polymer Science*, 132 (23), 42035.
- [8] Ozdal, M., Kurbanoglu, E.B. (2018). Valorisation of chicken feathers for xanthan gum production using *Xanthomonas campestris* MO-03. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16, 259–263.
- [9] Bajić, B., Rončević, Z., Dodić, S., Grahovac, J., Dodić, J. (2015). Glycerol as a carbon source for xanthan production by *Xanthomonas campestris* isolates. *Acta Periodica Technologica*, 46, 197-206.
- [10] Zahović, I., Rončević, Z., Dodić, S., Grahovac, J., Dodić, J. (2019). Ispitivanje mogućnosti iskorišćenja otpadnog glicerola u biotehnoškoj proizvodnji ksantana. Knjiga radova, VII Memorijalni naučni skup iz zaštite životne sredine „Docent dr Milena Dalmacija“, Novi Sad, Srbija, UO-04.
- [11] Dodić J., & Grahovac J. (2013). *Industrijska mikrobiologija - praktikum*. Novi Sad, Srbija: Univerzitet u Novom Sadu, Tehnološki fakultet Novi Sad.
- [12] Rončević, Z., Bajić, B., Grahovac, J., Dodić, S., Dodić, J. (2014). Effect of the initial glycerol concentration in the medium on the xanthan biosynthesis. *Acta Periodica Technologica*, 45, 239-246.
- [13] Heirlich, K. (1990). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15th Edition. Arlington, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- [14] Gales, M.E.Jr., Julian, E.C., & Kroner, R.C. (1966). Method for quantitative determination of total phosphorus in water. *Journal of the American Water Works Association*, 58(10), 1363-1368.
- [15] Garcia-Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J.A., Gómez, E. (2000), Xanthan gum: Production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances*, 18(7), 549–579.
- [16] Björn, A., Karlsson, A., Svensson, B.H., Ejlertsson, J., de la Monja, P.S. (2012). Rheological Characterization. INTECH Open Access Publisher.

INTEGRISANI PRISTUP ISTRAŽIVANJU POTENCIJALNO TOKSIČNIH ELEMENATA U SISTEMU ZEMLJIŠTE–BILJKA–VAZDUH U RAZLIČITIM VINOGRADIMA U SRBIJI

Tijana Milićević¹, Dubravka Relić², Mira Aničić Urošević¹, Gordana Jovanović¹,
Aleksandar Popović²

¹*Institut za fiziku u Beogradu, Univerzitet u Beogradu, Pregrevica 118, 11080 Beograd, Srbija*
tijana.milicevic@ipb.ac.rs

²*Univerzitet u Beogradu, Hemijski fakultet, Studentski trg 12-16, 11000 Beograd, Srbija*

Izvod

U ovom radu su kroz šest eksperimenata prikazani rezultati doktorske disertacije „Integrisani pristup istraživanju potencijalno toksičnih elemenata i magnetnih čestica u sistemu zemljište–biljka–vazduh: biodostupnost i biomonitoring” koji doprinose boljem razumevanju ponašanja elementa u sistemu zemljište–biljka–vazduh i reprezentativnijem izboru ekstrakcija u jednom koraku za procenu biodostupnosti potencijalno toksičnih elemenata (PTE) u vinogradima. Na osnovu dobijenih rezultata, CH₃COOH i Na₂EDTA su se pokazale kao pogodna sredstva u proceni mobilnosti elemenata, dok su se rastvori soli CaCl₂, NH₄NO₃ i NaNO₃ i kompleksirajući agens Na₂EDTA pokazali kao najpogodnija ekstrakciona sredstva za procenu biodostupnosti elemenata iz zemljišta. U ovom radu unapređena je postojeća metodologiju primene aktivnog biomonitoringa kvaliteta vazduha korišćenjem mahovina u poljoprivrednoj sredini, u pogledu dužine perioda izlaganja mahovina u vinogradu (2 meseca izlaganja je dovoljno za detektovanje adekvatnog „signala“ akumulacije PTE, dok 6 meseci izlaganja pokriva čitavu vegetacionu sezonu i preporučuje se kao pogodan period izlaganja za komparacijska istraživanja). Procena rizika po životnu sredinu ukazuju na potencijalno zagađenje ispitivanih lokacija (identifikovane su parcele koje su izložene izvorima zagađenja). Merenje magnetnih parametara može biti preporučeno za indikativno pronalaženje intenzivnijeg zagađenja u vinogradima. Procenjen je i rizik po zdravlje ljudi koji rade u vinogradu i po zdravlje konzumenata proizvoda (grožđa i vina).

Ključne reči: zemljište, vinova loza, potencijalno toksični elementi, biodostupnost, aktivni bimonitoring, procena rizika.

Uvod

Praćenje sadržaja potencijalno toksičnih elemenata (PTE) i magnetnih čestica u poljoprivrednom zemljištu predstavlja prvu meru koju je potrebno preduzeti da bi se obezbedila proizvodnja bezbedne hrane, dok je istraživanje mobilnosti i biodostupnosti elemenata veoma značajno u razumevanju njihovog transporta i distribucije u životnoj sredini. Agrohemijske materije koje se široko primenjuju u poljoprivrednoj proizvodnji sadrže razne nečistoće koje mogu da se akumuliraju prvo u zemljištu, zatim da budu usvojene putem korenovog sistema od strane biljaka, a dalje mogu i da imaju štetan uticaj na zdravlje ljudi koji rade u vinogradima ili po zdravlje konzumenata proizvoda. U ovom istraživanju sprovedeno je šest eksperimenata u vinogradima koji su uzgajani na različite načine (ogledno dobro, komercijalni i organski vinograd) sa ciljem da se ispita mobilnost i biodostupnost elemenata u sistemu zemljište–biljka–vazduh i da se proceni zagađenje životne sredine i rizik po zdravlje ljudi (radnika u poljima i konzumenata grožđa i vina) [1]. Glavni ciljevi ovog istraživanja su bili da se:

- proceni koja je od ekstrakcija u jednom koraku najprikladnija za procenu mobilnosti i biodostupnosti i da se bolje razume ponašanje PTE u sistemu zemljište–biljka–vazduh;

- uporedi primena različitih indeksa za procenu uticaja zagađenja po životnu sredinu u različitim vinogradima, koji bi pomogli lakšoj proceni sezonskih uticaja PTE iz životne sredine, kao i njihovog porekla i ponašanja u sistemu zemljište-biljka-vazduh;
- proceni zagađenje vazduha primenom tehnike aktivnog biomonitoringa pomoću mahovina i da se napravi iskorak u metodologiji primene ove tehnike u ambijentu vinograda;
- testiraju listovi vinove loze kao potencijalni biomonitori zagađenja vazduha/životne sredine;
- proceni koji je od ispitivanih vinograda najmanje izložen zagađenju; da se testiraju nedestruktivne, brže i ekonomičnije tehnike (magnetna merenja) za procenu zagađenja PTE u vinogradu;
- proceni zdravstveni rizik za radnike vinogradima i konzumente grožđa (za odrasle i decu) i vina (za odrasle) [1].

Ekperimentalni deo

Za ispitivanje mobilnosti i biodostupnosti elemenata iz zemljišta primenjene su različite ekstrakcije u jednom koraku (dejonizovana H₂O tokom 2 h i 16 h, 0,01 mol L⁻¹ CaCl₂, 1 mol L⁻¹ BaCl₂, 0,1 mol L⁻¹ NH₄NO₃, 0,1 mol L⁻¹ NaNO₃, 0,05 mol L⁻¹ Na₂EDTA, 0,11 mol L⁻¹ CH₃COOH i 0,44 mol L⁻¹ CH₃COOH) koje simuliraju prirodne procese u životnoj sredini i pseudo-ukupna digestija uzoraka. Mobilnost elemenata je ispitivana na osnovu upoređivanja koncentracije svakog od ekstrahovanih elemenata u odnosu na njegov pseudo-ukupni sadržaj u zemljištu. Za ispitivanje biodostupnosti elemenata su uporedo primenjene različite statističke analize (korelacije i multivarijantna analiza) između koncentracija elemenata ekstrahovanih iz zemljišta i koncentracija elemenata izmerenih u različitim delovima vinove loze (kožica, pulpa, seme i list). Listovi vinove loze i transplantirane mahovine su testirani kao biomonitori zagađujućih supstanci u vazduhu u različitim vinogradima. Koncentracije PTE (Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ca, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, S, Si, Sb, Sr, V, Zn) i ERZ (Ce, Dy, Er, Eu, Ga, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sc, Sm, Tb, Tm, Y, Yb) su izmerene u uzorcima zemljišta, delovima vinove loze i mahovinama pomoću indukovano spregnute plazme sa optičkom emisionom spektrometrijom (ICP-OES) i indukovano spregnute plazme sa masenom spektrometrijom (ICP-MS). Magnetni parametri, magnetna osetljivost (magnetic susceptibility – χ) i zaostala magnetizacija (saturation isothermal remanent magnetisation – *SIRM*) uzoraka zemljišta i listova iz vinograda su izmereni specifičnim magnetometrima za merenje magnetne osetljivosti (*MS2 Magnetic Susceptibility System with MS2B type dual-frequency sensor*) i zaostale magnetizacije (*Molspin Minispin magnetometer*).

Na osnovu izmerenih koncentracija PTE u zemljištu i plodu vinove loze, procenjeni su uticaj zagađenja na životnu sredinu (zemljište i vinovu lozu) i rizik po zdravlje ljudi (radnike u vinogradima i konzumente grožđa i vina). Procena zagađenja životne sredine je sprovedena primenom različitih indeksa (za zemljište: *Enrichment Factor – EF*, *Geochemical Index – Igeo*, *Bio-Geochemical Index – BGI*, *Contamination Factor – CF*, *Pollution Load Index – PLI*, *Environmental Risk – Eri*, *RI* i *Bioavailability Risk Assessment Index – BRAI*; za vinovu lozu: *Biological Absorption Coefficient – BAC* i *Ratio factor – RF*; za mahovine: *Limit of Quantification for moss bag technique – LOQT* i *Relative Accumulation Factor – RAF*). Procena rizika po zdravlje ljudi je izračunata korišćenjem formula dostupnih na sajtu Informacionog sistema za procenu rizika (*The Risk Assessment Information System – RAIS*), koje su prilagođene realnim lokalnim uslovima u vinogradu i realnim podacima za lokalno stanovništvo (*Health Risk Assessment Non-carcinogenic Risk –HI*, *Carcinogenic Risk –R*) [1].

Rezultati i diskusija

Eksperiment 1 je sproveden u ogleđnom dobru lociranom u Beogradskom vinogradarskom rejonu, u Gročanskom vinogorju tokom berbe 2014. godine. Primenom različitih ekstrakcionih procedura u jednom koraku (dejonizovana H₂O tokom 2 h i 16 h, CaCl₂, NH₄NO₃, Na₂EDTA, CH₃COOH), procenjena je biodostupnost PTE (makroelemenata i elemenata u tragovima) iz zemljišta do različitih delove vinove loze. U ovom eksperimentu nekonvencionalna ekstrakcija u jednom koraku korišćenjem dejonizovane H₂O tokom 16 h je testirana kao alternativna procedura za procenu biodostupnosti elemenata. Na osnovu rezultata dobijenih primenom klaster analize, biodostupnost elemenata iz zemljišta do semena i pulpe se može proceniti primenom ekstrakcije sa dejonizovane H₂O. Biodostupnost mikroelemenata iz zemljišta do kožice grožđa se može proceniti primenom ekstrakcija sa CH₃COOH, Na₂EDTA, CaCl₂ i NH₄NO₃, ali ekstrakcije u jednom koraku nisu mogle da daju jasnu procenu biodostupnosti elemenata u tragovima od zemljišta do listova zbog dodatnog uticaja depozicije iz vazduha na njihovu površinu. U ovom pilot istraživanju, dejonizovana H₂O tokom 16 h se pokazala kao pogodna procedura za procenu biodostupnosti elemenata u tragovima iz zemljišta. Primenom različitih indeksa (CF, PLI, Igeo, EF i BAC) za procenu zagađenja životne sredine, identifikovane su parcele koje su locirane blizu potencijalnih izvora zagađenja (magistralnog puta, gradske deponije i Instituta Vinča). Na osnovu BAC vrednosti, listovi određenih sorti vinove loze su se pokazali kao bioakumulatori Zn (*Rajnski rizling*, *Italijanski rizling*, *Kaberne sovinjon* i *Kaberne fran*) i Cu (*Rajnski rizling*, *Burgundac* i *Italijanski rizling*) iz zemljišta, dok je kožica sorte *Prokupac* značajno akumulirala Ni iz zemljišta [2].

