

UNIVERZITET U BEOGRADU

HEMIJSKI FAKULTET

Kristina B. Kasalica

**EFIKASNOST ADSORPCIJE, FOTOKATALIZE I
MIKROBIOLOŠKIH TRANSFORMACIJA U REMEDIJACIJI
VODE ZAGAĐENE PERFLUOROVANIM JEDINJENJIMA**

doktorska disertacija

Beograd, 2026

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY

Kristina B. Kasalica

**EFFICIENCY OF ADSORPTION, PHOTOCATALYSIS, AND
MICROBIAL TRANSFORMATIONS IN THE
REMEDICATION OF WATER CONTAMINATED WITH
PERFLUORINATED COMPOUNDS**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2026

Mentori:

dr Vladimir Beškoski,
redovni profesor Univerziteta u Beogradu, Hemijskog fakulteta

dr Marija Lješević,
viši naučni saradnik Univerziteta u Beogradu, Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju

Članovi komisije:

dr Dubravka Relić,
vanredni profesor Univerziteta u Beogradu, Hemijskog fakulteta

dr Ljubodrag Vujisić,
vanredni profesor Univerziteta u Beogradu, Hemijskog fakulteta

dr Ana Medić,
docent Univerziteta u Beogradu, Medicinskog fakulteta

dr Nenad Radić,
naučni savetnik Univerziteta u Beogradu, Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju

dr Bojana Marković,
viši naučni saradnik Univerziteta u Beogradu, Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju

Datum odbrane:

Zahvalnica

Ova doktorska disertacija urađena je na Katedri za biohemiju Univerziteta u Beogradu – Hemijskog fakulteta. Tokom izrade disertacije, podrška, znanje i iskustvo brojnih kolega značajno su doprineli mom naučnom i profesionalnom razvoju. Svima koji su na bilo koji način doprineli izradi ove disertacije dugujem iskrenu zahvalnost.

Veliku zahvalnost dugujem svojim mentorima, dr Mariji Lješević i dr Vladimiru Beškoskom. Mariji posebno hvala na svemu što smo zajedno prošle tokom izrade ove disertacije, na svakom razgovoru, savetu i pomoći, kao i na strpljenju za sva moja pitanja, nedoumice i, verovatno, povremeno preterano dosađivanje. Hvala joj što je uvek imala vremena za mene i što sam u svakom trenutku mogla da joj se obratim. Profesoru Vladimiru hvala na spremnosti da sasluša, pomogne i pronade rešenje kada god je bilo potrebno, kao i na organizaciji i sigurnosti koju je unosio u sve što smo radili. Oboje su, svako na svoj način, značajno obeležili moj put kroz doktorske studije i mnogo doprineli mom naučnom i profesionalnom razvoju.

Posebno hvala dr Nenadu Radiću, koji je od samog početka bio uz mene i kome sam uvek mogla da se obratim za pomoć, savet ili podršku. Hvala mu na nesebičnosti, strpljenju i vremenu koje mi je pružao bez mnogo pitanja, kao i na tome što je bio tu onda kada je bilo najpotrebnije. Njegova pomoć mi je mnogo značila tokom svih ovih godina.

Iskreno zahvaljujem dr Gordani Gojgić-Cvijović, dr Ivanki Karadžić, dr Ani Medić i dr Bojani Marković na pomoći tokom rada, korisnim savetima, izdvojenom vremenu i spremnosti da zajedno rešavamo nedoumice koje su se pojavljivale tokom izrade ove disertacije. Njihovo znanje, iskustvo i kolegijalnost značajno su mi olakšali rad i bili dragoceni tokom čitavog procesa.

Iskreno zahvaljujem prof. dr Ljubodragu Vujisiću i dr Dubravki Relić na dobronamernim savetima, korisnim komentarima i spremnosti da pomognu kad god je to bilo potrebno. Hvala im na vremenu i pažnji koje su mi posvećivali tokom izrade ove disertacije.

Hvala mojoj ekipi iz laboratorije, Sneži, Srkiju, Jeci, Nikol i Mili, na pomoći, dobronamernim savetima i svakodnevnom društvu koje je rad u laboratoriji činilo lakšim i prijatnijim. Hvala i mojim devojkama, Aleksandri, Kiki, Branki, Mari i Nati, sa kojima sam delila i lepe i manje lepe trenutke tokom svih ovih godina. Posebno hvala mojoj Nati, čije su prisustvo, razgovori i pomoć učinili da čitav ovaj period bude mnogo podnošljiviji.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici, mami, tati, Vidoju, Raletu i Tijani, koja je sve ove godine bila moje sigurno mesto. Hvala vam na ljubavi, razumevanju i strpljenju, veri u mene i onda kada sam sama u sebe sumnjala, strpljenju za sve moje brige i nedoumice i što ste sa mnom delili i one teške dane i radost svakog, pa i najmanjeg uspeha.

Ovu disertaciju posvećujem vama.

EFIKASNOST ADSORPCIJE, FOTOKATALIZE I MIKROBIOLOŠKIH TRANSFORMACIJA U REMEDIJACIJI VODE ZAGAĐENE PERFLUOROVANIM JEDINJENJIMA

Sažetak

U okviru rada ispitani su različiti pristupi remedijaciji voda kontaminiranih per- i polifluoroalkilovanim supstancama (PFAS), sa perfluorooktanskom kiselinom (PFOA) kao model jedinjenjem, primenom adsorpcionih, fotokatalitičkih i bioloških metoda. Adsorpcija na aktivnom uglju i jonoizmenjivačkim smolama pokazala se efikasnom, pri čemu su Amberlite IRA 402 i praškasti aktivni ugalj K/B ostvarili najbolje performanse. Temkinov model najbolje opisuje adsorpciju na oba sorbenta, što ukazuje na višeslojnu adsorpciju na heterogenoj površini, dok vrednosti energije adsorpcije prema Dubinin-Radushkevich modelu potvrđuju dominantnu fizisorpciju. Razvijeni imobilisani fotokatalizatori na bazi TiO_2 i TiO_2 dopiranog redukovanim grafen-oksdom (rGO) pokazali su visoku efikasnost u degradaciji PFOA, pri čemu je po prvi put demonstrirana primena plazma elektrolitičke oksidacije za njihovu sintezu. Prisustvo rGO unapredilo je fotokatalitičku aktivnost zahvaljujući efikasnijem razdvajanju elektronsko-šupljinskih parova, većem broju kiseoničnih vakanci i užem energetsom procepu. Fotokatalitički tretman doveo je do nastanka kraćih perfluorovanih jedinjenja i oslobađanja fluoridnih jona, uz smanjenje toksičnosti tretiranih uzoraka. Proučavani su i adaptacioni odgovori bakterije *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca* pri izlaganju PFOA. Utvrđene su promene u rastu, ćelijskoj membrani, metabolizmu i antioksidativnim mehanizmima, što pruža bolji uvid u interakcije mikroorganizama sa PFAS jedinjenjima. Rezultati potvrđuju da je kombinovanje adsorpcionih i fotokatalitičkih procesa, uz razumevanje odgovora mikroorganizama, perspektivan pristup remedijaciji voda zagađenih PFAS jedinjenjima.

Ključne reči: PFAS, PFOA, adsorpcija, fotokataliza, TiO_2 , redukovani grafen-oksdom, bioremedijacija, remedijacija voda.

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Biohemija

UDK:

EFFICIENCY OF ADSORPTION, PHOTOCATALYSIS, AND MICROBIAL TRANSFORMATIONS IN THE REMEDIATION OF WATER CONTAMINATED WITH PERFLUORINATED COMPOUNDS

Abstract

This study examined different approaches to the remediation of water contaminated with per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS), with perfluorooctanoic acid (PFOA) as a model compound, using adsorptive, photocatalytic and biological methods. Adsorption on activated carbon and ion-exchange resins was efficient, with Amberlite IRA 402 and powdered activated carbon K/B showing the best performance. The Temkin model best described adsorption on both sorbents, indicating multilayer adsorption on a heterogeneous surface, while Dubinin-Radushkevich adsorption energies confirmed that physisorption was the dominant mechanism. The immobilized TiO₂ and reduced graphene oxide (rGO)-doped TiO₂ photocatalysts achieved high PFOA degradation efficiency, and the use of plasma electrolytic oxidation for their synthesis was demonstrated for the first time. The presence of rGO enhanced photocatalytic activity through more efficient separation of electron-hole pairs, a higher number of oxygen vacancies and a narrower band gap. Photocatalytic treatment produced shorter-chain perfluorinated compounds and released fluoride ions, while reducing the toxicity of the treated samples. The adaptive responses of the bacterium *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* to PFOA exposure were also investigated. Changes in growth, cell membrane, metabolism and antioxidant mechanisms were identified, providing better insight into microbial interactions with PFAS. The results confirm that combining adsorption and photocatalytic processes, together with an understanding of microbial responses, is a promising approach to the remediation of PFAS-contaminated water.

Keywords: PFAS, PFOA, adsorption, photocatalysis, TiO₂, reduced graphene oxide, bioremediation, water remediation.

Scientific field: Chemistry

Specific scientific field: Biochemistry

UDK:

Lista skraćenica i akronima

ABC – transporteri sa ATP-vezujućom kasetom (od engl. ATP-binding cassette transporters)

ABTS – 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonska kiselina)

AC – aktivni ugalj (od engl. activated carbon)

AcnA – akonitaza A

AcnB – akonitaza B

AFFF – vodena pena za gašenje požara (od engl. aqueous film-forming foam)

ALT – alanin-aminotransferaza

AOP – napredni oksidacioni procesi (od engl. advanced oxidation processes)

AST – aspartat-aminotransferaza

AstA – arginin sukciniltransferaza

ATP – adenzin-trifosfat (od engl. adenosine triphosphate)

BE – vezne energije (od engl. binding energies)

CAT – katalaza (od engl. catalase)

CheY – regulator odgovora hemotaksije (od engl. chemotaxis response regulator)

DH – dehidrogenaza

DNK – dezoksiribonukleinska kiselina

DRS – spektroskopija difuzne refleksije (od engl. diffuse reflectance spectroscopy)

ED – Entner-Doudoroffov put

Eg – optički energetska procepa (od engl. optical band gap)

ESI – elektrosprej jonizacija (od engl. electrospray ionization)

FADH₂ – flavin-adenin-dinukleotid (redukovani oblik) (od engl. flavin adenine dinucleotide, reduced form)

FESEM/EDS – skenirajuća elektronska mikroskopija sa emisijom polja i energetski-disperzivnom rendgenskom spektroskopijom (od engl. field emission scanning electron microscope with energy dispersive X-ray spectroscopy)

FMN – flavin-mononukleotid (od engl. flavin mononucleotide)

FTAL – fluorotelomerni aldehid (od engl. fluorotelomer aldehyde)

FTCA – fluorotelomerna karboksilna kiselina (od engl. fluorotelomer carboxylic acid)

FTOH – fluorotelomerni alkoholi (od engl. fluorotelomer alcohols)

FTUCA – fluorotelomerna nezasićena karboksilna kiselina (od engl. fluorotelomer unsaturated carboxylic acid)

GAC – granulisani aktivni ugalj (od engl. granular activated carbon)

GenX – trgovački naziv za HFPO-DA (heksafluoropropilen-oksidi-dimer kiselina) (od engl. hexafluoropropylene oxide dimer acid)

HPLC – tečna hromatografija visokih performansi (od engl. high performance liquid chromatography)

HU – histonu-sličan protein (od engl. histone-like protein)

IER – jonoizmenjivačke smole (od engl. ion exchange resins)

iRNK – informaciona ribonukleinska kiselina

KEGG – Kjotska enciklopedija gena i genoma (od engl. Kyoto encyclopedia of genes and genomes)

LC-PFCAs – Dugolančane perfluorokarboksilne kiseline (od engl. long-chain perfluorocarboxylic acids)

LPS – lipopolisaharid

M2PFOA – perfluoro-n-[1,2-¹³C₂]oktanska kiselina

M3PFBA – perfluoro-n-[2,3,4-¹³C₃]butanska kiselina

MPFDA – perfluoro-n-[1,2-¹³C₂]dekanska kiselina

MPFOS – natrijum perfluoro-1-[1,2,3,4-¹³C₄]oktansulfonat

NADPH – nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat (od engl. nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)

PAC – aktivni ugalj u prahu (od engl. powdered activated carbon)

PEO – plazma-elektrolitička oksidacija (od engl. plasma electrolytic oxidation)

PFAA – perfluoroalkilovane kiseline (od engl. perfluoroalkyl acids)

PFAS – per- i polifluoroalkilovane supstance (od engl. per- and polyfluoroalkyl substances)

PFBA – perfluorobutanska kiselina (od engl. perfluorobutanoic acid)

PFBS – perfluorobutan-sulfonska kiselina (od engl. perfluorobutane sulfonic acid)

PFDA – perfluorodekanska kiselina (od engl. perfluorodecanoic acid)

PFD_oA – perfluorododekanska kiselina (od engl. perfluorododecanoic acid)

PFD_oS – natrijum-perfluoro-1-dodekansulfonat (od engl. sodium perfluoro-1-dodecanesulfonate)

PFDS – natrijum-perfluoro-1-dekansulfonat (od engl. sodium perfluoro-1-decanesulfonate)

PFHpA – perfluoroheptanska kiselina (od engl. perfluoroheptanoic acid)

PFHpS – natrijum-perfluoro-1-heptansulfonat (od engl. sodium perfluoro-1-heptanesulfonate)

PFH_xA – perfluoroheksanska kiselina (od engl. perfluorohexanoic acid)

PFH_xDA – perfluoroheksadekanska kiselina (od engl. perfluorohexadecanoic acid)

PFH_xS – perfluoroheksan-sulfonat (od engl. perfluorohexane sulfonate)

PFNA – perfluorononanska kiselina (od engl. perfluorononanoic acid)

PFNS – natrijum-perfluoro-1-nonansulfonat (od engl. sodium perfluoro-1-nonanesulfonate)

PFOA – perfluorooktanska kiselina (od engl. perfluorooctanoic acid)

PFODA – perfluorooktadekanska kiselina (od engl. perfluorooctadecanoic acid)

PFOS – perfluorooktan-sulfonska kiselina (od engl. perfluorooctane sulfonate)

PFOSF – perfluorooktansulfonil-fluorid (od engl. perfluorooctane sulfonyl fluoride)

PFPeA – perfluoropentanoična kiselina (od engl. perfluoropentanoic acid)

PFPeS – natrijum-perfluoro-1-pentansulfonat (od engl. sodium perfluoro-1-pentanesulfonate)

PFPrA – perfluoropropionska kiselina (od engl. perfluoropropanoic acid)

PFTeDA – perfluorotetradekanska kiselina (od engl. perfluorotetradecanoic acid)

PFTTrDA – perfluorotridekanska kiselina (od engl. perfluorotridecanoic acid)

PFUdA – perfluoroundekanska kiselina (od engl. perfluoroundecanoic acid)

PG – peptidoglikan

pNPP – p-nitrofenil-palmitat (od engl. para-nitrophenyl palmitate)

POPs – perzistentne organske zagađujuće supstance (od engl. persistent organic pollutants)

PTFE – politetrafluoroetilen (od engl. polytetrafluoroethylene)

Pvd – pioverdin

PVDF – poliviniliden-fluorid (od engl. polyvinylidene fluoride)

rGO – redukovani grafen-oksidi (od engl. reduced graphene oxide)

RNK – ribonukleinska kiselina

ROS – reaktivne kiseonične vrste (od engl. reactive oxygen species)

rRNK – ribozomalna ribonukleinska kiselina

SOD – superoksid-dismutaza (od engl. superoxide dismutase)

TCA – ciklus trikarboksilnih kiselina (od engl. tricarboxylic acid cycle)

TFA – trifluorosirćetna kiselina (od engl. trifluoroacetic acid)

U – jedinica enzimске aktivnosti (od engl. unit)

XPS – rendgenska fotoelektronska spektroskopija (od engl. X-ray photoelectron spectroscopy)

XRD – rendgenska difrakcija (od engl. X-ray diffraction)

Sadržaj

1. Uvod	1
2. Pregled literature.....	3
2.1. Istorijat per- i polifluoroalkilovanih supstanci.....	4
2.2. Primena PFAS	5
2.3 Hemijska klasifikacija PFAS	6
2.4. Struktura i fizičko-hemijske osobine PFAS.....	7
2.5. PFAS u životnoj sredini	10
2.6. PFAS u otpadnim vodama	12
2.7. Uticaj PFAS na zdravlje ljudi	14
2.7.1. Uticaj na imuni sistem.....	14
2.7.2. Hepatotoksičnost (oštećenje jetre).....	15
2.7.3. Hormonalni i reproduktivni efekti.....	15
2.7.4. Kancerogeni potencijal.....	15
2.7.5. Neurotoksičnost i razvojni efekti	15
2.8. Remedijacija PFAS	16
2.8.1. Membranske filtracije pod visokim pritiskom	18
2.8.2. Elektrokoagulacija.....	18
2.8.3. Frakcionisanje pomoću pene i ozona	19
2.8.4. Adsorpcione metode.....	19
2.8.4.1. Jonoizmenjivačke smole.....	20
2.8.4.2. Aktivni ugalj	23
2.8.4.3. Biočar.....	24
2.8.4.4. Gline	25
2.8.5. Elektrohemijska oksidacija.....	25
2.8.6. Netermalna plazma.....	26
2.8.7. Napredni oksidacioni procesi	26
2.8.7.1. Fotokataliza.....	27
2.8.8. Biodegradacija.....	30
2.8.8.1. Mehanizmi mikrobiološke transformacije	33
2.8.8.2. Metabolički putevi biodegradacije PFAS proizvoda	35
2.8.8.3. Faktori koji utiču na mikrobiološku degradaciju.....	38

2.8.9.4. Metode za istraživanje odgovora mikroorganizama na zagađujuću supstancu na molekulskom nivou	39
3. Materijali i metode.....	41
3.1. Metode za ispitivanje adsorpcije PFOA.....	42
3.1.1. Osiguranje kvaliteta.....	42
3.1.2. Hemikalije	42
3.1.3. Ispitivanje adsorpcije PFOA	42
3.1.4. Izotermni modeli.....	42
3.1.5. Tečna hromatografija kuplovana sa tandemnom masenom spektrometrijom.....	43
3.2. Metode za ispitivanje fotolitičke degradacije PFOA	44
3.2.1. Hemikalije	44
3.2.2. Priprema fotokatalizatora	44
3.2.3. Karakterizacija fotokatalizatora	44
3.2.4. Ispitivanje fotolitičke degradacije PFOA	45
3.2.5. Kvantifikacija PFOA i perfluorovanih kiselina kraćeg lanca primenom tečne hromatografije sa tandemskom masenom spektrometrijom (LC–MS/MS).....	46
3.2.6. Analiza fluoridnih jona.....	47
3.2.7. Non-target analiza uzoraka dobijenih nakon fotokatalize	47
3.2.8. Fotoluminiscentna merenja	48
3.2.9. Ekotoksičnost	48
3.3. Metode za ispitivanje biodegradacije PFOA	48
3.3.1. Uzorkovanje i selekcija mikrobnih zajednica	48
3.3.2. Izolovanje čistih kultura	49
3.3.4. Praćenje rasta mikroorganizama	50
3.3.5. Analiza respiracije.....	50
3.3.6. Kvantifikacija PFOA i perfluorovanih kiselina kraćeg lanca primenom tečne hromatografije sa tandemskom masenom spektrometrijom (LC–MS/MS).....	50
3.3.7. Određivanje siderofora i piocijanina	51
3.3.8. Priprema proteinskog ekstrakta	51
3.3.9. Određivanje enzimskih aktivnosti	52
3.3.10. Maseno-spektrometrijska analiza proteoma	52
3.3.11. Analiza podataka	52
4. Rezultati i diskusija.....	54
4.1. Adsorpcija PFOA.....	55

4.2. Rezultati fotokatalitičke degradacije PFOA	63
4.2.1. Karakterizacija fotokatalizatora	63
4.2.2. Fotokatalitička degradacija PFOA	72
4.2.3. Non target LC-MS/MS analiza produkata degradacije PFOA	78
4.2.4. Mehanizam degradacije PFOA	80
4.2.5. Adsorpcija PFOA na površini prevlaka.....	83
4.2.6. Kinetički faktori	83
4.2.7. Stabilnost prevlaka	84
4.2.8. Ekotoksičnost produkata degradacije PFOA.....	85
4.3. Biodegradacija PFOA	85
4.3.1. Izolovanje mikroorganizama tolerantnih na visoke koncentracije PFOA.....	85
4.3.3. Uticaj PFOA na aktivnost čistih sojeva.....	88
4.3.4. Rast <i>Pseudomonas chlororaphis</i> podvrsta <i>aurantiaca</i> tretiranog sa PFOA.....	91
4.3.5. Uticaj PFOA na aktivnost enzima	95
4.3.6. Proteomski odgovor <i>Pseudomonas chlororaphis</i> subsp. <i>aurantiaca</i> na izlaganje PFOA	96
4.3.6.1. Promena strukture ćelijskog zida i spoljašnje membrane u PFOA-tretiranoj kulturi	99
4.3.6.2. Redoks homeostaza	104
4.3.6.3. Homeostaza gvožđa i sumpora	108
4.3.6.4. Izmenjena obrada proteina.....	108
4.3.6.5. Modulacija metabolizma ključnih biomolekula	110
4.3.6.6. Odgovor virulentnosti.....	111
5. Zaključak	113
6. Literatura.....	116

1. Uvod

Remedijacija PFAS (per- i polifluoroalkilovane supstance) predstavlja jedan od najvećih izazova savremene hemije životne sredine zbog izuzetne stabilnosti C–F veze, velike raznovrsnosti ovih jedinjenja i složenosti matriksa u kojima se javljaju. Zbog toga ne postoji jedinstvena tehnologija koja je podjednako efikasna za sve tipove kontaminacije, već se savremeni pristupi zasnivaju na kombinovanju više komplementarnih metoda u okviru jedinstvenog sistema tretmana. Osnovni koncept remedijacije zasniva se na tri uzastopna koraka, koji obuhvataju izdvajanje PFAS iz vode, njihovo koncentrisanje u što manju zapreminu i konačnu razgradnju. U prvoj fazi najčešće se primenjuju adsorpcija na aktivnom uglju, jonoizmenjivačke smole ili membranski procesi, dok se u završnoj fazi koriste destruktivne tehnologije, kao što su elektrohemijska oksidacija, plazma, fotokataliza i drugi napredni oksidacioni procesi. Ovakav pristup omogućava veću efikasnost uklanjanja i razgradnje PFAS, uz manju potrošnju energije i niže operativne troškove u odnosu na primenu pojedinačnih tehnologija.

U okviru ove doktorske disertacije ispitivani su različiti pristupi remedijaciji voda kontaminiranih PFAS jedinjenjima, korišćenjem PFOA (perfluorooktanska kiselina) kao model jedinjenja. Pored adsorpcionih i fotokatalitičkih metoda, ispitan je i biološki pristup sa ciljem procene potencijala mikroorganizama u procesima remedijacije i sagledavanja njihovih odgovora na prisustvo PFAS jedinjenja.

Analizirana je efikasnost adsorpcije PFOA na različitim sorbentima, uključujući aktivni ugalj i jonoizmenjivačke smole. Rezultati su pokazali da su svi ispitivani materijali ostvarili visoku efikasnost uklanjanja, pri čemu su se kao najefikasniji izdvojili Amberlite IRA 402 i praškasti aktivni ugalj K/B. Modelovanje adsorpcionih izoterma primenom četiri različita modela ukazalo je na dominaciju fisorpcije, pri čemu je proces vođen višeslojnom adsorpcijom na heterogenoj površini. Ovi nalazi potvrđuju da adsorpcija predstavlja pouzdan i primenljiv pristup za uklanjanje PFAS jedinjenja iz kontaminiranih voda.

Nakon adsorpcionih metoda remedijacije, fokus je bio na razvoju i ispitivanju naprednih fotokatalitičkih materijala za degradaciju PFOA. Po prvi put su ispitani imobilisani fotokatalizatori na bazi TiO_2 i rGO-dopiranog TiO_2 , koji su sintetisani metodom plazma elektrolitičke oksidacije na titanijumskim supstratima. Dobijeni rezultati pokazali su da rGO-dopirani TiO_2 sistemi imaju značajno veću fotokatalitičku aktivnost u odnosu na čisto TiO_2 , što se pripisuje sinergijskom efektu između rGO i TiO_2 , smanjenju širine zabranjene zone i smanjenoj rekombinaciji elektronsko-šupljinskih parova. Pored toga, povećan sadržaj rGO doprinosi većem broju kiseoničnih vakanci, što unapređuje adsorpciju PFOA i ukupnu efikasnost degradacije. Proces degradacije odvija se putem visoko reaktivnih radikala i uključuje postepeno skraćivanje perfluorovanog lanca, uz formiranje kraćih perfluorovanih kiselina i fluoridnih jona. Takođe, utvrđeno je smanjenje toksičnosti nakon tretmana, što dodatno potvrđuje potencijal ovih materijala za praktičnu primenu.

Kako bi stekli uvid u biološki aspekt interakcije mikroorganizama sa PFOA, proučavan je adaptacioni mehanizam bakterije *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca*. Izloženost PFOA dovela je do usporenog rasta i produžene lag faze, što ukazuje na stresne uslove za ćelije. Komparativna proteomska analiza otkrila je niz promena u ćelijskim procesima, uključujući modifikacije u strukturi i funkciji ćelijske membrane, poremećaje u homeostazi metalnih jona, naročito gvožđa, kao i promene u centralnim metaboličkim putevima povezanim sa metabolizmom lipida. Takođe je uočeno povećano formiranje reaktivnih kiseoničnih vrsta i aktivacija antioksidativnih mehanizama. Ovi rezultati pružaju dublji uvid u mehanizme preživljavanja mikroorganizama u prisustvu PFAS jedinjenja i mogu poslužiti kao osnova za razvoj biotehnoških strategija u remedijaciji.

Sprovedena istraživanja pružaju sveobuhvatan pristup problemu uklanjanja PFAS, iz voda, kombinujući efikasne adsorpcione metode, napredne fotokatalitičke procese i razumevanje bioloških odgovora mikroorganizama na ove perzistentne zagađujuće supstance.

2. Pregled literature

2.1. Istorijat per- i polifluoroalkilovanih supstanci

Per- i polifluoroalkilovane supstance (eng. *per- and polyfluoroalkyl substances*, PFAS), nekada su karakterisane kao „čudesne hemikalije“, dok se danas nazivaju „večnim hemikalijama“ jer predstavljaju globalni ekološki izazov (Slika 1) (González-Rubio *et al.*, 2021; Perera & Meegoda, 2024).

Kako bi se istorija ovih jedinjenja sagledala, potrebno je krenuti od samih temelja PFAS hemije, tj. od 1886. godine kada je sintetisan ugljen-tetrafluorid (CF₄), najjednostavniji perfluorouglenik. Zatim se 6. aprila 1938. godine dogodila velika prekretnica, u laboratoriji kompanije DuPont (Sjedinjene Američke Države), hemičar Roy J. Plunkett, sasvim slučajno otkriva politetrafluoroetilen (eng. *polytetrafluoroethylene*, PTFE). Ovo slučajno otkriće dovelo je do razvoja Teflona, materijala koji nakon toga nalazi primenu u brojnim industrijskim oblastima. Tokom Drugog svetskog rata, PTFE je imao ključnu primenu u okviru Projekta Manhattan, gde je korišćen zbog svoje otpornosti na korozivno dejstvo uranijum-heksafluorida tokom procesa razdvajanja izotopa uranijuma (Gaines, 2023).

Nakon Drugog svetskog rata, 1940-tih i 1950-tih godina, velike svetske kompanije poput 3M i Du Pont, počele su sa masovnom proizvodnjom dugolančanih PFAS, naročito perfluorooktansulfonske kiseline (eng. *perfluorooctane sulfonate*, PFOS) i perfluorooktanske kiseline (eng. *perfluorooctanoic acid*, PFOA). Ova jedinjenja postala su sastavni deo velikog broja potrošačkih i industrijskih proizvoda (Dodds *et al.*, 2021; Gaber, Bero & Woodruff, 2023).

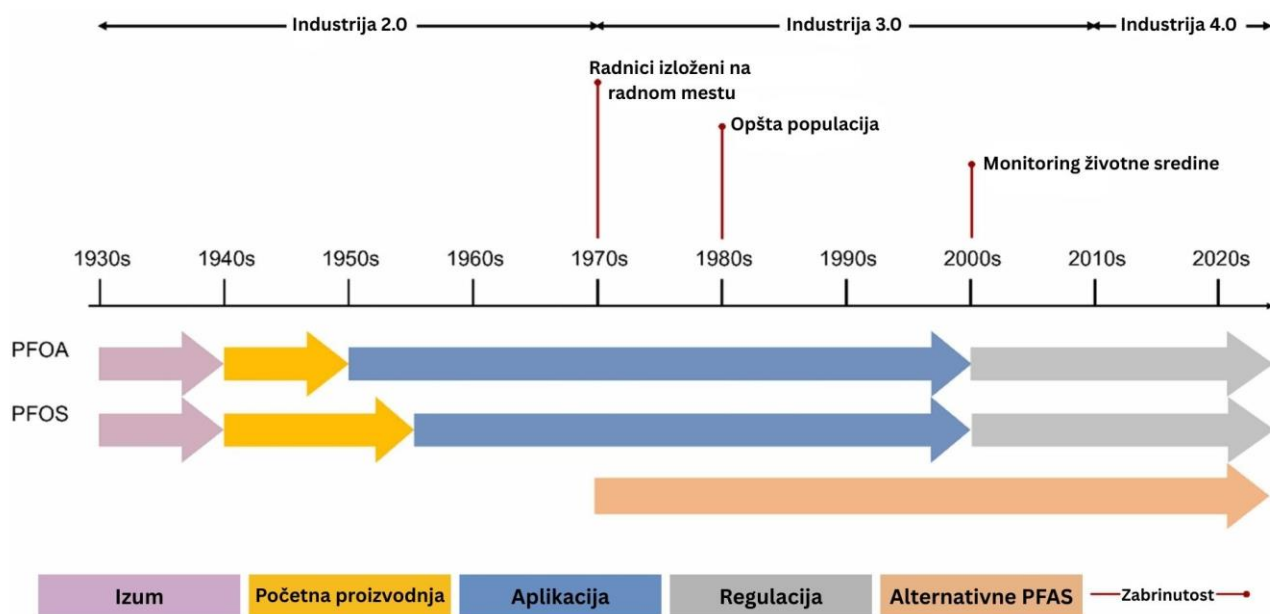
Revolucija u protivpožarnoj zaštiti dogodila se 1960-tih godina, razvojem vodene pene za gašenje požara (eng. *aqueous film-forming foam*, AFFF) koja je sadržala PFAS (Dodds *et al.*, 2021; Perera & Meegoda, 2024). Tokom ovog perioda, jedinstvena sposobnost PFAS jedinjenja da odbijaju i ulje i vodu učinila ih je nezamenljivim surfaktantima u brojnim industrijama širom sveta (Benaafi & Bafaqeer, 2024).

Do kraja 20. veka, akumulirali su se naučni dokazi o toksičnosti i bioakumulativnoj prirodi ovih supstanci. Istraživanja su pokazala da PFAS jedinjenja nisu samo izuzetno otporna na razgradnju u životnoj sredini, već su sposobna i za transport na velike udaljenosti, zbog čega su detektovana u divljim životinjama u udaljenim regionima poput Arktika (Giesy and Kannan, 2002; Dodds *et al.*, 2021).

Početkom 21. veka povećana svest naučne i javne zajednice o štetnosti ovih supstanci dovodi do međunarodne regulacije PFAS jedinjenja. Sa početkom 2000-ih godina, vodeći proizvođači započeli su dobrovoljno povlačenje dugolančanih PFAS jedinjenja iz proizvodnje (Dodds *et al.*, 2021; Mashima, 2025).

Na četvrtoj konferenciji Stokholmske konvencije, 2009. godine, PFOS, njegove soli, kao i perfluorooktansulfonil-fluorid (eng. *perfluorooctane sulfonyl fluoride*, PFOSF), klasifikovane su kao perzistentne organske zagađujuće supstance (eng. *persistent organic pollutants*, POPs). Zatim, 2019. godine na listu dospeva PFOA i srodna jedinjenja. Godine 2022., perfluorheksansulfonat (eng. *perfluorohexane sulfonate*, PFHxS), njegove soli i PFHxS-srodna jedinjenja takođe su uključeni na listu. Najnovija izmena usledila je 2025. godine, kada su na dvanaestoj konferenciji članica Stokholmske konvencije u Aneks A uvrštene dugolančane perfluorokarboksilne kiseline (eng. *long-chain perfluorocarboxylic acids*, LC-PFCAs; C9–C21), njihove soli i srodna jedinjenja, čime je dodatno proširen međunarodni regulatorni okvir za kontrolu PFAS jedinjenja. Danas se regulatorni okvir fokusira na upravljanje nasleđem „večnih hemikalija“, rešavanje problema kontaminacije vode za piće i procenu bezbednosti savremenih kratkolančanih alternativa koje su zamenile prethodna dugolančana jedinjenja (Brennan *et al.*, 2021; Mashima, 2025; Junqué *et al.*, 2026). O usmeravanju pažnje ka PFAS jedinjenjima male molekulske mase (<1000 Da), posebno svedoče nove regulative za vodu za piće, kao što su

Nacionalna primarna regulativa SAD za vodu za piće iz 2024. godine (eng. U.S. EPA National Primary Drinking Water Regulation) i EU Direktiva o vodi za piće (2020/2184). U skladu sa tim, Sjedinjene Američke Države usvojile su obavezujuće nacionalne standarde za odabrana PFAS jedinjenja u vodi za piće, dok u Evropskoj uniji od 12. januara 2026. godine postaju obavezne granične vrednosti za „ukupne PFAS” (0,5 µg/L) i „zbir PFAS“ (0,1 µg/L) (Urbańska-Kozłowska, Wolska and Solipiwko-Pieścik, 2025; Mallek and Barcelo, 2026).



Slika 1. Hronologija PFAS jedinjenja u pogledu izuma, proizvodnje, primene, regulativa, alternativa i zabrinutosti. Preuzeto od (Wee and Aris, 2023).

2.2. Primena PFAS

PFAS jedinjenja se koriste u velikom broju industrija: hemijskoj, tekstilnoj, elektronskoj, vojnoj i vazduhoplovnoj (Wee and Aris, 2023). Značajnu ulogu imaju i u građevinskoj, automobilskoj industriji, kao i u proizvodnji poluprovodnika, medicinske opreme i biotehnologije (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025; Narasimhappa *et al.*, 2025). Široko su rasprostranjeni u potrošačkim proizvodima, pa se tako mogu naći u ambalažama za hranu, poput kutija za picu, kesama za pripremu hrane u mikrotalasnoj pećnici, nelepljivom posuđu, kozmetici, vodootpornoj odeći i tepisima (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025; Narasimhappa *et al.*, 2025).

Ova njihova široka upotreba je posledica jedinstvenih fizičko-hemijskih osobina, koje potiču od jedne od najjačih (oko 480 kJ/mol) i najinertnijih veza u organskoj hemiji, veze ugljenika i fluora (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025). Ovakva struktura im obezbeđuje izuzetnu hemijsku i termičku stabilnost, kao i otpornost na metaboličku razgradnju (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025;

Narasimhappa *et al.*, 2025). Zahvaljujući tome, PFAS jedinjenja obezbeđuju visoke performanse i dugotrajnost proizvoda kroz kombinovanu otpornost na masti, ulja, vodu i visoke temperature (Wee and Aris, 2023; Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025). Pored toga, veoma su efikasni surfaktanti zbog njihove dvostruke prirode, hidrofobnog ugljeničnog lanca i hidrofilne funkcionalne grupe. Ova oleofobna svojstva i sposobnost smanjenja trenja ključni su za izradu različitih proizvoda kojima su potrebni otpornost na mrlje i stabilnost na visokim temperaturama (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025; Narasimhappa *et al.*, 2025).

2.3 Hemijska klasifikacija PFAS

Hemijska klasifikacija per- i polifluoroalkilnih supstanci obuhvata veliku i kompleksnu grupu sa više od 4700 antropogenih jedinjenja (Thakur *et al.*, 2025). PFAS jedinjenja se klasifikuju po svojoj molekulskoj strukturi, odnosno prema tome da li su polimerne ili nepolimerne strukture (Slika 2) (Hussain *et al.*, 2025; Lendewig *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025). Prema ovoj podeli mogu se odrediti njihove fizičko-hemijske osobine, ponašanje u životnoj sredini, kao i biološke interakcije (Lendewig *et al.*, 2025).

Nepolimerne PFAS predstavljaju jasno definisane molekule, koji sadrže ugljenične lance sa 2–10 fluorougljeničnih ponavljajućih jedinica. Oni se dalje dele na perfluoroalkilovane i polifluoroalkilovane supstance (Lendewig *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).

Perfluoroalkilovane supstance sastoje se od ugljeničnog lanca u kome su svi atomi vodonika (osim onih u funkcionalnoj grupi) zamenjeni atomima fluora (Lendewig *et al.*, 2025). Najznačajniji predstavnici ove grupe su perfluoroalkilovane kiseline, među koje spadaju perfluoroalkilovane karboksilne kiseline, kao što je PFOA, i perfluoroalkilovane sulfonske kiseline, kao što je PFOS (Hussain *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).

Polifluoroalkilovane supstance karakteriše ugljenični lanac koji je samo delimično fluorisan i sadrži najmanje jednu ugljenik-vodonik vezu (Lendewig *et al.*, 2025). Većina ovih jedinjenja, kao što su fluorotelomerni alkoholi i diesteri polifluoroalkil-fosfornih kiselina, su prekursori koji se u životnoj sredini mogu razgraditi do perzistentnih perfluoroalkilovanih kiselina (eng. perfluoroalkyl acids, PFAA) (Hussain *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).

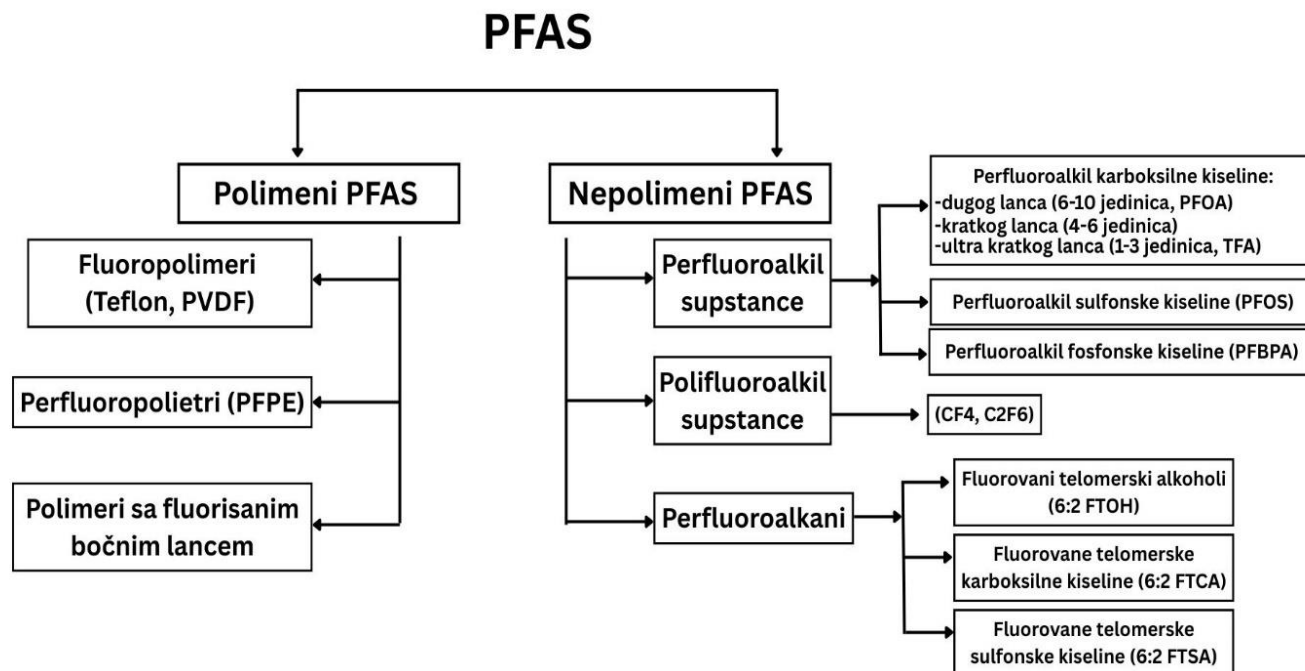
Polimerne PFAS čine velike molekule sastavljene od više od 10 ponavljajućih strukturnih jedinica i velikom molekulskom masom. One se mogu podeliti u tri glavne podgrupe: fluoropolimere, perfluoropolietre i polimere sa fluorisanom bočnom grupom (Lendewig *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).

Fluoropolimeri poseduju osnovni lanac sastavljen isključivo od ugljenika, na koji su direktno vezani atomi fluora, kao što su politetrafluoroetilen (PTFE) i poliviniliden-fluorid (PVDF) (Hussain *et al.*, 2025; Lendewig *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).

U perfluoropolietrima atomi ugljenika u osnovnom lancu razdvojeni su atomima kiseonika raspoređenim duž lanca (Hussain *et al.*, 2025; Lendewig *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).

Polimeri sa fluorisanom bočnom grupom sastoje se od nefluorisanog polimernog osnovnog lanca (npr. poliuretani ili akrilati), na koji su vezane perfluoroalkilne ili polifluoroalkilne bočne grupe (Hussain *et al.*, 2025; Lendewig *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).

Glavna razlika između ovih klasa ogleda se u njihovoj veličini i stabilnosti. Dok su nepolimerne PFAS dovoljno male da budu pokretljive u vodi i vazduhu, polimerne PFAS su obično veliki, nerastvorljivi molekuli (Hussain *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).