Eksperimenti 2, 3 i 4 su sprovedeni na uzorcima iz komercijalnog vinograda, lociranog u Šumadijskom vinogradarskom rejonu u Oplenačkom vinogorju, koji su sakupljeni tokom cele vegetacione sezone 2015. godine.

U eksperimentu 2 sprovedeno je istraživanje na većem broju uzoraka (46 uzoraka zemljišta, 22 uzorka listova, 88 uzoraka ploda – po 22 uzorka celog ploda, semena, pulpe i kožice) i procenjivana je biodostupnost elemenata iz zemljišta do kožice, pulpe, semena i lista vinove loze. Uporedo je primenjivano 6 različitih ekstrakcionih sredstava i 8 procedura (dejonizovana H₂O tokom 2 h i 16 h, CaCl₂, NH₄NO₃, NaNO₃, Na₂EDTA, CH₃COOH) za izolovanje lakodostupnih elemenata iz površinskih (0–30 cm) i dubinskih (30–60 cm) slojeva zemljišta, na osnovu čega je ispitivana biodostupnost PTE u sistemu zemljište–različiti delovi vinove loze, uz procenu uticaja zagađenja na životnu sredinu i rizika po zdravlje ljudi (za radnike u vinogradu i konzumente grožđa i vina). Na osnovu uporedne primene korelacione analize i multivarijantne analize, kao najpogodnija ekstrakciona sredstva za procenu biodostupnosti PTE su se izdvojili rastvori slabih soli CaCl₂, NH₄NO₃ i kompleksirajuće sredstvo Na₂EDTA, ali se i destilovana voda, kao pristupačno, jeftino i ekološki prihvatljivo ekstrakciono sredstvo, pokazala kao pogodna za procenu biodostupnosti nekih od ispitivanih elemenata. Na osnovu procene biodostupnosti elemenata iz zemljišta do različitih delova vinove loze, Ba se pokazao kao najviše biodostupan element u sistemu zemljište–vinova loza. Faktor zagađenja (CF) pokazuje da je zemljište u vinogradu umereno zagađeno (1 < CF < 3). Prema izračunatoj BAC, seme vinove loze je pokazalo tendenciju da u većim količinama akumulira Cu, dok se u listu izraženi akumulirao Zn iz zemljišta. Ipak, izračunavanjem BAC vrednosti za svaki od elemenata u analiziranim delovima biljke, procenjeno je da ispitivane sorte vinove loze ne predstavljaju hiperakumulatore elemenata iz zemljišta (metalofite). Na osnovu faktora odnosa (RF) (RF > 1), procenjen je uticaj PTE poreklom iz vazduha na spoljašnje delove vinove loze (kožica i list) koji su direktno izloženi njihovoj depoziciji iz vazduha. Iako je sadržaj nekih toksičnih elemenata u zemljištu bio

visok, procenjen je nizak indeks zdravstvenog rizika za radnike u vinogradu i konzumente grožđa (odrasle i decu) i vina (odrasle) ($HI < 1$; $R \leq 1 \times 10^{-6}$) [3].

U eksperimentu 3 zemljište (194 uzorka) i listovi (80 uzoraka) su sakupljeni od aprila do avgusta sa ciljem da se ispituju vremenske varijacije uticaja PTE u vinogradu. Na osnovu multivarijantne i korelacione analize različitih indeksa za procenu uticaja zagađenja PTE (CF, PLI, BAC, BRAI, Eri, RI), utvrđen je stepen uticaja zagađenja na uzorke tokom čitave vegetacione sezone. Ovi indeksi su ukazali da postoji uticaj koncentracije Cd na zemljište u vinogradu tokom sezone (RI), ali BRAI ukazuje na umereni rizik, što znači da su toksični elementi poput Cd u ovom tipu zemljišta vezani za supstrat i nisu lako dostupni. U ovom vinogradu su primećene veće BAC vrednosti za Al, Cd, Cu, Fe, Ni i V u periodu razvoja lista i za B, Cu i Zn u periodu cvetanja vinove loze. Prisustvo ovih elemenata je verovatno posledica učestale primene agrohemikalija u spomenutim fazama razvoja vinove loze. U fazi šarka (period početka sazrevanja vinove loze), elementi koji su karakteristični za antropogene izvore zagađenja: As, Co, Cr, Mn, Pb i Sb su se najviše akumulirali u listovima, dok su se Ba, Ca, Mg i Sr najviše akumulirali u listovima tokom perioda berbe grožđa što ukazuje na smanjenje tretmana vinove loze agrohemikalijama u toku berbe [4].

U eksperimentu 4, zagađenje vazduha je procenjeno korišćenjem aktivnog biomonitoringa pomoću mahovina koje su bile izložene u vrećicama (transplantirane) u vinogradu. Takođe, koncentracije PTE u listu vinove loze su upoređene sa koncentracijama izmerenim u transplantiranim mahovima kako bi proceni da li listovi vinove loze mogu da ukazuju na zagađenje vazduha. Metodom transplantiranih mahovina u vrećicama (*moss bags technique*), utvrđeno je postojanje povećanih koncentracija PTE, naročito u parceli pored livnice metala. Dvomesecnim izlaganjem mahovina zabeležen je pozitivan „signal“ za većinu izmerenih elemenata. Akumulacija PTE se postepeno povećavala sa produžavanjem perioda izlaganja mahovina sa 2, preko 4 do 6 meseci. Šestomesečnim izlaganjem mahovina obuhvaćene su sve važne faze u razvoju vinove loze, kao i svi periodi tretiranja vinove loze agrohemikalijama tokom sezone, pa se ovaj period izlaganja mahovina može preporučiti za komparativne studije u različitim vinogradima. Iako je faktor obogaćenja (RAF) za *Sphagnum girgensohnii* bio veći za većinu ispitivanih elemenata (osim za Co, Gd, Lu, Ni, Pb, Sc, Tb i Yb) od RAF vrednosti izračunatih za *Hypnum cupressiforme*, obe vrste mahovina su pokazale prostorno-vremenske promene koncentracija, pa je preporučena primena obe vrste mahovina kao pogodnih biomonitora kvaliteta vazduha u ambijentu vinograda. Na početku vegetacione sezone u vinogradu (period kada se najčešće tretira vinova loza agrohemikalijama) najdominantnija je bila akumulacija Cu i Ni u mahovinama. Na osnovu trendova i obogaćenja mahovina ali i zemljišta PTE (As, Cr, Cu, Ni, Fe i V), vinograd može predstavljati dominantni difuzni izvor zagađenja. Statistički značajne korelacije između koncentracija Co, Cr i Ni u listovima vinove loze i u transplantiranim mahovinama potvrđuje slično ponašanje oba biomonitora [5, 6].

Eksperiment 5 je sproveden u organskom vinogradu, koji je lociran u Beogradskom rejonu i Gročanskom vinogorju, tokom 2016. godine. Upoređujući međusobno efikasnost različitih sredstava sa sličnim hemijskim osobinama, za procenu mobilnosti makroelemenata elemenata pokazao se kao pogodniji rastvor $BaCl_2$, dok je za mikroelemente to bio $CaCl_2$. Rastvori NO_3^- soli su se pokazali kao efikasniji od rastvora Cl^- za procenu mobilnosti elemenata. Od nitratnih soli NH_4NO_3 se pokazao kao efikasniji za procenu mobilnosti od rastvora $NaNO_3$, zato što NH_4^{4+} može da gradi rastvorne komplekse sa PTE.

Primenom indeksa za procenu zagađenja životne sredine i rizika po zdravlje ljudi, na osnovu izmerenih koncentracija PTE u zemljištu, vinovoj lozi i vazduhu utvrđeno je da zemljište u organskom vinogradu nije zagađeno i da je grožđe (*Panonija* i *Regent*) koje se uzgaja u skladu sa organskim principima proizvodnje bezbedno za konzumiranje ($HI < 1$ i $R \leq 1 \times 10^{-6}$). U organski uzgajanoj vinovoj lozi vrednosti su bile niže od koncentracija u ispitivanim sortama u

prethodnim eksperimentima. Na osnovu indeksa za procenu zagađenja životne sredine i primenjene multivarijantne analize, utvrđeno je da B u različitim delovima vinove loze koji su direktno izloženi vazduhu (list) potiče uglavnom iz depozicije ovog elementa iz vazduha, a da Cd u unutrašnjim delovima vinove loze (seme i pulpa) uglavnom potiče iz zemljišta. Takođe, izmerene su veće koncentracije PTE u spoljašnjim delovima vinove loze (list, peteljka i kožica) od unutrašnjih (pulpa i seme), što je takođe dokazano izračunatim RF vrednostima, pa se tako Al, Cr, Cu, Ni i Pb mogu suspendovati na list i kožicu grožđa iz vazduha ($RF > 1$).

Biomonitoring pomoću mahovina je ukazao na manji uticaj zagađenja vazduha PTE nego u komercijalnom vinogradu. Na osnovu procene zagađenja na životnu sredinu i procene rizika po zdravlje ljudi, organski vinograd predstavlja sigurniji radni ambijent za radnike i za uzgoj grožđa nego ambijenti gde se vrši konvencionalni uzgoj [7].

U eksperimentu 6, procenjen je sadržaj magnetnih čestica na površini lista vinove loze (indikator trenutnog zagađenja) i površinskog sloja zemljišta (indikator magnetnih čestica geogenog porekla ili istorijskog zagađenja česticama sa magnetnim osobinama) iz dva vinograda (komercijalnog i organskog). Glavni cilj bio je da se proceni da li zaostala magnetizacija (SIRM) i magnetna osetljivost (χ) mogu biti pokazatelji zagađenja životne sredine magnetnim česticama i sa njima asociranim PTE. Na osnovu dobijenih rezultata, oba izmerena magnetna parametra (SIRM i χ) su indikovala zagađenje zemljišta u vinogradu, dok se za identifikaciju zagađenja listova magnetnim česticama SIRM pokazao kao pogodniji parametar. Tokom sezone, postojala je statistički značajna razlika između SIRM i χ vrednosti, na šta je uticala promena veličine izmerenih magnetnih čestica.

Zaključak

Rezultati ovog istraživanja doprinose boljem razumevanju ponašanja elemenata u sistemu zemljište–biljka–vazduh i doprinose reprezentativnijem izboru ekstrakcija u jednom koraku za procenu biodostupnosti PTE u vinogradima. Rastvori slabe kiseline (CH_3COOH) i kompleksirajući agens (Na_2EDTA) su se pokazali kao pogodna sredstva u proceni mobilnosti elemenata, dok su nešto manje efikasne bili CaCl_2 , NH_4NO_3 i NaNO_3 , pa dejonizovana H_2O . Međutim, kako prirodni procesi koji se dešavaju u zemljištu, a posebno procesi usvajanja elemenata iz zemljišta do različitih delova biljaka jesu veoma blagi procesi (CH_3COOH se pokazala kao neadekvatna), pa su se rastvori soli (CaCl_2 , NH_4NO_3 i NaNO_3) i kompleksirajući agens (Na_2EDTA) pokazali kao najpogodnija ekstrakciona sredstva za procenu biodostupnosti elemenata. Pored toga i dejonizovana H_2O je bila pogodna za procenu biodostupnosti nekih od ispitivanih elemenata iz zemljišta, pa bi i ovo sredstvo moglo biti preporučeno za procenu biodostupnosti elemenata zbog toga što je pristupačno, jeftino i ekološki prihvatljivo. Različiti indeksi za procenu zagađenja po životnu sredinu su ukazali na vremenske i prostorne promene koncentracija elemenata, pa samim tim su ukazali i na potencijalne izvore zagađenja, ali su i doprineli boljem razumevanju mobilnosti i biodostupnosti elemenata.