Slika 2. Klasifikacija PFAS supstanci. Preuzeto od (Thakur *et al.*, 2025).

2.4. Struktura i fizičko-hemijske osobine PFAS

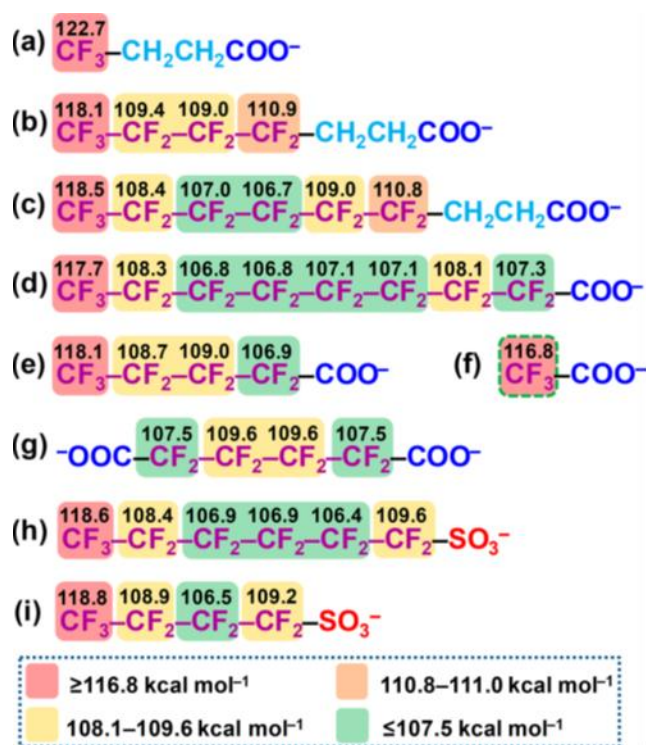
Neke od najpoznatijih PFAS supstanci su: perfluoroheksansulfonska kiselina (eng. *perfluorohexane sulfonic acid*, PFHxS), perfluorononanska kiselina (eng. *perfluorononanoic acid*, PFNA), perfluorodekanska kiselina (eng. *perfluorodecanoic acid*, PFDA), perfluoroheptanska kiselina (eng. *perfluoroheptanoic acid*, PFHpA), perfluorobutanska sulfonska kiselina (eng. *perfluorobutane sulfonic acid*, PFBS), i perfluorobutanska kiselina (eng. *perfluorobutanoic acid*, PFBA) (Rani *et al.*, 2025), a njihove strukturne i molekulske formule prikazane su u Tabeli 1.

PFHxS, PFNA, PFDA i PFHpA su značajna perfluoroalkilna jedinjenja koja se sve češće prate zbog svoje postojanosti u životnoj sredini i regulatornih zahteva (Wee and Aris, 2023). PFBS i PFBA klasifikovane su kao kratkolančane alternative, a odlikuju se izuzetno visokom rastvorljivošću u vodi i velikom pokretljivošću, što im omogućava da se lako ispiraju u podzemne vode i široko rasprostiru u svim vodenim ekosistemima (Kannan *et al.*, 2026).

Ipak, dva najpoznatija PFAS jedinjenja su PFOA i PFOS koji predstavljaju dve najviše istražene i ekološki najzastupljenije dugolančane PFAS (Wee and Aris, 2023; Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025). Njihov jedinstveni hemijski i fizički profil određen je njihovom molekulskom strukturom. Osnovu strukture ovih jedinjenja čini ugljenik–fluor veza, koja se smatra jednom od najjačih

i najinertnijih jednostrukih veza u organskoj hemiji (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025; Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Izuzetna stabilnost ove veze potiče upravo od visoke elektronegativnosti atoma fluora, pa se tako stvara veoma polarizovanu vezu koju je izuzetno teško raskinuti, pa je za hemijsku i biološku razgradnju potrebna velika količina energije (Arias Espana, Mallavarapu and Naidu, 2015; Hussain *et al.*, 2025).

Međutim, otpornost PFAS jedinjenja na razgradnju ne potiče samo od izuzetne jačine C–F veze same po sebi, već u velikoj meri zavisi i od molekulske strukture jedinjenja u celini. Analiza energija disocijacije C–F veza pokazuje da su veze u terminalnim trifluorometilnim grupama najstabilnije, dok su one u unutrašnjosti lanca, naročito u neposrednoj blizini karboksilne grupe, znatno slabije i podložnije aktivaciji. Upravo zbog toga jedinjenja poput perfluorokarboksilnih kiselina relativno brže podležu defluorinaciji, za razliku od fluorotelomernih kiselina kod kojih prisustvo –CH₂CH₂– mosta između fluorovanog lanca i funkcionalne grupe povećava stabilnost molekula. Perfluorosulfonske kiseline su, s druge strane, najtvrdi orah; sulfonatna grupa ne aktivira susedne C–F veze u istoj meri kao karboksilna, što ova jedinjenja čini posebno rezistentnim na razgradnju. Važno je i to da jedinjenja s dužim perfluorovanim lancima pokazuju veću reaktivnost, jer duži lanac donosi više C–F veza s relativno nižim energijama disocijacije u centralnim delovima molekula. Sve ovo ukazuje da pri razvoju tehnologija za uklanjanje PFAS iz životne sredine molekulska struktura jedinjenja mora biti uzeta u obzir kao jedan od ključnih faktora koji određuju efikasnost procesa defluorinacije (Bentel *et al.*, 2019).

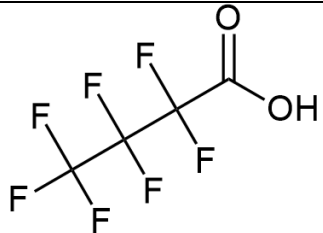
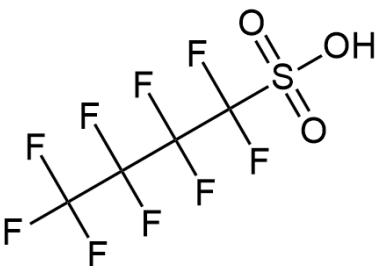
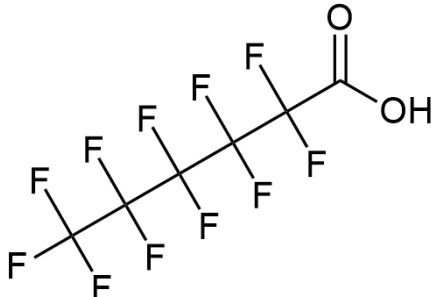
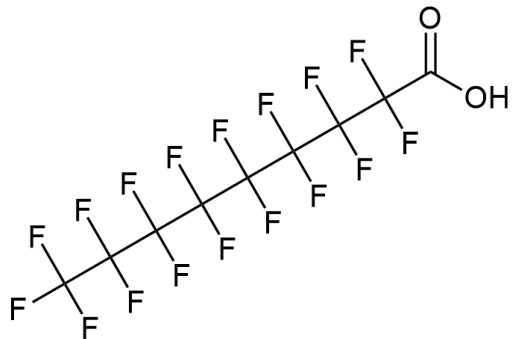


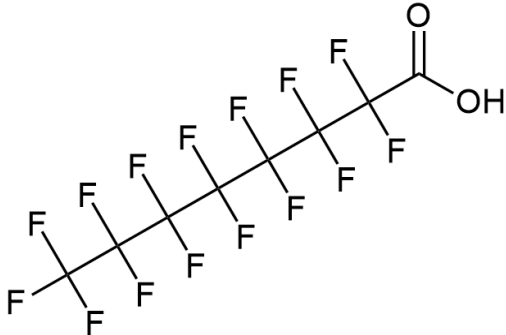
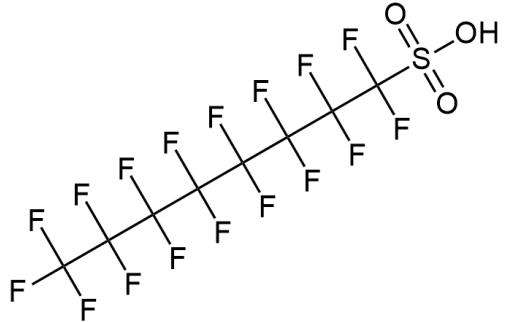
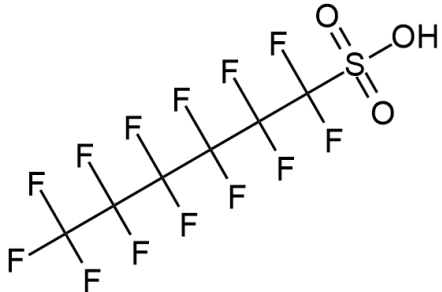
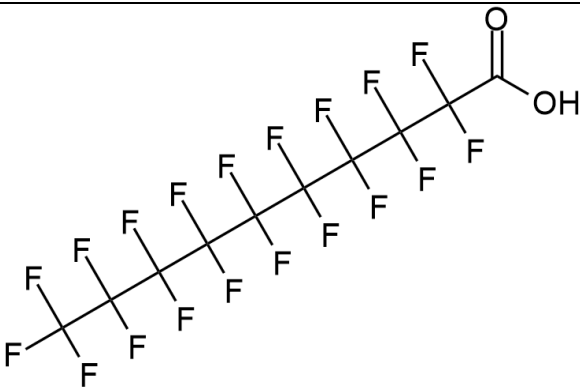
Slika 3. Izračunate energije disocijacije C–F veza (kcal mol^{–1}) odabranih PFAS jedinjenja na nivou teorije B3LYP-D3(BJ)/6-311+G(2d,2p). Preuzeto od (Bentel *et al.*, 2019).

Strukturno, PFOA i PFOS su amfifilni molekuli; poseduju nepolarni, hidrofobni fluorovani „rep” i polarnu, hidrofilnu „glavu” (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025; Hussain *et al.*, 2025). Iako oba jedinjenja sadrže perfluorisani lanac od osam ugljenikovih atoma, PFOA poseduje karboksilnu

funkcionalnu grupu, dok PFOS sadrži sulfonatnu (sulfonsku) funkcionalnu grupu (Tabela 1.) (Arias Espana, Mallavarapu and Naidu, 2015; Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025). Sa fizičkog aspekta, PFOA ima molekulsku masu od 414 g/mol i visoku rastvorljivost u vodi od 9500 mg/L (9500 ppm), dok PFOS ima molekulsku masu od 538 g/mol i manju rastvorljivost od 680 mg/L (680 ppm). Oba jedinjenja imaju nizak napon pare i izuzetnu postojanost u životnoj sredini, pri čemu procenjeni poluživot u vodi (poluživot u životnoj sredini) prelazi 41 godinu za PFOA i 92 godine za PFOS (Arias Espana, Mallavarapu and Naidu, 2015).

Tabela 1. Strukturne i molekulske formule nekih od najznačajnijih PFAS supstanci. Preuzeto i modifikovano od (Ahrens and Bundschuh, 2014).

Naziv	Molekulska formula	Strukturna formula
Perfluorobutanska kiselina (PFBA)	$C_4HF_7O_2$	
Perfluorobutansulfonska kiselina (PFBS)	$C_4HF_9O_3S$	
Perfluoroheksanska kiselina (PFHxA)	$C_6HF_{11}O_2$	
Perfluorononanska kiselina (PFNA)	$C_9HF_{17}O$	

Perfluorooktanska kiselina (PFOA)	$C_8HF_{15}O_2$	
Perfluorooktansulfonska kiselina (PFOS)	$C_8HF_{17}O_3S$	
Perfluoroheksansulfonska kiselina (PFHxS)	$C_6HF_{13}O_3S$	
Perfluorodekanska kiselina (PFDA)	$C_{10}HF_{19}O_2$	

2.5. PFAS u životnoj sredini

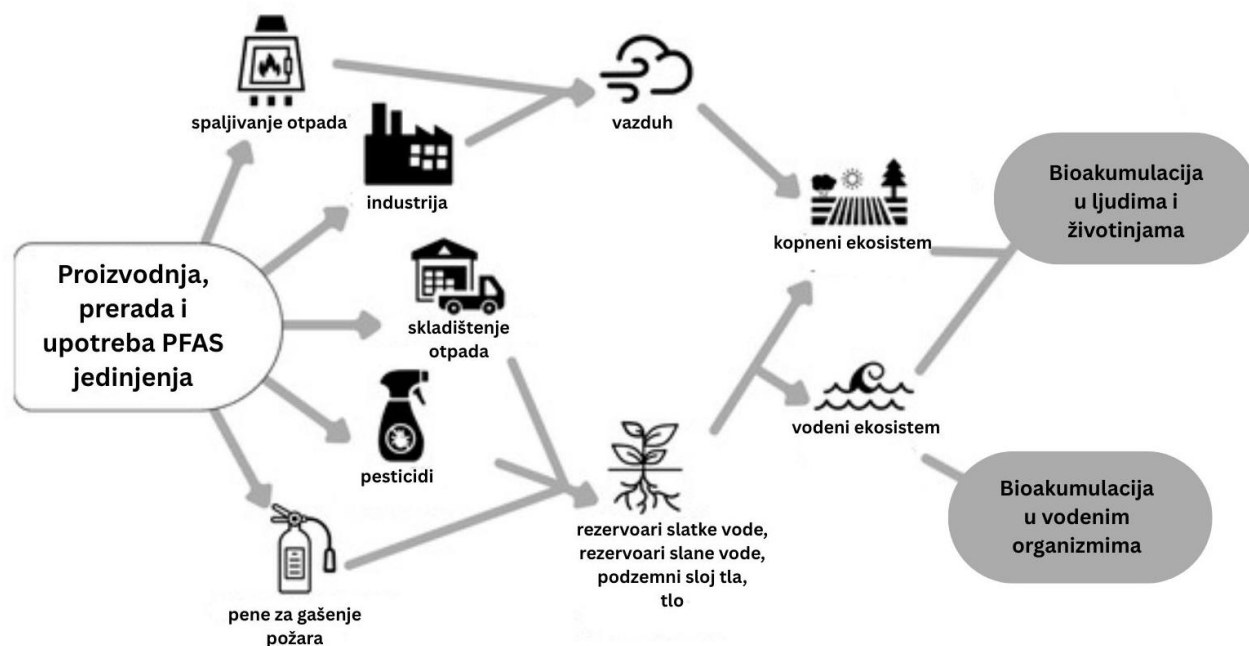
Izuzetna hemijska stabilnost PFAS jedinjenja, koja proističe iz snažnih C–F veza, im omogućava da opstanu u atmosferi, vodi, zemljištu i otpadnim vodama, što je dovelo do globalnog zagađenja (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025). Ovo sveobuhvatno zagađenje PFAS potiče iz različitih

industrijskih i potrošačkih aktivnosti. Fabrike koje proizvode ili koriste PFAS oslobađaju ove hemikalije u životnu sredinu putem emisije, prosipanja i ispuštanja otpadnih voda. Pored industrijskih izvora, upotreba protivpožarnih pena doprinela je zagađenju površinskih voda, podzemnih voda, vode za piće, vazduha, zemljišta i sedimenta. Prekomerna upotreba pena za gašenje požara tokom protivpožarnih vežbi dovela je do ispuštanja PFAS u otpadnim vodama, što je dodatno pogoršalo izloženost životne sredine PFAS jedinjenjima (Slika 4) (Wee and Aris, 2023).

Deponije, kao i postrojenja za preradu otpadnih voda, takođe spadaju u ključne izvore zagađenja (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025). U morskim i kopnenim ekosistemima, PFAS supstance se deponuju u zavisnosti od dužine lanca; duži lanci se akumuliraju u sedimentima, dok se kraći zadržavaju u vodi. PFAS jedinjenja lako ulaze u biljke preko korena, a njihova visoka rastvorljivost u vodi omogućava transport i akumulaciju u biljnim tkivima, što predstavlja direktnu pretnju po ljudsko zdravlje jer se mogu preneti u lanac ishrane (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025).

Prema Nannaware, Mayilswamy i Kandasubramanian, (2024), metode ispuštanja PFAS supstanci u životnu sredinu treba kategorisati u dva glavna tipa:

- Tačkasti izvori: kanalizacija, mesta za obuku vatrogasaca, postrojenja za prečišćavanje otpadnih voda i postrojenja koja proizvode jedinjenja fluora.
- Neprecizni izvori: ovi izvori nastaju usled odlaganja proizvoda koji sadrže PFAS supstance, oticanja sa poljoprivrednih polja i neuređenih deponija, padavina i upotrebe kontaminiranih podzemnih voda (Kurdwadar *et al.*, 2022; Nannaware, Mayilswamy and Kandasubramanian, 2024)



Slika 4. Načini putem kojih ljudi i životna sredina dolaze u kontakt sa PFAS jedinjenjima. Preuzeto od (Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025).

2.6. PFAS u otpadnim vodama

PFAS supstance dospevaju u sisteme otpadnih voda prvenstveno direktnim ispuštanjem industrijskih efluenata iz postrojenja koja proizvode ili koriste fluorovana hemijska jedinjenja u svojim proizvodnim procesima (Wee and Aris, 2023; Narasimhappa *et al.*, 2025). Pored toga, u otpadne vode ulaze i putem komunalne kanalizacije, usled svakodnevne upotrebe potrošačkih proizvoda kao što su ambalaža za hranu, kozmetika i obrađeni tekstilni materijali, koji tokom upotrebe i odlaganja oslobađaju PFAS jedinjenja (Fernandes *et al.*, 2025; Narasimhappa *et al.*, 2025).

Prisustvo PFAS supstanci u otpadnim vodama predstavlja sve ozbiljniji ekološki problem, jer postrojenja za prečišćavanje otpadnih voda funkcionišu kao ključne tačke sakupljanja, ali i ponovne distribucije ovih „većitih hemikalija“ (Chen *et al.*, 2025; Hussain *et al.*, 2025). Konvencionalni sistemi za prečišćavanje otpadnih voda nisu dizajnirani a i samim tim nisu sposobni da efikasno uklone jedinjenja čija je hemijska stabilnost zasnovana na jakoj ugljenik-fluor vezi, koja ostaje praktično nerazgrađena tokom standardnih bioloških i hemijskih tretmana (Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025).

Tako su postrojenja za prečišćavanje otpadnih voda postala značajni tačkasti izvori kontaminacije PFAS supstancama, pri čemu koncentracije u prečišćenim efluentima često premašuju regulatorne granice bezbednosti za vodene ekosisteme (Chen *et al.*, 2025; Hussain *et al.*, 2025). Istraživanja monitoringa na globalnom nivou dodatno potvrđuju da kontaminacija PFAS jedinjenjima više nije ograničena na industrijske zone, već se gotovo rutinski detektuje u rekama, podzemnim vodama, pa čak i u udaljenim polarnim regionima, pri čemu se njen izvor često povezuje sa ispustima prečišćenih otpadnih voda (Sanzana *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).

Glavni izazov u upravljanju PFAS jedinjenjima u otpadnim vodama jeste velika varijabilnost njihovih koncentracija, koja zavisi od specifičnih industrijskih i stambenih izvora koji dolaze dotokom u određeno postrojenje. Pa tako komunalne otpadne vode obično sadrže PFAS jedinjenja u koncentracijama od 10 do 100 ng/L (ppt), industrijski efluenti dostižu izuzetno visoke koncentracije. U industrijskim zonama gde se proizvode organofluorne supstance, jedinjenja poput PFOA i PFOS detektovana su u koncentracijama između 950 i 4320 ppm, što ukazuje na izuzetno veliko lokalno opterećenje koje ova postrojenja stvaraju za infrastrukturu za prečišćavanje otpadnih voda. Značajan izvor PFAS predstavljaju i procedne vode sa deponija, koje se smatraju dominantnim rezervoarom ovih jedinjenja, sa detektovanih oko 40 različitih PFAS vrsta (Chen *et al.*, 2025).

Realna procena prisustva PFAS jedinjenja u otpadnim vodama je dodatno otežana sa prisustvom prekursora. Mnogi industrijski i potrošački proizvodi sadrže polifluoroalkilovana jedinjenja, kao što su fluorotelomerni alkoholi i perfluorooktan-sulfonamidi, koja nisu krajnji PFAA proizvodi, ali se mogu transformisati u njih (Narasimhappa *et al.*, 2025; Kannan *et al.*, 2026). Tako se na primer dešava da se prilikom primene bioloških tretmana, kao što je proces aktivnog mulja, prekursori prođu kroz biotransformaciju, pa tako koncentracije terminalnih PFAA jedinjenja, poput PFBA, PFHxA i PFOA porastu za 2 do 59 puta u efluentu nego što su bile u ulaznoj sirovoj vodi (Wee and Aris, 2023; Chen *et al.*, 2025). Do ove transformacije dolazi zato što mikroorganizmi, iako nisu sposobni da razgrade vezu ugljenik–fluor, mogu da metabolišu nefluorovane delove molekula prekursora, pretvarajući ih u kraćelancane, veoma stabilne homologe (Chen *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025).

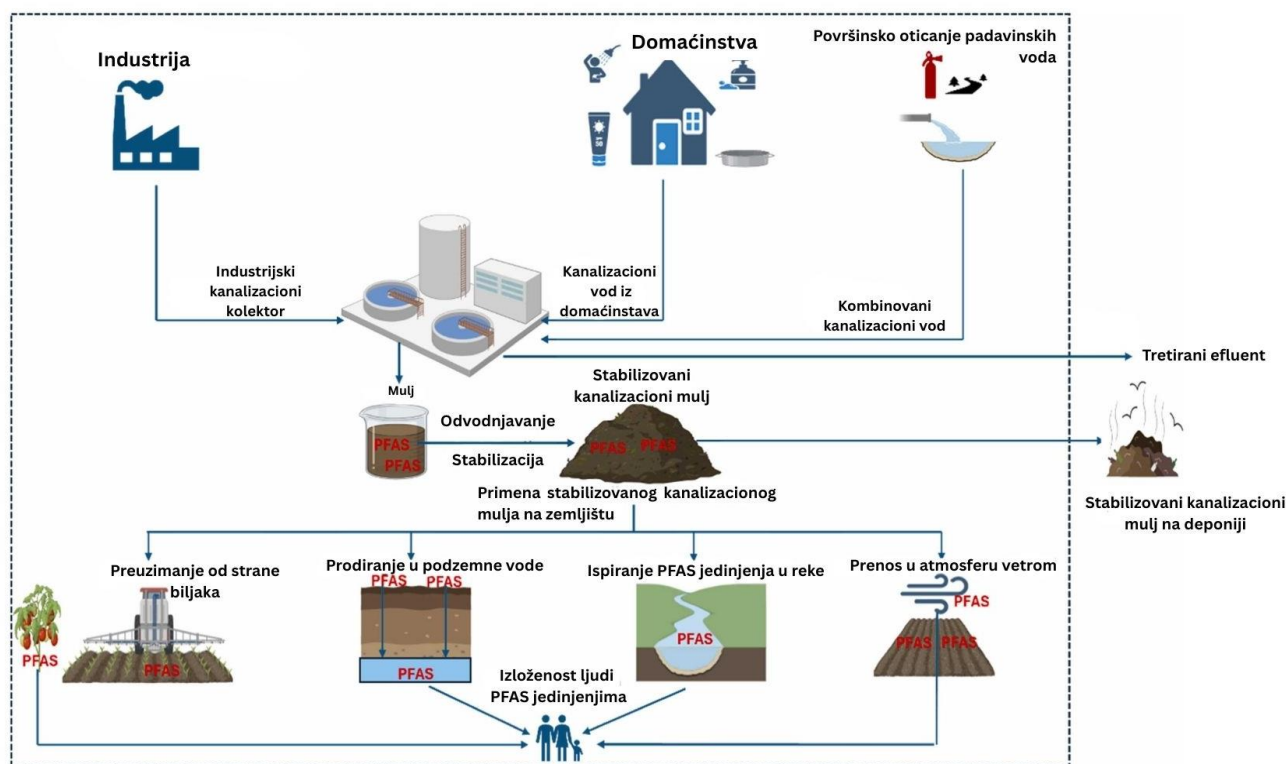
Konvencionalni tretmani biološkim metodama, uključujući reaktore sa pokretnim nosačima biofilma, membranske bioreaktore i biološke aerisane filtere, pokazali su ograničenu efikasnost u uklanjanju PFAS jedinjenja u realnim uslovima (Chen *et al.*, 2025). Iako su neki anaerobni postupci koji uključuju specijalizovane kulture dehalogenišućih mikroorganizama pokazali potencijal za reduktivnu

defluorinaciju PFOS-a, ove reakcije su obično spore, nepotpune i teško primenljive u postrojenjima komunalnog nivoa (Sanzana *et al.*, 2025).

Umesto razgradnje, glavni mehanizam uklanjanja PFAS jedinjenja u većini postrojenja za prečišćavanje otpadnih voda zapravo je njihova raspodela između faza, odnosno adsorpcija hidrofobnih dugolančanih PFAS na čvrstu frakciju mulja (Slika 5) (Wee and Aris, 2023; Kannan *et al.*, 2026). Dugolančana jedinjenja poput PFOS i PFDA pokazuju visok afinitet prema organskoj supstanci, što dovodi do njihovog značajnog nakupljanja u mulju, pri čemu su zabeležene koncentracije u rasponu od 126 do 809 ng/g suve mase (Chen *et al.*, 2025). Međutim, ovo otvara drugi ekološki problem, u slučaju kada se zaostali mulj koristi kao đubrivo na poljoprivrednom zemljištu može doći do kontaminacije zemljišta i useva (Narasimhappa *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).

Poslednjih godina profil PFAS jedinjenja u otpadnim vodama se promenio, prelazeći sa tradicionalnih dugolančanih jedinjenja na kraćelančane alternative poput PFBA, PFBS i GenX (eng. hexafluoropropylene oxide dimer acid, HFPO-DA) (Rani *et al.*, 2025; Kannan *et al.*, 2026). Ove kraćelančane varijante karakteriše veća rastvorljivost u vodi i manji afinitet prema adsorpciji, što ih čini još težim za uklanjanje primenom konvencionalnih metoda filtracije ili adsorpcije (Chen *et al.*, 2025; Kannan *et al.*, 2026). Zbog slabog vezivanja za mulj, ova jedinjenja uglavnom ostaju u vodenoj fazi efluenta, što dovodi do njihove visoke mobilnosti u sistemima podzemnih i površinskih voda (Kannan *et al.*, 2026). Naglo povećanje prisustva ovih jedinjenja u životnoj sredini ukazuje na nedovoljnu efikasnost postojećih tehnologija tretmana i naglašava hitnu potrebu za razvojem specijalizovanih strategija remedijacije (Thakur *et al.*, 2025).

Ispuštanje otpadnih voda koje sadrže PFAS supstance u vodene ekosisteme pokreće niz ekoloških i zdravstvenih posledica za ljude (Fernandes *et al.*, 2025; Narasimhappa *et al.*, 2025). U vodenim sredinama ova jedinjenja su veoma biodostupna, što dovodi do značajne bioakumulacije u ribama i drugim organizmima (Narasimhappa *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025). U pojedinim regionima kod ptica su zabeležene koncentracije PFOS i do 11.300 ng/g, što ukazuje na izraženu biomagnifikaciju u lancu ishrane (Giesy and Kannan, 2002; Thakur *et al.*, 2025). Kod ljudi se izloženost ovim jedinjenjima najčešće javlja putem konzumacije kontaminirane vode za piće i morskih plodova, kao i unosom biljnih proizvoda gajenih na zemljištu đubrenom biosolidima (stabilizovani kanalizacioni mulj) kontaminiranim PFAS jedinjenjima (Narasimhappa *et al.*, 2025; Thakur *et al.*, 2025).



Slika 5. Dospevanje PFAS jedinjenja u mulj i njihove implikacije po životnu sredinu. Preuzeto od (Ismail and Tizaoui, 2025).

2.7. Uticaj PFAS na zdravlje ljudi

PFAS dospevaju u naš organizam uglavnom putem konzumacije vode i hrane, ali i udisanjem prašine i direktnim kontaktom sa proizvodima koji ih sadrže; kozmetikom, odećom, posuđem ili ambalažom (Polychronidou and Nag, 2025). Zbog visoke stabilnosti, oni se ne razgrađuju u probavnom traktu niti se lako izlučuju putem urina. Jednom kada dospeju u krv, vezuju se za proteine plazme, pogotovo za albumin i tako cirkulišu kroz celo telo (Rispen and Hendriks, 2024).

Za razliku od većine drugih zagađujućih supstanci, PFAS se ne akumuliraju u mastima, već u proteinima, što znači da imaju veći period zadržavanja u organizmu i sporije se izlučuju. Period poluraspada (vreme potrebno da se koncentracija u ljudskom telu smanji na polovinu početne vrednosti) za neke PFAS može biti više godina, za PFOA to je oko 3,5 godine, a za PFOS čak i do 4,8 godina (Rispen and Hendriks, 2024; Dobrzyńska, Wasilewski and Pośniak, 2025)

2.7.1. Uticaj na imuni sistem

Prvi i najjasniji toksični efekti ovih jedinjenja primećeni su na imunološkom sistemu. Epidemiološke studije pokazale su da deca izložena većim koncentracijama PFAS imaju slabiji odgovor na vakcine, što znači da njihov imuni sistem nema dovoljno snažnu reakciju. Istraživanja su pokazala da PFAS na

molekularnom nivou remete signalne puteve u ćelijama imunog sistema, posebno one koji regulišu upalne procese i produkciju antitela. Dugoročno, to može dovesti do povećane osetljivosti na infekcije i smanjene sposobnosti organizma da se izbori sa napadima na imuni sistem (Marchiandi *et al.*, 2020).

2.7.2. Hepatotoksičnost (oštećenje jetre)

Jetra je jedan od glavnih organa u kojima se PFAS jedinjenja akumuliraju. Studije su pokazale da izloženost PFAS jedinjenjima može izazvati promene u funkciji jetre, uključujući povišene enzime ALT i AST (eng. alanine aminotransferase ALT; aspartate aminotransferase AST), masnu degeneraciju tkiva i poremećaj u metabolizmu lipida. Kod ljudi, hronična izloženost PFOA i PFOS povezuje se sa bolešću nealkoholne masne jetre i povišenim holesterolom u krvi (Zhang *et al.*, 2023).

2.7.3. Hormonalni i reproduktivni efekti

PFAS supstance deluju kao endokrini disruptori, odnosno, one su supstance koje remete normalno funkcionisanje hormona. Istraživanja su pokazala da PFAS utiču na normalnu funkciju štitne žlezde, izazivajući poremećaje u lučenju hormona T3 i T4 (Noyes *et al.*, 2025). Kod trudnica, koje su izložene ovim jedinjenjima, ona mogu preći u placentu i tako dospeti u krv fetusa, a detektovane su i u majčinom mleku. Neka istraživanja ukazuju da izloženost PFAS supstancama tokom trudnoće može čak i biti povezana sa nižom težinom novorođenčadi i usporenim razvojem (Polychronidou and Nag, 2025). Kod muškaraca, primećena je veza između povišenog nivoa PFAS jedinjenja u krvi i smanjenog broja i pokretljivosti spermatozoida (Sun *et al.*, 2023).

2.7.4. Kancerogeni potencijal

Jedan od najzabrinjavajućih aspekata ovih hemikalija jeste njihova moguća povezanost sa razvojem karcinoma. Studije su pokazale da hronična izloženost PFOA i PFOS može povećati rizik od karcinoma jetre, bubrega, testisa i štitne žlezde. Mehanizam delovanja nije jednostavan, a prema analizama mrežne toksikologije i molekularnog dokinga, PFAS hemikalije mogu da aktiviraju više signalnih puteva povezanih sa karcinogenezom, uključujući PI3K/AKT put, mTOR signalizaciju i MDM2-p53 mehanizam, odnosno sve ključne procese u rastu, deljenju i smrti ćelija (Lin *et al.*, 2024). Drugim rečima, PFAS hemikalije mogu poremetiti ćelijski balans između života i smrti, što vremenom može dovesti do razvoja tumora. Ove supstance su takođe povezane sa oksidativnim stresom i oštećenjem DNK, što dodatno doprinosi riziku od mutacija.

2.7.5. Neurotoksičnost i razvojni efekti

Izloženost ovim jedinjenjima povezuje se sa neurološkim razvojnim poremećajima i neurodegenerativnim bolestima kod ljudi. Istraživanja su pokazala da PFAS mogu da prođu kroz krvno moždanu barijeru i da se akumuliraju u moždanom tkivu, pa tako naruše funkciju važnih neurotransmiterskih sistema, uključujući acetilholin, dopamin i glutamat, kao i da poremete regulaciju kalcijuma i sinaptičku aktivnost (Bharal *et al.*, 2024).

2.8. Remedijacija PFAS

Podvrgavanje otpadnih voda i zaostalog mulja rigoroznim postupcima remedijacije od suštinskog je značaja kako bi se prekinuo kontinuirani ciklus kontaminacije životne sredine i zaštitilo javno zdravlje (Hussain *et al.*, 2025; Narasimhappa *et al.*, 2025). Ekonomski teret nepreduzimanja mera je ogroman, pri čemu troškovi zdravstvene zaštite povezani sa PFAS jedinjenjima u pojedinim regionima premašuju 62 milijarde dolara godišnje, dok se procenjuje da bi godišnji troškovi sveobuhvatne remedijacije mogli premašiti globalni bruto domaći proizvod ukoliko se sadašnje stope emisije nastave (Lendewig *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025).

Pored toga, prisustvo PFAS jedinjenja predstavlja prepreku razvoju cirkularne ekonomije, jer se kontaminirane otpadne vode ne mogu bezbedno ponovo koristiti za navodnjavanje, a zagađeni muljevi ne mogu se reciklirati kao đubrivo bez daljeg širenja zagađujućih supstanci (Lendewig *et al.*, 2025; Narasimhappa *et al.*, 2025). Stoga je efikasna remedijacija od ključnog značaja ne samo za očuvanje životne sredine, već i za ispunjavanje sve strožijih regulativa na globalnom nivou, kao i za smanjenje velikih pravnih i finansijskih obaveza sa kojima se suočavaju industrija i komunalni sistemi (Lendewig *et al.*, 2025).

Najčešće primenjivane metode remedijacije u savremenim sistemima za tretman voda uključuju adsorpciju na granulisanom aktivnom uglju, upotrebu specijalizovanih jonoizmenjivačkih smola i membranske procese pod visokim pritiskom, kao što je reverzna osmoza (Narasimhappa *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Ove tehnike funkcionišu tako što fizički izdvajaju ili zadržavaju PFAS molekule iz vodenog toka, pri čemu u kontrolisanim uslovima često postižu efikasnost uklanjanja veću od 95% za mnoge vrste jedinjenja (Chen *et al.*, 2025; Kannan *et al.*, 2026). Međutim, njihova efikasnost je često ograničena prisustvom konkurentne organske supstance, kao i visokim troškovima upravljanja nastalim koncentrisanim otpadnim tokovima ili istrošenim adsorbentima (Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Membranske tehnologije, kao što su reverzna osmoza i nanofiltracija, efikasno uklanjaju PFAS iz vode i mogu raditi u različitim pH uslovima, ali zahtevaju visoku potrošnju energije i generišu koncentrisani otpadni tok koji traži dalji tretman, pa se smatraju metodama koncentrovanja, a ne konačnog uklanjanja. Termalne tehnologije, koje uključuju zagrevanje na 600–1000 °C, mogu dovesti do gotovo potpune destrukcije PFAS, ali su ograničene visokim energetskeim zahtevima, troškovima i mogućim negativnim uticajem na zemljište i ekosisteme. Hemijske oksidacione i redukcione tehnologije omogućavaju delimičnu ili potpunu mineralizaciju PFAS, ali njihova efikasnost zavisi od strukture jedinjenja, dok kratkolančani produkti ostaju otporniji, a primena zahteva velike količine hemikalija i visoke operativne troškove. Pranje zemljišta predstavlja jednostavniji pristup ekstrakcije PFAS iz čvrste faze, koji omogućava ponovnu upotrebu zemljišta, ali je vremenski zahtevan i stvara sekundarni kontaminirani vodeni tok.

Za razliku od ovih fizičko-hemijskih metoda, bioremedijacija upotrebom mikroorganizama, gljiva ili biljaka predstavlja održiviji pristup sa nižim troškovima i mogućnošću *in situ* primene, uz minimalno narušavanje ekosistema. Najveće ograničenje bioremedijacije je nedovoljno razjašnjen mehanizam biodegradacije PFAS i spor tok bioloških procesa, ali se i pored toga smatra jednom od najperspektivnijih dugoročnih strategija, posebno u kombinaciji sa drugim tehnologijama (Tabela 2). Analiza dostupnih metoda pokazuje da trenutne tehnologije uglavnom efikasno uklanjaju PFAS iz vode, ali ne rešavaju kontaminaciju zemljišta ni potpunu mineralizaciju svih jedinjenja. Zbog toga se savremena istraživanja usmeravaju ka kombinovanim pristupima koji integrišu koncentrisanje, destrukciju i biološku transformaciju PFAS radi postizanja održivog rešenja za remedijaciju (Shahsavari *et al.*, 2021).

Tabela 2. Tehnologije uklanjanja PFAS jedinjenja iz životne sredine. Preuzeto i modifikovano od (Shahsavari *et al.*, 2021).

Tehnologija	Kontaminirano područje	Prednosti	Mane	Izvor
Adsorpcije	<i>Ex situ/in situ</i>	Niski operativni troškovi, primena različitih komercijalno dostupnih materijala	Neefikasno za uklanjanje kratkolančanih PFAS jedinjenja; može interferirati sa drugim zagađivačima; može biti potrebna velika količina adsorbenta	(Zhang <i>et al.</i> , 2011)
Filtracije	<i>Ex situ</i>	Efikasno u širokom opsegu pH vrednosti	Visoki troškovi; zavisnost od molekulske mase PFAS jedinjenja; generisanje otpada sa visokom koncentracijom zagađivača	(Tang <i>et al.</i> , 2007)
Termalne tehnologije	<i>Ex situ</i>	Visok potencijal razgradnje PFAS jedinjenja.	Vremenski zahtevno, skupo i energetski intenzivno; narušava zemljište i ekosistem.	(Yamada <i>et al.</i> , 2005)
Hemijske oksidacione i redukcionne tehnologije	<i>In situ/ ex situ</i>	Potencijal za mineralizaciju PFAS jedinjenja; efikasno u uklanjanju PFOA.	Visoki troškovi usled potrebe za velikim količinama hemikalija i centralizovanom opremom; ograničena primenljivost na sva PFAS jedinjenja; moguća formacija kratkolančanih PFAS; interferencija sa drugim zagađivačima.	(Yates <i>et al.</i> , 2014; Arvaniti <i>et al.</i> , 2015)
Pranje zemljišta	<i>Ex situ</i>	Zahteva jednostavnu tehnologiju; moguća je ponovna upotreba zemljišta	Skupo i vremenski zahtevno; nastaje kontaminirana voda.	de Bruecker, T. "Status report PFOS remediation. DEC Environ." (2015).
Bioremedijacija	<i>In situ/ ex situ</i>	Jednostavan, isplativ i ekološki bezbedan (zeleni) pristup	Ograničeni dokazi o mogućnosti degradacije PFAS jedinjenja; zbog spore biodegradacije proces može trajati veoma dugo	(Presentato <i>et al.</i> , 2020)

Tehnike remedijacije se uopšteno mogu podeliti na nedestruktivne metode separacije i destruktivne tehnologije razgradnje (Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025).

Nedestruktivne metode su fokusirane na izdvajanje i koncentrisanje zagađujućih supstanci iz vode, ali ne dovode do potpunog uklanjanja samih molekula. U nedestruktivne metode spadaju adsorpcije, membranske filtracije, elektrokoagulacije, kao i penasto/ozonsko frakcionisanje (Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025).

Destruktivne metode, uključujući biodegradaciju, elektrohemijsku oksidaciju, plazma tretman i napredne oksidacione procese, imaju za cilj potpunu mineralizaciju razbijanjem izuzetno stabilnih ugljenik-fluor veza. Ove metode znatno su energetski zahtevnije i teže primenljive u velikim razmerama (Chen *et al.*, 2025; Hussain *et al.*, 2025).

2.8.1. Membranske filtracije pod visokim pritiskom

Tehnologija membranske filtracije pod visokim pritiskom, kao što su reverna osmoza i nanofiltracija, veoma su značajne nedestruktivne fizičke metode separacije kod uklanjanja PFAS jedinjenja iz otpadnih voda. Proces uključuje korišćenje polupropusnih membrana za filtraciju zagađivača putem mehanizama kao što su isključivanje na osnovu veličine molekula i elektrostatičko odbijanje (Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025).

Prednosti ove nedestruktivne metode je visoka efikasnost uklanjanja, koja doseže i 99% pri uklanjanju dugolančanih PFAS jedinjenja, poput PFOA i PFOS. Za razliku od membrana koje rade pod nižim pritiskom, ove tehnologije mogu efikasno zadržati širok spektar zagađujućih supstanci bez obzira na hemijski sastav vode, čime se ispunjavaju strogi regulatorni standardi (Sanzana *et al.*, 2025).

Nedostaci membranske filtracije pod visokim pritiskom, ogledaju se u tome da se ovi sistemi suočavaju sa značajnim izazovima u pogledu održivosti. Oni zahtevaju visoke radne pritiske (5–70 bar), što rezultira velikom potrošnjom energije i visokim operativnim troškovima. Efikasnost ovih sistema može ograničiti i samo zapušavanje membrane, što utiče na uspešnost oporavka vode, te zahteva česte i skupe postupke održavanja (Chen *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Svakako glavni nedostatak je to što ove metode ne razgrađuju PFAS jedinjenja već samo stvaraju visoko kontaminirani koncentrat, za koji je kasnije neophodno obezbediti dodatni specijalizovani tretman ili bezbedno odlaganje (Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025).