Tehnika aktivnog biomonitoringa pomoću mahovina se pokazala kao pogodna za praćenje zagađenja vazduha u ambijentu vinograda. Period od dva meseca izlaganja mahovina daje adekvatan „signal“ akumulacije PTE, međutim period od 6 meseci izlaganja pokriva čitavu vegetacionu sezonu u vinogradu preporučuje se kao pogodan za komparacijska istraživanja. Listovi vinove loze, iako nisu tako osetljivi biomonitori kao mahovine, pokazali su se kao pouzdani biomonitori koji mogu da ukažu na najzagađenije lokalitete. Na osnovu svih rezultata (procene mobilnosti PTE, indeksa za procenu zagađenja na životnu sredinu, biomonitoringa kvaliteta vazduha, procene rizika po zdravlje radnika u vinogradu i konzumenata) organski vinograd se pokazao kao manje zagađen ambijent u odnosu na ostale ispitivane vinograde.

Magnetni parametri su pogodni za indikativno pronalaženje lokaliteta sa intenzivnijim zagađenjem.

Visoke koncentracije elemenata u zemljištu (posebno u komercijalnom vinogradu) nemaju štetni i kancerogeni uticaj na zdravlje radnika u vinogradima, a i ispitivani uzorci grožđa i vina su bezbedni za konzumaciju. Ipak, na osnovu procenjenog zdravstvenog rizika, nešto niže vrednosti su dobijene za uzorke iz organskog vinograda, pa iako su oba ambijenta bezbedna za rad i grožđe je bezbedno za konzumaciju, može se pretpostaviti da dugoročno gledano poljoprivredne sredine gde se primenjuje organska proizvodnja mogu biti bezbedniji radni ambijent i da organski uzgajano grožđe može biti bezbednije za konzumaciju.

Literatura:

- [1] **Milićević, T.** 2018. Doctoral dissertation: An integrated approach to the investigation of potentially toxic elements and magnetic particles in the soil–plant–air system: bioavailability and biomonitoring, Major scientific field: Chemistry; Specific scientific field: Environmental chemistry, UDC number: 504; Faculty of Chemistry, University of Belgrade, Serbia.
- [2] **Milićević, T.,** Relić, D., Škrivanj, S., Tešić, Ž., Popović, A. (2017a). Assessment of major and trace element bioavailability in vineyard soil applying different single extraction procedures and pseudo-total digestion. *Chemosphere* 171, 284–293.
- [3] **Milićević, T.,** Aničić Urošević, M., Relić, D., Vuković, G., Škrivanj, S., Popović, A. (2018a). Bioavailability of PTE in soil-grapevine (leaf, skin, pulp and seed) system and environmental and health risk assessment. *Sci. Total Environ.* 626, 528–545
- [4]. **Milićević, T.,** Relić, D., Aničić Urošević, M., Vuković, G., Škrivanj, S., Samson, R., Popović, A. (2018b). Integrated approach to environmental pollution investigation – spatial and temporal patterns of potentially toxic elements and magnetic particles in vineyard through the entire grapevine season. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 163, 245–254.
- [5] **Milićević, T.,** Aničić Urošević, M., Vuković, G., Škrivanj, S., Relić, D., Frontasyeva, M.V., Popović, A. (2017b). Assessment of species-specific and temporal variations of major, trace and rare earth elements in vineyard ambient using moss bags. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 144, 208–215.
- [6] Aničić Urošević, M., **Milićević, T.** (2020). Moss bag biomonitoring of airborne pollutants as an ecosustainable tool for air protection management: Urban vs. agricultural scenario, in *Environmental Concerns and Sustainable Development*, 20–60, Editors: Vertika Shukla and Narendra Kumar, Springer Singapore, ISBN: 978-981-13-5888-3.
- [7] **Milićević, T.,** Aničić Urošević, M., Relić, D., Vuković, G., Nikolić, D., Vergal, K., Popović, A. (2020). Environmental pollution influence to soil-plant-air system in organic vineyard: bioavailability, environmental and health risk assessment. *Submitted for publication.*

PRAĆENJE PROCESA UREOLIZE KOD ODABRANIH BAKTERIJSKIH SOJEVA IZ ZEMLJIŠTA

Olja Šovljanski¹, Ana Tomić¹, Siniša Markov¹

¹Univerzitet u Novom Sadu, Tehološki fakultet Novi Sad, Bulevar cara Lazara 1, Novi Sad
oljasovljanski@uns.ac.rs

Izvod

U poređenju sa različitim fizičko-hemijskim metodama uklanjanja otpadnih materija iz ekosistema, procesi bioremedijacije su postali česta tema naučnih istraživanja kako zbog svoje nedestruktivne i selektivne prirode, tako i zbog potpune i brze razgradnje zagađujućih supstanci. U gotovo svim ekosistemima, autohtone vrste bakterija pokazuju tendenciju da transformišu zagađujuća jedinjenja i održavaju ravnotežu u prirodi. Međutim, zbog velike upotrebe pesticida na bazi azota (npr. urea, amonijak, i sl.), povišeni sadržaj azotnih jedinjenja u vodenim i zemljišnim sistemima predstavlja sve veći ekološki problem. Sagledivo rešenje može biti adekvatan biotehnoški postupak upotrebom ureolitičkih bakterijskih sojeva izolovanih u blizini zagađenih područja, te je u ovom radu ispitana sposobnost ureolize bakterijskih sojeva izolovanih iz blago alkalnih i kalcitnih područja uz tok reke Dunav oko grada Novog Sada. Na osnovu praćenja procesa hidrolize uree, kao i promene pH vrednosti, sagledane su sličnosti i razlike između bakterijskih izolata. Dodatno, ispitivanjem brojnosti vijabilnih ćelija uočene su razlike u bakterijskom ponašanju u odnosu na referentnu ureolitičku bakteriju *Sporosarcina pasteurii* DSM 33 na osnovu kojih je izvršen odabir bakterijskog izolata za buduću remedijaciju kontaminiranih područja.

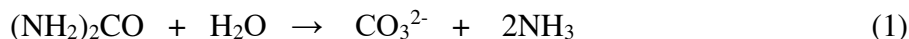
Ključne reči: ureoliza, alkalofilne bakterije, kalcitna zemljišta, ureazni enzim, bioremedijacija

Uvod

U poslednjih nekoliko decenija, razvoj hemijske industrije uslovice su povećanje koncentracije otpadnih i zagađujućih jedinjenja u prirodi. Uz spomenuto, nekontrolisano izlivanje toksičnih materija u životnu sredinu uticalo je na stvaranje niza ekoloških problema za čije rešavanje je neophodno razviti specifične, području primene adaptirane tehnike bioremedijacije koje bi doprinele dekontaminaciji odabranog područja [1]. Karakteristično za bioremedijaciju jeste činjenica da u njoj učestvuju autohtoni mikroorganizmi koji su izolovani sa kontaminiranih područja i/ili se dodatno upotrebljavaju kulture mikroorganizama koji su izolovani sa drugih lokaliteta i čija je efikasnost remedijacije prethodno definisana na laboratorijskom nivou [1]. Upotreba takvih mikroorganizama u procesima bioremedijacije je u stalnom porastu zbog širokog biodiverziteta u gotovo svim ekosistemima, ali i zbog neprevaziđenog katalobičkog potencijala koji imaju [2].

Iako se azotni ciklus odvija spontano u prirodi i azot predstavlja esencijalan element u biološkim sistemima, veoma često je limitirajući faktor i funkcionalni odnosi unutar azotnog ciklusa su se značajno menjali tokom vremena [2]. Nadalje, promene u količini azota u prirodi narušile su ravnotežu u transformaciji azotnih oblika te je povećanje koncentracije pojedinih azotnih jedinjenja bilo neizbežno [1]. U cilju uklanjanja azotnih jedinjenja iz kontaminiranih područja, sve češća je upotreba bioloških procesa, zahvaljujući visokoj selektivnosti i sposobnosti transformacije

azotnih jedinjenja posredstvom metaboličke aktivnosti mikroorganizama [2]. Proces ureolize pokreću ureolitičke bakterije koje čine oko 10% mikrobne populacije u ekosistemima [3]. Ureoliza je funkcionalna metabolička osobina mikroorganizama iz više od 50 različitih rodova bakterija, ali se posebno izdvajaju vrste iz rodova *Sporosarcina*, *Bacillus* i *Pseudomonas*. Kao model organizam procesa ureolize, ali i neretko korišćena bakterijska vrsta u bioremedijacijskim tehnikama izdvaja se *Sporosarcina pasteurii* [4]. Ureaza pozitivni mikroorganizmi imaju posebnu ulogu u metabolizmu azota. Ureolitička aktivnost bakterija, prirodno prisutnih u zemljištu i vodenim ekosistemima, omogućava biocementaciju i bioagregaciju kroz hidrolizu uree i stvaranje karbonatnih i bikarbonatnih jona. Ujedno se vrši fiksacija izvora azota u zemljištu te se sprečava oštećenje useva [5]. Ureazni enzim koji produkuje spomenute vrste bakterija učestvuje u hidrolizi uree pri čemu dolazi do stvaranja 1 mola karbonata i 2 mola amonijaka iz 1 mola uree, što se može prikazati sledećom jednačinom:



Prisustvo ureaznih bakterija i njihova uloga u različitim ekosistemima je široko proučavana oblast u cilju razvoja različitih tipova bioremedijacija: od klasičnih postupaka uklanjanja organskih polutanata pa sve do razvoja specifičnih postupaka zasnovanih na mikrobiološki indukovanoj precipitaciji karbonata gde upravo proces ureolize igra značajnu ulogu [6]. U toku procesa ureolize je neizbežno stvaranje neorganskog depozita i povećanje pH vrednosti mikrookruženja zbog činjenice da hidrolizom uree nastaju alkalni produkti. Kao posledica ovih promena, dolazi do hemijskih reakcija na kojima se bazira upotreba ureolize kao bioremedijacijskog procesa [6]. Smatra se da se najveći doprinos ureolitičkih bakterija u procesima bioremedijacije ogleda u sposobnosti da generišu alkalno mikrookruženje kroz niz bioloških i hemijskih aktivnosti [5].

Uz praćenje procesa ureolize odabranih bakterijskih sojeva prethodno izolovanih iz kalcitnih područja duž toka reke Dunav u blizini grada Novog Sada, cilj ovog rada jeste odabir bakterijskog izolata čije je ponašanje najpribližnije referentnom soju *Sporosarcina pasteurii* DSM 33 u toku procesa ureolize. Sem kvantitativnog određivanja utroška uree u kultivacionom medijumu, kao parametri od značaja definisani su pH vrednost i brojnost vijabilnih bakterijskih ćelija.

Eksperimentalni deo

U ovom istraživanju korišćeno je ukupno 5 bakterijskih sojeva koji su prethodno izolovani iz kalcitnih područja oko toka reke Dunav u blizini Novog Sada (bakterijski izolati su označeni kao II₈, II₁₀, III₁₁, III₁₅ i IV₅), a čija je selekcija vršena iz veće grupe bakterijskih izolata na osnovu alkalofilnosti i sporogenosti [7]. Kao referentni soj korišćena je ureolitička bakterija *Sporosarcina pasteurii* DSM 33 koja je deponovana u Zbirci kultura Odeljenja za mikrobiologiju Tehnološkog fakulteta Novi Sad.

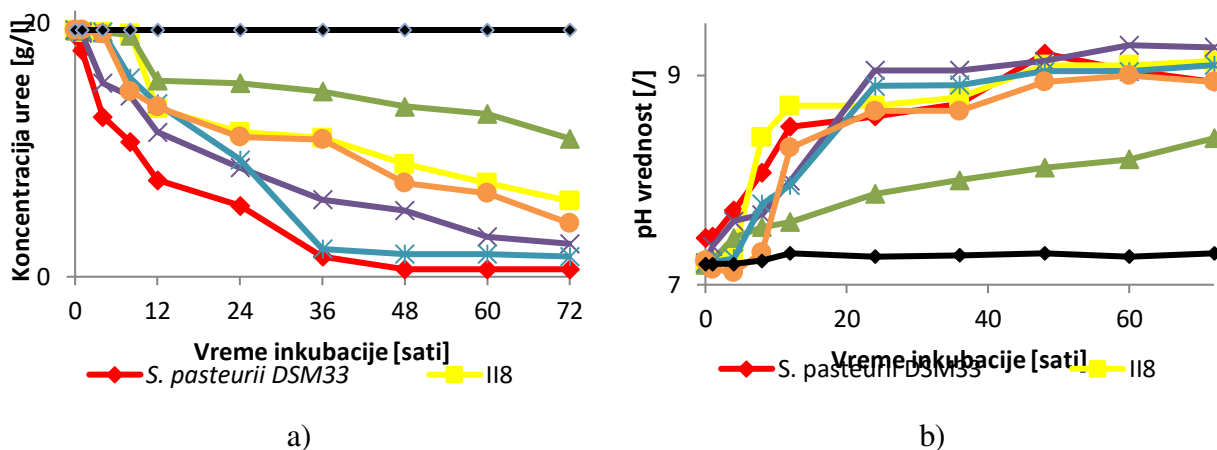
Kako bi se utvrdila efikasnost ureolize u laboratorijskim uslovima, korišćena je tečna hranljiva podloga Urea bujon sledećeg sastava: hranljivi bujon 3,0 g/L, natrijum bikarbonat 2,12 g/L, amonijum-hlorid 5,0 g/L, urea 20,0 /L, destilovana voda 1000 ml.

Proces ureolize izabranih bakterijskih izolata i referentnog soja je praćen kroz nekoliko ključnih parametara za definisanje bakterijskog ponašanja tokom ciljane metaboličke aktivnosti: redukcija količine uree, promena pH vrednosti i brojnost vijabilnih bakterija u kultivacionom medijumu. Inokulacija 90 ml Urea bujona vršena je dodatkom 10% (v/v) bakterijske suspenzije gustine ~ 3·10⁶ cfu/ml, te je inkubacija vršena tokom 72h na temperaturi od 30 °C. U cilju praćenja ureolize i

promene pH vrednosti kultivacione tečnosti, uzorkovanje je izvršeno 10 puta tokom inkubacionog perioda, dok je broj vijabilnih ćelija praćen na početku inkubacionog perioda, a zatim na svakih 12 sati inkubacije. Kvantifikacija uree urađena je modifikovanom spektrofotometrijskom metodom po Nesleru pomoću spektrofotometara UV-1800 UV-VIS (Shimadzu, Japan), dok su za formiranje kalibracione krive korišćeni standardni rastvori NH_4Cl . Promena pH vrednosti kultivacione tečnosti je merena pH metrom HI 99181 (Hanna Instruments, Vunsakat, USA). Tokom praćenja ureolize, umnožavanje broja živih ćelija praćeno je indirektnom metodom zasejavanjem alikvota iz serije razređenja uzorka na podlogu Trypton soja agar (TSA, Himedia, Mumbai, India) sa dodatkom 20% uree, te je inkubacija vršena na 30 °C tokom 48h. Kao blank korišćena je neinokulisana hranljiva podloga.

Rezultati i diskusija

U ovom radu, eksperimentalni rezultati kvantifikacije uree i pH vrednosti kultivacione tečnosti su korišćeni za praćenje procesa ureolize kod odabranih bakterijskih izolata iz alkalnog zemljišta. Na osnovu dobijenih rezultata prikazanih na slici 1, kod svih testiranih sojeva se može uočiti da, od trenutka inokulacije, koncentracija uree konstantno opada, dok se pH vrednost kultivacione tečnosti povećava. Kada je u pitanju blank uzorak, koncentracija uree i pH vrednosti izmerene na početku ogleda se nisu menjale tokom čitave inkubacije. Prilikom praćenja redukcije količine uree (slika 1a), primetna je faza prilagođavanja kod izolata II₈, II₁₀ i IV₅, dok kod drugih izolata i referentnog soja *S. pasteurii* DSM 33 ne postoji takva faza kašnjenja u otpočinjanju hidrolize uree. Pored toga, primetan je momenat prestanka nagle potrošnje uree nakon 36 sati inkubacije, pri čemu se nastavlja opadajući trend smanjenog intenziteta sve do kraja inkubacionog perioda. Sa druge strane, promene pH vrednost u toku ureolize su prikazane na slici 1b, gde je uočen značajan skok pH vrednosti za skoro 2 pH jedinice kod svih testiranih sojeva sem kod izolata II₁₀. Shodno slabijem odzivu bakterijskog izolata II₁₀ u toku hidrolize uree, manja promena pH vrednosti je očekivana. Primetno je da nagla promena pH vrednosti, posebno izražena u prvih 24 sata inkubacije, predstavlja posledicu efikasne hidrolize uree i formiranja alkalnih produkata u eksponencijalnoj fazi rasta. Sumarno, na slici 1 je uočeno linearno smanjenje koncentracije uree za sve ispitivane izolate, dok promene pH vrednosti prati rastući trend. Na kraju inkubacionog perioda, količina neutrošene uree kod referentnog soja iznosi samo 3%, dok je ta vrednost kod bakterijskih izolata između 8 i 56%. Bakterijski izolat II₁₀ je pokazao najmanju efikasnost u redukciji uree, dok je izolat III₁₅ pokazao značaj kapacitet za ureolizu u poređenju sa drugim bakterijskim izolatima, te je pokazao najveću sličnost sa referentnim sojem *S. pasteurii* DSM 33. Shodno dobijenim rezultatima, svi sojevi sem izolata II₁₀ su utrošili više od 14 g/L uree, što daleko prevazilazi antropogeni uticaj na količinu uree u prirodi [8]. Takođe, moguće je uočiti najveću sličnost u ponašanju sojeva III₁₁ i III₁₅, dok je najveća razlika vidljiva u poređenju referentnog soja sa bakterijskim izolatom II₁₀.



Slika 1. Praćenje procesa ureolize: a) koncentracija uree; b) pH vrednost kultivacione tečnosti

U cilju praćenja produkcije biomase u toku ureolize, koncentracija bakterijskih ćelija je određena indirektnom metodom (Tabela 1). Na samom početku kultivacionog perioda je koncentracija svih testiranih sojeva bila približno 5 log/mL, da bi se već nakon 12 sati inkubacije uočile razlike u produkciji biomase u toku procesa ureolize. Naime, već u prvih 24 sata, referentni soj *S. pasteurii* se izdvojio po količini biomase, s obzirom da se koncentracija ove ureolitičke bakterije povećala za 2,5 log jedinica. Takođe je uočeno da kod bakterijskih izolata II₈, II₁₀ i IV₅ postoji lag faza koja bi mogla da se dovede u korelaciju sa slabijom hidrolizom uree na samom startu kultivacije i fazom kašnjenja koja je uočena na slici 1a. Na kraju inkubacionog perioda je detektovano prisutvo približno 9 log/mL vijabilnih ćelija *S. pasteurii* DSM 33 i bakterijskog izolata IV₅, dok je kod ostalih izolata vrednost broja ćelija bila između 6,3 i 8,7 log/mL. Dodatno potvrda slabijeg odziva bakterijskog izolata II₁₀ se ogleda i u činjenici da je u toku inkubacije od 72 sata došlo do povećanja brojnosti vijabilnih ćelija za svega 1 log jedinicu.

Tabela 1. Rezultati ispitivanja koncentracije bakterija [log/mL] u toku kultivacionog perioda

Vreme uzorkovanja [sati]	Referentni soj	Bakterijski izolati				
	<i>S. pasteurii</i> DSM 33	II ₈	II ₁₀	III ₁₁	III ₁₅	IV ₅
0	5,0	5,53	5,15	5,34	5,5	5,2
12	7,1	5,61	5,25	6,28	6,41	5,7
24	7,5	6,13	5,7	6,67	6,88	6,1
36	8,4	6,41	6,0	7,64	7,54	7,5
48	8,8	6,45	6,21	8,19	8,04	8,74
60	8,84	6,73	6,17	8,21	8,01	8,76
72	9,0	7,5	6,3	8,3	8,7	9,07

Zaključak

Praćenjem procesa ureolize kroz tri ključna parametra procesa je uspešno odredila sličnosti i razlike u ponašanju bakterijskih izolata iz alkalnih zemljišta čime je sagledana mogućnost primene pojedinih izolata i izvršila dalja selekcija bakterija za bioremedijaciju zagađenih lokaliteta. Na osnovu dobijenih rezultata, najveću efikasnost u procesu ureolize pokazali su bakterijski izolati III₁₁, III₁₅ i IV₅, pri čemu se po sličnosti sa referentnim sojem *Sporosarcina pasteurii* DSM 33 izdvojio soj III₁₅. Bez obzira na stepen hidrolize uree, kod svih testiranih izolata je uočena značajno povećanje pH vrednosti kultivacione tečnosti, kao posledica stvaranja alkalnih produkata hidrolize. Takođe, dobijeni rezultati praćenja procesa ureolize i pH vrednosti su u korelaciji sa dobijenom brojnošću bakterijskih ćelija, te bi se u narednom periodu mogli ispitati kinetički parametri ovog procesa i definisati specifična ureazna aktivnost u odnosu na broj vijabilnih ćelija.

Literatura

- [1] Raičević V., Lalević B., Dabić D., Kiković D., Jovanović Lj., Nikšić M. (2007). Mikroorganizmi u bioremedijaciji zemljišta i voda. *Zaštita materijala*, 48(2), 47-52.
- [2] Beškovski V., Gojgić-Cvijović G., Milić J., Ilić M., Miletić S., Jovančićević B., Vrvic M (2012). Bioremedijacija zemljišta kontaminiranog naftom i naftnim derivatima: mikroorganizmi, putanje razgradnje, tehnologije. *Hemijska industrija*, 66(2), 275-289.
- [3] Ambus P., Zechmeister-Boltenstern S. (2007). Denitrification and N-Cycling in Forest Ecosystems – Chapter 22. *Biology of the Nitrogen Cycle – Book*, Edited by H. Bothe, S.J. Ferguson and W.E. Newton by Elsevier B.V
- [4] Stocks-Fischer S., Galinat J., Bang S. (1999). Microbiological precipitation of CaCO₃. *Soil Biology and Biochemistry*, 11, 1563-1571.
- [5] Kumari B. (2015). Microbial Concrete: A Multi-Purpose Building Material-An Overview'. *International Journal of Advances in Engineering and Technology*, 6, 1608-1619.
- [6] Kang C-H., Oh S.J. Shin Y., Han S-H., Nam I-H., So J-S. (2015). Bioremediation of lead by ureolytic bacteria isolated from soil at abandoned metal mines in South Korea, *Ecological Engineering*, 47, 402-407.
- [7] Šovljanski O., Tomić A., Pezo L., Markov S. (2019). Temperature and pH growth profile prediction of newly isolated bacterial strains from alkaline soils. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100, 1155-1163.
- [8] Garcia-Teijeiro R., Lightfoot D., Hernandez J. (2009). Effect of a Chemical Modified Urea Fertilizer on Soil Quality: Soil Microbial Populations Around Corn Roots. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 40(13), 2152 — 2168.

MOGUĆNOST INFRACRVENE TERMOGRAFIJE PRI DETEKCIJI ŠTETNIH GASOVA

Stevan Đenadić¹, Vesna Damnjanović², Predrag Jovančić², Dragutin Jovković²

¹Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Đušina 7, Beograd,
stevan.djenadic@rgf.bg.ac.rs

²Univerzitet u Beogradu, Rudarsko-geološki fakultet, Đušina 7, Beograd

Izvod

Curenje pojedinih gasova je opasnost koja može da izazove velike nezgode. Često je praćeno požarima i eksplozijama koji za posledicu mogu da imaju kako ljudske povrede, tako i štetan uticaj na ekologiju i ekonomiju. Da bi se izbegle takve situacije, preventivna inspekcija je od presudne važnosti. Curenje većine gasova se ne može uočiti golim okom a za otkrivanje i procenu stepena curenja može se koristiti tehnologija toplotnog snimanja (infracrvena termografija). U datom radu predstavljene su mogućnosti i ograničenja primene savremenih termalnih kamera pri njihovom korišćenju za detekciju i procenu koncentracije curenja štetnih gasova, kao i osnovni fizički principi na kojima se zasniva njihov rad.

Ključne reči: IC termografija, curenje gasa, termogram.