2.8.2. Elektrokoagulacija

Elektrokoagulacija predstavlja efikasan, nedestruktivan elektrohemijski postupak tretmana koji koristi jednokratne (žrtvene) metalne elektrode, poput gvožđa ili aluminijuma, za stvaranje amorfnih hidroksidnih flokula koje adsorbuju zagađujuće supstance. Osnove ove metode su hidrofobne interakcije i višeslojne sorpcije između PFAS molekula i metalnih hidroksidnih flokula (Hussain *et al.*, 2025). Istraživanja su pokazala da se elektrokoagulacija može kombinovati sa drugim elektrohemijskim tehnikama kako bi se postigla bolja efikasnost pri uklanjanju jedinjenja kao što su PFBA (2%), PFHxS (99%) i PFBS (96%) u sintetičkim vodenim sistemima (Chen *et al.*, 2025).

Glavna prednost elektrokoagulacije je relativno nizak kapitalni trošak i jednostavnija primena u poređenju sa složenim tehnologijama razgradnje (Rani *et al.*, 2025). Posebno je efikasna za tretman

otpadnih voda sa visokim koncentracijama zagađujućih supstanci, pri čemu ukupna efikasnost uklanjanja može dostići približno 90% (Hussain *et al.*, 2025).

Glavni nedostatak ove metode, je što kao nedestruktivna metoda ne razgrađuje ugljenik-fluor vezu, zbog čega je potrebno dodatno upravljanje kontaminiranim flokulama (Hussain *et al.*, 2025). Pored toga, površina potrošne elektrode vremenom može postati pasivirana, što dovodi do smanjenja efikasnosti procesa (Rani *et al.*, 2025).

2.8.3. Frakcionisanje pomoću pene i ozona

Frakcionisanje pene i njegova varijanta, ozonsko frakcionisanje pene (ili ozo-frakcionisanje), predstavljaju nedestruktivne metode separacije koje koriste amfifilnu prirodu PFAS jedinjenja za razdvajanje (Chen *et al.*, 2025; Hussain *et al.*, 2025). Postupak se zasniva na uvođenju mehurića vazduha ili ozona u otpadne vode, nakon čega se PFAS molekuli vezuju za mehuriće i podižu na površinu. Kada se mehurići podignu na površinu oni formiraju penu koja je zapravo koncentrat PFAS jedinjenja, nakon toga pena se skuplja i kondenzuje u tečni koncentrat (Hussain *et al.*, 2025; Narasimhappa *et al.*, 2025).

Prednost ove metode je što najčešće ne zahteva ni upotrebu dodatnih hemikalija ni filtracionih materijala. Pored toga odlikuje se nižom potrošnjom energije u poređenju sa sistemima koji koriste membrane pod visokim pritiskom (Chen *et al.*, 2025). Ozonirana frakcionacija pene posebno poboljšava efikasnost uklanjanja, sa uspešnošću uklanjanja do 95% ukupnih PFAS jedinjenja. Pored toga, proizvodi dva do četiri puta manje otpada u odnosu na sisteme koji koriste vazduh, tako značajno smanjujući troškove odlaganja (Chen *et al.*, 2025; Narasimhappa *et al.*, 2025).

Nedostatak ove metode je što efikasnost frakcionacije pene u velikoj meri zavisi od hidrofobnosti, pa je tako delotvorna za dugolančana jedinjenja poput PFOS i PFOA, ali uglavnom nije efikasna za kratkolančana PFAS jedinjenja (npr. PFBA i PFBS) zbog njihove niže površinske aktivnosti (Chen *et al.*, 2025). Pored toga, kao metoda separacije, ona ne razgrađuje C–F veze, što rezultira visoko koncentrisanim toksičnim otpadom koji zahteva sekundarno upravljanje ili uništavanje (Chen *et al.*, 2025; Hussain *et al.*, 2025).

2.8.4. Adsorpcione metode

Adsorpcija se ističe kao široko primenjiva nedestruktivna metoda remedijacije, koja funkcioniše po principu vezivanja čvrstih materijala, fizički ili hemijski, za PFAS jedinjenja u otpadnim vodama (Sanzana *et al.*, 2025). Ovaj proces zasniva se na različitim mehanizmima, prvenstveno hidrofobnim i elektrostatičkim interakcijama, uz doprinose Van der Waalsovih sila i mehanizmima jonske izmene (Sanzana *et al.*, 2025; Kannan *et al.*, 2026). Najčešće korišćeni adsorbensi su granulirani aktivni ugalj (eng. granular activated carbon, GAC) i jonoizmenjivačke smole (eng. ion exchange resins, IER) (Rückbeil *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025).

Prednosti adsorpcionih metoda se ogledaju u tome što su te tehnologije razvijene i pouzdane, a poznate po visokoj efikasnosti uklanjanja, koja često prelazi 90% za PFAS jedinjenja (Narasimhappa *et al.*, 2025; Kannan *et al.*, 2026). Sistemi zasnovani na GAC posebno su zastupljeni zbog nižih investicionih troškova i jednostavne integracije u postojeće sisteme za prečišćavanje voda (Sanzana *et al.*, 2025; Kannan *et al.*, 2026). Pored toga, IER često pokazuju bržu kinetiku adsorpcije i veći kapacitet za pojedine anjonske PFAS vrste (Dixit *et al.*, 2021; Zeidabadi *et al.*, 2024).

Međutim, glavni nedostatak ove metode je što kao separaciona tehnika, ne razgrađuje C–F vezu, što dovodi do stvaranja visoko kontaminiranog istrošenog adsorbensa koji zahteva dodatni tretman, kao što

je spaljivanje na visokim temperaturama (Sanzana *et al.*, 2025; Kannan *et al.*, 2026). GAC pokazuje znatno manji afinitet prema PFAS jedinjenjima kratkog lanca (npr. PFBA i PFBS), koja obično prolaze kroz adsorbens znatno ranije u poređenju sa jedinjenjima dugog lanca (Rückbeil *et al.*, 2025; Kannan *et al.*, 2026). Pored toga, proces je podložan kompetitivnoj adsorpciji, pri čemu rastvorena organska supstanca i neorganski joni (kao što su sulfat ili bikarbonat) zauzimaju aktivna mesta na adsorbentu, čime se značajno smanjuje njegov kapacitet za uklanjanje PFAS jedinjenja (Hussain *et al.*, 2025; Rückbeil *et al.*, 2025).

Mehanizam adsorpcije PFAS jedinjenja je složen zbog jedinstvene amfifilne prirode ovih molekula (Dixit *et al.*, 2021; Khazdooz, Zarei and Abbaspourrad, 2025). Uopšteno, adsorpcija je vođena dvema osnovnim vrstama interakcija, elektrostatičkim interakcijama i hidrofobnim interakcijama (Dixit *et al.*, 2021; Rückbeil *et al.*, 2025).

Elektrostatičke interakcije predstavljaju dominantan mehanizam kod jonoizmenjivačkih smola. Ovi materijali sadrže pozitivno naelektrisane funkcionalne grupe koje privlače anjonske „glave” PFAS molekula, pri čemu često dolazi do stehiometrijske razmene hloridnih jona (Dixit *et al.*, 2021).

Nasuprot tome, hidrofobne interakcije su glavna pokretačka sila kod nepolarnih adsorbentasa kao što je aktivni ugalj (Rückbeil *et al.*, 2025). Ovaj proces je vođen entropijski potpomognutim pokretanjem fluorovanih „repova” iz vode ka površini adsorbentasa (Dixit *et al.*, 2021). Jačina hidrofobnih interakcija raste linearno sa dužinom lanca molekula, po dodatnoj CF_2 grupi, što objašnjava zašto se dugolančana jedinjenja poput PFOS uklanjaju efikasnije od kratkolančanih analoga kao što je PFBA (Woke *et al.*, 2025).

Pored navedenih primarnih mehanizama, nekoliko sekundarnih mehanizama takođe doprinosi vezivanju PFAS jedinjenja:

- Vodonične veze i Van der Waalsove sile; pružaju dodatnu stabilizaciju na određenim površinama (Dixit *et al.*, 2021; Rückbeil *et al.*, 2025).
- Molekulska agregacija; čak i pri koncentracijama ispod kritične koncentracije micela, PFAS mogu formirati hemimicelle (monoslojeve) ili admicelle (dvoslojeve) na površinama adsorbentasa. Iako ove strukture mogu povećati kapacitet adsorpcije na naelektrisanim površinama, mogu i blokirati unutrašnje mikropore, otežavajući dalju difuziju (Dixit *et al.*, 2021).
- Dvoslojna adsorpcija; neka istraživanja ukazuju na sinergistički efekat, pri kojem se prvi sloj PFAS molekula vezuje elektrostatičkim silama, stvarajući hidrofobnu površinu koja potom omogućava formiranje drugog sloja kroz hidrofobne interakcije „rep-rep” (Khazdooz, Zarei and Abbaspourrad, 2025).

Važno je napomenuti da tip funkcionalne grupe utiče na mehanizam adsorpcije, pa tako na primer, perfluorosulfonati su hidrofobniji i kiseli od perfluorokarboksilata, što ima za posledicu veći afinitet prema većini adsorbentasa (Khazdooz, Zarei and Abbaspourrad, 2025; Woke *et al.*, 2025).

2.8.4.1. Jonoizmenjivačke smole

Jonske smole su sintetički polimeri, uz pomoć kojih se selektivno mogu ukloniti PFAS jedinjenja iz otpadnih voda zamenom jonskih kontaminanata manje štetnim jonima. Ove smole obično imaju mrežastu strukturu od polistirena ili poliakrilata sa specijalizovanim funkcionalnim grupama, kao što su kvaternarni amonijum za jake bazne anjonske smole ili tercijarni amini za slabe bazne anjonske smole.

Za preradu vode, od skoro, počele su da se koriste i smole koje uklanjaju i PFAS, poput Amberlite™ PSR2 Plus ili Purolite A592E, koje se često koriste jednokratno kako bi se izbegla komplikovana obrada koncentrisanog regeneracionog rastvora (Dixit *et al.*, 2021).

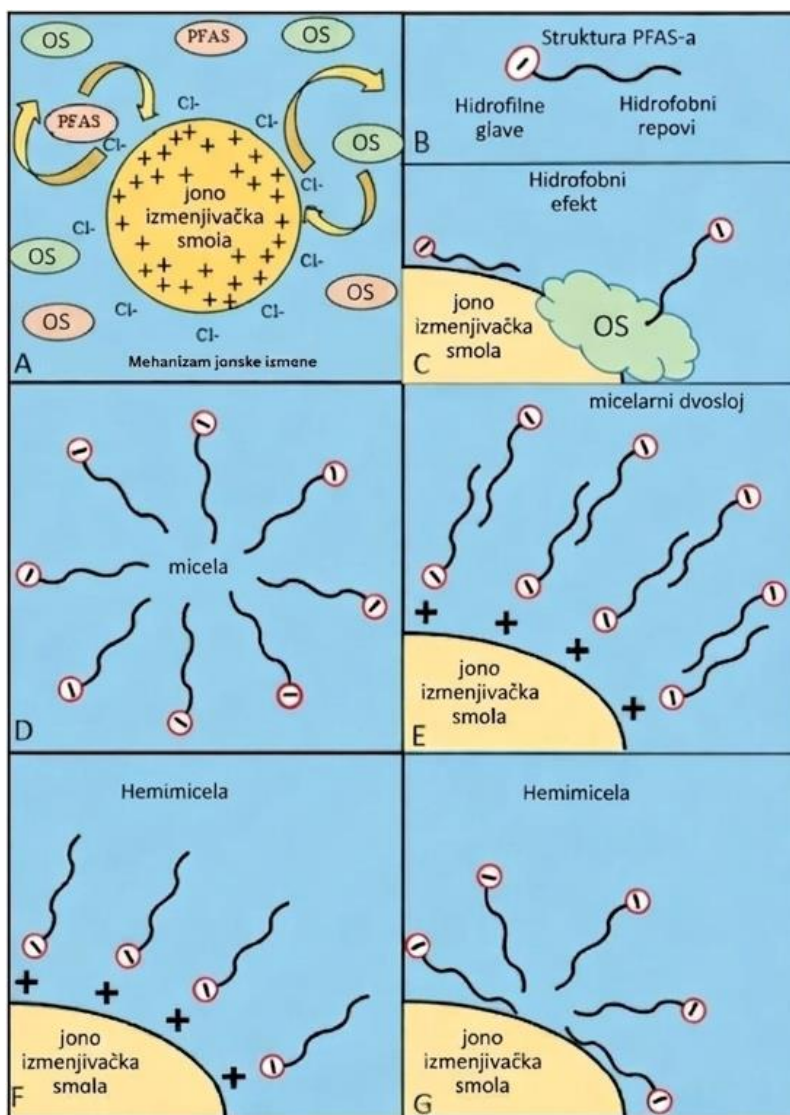
U poređenju sa GAC, IER smole obično imaju veći kapacitet uklanjanja i bržu kinetiku, često postižući superiorno uklanjanje kako dugolančanih, tako i kratkolančanih PFAS jedinjenja, a posebno su efikasne u hvatanju kratkolančanih PFAS jedinjenja (Dixit *et al.*, 2021; Zeidabadi *et al.*, 2024). Njihova efikasnost dobro se opisuje pseudo-drugim redom kinetičkih modela, što dovodi do brze hemijske interakcije između smole i kontaminanata (Dixit *et al.*, 2021).

Međutim, performanse jonoizmenjivačkih smola mogu biti značajno smanjene zbog konkurentne adsorpcije, npr. kada uobičajni neorganski anjoni poput sulfata (SO_4^{2-}) ili nitrata (NO_3^-) konkurišu za ista aktivna mesta kao i kontaminanti. Pored toga, perfluorosulfonati poput PFOS jedinjenja obično pokazuju jači afinitet prema ovim smolama u odnosu na perfluorokarboksilate poput PFOA jedinjenja, zbog veće hidrofobnosti i kiselosti (Woke *et al.*, 2025).

Glavni nedostatak je što se ove smole teško regenerišu zbog jakih hidrofobnih interakcija koje se standardnim rastvorom soli ne mogu lako poništiti, što često zahteva upotrebu organskih rastvarača, koji predstavljaju bezbednosni i ekološki rizik (Zeidabadi *et al.*, 2024; Rückbeil *et al.*, 2025). Pored toga, kod jednokratne upotrebe, potrebno je termalno uništavanje iskorišćenog materijala radi upravljanja otpadom, dok sam proces proizvodnje smole nosi značajan ekološki teret, uključujući uticaje na globalno zagrevanje i ekotoksičnost (Dixit *et al.*, 2021).

Vezivanje PFAS jedinjenja za jonoizmenjivačke smole prvenstveno se zasniva na elektrostatičkim interakcijama između negativno naelektrisanih „glava“ PFAS molekula i pozitivno naelektrisanih funkcionalnih grupa smole. Pored elektrostatičkih interakcija važnu ulogu igraju i hidrofobne interakcije koje nastaju između nepolarnih fluorovanih „repova“ i polimernog matriksa smole. Ovim primarnim mehanizmima doprinose i Van der Waalsove sile i vodonične veze, koje dodatno stabilizuju adsorbovane molekule na površini adsorbenata (Slika 6) (Dixit *et al.*, 2021).

Pri višim koncentracijama, PFAS molekuli mogu agregirati u strukture poput hemimicela ili micela na površini adsorbensa, što može povećati kapacitet adsorpcije, ali takođe može dovesti i do blokiranja unutrašnjih pora (Dixit *et al.*, 2021).



Slika 6. (A) Mehanizam procesa jonske izmene, (B) Struktura PFAS jedinjenja sa hidrofobnim „repovima“ i hidrofilnim „glavama“, (C) Šematski prikaz hidrofobnih efekata, (D–G) Šematski prikaz agregacije PFAS jedinjenja putem formiranja micela, micelnog dvosloja i hemimicela.

* Organska supstanca (OS)

Preuzeto od (Dixit *et al.*, 2021).

2.8.4.2. Aktivni ugalj

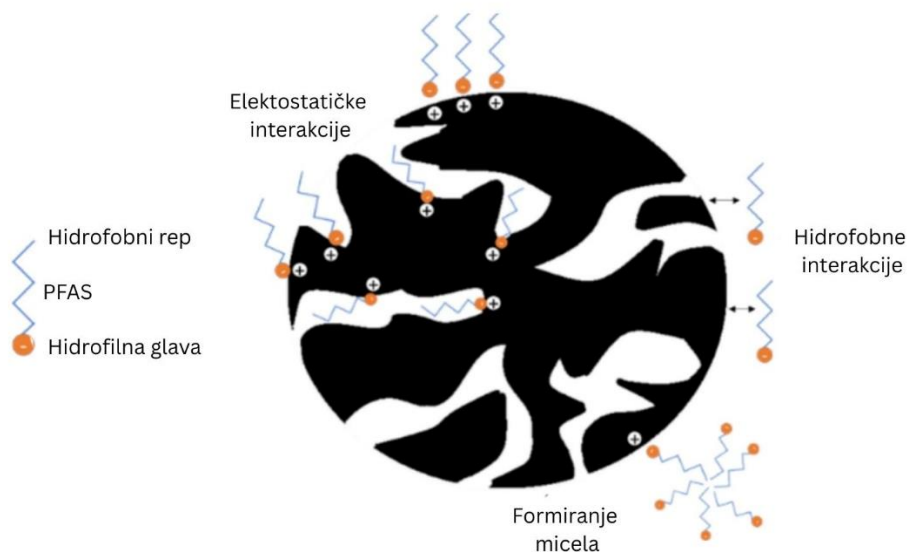
Aktivni ugalj (eng. activated carbon, AC) je najčešće korišćen adsorbens za uklanjanje PFAS jedinjenja zbog svoje operativne jednostavnosti i stabilnih performansi (Meservey *et al.*, 2026). Aktivni ugalj se uglavnom proizvodi iz organskih materijala bogatih ugljenikom, kao što su ugalj, kokosova ljuska i drvo, pod visokom temperaturom procesima karbonizacije i aktivacije, pri čemu se formira razvijena mreža pora i velika specifična površina (Chen *et al.*, 2025; Meservey *et al.*, 2026).

Dve najčešće korišćene forme aktivnog uglja u remedijaciji otpadnih voda su GAC i aktivni ugalj u prahu (eng. powdered activated carbon, PAC), koji se prvenstveno razlikuju po veličini čestica. GAC obično ima veća zrna (0,4–1,2 mm), nasuprot tome, PAC se sastoji od mnogo finih čestica (< 1 mm), što mu omogućava značajno veću specifičnu površinu i kraće interne difuzione puteve za PFAS molekule (Ahrens *et al.*, 2025; Chen *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Istraživanja su pokazala da PAC može postići stopu masovnog opterećenja (koliko mase kontaminanta se nanosi ili uklanja po jedinici mase adsorbensa) gotovo dvostruko veću od GAC-a (npr. 11,0 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ naspram 6,2 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) i često pokazuje veću efikasnost uklanjanja od GAC-a za širok spektar detektovanih PFAS jedinjenja (Yang *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2025). Međutim, GAC se pokazao kao bolje rešenje za dugoročne i velike primene, jer PAC zahteva više radnog pritiska i specijalizovane korake separacije, poput sedimentacije ili membranske filtracije, kako bi se nakon korišćenja uklonio iz izlazne vode (Ahrens *et al.*, 2025; Chen *et al.*, 2025).

Glavna prednost aktivnog uglja je njegova isplativost, sa jediničnim cenama u rasponu od 2,75 do 4,41 USD po kilogramu, što je značajno jeftinije u odnosu na alternativne adsorbense poput jonskih smola (Meservey *et al.*, 2026). AC je veoma efikasan u uklanjanju dugolančanih PFAS jedinjenja, kao što su PFOS i PFOA, pri čemu postiže stopu uklanjanja između 70% i 90% (Arias Espana, Mallavarapu & Naidu, 2015; Ahrens *et al.*, 2025). Pored toga, AC pokazuje visoku hemijsku i termalnu stabilnost, što omogućava tretman različitih i zahtevnih otpadnih voda (Chen *et al.*, 2025).

Najveći nedostatak je nizak afinitet za kratkolančane PFAS (npr. PFBA i PFBS), koji obično pokazuju momentalni prolazak kroz filter ili efikasnost uklanjanja ispod 50% (Ahrens *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Takođe, GAC ima sporu kinetiku, ponekad je potrebno više od 72 sata da se postigne ravnoteža, što može biti nepraktično za sisteme sa velikim protokom otpadnih voda (Arias Espana, Mallavarapu and Naidu, 2015). Još jedan veliki izazov je konkurentna adsorpcija, pri kojoj rastvorene prirodne organske materije i neorganski joni zauzimaju aktivna mesta, značajno smanjujući dostupni kapacitet za PFAS jedinjenja (Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Na kraju remedijacije, iskorišćeni AC postaje koncentrisan otpad, a budući da je regeneracija na licu mesta teško izvodljiva, često je neophodna energetska zahtevna termalna obrada ili odlaganje na deponiju (Sanzana *et al.*, 2025).

Adsorpcija PFAS jedinjenja na aktivni ugalj prvenstveno je vođena hidrofobnim interakcijama između fluorovanih „repova“ molekula i nepolarnih površina pora, pri čemu jačina ove sile raste linearno sa dužinom lanca molekula (Sanzana *et al.*, 2025; Meservey *et al.*, 2026). Ove interakcije se dopunjuju elektrostatičkim silama između anjonskih „glava“ PFAS molekula i naelektrisanih funkcionalnih grupa na površini AC, pri čemu ih mogu modifikovati pH rastvora i jonska jačina (Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Pored toga, specifična raspodela veličine pora (mikropore naspram mezopora) i mogućnost molekulske agregacije u hemimicelle na površini dodatno utiču na ukupan kapacitet adsorpcije i brzine difuzije molekula (Slika 7) (McCleaf *et al.*, 2017; Sanzana *et al.*, 2025).



Slika 7. Adsorpcioni mehanizmi uklanjanja PFAS supstanci na aktivnom uglju. Preuzeto od (Sanzana *et al.*, 2025).

2.8.4.3. Biočar

Biočar (bioćumur) je održivi ugljenični adsorbens dobijen termalnim tretmanom (pirolizom) organskih bioloških otpada, kao što su poljoprivredni otpad, otpad od hrane i mulj iz kanalizacije (Krahn *et al.*, 2023; Rani *et al.*, 2025). Ovaj materijal poseduje visoko poroznu strukturu i raznovrsne funkcionalne grupe, uključujući hidroksilne, karbonilne i aromatične prstenove, koje olakšavaju vezivanje PFAS jedinjenja iz kontaminiranih vodenih (Rani *et al.*, 2025; Yadav, Propper & Moreira, 2026).

Glavne prednosti biočara su njegova izuzetna isplativost i to što predstavlja ekološku opciju, odnosno koristi sirovine iz otpada i podržava sekvstraciju ugljenika, što ga čini „zelenijom“ alternativom granulisanom aktivnom uglju. Fizička svojstva biočara, poput raspodele veličine pora i specifične površine, mogu se podešavati tokom proizvodnog procesa kako bi se omogućila bolja adsorpcija specifične kontaminacije, pri čemu neki specijalizovani biočar-ovi od mulja iz kanalizacije pokazuju veći afinitet za PFOA od pojedinih komercijalnih aktivnih ugljeva (Krahn *et al.*, 2023; Rani *et al.*, 2025).

S druge strane, glavni nedostatak biočara je njegova relativno niska efikasnost uklanjanja kratkolančanih PFAS supstanci, koje obično ostaju mobilne i slabo vezane u poređenju sa dugolančanim PFAS supstancama (Krahn *et al.*, 2023; Yadav, Propper and Moreira, 2026). Takođe, njegova efikasnost je neujednačena, jer performanse u velikoj meri zavise od tipa sirovine i uslova pirolize (Mai *et al.*, 2026; Yadav, Propper and Moreira, 2026). Postoji i zabrinutost zbog mogućeg prisustva sekundarnih kontaminanata, poput policikličnih aromatičnih ugljovodonika, što zahteva pažljivu kontrolu kvaliteta pre primene u životnoj sredini (Yadav, Propper and Moreira, 2026).

Vezivanje PFAS jedinjenja za biočar prvenstveno je vođeno hidrofobnim interakcijama između nepolarnih fluorovanih „repova“ i ugljenične površine, kao i elektrostatičkim interakcijama između anjonskih „glava“ PFAS supstanci i pozitivno naelektrisanih mesta na biočaru (Rani *et al.*, 2025; Yadav, Propper and Moreira, 2026). Ove dominantne sile često dopunjuju sekundarni mehanizmi, poput

vodoničnih veza i Van der Waalsovih sila, koji dodatno stabilizuju adsorbovane molekule (Krahn *et al.*, 2023; Yadav, Propper and Moreira, 2026).

Kao što je već rečeno i za prethodne adsorbense, budući da jačina hidrofobnih interakcija raste sa svakom dodatnom CF jedinicom, jačina adsorpcije je znatno veća za dugolančane PFAS u poređenju sa kratkolančanim PFAS supstancama (Krahn *et al.*, 2023; Yadav, Propper and Moreira, 2026).

2.8.4.4. Gline

Glineni minerali, poput montmorilonita i kaolinta, su održivi, jeftini i lako dostupni adsorbensi za remedijaciju PFAS jedinjenja (Li and Mohseni, 2025; Meegoda, Mudalige and Perera, 2026). Iako prirodne gline imaju veliku specifičnu površinu i mogu vezivati PFAS, njihove negativno naelektrisane površine često dovode do slabog uklanjanja anjonskih PFAS zbog elektrostatskog odbijanja (Li and Mohseni, 2025; Meegoda, Mudalige and Perera, 2026). Kako bi se to prevazišlo, istraživači razvijaju modifikovane gline (organogline) premazivanjem surfaktantima, aminima ili katjonskim polimerima poput polidialildimetilamonijum-hlorida kako bi stvorila pozitivno naelektrisana mesta na površini adsorbensa (Li and Mohseni, 2025).

Glavna prednost modifikovanih glina je njihova izuzetna regeneraciona efikasnost; često se mogu obnoviti korišćenjem jednostavnog rastvora natrijum-hlorida, pri čemu zadržavaju više od 98% inicijalnog kapaciteta kroz više ciklusa (Li and Mohseni, 2025). Ovaj proces zasnovan samo na slanoj vodi je značajno praktičniji i jeftiniji od složene regeneracije koja je potrebna za aktivni ugalj ili jonske smole (Chen *et al.*, 2025; Li and Mohseni, 2025). Pored toga, ovi materijali su znatno ekološki prihvatljivije rešenje u poređenju sa sintetičkim adsorbensima (Sanzana *et al.*, 2025).

Međutim, značajan nedostatak je njihova osetljivost na pH, gde visoka pH vrednost može povećati negativno naelektrisanje površine i konkurenciju hidroksilnih jona, što značajno smanjuje vezivanje kratkolančanih PFAS supstanci. Takođe, prisustvo prirodne organske materije u otpadnim vodama može ozbiljno umanjiti performanse, jer te materije konkurisu za dostupna mesta za vezivanje (Li and Mohseni, 2025).

Adsorpcija na modifikovanim glinama prvenstveno je vođena jakim elektrostatskom privlačnošću između katjonskih modifikovanih površina i anjonskih „glava“ PFAS supstanci, koja je dodatno dopunjena Van der Waalsovom silama (Li and Mohseni, 2025).

U proširivim 2:1 glinama, poput montmorilonita, molekuli PFAS supstanci mogu se takođe vezivati unutar međuslojnih prostora minerala (Meegoda, Mudalige and Perera, 2026). Pored toga, hidrofobne interakcije između fluorovanih „repova“ i organskih domena na površini gline, obezbeđuju značajnu energiju vezivanja, naročito za dugolančana PFAS jedinjenja (Li and Mohseni, 2025; Meegoda, Mudalige and Perera, 2026).

2.8.5. Elektrohemijska oksidacija

Elektrohemijska oksidacija predstavlja efikasnu destruktivnu metodu koja raskida stabilne ugljenik-fluor veze u PFAS jedinjenjima pomoću elektrolitičke ćelije (Sanzana *et al.*, 2025). Ovaj proces se zasniva na dva osnovna mehanizma: direktnoj oksidaciji, pri kojoj dolazi do prenosa elektrona sa anode na adsorbovane PFAS molekule, i indirektnoj oksidaciji, koja uključuje stvaranje reaktivnih vrsta *in situ*,

kao što su hidroksilni radikali ($\bullet\text{OH}$) ili sulfatni radikali ($\text{SO}_4^{\bullet-}$) (Chen *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Elektrode od borom dopiranog dijamanta pokazale su se kao najefikasnije u ovom procesu, postižući više od 99% razgradnje PFAS jedinjenja (Sanzana *et al.*, 2025).

Glavna prednost elektrohemijske oksidacije je njena sposobnost da postigne visok stepen mineralizacije, pri čemu se toksični molekuli pretvaraju u fluoridne jone i ugljen-dioksid (Sanzana *et al.*, 2025). Zatim, ovaj proces ne zahteva dodatne hemikalije, odvija se na sobnoj temperaturi i može se primenjivati na različite vrste industrijskih otpadnih voda (Sanzana *et al.*, 2025).

Primena elektrohemijske oksidacije u velikim razmerama suočava se sa značajnim izazovima, pre svega zbog visoke potrošnje energije i zahtevne proizvodnje specijalizovanih elektroda (Sanzana *et al.*, 2025). Kao jedan od glavnih problema ove metode navodi se nastajanje toksičnih nusproizvoda, kao što su perhlorat (ClO_4^-) i hlorat (ClO_3^-), naročito u prisustvu hloridnih jona u vodi (Chen *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Takođe, akumulacija fluoridnih jona u tretiranoj vodi može dovesti do stvaranja korozivnih ostataka koji zahtevaju dodatno upravljanje (Sanzana *et al.*, 2025).

2.8.6. Netermalna plazma

Netermalna plazma je nova destruktivna tehnologija za remedijaciju PFAS jedinjenja koja koristi visokoenergetski jonizovani gas za razgradnju ovih postojanih supstanci (Hussain *et al.*, 2025). U ovom procesu nastaje niz veoma reaktivnih vrsta, uključujući slobodne radikale, jone i visokoenergetske elektrone, pa tako vrste kao što su $\bullet\text{OH}$ i $\text{SO}_4^{\bullet-}$, omogućavaju raskidanje ugljenik-fluor veza (Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Ova razgradnja se najčešće odvija na granici između tečnosti i plazme, gde plazma direktno reaguje sa PFAS molekulima (Hussain *et al.*, 2025).

Značajna prednost ove metode je mogućnost rada pri sobnoj temperaturi i atmosferskom pritisku, što je čini potencijalno energetski efikasnijom alternativom u odnosu na termalne metode destrukcije (Hussain *et al.*, 2025; Sanzana *et al.*, 2025). Pokazana je i visoka efikasnost u različitim vrstama matriksa, uključujući industrijske otpadne vode i procedne vode sa deponija, pri čemu je postignuto uklanjanje približno 90% PFOA u roku od 60 minuta. Pored toga, lak prenos ove metode omogućava joj primenu u decentralizovanim ili udaljenim sistemima (Hussain *et al.*, 2025).

Mane ove metode su visoki energetski zahtevi i operativni troškovi povezani sa generisanjem plazme (Hussain *et al.*, 2025). Veliki tehnički problem predstavlja formiranje nusproizvoda kraćeg lanca ($\text{C}_4\text{--}\text{C}_7$), kao i različitih organskih i neorganskih međuproizvoda, koji mogu biti mobilniji i čiji dalji tretman može biti otežan (Chen *et al.*, 2025; Hussain *et al.*, 2025). Dodatno, bezbednosni izazovi i složenost povećanja obima tehnologije za velike komunalne sisteme trenutno ograničavaju njenu širu primenu (Hussain *et al.*, 2025).

2.8.7. Napredni oksidacioni procesi

Napredni oksidacioni procesi (eng. *advanced oxidation processes*, AOP) predstavljaju destruktivne tehnike remedijacije koje, kako bi razgradile postojeće PFAS molekule, stvaraju veoma reaktivne kiseonične vrste, prvenstveno hidroksilne radikale ($\bullet\text{OH}$) i sulfatne radikale ($\text{SO}_4^{\bullet-}$) (Hussain *et al.*, 2025; Narasimhappa *et al.*, 2025). Iako standardni AOP sistemi zasnovani na hidroksilnim radikalima, kao što su $\text{UV}/\text{H}_2\text{O}_2$ ili Fentonov reagens, često nisu efikasni jer hidroksilni radikali teško napadaju C--F veze (jer nema prisutnog vodonika) u jedinjenjima PFOS i PFOA, sistemi zasnovani na sulfatnim radikalima pokazali su značajan potencijal (Arias Espana, Mallavarapu and Naidu, 2015). Tokom ovih procesa događa se mineralizacija, pri čemu se toksična jedinjenja pretvaraju u fluoridne jone (F^-), CO_2 i

perfluorokarboksilne kiseline kraćeg lanca (Arias Espana, Mallavarapu and Naidu, 2015; Hussain *et al.*, 2025).

Glavna prednost AOP tehnologija je njihova sposobnost da razgrade PFAS *in situ*, čime se sprečava prenos kontaminacije u sekundarne tokove otpada, kao što su mulj ili koncentrovana slana voda (Arias Espana, Mallavarapu and Naidu, 2015). Ovi procesi su veoma prilagodljivi i mogu se primenjivati za tretman složenih industrijskih otpadnih voda i procednih voda sa deponija, uz istovremeno uklanjanje različitih pratećih zagađujućih supstanci (Hussain *et al.*, 2025).

Veliki nedostatak predstavljaju visoki operativni troškovi, zbog velike potrošnje energije i stalne potrebe za skupim hemijskim reagensima (Hussain *et al.*, 2025). Pored toga, AOP procesi često dovode do nepotpune razgradnje, pri čemu nastaju perfluorovani nusproizvodi kraćeg lanca (C4-C7) koji su mobilniji i teži za uklanjanje (Chen *et al.*, 2025; Hussain *et al.*, 2025). Takođe, organska materija prisutna u otpadnoj vodi može reagovati sa reaktivnim radikalima, čime se značajno smanjuje ukupna efikasnost procesa remedijacije PFAS jedinjenja (Chen *et al.*, 2025).

2.8.7.1. Fotokataliza

Fotokataliza je napredni oksidacioni proces koji pokreće svetlost, a koristi poluprovodničke materijale, kao što su TiO_2 ili ZnO , za mineralizaciju organskih zagađivača (Leung *et al.*, 2022; Liang *et al.*, 2023). Proces započinje kada se katalizator izloži svetlosti čija je energija jednaka ili veća od širine njegovog energetskog procepa (eng. band gap), što dovodi do prelaska elektrona (e^-) iz valentne u provodnu zonu (Liang *et al.*, 2023; Fernandes *et al.*, 2025). Nakon eksitacije nastaju pozitivno naelektrisane šupljine (h^+), čime se formiraju reaktivni elektron-šupljinski parovi (eng. electron-hole pairs) (Xu *et al.*, 2017; Liang *et al.*, 2023). Ove vrste zatim reaguju sa okolnom vodom i kiseonikom, pri čemu se generišu visoko reaktivni kiseonični radikali, poput hidroksilnih radikala ($\bullet\text{OH}$) i superoksidnih anjona ($\text{O}_2^{\bullet-}$) (Liang *et al.*, 2023; Fernandes *et al.*, 2025). Fotokataliza je posebno pogodna za remedijaciju organskih jedinjenja jer ovi radikali poseduju izuzetno visok oksidacioni potencijal, neophodan za raskidanje jakih hemijskih veza, uključujući C-F veze u perzistentnim PFAS jedinjenjima (Xu *et al.*, 2017; Fernandes *et al.*, 2025). Pored toga, poluprovodnički nanomaterijali imaju veliku specifičnu površinu i veliki broj aktivnih mesta, što omogućava efikasnu, postepenu mineralizaciju složenih zagađivača u netoksične proizvode (Juve *et al.*, 2024; Fernandes *et al.*, 2025).

Najopsežnije istraživani fotokatalizatori za remedijaciju PFAS jedinjenja su titanijum-dioksid (TiO_2), indijum-oksidi (In_2O_3) i galijum-oksidi (Ga_2O_3) (Leung *et al.*, 2022; Fernandes *et al.*, 2025). TiO_2 se izdvaja kao najčešće korišćen fotokatalizator zbog svoje isplativosti i hemijske stabilnosti, iako njegova efikasnost često može biti smanjena prisustvom prirodne organske supstance (Xu *et al.*, 2017; Leung *et al.*, 2022). Nasuprot tome, In_2O_3 , naročito u obliku nanoporoznih pločica, često se navodi kao najefikasniji fotokatalizator pri UV zračenju, pri čemu u laboratorijskim uslovima često pokazuje bolje performanse od TiO_2 i Ga_2O_3 (Xu *et al.*, 2017; Fernandes *et al.*, 2025). Pored ovih tradicionalnih poluprovodnika, materijali na bazi bizmuta (BiOX , gde je $X = \text{Cl}, \text{Br}$ ili I) pojavljuju se kao perspektivni kandidati zahvaljujući svojoj slojevitoj strukturi i pogodnosti za konverziju solarne energije (Juve *et al.*, 2024; Fernandes *et al.*, 2025). Drugi proučavani materijali uključuju oksid gvožđa (Fe_2O_3), cink-oksidi (ZnO) i kompozitne sisteme, WO_3/TiO_2 ili kompozitne sisteme sa redukovanim grafen oksidom koji su dizajnirani da poboljšaju apsorpciju svetlosti i smanje rekombinaciju elektronsko-šupljinskih parova (Lashuk *et al.*, 2022; Leung *et al.*, 2022; Fernandes *et al.*, 2025).

TiO₂ fotokatalizatori

Titanijum-dioksid (TiO₂) ističe se kao veoma efikasan i primenjiv u fotokatalitičkoj degradaciji PFAS jedinjenja zbog svoje hemijske i biološke stabilnosti, dostupnosti i niske cene, što ga čini praktičnom i održivom opcijom za obradu zagađenih voda u velikim razmerama (Chen *et al.*, 2015; Xu *et al.*, 2017). Za razliku od mnogih tradicionalnih metoda remedijacije, TiO₂ posredovana fotokataliza predstavlja efikasnu „zelenu“ tehnologiju koja radi pod blagim uslovima i ne proizvodi značajno sekundarno zagađenje. Efikasnost TiO₂ proizilazi iz njegove jedinstvene strukture energetske pojaseva (Liang *et al.*, 2023). Pri ozračivanju UV svetlošću, elektroni se pobuđuju u provodnu traku (eng. conduction band), ostavljajući iza sebe pozitivno naelektrisanu šupljine (h⁺) u valentnoj traci, a koje poseduju izuzetno snažan oksidacioni potencijal. Ove šupljine mogu direktno napasti molekule PFAS adsorbovane na površini katalizatora, omogućavajući postepeno kidanje izuzetno stabilnih C–F veza (Liang *et al.*, 2023; Juve *et al.*, 2024).

Pored toga, TiO₂ stvara reaktivne kiseonične radikale koji doprinose mineralizaciji organskih zagađivača u bezopasne krajnje proizvode kao što su CO₂ i fluoridni joni (Chen *et al.*, 2015; Liang *et al.*, 2023). Iako TiO₂ ima veliki energetske procep od 3,2 eV, njegova efikasnost može se značajno poboljšati modifikacijama kao što su dopiranje metalnim jonima ili formiranje kompozitnih heterostruktura, čime se smanjuje rekombinacija fotogenerisanih nosilaca naelektrisanja (Chen *et al.*, 2015; Duan *et al.*, 2022).

Studije su pokazale da integracija redukovano grafena (rGO) sa TiO₂ značajno utiče na efikasnost remedijacije PFAS supstanci. rGO deluje kao efikasan hvatač elektrona, preuzimajući fotogenerisane elektrone i na taj način smanjujući rekombinaciju nosilaca naelektrisanja, što omogućava četverostruko veći stepen degradacije PFOA u poređenju sa čistim TiO₂ (Gomez-Ruiz *et al.*, 2018). Prisustvo rGO poboljšava separaciju naelektrisanja, tako što visoka električna provodljivost rGO olakšava prenos elektrona, čime se podstiče direktna oksidacija pomoću šupljina i reaktivnih radikala. Kompozit rGO/TiO₂ ne samo da proširuje opseg apsorpcije svetlosti prema vidljivom spektru, već i zahvaljujući velikoj specifičnoj površini rGO obezbeđuje dodatna aktivna mesta, što rezultira značajnom mineralizacijom, uključujući smanjenje ukupnog organskog ugljenika za oko 60% (Gomez-Ruiz *et al.*, 2018; Rivero *et al.*, 2020).

Efikasnost fotokatalitičke degradacije PFAS supstanci određena je nizom ključnih ekoloških i operativnih faktora:

- pH rastvora: Predstavlja jedan od najvažnijih parametara, jer se u kiselim uslovima (obično oko pH 4) povećava adsorpcija anjonskih PFAS jedinjenja na površini katalizatora. Uz to poboljšava se i aktivnost fotogenerisanih nosilaca naelektrisanja (Xu *et al.*, 2017; Fernandes *et al.*, 2025).
- Doza katalizatora i koncentracija PFAS: Što je veća koncentracija katalizatora u odnosu na koncentraciju PFAS supstanci, to je veći broj aktivnih mesta, ali sa druge strane prevelike koncentracije katalizatora mogu dovesti do rasipanja svetlosti i samogašenja reakcije. Nasuprot tome, visoke početne koncentracije PFAS mogu zasiti površinu katalizatora, čime se smanjuje ukupna brzina degradacije (Liang *et al.*, 2023; Fernandes *et al.*, 2025).
- Intenzitet i talasna dužina svetlosti: Intenzitet i talasna dužina svetlosti su parametri koji su ključni za stvaranje elektronsko-šupljinskih parova, pri čemu veći intenzitet svetlosti uglavnom ubrzava kinetiku reakcije (Xu *et al.*, 2017; Fernandes *et al.*, 2025).
- Prisustvo drugih komponenti u rastvoru: Prisustvo prirodnih organskih materija i neorganskih jona (npr. bikarbonati ili sulfati) može značajno smanjiti efikasnost, jer konkurišu za ista aktivna

mesta kao i PFAS supstance i hvataju reaktivne vrste (Leung *et al.*, 2022; Liang *et al.*, 2023; Fernandes *et al.*, 2025).

- Temperatura: Povećanje temperature reakcije (do približno 100 °C) može poboljšati efikasnost uklanjanja PFAS supstanci (Xu *et al.*, 2017).

Glavne prednosti upotrebe fotokatalitičke degradacije su visoka efikasnost defluorinacije pri relativno blagim temperaturnim i pH uslovima (Liang *et al.*, 2023; Juve *et al.*, 2024). Za razliku od tradicionalnih metoda separacije, ovaj proces može dovesti, u nekim slučajevima, do potpune mineralizacije PFAS supstanci u neorganske produkte, kao što su fluoridni joni i CO₂ (Juve *et al.*, 2024). Pored toga, mogućnost korišćenja sunčeve energije smanjuje operativne troškove i povećava održivost procesa u poređenju sa energetski zahtevnim termičkim ili hemijskim tretmanima, što je čini ekološki prihvatljivom metodom (Liang *et al.*, 2023; Juve *et al.*, 2024).

Međutim, i dalje postoje značajni nedostaci, među kojima su nizak kvantni prinos i ograničen opseg apsorpcije svetlosti kod mnogih katalizatora (Juve *et al.*, 2024). Poseban problem predstavlja nastajanje PFAS intermedijera kraćeg lanca, koji mogu zadržati određeni stepen ekotoksičnosti ukoliko mineralizacija nije potpuna (Leung *et al.*, 2022; Liang *et al.*, 2023). Dodatno, uobičajeni katalizatori poput TiO₂ teško se izdvajaju iz tretiranog rastvora, a njihova efikasnost je često značajno smanjena prisustvom prirodne organske materije u vodama pri realnim uslovima (Xu *et al.*, 2017; Leung *et al.*, 2022). Zbog ovih praktičnih ograničenja i izazova u dizajnu reaktora, većina primena fotokatalize za degradaciju PFAS supstanci za sada ostaje na laboratorijskom nivou (Liang *et al.*, 2023; Juve *et al.*, 2024).

Imobilizovani i praškasti fotokatalizatori

Pločasti fotokatalizatori (imobilizovani sistemi) nude značajne operativne prednosti u odnosu na praškaste fotokatalizatore (suspension sistemi) u procesu remedijacije voda kontaminiranih PFAS. Iako praškasti katalizatori imaju veliku specifičnu površinu, njihovo izdvajanje iz sistema nakon remedijacije je veoma otežano i obično zahteva energetski zahtevne postupke separacije, kao što su centrifugiranje ili membranska filtracija, kako bi se katalitička suspenzija odvojila od tretiranog efluenta (Park, Ali and Kim, 2018; Juve *et al.*, 2024). Nasuprot tome, pločasti sistemi, kao što su oni zasnovani na titanijumskim pločama, ne zahtevaju naknadno sakupljanje ili filtraciju nakon tretmana, čime se značajno pojednostavljaju ponovna upotreba i operativna logistika (Park, Ali & Kim, 2018).

Imobilizovani katalizatori pogodniji su i za primenu u velikim razmerama, jer omogućavaju projektovanje reaktora sa kontinuiranim protokom i eliminišu rizik od sekundarnog zagađenja koje bi moglo nastati oslobađanjem slobodnih nanomaterijala u životnu sredinu (Juve *et al.*, 2024; Fernandes *et al.*, 2025). Jedna od istaknutih metoda sinteze za dobijanje ovakvih visokoefikasnih ploča zasniva se na anodizaciji metalnih supstrata, pri čemu se na površini titanijuma direktno formiraju stabilne, vertikalno orijentisane strukture, poput nizova nanotuba (Park, Ali and Kim, 2018). Ovakav pristup obezbeđuje čvrsto mehaničko vezivanje i visoku stabilnost katalizatora, što je od ključnog značaja za održavanje efikasnosti degradacije tokom više ciklusa ponovne upotrebe u složenim vodnim matricama (Park, Ali and Kim, 2018; Juve *et al.*, 2024). Plazma elektrolitička oksidacija (eng. plasma electrolytic oxidation, PEO) takođe se pokazala kao veoma korisna metoda za dobijanje fotokatalitički aktivnih oksidnih prevlaka. PEO fotokatalizatori pogodni su za praktičnu primenu, jer ih je potrebno samo izdvojiti iz vode nakon procesa tretmana. Uz to fotokatalizatori dobijeni na ovaj način pokazuju dobru hemijsku, fizičku

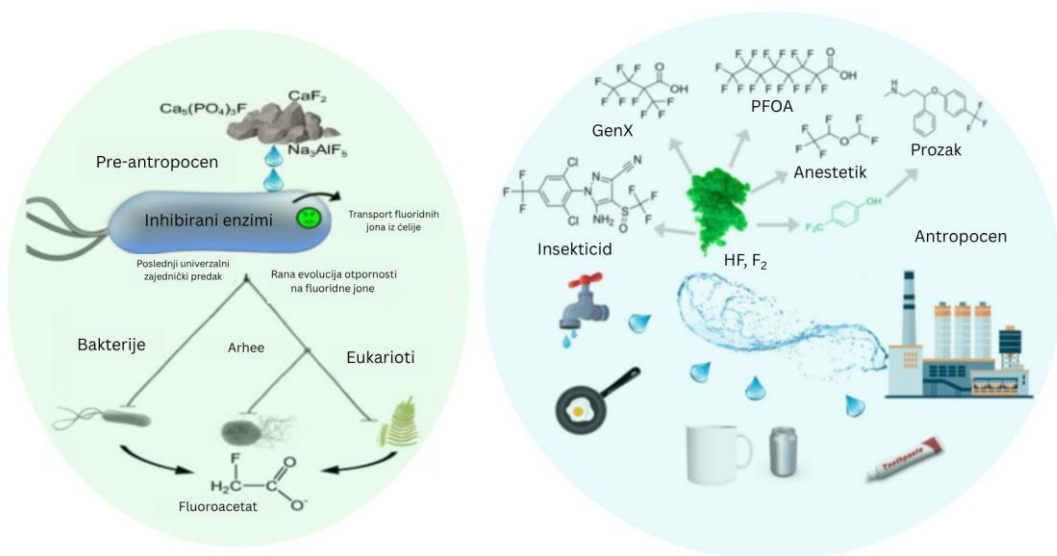
i fotokatalitičku stabilnost, što ih čini dodatno pogodnim za njihovu praktičnu primenu (Stojadinović and Radić, 2025).

2.8.8. Biodegradacija

Biodegradacija je proces od suštinskog značaja za recikliranje elemenata u biogeohemijskim ciklusima na Zemlji. Ovo je destruktivna, ekološki održiva metoda koja koristi mikroorganizme, poput bakterija, gljiva i algi/mikroalgi za razgradnju organske supstance (Sanzana *et al.*, 2025). Dok se većina prirodnih organskih supstanci relativno lako uključuje u metaboličke procese, organofluorna jedinjenja predstavljaju poseban izazov zbog izuzetne stabilnosti veze ugljenik–fluor i toksičnosti oslobođenog fluoridnog jona. Iako je fluor trinaesti najzastupljeniji element u Zemljinoj kori, njegova uloga u biologiji je izuzetno ograničena. Za razliku od elemenata kao što su ugljenik, azot, fosfor i sumpor, fluor nije prepoznat kao esencijalni biogeni element. Zbog visoke reaktivnosti fluoridnog jona (F^-), koji može inhibirati brojne enzime i poremetiti osnovne metaboličke procese, tokom evolucije većina organizama je razvila mehanizme kojima sprečava njegov ulazak i akumulaciju u ćelijama. Tokom većeg dela geološke istorije fluor je u životnoj sredini bio prisutan uglavnom u obliku mineralnih jedinjenja, kao što su fluorit (CaF_2), fluorapatit [$Ca_5(PO_4)_3F$] i kriolit (Na_3AlF_6). Dugotrajna izloženost prirodnim koncentracijama fluorida tokom evolucije dovela je do razvoja različitih mehanizama rezistencije kod mikroorganizama, zasnovanih prvenstveno na efikasnom transportu fluoridnih jona iz ćelije. Ovi mehanizmi smatraju se jednom od najstarijih adaptacija mikroorganizama na prisustvo fluorida u životnoj sredini (Stockbridge and Wackett, 2024).

Prirodni metabolizam organofluornih jedinjenja izuzetno je redak. Samo mali broj biljaka i mikroorganizama sposoban je da sintetiše fluorovana organska jedinjenja. Najpoznatiji primer predstavlja biosinteza fluoroacetata, jedinjenja koje deluje kao snažan metabolički toksin i služi kao hemijska zaštita od biljojeda i drugih organizama. Pored fluoroacetata, poznato je svega nekoliko prirodnih fluorovanih metabolita, uključujući 4-fluoro-L-treonin i određene fluorovane masne kiseline (Stockbridge and Wackett, 2024).

Industrijska revolucija i razvoj savremene hemijske industrije doveli su do naglog povećanja proizvodnje i primene organofluornih jedinjenja, što je za posledicu imalo značajan porast prisustva fluorovanih organskih jedinjenja u biosferi, čime je istovremeno izvršen novi selekcionirani pritisak na mikroorganizme. Ova promena otvara mogućnost korišćenja evolutivno razvijenih mehanizama rezistencije kao osnove za razvoj biotehnoških strategija za uklanjanje PFAS i drugih perzistentnih organofluornih zagađujućih supstanci (Slika 8) (Stockbridge and Wackett, 2024).



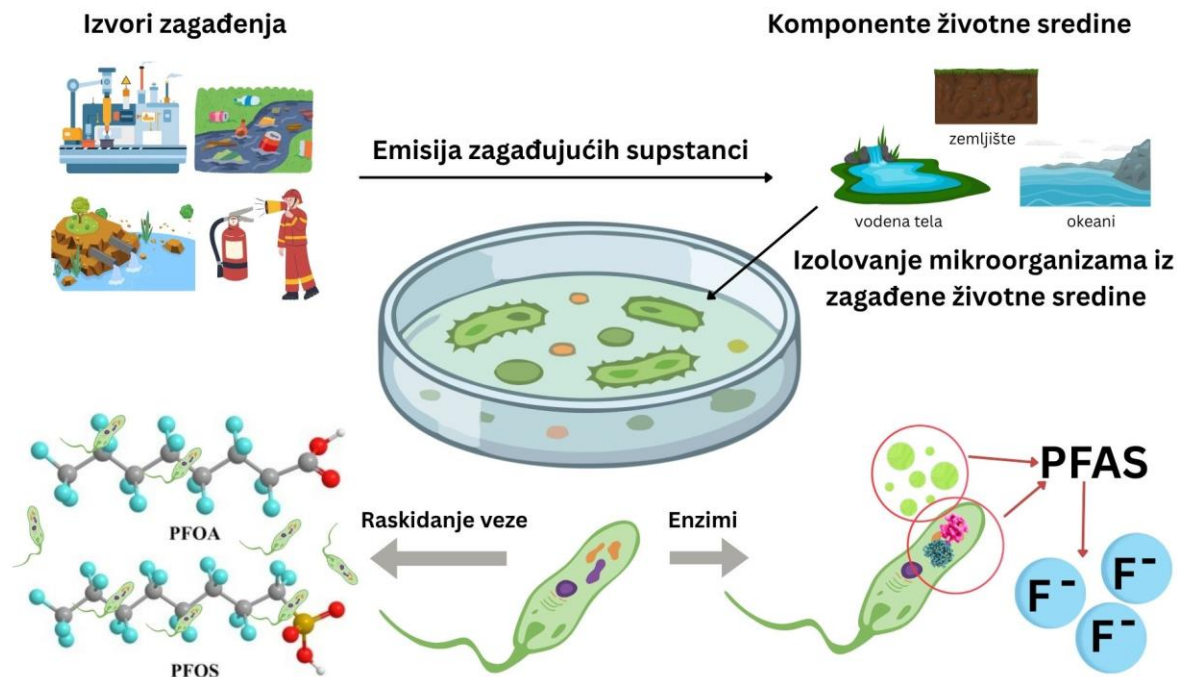
Slika 8. Evolucija interakcija između fluora i živih sistema. Tokom preantropocenskog perioda (levo), fluor je bio prisutan uglavnom u obliku fluoridnih jona poreklom iz minerala, što je dovelo do razvoja mehanizama rezistencije kod mikroorganizama. U poslednjih stotinu godina (desno), antropogene aktivnosti značajno su povećale prisustvo neorganskih i organskih fluorovanih jedinjenja u biosferi, naročito PFAS supstanci, koje zbog svoje perzistentnosti predstavljaju rizik za zdravlje ljudi i ekosisteme. Preuzeto i modifikovano od (Stockbridge and Wackett, 2024).

Iako su PFAS ranije smatrane biološki inertnim, istraživanja rađena proteklih godina su pokazala da PFAS jedinjenja mogu podleći biološki posredovanoj biotransformaciji, pa čak i biodefluorinaciji. Glavna prednost biodegradacije je njena isplativost i minimalan uticaj na životnu sredinu u poređenju sa energetski intenzivnim fizičkim ili hemijskim sistemima remedijacije. Ova metoda ne dovodi do stvaranja toksičnih sekundarnih tokova otpada, pa tako predstavlja ekološko rešenje koje se potencijalno može integrisati u postojeće sisteme za prečišćavanje otpadnih voda (Sanzana *et al.*, 2025).

Međutim, primena biodegradacije je ograničena brzinom razgradnje, koja je izrazito spora, kao i potrebom za specifičnim uslovima ili dodatnim supstratima koji stimulišu mikrobnu aktivnost. Značajan tehnički izazov predstavlja nepotpuna mineralizacija, pri čemu se prekursori dugog lanca često transformišu u još postojanija i mobilnija PFAS jedinjenja kraćeg lanca, kao što su PFBA i perfluoropentanoična kiselina (eng. perfluoropentanoic acid, PFPeA). Takođe, visoke koncentracije PFAS mogu imati inhibitorni efekat na rast mikroorganizama, što dodatno otežava primenu ove metode u tretmanu različitih industrijskih otpadnih voda (Sanzana *et al.*, 2025).

Mikrobna transformacija PFAS (Slika 9) može se generalno podeliti na biotransformaciju, biodegradaciju i mineralizaciju. Biotransformacija podrazumeva delimičnu promenu strukture molekula (oksidaciju, karboksilaciju...), pri čemu najčešće nastaju postojani međuproizvodi, ali ne dolazi do potpune razgradnje PFAS jedinjenja. Biodegradacija podrazumeva ozbiljnije strukturne promene, poput gubitka dela molekula. Nasuprot tome, mineralizacija predstavlja potpunu konverziju ugljeničnog

skeleta u CO₂ uz oslobađanje fluoridnih jona. Iako mineralizacija terminalnih perfluoroalkilnih kiselina još uvek nije potvrđena u prirodnim uslovima životne sredine, biotransformacija se često uočava kod prekursorskih jedinjenja (Shahid and Shafi, 2026).



Slika 9. Shematski prikaz procesa izolovanja mikroorganizama koji mogu da degradiraju PFAS jedinjenja sa principima degradacije. Preuzeto i modifikovano od (Ye *et al.*, 2025).

Polifluorovani prekursori, kao što su fluorotelomerni alkoholi i sulfonati (npr. 6:2 FTSA), su znatno podložniji mikrobnoj razlaganju, jer sadrže ugljenik–vodonik (C–H) veze koje enzimi lakše metabolišu. Ova jedinjenja prolaze kroz proces biodegradacije, pri čemu se transformišu u jedinjenja kraćeg lanca ili terminalne PFAA (Berhanu *et al.*, 2023; Kannan *et al.*, 2026). Međutim, kada je jedinjenje potpuno fluorovano, izuzetna jačina C–F veze, zajedno sa činjenicom da mikroorganizam iz takve transformacije ne dobija energetske koristi za rast, stvara termodinamičku barijeru. Zbog toga su ove terminalne kiseline praktično otporne na dalju prirodnu razgradnju (Omagamre and Custer, 2025; Shahid and Shafi, 2026).

Među bakterijama koje pokazuju potencijal za razgradnju izdvajaju se *Acidimicrobium* sp. soj A6, *Rhodococcus jostii* RHA1 i više vrsta roda *Pseudomonas*, kao što su *P. aeruginosa*, *P. putida* i *P. parafulva* (Ye *et al.*, 2025).

U carstvu gljiva, vrste koje razgrađuju drvo, poput *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* i *Gloeophyllum trabeum*, pokazale su sposobnost transformacije ovih jedinjenja, često uz pomoć ekstracelularnih enzima, kao što su peroksidaze. Pored toga, određene mikroalge, uključujući rodove *Chlorella* i *Scenedesmus*, takođe mogu učestvovati u degradaciji PFAS jedinjenja (Ye *et al.*, 2025).

Važno je naglasiti da većina ovih mikroorganizama ne koristi PFAS supstance kao primarni izvor ugljenika ili energije. Umesto toga, oni najčešće učestvuju u kometabolizmu, procesu u kome se razgradnja supstrata koji ne podržava rast odvija paralelno dok mikroorganizam aktivno metaboliše drugi, pristupačniji supstrat koji služi kao primarni izvor energije i rasta (Berhanu *et al.*, 2023). Enzimi široke supstratne specifičnosti, evoluirali su za transformaciju drugih jedinjenja, ali nespecifično

katalizuju i pojedine korake transformacije fluorovanih molekula. Monooksigenaze se izdvajaju kao najvažniji kandidati za inicijalnu aktivaciju fluorotelomernih jedinjenja, a posebno je uočena veza između metanotrofnih bakterija i transformacije fluorotelomernih sulfonata, što ukazuje na ulogu metan monooksigenaze. Mikroorganizmi povezani sa metabolizmom sumpora, poput rodova *Gordonia* i *Rhodococcus*, takođe imaju značajnu ulogu, jer ograničena dostupnost sumpora stimuliše korišćenje organskih sulfonata kao alternativnog izvora, što dovodi do uklanjanja sulfonatne grupe i nastanka reaktivnijih intermedijera. Alkanske hidroksilaze i drugi oksidativni enzimi doprinose stvaranju fluorotelomernih karboksilnih i nezasićenih kiselina, ključnih međuproizvoda koji dalje vode sukcesivnom skraćivanju fluorovanog lanca. Uloga dehalogenaza, iako centralna kod hlorovanih jedinjenja, kod PFAS je manje razjašnjena, sa ograničenim dokazima o učešću u defluorinaciji perfluorovanih alkilnih supstanci. U celini, transformacija PFAS najčešće je povezana sa aktivnošću mikroorganizama koji metabolizuju ugljovodonike, alkohole, sulfate, sulfonate i jednogljjenična jedinjenja. Ovakvi nalazi ukazuju da bi razvoj bioremedijacionih tehnologija trebalo usmeriti ka stimulaciji kometaboličkih puteva i optimizaciji uslova koji pogoduju mikroorganizmima sa izraženim oksidativnim potencijalom (LaFond *et al.*, 2023).

2.8.8.1. Mehanizmi mikrobiološke transformacije

Mikrobna transformacija PFAS supstanci obuhvata složen niz enzimskih reakcija (Slika 9), koje se najčešće svrstavaju u oksidativne, reduktivne, hidrolitičke, eliminacione i supstitucione puteve. Ovi mehanizmi mogu se značajno razlikovati u zavisnosti od toga da li je cilj polifluorisani „prekursor“ ili stabilnija perfluorisana kiselina (Berhanu *et al.*, 2023).

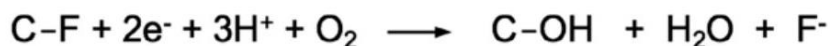
Razumevanje pojedinačnih reakcija koje dovode do raskidanja C–F veze zahteva detaljniji uvid u mehanizme mikrobne defluorinacije. Ovi procesi predstavljaju centralni korak u biotransformaciji organofluornih jedinjenja i mogu se odvijati kroz više različitih biohemijskih puteva (Wackett, 2022).

Mikrobna defluorinacija odvija se kroz nekoliko biohemijskih puteva čiji izbor zavisi od strukture supstrata i raspoloživih enzimskih sistema u mikroorganizmu. Reduktivna defluorinacija podrazumeva prenos elektrona koji destabilizuje C–F vezu, a posebno je značajna u anaerobnim uslovima i kod razgradnje pojedinih PFAS prekursora. Oksidativni mehanizmi uključuju uvođenje hidroksilne ili druge oksidovane grupe u blizini fluorisanog ugljenika, čime se molekul aktivira za oslobađanje fluorida, a ovaj put je naročito važan kod aromatičnih i heterocikličnih jedinjenja. Hidrolitička defluorinacija, najbolje proučen mehanizam, odvija se napadom molekula vode na ugljenik vezan za fluor, pri čemu fluor biva zamenjen hidroksilnom grupom, kao što je slučaj kod fluoroacetat dehalogenaza. Postoje i supstitucionni mehanizmi gde fluor biva zamenjen drugim funkcionalnim grupama, često kao deo složenijih, višestepenih metaboličkih puteva. Eliminacione reakcije, poput β -eliminacije, uklanjaju fluorid i susedni vodonik istovremeno, formirajući dvostruku vezu, što je relevantno kod delimično fluorovanih, ali ne i potpuno perfluorovanih jedinjenja. Svi ovi mehanizmi (Slika 10) pokazuju da mikroorganizmi imaju raznovrsne enzimske alate za raskidanje izuzetno stabilne C–F veze, mada su te reakcije sporije i energetski zahtevnije od razgradnje nefluorovanih jedinjenja. Ovo ukazuje da biodegradacija organofluornih supstanci nije onemogućena samom hemijskom prirodom fluora, već zavisi od dostupnosti odgovarajućih enzima, što otvara put za razvoj biotehnoloških rešenja za razgradnju PFAS i sličnih zagađivača (Wackett, 2022).

Reduktivna defluorinacija



Oksidativna defluorinacija



Hidrolitička defluorinacija



Supstitucionna defluorinacija



Eliminaciona defluorinacija

Alfa eliminacija



Beta eliminacija



Slika 10. Generalizovani mehanizmi defluorinacije zasnovani na primerima iz naučne literature, uključujući reduktivnu, oksidativnu, hidrolitičku, supstitucionu i eliminacionu defluorinaciju. Ugljenikovi atomi mogu biti alkilni, olefini ili aromatični. Reakcije su pojednostavljene kako bi se prikazali ključni elementi svakog tipa reakcije. β -eliminacija se može odvijati i kod jedinjenja koja sadrže strukturni motiv H-C-C-F , pri čemu kao produkti nastaju H^+ i F^- joni. Preuzeto od (Wackett, 2022).

Oksidativna defluorinacija predstavlja jedan od najznačajnijih puteva koji povezuje opšte mehanizme raskidanja C-F veze sa transformacijom specifičnih PFAS prekursora, a posebno se uočava kod polifluorisanih jedinjenja kao što su fluorotelomerni alkoholi. Enzimi poput butan monooksigenaza i alkan monooksigenaza započinju razgradnju napadom na C-H veze, pri čemu se 8:2 FTOH transformiše u međuproizvode kao što su 8:2 fluorotelomerna karboksilna kiselina (8:2 FTCA) i 8:2 fluorotelomerna nezasićena karboksilna kiselina (8:2 FTUCA), što za posledicu ima formiranje terminalnih produkata poput PFOA (Berhanu *et al.*, 2023).

Kod gljiva, ekstracelularni enzimi poput peroksidaza i lakaza koriste reaktivne kiseonične vrste za katalizovanje oksidativne humifikacije, procesa koji tokom dužeg vremenskog perioda može razgraditi i do 50% PFOA (Kumar *et al.*, 2023). Važan molekulski mehanizam uključuje i enzime citohroma P450 koji uz pomoć koenzima NADPH formiraju feril-okso hem radikal katjon, koji obezbeđuje oksidacionu snagu potrebnu za raskidanje C-F veza (Noori *et al.*, 2025).

Reduktivna defluorinacija najčešće se odvija u anaerobnim uslovima, naročito na dvostrukim vezama u blizini karboksilnih grupa (α -nezasićenost) ili na tercijarnim C-F vezama, koje imaju nižu energiju disocijacije veze (Kumar *et al.*, 2023; Noori *et al.*, 2025). Sojevi poput *Acetobacter* mogu koristiti razgranate metaboličke puteve, kao što je metabolički put redukcije kafeinske kiseline, kako bi omogućili ovaj proces (Ye *et al.*, 2025). Pored toga, enzimi kao što su haloalkan dehalogenaze i fluoroacetat dehalogenaze mogu katalizovati hidrolitičko cepanje C-F veza. Posebno je utvrđeno da

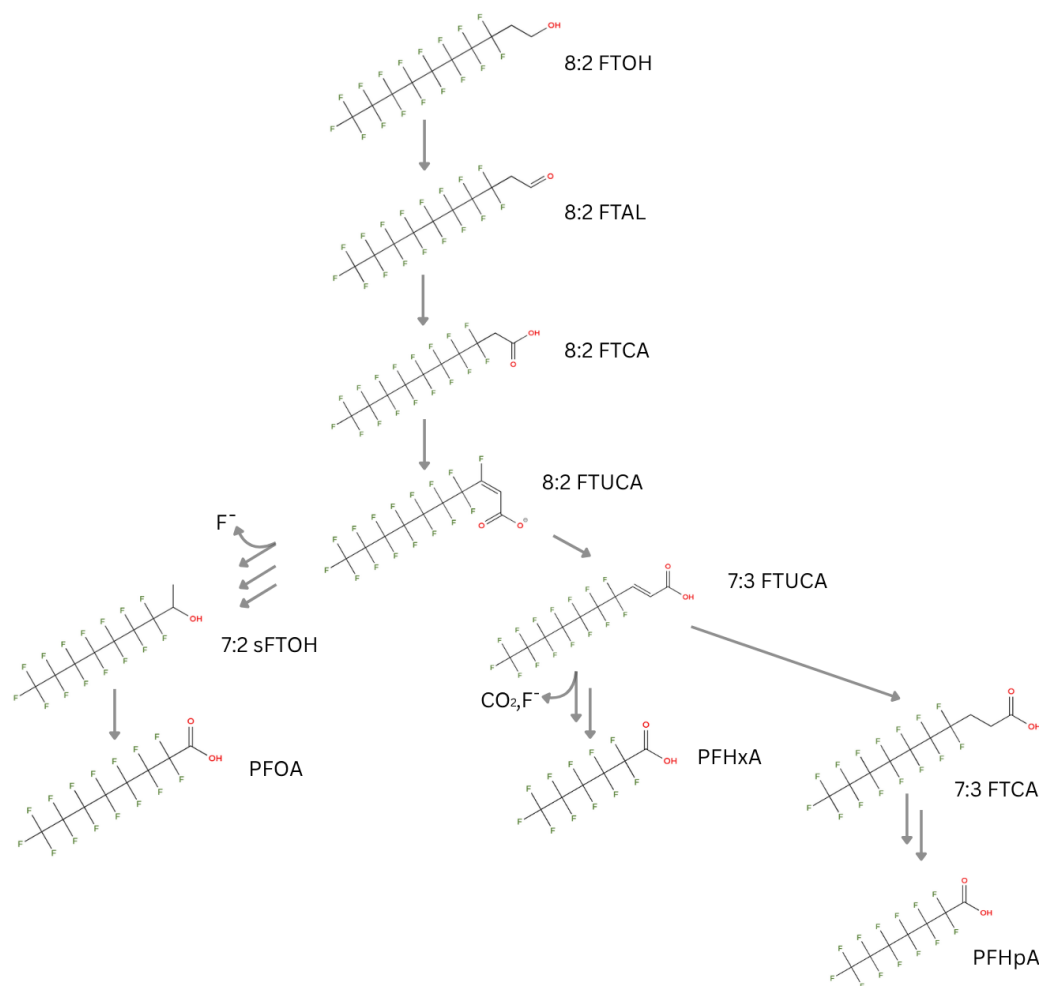
aminokiselinski ostatak ASP105 u određenim dehalogenazama predstavlja mesto nukleofilnog napada na α -C-F veze, pri čemu dolazi do njihove transformacije u glikolat (Noori *et al.*, 2025).

Da bi se ublažio toksični uticaj koji potiče od oslobođenih fluoridnih jona tokom ovih procesa, mnoge bakterije koriste proteine tipa CrcB, koji funkcionišu kao specifični transporteri za izbacivanje fluorida iz ćelije, čime se održava unutrašnja (intracelularna) homeostaza (Ye *et al.*, 2025).

2.8.8.2. Metabolički putevi biodegradacije PFAS proizvoda

Biodegradacija PFAS prekursora, kao što su fluorotelomerni alkoholi (FTOH), odvija se kroz višestepeni enzimski proces u kome se složene polifluorovane strukture postepeno „usmeravaju“ ka formiranju terminalnih perfluoroalkilnih kiselina. Mnogi složeni prekursori, uključujući fluorotelomerne sulfonske kiseline i polifluoroalkilne fosfatne estre, najpre podležu desulfonaciji ili hidrolizi pod dejstvom mikroorganizama, pri čemu nastaju FTOH, koji predstavljaju ključne međuproizvode za dalju razgradnju (Berhanu *et al.*, 2023).

Glavni metabolički put za FTOH zasniva se na sekvencijalnoj oksidaciji. Na primer, degradacija 8:2 FTOH započinje njegovom transformacijom u 8:2 fluorotelomerni aldehid (8:2 FTAL), a zatim u 8:2 fluorotelomernu karboksilnu kiselinu (8:2 FTCA). Ključna tačka grananja nastaje formiranjem 8:2 fluorotelomerne nezasićene karboksilne kiseline (8:2 FTUCA). Od ove faze put razgradnje se obično deli na PFCA put koji vodi ka formiranju terminalnih perfluoroalkilnih karboksilnih kiselina, kao što je PFOA i na x:3 put kiselina koji dovodi do metabolita poput 7:3 kiseline (Slika 11) (Berhanu *et al.*, 2023).



Slika 11. Aerobna degradacija 8:2 fluorotelomernih alkohola (8:2 FTOH). Preuzeto i modificirano od (Berhanu *et al.*, 2023).

Studije sprovedene sa sojevima roda *Pseudomonas* pokazale su da se 6:2 i 8:2 FTOH tokom perioda od 28 dana transformišu u perfluorokarboksilne kiseline kraćeg lanca (npr. PFHxA i PFBA) i ketone, kao što su 5:2 i 7:2 ketoni. U anaerobnim uslovima, degradacija 8:2 FTOH dovodi do oslobađanja približno 19,6% ukupnog fluorida, pri čemu nastaju metaboliti poput 7:2 sekundarnog FTOH (7:2 sFTOH). Na kraju, iako su ovi prekursori biološki reaktivni, njihovi metabolički putevi konvergiraju ka izuzetno postojećim perfluorisanim kiselinama, koje su otporne na dalju prirodnu degradaciju (Berhanu *et al.*, 2023).

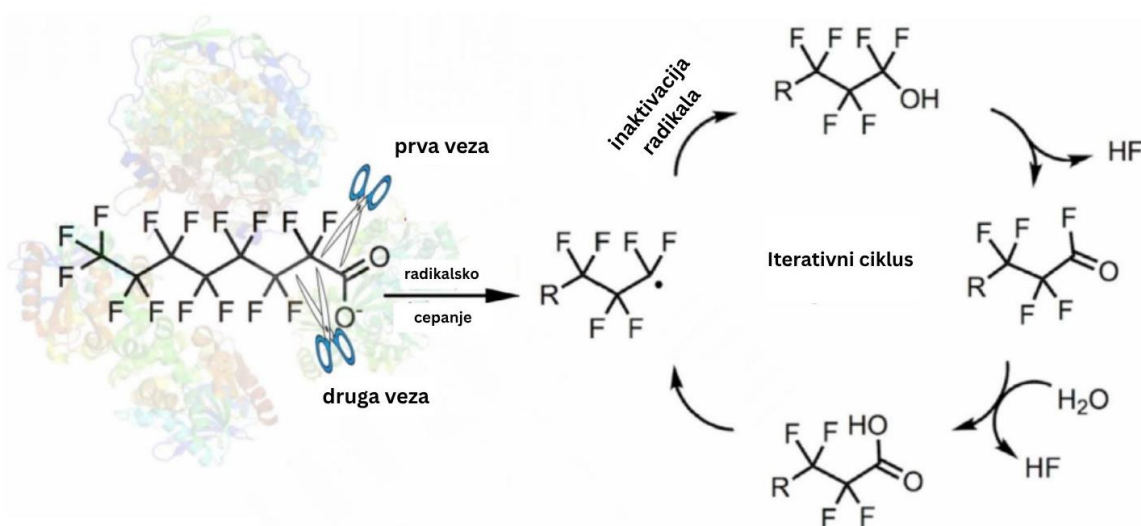
Terminalni produkti biodegradacije polifluorovanih prekursora, pre svega perfluoroalkilne karboksilne kiseline, dugo su smatrani krajnjim i biološki inertnim oblicima PFAS jedinjenja. Međutim, novija istraživanja ukazuju na mogućnost njihove dalje transformacije i postupene defluorinacije (Wackett, 2022; Berhanu *et al.*, 2023)

Wackett (2022) je prikazao hipotetički mehanizam potpune defluorinacije PFOA zasnovan na radikalnim reakcijama (Slika 12). Proces započinje aktivacijom molekula u blizini karboksilatne grupe,

pri čemu dolazi do raskidanja veze između prvog i drugog ugljenikovog atoma i formiranja perfluoroalkil-radikala. Nastali radikal se zatim stabilizuje reakcijom sa vodom ili drugim donorima protona, pri čemu nastaje perfluorovani alkohol. Ovaj međuprodukt nije stabilan i spontano podleže eliminaciji fluorovodonika (HF), nakon čega nastaje kraći perfluorovani karboksilat.

Nastali produkt predstavlja lanac skraćen za jedan ugljenikov atom u odnosu na polazno jedinjenje, pri čemu i dalje zadržava sposobnost ponovnog ulaska u isti reakcioni ciklus. Ponavljanjem ovih koraka dolazi do sukcesivnog skraćivanja perfluorovanog lanca, pa tako i do oslobađanja fluoridnih jona, pri čemu se perfluorooktanoat transformiše u perfluoroheptanoat, zatim u perfluoroheksanoat i druge homologe kraćeg lanca. Takav iterativni mehanizam omogućava postepeno uklanjanje fluora iz molekula i predstavlja jedan od mogućih puteva njihove potpune mineralizacije PFAS jedinjenja. Predloženi mehanizam zasniva se na analogijama sa poznatim procesima oksidativne i reduktivne defluorinacije, kao i na eksperimentalnim podacima koji ukazuju na nastanak kraćelancanih homologa tokom mikrobne transformacije PFOA. Radikalske dekarboksilacije su dobro poznate u biologiji, što ukazuje da mikroorganizmi potencijalno poseduju biohemijske alate potrebne za inicijalnu aktivaciju perfluorovanih karboksilnih kiselina (Wackett, 2022).

Enzimi odgovorni za ovaj proces još uvek nisu u potpunosti identifikovani i okarakterisani, ali prikazani model je važna polazna osnova za razumevanje mogućih puteva mikrobne razgradnje PFAS. Istovremeno on pokazuje da ključni izazov nije sama mogućnost raskidanja C–F veze, već pronalaženje mikroorganizama i enzima sposobnih da efikasno katalizuju početne korake aktivacije i kontrolišu fluoridni stres koji nastaje tokom defluorinacije (Wackett, 2022).



Slika 12. Predloženi mehanizam potpune defluorinacije perfluorooktanoata. Mehanizam prikazuje inicijalno radikalsko raskidanje C1–C2 veze, nakon čega dolazi do gašenja radikala i formiranja C7 perfluorovanog alkohola. Reakcije prikazane na desnoj strani, koje vode od alkohola do odgovarajuće karboksilne kiseline, nisu enzimske prirode i odvijaju se spontano i brzo. Nastala C7 karboksilna kiselina dalje ulazi u isti reakcioni ciklus, pri čemu nastaje C6 karboksilat, a proces se iterativno nastavlja, dovodeći do progresivnog skraćivanja lanca. Preuzeto od (Wackett, 2022).

2.8.8.3. Faktori koji utiču na mikrobiološku degradaciju

Mikrobiološka degradacija PFAS supstanci u velikoj meri zavisi od uslova životne sredine i karakteristika sredine u kojima se mikroorganizmi nalaze. Redoks uslovi imaju presudnu ulogu, pa tako aerobna sredina obično pogoduje oksidativnoj transformaciji prekursora poput FTOH putem monooksigenaza, dok su anaerobni uslovi često neophodni za reduktivnu defluorinaciju, pri kojoj PFAS supstance mogu služiti kao akceptori elektrona (Berhanu *et al.*, 2023; Niu *et al.*, 2024).

Tip sredine i adsorpcija na česticama dodatno komplikuju proces degradacije. Molekuli PFAS su izrazito površinski aktivni, što dovodi do njihove snažne adsorpcije na čestice zemljišta ili sedimenta putem hidrofobnih i elektrostatičkih interakcija (Kumar *et al.*, 2023; Shahid and Shafi, 2026). Ova sekvencijacija smanjuje njihovu bioraspoloživost, jer su molekuli koji su vezani za čvrstu fazu manje dostupni mikrobnim enzimima. Pored toga, visok sadržaj organske supstance u matriksu može povećati broj adsorpcionih mesta, što dodatno smanjuje koncentraciju ovih zagađivača u vodenoj fazi (Shahid and Shafi, 2026).

Dostupnost supstrata takođe je od ključnog značaja, jer se većina razgradnje PFAS supstanci odvija putem kometabolizma (Berhanu *et al.*, 2023). Pošto PFAS često ne obezbeđuju značajnu energetska korist za mikroorganizam, prisustvo primarnih izvora ugljenika, kao što su acetat, glukoza ili propan, neophodno je za održavanje metaboličke aktivnosti potrebne za njihovu razgradnju (Berhanu *et al.*, 2023; Niu *et al.*, 2024). Međutim, potreban je određeni balans, jer prevelike koncentracije primarnih supstrata ponekad mogu dovesti do kompetitivne inhibicije, pri čemu mikroorganizmi preferiraju lakše razgradive izvore ugljenika umesto PFAS supstanci (Berhanu *et al.*, 2023).

Mikrobiološka degradacija PFAS suočava se sa značajnim ograničenjima zbog izuzetne jačine C-F veze i izražene termodinamičke barijere koja mikroorganizmima ne donosi energetska korist povezanu sa rastom (Thakur *et al.*, 2025; Shahid and Shafi, 2026). Kao što je već rečeno, do sada potpuna mineralizacija terminalnih perfluoroalkilnih kiselina nije potvrđena u prirodnim uslovima, dok se većina uspešnih rezultata odnosi se na delimičnu transformaciju „prekursorskih“ jedinjenja (Shahid and Shafi, 2026). Pored toga, kinetika ovih bioloških procesa za nekoliko redova veličine sporija je u poređenju sa fizičko-hemijskim metodama (Shahid and Shafi, 2026). Praktična primena dodatno je ograničena toksičnošću fluoridnih jona, koji mogu narušiti funkciju mikroorganizama, kao i slabim vezivanjem supstrata za aktivna mesta enzima usled niske polarizabilnosti PFAS molekula (Thakur *et al.*, 2025; Shahid and Shafi, 2026).

Iako je fluor jedan od najelektronegativnijih elemenata, prirodno prisutna organofluorna jedinjenja su izuzetno retka, pri čemu je do danas identifikovano svega oko 30 takvih molekula u prirodi. Nasuprot tome, ljudska industrijska aktivnost dovela je do sinteze gotovo 15.000 PFAS, čime je došlo do bez presedana proširenja organofluorne hemije u životnoj sredini. Ovaj nesrazmer jasno ukazuje na osnovno evolutivno ograničenje: mikroorganizmi tokom evolucije nisu bili izloženi značajnim koncentracijama organofluornih jedinjenja, te stoga nije postojao dovoljan selektivni pritisak za razvoj enzimskih sistema sposobnih za efikasnu defluorinaciju. Kao posledica toga, raskidanje C–F veze predstavlja veliki izazov za biološke sisteme, a potpuni putevi mikrobne mineralizacije većine PFAS jedinjenja i dalje su nedovoljno razjašnjeni i u velikoj meri nepoznati.

Uprkos ovim izazovima, budući pravci istraživanja usmereni su ka sintetičkoj biologiji i molekularnom inženjerstvu. Istraživači ispituju primenu CRISPR tehnologije za uređenje metaboličkih puteva i *de novo* konstrukcija puteva za dizajn mikrobioloških sistema osetljivih na PFAS, kako bi se razvili mikrobni

sistemi sposobni da reaguju na prisustvo PFAS (Shahid and Shafi, 2026). Identifikacija specifičnih enzima za defluorinaciju, poput onih koji uključuju citohrom P450 ili određene dehalogenaze, mogla bi omogućiti razvoj stabilnih biokatalizatora (Berhanu *et al.*, 2023). Takođe, integracija bioloških strategija kao dopunskih pristupa uz napredne fizičko-hemijske tretmane (npr. plazma ili elektrohemijske metode) predstavlja realniji pristup za tretman kontaminanata u niskim koncentracijama direktno na mestu zagađenja (Sisay, Li and Tabassum, 2025; Shahid and Shafi, 2026).