Uvod

Izvor infracrvenog zračenja (IC zračenja) je bilo koji objekat čija je temperatura različita od apsolutne „Kelvinove“ nule (tj. $-273,5$ °C). Odnosno svako zagrejano telo emituje toplotno zračenje u IC talasnom opsegu. Ljudsko oko, kao detektor koji detektuje vidljivu svetlost može da oseti samo uski deo elektromagnetnog spektra. IC zračenje leži između vidljive svetlosti i mikrotalasnog spektralnog opsega pa je za ljudsko oko nevidljivo. Upravo zato je konverzija toplotnog zračenja u vidljivu sliku (termogram) od velikog značaja u nauci i tehnici. IC termografija je beskontaktna metoda koja omogućava ne samo formiranje termograma u „realnom vremenu“, već i očitavanje temperature sa njega [1]. Danas gotovo da nema oblasti u nauci i privredi gde se termografske metode ne koriste: praćenje stanja uređaja i objekata (tehnička dijagnostika); kontrola proizvodnih procesa u svim privrednim granama; noćna razmatranja; nedestruktivna ispitivanja materijala; medicinska dijagnostika; dijagnostika u veterini; vulkanologija; naučna istraživanja (čak i istraživanja kulturne baštine) i dr [2-8]. Mnogi štetni gasovi i hemikalije intenzivno se koriste u proizvodnim ciklusima u hemijskoj, farmaceutskoj, automobilskoj industriji i u sistemima klimatizacije. Održavanje industrijskih rashladnih sistema je od presudnog značaja za održavanje kvaliteta proizvoda koji zahtevaju hlađenje (neki od gasova se kao rashladna sredstva širom sveta koriste u industrijskim rashladnim sistemima za proizvodnju, skladištenje i prodaju prehrambenih proizvoda). Zamena gasa ili dopunjavanje gasom često može biti skupa procedura. Međutim, iako su rashladni gasovi vrlo važni u mnogim industrijama, oni su opasni po životnu sredinu – pa je brzo i lako otkrivanje njihovog curenja zadatak od velike važnosti. Neki od ovih gasova značajno utiču i na globalno zagrevanje, pa postoje stroga pravila koja regulišu procese nadgledanja, dokumentovanja, korišćenja i prijavljivanja opasnih gasova u preduzećima, kao i učestalost postupaka kontrole. Obzirom da su gasovi nevidljivi golim okom, njihova vizualizacija, bez zaustavljanja procesa proizvodnje, je važan zadatak. Trend pada cena IC opreme doveo je do toga da su se poslednje decenije, pojavili komercijalni modeli termalnih kamera, specijalno opremljeni, koje brzo, jednostavno i sa sigurne udaljenosti, pružaju mogućnost

detekcije i utvrđivanja koncentracije curenja štetnih gasova [9,10]. Termografskom tehnikom lako se može otkriti položaj akcidenta na cisterni za gas ili rezervoaru na voznoj kompoziciji. Takođe, može se vršiti inspekcija curenja hemijskih instalacija, petrohemijskih postrojenja, rezervoara ili cevovoda. U zatvorenim radnim prostorijama mogu se nadgledati gasni tokovi, ulazi oko vazdušnih otvora i izlazi ispusnih cevi, ekstrakcioni otvori ili lokalne ventilacione jedinice. Prirodno izbijanje ili isparavanje gasova geofizičkog porekla u rudnicima, vulkanima, geotermičkim oblastima, močvarama, kao i iz organskih supstanci u poljoprivredi, kilometrima dugački gasovodi, takođe su interesantni za ocenu.

Prednosti termografske metode pri detekciji curenja gasova

U odnosu na druge „beskontaktne“ tehnologije i metode za detekciju gasova i merenje temperature, na primer gasne analizatore, pirometre i IC termometre, termalne kamere imaju značajne prednosti. U slučaju tradicionalne opreme za otkrivanje curenja, kao što su analizatori gasa, operater mora da se kreće i proverava sve potencijalne mesta curenja. Svako takvo mesto treba da bude lako dostupno za verifikaciju, što nije uvek moguće. Prilikom rada sa analizatorom gasa, operater je izložen nevidljivim ali potencijalno štetnim hemikalijama. Pirometri su veoma pouzdan i koristan alat za merenje temperature ali kada je to potrebno uraditi “jednom”. Međutim, pri merenju velikih površina ili pri inspekciji mnogo delove (na primer velike petrohemijske fabrike mogu imati ogroman broj lokacija za potencijalno curenje gasa) lako se može preskočiti važan deo koji curi. Pomoću IC termometra može se meriti temperatura sa bezbedne udaljenosti ali samo u jednoj tački. Za razliku od merenja tradicionalnom opremom, pomoću termalnih kamera za otkrivanje gasa može sa sigurne udaljenosti, brzo da se proveru veliki broj potencijalnih mesta curenja u realnom vremenu. Statistika pokazuje da se do 84 % curenja događa u manje od 1 % opreme u rafinerijama. Termalna kamera omogućava da se posmatra sistem kao celina a da se pritom ne propusti ni najmanja promena temperature (pregrijavanje ili hlađenje). Pomoću IC termometra može se meriti temperatura samo u jednoj tački, dok termalna kamera pokazuje detaljnu sliku celokupnog područja ispitivanja. Pomoću termalnih kamera za otkrivanje gasa na osnovu termograma utvrđuje se potpuno stanje sistema i na taj način isključuje područja bez kvarova, što možete uštedeti ogromne resurse. Dakle termalna kamera može da zameni ogroman broj istovremeno uključenih analizatora gasa ili IC termometra. Druga značajna prednost je nepostojanje potrebe za zaustavljanjem opreme tokom testa jer termalna kamera za ispitivanje curenja gasa može da pokaže prisustvo i mesto curenja gasa bez zaustavljanja procesa rada. Merenje se može izvesti brzo, što je i najvažnije i identifikovati problem u ranoj fazi, čime je značajno povećana sigurnost radnika. Dakle, otkrivanje curenja gasa može se izvršiti bez kontakta na sigurnoj udaljenosti a to smanjuje rizik izloženosti operatera nevidljivim potencijalno štetnim ili eksplozivnim gasovima. Prenosiva termička kamera značajno povećava sigurnost radnika otkrivanjem gasa a takođe pomaže u zaštiti životne sredine otkrivanjem curenja gasova koji su štetni po životnu sredinu. Moderne termalne kamere imaju anatomski dizajn, svetlo LCD ekran i rotacioni tragač koji uveliko olakšava rad, pa se lako mogu proveriti područja koja su teško dostupna tradicionalnim metodama. Prednosti termalnih kamera su i široki temperaturni opseg merenja, visoka osetljivost, brzo vreme odziva, visoka preciznost, malo potrošnja električne energije, dug vek, jednostavan, siguran i pouzdan rad.

Princip detekcije curenja gasova termalnom kamerom

Detekcije gasova termografsko metodom podrazumeva posebno prilagođene termalne kamere sa odgovarajućim optičkim interferentnim filterima koji su postavljeni ispred detektora u kameri. Detekcija gasova vrši se u odgovarajućem talasnom opsegu, upoređivanjem termograma pozadine

„sa“ i „bez“ prisustva gasa. Radi optimizacije metode za detekcije štetnih gasova primenom termalnih kamere mora se uzeti u obzir transmisija atmosfere, ukupna apsorpciona moć molekula gasa koja nas interesuje i zračenja ambijenta. Apsorpcija je od interesa za IC termografiju jer se analizom spektara u odgovarajućim talasnim područjima dolazi do važnih podataka. Ugljovodonici imaju izuzetno veliku apsorpcionu moć u oblasti IC spektra pa su njihovi trakasti molekulski spektri (koji su po svojoj prirodi vibracionorotacioni) u talasnom području od 2 do 20 μm izuzetno podesni za detekciju čak i male količine štetnih gasova na razdaljinama i do 2 km. Zahvaljujući spektralnim karakteristikama, ne samo ugljovodonici, već još neki od gasova sa homogenim jezgrom (oktan, propan i dr) mogu se detektovati i kvantifikovati termografskom opremom u pojedinim oblastima IC talasnog područja. Kada je u pitanju izbor odgovarajućeg tipa filtera radi postizanja optimalne osetljivosti, treba izbalansirati dva suprotna zahteva: upotrebu filtera uskih propusnih opsega, optimalnih za postizanje visokog odziva kontrasta (sa jedne strane) i ukupnu transmisiju fotona u sistemu (sa druge strane). Da bi se postigao dobar količnik signal/šum, statički šum u detektoru zahteva da fotonski fluks bude iznad određenog nivoa. Usled toga propusni filter srednjetalasnog opsega zrači više nego kratkotalasni ili dugotalasni propusni filteri. Menjanjem talasnog opsega kao i njegove širine, vrši se maksimizacija količnika ukupne apsorpcije gasa (koja nas i interesuje) i ukupne optičke transmisije sistema, što daje mogućnost odabira optimalnog filtera. Apsorpcija zračenja u gasovima opisuje se Beer–Lambertovim zakonom koji se koristi i u proračunima pri proceni koncentracije gasa. Za obrazovanje termograma koristi se zračenje ambijenta, tj. metoda je pasivna. Dakle, termalne kamere za detekciju gasova razlikuju se od termalnih kamera za procenu temperature jer pored standardnih komponenti imaju optički filter koji: odseca talasno područje u kome se ne može detektovati gas čija se inspekciju radi; smanjuje uticaj drugih objekata u okolini (ambijenta) koji zrače u širem talasnom opsegu; i daje visok odziv kontrasta sa ukupnom transmisijom fotona u sistemu. Optimalan profil filtera bira se menjanjem opsega talasne dužine i njene širine i maksimiziranjem količnika ukupne apsorpcije gasa koji nas interesuje i ukupne optičke transmisije sistema. Kada je važno utvrditi i koncentraciju gasa, to podrazumeva kamere sa odgovarajućim gaskorelacionim ćelijama. Varijacije termalnog zračenja ambijenta, koeficijenta refleksije i emisivnosti, kompenzuju se upotrebom gasnokorelacionom tehnikom. Pri takvim spektralnim razmatranjima bira se kamera koja ima temperaturnu razliku ekvivalentnu NEDT (*Noise Equivalent Differential Temperature*) šumu od 80 mK. Za izradu gasnokorelacionih ćelija koristi se materijali koji u talasnom opsegu koji odgovaraju drugom i trećem atmosferskom prozoru imaju transmisionu prozore (npr. ZnSe i CaF₂ za gasne uzorke sa apsorpcijom na 10 μm i 8 μm respektivno). Specifičnost gasne korelacije je to što pruža mogućnost potpunog razlikovanja spektralnih frekvencija specifičnih apsorpcija u gasovima i transparentnih površina. Tehnika se zasniva na upoređivanju direktnih snimka (bez gasne ćelije) sa snimkom kroz gasnu (optički debelu) apsorpcionu ćeliju. Gasna ćelija ispunjena određenim gasom (što je čini neprozirnom na jačim apsorpcionim linijama) koja dodatno filtrira jedan od termograma. Dva tako nastale termograma koriste se za izdvajanje termograma čistog gasa i eliminisanje razlika u termalnom zračenju ambijenta, kao i šumova koje unose drugi gasovi ili čestice. Termogrami generisani na ovaj način mogu ukazati na granične koncentracije od nekoliko stotina ppm \times m. Prvi termogram je onaj koji se vidi kroz jedan od otvora teleskopa. Termogram 2 je ista scena ali sa gasnom ćelijom ispred drugog otvora. Procesiranje slika omogućuje oduzimanje jednog termograma od drugog (pravi se odgovarajuća razlika). Termogram 3 se snima kada u sceni nije prisutan gas. Termogrami se digitalno preklapaju pomeranjem i vrši se optimizacija u oblasti od interesa koja sadrži gas, a sledeće procesiranje slike je isključilo ovu oblast. Gasna korelacija „dakle“ predviđa rezultatnu sliku. Nivo koncentracije gasa predstavljaju srednju vrednost koja se dobijena simulacijom u odgovarajućem softverskom programu. Tehnika se oslanja na tačno poznavanje razlike temperature između gasa i ambijenta. Prilikom određivanja koncentracije gasa kalibracija se vrši integracijom relativne transmitanse sistema u odgovarajućem talasnom opsegu.

Ukupna relativna transmitansa sistema bez gasa, deli se opadajućom ukupnom relativnom transmitansom sistema u kome je povećana koncentracije gasa. Mora se uzeti u obzir i sopstveno zračenje gasa. Gas se otkriva na osnovu sopstvenog zračenja na apsorpcionim linijama. Kako je za proračune neophodno znati emisivnost gasa, ona se ili meri ili računa primenom empirijskih jednačina. Pored izbora i kvaliteta merne tehnike, uslovi koji mogu uticati na kvalitet termograma (pri spoljašnjim merenjima) su: vetar, relativna vlažnost, doba dana usled osunčanosti, temperatura vazduha, temperatura površine ambijenta i brzina curenja gasa.

Primer savremenog modela termalne kamera za detekciju ugljendioksida

Brzo i tačno utvrđivanje mesta curenja ugljendioksida (CO₂) može biti ključni faktor za bezopasno, efektivno i isplativo održavanje proizvodnih procesa nezavisno od toga da li je CO₂ sekundarni produkt ili se koristi u svojstvu trasera za otkrivanje nehermetičnosti (curenja) u sistemima hlađenja. Termalna kamera FLIR GF343 namenjena je za utvrđivanje mesta curenja CO₂. Glavna svojstva modela su: potpuno novi dizajn sa velikim ekranom; dvostruka namenu (može detektovati curenje gasa ali se može koristiti i kao standardna termalna kamera); visoko-osetljiva je - može otkriti čak i izuzetno mala curenja gasa u širokom spektralnom opsegu; male je mase 2,4 kg i malih je dimenzija (obzirom da se radi o termalnoj kameri sa hlađenom matricom); opremljena je izmenljivim sočivima. Osnovne tehničke karakteristike modela navedene su u tabeli broj 1 [11].

Tabela 1. Tehničke karakteristike termalne kamere FLIR GF343

Tehnički parametri	Tip kamere FLIR GF343
matrica u fokalnoj ravni	Focal Plane Array - FPA
hlađeni detektor	InSb (Indijum antimonid)
osetljivost u spektralnom opsegu	od 4,2 do 4,4 mm (drugi atmosferski prozor)
tačnost	± 1 °C u temperaturnom dijapazonu 0-100 °C
	± 2% u pri temperaturi > 100 °C
merni opseg	od - 40 °C do + 350 °C
vreme rada	3 h pri standardnom korišćenju i sobnoj temperaturi
vreme zagrevanja	7 min
parametri ambijenta	temperaturni opseg u kome može da radi od - 20 °C do + 50 °C

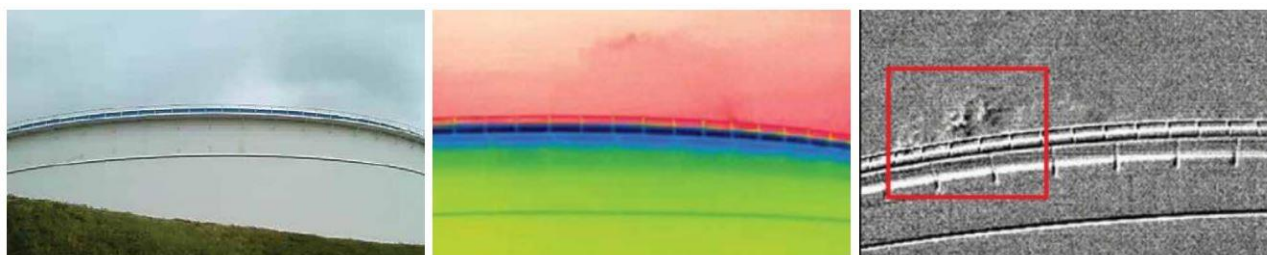
Još jedan od gasova čije se curenje može detektovati ovom metodom je metan (CH₄). Ima ga u rudnicima uglja, u vulkanskim i barskim gasovima, kao i u drugim organskim supstancama. U atmosferi koja „nije zagađena“ procenat metana je zanemarljiv. Metan je komponenta prirodnog gasa koji zagreva domove širom sveta. Nedavno je u Sjedinjenim Američkim Državama nadmašio ugalj kao glavno gorivo za proizvodnju električne energije. Međutim, metan je gas koji ozbiljno doprinosi efektu staklene bašte i globalnom zagrevanju. Bez boje i mirisa je a u dodiru sa vazduhom ili kiseonikom je lako zapaljiv i izuzetno eksplozivan pa njegovo curenje predstavlja bezbednosni rizik. Primeri za to su mnogobrojni: fatalna eksplozija metana 2010. god. u Kaliforniji u San Brunu i 2015. god. u Njujorku, kao i mnogobrojne eksplozije pri podzemnoj eksploataciju uglja. Može biti i uzrok ozbiljnih zdravstvenih problema (primer evakuacije 8000 porodica u Južnoj Kaliforniji zbog curenja metana iz skladišta 2015. god.). Sjedinjene Države, Kanada i Meksiko zajedno rade na smanjenju emisije metana iz naftnih sektora kroz savremeno partnerstvo za klimu, čistu energiju i životnu sredinu. Američka agencija za zaštitu životne sredine (EPA) nedavno je finalizovala pravila koja zahtevaju od naftnih i gasnih kompanija da usvoje programe otkrivanja i poprave curenja. EPA preporučuje da gasne kompanije koriste termalne kamere kao jednu od dostupnih tehnologija za brzu i sigurnu detekciju curenja, jer su druge tehnologije spore i neprikladne a često i skuplje.

Još neki od gasova čije se curenje takođe može vizualizovati termalnim kamerama opremljenim specijalnim filterima za njihovu detekciju, navedeni su u tabeli 2 koja sledi [12,13].

Tabela 2. Gasovi čije se curenje može detektovati termalnom kamerom

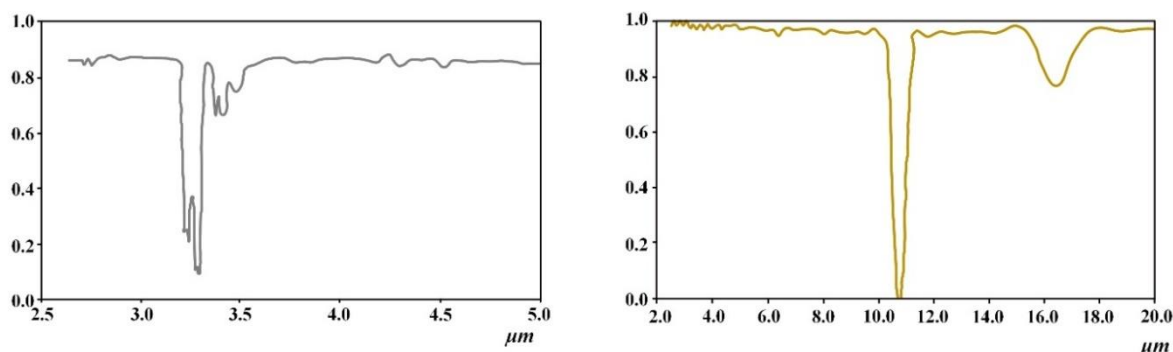
Vrsta gasa	Hemijska formula	Vrsta gasa	Hemijska formula	Vrsta gasa	Hemijska formula
Acetil hlorid	CH ₃ COCl	Freon	12 CClF ₂	Oktan	C ₈ H ₁₈
Acrolein	C ₃ H ₄ O	Furan	C ₄ H ₄ O	Propan	C ₃ H ₈
Alil bromid	C ₃ H ₅ Br	Hidrazin	N ₂ H ₄	Sirćetna kiselina	CH ₃ COOH
Alil fluorid	C ₃ H ₅ F	Hlor dioksid	ClO ₂	Sumpor heksafluorid	SF ₆
Amonijak	NH ₃	Lilil hlorid	C ₃ H ₅ Cl	Terahidrofuran	C ₄ H ₈ O
Benzen	C ₆ H ₆	Metanol	CH ₃ OH	Trikloretilen	C ₂ HCl ₃
Butan	C ₄ H ₁₀	Metil bromid	CH ₃ Br	Uranil fluorid	UO ₂ F ₂
Etan	C ₂ H ₆	Metil etil keton peroksid	C ₈ H ₁₈ O ₆	Vinil cijanid	C ₃ H ₃ N
Etil cijanokrilat	C ₅ H ₅ NO ₂	Metil vinil keton	C ₄ H ₆ O	Vinil eter	C ₃ H ₆ O
Etilen	C ₂ H ₄	Metilsilan	CSiH ₆		

Primeru radi, amonijak je na sobnoj temperaturi u gasovitom stanju, bezbojan, otrovan, nagriza kožu, ljut - izaziva suze i neprijatnog mirisa. Etilen je gas bez boje, mirisa i ukusa ali lako zapaljiv. Iz navedenih primera svojstava gasova, jasno je koliko je značajno blagovremeno otkrivanje njihovog prisustva. Na slici 1 prikazano je curenje gasa iz rezervoara slikano: levo - običnom kamerom; u sredini - termalnom kamerom (na termogramu se uočava povišena temperatura oblast gde gas curi); desno - termografnom kamerom opremljenom odgovarajućim filterom [14].



Slika 1. Prikaz rezervoara - fotografija i termogrami koji ukazuju na curenje gasa (FLIR GF 320)

Na slici 2 prikazana je apsorpcija (levo) za benzen - C₆H₆ i (desno) za sumpor heksafluorid - SF₆ (koji je nekoliko hiljada puta opasniji od ugljen dioksida). Od navedenih primera, prvi može da se detektuje u talasnom području od 3,2 – 3,3 μm (drugi atmosferski prozor) a drugi u vrlo uskoj oblasti oko talasne dužine 10,6 μm (treći atmosferski prozor) [13].



Slika 2. Detekcija C₆H₆ u srednjem IC opsegu (levo) i SF₆ u dalekom IC opsegu (desno)

Neki od gasovi koji se mogu detektovati u drugom atmosferskom prozoru su etan, butan, metan, oktan, i dr a neki od gasovi koji se mogu detektovati u trećem atmosferskom prozoru su freon12, propan, metal etil keton, i dr.

Zaključak

Globalni proizvodnja komercijalnih termalnih kamera i termalnih sistema za snimanje, u okviru industrijske primene nudi široke mogućnosti inspekcije velikih površina i identifikaciju skrivenih problema, brzo, efikasno i bezbedno u realnom vremenu, što omogućava povećanu produktivnost u mnoštvu industrijskih aplikacija. U ovu tehniku spadaju i termalne kamere opremljene specijalnim filterima i gasnokorelacionim ćelijama za pronalaženje emisije curenja gasa i procenu njihove koncentracije.