2.8.9.4. Metode za istraživanje odgovora mikroorganizama na zagađujuću supstancu na molekulskom nivou

Ispitivanje odgovora mikroorganizama na zagađujuću supstancu na molekulskom nivou obuhvata širok spektar analitičkih i molekularnih metoda. Prisustvo i promene koncentracije zagađivača tokom izlaganja prate se hromatografskim tehnikama povezanim sa masenom spektrometrijom, među kojima su posebno značajne tečna hromatografija sa tandemskom masenom spektrometrijom (LC–MS/MS) i gasna hromatografija sa masenom spektrometrijom (GC–MS), kao i nuklearna magnetna rezonanca (Medić & Karadžić, 2022). Ove metode, pored koncentracije polaznog jedinjenja, omogućavaju detekciju i identifikaciju proizvoda transformacije, odnosno metabolita kao direktnih proizvoda enzimske aktivnosti u živim sistemima (Medić *et al.*, 2022). Paralelno se prate fiziološki i biohemijski parametri, kao što su rast ćelija, respiraciona aktivnost, enzimske aktivnosti i sadržaj proteina, pri čemu su biomarkeri od posebnog značaja jer predstavljaju merljive biološke karakteristike čije promene ukazuju na izloženost zagađivaču ili na specifičan tip ćelijskog odgovora (Cui *et al.*, 2026). Biomarkeri koji se prate obuhvataju antioksidativne enzime, poput katalaze i superoksid dizmutaze, proteine toplotnog šoka (npr. Hsp70), transportne proteine i ATPaze, efluks pumpe, šaperone, kao i enzime uključene u degradaciju aromatičnih jedinjenja (Lacerda, Choe & Reardon, 2007; Cui *et al.*, 2026).

Omiks metode u istraživanju odgovora mikroorganizama

Omiks metode omogućavaju sveobuhvatno proučavanje odgovora mikroorganizama na stres kroz analizu promena na nivou genoma, transkripcije gena, proteoma i metabolita (Guan *et al.*, 2017). Proteomika je od posebnog značaja jer promene u sastavu i obilju proteina mogu odražavati rane fiziološke odgovore ćelije, dok savremene kvantitativne proteomske metode zasnovane na masenoj spektrometriji omogućavaju istovremenu identifikaciju i kvantifikaciju velikog broja proteina. Metaproteomika omogućava analizu ukupnog proteinskog sastava mikrobne zajednice i pruža uvid u njenu funkcionalnost, kao i u odgovore i mehanizme adaptacije na promene u uslovima sredine (Wang *et al.*, 2016). Mogućnosti metaproteomike ilustruje analiza mešovite bakterijske zajednice izložene kadmijumu (10 mg/L), u kojoj je proteinima, razdvojenim dvodimenzionalnom gel elektroforezom i identifikovanim masenom spektrometrijom (2DE MS/MS), praćena dinamika odgovora u vremenskim tačkama 0,25, 1, 2 i 3 h nakon izlaganja. Već posle 15 minuta uočene su promene u nivou najmanje 100 proteina, a u svakoj tački uzorkovanja zabeleženo je više od 100 promena u ekspresiji u odnosu na kontrolu (Lacerda, Choe & Reardon, 2007). Među 109 identifikovanih proteina sa promenjenom ekspresijom posebno su značajni ATPaze, koje učestvuju u transportu jona kroz membranu, oksidoreduktaze i transportni proteini, što ukazuje na aktivne mehanizme prilagođavanja zajednice na toksični metal (Lacerda, Choe & Reardon, 2007). Ovaj primer pokazuje da metaproteomika može da otkrije brze i dinamične promene u funkcionisanju mikrobne zajednice čak i pri kratkotrajnom izlaganju zagađivaču.

Integraciju omiks pristupa ilustruje istraživanje soja *Pseudomonas aeruginosa* sa i, koji je za 48 h uklonio gotovo 430 mg/L benzoata. Kombinacijom funkcionalne proteomike, ciljane metabolomike i genomskih analiza potvrđeno je učešće kateholne i protokatehualne grane β -ketoadipatnog puta, kao i aktivnost orto-kateholne grane. Identifikovano je sedam metabolita benzoata, uključujući katehol, mukonat i mukonolakton. Istovremeno, ni visoke koncentracije benzoata nisu dovele do značajne indukcije proteina povezanih sa odgovorom na stres, što ukazuje na izraženu toleranciju ovog soja na benzoat i njegov potencijal za primenu u bioremedijaciji (Medić *et al.*, 2022).

Omiks pristupi primenjuju se i na ispitivanje jedinjenja izuzetno otpornih na razgradnju, kao što su PFAS. Meta-analiza 97 mikrobioloških studija pokazuje da je verovatnoća biotransformacije PFAS veća u aerobnim uslovima, pri višim koncentracijama i kod manje fluorisanih jedinjenja (Skinner *et al.*, 2025), a omiks analize ukazuju na aktivaciju opštih mehanizama stresa; povećanu ekspresiju transportera i efluks pumpi, regulaciju oksidativnog stresa, kao i povišene nivoe oksidoreduktaza, hidrolaza i proteina sličnih dehalogenazama (Shahid & Shafi, 2026). Budući da nijedan enzim nije eksperimentalno potvrđen kao katalizator cepanja perfluorisanih C–F veza, uočene promene verovatno odražavaju opšte mehanizme detoksikacije, a ne direktan metabolizam PFAS .

3. Materijali i metode

3.1. Metode za ispitivanje adsorpcije PFOA

3.1.1. Osiguranje kvaliteta

Pre upotrebe, sve posude za uzorkovanje, uključujući staklene tegle i boce od polipropilena, kao i sva staklena posuđa poput staklenih špriceva, čaša, normalnih sudova i epruveta, temeljno su ispirani metanolom i Milli-Q vodom. Tokom rada nisu upotrebljavane teflonske boce i čepovi sa teflonskom oblogom.

Kako bi se potvrdilo odsustvo kontaminacije, ultračista voda, blank uzorci, rastvarači, su analizirani LC-MS/MS.

3.1.2. Hemikalije

Perfluorooktanska kiselina je poručena od kompanije Sigma Aldrich, Cat. No. 171468. Korišćene su dve vrste aktivnog uglja, granulirani aktivni ugalj (KRF) i spraseni aktivni ugalj (K/B prah), dobijeni od kompanije Traylor, Srbija. Granulirani aktivni ugalj (KRF) je aktivni ugalj u granulama veličine čestica 0,25–1,0 mm, proizveden karbonizacijom kokosove ljuske i aktiviran vodenom parom u statičkoj peći, dok je praškasti aktivni ugalj u prahu (K/B prah), veličine sita 0,080 mm (maksimalno 70%), proizveden od istog materijala i takođe aktiviran vodenom parom u statičkoj peći. Jonoizmenjivačke smole koje su korišćene su Amberlite IRA402 u hloridnom obliku, veličina čestica 600–750 µm broj proizvoda 06466, broj serije bccg5078, brend SIAL, CAS broj 52439-77-7, poručena od Supelco kompanije i Amberlite® IRA67 u slobodnoj bazi, u obliku gela, 16–50 mesh (vlažan), broj proizvoda A9960, broj serije SLCB3374, brend SIGMA, CAS broj 65899-87-8, MDL broj MFCD00145567, poručena od Sigma–Aldrich kompanije. Standard perfluorooktanske kiseline i obeleženi standard perfluoro-*n*-(¹³C8) oktanske kiseline (M8PFOA) kupljeni su od kompanije Wellington Laboratories Inc.

3.1.3. Ispitivanje adsorpcije PFOA

Kako bi se ispitala sposobnost različitih adsorbenata za adsorpciju PFOA, sproveden je serijski test. Odmereno je po 50 mg sorbenata Amberlite IRA 402, Amberlite IRA 67 (aktivirane tokom prethodne noći u destilovanoj vodi) i KRF i K/B praha u vialama zapremine 50 mL. U svaku vialu sa sorbentom je potom dodato po 25 mL rastvora PFOA, iz prethodno pripremljenog štok rastvora koncentracije 100 ppm. Eksperiment je izveden na rotacionom šejkeru pri brzini od 200 rpm tokom 24h. Nakon 24h uzorci su profiltrirani kroz filter od 0,22 µm i skladišteni na 4 °C do dalje analize kako bi bila određena preostala koncentracija PFOA u rastvoru. Kako bi ispitali uticaj različitih temperatura i promenljivih koncentracija PFOA (5–35 ppm), na osobine najefikasnijih sorbenata bilo je potrebno postaviti dodatni bač eksperiment. U cilju procene uticaja temperature na procese sorpcije, eksperiment je postavljen na dve temperature, 4 °C i 28 °C, na rotacionom šejkeru pri brzini od 200 rpm, tokom 24h, a potom su uzorci profiltrirani kroz filter veličine pora 0,22 µm i skladišteni na 4 °C do dalje analize.

3.1.4. Izotermiski modeli

Kako bi se identifikovali mehanizmi koji kontrolišu proces adsorpcije PFOA, prikupljeni podaci o adsorpcionoj ravnoteži analizirani su korišćenjem Langmuir, Freundlich, Temkin i Dubinin-Radushkevich izotermiskih modela (Jasper, Ajibola and Onwuka, 2020). Langmuir-ov model adsorpcione izoterme tretira adsorpciju kao hemijski fenomen, podrazumevajući da se adsorpcija odvija na homogenj površini adsorbensa i da je ograničena na formiranje monomolekulskog sloja, dok

Freundlich-ov model izoterme opisuje višeslojnu adsorpciju na heterogenoj površini adsorbensa. Temkin-ov model izoterme, pretpostavlja da se toplota adsorpcije za sve molekule na površini adsorbensa linearno smanjuje sa povećanjem pokrivenosti, usled interakcija između adsorbovanih molekula i adsorbensa. Ovaj model karakteriše višeslojna adsorpcija sa ujednačenom raspodelom energija vezivanja. Dubinin-Radushkevich model izoterme može opisati adsorpciju na heterogenim površinama i pruža dragocene uvide u raspodelu energije i prirodu procesa adsorpcije. Softver OriginPro 2021 korišćen je za linearnu regresionu analizu izoterma. Korišćene su dve funkcije greške, koeficijent determinacije (R^2) i hi-kvadrat (χ^2) test, kako bi se obezbedile tačne i konzistentne procene pri uklapanju eksperimentalnih podataka u ispitivane izotermske modele (Nastasović *et al.*, 2022).

3.1.5. Tečna hromatografija kuplovana sa tandemnom masenom spektrometrijom

Kvantitativna analiza PFOA sprovedena je korišćenjem Thermo Scientific Accela tečnog hromatografa visokih performansi (eng. High performance liquid chromatograph, HPLC) sa trostrukim kvadrupolnim masenim analizatorom TSQ Quantum Access MAX (Thermo Fisher Scientific, SAD).

Korišćena je kolona Waters Acquity UPLC BEH Shield RP18 (130 Å, 1,7 µm, 2,1 mm × 100 mm, Waters, SAD), opremljena zaštitnim držačem SecurityGuard Ultra za UHPLC kolone (2,1 do 4,6 mm, Phenomenex, SAD) i ulošcima SecurityGuard ULTRA za EVO-C18. Elucija je vršena korišćenjem mobilne faze koja se sastojala od ultračiste vode, 0,1% HCOOH i 5 mM HCOONH₄ (rastvor A) i metanola, 0,1% HCOOH i 5 mM HCOONH₄ (rastvor B), prema sledećem gradijentu: 0 min: 72% A, 28% B; 4,5 min: 15% A, 85% B; 4,6 min: 1% A, 99% B; 10 min: 1% A, 99% B; 12 min: 72% A, 28% B. Protok kroz kolonu iznosio je 250 µL/min, dok je temperatura kolone iznosila 40 °C. Jonizacija je vršena u H-ESI režimu, dok je maseni spektrometar radio u negativnom režimu jonizacije. Kao injekcioni standard korišćen je M8PFOA. Pre injektovanja, uзорci su filtrirani kroz 0,22 µm PP špric filtre, prethodno isprane metanolom. Analiza podataka izvršena je koristeći softver Thermo Xcalibur 3.0.63 (2014) (Thermo Fisher Scientific, SAD). Parametri MS/MS analize prikazani su u Tabeli 3.

Tabela 3. Parametri MS/MS detekcije PFOA.

Parametar	PFOA	M8PFOA
Tip standarda	Nativni standard	Injekcioni standard
Retenciono vreme, min	4,21	4,21
Matični jon (<i>m/z</i>)	413	421
Jon za kvantifikaciju (<i>m/z</i>)	369	376
Jon za potvrdu (<i>m/z</i>)	169	172
Napon konusa, eV	10	10
Energija sudara Q1, eV	17	18
Energija sudara Q2, eV	10	10
Vreme skeniranja, s	0,05	0,05
Širina skeniranja (<i>m/z</i>)	0,2	0,2

3.2. Metode za ispitivanje fotolitičke degradacije PFOA

3.2.1. Hemikalije

Perfluorooktanska kiselina (PFOA) $C_7F_{15}COOH$ 95% je poručena od kompanije Sigma Aldrich. Početni material za pripremu fotokatalizatora, koji kao bazu imaju imobilizovani TiO_2 , je film titanijuma debljine 0,25 mm (99,95% čistoće, Alfa Aesar).

Premazi na bazi TiO_2 formirani su u standardnom elektrolitu koji je sadržao $Na_3PO_4 \times 12 H_2O$ (ACS reagents, $\geq 98\%$, Sigma Aldrich), uz dodatak redukovano g rafen-oksida (rGO) (5 mas.% rGO vodene disperzije, čistoće $> 99,9\%$, AntlerBau, Srbija). Standardne mešavine PFAS jedinjenja (PFAC-MXC), koje sadrže 21 jedinjenje, kao i maseno obeleženi standardi za ekstrakciju i injektovanje (MPFAC-C-ES, MPFAC-C-IS), nabavljeni su od kompanije Wellington Laboratories.

3.2.2. Priprema fotokatalizatora

Pravougaone titanijumske folije dimenzija $25 \times 10 \times 0,25$ mm, korišćene su kao početni material za dobijanje prevlaka na bazi TiO_2 . Uzorci titanijuma su pripremljeni za plazma elektrolitičku oksidaciju (eng. plasma electrolytic oxidation, PEO), tako što su očišćeni ultrazvučno u acetonu, osušeni strujom toplog vazduha, pa prekriveni izolacionom smolom, pri čemu je ostavljena površina od $10 \text{ mm} \times 15 \text{ mm}$ kako bi bila dostupna elektrolitu. Prevlake na bazi TiO_2 formirane su u vodenom rastvoru koji je sadržao 10 g/L $Na_3PO_4 \cdot 12 H_2O$, uz dodatak 1 ili 10 g/L rGO. U zavisnosti od koncentracije rGO (g/L) u elektrolitu, prevlake su označene kao Ti/ TiO_2 , Ti/ TiO_2 -rGO(1) i Ti/ TiO_2 -rGO(10). PEO postupak je sproveden pri gustini struje od 150 mA/cm^2 (Stojadinović *et al.*, 2016).

3.2.3. Karakterizacija fotokatalizatora

Fazni sastav i kristalna struktura fotokatalitičkih filmova je ispitana rendgenskom difrakcijom (eng. X-ray diffraction, XRD) primenom Ni-filtrisanog $CuK\alpha$ zračenja ($\lambda = 1,54178 \text{ \AA}$), korišćenjem difraktometra Rigaku Ultima IV u Bragg–Brentano geometriji. Difrakcioni podaci prikupljani su u opsegu ugla rasejanja 2θ od 20° do 80° , sa korakom od $0,020^\circ$ i brzinom akvizicije od $2^\circ/\text{min}$. Morfologija površine, hemijski sastav i elementarno mapiranje premaza određeni su primenom skenirajućeg elektronskog mikroskopa sa emisijom polja, opremljenog energijski disperzivnom rendgenskom spektroskopijom (eng. field emision scanning electron microscope with energy dispersive X-ray spectroscopy, FESEM/EDS) (FEI Scios 2, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, SAD). FESEM snimci i EDS spektri registrovani su pri pritisku od $1 \times 10^{-4} \text{ Pa}$ i naponu elektronskog snopa od 10 kV.

Površinska pokrivenost ugljenikom određena je na osnovu elementnog mapiranja korišćenjem programa za obradu slike ImageJ (opcija *Analyze Particles*). Rendgenska fotoelektronska spektroskopija (eng. X-ray photoelectron spectroscopy, XPS) korišćena je za određivanje hemijskog stanja i elementnog sastava površine prevlaka, uz upotrebu AXIS Supra elektronskog spektrometra (Kratos Analytical Ltd.), pri baznom vakuumu u analitičkoj komori od približno 10^{-7} Pa .

Podaci su dobijeni korišćenjem ahromatskog $AlK\alpha$ zračenja energije 1486,6 eV, uz primenu uređaja za neutralizaciju naelektrisanja. Energetska skala kalibrisana je postavljanjem energije veze (eng. binding energies, BE) alifatičnog C1s signala na 284,6 eV. Tačnost merenja BE bila je u okviru 0,1 eV.

Koncentracije elemenata (u atomskim procentima) određene su uklapanjem površina fotoelektronskih pikova sa odgovarajućim faktorima osetljivosti, korišćenjem softvera za obradu podataka kompanije Kratos Analytical Ltd. Dekonvolucija visokorezolucionih elementnih spektara izvršena je pomoću softvera ESCApe™ (Kratos Analytical Ltd.).

Ramanovi spektri snimljeni su spektrometrom HORIBA Scientific LabRAM HR Evolution. Ekscitacija je vršena korišćenjem linije od 514,5 nm Ar⁺ jonskog lasera.

Optičke apsorpcione karakteristike i spektri difuzne refleksije (eng. *diffuse reflectance spectroscopy*, DRS) ispitivani su pomoću UV-Vis spektrofotometra Shimadzu UV-3600 (Japan) u opsegu talasnih dužina od 300 do 600 nm. Dobijene vrednosti reflektance transformisane su u apsorpcione spektre primenom Kubelka–Munkove funkcije $F(R)$, pri čemu se apsorbanca izračunava prema izrazu $F(R) = (1-R)^2/2R$, gde R predstavlja reflektancu.

Optički energetski procep (eng. *optical band gap*, E_g) određen je korišćenjem Kubelka–Munkove metode u kombinaciji sa Tauc-ovom relacijom $(\alpha h\nu)^m = A(h\nu - E_g)$, gde je $h\nu$ energija fotona, A je konstanta karakteristična za dati materijal, dok vrednost eksponenta m zavisi od tipa elektronskog prelaza.

Mehanička stabilnost i adhezija prevlaka je određena pomoću „Testa savijanja“ (EN ISO 2819–1994:2.9) koji je izvršen praćenjem promena prevlaka koje nastaju kao posledica ponovljenog savijanja folije pod uglom od 180°. Mehanički defekti kao što su habanje, pucanje i otpadanje prevlake su određeni SEM analizom i merenjem mase uzorka pre i posle testa.

Hemijska stabilnost prevlaka je određena analizom njihovih konstitutivnih elemenata u reakcionom rastvoru nakon 8 h u realnim uslovima fotokatalitičkog testa. Elementi u rastvoru su analizirani metodom ICP-OES (Induktivno spregnuta plazma-optička emisiona spektrometrija) na aparatu Spectro Ametek (Acros II FHX22).

3.2.4. Ispitivanje fotolitičke degradacije PFOA

Fotoindukovana degradacija PFOA u vodenom rastvoru korišćena je za procenu fotokatalitičke efikasnosti čistih TiO₂ i rGO-dopiranih TiO₂ prevlaka (u MiliQ vodi). Početna koncentracija PFOA iznosila je 50 ppm.

Uzorci u obliku folije (5 mm × 10 mm) potapani su u 10 mL vodenog rastvora PFOA. Eksperimenti su izvođeni u otvorenom cilindričnom termostatsanom polipropilenskom reaktoru zapremine 25 mL, prečnika 3,8 cm, na temperaturi od 20 °C. Uzorci su postavljeni na nosač 5 mm iznad dna reaktora. Rastvor PFOA mešan je magnetnom mešalicom.

Uzorci su ozračivani svetlosnim izvorom snage 300 W (OSRAM ULTRA-VITALUX UV-A, Nemačka), postavljenim 25 cm iznad površine rastvora. Fotoaktivnost je određivana praćenjem razgradnje PFOA u funkciji vremena ozračivanja (Stojadinović *et al.*, 2012).

Pre početka ozračivanja sproveden je adsorpcioni test, pri čemu je reakciona smeša mešana u mraku tokom 8 h, kako bi se uspostavila ravnoteža adsorpcije PFOA. Degradacija PFOA ispitivana je i u odsustvu fotokatalizatora, pod istim uslovima osvetljivanja kao u fotokatalitičkim eksperimentima.

Stabilnost prevlaka i njihova regeneraciona aktivnost je ispitana ponavljanjem 4 konsektivna fotokatalitička testa pri istim eksperimentalnim uslovima. Određena regenerativnost prevlaka poređenjem njihove aktivnosti u fotodegradaciji PFOA svakog testa je poslužila za procenu efikasnosti prevlaka u njihovoj industrijskoj upotrebi.

Dodatno ispitivanje mehanizma degradacije PFOA izvršeno je korišćenjem „hvatača“ (sakupljača) slobodnih radikala, H^+ , $OH^\bullet$, $O_2^\bullet$ i e^- . Kao hemikalije hvatači (skupljači) su korišćene oksalna kiselina (H^+), terc-butanol ($OH^\bullet$), *p*-benzohinon ($O_2^\bullet$) i kalijum-persulfat (e^-). Kod svih uzoraka, stepen degradacije PFOA u vodenom rastvoru PFOA je upoređen sa degradacijom PFOA u vodenom rastvoru koji je sadržao koncentraciju svakog pojedinačnog hvatača od 1×10^{-4} M. Ova koncentracija hvatača je odabrana da se ne poremeti pH vrednost vodenog rastvora PFOA, a da ih istovremeno ima sasvim dovoljno da sakupe sve njima odgovarajuće reaktivne slobodne radikale. U cilju dobijanja koncentracija hvatača od 1×10^{-4} M njihova tačno određena količina je direktno ubacivana u 10 mL reakcionog rastvora sa početnom koncentracijom PFOA od 50 ppm.

3.2.5. Kvantifikacija PFOA i perfluorovanih kiselina kraćeg lanca primenom tečne hromatografije sa tandemskom masenom spektrometrijom (LC–MS/MS)

Kvantitativna analiza PFOA i perfluorovanih kiselina kraćeg lanca sprovedena je korišćenjem sistema za tečnu hromatografiju visokih performansi (HPLC) Thermo Scientific Accela, u kombinaciji sa trostrukim kvadrupolnim masenim analizatorom TSQ Quantum Access MAX (Thermo Fisher Scientific, SAD). Kao interni standard za injektovanje korišćen je MPFAC-C-IS (Wellington Laboratories), mešavina četiri izotopski obeležena PFAS jedinjenja: perfluoro-*n*-[2,3,4- $^{13}C_3$]butanske kiseline (M3PFBA), perfluoro-*n*-[1,2- $^{13}C_2$]oktanske kiseline (M2PFOA), perfluoro-*n*-[1,2- $^{13}C_2$]dekanske kiseline (MPFDA) i natrijum perfluoro-1-[1,2,3,4- $^{13}C_4$]oktansulfonata (MPFOS), svako na koncentraciji 2000 ng/mL u metanolu. Hromatografski uslovi opisani su u odeljku 3.1.4., a parametri MS/MS analize prikazani su u Tabeli 4.

Tabela 4. Parametri MS/MS analize PFOA i perfluorovanih kiselina kraćeg lanca.

Analit	Retenciono vreme, min	Matični jon (<i>m/z</i>)	Jon za kvantifikaciju (<i>m/z</i>)	Jon za potvrdu (<i>m/z</i>)	Energija sudara Q1, eV	Energija sudara Q2, eV
PFBA	4,83	213	169	n/a	9	n/a
PFPeA	5,83	263	219	n/a	15	n/a
PFBS	5,95	299	80	99	30	28
PFHxA	6,47	313	269	119	19	8
Natrijum perfluoro-1-pentansulfonat (PFPeS)	6,52	349	80	99	30	30
PFHpA	6,92	363	319	169	16	10
PFHxS	6,92	399	80	99	33	33
PFOA	7,2	413	369	169	17	10
Natrijum perfluoro-1-heptansulfonat (PFHpS)	7,21	449	80	99	35	35
PFNA	7,49	463	419		15	
PFOS	7,49	499	80	99	40	39
PFDA	7,77	513	469	269	21	10
Natrijum perfluoro-1-	7,77	549	99	474	40	30

nonansulfonat (PFNS)						
Perfluoro- <i>n</i> -undekanska kiselina (PFUDa)	8,06	563	519	269	14	12
Natrijum perfluoro-1-dekansulfonat (PFDS)	8,06	599	80	99	52	48
Perfluoro- <i>n</i> -dodekanska kiselina (PFDaA)	8,34	613	569	n/a	30	n/a
Natrijum perfluoro-1-dodekansulfonat (PFDaS)	8,62	699	80	99	55	55
Perfluoro- <i>n</i> -tridekanska kiselina (PFTrDA)	8,7	663	619	319	19	14
Perfluoro- <i>n</i> -tetradekanska kiselina (PFTeDA)	8,98	713	669	n/a	12	n/a
Perfluoro- <i>n</i> -heksadekanska kiselina (PFHxDA)	9,66	813	769	n/a	15	n/a
Perfluoro- <i>n</i> -oktadekanska kiselina (PFODA)	10,3	913	869	n/a	15	n/a

3.2.6. Analiza fluoridnih jona

Koncentracija fluoridnih jona u svim uzorcima prikupljenim tokom ove studije određena je korišćenjem selektivne elektrode za fluoridne jone, Thermo Scientific Orion. Analiza je sprovedena u skladu sa uputstvom proizvođača, kao i prema standardnim metodama za analizu fluoridnih jona u vodi (ASTM D1179–16, 2021).

3.2.7. Non-target analiza uzoraka dobijenih nakon fotokatalize

Za non-target analizu korišćen je LC-MS sistem koji se sastojao od tečnog hromatografa ExionLC AD i masenog spektrometra X500R (SCIEX). Non-target analiza sprovedena je bez unapred definisane liste analita, pri čemu su detektovana sva jedinjenja prisutna u uzorcima na osnovu njihove tačne mase i fragmentacionih spektara. Nakon toga izvršena je skrining analiza sumnjivih jedinjenja (eng. suspect screening) radi potvrde identiteta detektovanih proizvoda fotokatalitičke degradacije PFOA poređenjem

sa bazom mogućih PFAS homologa, njihovom tačnom masom, izotopskim obrascem i MS/MS fragmentacionim spektrima.

Analiza je sprovedena pod dve LC postavke, za hidrofobne i hidrofilne komponente.

Za hidrofobne komponente korišćena je kolona YMC-Triart C18 (1,9 μm , 2,0 mm $\times$ 50 mm; YMC) sa gradijentom vode i metanola koji je uključivao 2 mM amonijum-bikarbonata. Dodatno, kolona InertSustain AQ-C18 HP postavljena je kao odložena kolona.

Za hidrofilne komponente korišćena je kolona HILICpak VG-50 (5 μm , 2,0 mm $\times$ 150 mm; Shodex) sa gradijentom vode i acetonitrila koji je uključivao 0,5% amonijaka. Kolone su održavane na temperaturi od 40 °C.

Elektrosprej jonizacija (eng. *electro spray ionization*, ESI) primenjavana je posebno u negativnom i pozitivnom modu. Masena rezolucija iznosila je približno 30.000. MS1 spektri su dobijeni u opsegu m/z 50–550, dok su MS2 spektri prikupljeni u opsegu m/z 30–500. MS1 označava maseni spektar bez kolizije ćelije, dok MS2 predstavlja maseni spektar dobijen fragmentacijom uz upotrebu kolizije ćelije. Primenjivana je kolizijska energija u rasponu od ± 10 V do 30 V. Uzorci su pre snimanja razblaženi 10 ili 100 puta metanolom. Pored uzorka kontrole (blank), analizirano je sedam uzoraka fotodegradacije sa vremenom degradacije od 60 i 120 minuta.

3.2.8. Fotoluminiscentna merenja

Fotoluminiscentni spektri reakcionog rastvora snimljeni su na spektrofluorometru Horiba Jobin Yvon Fluorolog FL3–22 pri talasnoj dužini ekscitacije od 315 nm. Za fotoluminiscentna merenja korišćena je tereftalna kiselina kao sonda za detekciju formiranja slobodnih hidroksilnih radikala ($\bullet\text{OH}$) na ozračenim Ti/TiO₂, Ti/TiO₂-rGO(1) i Ti/TiO₂-rGO(10) prevlakama (Gajić *et al.*, 2026).

3.2.9. Ekotoksičnost

Inhibitorni efekat na svetlosnu emisiju bakterije *Aliivibrio fischeri* određen je u skladu sa standardom (ISO 11348, 2007), koristeći liofilizovane bakterije. Analiza toksičnosti sprovedena je pomoću uređaja BioFix® Lumi-10 (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Duren, Nemačka).

Za testove ekotoksičnosti korišćeni su alikvoti (2 mL) rastvora PFOA nakon 2 i 8 sati fotokatalize, kao i netretirani rastvor PFOA. Bioluminiscencija je praćena nakon 15 minuta inkubacije sa test rastvorom.

3.3. Metode za ispitivanje biodegradacije PFOA

3.3.1. Uzorkovanje i selekcija mikrobnih zajednica

Kako bi izolovali i selektovali mikrobne zajednice i pojedinačne sojeve koje pokazuju potencijal za degradaciju PFAS, prikupljeni su uzorci sa lokacija za koje se zna ili pretpostavlja da su već dugo izložene visokim koncentracijama zagađivača. Uzorci koji su prikupljeni, kao i njihove lokacije date su u Tabeli 5.

Tabela 5. Lokacije uzorkovanja sedimenta i zemljišta za izolaciju mikroorganizama.

Oznaka uzorka	Lokacija
1	Aktivni mulj iz postrojenja za prečišćavanje otpadnih voda, industrijska zona Pančeva, Srbija
2	Zemljište navodnjavano vodom zagađenom PFAS-ovima
3M-1	Sediment sakupljen 200 m od mesta ispuštanja vode kompanije MITENI, Vićenca, Italija
4M-2	Sediment sakupljen 10 m od mesta ispuštanja vode kompanije MITENI, Vićenca, Italija
5	Poljoprivredno zemljište iz Loniga, Italija
6	Sediment iz kanala za navodnjavanje u Lonigu, Italija

3.3.2. Izolovanje čistih kultura

Kako bi se mikroorganizmi adaptirali na prisustvo PFOA, pripremljena je mineralna podloga u kojoj je PFOA bio jedini izvor organskog ugljenika, a čija je koncentracija postepeno povećavana. Cilj nije bio isključivo korišćenje PFOA kao izvora ugljenikovih atoma, već prvenstveno selektivni pritisak na preživljavanja mikroorganizama u uslovima aerobnog rasta u uslovima povišene koncentracije PFOA, gde je dominantni izvor ugljenika bila organska supstanca iz samog uzorka upotrebljenog za inokulaciju i potom reciklaža bakterijskih ćelija.

Aerobna mineralna podloga pripremljena je rastvaranjem sledećih komponenti (Yi *et al.*, 2016):

NH ₄ NO ₃	5 g
NaCl	2 g
KH ₂ PO ₄	1 g
K ₂ HPO ₄	1 g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0,5 g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,05 g
destilovana voda	1 L
pH	7

Nakon sterilizacije i hlađenja, podloga je inokulisana uzorkom sedimenta i inkubirana aerobno na 28 °C uz mućkanje pri 120 rpm na orbitalnom šejkeru Witeg Wis-30 (Wertheim, Nemačka). Postupak je sproveden kroz tri uzastopne serije kultivacija, svaka u trajanju od 10 dana. Zasejavan je 5% inkulum prethodne kulture. Koncentracija PFOA, koji je dodat kao jedini spoljašnji izvor ugljenika (pored ugljenika poreklom iz sedimenta), iznosila je 200, 500 i 1000 ppm u prvoj, drugoj i trećoj seriji, redom.

Čiste kulture dobijene su metodom iscrpljenja. Bakterije su identifikovane na osnovu sekvence 16S rRNA gena. Gen 16S rRNA amplifikovan je iz genomske DNK PCR metodom korišćenjem prajmera 27F i 1492R, a amplifikovani fragmenti su sekvencirani putem komercijalne usluge Macrogen. Sekvenca 16S rRNA gena deponovana su u bazi NCBI. Taksonomska analiza izvršena je korišćenjem platforme EzBioCloud.

3.3.4. Praćenje rasta mikroorganizama

Bakterije su aktivirane na komercijalnoj podlozi, tripton-soja agaru (Torlak, Beograd, Srbija) na 28 °C tokom 24 h. Čelije su suspendovane u fiziološkom rastvoru i prenete u erlenmajere zapremine 500 mL koji su sadržali 100 mL aerobne mineralne podloge (Yi *et al.*, 2016) uz dodatak 1 g/L ekstrakta kvasca (izvor organskog ugljenika) i 500 ppm PFOA (podloga A). Za inokulaciju je korišćena bakterijska suspenzija optičke gustine $OD_{600} = 0,2$. Ovako inokulisane podloge inkubirane su na 28 °C tokom četiri dana uz mućkanje pri 120 obrtaja/min na orbitalnom šejkeru Witeg Wis-30. Neinokulisana podloga sa PFOA korišćena je kao kontrola. Rast bakterija praćen je spektrofotometrijski na talasnoj dužini od 600 nm pomoću UV–VIS spektrofotometra Shimadzu UV-1280 (Kyoto, Japan).

3.3.5. Analiza respiracije

Rast i razvoj bakterija praćeni su analizom respiracije, merenjem kumulativne potrošnje kiseonika i produkcije ugljen-dioksida (mL). Respiracija je određivana pomoću Micro Oxyman respirometra (Columbus Instruments, Columbus, SAD). Eksperimenti su izvođeni u svetlosno nepropusnim bocama zapremine 250 mL (Duran, Wertheim, Nemačka), koje su sadržale 50 mL podloge A i bile povezane sa mernim sistemom. Sterilne podloge sa i bez PFOA korišćene su kao nebiološke kontrole, dok je inokulisana podloga bez PFOA korišćena kao biološka kontrola. Svi uzorci inkubirani su bez mešanja na 25 °C tokom 4 dana, pri čemu je respiracija ćelija merena na svakih 240 minuta. Svi eksperimenti su izvedeni u tri ponavljanja. Dobijeni podaci analizirani su korišćenjem Micro Oxyman softvera.

3.3.6. Kvantifikacija PFOA i perfluorovanih kiselina kraćeg lanca primenom tečne hromatografije sa tandemskom masenom spektrometrijom (LC–MS/MS)

Kvantitativna analiza PFOA i perfluorovanih kiselina kraćeg lanca sprovedena je korišćenjem sistema za tečnu hromatografiju visokih performansi (HPLC) Thermo Scientific Accela, u kombinaciji sa trostrukim kvadrupolnim masenim analizatorom TSQ Quantum Access MAX (Thermo Fisher Scientific, SAD). Detaljni uslovi kvantifikacije PFOA i perfluorovanih kiselina kraćeg lanca opisani su u odeljku 3.2.5.

3.3.7. Određivanje siderofora i piocijanina

Siderofore (piočelin i pioverdin) i piocijanin identifikovani su i kvantifikovani u triplikatu u supernatantu tečne kulture tokom 96 h mikrobnog rasta.

Određivanje koncentracije piočelina

Za određivanje koncentracije piočelina iz fermentacione tečnosti uzeto je 5 mL uzorka, kojem su dodate tri kapi 10% HCl (pH $\approx$ 2) i 3 mL etilacetata. Nakon homogenizacije, uzorci su centrifugirani 10 minuta na 1500 rpm na centrifugi Eppendorf 5804 R. Gornji organski sloj je izdvojen i uparen na 45 °C tokom 20 minuta u vakuum uparivaču RVC 2-18 CDplus. Nakon uparavanja, ostatak je rastvoren u 1 mL metanola. Uzorci su zatim desetostruko razblaženi metanolom (100 μ L uzorka + 900 μ L metanola). Koncentracija piočelina praćena je spektrofotometrijski na 310 nm pomoću Shimadzu UV-VIS spektrofotometra UV-1280 i izračunavana korišćenjem molarnog apsorpcionog koeficijenta ϵ (310 nm) = $4,2 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ iz jednačine $A = \epsilon \times b \times c$ (Sokol, 1986).

Određivanje koncentracije pioverdina

Uzorci su centrifugirani tokom 10 min na 10.000 g na Heraeus Biofuge 13 centrifugi, nakon čega je supernatant razblažen u odnosu 1:1 sa 50 mM fosfatnim puferom pH 7,0. Koncentracija pioverdina određivana je merenjem apsorbance na 400 nm i izračunavana primenom molarnog apsorpcionog koeficijenta ϵ (400 nm) = $2 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ iz jednačine $A = \epsilon \times b \times c$ (MEYER and ABDALLAH, 1978).

Određivanje koncentracije piocijanina

Za ekstrakciju plavog pigmenta, 5 mL fermentacione tečnosti pomešano je sa 3 mL hloroforma i nekoliko puta promućkano. Uzorci su zatim centrifugirani 15 minuta na 3000 rpm na centrifugi Eppendorf 5804 R. Izdvojeno je 2 mL donje organske faze koja je sadržala pigment, nakon čega je dodat 1 mL 10% HCl. Nakon ponovne homogenizacije i centrifugiranja pod istim uslovima, 600 μ L gornje faze preneto je direktno u kivetu i merena je apsorbance na 520 nm. Koncentracija piocijanina određena je korišćenjem molarnog apsorpcionog koeficijenta ϵ (520 nm) = $3160 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ iz jednačine $A = \epsilon \times b \times c$ (Essar *et al.*, 1990).

3.3.8. Priprema proteinskog ekstrakta

Biomasa ćelija gajenih u aerobnoj mineralnoj podlozi sa dodatkom 500 ppm PFOA, u ranoj stacionarnoj fazi rasta (nakon 72 h inkubacije), prikupljena je centrifugiranjem pri 10.000 rpm tokom 20 min korišćenjem Sorvall centrifuge sa SS-1 rotorom (Ujedinjeno Kraljevstvo). Talog je ispran dva puta puferom A (50 mM Tris pufer, pH 7,5, sa 0,1 mM fenilmetilsulfonil fluorida i 0,5 mM 1,4-ditiotreitolu).

Zamrznuta biomasa homogenizovana je u dve zapremine pufera A na 4 °C, pomoću stakleno-teflonskog homogenizatora, a zatim ultracentrifugirana pri 16.000 rpm tokom 90 min na 4 °C, korišćenjem centrifuge Centric 200 R (Tehnica, Domel, Slovenija).

Proteinski ekstrakti iz supernatanta korišćeni su za proteomske analize i određivanje enzimске aktivnosti. Sadržaj proteina kvantifikovan je Bradford metodom (Bradford, 1976).

3.3.9. Određivanje enzimskih aktivnosti

Sva spektrofotometrijska merenja izvedena su pomoću UV-2600 spektrofotometra (Shimadzu, Japan). Aktivnosti svih enzima određivane su u triplikatu.

Aktivnost katalaze (eng. catalase, CAT) u ćelijskim homogenatima, kao i u komercijalnoj preparaciji goveđe katalaze, određivana je spektrofotometrijskom metodom zasnovanom na direktnom praćenju razgradnje vodonik-peroksida (H_2O_2) pod dejstvom katalaze na $\lambda = 240$ nm (BEERS and SIZER, 1952). Jedna jedinica (eng. unit, U) enzimске aktivnosti definisana je kao količina enzima koja razgradi 1 μ mol H_2O_2 do O_2 i H_2O u minuti, uz korišćenje molarnog ekstinkcionog koeficijenta $\epsilon(240) = 43,6 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Aktivnost superoksid-dismutaze (eng. superoxide dismutase, SOD) u ćelijskim homogenatima određivana je spektrofotometrijski na $\lambda = 340$ nm, na osnovu inhibicije autooksidacije adrenalina u adrenohrom u baznoj sredini (Sun & Zigman, 1978). Jedna jedinica (U) SOD aktivnosti predstavlja količinu enzima koja izaziva promenu apsorbance ($\Delta A/\text{min}$) od 0,001 pod uslovima testa.

Aktivnost lakaze u ćelijskim homogenatima određivana je metodom oksidacije 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonske kiseline (eng. 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid, ABTS) praćenjem porasta apsorbance na $\lambda = 420$ nm ($\epsilon = 3,6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Jedna jedinica aktivnosti lakaze definisana je kao količina enzima potrebna za oksidaciju 1 μ mol ABTS-a u minuti (More *et al.*, 2011).

Aktivnost lipaze u filtratu kulture, kao i u komercijalnoj preparaciji lipaze iz *Candida rugosa*, određivana je metodom sa *p*-nitrofenil-palmitatom (eng. para-nitrophenyl palmitate, pNPP) (Karadzic *et al.*, 2006). Količina *p*-nitrofenola oslobođenog enzimskom hidrolizom pNPP određivana je spektrofotometrijski na 410 nm. Jedna jedinica enzimске aktivnosti definisana je kao količina enzima koja oslobađa 1 μ mol *p*-nitrofenola ($\epsilon(410) = 17.500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) u minuti pod uslovima testa.

Aktivnost peroksidaze određivana je u ćelijskim homogenatima i u komercijalnoj preparaciji peroksidaze iz rena, koristeći H_2O_2 kao supstrat i ABTS kao donor elektrona. Porast apsorbance na 420 nm tokom vremena predstavljao je meru aktivnosti peroksidaze (Holm, 1995). Jedna jedinica aktivnosti definisana je kao količina enzima koja izaziva porast apsorbance od 1,0 u minuti na 420 nm.

Inhibicija komercijalnih enzima (katalaze, peroksidaze i lipaze) ispitivana je korišćenjem vodenih rastvora PFOA u konačnim koncentracijama 10, 100 i 500 μ mol/L, nakon preinkubacije od 30 minuta, posle čega su enzimski testovi sprovedeni na prethodno opisan način.

3.3.10. Maseno-spektrometrijska analiza proteoma

Proteomska analiza sprovedena je prema prethodno opisanom protokolu (Risha *et al.*, 2020). Približno 4 μ g proteina, kvantifikovanih Bradford metodom, injektovano je u spojeni sistem koji se sastoji od UltiMate 3000 nanoRSLC (Dionex, Thermo Fisher Scientific, Mississauga, ON, Kanada) i Orbitrap Fusion masenog spektrometra (Thermo Fisher Scientific, Mississauga, ON, Kanada) radi proteomske analize.