Literatura

- [1] Maldague, X.P.V. (2001) Active Thermography in Nondestructive evaluation of materials by infrared thermography. New York, USA: John Wiley & Sons.
- [2] Bagavathiappan, S., Lahiri, B.B., Saravanan, T., Philip, J., Jayakumar, T. (2013). Infrared Thermography for Condition Monitoring - A Review. *Infrared Physics and Technology*. 60, pp. 35–55.
- [3] Doshvarpassanda, S., Wub, C., Wangb, C. (2019). An overview of corrosion defect characterization using active infrared thermography. *Infrared Physics and Technology*. 96, 366–389.
- [4] Tomić, Lj., Damnjanović, V., Dikić, G., Milanović, B. (2019) Reconstruction of Simulated Cylindrical Defects in Acrylic Glass Plate Using Pulsed Phase Thermography. *Applied Sciences*. 9 (9), 1854-1860.
- [5] Tomić, Lj. Kovačević, A., Damnjanović, V., Osmokrović, P. (2013). Probability density function estimation of a temperature field obtained by pulsed radiometric defectoscopy. *Measurement*. 46, 2263–2268.
- [6] Wirthgen, T., Zipser, S., Franze, U., Geidel S., Dietel, F., Alary, T. (2011). Automatic Segmentation of Veterinary Infrared Images with the Active Shape Approach. *Lecture Notes in Computer Science*. 6688, 435–446.
- [7] Meola, C., Di Maio, R. Roberti, N. (2005) Application of infrared thermography and geophysical methods for defect detection in architectural structures. *Engineering Failure Analysis*. 12, 875–892.
- [8] Mercuri, F., Zammit, U., Orazi, N., Paoloni, S., Marinelli, M., Scudieri, F. (2011). Active infrared thermography applied to the investigation of art and historic artefacts. *J. Therm. Anal. Calorm*. 104, 475-485.
- [9] <https://www.geo-st.ru/upload/iblock/5e3/5e33ac4e8cc53b0df5ecd09d0d8a52c8.pdf>
- [10] <http://endt.ru/cat/equipment/teplovizionnyj-kontrol-flir/dlja-poiska-utechek>
- [11] <https://www.flir.com/products/gf343/>
- [12] Jadin, M.S., ; Ghazali, K.H. (2014). Gas Leakage Detection Using Thermal Imaging Technique. *Computer Modeling and Simulation, UKSIM, 16th International Conference*. 26-28 March 2014.
- [13] Sanden J., Weibring P., Edner H., Svanberg S. (2000). Real-time gas-correlation imaging employing thermal background radiation. *Optics Expres*, 6 (4), 92–103.
- [14] Jovančić, P. (2020). *Tehnička dijagnostika*. Beograd, Srbija: Univerzitet u Beogradu, Rudarsko – geološki fakultet

PROCENA KVALITETA VAZDUHA U ŠAPCU NA OSNOVU FOLIJARNE AKUMULACIJE SO₂ I ČVRSTIH ČESTICA NA LISTOVIMA *LIGUSTRUM SP.*

Mirjana Antonijević Nikolić, ¹Jelena Đuričić Milanković, ¹Bojan Damnjanović¹

¹Akademija strukovnih studija, Odsek za medicinske i poslovno-tehnološke studije, Šabac, nikanto@ptt.rs

Izvod

U ovom radu list biljne vrste *Ligustrum sp.* korišćen je za procenu kvaliteta atmosferskog vazduha u Šapcu na osnovu apsorpcije SO₂ u listu i akumulacije čvrstih čestica na površini lista. Uzorci lista sakupljeni su tokom decembra 2016. godine na 11 lokacija u gradu i 1 lokaciji u prigradskom naselju. Cilj rada je bio da se kvantifikuje količina čestica istaloženih na lišću i spektrofotometrijski odredi sadržaj akumuliranog sumpora u lišću. Tačke uzorkovanja su odabrane u različitim delovima posmatrane urbane oblasti, kako bi se na taj način analizirao uticaj urbanih aktivnosti kao što su sagorevanje fosilnih goriva i uticaj saobraćaja na kvalitet vazduha. Veće količine istaloženih čestica pronađene su na lokacijama koje su locirane bliže prometnim saobraćajnicama, dok je količina akumuliranog sumpora u listu ispitivane biljne vrste bila najveća u uzorku uzetom u blizini najveće gradske toplane.

Ključne reči: kvalitet vazduha, sumpor-dioksid, čvrste čestice, Šabac

Uvod

Zagađenje vazduha predstavlja značajnu pretnju zdravlju ljudi širom sveta, a više od 2 miliona prevremenih smrti svake godine može se pripisati zagađenju vazduha u urbanim sredinama [1]. Usled različitih ljudskih aktivnosti i iz prirodnih izvora u vazduh se emituju brojne zagađujuće supstance, koje mogu biti u čvrstom, tečnom i gasovitom agregatnom stanju. U atmosferu urbanih sredina emituju se iz stacionarnih i mobilnih izvora mnogobrojne antropogene zagađujuće materije [2-4].

Među brojnim gasovitim supstancama nalaze se i jedinjenja sumpora, i sumpor dioksid (SO₂) koji ima ključnu ulogu. U atmosferu se SO₂ emituje iz antropogenih i prirodnih izvora (vulkanski gasovi i emisija anaerobnih sredina), mada se procenjuje da više od 70% globalne emisije SO₂ oslobađaju antropogeni izvori [5]. Glavni antropogeni izvor SO₂ jeste sagorevanje fosilnih goriva koja sadrže sumpor (ugljevi, koks, dizel-gorivo, benzin), zatim, iz rafinerijskih i drugih industrijskih procesa (metalurgija obojenih metala i gvožđa, aluminijuma), sagorevanje biomase ili poljoprivrednog otpada, kao i prerada celuloze i papira [6,7]. U vazduhu nastaje i oksidacijom niževalentnih jedinjenja sumpora antropogenog porekla. Daljom oksidacijom prelazi u sumpor-trioksid odnosno u sumpornu kiselinu ili sulfate [8]. Moćni izvor oslobađanja sumpor-dioksida u urbanim oblastima su i motorna vozila.

Većina biljaka ima akumulativna svojstva, da u svojim organima akumulira toksične materije, sadržane u vazduhu životne sredine. Dospevši unutar lista, sumpor-dioksid se može uključiti u metabolizam formiranja proteina koji sadrže sumpor. Biljke usvajaju sumpor iz zemljišta (SO₄²⁻ i SO₃²⁻ joni) i iz atmosfere u vidu sumpor dioksida (SO₂). Dejstvo sumpor-dioksida na biljke je vrlo složeno. Ovaj gas direktno dejstvuje na ćelije koje regulišu stepen otvaranja stoma na lišću. Već pri niskoj koncentraciji u vazduhu, SO₂ stimuliše otvaranje stoma. Pri visokoj koncentraciji, SO₂ izaziva zatvaranje stoma. Kada su stome otvorene, sumpor-dioksid vrlo brzo ulazi u

unutrašnjost lista. U biljci se sumpor-dioksid rastvara u vodenoj sredini dajući uglavnom bisulfitni i vodonikov jon [8].

Pored brojnih gasovitih supstanci, u atmosferi se nalaze i suspendovane čestice čiji je neiscrpni izvor prašina na putu [9]. To je heterogena mešavina različitih polutanata životne sredine koji su nastali iz mnogobrojnih izvora i identifikacija ovih izvora može biti vrlo složena [10]. Može poticati i od prirodnih i antropogenih aktivnosti. Među prirodnim izvorima najvažniji doprinosi su erozija tla, ponovno suspendovanje čestica tla, vremenske prilike i atmosfersko taloženje [11]. U slučaju ljudskih aktivnosti glavni doprinosi su povećana urbanizacija, industrija, saobraćaj (trošenje guma, kočnica i asfalta), proizvodnja energije, upotreba fosilnog goriva u domaćinstvima, izgradnja i rušenje [12,13]. Zbog velike površine puta prašina se može lako ponovo suspendovati, transportovati i ponovo deponovati [14]. Analiza ulične prašine u mnogim gradovima širom sveta pokazala je visok sadržaj potencijalno štetnih elemenata poput Pb, Zn, Cu, Cd i Cr [15-17]. Neki od ovih elemenata nemaju biološku funkciju, ali su kancerogeni, ekstremno toksičani čak i u veoma niskim koncentracijama [15,16].

Listovi biljke adsorbuju suspendovane čestice i u manjim količinama apsorbuju čestice i gasovite zagađujuće supstance [18,19] Intenzitet apsorpcije gasa ne zavisi samo od fizioloških i biohemijskih karakteristika biljaka, već i od koncentracije polutanata, trajanju njihovog delovanja i uslova životne sredine tokom njihovog rasta [20,21]. Nekoliko studija je procenjivalo različite biljne vrste i njihov kapacitet u "hvatanju" polutanata vazduha [22,23].

Pored standardnih tehnika i metoda monitoringa, koje uključuju instrumentalna merenja kvaliteta različitih medijuma životne sredine, koja su u većini zemalja propisana zakonima i uspostavljena nizom propisa, u poslednjih nekoliko decenija raste interesovanje i za monitoring kvaliteta životne sredine korišćenjem bioloških indikatora/monitora [24]. U ovom radu je korišćen list žbunaste biljke *Ligustrum sp.* za određivanje akumulacije suspendovanih čestica i apsorpcije SO₂ iz vazduha u urbanoj zoni Šapca.

Eksperimentalni deo

Mesto uzorkovanja

Šabac je poznati industrijski grad severozapadne Srbije na čijoj teritoriji se nalaze fabrike za proizvodnju mineralnih đubriva, keramičkih pločica, farmaceutskih proizvoda... kao i brojna druga preduzeća. Industrijska zona je smeštena na lokaciji bivše hemijske industrije HI "Zorka", koja danas postoji u obliku nezavisnih kompanija sa sličnim aktivnostima. Opština Šabac obuhvata površinu od 795 km² i ima 115 884 stanovnika (popis stanovništva, 2011). U urbanoj zoni Šapca živi 70 000 stanovnika.

U ovom radu analiziran je kvalitet životne sredine u gradskoj zoni Šapca upotrebom biljnog materijala. Analizirani su listovi žbunaste biljke iz roda *Ligustrum*. Uzorci su sakupljeni u toku perioda od 11.-13. decembra 2016.godine, na lokacijama u gradu koje su predstavljene na Slici 1. Nakon branja, listovi su smešteni u papirne kese i pažljivo dostavljeni u laboratoriju, izbegavajući stresanje prašine.

Mesto uzorkovanja predstavlja urbano područje na koje utiču različite vrste antropogenih izvora (sagorevanje goriva i saobraćaj).



Slika 1. Mapa Šapca sa označenim lokacijama uzorkovanja

Pripremanje uzoraka i analitička procedura određivanja SO₂

Biljni material za analizu pripremljen je sušenjem prethodno opranih listova u destilovanoj vodi, na 100 °C do konstantne mase.

Osušeni biljni material izmeren je na analitičkoj vagi (između 0,2 i 0,5 g) i spaljivan. Spaljivanje uzoraka je bilo postupno, najpre na temperature od 200 °C u toku 1 časa, a zatim na 500 °C u toku 4 časa. Dobijeni pepeo je ispran destilovanom vodom i filtrat je sakupljen u merni sud od 50 ml. Dobijenim rastvorima dodato je 2 kapi HCl ((1:1; v/v) i 5 ml sredstva za taloženje sulfata (5 % rastvor barijum-hlorida:glicerol:etanol = 1:3:3). Posle 20 minuta vršena su spektrofotometrijska merenja na talasnoj dužini 420 nm [25, 26].

Za konstruisanje kalibracionih dijagram korišćeni su standardni rastvori K₂SO₄ (prethodno je sušen na 180 °C u toku 2 časa). Apsorbancija uzoraka izmerena je upotrebom ThermoScientific Evolution 60S UV-Vis spektrofotometra.

Određivanje akumulacije čvrstih čestica na površini lista biljaka

Za određivanje akumuliranih čestica korišćeni su uzorci listova odmah po transportu u laboratoriju. Čvrste čestice sa površine uzorkovanih listova određene su iz rastvora dobijenog pranjem 50 biljnih listova u destilovanoj vodi. Sa svakog lista su pažljivo-četkicom sprane akumulirane čvrste čestice. Iz rastvora je gravimetrijski određena masa čestica posle uparavanja i sušenja do konstantne mase na 105°C. Akumulirana masa čvrstih čestica izražena je u mg/cm² dan.

Rezultati i diskusija

Rezultati sadržaja sumpora i masa akumuliranih čvrstih čestica u listovima višegodišnje žbunaste biljke *Ligustrum sp.* na 11 lokacija u urbanoj zoni Šapca dati su u Tabeli 1. Za poređenje je uzet uzorak lista iste biljne vrste, u prigradskom naselju Letnjikovac (Slika 1, tačka 12). Dobijene vrednosti sadržaja sumpora u gradskom jezgru nalaze se u intervalu od 0,27 % do 0,47 %, dok je sadržaj u uzorku 12 iznosio 0,19 %. Sama lokacija na kojoj je uzet uzorak 12 je takva da se nalazi

u prigradskom naselju gde su locirane privatne kuće sa individualnim ložištima, nalazi se na blagom uzvišenju u odnosu na grad, uz Letnjikovačku šumu. Saobraćaj je manje frekvencije u odnosu na gradsko jezgro. Rezultati ukazuju na razlike u sadržaju sumpora u listovima biljke u određenim delovima grada koje bi mogle biti uslovljene razlikama u koncentraciji SO₂ u vazduhu.