3.3.11. Analiza podataka

Podaci masene spektrometrije iz tri ponavljanja obrađeni su radi identifikacije i kvantifikacije proteina korišćenjem softvera MaxQuant 2.5.1.0 (Cox *et al.*, 2011). Dobijeni peptidni spektri upoređeni su sa proteinskom bazom podataka za *Pseudomonas chlororaphis* iz NCBI (taxonomy ID: 587753), uz

dodatak baze potencijalnih kontaminanata, korišćenjem Andromeda pretraživača integrisanog u MaxQuant (Cox *et al.*, 2011).

Korišćeni su sledeći parametri: varijabilne modifikacije oksidacije metionina i N-terminalne acetilacije, fiksna modifikacija karbamidometilacije cisteina i tripsin kao enzim za digestiju. Masene tolerancije podešene su na 10 ppm za prekursorske jone i 0,5 Da za fragmentne jone.

Diferencijalna zastupljenost proteina procenjivana je izračunavanjem $\log_2$ setepenom promene vrednosti i p-vrednosti na osnovu neparnog t-testa. Analiza obogaćenja metaboličkih puteva za povećano eksprimirane i jedinstvene proteine sprovedena je u odnosu na referentni genom *Pseudomonas chlororaphis* korišćenjem baze Kjotske enciklopedije gena i genoma (eng. Kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG), <https://www.genome.jp/kegg/>.

4. Rezultati i diskusija

4.1. Adsorpcija PFOA

Kako bi se ispitala adsorpciona efikasnost četiri različita sorbenta, urađeni su serijski testovi čiji su rezultati prikazani u Tabeli 6. Aktivni ugljevi su pokazali izuzetnu efikasnost adsorpcije, preko 95% kod KRF i 98% kod K/B praha. Visoku efikasnost u adsorpciji PFOA pokazale su i jonoizmenjivačke smole, IRA 67 sa više od 90% , dok je IRA 402 adsorbovala čak 99% PFOA.

Tabela 6. Uporedni rezultati serijskog testa adsorpcije na ispitivanim sorbentima nakon 24 h.

Sorbent	Koncentracija PFOA (ppm)	Adsorpcija PFOA (%)
KRF	4,65	95,4
K/B prah	1,05	99,0
IRA 67	9,02	91,0
IRA 402	0,34	99,7

Kako su sorbenti IRA 402 i K/B prah pokazali najbolji adsorpcioni kapacitet, izabrani su za dalji rad, pa su i detaljnije ispitivani. Radi analize eksperimentalno dobijenih podataka primenjeni su izotermni modeli Langmuirov, Freundlichov, Temkinov i Dubinin-Radushkevichev. U Tabelama 7 i 8 prikazane su vrednosti izračunatih parametara izoterma, kao i odgovarajuće funkcije greške za adsorpciju PFOA na izabranim sorbentima.

Tabela 7. Vrednosti izračunatih parametara izotermnih modela za adsorpciju PFOA na K/B prahu.

Izoterma	Parametar	Vrednost	
	t, °C	28	4
Langmuir	$q_{m,L}$, mg/g	12,75	11,74
	K_L , L/mg	5,98	16,71
	R_L	$1,10 \times 10^{-2}$	$3,99 \times 10^{-3}$
	R^2	0,827	0,685
	χ^2	1,107	2,150
	$q_{m,L}$, mg/g	12,75	11,74
	K_F , dm ³ /g	9,34	10,46
Freundlich	n	2,95	3,51
	R^2	0,949	0,922
	χ^2	0,527	0,703

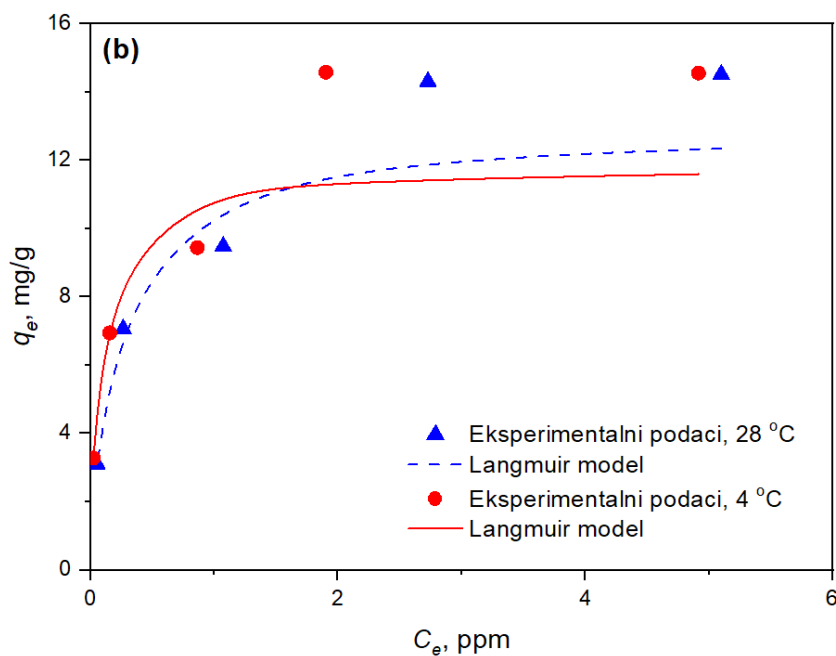
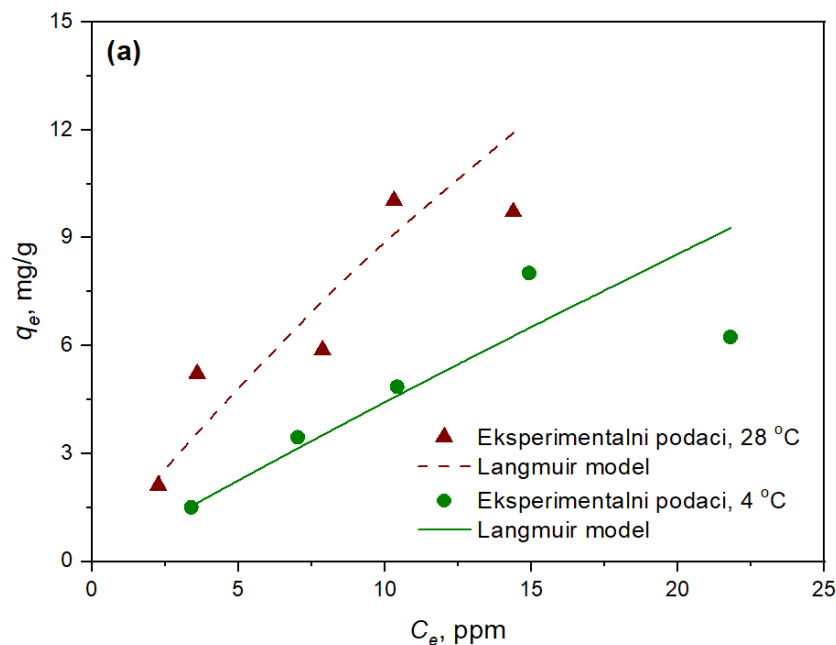
Temkin	$K_T, \text{ dm}^3/\text{g}$	56,61	162,10
	$b_T, \text{ kJ/mol}$	0,96	1,03
	R^2	0,969	0,937
	χ^2	0,268	0,540
Dubinin-Radushkevich	$q_{m, DR}, \text{ mg/g}$	12,43	12,37
	$K_{DR}, \text{ mol}^2/\text{J}^2$	$2,58 \times 10^{-8}$	$1,81 \times 10^{-8}$
	$E, \text{ kJ/mol}$	4,40	5,26
	R^2	0,811	0,775
	χ^2	1,312	1,585
	C3a	D3	30

Tabela 8. Vrednosti izračunatih parametara izotermских modela za adsorpciju PFOA na IRA 402.

Izoterma	Parametar	Vrednost	
	t, °C	28	4
Langmuir	$q_{m, L}, \text{ mg/g}$	51,28	123,45
	$K_L, \text{ L/mg}$	0,02	$3,73 \times 10^{-3}$
	R_L	0,71	0,93
	R^2	0,859	0,767
	χ^2	1,509	1,389
	$q_{m, L}, \text{ mg/g}$	51,28	123,45
	$K_F, \text{ dm}^3/\text{g}$	1,41	0,61
Freundlich	n	1,30	1,17
	R^2	0,862	0,775
	χ^2	1,236	1,252
	$K_T, \text{ dm}^3/\text{g}$	0,81	0,48
Temkin	$b_T, \text{ kJ/mol}$	0,62	0,73
	R^2	0,871	0,808
	χ^2	0,828	0,760
	$q_{m, DR}, \text{ mg/g}$	9,39	6,58
Dubinin-Radushkevich	$K_{DR}, \text{ mol}^2/\text{J}^2$	$1,77 \times 10^{-6}$	$4,34 \times 10^{-6}$

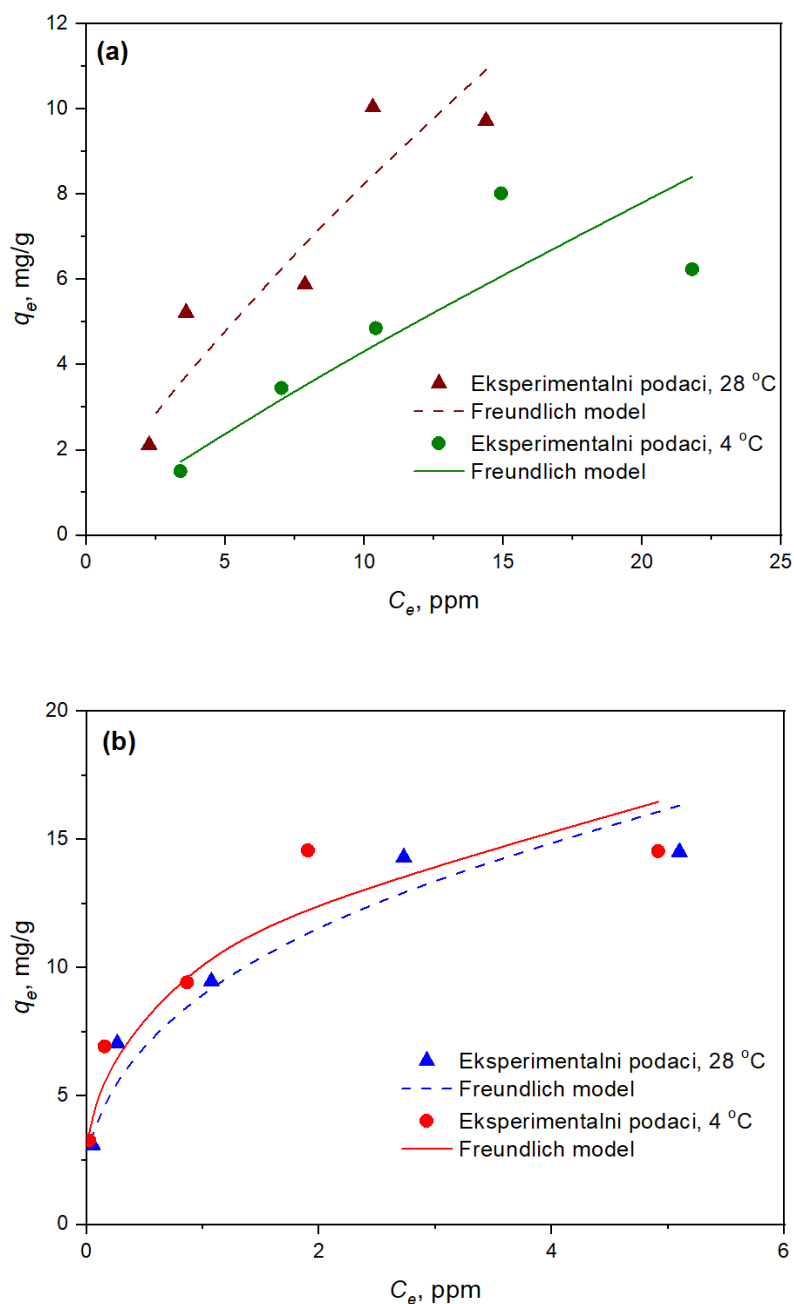
E , kJ/mol	0,53	0,34
R^2	0,818	0,743
χ^2	0,935	0,962
C3a	9,39	6,58

Pri niskim početnim koncentracijama PFOA (5–20 ppm) Langmuirove adsorpcione izoterme kod oba sorbenta, K/B i IRA 402, pokazuju dobro slaganje sa eksperimentalnim podacima (Slika 13). Sa povećanjem koncentracije PFOA dolazi do odstupanja Langmuirovog modela od ekperimentalnih podataka, što ukazuje na to da se adsorpcioni proces nastavlja i nakon formiranja monosloja na aktivnim mestima sorbenta. Langmuirova konstanta (K_L), koja predstavlja meru energije adsorpcije, ima niže vrednosti za sorbent IRA 402 (0,02 L/mg na 28 °C i $3,73 \times 10^{-3}$ L/mg na 4 °C), što ukazuje na to da je adsorpcija PFOA dominantno fizisorpcija u odnosu na hemisorpciju. Vrednosti R_L (bezdimenzionog faktora separacije) za K/B i IRA 402 kretale su se u opsegu od $3,99 \times 10^{-3}$ do 0,93, kako vrednost R_L ukazuje na prirodu adsorpcije kao povoljnu ($0 < R_L < 1$), linearnu ($R_L = 1$) ili ireverzibilnu ($R_L = 0$), dobijene vrednosti potvrđuju povoljnost adsorpcije.



Slika 13. Langmuir-ove adsorpcione izoterme za: a) IRA 402 i b) K/B na 28 i 4 °C (pri uslovima: C_0 , 5–35 ppm, $m_{\text{ads}} = 50$ mg, $V = 25$ mL, $\tau = 24$ h).

Međutim, niske vrednosti koeficijenta determinacije (R^2) i visoke vrednosti hi-kvadrat testa (χ^2) za Langmuirov izotermni model ukazuju na to da ovaj model ne može pouzdano da predvidi proces adsorpcije PFOA na oba ispitivana adsorbenta. Zbog toga je koristeći eksperimentalne podatke primenjena linearna aproksimacija Freundlichovog izotermnog modela adsorpcije (Slika 14).

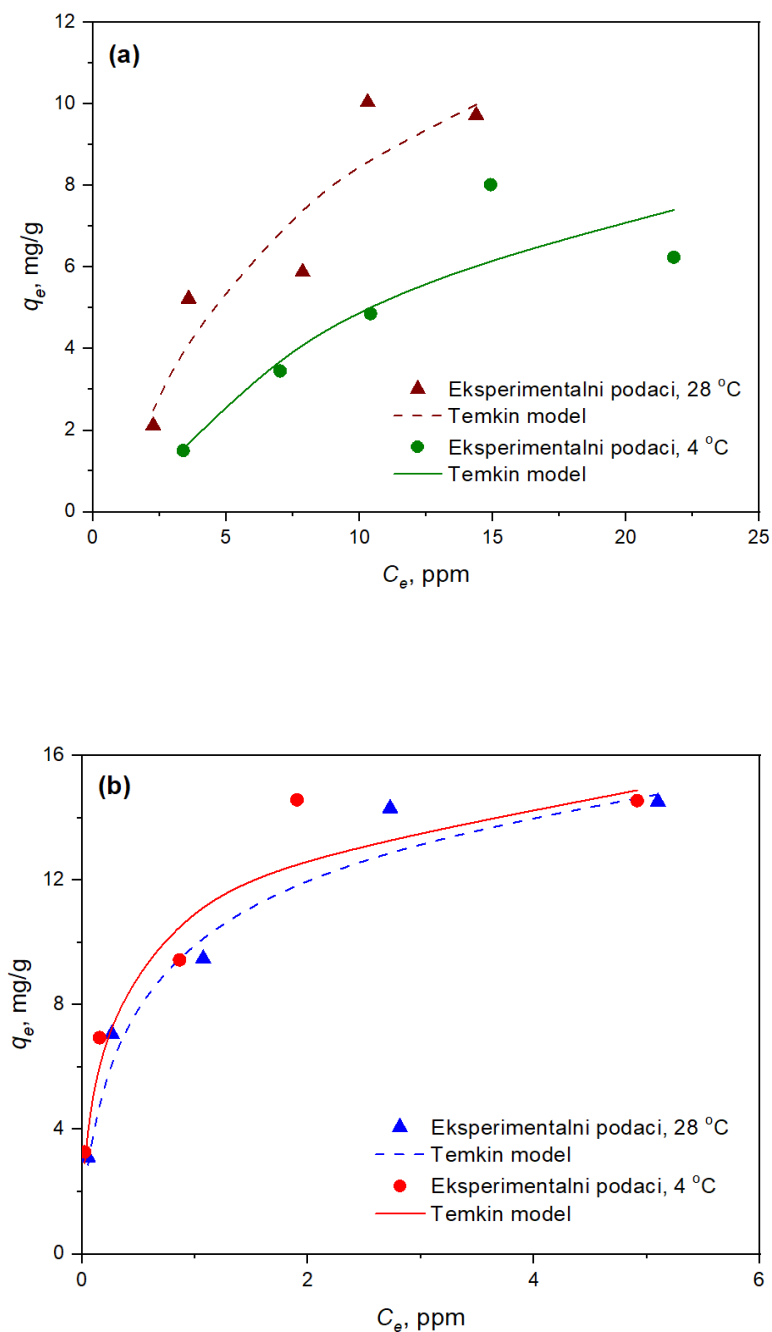


Slika 14. Freundlich-ove adsorpcione izoterme za: a) IRA 402 i b) K/B na 28 i 4 °C (pri uslovima: C_0 , 5–35 ppm, $m_{\text{ads}} = 50$ mg, $V = 25$ mL, $\tau = 24$ h).

Dobijene vrednosti R^2 i χ^2 za Freundlichovu adsorpcionu izotermu, ukazuju na nešto bolje slaganje sa eksperimentalnim rezultatima u poređenju sa Langmuirovim modelom, kod oba materijala i na obe ispitivane temperature. Dobijeni rezultati sugerišu da se adsorpcija odvija na heterogenoj površini putem višeslojne adsorpcije. Na osnovu dobijenih vrednosti K_F (Freundlichova konstanta, predstavlja meru jačine adsorpcije) može se zaključiti da sorbent K/B poseduje veći adsorpcioni kapacitet za PFOA u poređenju sa sorbentom IRA 402, što je u skladu sa eksperimentalno dobijenim podacima. Freundlichov empirijski parametar ($1/n$) koji opisuje intenzitet adsorpcije (adsorpcija je povoljna ako je $1/n$ veći od 0,

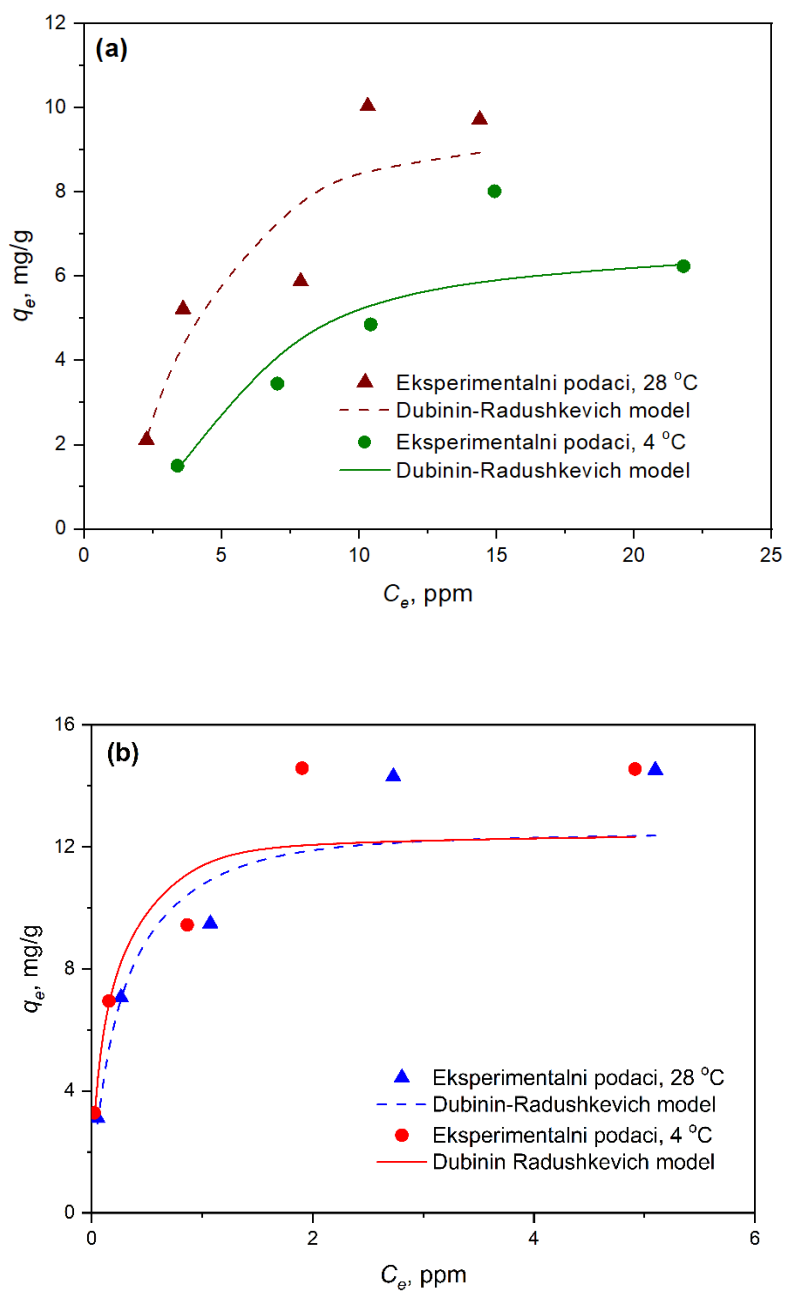
a manji od 1) i stepen heterogenosti površine adsorbenta, ($1/n \approx 0$, veoma heterogena površina i $1/n \approx 1$ homogena površina), daje nam uvid u svojstva sorbenata, odnosno njihovo ponašanje tokom adsorpcije. Na osnovu vrednosti parametra $1/n$ koje se kreću u opsegu od 0,28 do 0,85, može se zaključiti da su analizirani adsorpcioni procesi na sorbentima K/B i IRA 402 povoljni, dok heterogena priroda adsorpcije postaje izraženija sa snižavanjem temperature, što se može videti iz Tabela 7 i 8.

Na eksperimentalne podatke je primenjen i Temkinov izotermni model adsorpcije. Grafički prikazi eksperimentalnih rezultata prilagođenih linearizovanom obliku Temkinovog modela za adsorpciju PFOA na K/B i IRA 402 sorbentima prikazani su na Slici 15. Na osnovu vrednosti R^2 i χ^2 , može se zaključiti da ovaj model najbolje opisuje adsorpcione procese na oba ispitivana sorbenta i pri obe ispitivane temperature (Tabela 7 i 8). Pozitivne vrednosti parametra b_T (opisuje intenzitet adsorbat-sorbent interakcija uzimajući u obzir međusobne interakcije adsorbiranih molekula) ukazuju na egzotermnu prirodu adsorpcionih procesa. Više vrednosti konstante K_T za sorbent K/B pri obe temperature ukazuju na veći adsorpcioni kapacitet za PFOA u poređenju sa sorbentom IRA 402.



Slika 15. Temkin-ove adsorpcione izoterme za: a) IRA 402 i b) K/B na 28 i 4 °C (pri uslovima: C_0 , 5-35 ppm, $m_{ads} = 50$ mg, $V = 25$ mL, $\tau = 24$ h).

Kako bi se odredio tip interakcije između adsorbata i adsorbenta tokom adsorpcionog procesa, primenjen je Dubinin-Radushkevichev izotermni model adsorpcije. Dobijeni eksperimentalni rezultati prikazani su na Slici 16. kao krive linearne regresije za adsorpciju PFOA na sorbentima IRA 402 i K/B. Vrednosti konstante Dubinin–Radushkevicha (K_{DR}) za sorbent K/B iznosile su $2,58 \times 10^{-8}$ i $1,81 \times 10^{-8} \text{ mol}^2/\text{J}^2$, dok su za sorbent IRA 402 iznosile $1,77 \times 10^{-6}$ i $4,34 \times 10^{-6} \text{ mol}^2/\text{J}^2$ pri temperaturama od 28 i 4 °C, redom.



Slika 16. Dubinin-Radushkevich-ove adsorpcione izoterme za: a) IRA 402 i b) K/B na 28 i 4 °C (pri uslovima: C_0 , 5–35 ppm, $m_{\text{ads}} = 50$ mg, $V = 25$ mL, $\tau = 24$ h).

Na osnovu dobijenih vrednosti K_{DR} izračunate su energije adsorpcionih procesa (E), čije su se vrednosti za adsorpciju PFOA na sorbentima kretale u opsegu od 0,34 do 5,26 kJ/mol, što odgovara fizisorpciji ($E < 8$ kJ/mol).

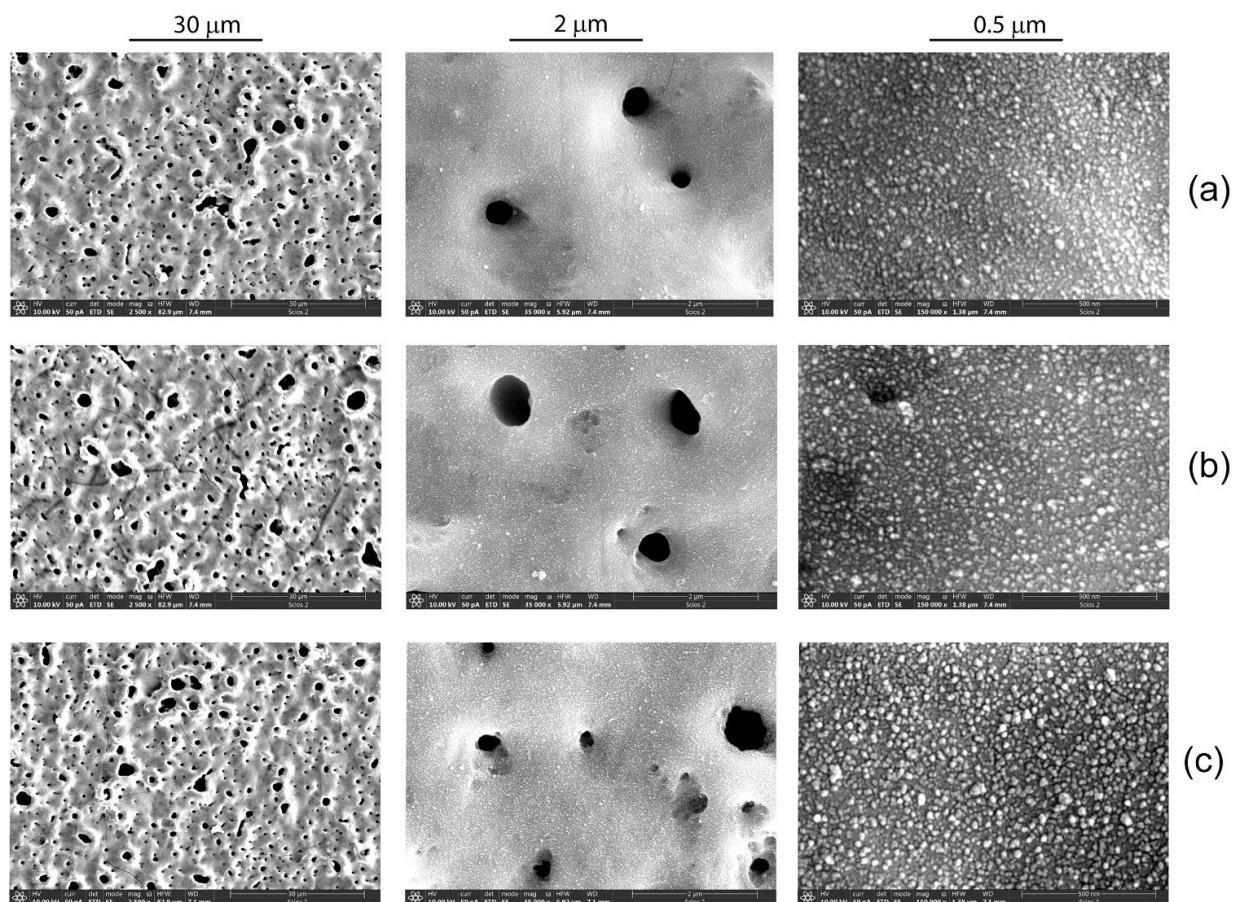
4.2. Rezultati fotokatalitičke degradacije PFOA

4.2.1. Karakterizacija fotokatalizatora

Na fotokatalitička svojstva PEO prevlaka utiče više faktora, uključujući površinsku teksturu i morfologiju, hemijski sastav, faznu strukturu, sposobnost apsorpcije svetlosti, kao i efikasnost prevlake u generisanju dugovečnih elektrona i šupljina, koji omogućavaju formiranje visoko reaktivnih fotokatalitičkih vrsta (Karbasi *et al.*, 2023). Ipak, uspešna aplikacija prevlake u velikoj meri zavisi od njenog čvrstog prijanjanja za Ti podlogu. Budući da se fotoaktivni oksidni slojevi na površini Ti folije mogu lako odvojiti od PEO supstrata u realnim radnim uslovima, čime se proces imobilizacije čini neefikasnim, veoma je važno uraditi procenu stabilnosti prevlaka.

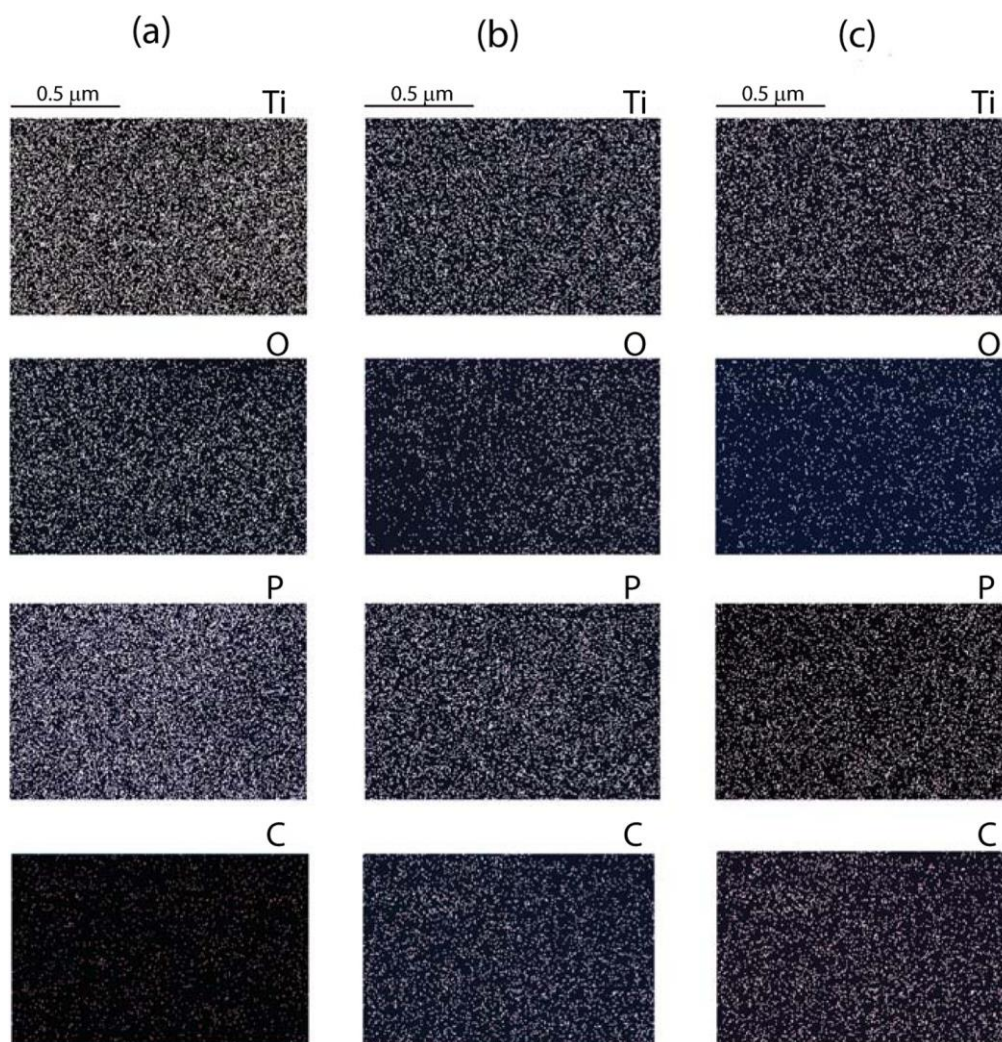
Radi procene stabilnosti prevlaka, svi uzorci su podvrgnuti istim uslovima kao u fotokatalitičkim eksperimentima (T, 20 °C; zapremina vode, 10 mL; mešanje, 500 rpm). Nakon 8 sati ispitivanja nisu uočeni znaci habanja niti pucanja prevlake, što ukazuje na to da fotoaktivni sloj ostaje nepromenjen na Ti supstratu nakon realnog fotokatalitičkog testa i da su uzorci spremni za naredni fotokatalitički ciklus.

Na Slici 17 prikazane su površinske morfologije prevlaka dobijenih u baznom elektrolitu i u elektrolitu sa dve različite koncentracije rGO. Radi poređenja površinske morfologije, na Slici 17 dat je prikaz gornje površine svih uzoraka pri tri različita uvećanja (2.500×, 35.000× i 150.000×).



Slika 17. FESEM mikrografije površine prevlaka: (a) Ti/TiO₂, (b) Ti/TiO₂-rGO(1) i (c) Ti/TiO₂-rGO(10); uvećanja: 2.500×, 35.000× i 150.000×.

Sve prevlake pokazivale su karakterističnu poroznu strukturu formiranu tokom PEO tretmana titanijuma, sa brojnim mikro kanalima različitih dimenzija i zonama nastalim usled brzog hlađenja istopljenog materijala (Ebrahimi *et al.*, 2019; Stojadinović *et al.*, 2022). Mikro pražnjenja i oslobađanje zarobljenih mehurića gasa doveli su do formiranja mikropora, što je rezultovalo čipkastom, odnosno mrežastom strukturom površine prevlake. Dodatak rGO u bazni elektrolit nije imao uočljiv uticaj na morfologiju, poroznost niti veličinu čestica dobijenih prevlaka. Na svim uzorcima primećene su gotovo zanemarljive pukotine, nastale kao posledica različitih koeficijenata termičkog širenja metalnog Ti i TiO₂ slojeva formiranih tokom PEO procesa, ali one nisu uticale na dobru stabilnost oksidnog sloja. Analiza pomoću softvera ImageJ pokazala je da su dominantne veličine pora kod uzoraka Ti/TiO₂, Ti/TiO₂-rGO(1) i Ti/TiO₂-rGO(10) iznosile 0,244 μm, 0,226 μm i 0,220 μm, redom. Daljom analizom utvrđeno je da su glavne veličine čestica površinskog sloja kod istih uzoraka bile 13, 11 i 10 nm, redom. Relativno velike (submikrometerske) pore u gornjem sloju prevlake, zajedno sa unutrašnjom poroznom strukturom TiO₂ matrice, formiraju hijerarhijsku poroznu strukturu u svim ispitivanim uzorcima. Ovakva hijerarhijska poroznost, kao i druge površinske nepravilnosti, mogu značajno doprineti povećanju fotokatalitičke aktivnosti. EDS mapiranje (Slika 18.) pokazuje da sve prevlake sadrže titan (Ti), kiseonik (O), fosfor (P) i ugljenik (C).



Slika 18. FESEM-EDS elementne mape površine prevlaka Ti/TiO₂, Ti/TiO₂-rGO(1) i Ti/TiO₂-rGO(10) pri uvećanju od 150.000×.

Rezultati EDS mapiranja (Tabela 9) pokazuju da su svi elementi ravnomerno raspoređeni u površinskim prevlakama.

Tabela 9. Rezultati FESEM-EDS analize elementarnog sastava čistih TiO₂ i rGO-dopiranih TiO₂ prevlaka.

Uzorak	Ti (wt%)	O (wt%)	P (wt%)	C (wt%)
Ti/TiO ₂	23,0	70,6	5,2	1,3*
Ti/TiO ₂ -rGO(1)	28,3	63,4	5,5	2,8**
Ti/TiO ₂ -rGO(10)	29,3	61,0	5,3	4,4**

*- Ugljenik poreklom sa nosača mrežice i površinski adsorbovane ugljenične vrste iz okoline.

** - Ukupna količina adsorbovanog ugljenika.

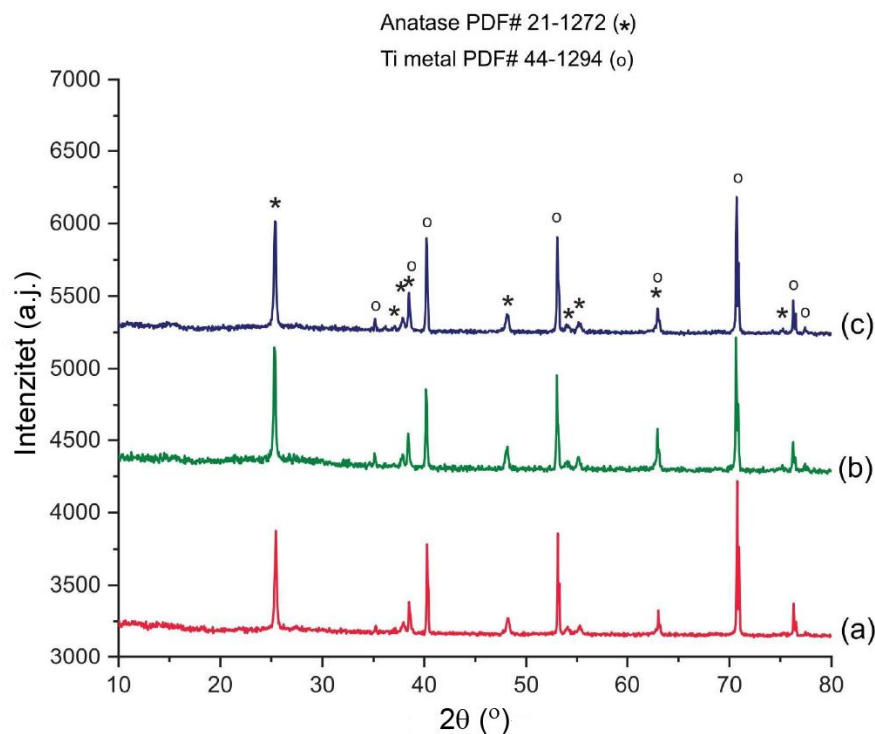
Treba napomenuti da kod svih uzoraka deo ugljenika potiče od nosača mrežice, kao i od vrsta koje sadrže C, koje su se adsorbovale iz okoline na površinu prevlaka. Međutim, kod prevlaka Ti/TiO₂-rGO(1) i Ti/TiO₂-rGO(10), deo ugljenika potiče i od samog rGO. Površinska pokrivenost ugljenikom izračunata je primenom softvera ImageJ. Elementarna površinska pokrivenost C za uzorke Ti/TiO₂, Ti/TiO₂-rGO(1) i Ti/TiO₂-rGO(10) iznosila je 1,8%, 4,9% i 6,7%, redom.

Jednostavnim razlikom između ukupnog sadržaja C (kod uzoraka dopiranih rGO) i atmosferskog (iz okruženja) C (kod čistog TiO₂) dobijene su vrednosti od 3,1% za Ti/TiO₂-rGO(1) i 4,9% za Ti/TiO₂-rGO(10), što ukazuje na pokrivenost površine ugljenikom u obliku Ti-C vrsta. Ovakav rezultat je očekivan, imajući u vidu da je u uzorku Ti/TiO₂-rGO(10) dodat veći sadržaj rGO u odnosu na uzorak Ti/TiO₂-rGO(1).

Koncentracija Ti potiče od titanijumske podloge i TiO₂ sloja, dok je prisustvo O rezultat oksidacije tokom PEO procesa, a prisustvo P posledica fosfata u baznom elektrolitu. EDS analiza pokazuje da koncentracija C raste sa povećanjem sadržaja rGO u baznom PEO elektrolitu, što potvrđuje interakciju rGO sa TiO₂ prevlakom tokom PEO procesa u elektrolitima sa dodatim rGO.

Prevlake TiO₂ dopirane rGO pokazale su veći sadržaj Ti u poređenju sa nedopiranom TiO₂ prevlakom, što se najverovatnije može objasniti nešto manjom veličinom čestica na površini rGO-dopiranih uzoraka.

Faze i kristalna struktura prevlaka ispitane su metodom XRD. Na Slici 19 prikazani su XRD difraktogrami uzoraka Ti/TiO₂, Ti/TiO₂-rGO(1) i Ti/TiO₂-rGO(10), pripremljenih u baznom elektrolitu i u elektrolitu sa dve različite koncentracije rGO. Difrakcioni pikovi pri 2θ vrednostima za 25,3°, 37,1°, 37,9°, 38,5°, 48,0°, 53,9°, 55,2°, 63,0° i 75,2° odgovaraju ravnicama 101, 111, 004, 112, 200, 105, 211, 204 i 215 anatazne forme TiO₂ (JCPDS kartica br. 21-1272).



Slika 19. XRD difraktogram prevlaka: (a) Ti/TiO₂, (b) Ti/TiO₂-rGO(1) i (c) Ti/TiO₂-rGO(10).

Difrakcioni pikovi metala Ti prisutni su u svim XRD obrascima (JCPDS kartica br. 44–1294). Pikovi pri vrednostima 2θ za 35,1°, 38,5°, 40,2°, 53,0°, 62,9°, 70,7° i 77,4° odgovaraju ravnima 100, 002, 101, 102, 110, 103 i 112 titanijuma. Ovi pikovi potiču od neoksidisanog Ti supstrata.