Tabela 1. Sadržaj sumpora i masa akumuliranih čestica u uzorcima,

Uzorak	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
S [%]	0,32	0,36	0,33	0,47	0,35	0,31	0,34	0,30	0,36	0,27	0,34	0,19
m prašine [x10 ⁻⁶ g/cm ² dan]	5,9	2,1	2,8	1,3	3,5	3,2	0,07	5,7	6,7	2,7	4,7	-

Najveći sadržaj sumpora zabeležen je u uzorku 4, ali je ovo ujedno uzorak sa malim sadržajem prašine. Ovi rezultati se mogu dovesti u vezu sa lokacijom na kojoj je uzet uzorak. Uzorak 4 lociran je u naselju Trkalište u zoni sa manjom frekvencijom saobraćaja u odnosu na samo gradsko jezgro, relativno zaklonjen višespratim zgradama, čime se može objasniti manja količina prašine u odnosu na druge uzorke. Međutim, u neposrednoj blizini smeštena je najveća Toplana u gradu "Trkalište" čiji toplotni izvor čine tri kotlovske jedinice kapaciteta od po 14 MW (42 MW), a kao pogonsko gorivo koristi se i mazut [27]. Mazut kao energent je odmah iza uglja kada je u pitanju emisija SO₂ po jedinici proizvedene energije [28]. U literaturi je potvrđeno da povećana vrednost polutanata u listovima drvenastih biljaka je u direktnoj vezi sa povećanom koncentracijom polutanta u vazduhu [29]. Isti autori navode da je akumulacija SO₂ najveća krajem vegetacione sezone [29]. Kako su vrste roda *Ligustrum* „poluzimzelene“ biljke, odnosno većina listova ostaje na granama tokom zime, samo uzorkovanje ne mora da zavisi od vegetacionog perioda. U eksperimentalnim uslovima biljka *Ligustrum vulgare* L. pokazala je dobru moć folijarne apsorpcije atmosferskog SO₂ naročito u poređenju sa drugim ukrasnim žbunastim vrstama kao što su: *Rhododendron maximum* L., *Rhododendron obtusum japonicum* Wils. cv. Venus. i nekim drvenastim vrstama, kao što je *Fraxinus americana* L. [30]. Najmanji sadržaj sumpora zabeležen je u uzorku 10 lociranom u naselju Benska Bara, koje se sastoji od velikog broja višespratnih stambenih zgrada i locirano je relativno blizu reke Save. Niske vrednosti sumpora u uzorku mogle bi se objasniti potpunim odsustvom individualnih ložišta u samom naselju i okolini, gde je tokom poslednjih decenija sprovedena intenzivna toplifikacija i gasifikacija. U ovom delu grada nalazi se Toplana „Benska Bara“ čiji toplotni izvor čine tri kotlovske jedinice kapaciteta od po 8,2 MW (24,6 MW), a kao pogonsko gorivo koristi se prirodni gas [27]. Sagorevanjem prirodnog gasa ne dolazi do emisije SO₂, osim kada sadrži male količine H₂S [28]. Najveća masa prašine akumulirana u jednom danu po cm² površine lista zabeležena je u uzorku 1 koji je lociran ispred autobuske stanice, što se može objasniti većom frekvencijom saobraćaja u poređenju sa ostalim uzorcima. Najmanja izmerena vrednost je u uzorku 7. Lokacija uzorkovanja nalazi se u sporednoj ulici uz sam Veliki park, tako da slab intenzitet saobraćaja ide u prilog dobijenom rezultatu. Nasupot tome sadržaj S je približan kao i u ostalim uzorcima. Lokacija 8 se takođe nalazi uz Veliki park u veoma frekventnoj ulici u pogledu saobraćaja što rezultira dosta veću masu akumulirane prašine na listovima. Na osnovu rezultata predstavljenih u radu može se zaključiti da je vazduh u gradu sa većim sadržajem SO₂ u odnosu na prigradsko naselje, što se može pripisati uticaju saobraćaja i sagorevanju fosilnih goriva, posebno u delu intenzivnog sagorevanja mazuta, u okolini toplane (uzorak 4). Na osnovu mase akumulirane prašine može se zaključiti da saobraćaj ima presudan uticaj jer utiče na emitovanje suspendovanih čestica i njihovo pokretanje sa površine kolovoza, što je analiza rezultata i potvrdila. U uzorcima iz manje frekventnih ulica ili sa lokacija

koje su zaklonjene nekom barijerom (zelenilo ili zgrade) od ulice (uzorci 2,4,7) dobijene su i manje mase akumulirane prašine.

Zaključak

U radu je analiziran kvalitet vazduha u urbanoj zoni Šapca u odnosu na prigradsko naselje. Analiziran je sadržaj S u listovima žbunaste biljke iz roda *Ligustrum* kao i akumulacija čvrstih čestica na površini lista. Rezultati ukazuju na razlike u sadržaju sumpora u listovima biljke kao posledica razlika u koncentraciji SO₂ u vazduhu. Na osnovu rezultata predstavljenih u radu može se zaključiti da vazduh u gradu ima povećan sadržaj SO₂ u odnosu na prigradsko naselje što se može pripisati sagorevanju fosilnih goriva i saobraćaju. Na suspendovane čestice u vazduhu, praćene preko akumulacije prašine na listu zaključeno je da saobraćaj ima presudan uticaj. Ovaj rad predstavlja polaznu osnovu za buduća istraživanja, gde bi trebalo ispitati statističku povezanost između kvantitativnih vrednosti SO₂ u vazduhu i sumpora u listovima vrste roda *Ligustrum sp.* koja predstavlja pouzdan i reprezentativan uzorak prilikom indirektnog praćenja zagađenosti vazduha.

Literatura

- [1] WHO, (2005). Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide. Global update 2005. Summary of risk assessment.
- [2] Seinfeld, J. H., Pandis, S. N. (1998). *Atmospheric chemistry and physics from air pollution to climate change*, Wiley, New York.
- [3] Tasić, D. M., Rajčić, F. S., Novaković, T. V., Tomašević, N. M. (2001). Contribution to the methodology of dry deposition measurements. *Fresenius Environmental Bulletin*, 10, 305–309.
- [4] Saeedi, M., Li, Y. L., Salmanzadeh, M. (2012). Heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons: pollution and ecological risk assessment in street dust of Tehran. *Journal of Hazardous Materials*, 227–228, 9–17.
- [5] Whelpdale, D.M., Dorling, S.R., Hicks, B.B., Summers, P.W. (1996). Atmospheric process in: Whelpdale D. M., Kaiser M.S. (Eds.), *Global acid deposition assessment. Report Number 106*. World Meteorological Organization Global Atmosphere Watch, Geneva, 7–32.
- [6] Andreae, M.O., Rosenfeld, D. (2008). Aerosol–cloud–precipitation interactions. Part 1. The nature and sources of cloud-active aerosols. *Earth Sci. Rev.*, 89, 13–41.
- [7] Smith S.J., Van Aardenne J., Klimont Z., Andres R.J., Volke A., Delgado Arias S. (2011). Anthropogenic sulfur dioxide emissions: 1850–2005. *Atmos. Chem. Phys.*, 11, 1101–1116.
- [8] Pfenndt, P., (2009) *Hemija životne sredine*, I deo, Zavod za udžbenike, Beograd.
- [9] Lu, X.W., Wang, L.J., Lei, K., Huang, J., Zhai, Z.X. (2009). Contamination assessment of copper, lead, zinc, manganese and nickel in street dust of Baoji, NW China. *Journal of Hazardous Materials*, 161 (2–3), 1058-1062.
- [10] Wong, C.S.C., Li X., Thirnton I. (2006). Urban Environmental Geochemistry of Trace Metals: A Review. *Envir. Pollution*, 142, 1-16.
- [11] Amato, F., Pandolf, M., Escrig, A., Querol, X., Alastueya, A., Pey, J., Perez, N., Hopke, P.K. (2009). Quantifying road dust resuspension in urban environment by Multilinear Engine: A comparison with PMF2. *Atmospheric Environment*, 43 (17), 2770-2780.
- [12] Saeedi, M., Li, L.Y., Salmanzadeh, M. (2012). Heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons: Pollution and ecological risk assessment in street dust of Tehran. *Journal of Hazardous Materials*, 227–228, 9–17.

- [13] Bi, X.Z., Liang, S., Li, X. (2013). A novel in situ method for sampling urban soil dust: Particle size distribution, trace metal concentrations, and stable lead isotopes. *Environmental Pollution*, 177, 48-57.
- [14] Martuzevicius, Kliucininkas L., Prasauskas T., Krugly E., Kauneliene V., Stranberg B. (2011). Resuspension of particulate matter and PAHs from street dust. *Atmospheric Environment*, 45(2), 310-317.
- [15] Ali, M.U., Liu, G., Yousaf, B., Abbas, Q., Ullah, H., Munir, M.A.M., Fu, B. (2017). Pollution characteristics and human health risks of potentially (eco) toxic elements (PTEs) in road dust from metropolitan area of Hefei, China. *Chemosphere*, 181, 111–121.
- [16] Gabarron, M., Faz, A., Acosta, J.A. (2017a). Effect of different industrial activities on heavy metal concentrations and chemical distribution in topsoil and road dust. *Environ. Earth Sci.*, 76, Article number 129.
- [17] Keshavarzi, B., Tazarvi, Z., Rajabzadeh, M.A., Najmeddin, A. (2015). Chemical speciation, human health risk assessment and pollution level of selected heavy metals in urban street dust of Shiraz, Iran. *Atmos. Environ.*, 119, 1–10.
- [18] Nowak, D.J., Civerolo, K.L., Rao, S.T., Sistla, G., Luley, C.J., Crane, D.E. (2000). A modeling study of the impact of urban trees on ozone. *Atmospheric Environment*, 34, 1610–1613.
- [19] Bealey, W.J., McDonald, A.G., Nemitz, E., Donovan, R., Dragosits U., Duffy T.R., Fowler D. (2007). Estimating the reduction of urban PM 10 concentrations by trees within an environmental information system for planners. *Journal of Environmental Management*, 85, 44–58.
- [20] Hwangbo, J. K, Lee, C. S., & Kim, J. H. (2000). Tolerance of several woody plants to sulphur dioxide. *Korean Journal of Biological Sciences*, 4(4), 337-340.
- [21] Cicek A. and Koparal A.S. (2004). Accumulation of sulfur and heavy metals in soil and tree leaves sampled from the surroundings of Tunçbilek Thermal Power Plant, *Chemosphere*, 57(8),1031-1036.
- [22] Sawidis, T., Breuste, J., Mitrovic, M., Pavlovic, P., Tsigaridas, K. (2011). Trees as bioindicator of heavy element pollution in three European cities. *Environmental Pollution*, 159, 3560-357.
- [23] Dzierzanowski, K., Popek, R., Gawronska, H., Sæbø, A., Gawronski, S.W. (2011). Deposition of particulate matter of different size fractions on leaf surfaces and in waxes of urban forest species. *International Journal of Phytoremediation*, 13, 1037–1046.
- [24] Bargagli, R. (1998). *Trace elements in terrestrial plants: an ecophysiological approach to biomonitoring and biorecovery*. Springer, Heidelberg.
- [25] Воскресенская О.Л., Скочилова Е.А., Копылова Т.И., Алябышева Е.А., Сарбаева Е.В. (2005). *Организмы и среда: Факториальная экология*, Йошкар-Ола.
- [26] APHA (2017). *Standard methods for the examination water and wastewater*, 23th ed., Washington, SAD.
- [27] <https://toplanasabac.rs/>
- [28] Čepić., Z. (2017). Matematičko modelovanje sagorevanja pšenične slame u nepokretnom sloju sa aspekta uticaja promene parametara procesa, doktorska disertacija, Novi Sad.
- [29] Sklyarenko, A. V. and Bessonova V. P. (2018). Accumulation of sulfur and glutathione in leaves of woody plants growing under the conditions of outdoor air pollution by sulfur dioxide. *Biosyst. Divers.*, 26(4): 334-338.
- [30] Roberts, R. B. (1974). Foliar sorption of atmospheric sulphur dioxide by woody plants. *Environmental Pollution (1970)*. 7(2): 133-140.



ISBN:978-86-7031-567-9