Odsustvo difrakcionog pika karakterističnog za rGO verovatno je posledica relativno niske koncentracije dopiranog rGO. Takođe, nisu uočeni pikovi koji bi se mogli pripisati fosforu iz PEO elektrolita. Izostanak pikova karakterističnih za Ti–C fazu ukazuje na to da je rGO amorfan ili dobro dispergovan u prevlaci.

Kod oba rGO-dopirana TiO₂ uzorka jasno je da je deo rGO u bliskom kontaktu sa TiO₂ rešetkom. Ipak, izvesna količina rGO verovatno ostaje kao zasebna, visoko dispergovana amorfna faza. Treba napomenuti da deo ovih dispergovanih rGO vrsta može formirati specifične rGO–TiO₂ strukture, što je povoljno za formiranje velikog broja adsorpcionih mesta i visoko reaktivnih fotokatalitičkih centara.

Radi ispitivanja hemijske strukture i valentnih stanja elemenata u PEO prevlakama, sprovedena su XPS ispitivanja na uzorcima pripremljenim samo u osnovnom elektrolitu (natrijum-fosfat), kao i u osnovnom elektrolitu uz dodatak 1 i 10 g/L rGO. Na Slici 20 prikazani su fotoelektronski spektri Ti 2p, O 1s, C 1s i P 2p svih elemenata detektovanih na površini prevlaka.

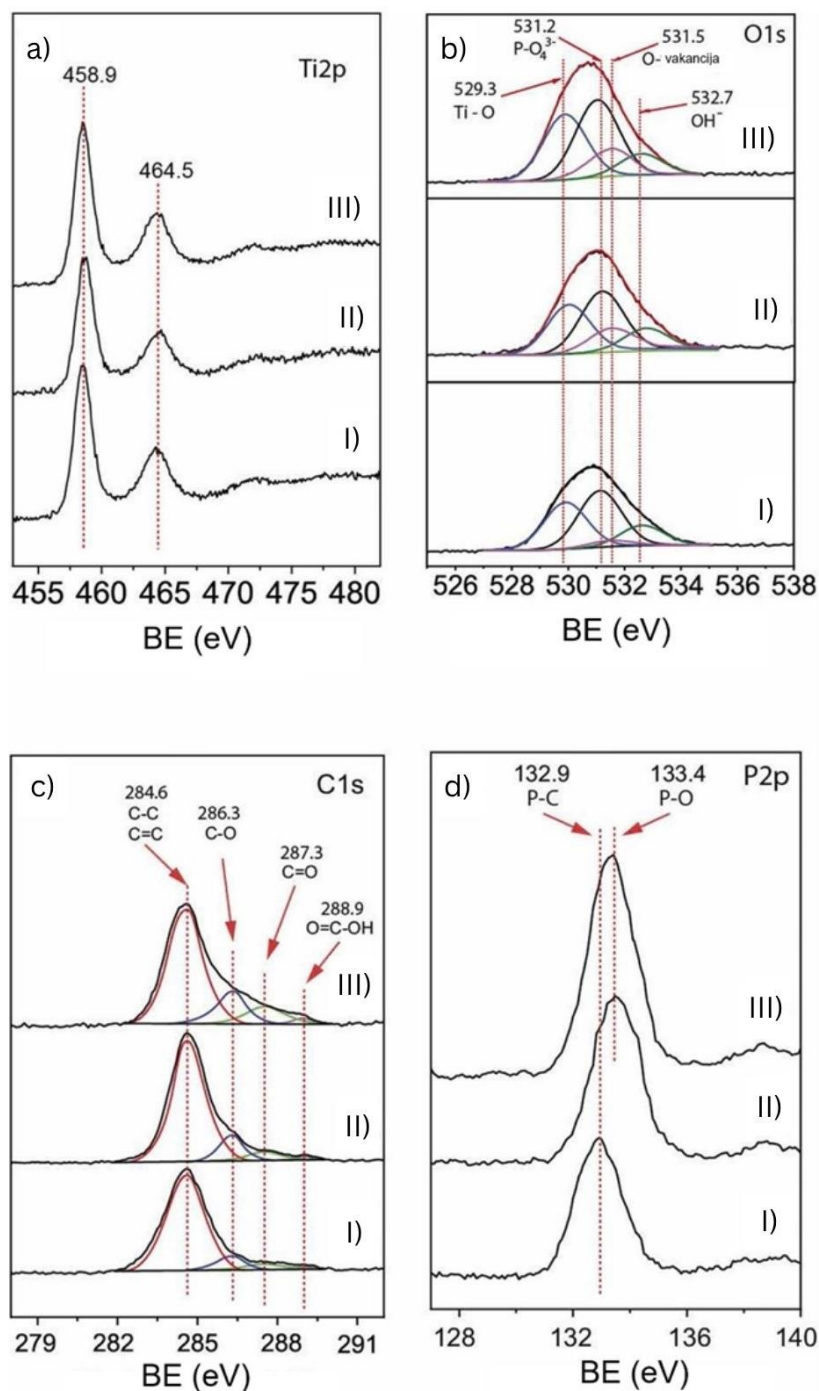
Za sve uzorke, Ti⁴⁺ joni u anataznoj fazi TiO₂ karakterisani su Ti 2p_{3/2} i Ti 2p_{1/2} pikovima na 458,9 i 464,5 eV, sa spin–orbitnim razdvajanjem od 5,6 eV (Slika 20(a)) (Sikdar, Pathak and K Ghorai, 2015). Ti 2p spektri čistog TiO₂ i rGO-dopiranih TiO₂ prevlaka pokazuju da kod uzoraka dopiranih rGO nema pomeranja Ti pikova ka višim energijama vezivanja, što ukazuje da rGO i TiO₂ ne ostvaruju jaku interakciju na površini prevlaka.

Ti 2p spektar može pružiti detalje o vezivanju titana u sredini bogatoj C i O. Kod rGO-dopiranih TiO₂ prevlaka, formiranje Ti–O–C veza može izazvati blago pomeranje Ti 2p pikova u odnosu na čisti TiO₂. Nasuprot tome, Ti–C veze bi pokazale izraženije pomeranje ka nižim energijama vezivanja. Većina ugljenika na površini rGO-dopiranih TiO₂ prevlaka verovatno postoji u obliku Ti–O–C vrsta.

Na Slici 20(b) prikazan je O 1s spektar razložen je na četiri pika pri 530,0, 531,2, 531,5 i 532,5 eV, koji se mogu povezati sa vezama Ti–O, P–O₄³⁻, kiseoničnim vakansama i OH⁻, respektivno (Jiang *et al.*, 2022; Yan *et al.*, 2025). U Tabeli 10 prikazan je odnos površina (%) dekonvoluisanih O i C pikova.

Tabela 10. Udeo površina dekonvoluisanih C i O pikova (%).

Uzorci	odnos površina C pikova (%)				odnos površina O pikova (%)			
	C=C(C-C) (284,6 eV)	C-O (286,3 eV)	C=O (287,3 eV)	O=C-OH (288,9 eV)	Ti-O (529,3 eV)	P-O ₄ ³⁻ (531,2 eV)	O vakanca (531,5 eV)	OH ⁻ (532,5 eV)
Ti/TiO ₂	88	8	3	1	37	47	4	12
Ti/TiO ₂ - rGO(1)	81	12	5	2	34	44	9	13
Ti/TiO ₂ - rGO(10)	70	18	9	3	33	41	14	12



Slika 20. Fotoelektronski spektri Ti 2p (a), O 1s (b), C 1s (c) i P 2p (d) za: (I) Ti/TiO₂, (II) Ti/TiO₂-rGO(1) i (III) Ti/TiO₂-rGO(10).

Kada se u bazni PEO elektrolit uvede 1 i 10 g/L rGO, povećava se udeo vakancije kiseonika, dok se udeo kiseoničnih vrsta Ti–O i P–O₄³⁻ blago smanjuje. Pik na 529,3 eV pripisan je rešetkastom kiseoniku vezanom za Ti⁴⁺ jone u kristalnoj strukturi Ti–O. Pojava pika na 531,2 eV (P–O₄³⁻) posledica je prisustva natrijum-fosfata u osnovnom elektrolitu, kao i akumulacije fosfata na površini svih prevlaka. Pik na 531.5 eV pripisan je O jonima u regionima sa nedostatkom kiseonika (vakancija kiseonika), dok pik na

532,5 eV odgovara slabo vezanim kiseoničnim vrstama adsorbovanim na prevlaci, poput adsorbovanih OH⁻ grupa.

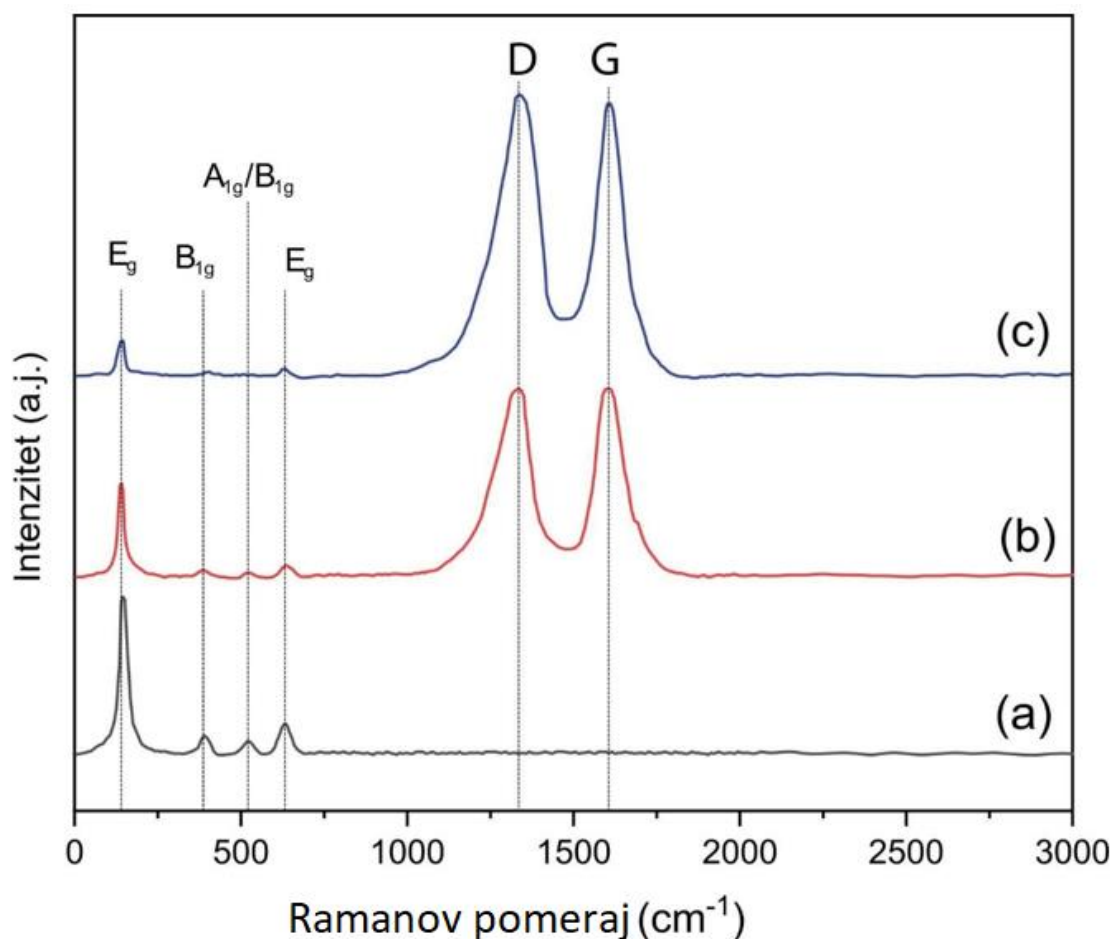
Rezultati dekonvolucije O 1s spektra pokazuju da je veza između TiO₂ i rGO veoma jaka, što omogućava efikasniji transport naelektrisanja u rGO-dopiranim TiO₂ prevlakama. Povećane koncentracije O₂⁻ (poreklom iz Ti–O) i •OH radikala generalno ukazuju na višu fotokatalitičku aktivnost. Takođe, prisustvo kiseonične vakancije povećava pozitivno naelektrisanje u TiO₂ rešetki, privlačeći elektrone susednih O atoma i formirajući reaktivne kiseonične vrste (reactive oxygen species, ROS, eng.). Zbog toga prevlake sa većim sadržajem O₂⁻, •OH i O-vakancije pokazuju veću aktivnost u procesima napredne oksidacije.

Dekonvolucija C 1s spektra pokazuje četiri pika pri energijama vezivanja od 284,6, 286,3, 287,3 i 288,9 eV, koji odgovaraju C–C (ili C=C), C–O, C=O i O–C–OH vezama (Slika 20(c)) (Wang *et al.*, 2012). U C 1s spektru nije uočen signal Ti–C veze na 282,4 eV, što ukazuje da ugljenik nije inkorporiran u TiO₂ rešetku. Međutim, pošto se pikovi C–C i Ti–C preklapaju, interakcija između rGO i TiO₂ čestica, kao i adsorpcija rGO vrsta na površini TiO₂, ne može se isključiti (Ruidíaz-Martínez *et al.*, 2020).

Spektri P 2p pokazuju dva pika na 132,9 i 133,4 eV, koji odgovaraju P–C i P–O vezama (Slika 20(d)), energija vezivanja od 132,9 eV može se pripisati PO₄³⁻ grupama, koje mogu biti povezane sa •OH vrstama iz adsorbovane vode na površini (Ruidíaz-Martínez *et al.*, 2020). Pik na 132,9 eV prisutan je kod čistog TiO₂, dok se pik na 133,4 eV javlja samo kod rGO-dopiranih TiO₂ prevlaka. P–C signal kod čistog TiO₂ potiče od atmosferskog ugljenika, sa druge strane, dodatak rGO u bazni elektrolit pojačava interakciju PO₄³⁻ sa TiO₂ česticama. Formiranje P–O–Ti vrsta podstiče generisanje •OH i O₂⁻ radikala i povećava fotokatalitičku aktivnost čistog TiO₂ (Costa *et al.*, 2025).

XPS analiza elemenata Ti, O, C i P u prevlakama potvrđuje prisustvo Ti–O i Ti–O–C veza, što potvrđuje hemijsko vezivanje između TiO₂ i rGO. Ti–O–C veze omogućavaju efikasan prenos naelektrisanja, bolju separaciju nosilaca naelektrisanja, potencijalno proširenu apsorpciju svetlosti i povećanu adsorpciju reaktanata. Posledično, fotokatalitička aktivnost rGO-dopiranog TiO₂ može se unaprediti efikasnom hibridizacijom TiO₂ sa rGO.

Defekti i strukturni poremećaji prevlaka ispitivani su Ramanovom spektroskopijom (Slika 21).

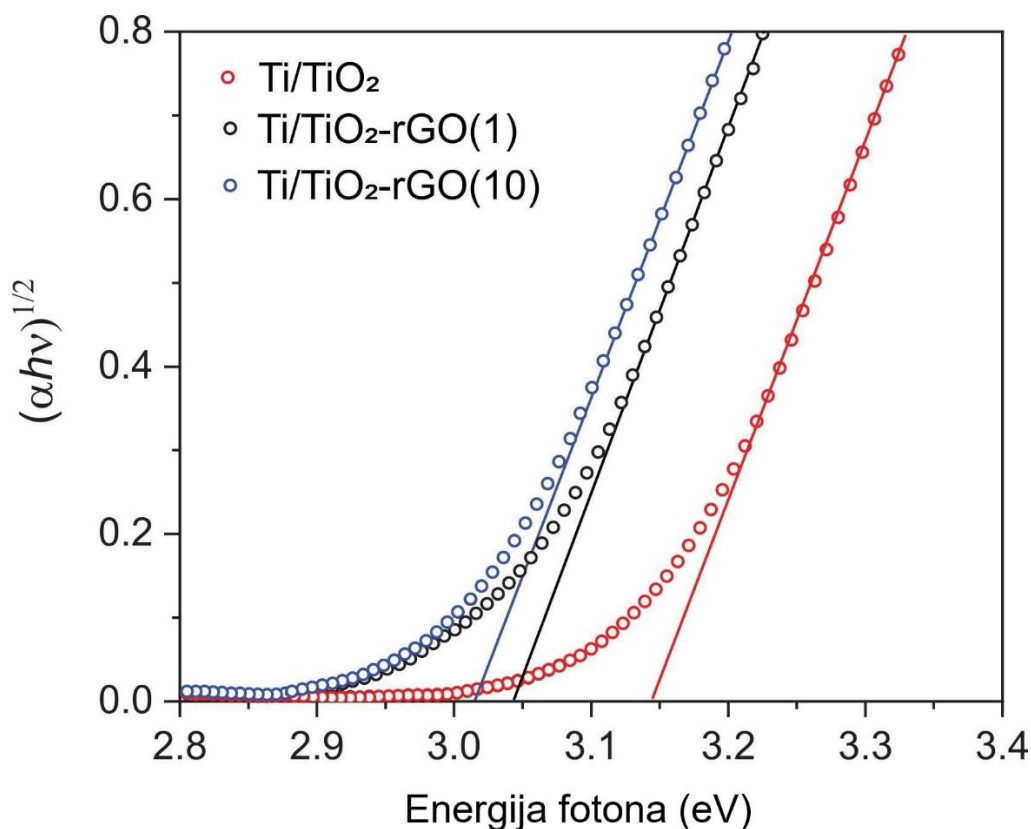


Slika 21. Ramanovi spektri: (a) Ti/TiO₂, (b) Ti/TiO₂-rGO(1) i (c) Ti/TiO₂-rGO(10).

Ramanovi spektri potvrđuju formiranje anatazne faze TiO₂ (pikovi na približno 142 (E_g), 391 (B_{1g}), 512 (A_{1g}/B_{1g}) i 634 (E_g) cm⁻¹). Spektri uzoraka Ti/TiO₂-rGO(1) i Ti/TiO₂-rGO(10) su slični, ali pokazuju D (~1401 cm⁻¹) i G (~1605 cm⁻¹) trake karakteristične za rGO. Intenzitet TiO₂ pikova opada sa povećanjem udela rGO, što potvrđuje prekrivanje TiO₂ sloja rGO-om.

I_D/I_G odnosi iznose 1,005 za Ti/TiO₂-rGO(10) i 0,989 za Ti/TiO₂-rGO(1). Veći odnos relativnih intenziteta D i G traka ukazuje na viši stepen defekata u materijalu. Povećan I_D/I_G odnos kod Ti/TiO₂-rGO(10) predstavlja dokaz većeg broja defekata, kao i jačeg hemijskog vezivanja između TiO₂ i rGO vrsta.

UV-Vis difuzni reflektivni spektri korišćeni su za ispitivanje optičkih apsorpcionih svojstava čistih i rGO-dopiranih TiO₂ prevlaka. DRS spektri analizirani su u opsegu 300–600 nm. Optički energetski procep određen je primenom Tauc-ove metode (Slika 22).



Slika 22. Tauc-ovi dijagrami uzoraka (crveno) Ti/TiO₂, (crno) Ti/TiO₂-rGO(1) i (plavo) Ti/TiO₂-rGO(10).

Na Slici 22 uočen je karakterističan apsorpcioni prag za TiO₂ pri $E_g = 3,14$ eV, dok je kod rGO-dopiranih TiO₂ uzoraka primećen batohromni pomak apsorpcionog praga. Sa povećanjem sadržaja rGO u baznom elektrolitu, vrednost zabranjenog pojasa se blago smanjuje i iznosi $E_g = 3,04$ eV za Ti/TiO₂-rGO(1) i $E_g = 3,01$ eV za Ti/TiO₂-rGO(10).

Batohromni pomak u spektrima rGO-dopiranog TiO₂ može se pripisati formiranju novih energetskih nivoa usled prisustva Ti–C ili Ti–O–C veza u TiO₂-rGO prevlakama, što je u skladu je sa XPS rezultatima i podacima iz literature (Liu, 2014; Ebrahimi *et al.*, 2019). Sužavanje energetskog procepa kod rGO-dopiranih TiO₂ uzoraka ukazuje na uspešnu modifikaciju elektronske strukture TiO₂ uvođenjem rGO, kao i na formiranje novih elektronskih nivoa odnosno defekata. Interakcija između rGO i TiO₂ dovodi do smanjenja širine energetskog procepa i istovremenog povećanja optičke apsorpcione sposobnosti materijala u smeru povećavanja iskorišćenja količine svetlosti iz vidljivog regiona UV-Vis spektra.

Smanjeni energetski procep i povećana optička apsorpciona sposobnost mogu unaprediti razdvajanje e^-/h^+ parova tokom fotokatalize, što dovodi do smanjenja stope njihove rekombinacije.

4.2.2. Fotokatalitička degradacija PFOA

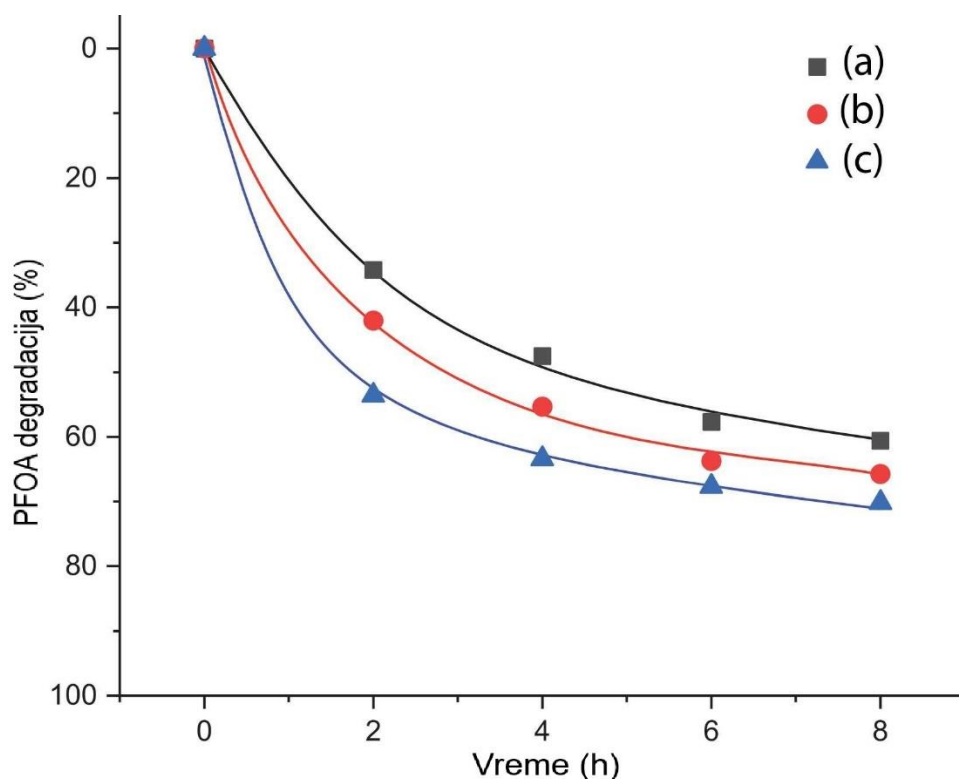
Pre merenja fotokatalitičke degradacije PFOA, ispitana je adsorpcija PFOA na fotokatalitičkim prevlakama tokom 8 h u mraku. Takođe je urađen test fotolize PFOA pod UV-Vis zračenjem bez prisustva fotokatalizatora, nakon 8 h ozračivanja nije došlo do smanjenja koncentracije PFOA, što ukazuje da je PFOA fotostabilna pod primenjenim uslovima.

Na Slici 23 prikazana je konverzija razgradnje PFOA u prisustvu fotokatalizatora Ti/TiO₂, Ti/TiO₂-rGO(1) i Ti/TiO₂-rGO(10). Kinetički parametri svih prevlaka za fotokatalitičku degradaciju PFOA određeni su uz pretpostavku modela pseudo-prvog reda. Pravidne konstante brzine (k_{app}) izračunate su nelinearnom metodom najmanjih kvadrata, fitovanjem eksperimentalnih podataka u celom vremenskom intervalu od 0 do 8 h (Tabela 11) (Lente, 2015).

Tabela 11. Konstanta brzine pseudo-prvog reda (k_{app}), standardna devijacija (σ) i koeficijent linearne korelacije (R^2) za degradaciju PFOA (Hori *et al.*, 2005).

Uzorak	k_{app} (h ⁻¹)	σ	R^2
Ti/TiO ₂	0,325	0,018	0,9979
Ti/TiO ₂ -rGO(1)	0,438	0,030	0,9967
Ti/TiO ₂ -rGO(10)	0,532	0,042	0,9933

Pod UV-Vis osvetljenjem koncentracija PFOA u svim uzorcima opada tokom vremena (Slika 23). Čista TiO₂ prevlaka pokazuje zadovoljavajuću fotoaktivnost za degradaciju PFOA; nakon 8 h ozračivanja degradovano je 61% PFOA. Fotokatalizatori dopirani sa rGO pokazuju veću fotoaktivnost u poređenju sa čistim TiO₂. Uz pomoć fotokatalizatora Ti/TiO₂-rGO(1) degradovano je 66% PFOA nakon 8 h osvetljavanja, dok je Ti/TiO₂-rGO(10) pokazao najbolju fotokatalitičku efikasnost, razgradivši 70% PFOA nakon 8 h osvetljavanja (Slika 23), naglašavajući značaj prisustva rGO.



Slika 23. Fotokatalitička degradacija PFOA na: (a) Ti/TiO₂, (b) Ti/TiO₂-rGO(1) i (c) Ti/TiO₂-rGO(10).

Poređenje sa rezultatima drugih autora je pokazalo da modifikacija, odnosno dopiranje TiO₂ fotokatalizatora sa Fe i Cu dovelo je do uklanjanja PFOA od 91% i 69%, redom (Chen *et al.*, 2015). Plemeniti metali se takođe koriste za dopiranje TiO₂ sistema. U Ag-TiO₂, Pd-TiO₂ i Pt-TiO₂ sistemima, efikasnost razgradnje PFOA nakon 8 h iznosila je 57,7%, 94,2% i 100%, respektivno (Li *et al.*, 2016). Panchangam i saradnici (Panchangam *et al.*, 2018) ispitivali su efikasnost TiO₂-grafen nanokompozita (TGNCs) kao fotokatalizatora, uključujući grafen-oksidi-TiO₂ i redukovani grafen-oksidi-TiO₂ sisteme, u degradaciji PFOA. Rezultati su pokazali da primena rGO-TiO₂ (200 ppm) tokom 8 h omogućava degradaciju od 99,2% PFOA (12 µM). Rivero i saradnici (Rivero *et al.*, 2020) istraživali su fotokatalitičku degradaciju PFOA primenom TiO₂-rGO kompozita sintetisanog hidrotermalnom metodom, sa sadržajem GO od 5 wt%. Tokom sinteze GO je redukovano, a TiO₂ nanočestice su dispergovane na grafenskim nanoslojevima. Koncentracija PFOA u rastvoru bila je podešena na 0,24 mmol L⁻¹, dok je doza TiO₂-rGO kompozita iznosila 0,1 g L⁻¹. Nakon 8 h postignuta je stopa degradacije od 86%. Istraživanje koje su sprovedli Gomez-Ruiz i saradnici (Gomez-Ruiz *et al.*, 2018) bavilo se fotokatalitičkim uklanjanjem PFOA, pri čemu je korišćen nanostrukturalni fotokatalizator dobijen hidrotermalnom sintezom, zasnovan na TiO₂ dopiranom redukovanim grafen-oksidiom (rGO) (95% TiO₂ i 5% rGO). Ovaj kompozit (u koncentraciji 0,1 g/L) pokazao je visoku fotokatalitičku aktivnost u razgradnji PFOA (0,24 mmol/L), dostižući efikasnost od 93 ± 7% nakon 12 sati ozračivanja UV-Vis svetlošću pomoću živine lampe srednjeg pritiska.

Iako su u navedenim istraživanjima (Chen *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2016; Gomez-Ruiz *et al.*, 2018; Panchangam *et al.*, 2018; Rivero *et al.*, 2020) postigli veći procenat degradacije PFOA tokom fotokatalitičkog procesa u odnosu na rezultate ove disertacije, treba imati u vidu da su autori koristili praškaste fotokatalizatore, koji zbog svoje velike specifične površine pokazuju višu aktivnost. Međutim,

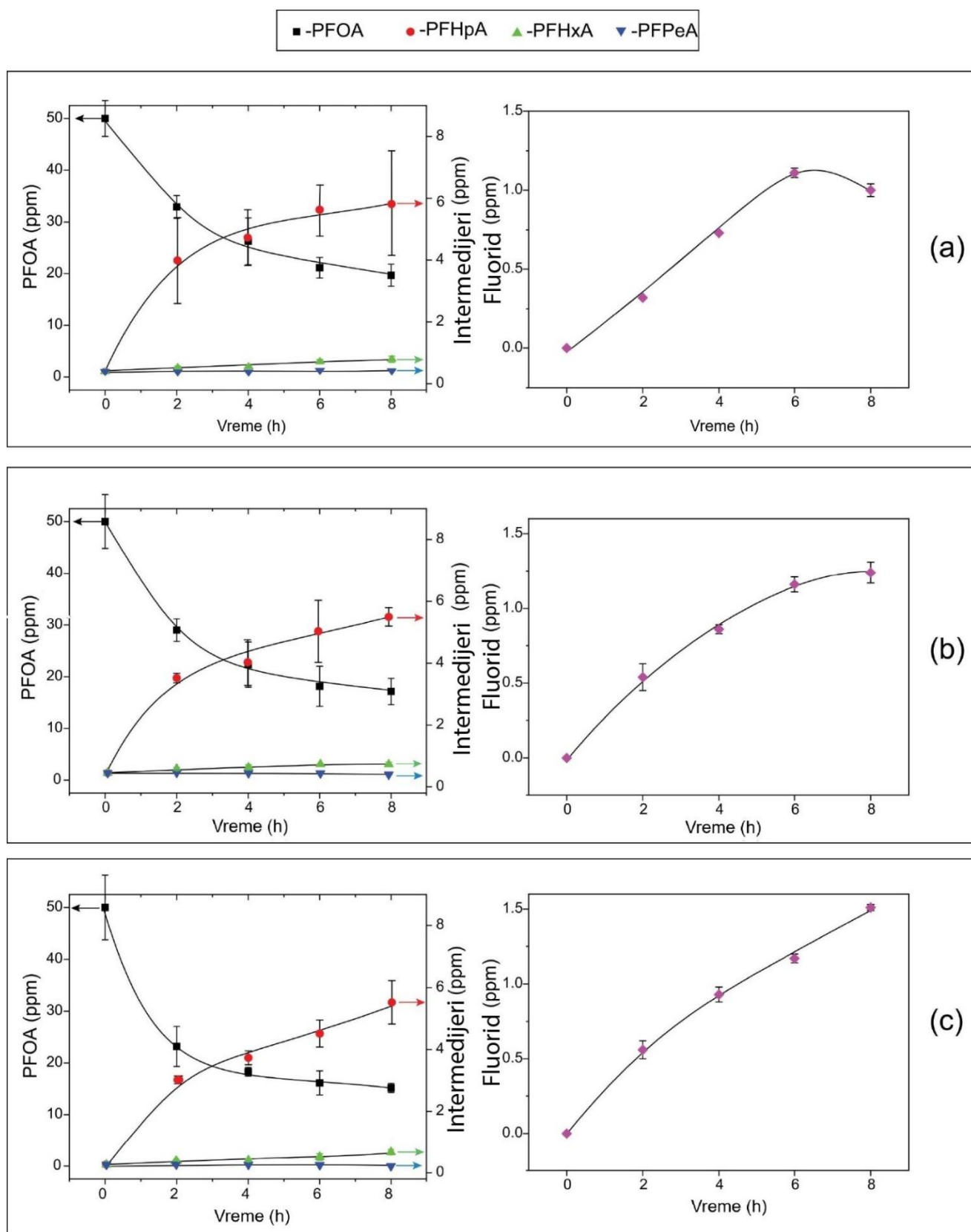
takvi sistemi imaju značajna ograničenja za praktičnu i industrijsku primenu, uključujući agregaciju čestica, rasipanje svetlosti, otežano izdvajanje katalizatora iz reakcione smeše i rizik od sekundarnog zagađenja. Dodatni separacioni koraci, poput filtracije ili centrifugiranja, povećavaju troškove i mogu predstavljati opasnost po životnu sredinu ako se ne sprovedu adekvatno.

Kinetički parametri prikazani u Tabeli 11 jasno ukazuju na sledeći redosled fotokatalitičke aktivnosti: $\text{Ti/TiO}_2 < \text{Ti/TiO}_2\text{-rGO}(1) < \text{Ti/TiO}_2\text{-rGO}(10)$. Važno je napomenuti da visoka vrednost koeficijenta korelacije ($R^2 > 0,99$) potvrđuje opravdanost primenjenog modela pseudo-prvog reda. Prevlake TiO_2 dopirane rGO-om pokazale su veću fotoaktivnost u odnosu na čiste TiO_2 prevlake, što je u skladu sa rezultatima XRD, XPS i UV-Vis DRS analiza. XRD analiza je ukazala da visoko dispergovane rGO vrste formiraju hibridne rGO- TiO_2 strukture. Prisustvo Ti-O, Ti-O-C i P-O-Ti veza, kao i O-vakanci detektovanih XPS analizom, potvrđuje efikasnu hibridizaciju između TiO_2 i rGO, što dovodi do smanjenja energetskog procepa TiO_2 .

Takođe, hibridizacija TiO_2 sa rGO povećava generisanje e^-/h^+ parova i visoko reaktivnih $\bullet\text{OH}$ i $\text{O}_2^{\bullet-}$ radikala. Najbolje praktično rešenje za uklanjanje PFOA jeste njegova potpuna fotodegradacija do CO_2 , H_2O i slobodnih fluoridnih jona kao krajnjih proizvoda. Proizvodi degradacije PFOA na čistim TiO_2 i rGO-dopiranim TiO_2 prevlakama prikazani su na Slici 24. Koncentracije PFOA, intermedijarnih produkata njegove razgradnje i slobodnih fluoridnih jona, zajedno sa standardnom devijacijom merenja (σ), navedene su u Tabeli 12. Svako merenje koncentracije PFOA i njegovih produkata degradacije ponovljeno je četiri puta, a prikazane vrednosti predstavljaju srednje vrednosti.

Tabela 12. Koncentracije PFOA, međuprodukata, slobodnih jona fluora i standardna devijacija (σ) tokom degradacije PFOA.

Uzorak	Vreme (h)	PFOA (σ) (ppm)	PFHpA (σ) (ppm)	PFHxA (σ) (ppm)	PFPeA (σ) (ppm)	PFBA (σ) (ppm)	Fluoridi (σ) (ppm)
Ti/TiO ₂	0	50,00 (3,45)	<0,006	<0,006	<0,006	<0,006	<0,006
	2	32,90 (2,18)	4,75 (1,43)	0,20 (0,06)	0,016 (0,006)	<0,006	0,32 (0,003)
	4	26,25 (4,56)	5,51 (0,93)	0,26 (0,01)	0,032 (0,004)	<0,006	0,73 (0,005)
	6	21,15 (1,98)	6,42 (0,82)	0,41 (0,09)	0,036 (0,005)	<0,006	1,11 (0,030)
	8	19,70 (2,13)	6,58 (1,71)	0,53 (0,13)	0,034 (0,010)	<0,006	1,00 (0,040)
Ti/TiO ₂ -rGO(1)	0	50,00 (5,22)	<0,006	<0,006	<0,006	<0,006	<0,006
	2	29,00 (2,18)	3,16 (0,16)	0,14 (0,05)	0,016 (0,002)	<0,006	0,54 (0,09)
	4	22,35 (4,37)	3,65 (0,75)	0,22 (0,08)	0,029 (0,002)	<0,006	0,86 (0,03)
	6	18,15 (3,87)	4,71 (1,03)	0,33 (0,02)	0,031 (0,007)	<0,006	1,16 (0,05)
	8	17,15 (2,54)	5,29 (0,31)	0,38 (0,08)	0,042 (0,004)	<0,006	1,24 (0,07)
Ti/TiO ₂ -rGO(10)	0	50,00 (6,25)	<0,006	<0,006	<0,006	<0,006	<0,006
	2	23,20 (3,87)	2,83 (0,13)	0,12 (0,03)	<0,006	<0,006	0,56 (0,06)
	4	18,30 (0,84)	3,62 (0,23)	0,15 (0,05)	<0,006	<0,006	0,93 (0,05)
	6	16,15 (2,34)	4,37 (0,45)	0,27 (0,11)	<0,006	<0,006	1,17 (0,03)
	8	15,15 (0,87)	5,41 (0,72)	0,47 (0,09)	<0,006	<0,006	1,51 (0,02)



Slika 24. Koncentracije PFOA, kao i produkata degradacije PFOA nastalih tokom fotokatalitičke reakcije na uzorcima (a) Ti/TiO₂, (b) Ti/TiO₂-rGO(1) i (c) Ti/TiO₂-rGO(10).

Pored krajnjih proizvoda potpune degradacije PFOA (CO_2 , H_2O i slobodnih fluoridnih jona), najznačajniji proizvodi razgradnje su različita kratkolančana perfluorovana jedinjenja (Hori *et al.*, 2005). Glavni kratkolančani produkti bili su PFHpA, PFHxA i PFPeA (Yuan *et al.*, 2020). Najvažniji početni intermedijer koji nastaje tokom fotohemijske razgradnje PFOA jeste PFHpA (Zhu *et al.*, 2024), koja je detektovana kod sva tri korišćena fotokatalizatora, a njena koncentracija značajno raste sa produženjem vremena reakcije (Slika 24). Nakon 8 h fotokatalitičkog ispitivanja, koncentracije PFHpA iznosile su 6,58, 6,29 i 6,41 ppm za Ti/TiO_2 , $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(1)}$ i $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(10)}$, redom. To ukazuje da je brzina formiranja PFHpA slična kod sva tri fotokatalizatora, uprkos razlikama u stepenu konverzije PFOA.

Istovremeno, koncentracija nusproizvoda PFHxA postepeno raste tokom vremena, ali je taj porast za red veličine manji u odnosu na porast koncentracije intermedijera PFHpA. Nakon 8 h degradacije PFOA, koncentracije PFHxA iznosile su 0,53, 0,43 i 0,48 ppm za Ti/TiO_2 , $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(1)}$ i $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(10)}$, redom.

Nusproizvod PFPeA detektovan je samo kod uzoraka Ti/TiO_2 i $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(1)}$. Nakon 8 h fotoreakcije, koncentracija intermedijera PFPeA iznosila je 0,035 ppm za Ti/TiO_2 i 0,043 ppm za $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(1)}$. Ove koncentracije su veoma niske i gotovo na granici kvantifikacije LC-MS/MS metode. Koncentracije nusproizvoda PFBA bile su ispod granice detekcije u svim ispitivanim uzorcima.

Prvi razlog odsustva PFPeA i PFBA u degradaciji PFOA na $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(10)}$ jeste njihovo prisustvo u koncentracijama ispod granice kvantifikacije. Drugi razlog može biti brža dalja razgradnja ovih intermedijera, s obzirom na to da je $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(10)}$ najaktivniji fotokatalizator, što dovodi do njihove konverzije u krajnje proizvode potpune degradacije - CO_2 , H_2O i slobodne fluoridne jone.

Tokom skraćivanja alkilnog lanca dolazi do postepene defluorinacije PFOA, što rezultuje formiranjem slobodnih fluoridnih jona. Slika 24 jasno pokazuje postepeni porast koncentracije fluorida paralelno sa razgradnjom PFOA, što potvrđuje da je defluorinacija posledica fotokatalitičkog procesa. Koncentracije fluoridnih jona slične su za sve uzorke i gotovo linearno rastu do 6 h. Međutim, kada uzmemo u obzir da je početna koncentracija PFOA iznosila 50 ppm, dobijeni rezultati ukazuju da se na svakih 1000 molekula PFOA oslobađaju približno šest atoma fluora u obliku fluoridnih jona. Ovi podaci potvrđuju da tokom procesa dolazi do defluorinacije, ali da je pomoću jonski selektivne elektrode za fluorid detektovan samo manji deo oslobođenih fluoridnih jona.

Kod fotokatalizatora Ti/TiO_2 stopa defluorinacije dostiže maksimum nakon 6 h zračenja, a zatim se blago smanjuje nakon 8 h. Kod uzorka $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(1)}$ usporavanje stope defluorinacije nakon 8 h manje je izraženo nego kod čistog Ti/TiO_2 . U prisustvu $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(10)}$ stopa defluorinacije raste gotovo linearno tokom celog perioda razgradnje PFOA. Ovaj rezultat je u skladu sa redosledom fotoaktivnosti: $\text{Ti/TiO}_2 < \text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(1)} < \text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(10)}$.

S obzirom na to da je C–F veza izuzetno jaka, razgradnja PFOA lanca je otežana i povezana sa defluorovanim grupama. Tokom defluorinacije PFOA i njegovih intermedijera, C–C veze postaju dostupne napadu reaktivnih radikala, što može dovesti do njihovog raskidanja i daljeg skraćivanja PFOA lanca.

Radi boljeg razumevanja mehanizma degradacije PFOA, sprovedeno je dodatno ispitivanje uz primenu „hvatača“ (eng. scavenger) slobodnih radikala, odnosno hemikalijama koje reaguju sa radikalima i deaktiviraju određene reaktivne vrste. Kod svih uzoraka, merenja degradacije PFOA ponovljena su u prisustvu hvatača: oksalne kiseline, tert-butanola, *p*-benzohinona i kalijum-persulfata, koji su odabrani za hvatanje H^+ , $\text{OH}^\bullet$, $\text{O}_2^\bullet$ i e^- , redom. Koncentracije hvatača podešene su na 1×10^{-4} M, a rezultati su prikazani u Tabeli 13.

Tabela 13. Fotodegradacija PFOA tokom 8 h izlaganja svetlu u prisustvu različitih hvatača slobodnih radikala.

Uzorak	Hvatač slobodnih radikala	Fotokatalitička degradacija PFOA (%)	Smanjenje degradacije PFOA (%)
Ti/TiO ₂	bez hvatača-skupljača	61	0
	oksalna kiselina (H ⁺)	51	16
	<i>tert</i> -butanol (OH [•])	47	23
	<i>p</i> -benzohinon (O ₂ ^{•-})	44	28
	kalijum-persulfat (e ⁻)	53	13
Ti/TiO ₂ -rGO(1)	bez hvatača-skupljača	66	0
	oksalna kiselina (H ⁺)	38	42
	<i>tert</i> -butanol (OH [•])	24	64
	<i>p</i> -benzohinon (O ₂ ^{•-})	32	52
	kalijum-persulfat (e ⁻)	39	41
Ti/TiO ₂ -rGO(10)	bez hvatača-skupljača	70	0
	oksalna kiselina (H ⁺)	39	44
	<i>tert</i> -butanol (OH [•])	23	67
	<i>p</i> -benzohinon (O ₂ ^{•-})	33	53
	kalijum-persulfat (e ⁻)	35	50

Kod uzorka Ti/TiO₂ uočava se umereno smanjenje degradacije PFOA nakon dodavanja hvatača slobodnih radikala. Ovi rezultati pokazuju da su sve radicalske vrste uključene u proces razgradnje PFOA, ali je produkcija radikala ograničena, pri čemu O₂^{•-} pokazuje nešto izraženiju aktivnost.

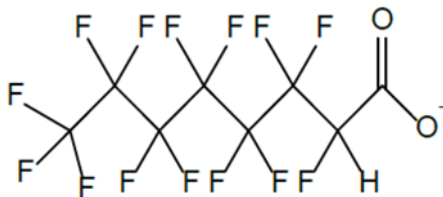
Kod oba TiO₂-rGO uzorka primećuje se značajno smanjenje degradacije PFOA u prisustvu hvatača slobodnih radikala. Na osnovu relativno velikog smanjenja stepena degradacije u prisustvu *tert*-butanola kod oba TiO₂-rGO fotokatalizatora, može se zaključiti da je OH[•] dominantna reaktivna vrsta u degradaciji PFOA, dok H⁺, O₂^{•-} i e⁻ imaju sekundarnu ulogu.

Dodatno, veći uticaj hvatača slobodnih radikala na procenat smanjenja degradacije PFOA kod Ti/TiO₂-rGO(10) u poređenju sa Ti/TiO₂-rGO(1) ukazuje na to da se u sistemu Ti/TiO₂-rGO(10) generiše veća količina reaktivnih radikala nego u Ti/TiO₂-rGO(1).

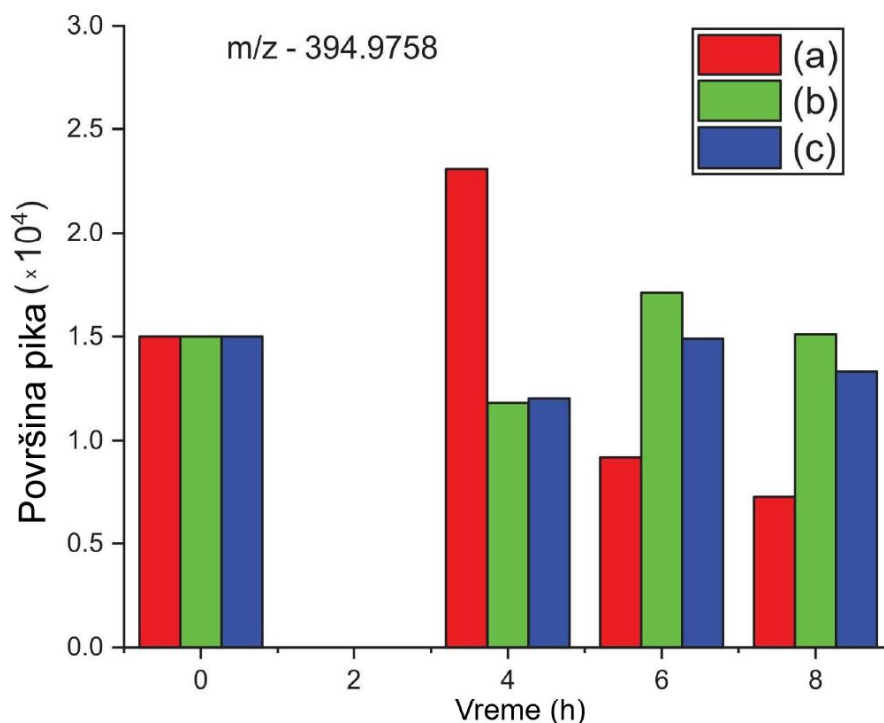
4.2.3. Non target LC-MS/MS analiza produkata degradacije PFOA

Non-target LC-MS/MS analiza produkata degradacije PFOA kod svih uzoraka detektovala je alkilnu komponentu koja ne pripada tipičnim kratkolančanim produktima razgradnje PFOA. Kod svih fotokatalizatora registrovan je signal pri približno m/z 395 u uzorcima produkata degradacije. Detaljna analiza moguće strukture ovog molekula ukazala je na dobro slaganje sa jedinjenjem formule $C_8HF_{14}O_2$ (Tabela 14). Izračunata vrednost monoizotpske mase jona hemijske formule (dobijenog snimanjem u negativnom modu) $C_8HF_{14}O_2^-$ ima vrednosti m/z 394,9758. (prema softveru ChemBioDraw Ultra, verzija 14.0.0.117, CambridgeSoft Corporation).

Tabela 14. Karakteristike i moguća hemijska formula „jedinjenja A“.

Karakteristike	„jedinjenje A“
Struktura	
Hemijska formula	$C_8HF_{14}O_2^-$
Tačna masa	394,9758
Molekulska težina	395,0722
m/z	394,9758 (100%) 395,9792 (8,7%)
Elementalni sastav	C, 24,32 H, 0,26 F, 67,32 O, 8,10

Da bi se potvrdilo poreklo „jedinjenja A“, praćen je intenzitet ove m/z komponente u početnom rastvoru PFOA, kao i tokom fotokatalitičke reakcije. Kod uzorka Ti/TiO₂, intenzitet detektovanog signala „jedinjenja A“ u početnom rastvoru PFOA bio je manji u poređenju sa signalom nakon 4 h fotokatalitičkog testa. Međutim, kod Ti/TiO₂ uzorka signal m/z 395 opada sa produženjem vremena reakcije i porastom koncentracije kratkolančanih nusproizvoda u reakcionom rastvoru. Kod oba rGO-dopirana TiO₂ uzorka, signal m/z 395 menja se neravnomerno tokom vremena (Slika 25).



Slika 25. Intenzitet „jedinjenja A“ tokom fotokatalitičke degradacije pomoću: (a) Ti/TiO₂, (b) Ti/TiO₂-rGO(1) i (c) Ti/TiO₂-rGO(10).

Pri analizi signala m/z 395, relativna zastupljenost „jedinjenja A“ bila je u opsegu pozadinskog šuma, te je teško sa sigurnošću potvrditi da li je ovo jedinjenje produkt fotokatalitičke degradacije ili potiče od nečistoća PFOA hemikalije. S obzirom na to da koncentracije homolognih jedinjenja kraćeg lanca rastu tokom vremena, komponenta C₈HF₁₄O₂ verovatno predstavlja kontaminant PFOA. Ipak, interesantno je da se koncentracija „jedinjenja A“ menja tokom vremena.

Kod uzorka Ti/TiO₂ koncentracija ove supstance najpre raste, a zatim opada, što ukazuje da se jedinjenje istovremeno formira i potom razgrađuje. Kod uzoraka Ti/TiO₂-rGO(1) i Ti/TiO₂-rGO(10) trend je drugačiji. Ove razlike u promenama koncentracije između uzoraka ukazuju na postojanje dinamičkih procesa, koji mogu uključivati različite puteve formiranja ili razgradnje, kao i različite uslove sredine za svaki uzorak. Ova složenost zahteva dodatna istraživanja radi potpunog razumevanja mehanizama koji utiču na ove promene.

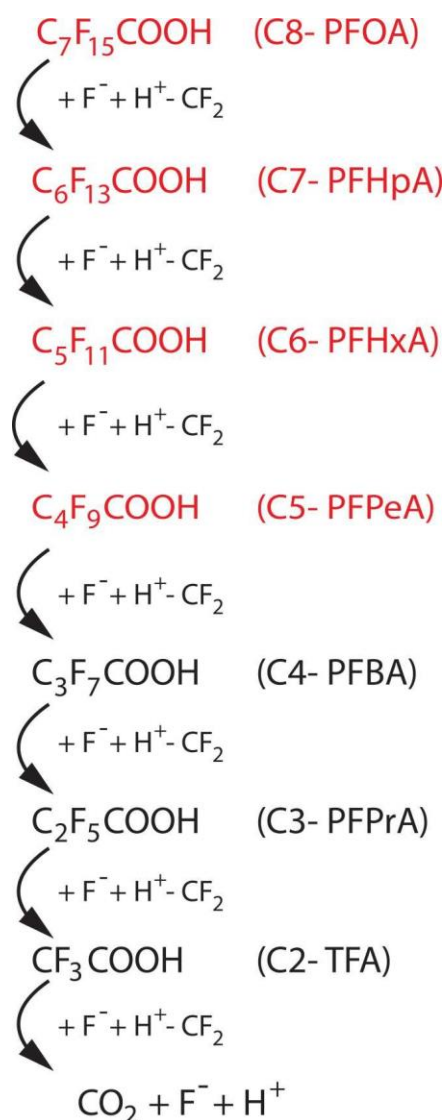
Detekcija jedinjenja sa m/z 395 primenom ESI tehnike otvara važna pitanja u vezi sa intermedijerima u procesu degradacije. Uprkos detekciji ove specifične mase, postoji značajna mogućnost da drugi intermedijeri ostaju nedetektovani zbog svoje prolazne prirode ili niskih koncentracija. Posebno je izražen problem detekcije kod homolognih jedinjenja kraćih lanaca (kraćih od PFBA), koja su gotovo nemerljiva. Ovo ne mora nužno ukazivati na bržu razgradnju, već može značiti da se samo mali deo tih intermedijera direktno konvertuje u karboksilne kiseline u vodenim uslovima.

Stoga je razvoj osetljivijih analitičkih metoda od ključnog značaja za detekciju ovih teško uočljivih intermedijera. Takve metode bi doprinele boljem razumevanju puteva degradacije i stabilnosti intermedijarnih jedinjenja, što bi potencijalno omogućilo razvoj efikasnijih strategija za remedijaciju životne sredine.

4.2.4. Mehanizam degradacije PFOA

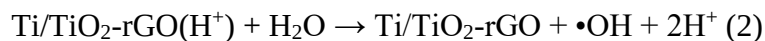
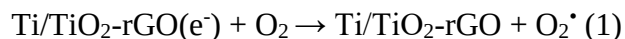
Na osnovu nedvosmisleno detektovanih produkata fotodegradacije PFOA, verovatni mehanizam ove reakcije odvija se putem formiranja intermedijera sa kraćim ugljeničnim lancima (Ali *et al.*, 2024). Na Slici 26 šematski su prikazani mogući koraci mehanizma fotokatalitičke degradacije PFOA kroz formiranje i naknadnu razgradnju kraćelanih nusproizvoda do krajnjih produkata potpune mineralizacije, kao što su CO₂, H₂O i slobodni fluoridni joni (Ali *et al.*, 2024).

U svakom narednom koraku degradacije prethodnog alkilnog intermedijera eliminiše se po jedna CF₂ grupa. Intermedijeri kao što su PFHpA, PFHxA i PFPeA jasno su detektovani i nesumnjivo pripadaju stepenujućem (stepwise) mehanizmu reakcije prikazanom na Slici 26. Intermedijeri sa dužinom lanca manjom od 5 C atoma (PFBA- Perfluorobutanoinska kiselina, PFPrA- Perfluoropropionska kiselina i TFA- Trifluorosirćetna kiselina) nisu detektovani, najverovatnije zbog njihovih niskih koncentracija.



Slika 26. Mehanizam stepene fotodegradacije PFOA (homolozi detektovani LC-MS/MS označeni su crvenom bojom) (Ali *et al.*, 2024).

Ukupni mehanizam fotokatalitičke degradacije PFOA složeniji je od prikazanog mehanizma postepenog skraćivanja lanca na Slici 26. Fotolitički test pokazuje da je prisustvo svetlosti, kao nematerijalnog reagensa, ključan korak u formiranju reaktivnih kiseoničnih radikala. Prvi korak ukupnog mehanizma degradacije PFOA šematski je predstavljen jednačinama (1) i (2):



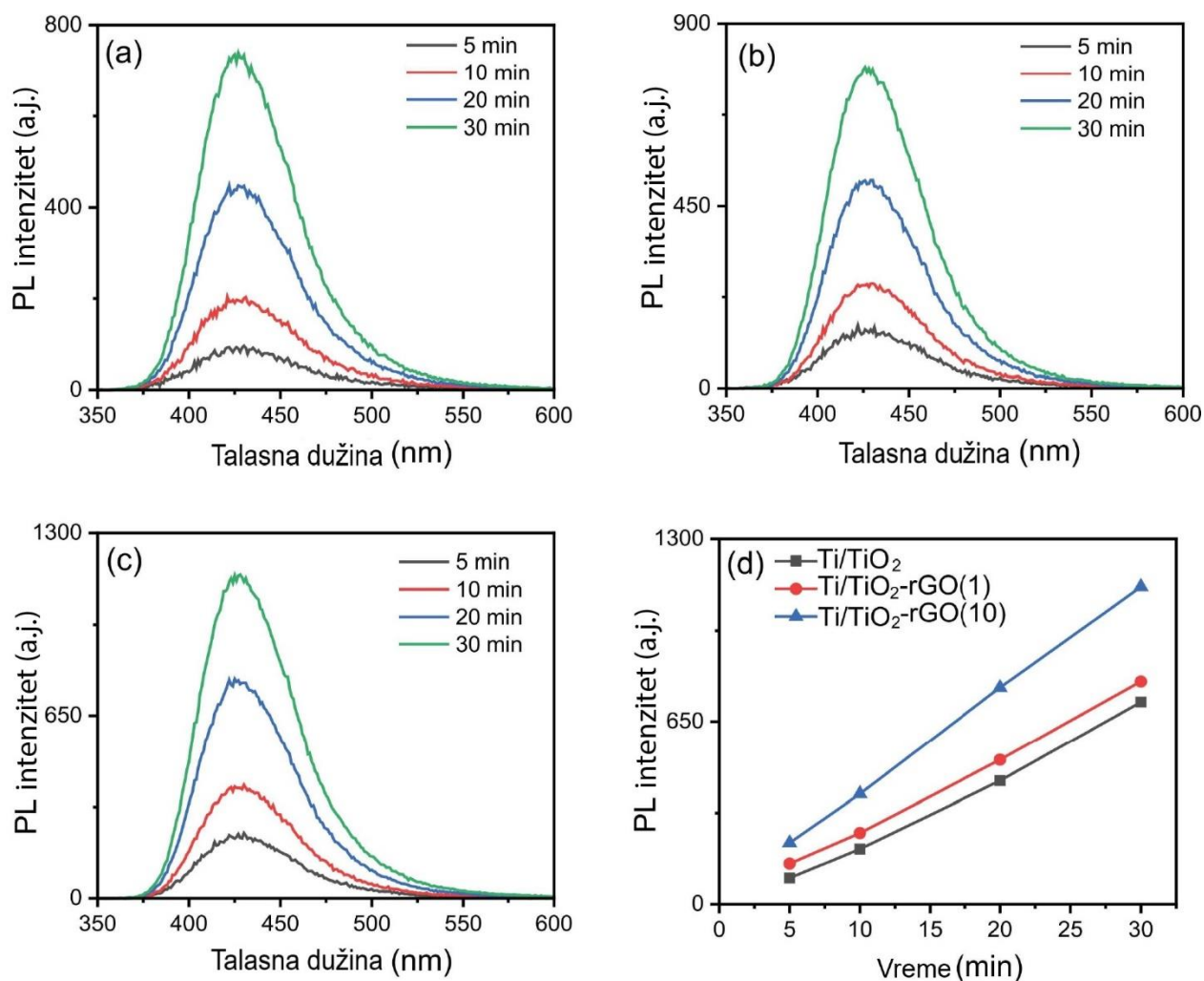
Kada se čista TiO_2 mesta ozrače, dolazi do stvaranja nosilaca naelektrisanja: fotoni pobuđuju elektrone (e^-) iz valentne trake u provodnu traku, dok se istovremeno u valentnoj traci formiraju šupljine (h^+).

Kod rGO-dopiranih TiO_2 prevlaka, provodna traka rGO nalazi se na nešto nižem energetsom nivou u odnosu na provodnu traku TiO_2 . Zbog toga, pri osvetljavanju $\text{TiO}_2\text{-rGO}$ sistema, generisani elektroni se pojavljuju u provodnim trakama i rGO i TiO_2 , dok h^+ ostaju u valentnim trakama (Estrella-Pajulas and Gamala, 2024).

Nakon toga, foto-generisani elektroni iz provodne trake TiO_2 prelaze u provodnu traku rGO. Na taj način nastaju e^-/H^+ parovi koji deluju kao oksidaciono-redukcioni medijum za formiranje radikala $\text{O}_2^{\bullet}$ i $\bullet\text{OH}$. Ovi radikali su jaki oksidacioni agensi i reaguju sa različitim organskim supstancama (Iyyappan *et al.*, 2024).

Broj foto-generisanih e^-/H^+ parova i njihovo vreme života u razdvojenom stanju određuju koncentraciju $\text{O}_2^{\bullet}$ i $\bullet\text{OH}$ radikala u reakcionom rastvoru.

Među ovim vrstama, $\bullet\text{OH}$ radikal ima dominantnu ulogu u degradaciji organskih zagađivača. U fotoluminiscentnim ispitivanjima, korišćenjem tereftalne kiseline, praćeno je formiranje $\bullet\text{OH}$ radikala na osvetljenim uzorcima Ti/TiO_2 , $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(1)}$ i $\text{Ti/TiO}_2\text{-rGO(10)}$ (Slika 27).



Slika 27. Fotoluminiscentni spektri rastvora tereftalne kiseline pod osvetljenjem u vremenskim intervalima od 5, 10, 20 i 30 minuta za uzorke: a) Ti/TiO₂, b) Ti/TiO₂-rGO(1) i c) Ti/TiO₂-rGO(10); d) dijagram intenziteta PL u funkciji vremena.

Kada tereftalna kiselina reaguje sa $\bullet\text{OH}$ radikalom, nastaje 2-hidroksitereftalna kiselina, koja fluorescencira na 315 nm i intenzivan fluorescentni maksimum na 425 nm. Intenzitet fluorescentnog signala direktno je proporcionalan količini formiranih $\bullet\text{OH}$ radikala.

Kod svih prevlaka fluorescentni intenzitet raste sa produženjem vremena osvetljavanja. Redosled intenziteta bio je: $\text{Ti/TiO}_2 < \text{Ti/TiO}_2\text{-rGO}(1) < \text{Ti/TiO}_2\text{-rGO}(10)$, što je u saglasnosti sa redosledom degradacije PFOA prikazanim na Slici 23.

Ovakvo ponašanje je očekivano jer su provodna i valentna traka TiO₂ manje anodne u poređenju sa odgovarajućim trakama rGO, pa se foto-generisane šupljine (H^+) premeštaju iz valentne trake rGO u valentnu traku TiO₂. Istovremeno, H^+ reaguje sa H₂O pri čemu nastaje visoko reaktivan $\bullet\text{OH}$ radikal u valentnoj traci TiO₂. Količina $\bullet\text{OH}$ radikala proporcionalna je količini H^+ (jednačina 2), kao i količini e^- i $\text{O}_2^{\bullet-}$ vrsta (jednačina 1).

Dobro je poznato da degradacija PFOA na TiO₂-rGO sistemima putem slobodnih radikala uključuje fotoaktivaciju TiO₂, efikasnu separaciju i transfer naelektrisanja uz pomoć rGO, generisanje visoko reaktivnih $\bullet\text{OH}$ i $\text{O}_2^{\bullet-}$ radikala, kao i naknadnu razgradnju molekula PFOA putem dekarboksilacije,

skraćivanja lanca i defluorinacije. Adsorpcija PFOA na površini čistih TiO_2 ili rGO-dopiranih TiO_2 prevlaka odvija se istovremeno sa formiranjem reaktivnih kiseoničnih vrsta. U ukupnom reakcionom mehanizmu, adsorpcija PFOA može se smatrati početkom drugog elementarnog koraka (Slika 26).

4.2.5. Adsorpcija PFOA na površini prevlaka

Proces adsorpcije predstavlja jedan od najvažnijih faktora za efikasnu degradaciju PFOA. Adsorbovani molekuli PFOA prenose naelektrisanje na prevlake, čime se destabilizuje elektronska struktura PFOA lanca i povećava njegova sposobnost interakcije sa reaktivnim radikalima (Hu, Li and Yu, 2025). Tek nakon toga degradacija PFOA teče prema mehanizmu prikazanom na Slici 26. Međutim, adsorpcioni test je pokazao da nema značajne adsorpcije PFOA na prevlakama, što ukazuje da se PFOA u realnim eksperimentalnim uslovima samo slabo i reverzibilno adsorbuje na prevlakama.

4.2.6. Kinetički faktori

Uopšteno, ukupna brzina reakcije određena je najsporijim korakom. Ograničavajući korak fotokatalitičke degradacije PFOA može biti formiranje reaktivnih radikala (O_2^- , $\bullet\text{OH}$ i H^+) ili adsorpcija PFOA i transport elektrona između površine i adsorbovanih molekula PFOA. Formiranje fotoindukovanih radikala je brza reakcija, znatno brža od reakcija u mehanizmu postepenog skraćivanja lanca PFOA. Takođe, reakcije $\bullet\text{OH}$ i O_2^- radikala sa adsorbovanim PFOA molekulima odvijaju se brže nego sama adsorpcija PFOA, što ukazuje da je adsorpcija PFOA verovatno određujući korak za brzinu ukupne fotokatalitičke reakcije.

Uočeno je da rGO-dopirane TiO_2 prevlake pokazuju veću aktivnost u poređenju sa čistim TiO_2 prevlakama. Kao što je prikazano u Tabeli 11, sinergijski efekat kombinacije TiO_2 i rGO doveo je do kinetičkih konstanti za $\text{Ti}/\text{TiO}_2\text{-rGO}(1)$ i $\text{Ti}/\text{TiO}_2\text{-rGO}(10)$ koje su bile redom 35% i 65% veće u odnosu na kinetičku konstantu za Ti/TiO_2 .

Sinergijski efekat posledica je više faktora, kao što su formiranje kiseoničnih vakanci i lokalizovanih energetske stanja, poboljšana separacija naelektrisanja i smanjena rekombinacija, povećana specifična površina i poboljšana adsorpcija PFOA, unapređen transfer naelektrisanja ka adsorbovanim molekulima, kao i optimizacija odnosa aktivnih centara (Hamandi *et al.*, 2017).

XPS analiza potvrdila je prisustvo dodatnih kiseoničnih vakanci u rGO-dopiranim TiO_2 uzorcima, dok su DRS merenja pokazala proširenu sposobnost optičke apsorpcije. Povećanje broja kiseoničnih vakanci dovodi do formiranja lokalizovanih stanja koja pospešuju separaciju naelektrisanja i obezbeđuju aktivna mesta za adsorpciju PFOA. Ove funkcije kiseoničnih vakanci doprinose efikasnoj degradaciji molekula PFOA.

Uloga kiseoničnih vakanci u transferu naelektrisanja je kompleksna, one mogu zarobljavati elektrone, smanjivati rekombinaciju i produžavati vreme života i pokretljivost e^-/H^+ parova. Pored toga, nezasićeni metalni joni u blizini kiseoničnih vakanci mogu snažno adsorbovati reaktante, ubrzavajući njihovu reakciju sa nosiocima naelektrisanja. Elektroni zarobljeni na kiseoničnim vakancama mogu lako reagovati sa H_2O , što dovodi do formiranja dodatnih reaktivnih vrsta (Stojadinović, Radić & Vasilčić, 2023).

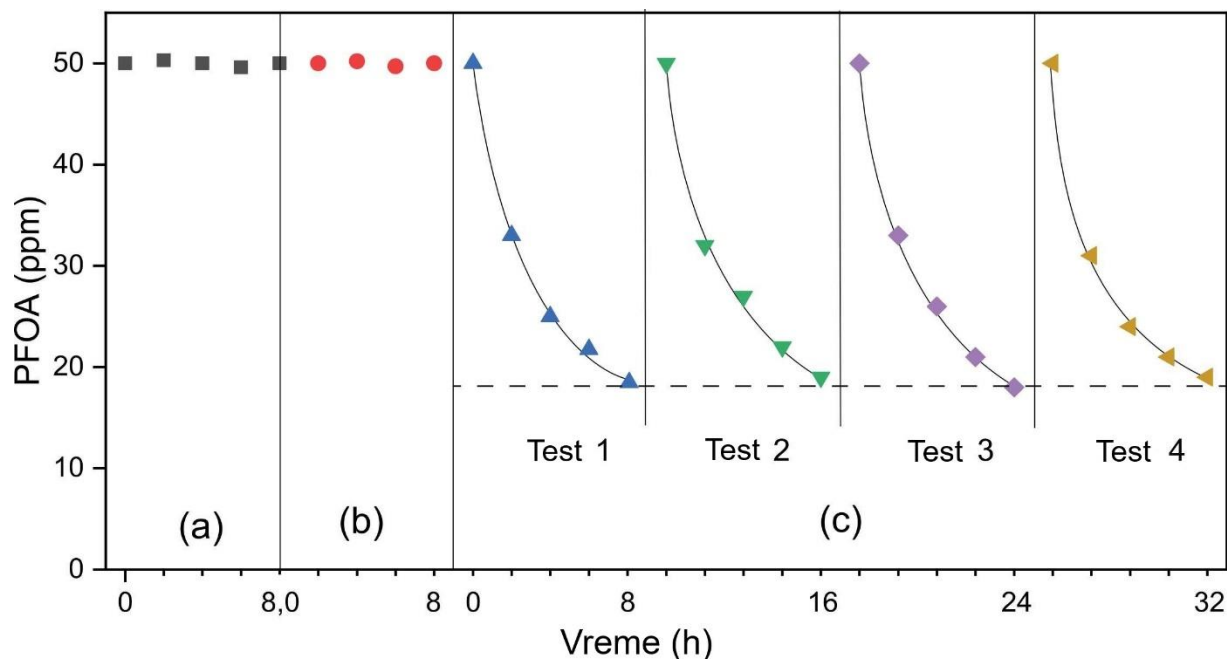
Efekat dodatka rGO u rGO-dopiranim TiO_2 prevlakama ogleda se u povećanju broja aktivnih mesta dostupnih za adsorpciju PFOA, što dovodi do veće akumulacije e^-/H^+ parova u poređenju sa čistim TiO_2 . Čak i višak rGO koji nije u neposrednom kontaktu sa TiO_2 može obezbediti dodatna mesta za adsorpciju PFOA, čime se poboljšava efikasnost degradacije. Povećanje sadržaja rGO u prevlakama verovatno

povećava broj mesta dostupnih za adsorpciju PFOA, što rezultuje boljom degradacionom aktivnošću. Shodno tome, prevlaka Ti/TiO₂-rGO(10) pokazuje veću efikasnost u odnosu na Ti/TiO₂-rGO(1).

Pošto sve prevlake generišu dovoljnu količinu fotogenerisanih reaktanata (O₂⁻, •OH i H⁺) za degradaciju PFOA, reaktivnost PFOA treba da bude odlučujući kinetički faktor. Reaktivnost PFOA određuje se prenosom elektrona sa njegovih molekula na elektrofilne O⁻ vrste na površini. rGO-dopirane TiO₂ prevlake mogu sadržati različite aktivne centre, blisko povezani rGO-TiO₂, pojedinačne TiO₂ čestice i pojedinačne rGO čestice. Količina rGO utiče na odnos svakog tipa aktivnog centra na površini. Svaka vrsta ovih aktivnih centara može adsorbovati PFOA i blago destabilizovati njegov molekul energetski („aktivirani PFOA“). Povećanje sadržaja rGO u rGO-dopiranoj TiO₂ prevlaci poboljšava reaktivnost PFOA, što ukazuje da se istovremeno povećava broj mesta za adsorpciju PFOA.

4.2.7. Stabilnost prevlaka

Mehanička i hemijska stabilnost rGO-dopiranih TiO₂ prevlaka, koja određuje vek trajanja i operativne troškove katalizatora, važan je faktor za njegovu primenu. Na Slici 28 prikazan je test reciklaže fotodegradacije PFOA, test fotostabilnosti PFOA pod UV-Vis svetlom i test adsorpcije PFOA na Ti/TiO₂-rGO(10) u mraku.



Slika 28. Test fotostabilnosti PFOA pod UV-Vis svetlom (a), test adsorpcije PFOA na Ti/TiO₂-rGO(10) u mraku (b), test reciklaže fotodegradacije PFOA na Ti/TiO₂-rGO(10) (c).

Koncentracija PFOA se nije promenila tokom testa fotostabilnosti (Slika 28(a)), što je u skladu sa njegovom stabilnom hemijskom strukturom. Testovi adsorpcije PFOA na Ti/TiO₂-rGO(10) pokazali su da koncentracija PFOA ostaje ista nakon 8 h u mraku, što ukazuje da je prisustvo svetla neophodno za degradaciju PFOA na uzorku Ti/TiO₂-rGO(10) (Slika 28(b)). Međutim, niska adsorpcija PFOA se ne može zanemariti. Verovatno je adsorpcija PFOA na površini Ti/TiO₂-rGO(10) prevlake slaba ili reverzibilna zbog hemijske prirode aktivnih mesta.

Test reciklaže pokazuje konverziju degradacije PFOA kroz četiri uzastopna ciklusa sa najaktivnijom prevlakom, Ti/TiO₂-rGO(10). Nakon svakog ciklusa, uzorak je ispran vodom, osušen na vazduhu i

ponovo korišćen za sledeći katalitički ciklus. Slika 28(c) jasno pokazuje da se fotokatalitička aktivnost nije smanjila ni nakon svakog sledećeg ciklusa. Ti/TiO₂-rGO(10) prevlaka pokazuje izuzetnu hemijsku i mehaničku stabilnost, što ukazuje da su rGO-dopirane TiO₂ prevlake pripremljene PEO metodom na Ti podlogama izdržljive i efikasni fotokatalizatori.

Pošto sve prevlake imaju gotovo istu teksturu površine i faznu strukturu, broj i priroda centara za adsorpciju PFOA određuju ukupnu fotoaktivnost. Ovi rezultati takođe potvrđuju odgovarajuće izlaganje aktivnih centara na imobilizovanim rGO-dopiranim TiO₂ prevlakama i opravdavaju njihovu primenu za fotodegradaciju PFOA.

4.2.8. Ekotoksičnost produkata degradacije PFOA

Za potrebe praktične primene neophodno je proceniti potencijalnu toksičnost tretiranih PFOA uzoraka. Test inhibicije bioluminiscencije bakterije *Aliivibrio fischeri* jedan je od najčešće korišćenih testova za procenu toksičnosti raznih zagađivača zbog svoje jednostavnosti, brzine i osetljivosti, što ga čini naročito pogodnim za preliminarnu procenu toksičnosti produkata degradacije korišćenjem različitih tehnika sanacije (Spyrou, Vlastos and Antonopoulou, 2024).

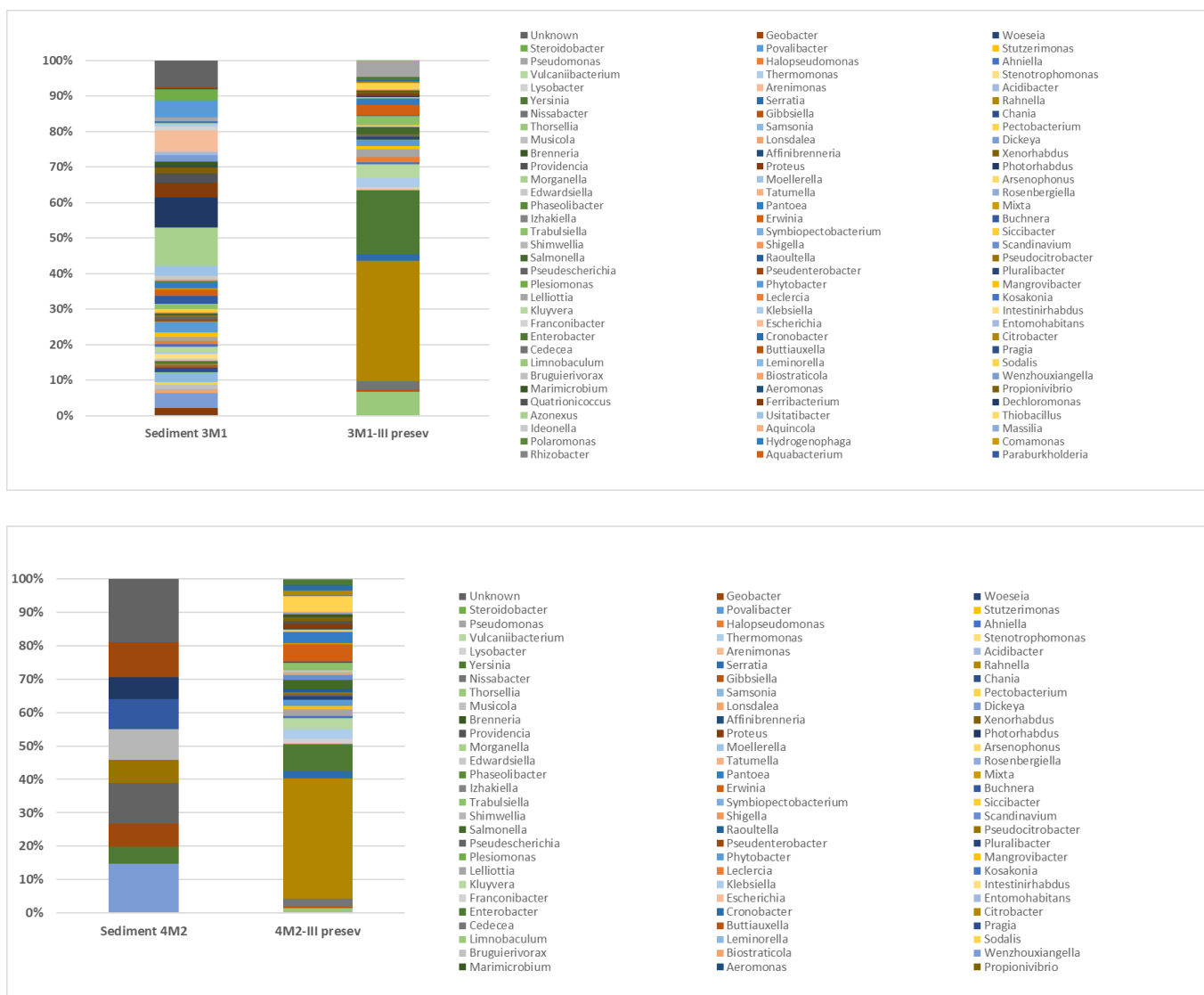
Na osnovu rezultata ovog testa, u svim slučajevima (za sve ispitivane fotokatalizatore) procenat inhibicije bioluminiscencije bio je veći na početku fotokatalitičke degradacije (nakon 2 h), u poređenju sa krajem (nakon 8 h). Za bolje poređenje rezultata, izračunate su EC₅₀ vrednosti (efektivna koncentracija PFOA koja izaziva 50% inhibicije bioluminiscencije) i iznosile su, $23,9 \pm 5,5$ mg/L za neobrađeni PFOA, $17,8 \pm 3,2$ mg/L, $11,9 \pm 2,9$ mg/L i $6,0 \pm 2,6$ mg/L za uzorke nakon 2 h fotokatalize korišćenjem Ti/TiO₂, Ti/TiO₂-rGO(1) i Ti/TiO₂-rGO(10), redom.

Nakon 8 h, netretirani PFOA uzorak imao je EC₅₀ vrednost od $19,1 \pm 2,9$ mg/L, dok je inhibicija bioluminiscencije u obrađenim uzorcima bila manja od 6%, što je onemogućilo izračunavanje EC₅₀ vrednosti. Rezultati pokazuju da nakon 2 h dolazi do blagog povećanja procentna inhibicije, što odgovara formiranju intermedijera sa kraćim lancem i slobodnih radikala; međutim, na kraju katalitičkog procesa nema više inhibitornog efekta. Toksičnost netretiranog PFOA uzorka nakon 8 h nije se promenila.

4.3. Biodegradacija PFOA

4.3.1. Izolovanje mikroorganizama tolerantnih na visoke koncentracije PFOA

Kako bi se izolovale čiste kulture tolerantne na PFOA, iz sedimenta kontaminiranog PFAS jedinjenjima vršena je postepena selekcija uz povećavanje koncentracije PFOA. Nakon trećeg ciklusa adaptacije dobijeni su mikrobni konzorcijumi koji su sposobni da rastu u uslovima visoke koncentracije PFOA (1000 ppm). Analiza bakterijske zajednice ovih konzorcijuma u poređenju sa originalnim uzorcima sedimenta prikazana je na Slici 29.



Slika 29. Analiza bakterijske zajednice u originalnim uzorcima sedimenta (3M1, 4M2) i u konzorcijumima dobijenim nakon obogaćivanja.

Konzorcijumi koji su se pokazali tolerantni na visoke koncentracije PFOA korišćeni su za izolaciju čistih sojeva sposobnih za rast na PFOA. Nakon višestrukih preseva na aerobnoj mineralnoj podlozi koja je sadržala 1000 ppm PFOA, identifikovano je ukupno 15 čistih sojeva, koji su uglavnom pripadali rodu *Pseudomonas* (Tabela 15.). Proces selekcije praćen je određivanjem broja mikroorganizama, pri čemu je u prvoj i drugoj seriji ukupan broj vijabilnih bakterija iznosio 10^7 CFU/mL, dok je u trećoj seriji smanjen na 10^4 CFU/mL. Svi identifikovani sojevi su deponovani u NCBI bazu podataka, sa pristupnim brojevima navedenim u Tabeli 15.

Tabela 15. Čiste kulture izolovane na aerobnoj mineralnoj podlozi.

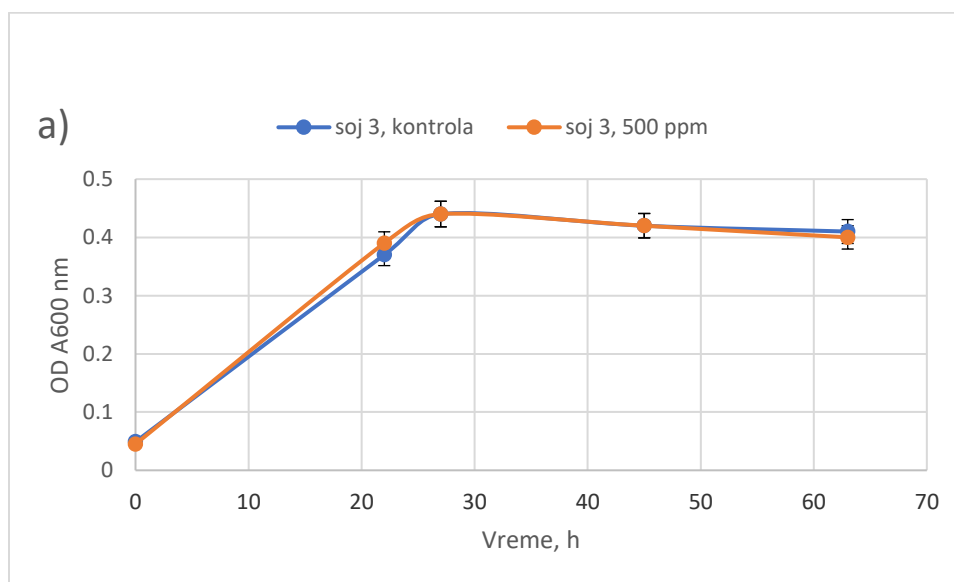
Lokacija uzorkovanja	Oznaka soja	Naziv	Pristupni broj	Hit (najboljeg podudarnog) ime taksona	Sličnost (%)
2	1	<i>Pusillimonas sp.</i> <i>strain PF-1</i>	OR742323.1	<i>Pusillimonas soli</i> (GQ241322)	100
3M-1	2	<i>Stenotrophomonas</i> <i>sp. strain PF-2</i>	OR742324.1	<i>Stenotrophomonas</i> <i>acidaminiphila</i> (LDJO01000053)	100
4M-2	3	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>strain PF-3</i>	OR742325.1	<i>Pseudomonas asiatica</i> (MH517510)	99,72
4M-2	4	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>strain PF-4</i>	OR742326.1	<i>Pseudomonas alloputida</i> (LT718459)	99,72
4M-2	5	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>strain PF-5</i>	OR742327.1	<i>Pseudomonas</i> <i>nitritireducens</i> (HM246143)	99,44
6	7	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>strain PF-7</i>	OR742328.1	<i>Pseudomonas putida</i> (AP013070)	99,5
1	12	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>strain PF-12</i>	OR742329.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (BAMA01000316)	99,79
4M-2	16	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>strain PF-16</i>	OR742330.1	<i>Pseudomonas</i> <i>chlororaphis subsp.</i> <i>aurantiaca</i> (CP027746)	99,58
5	17	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>strain PF-17</i>	OR742331.1	<i>Pseudomonas</i> <i>chlororaphis subsp.</i> <i>aureofaciens</i> (BBQB01000031)	99,93
6	19	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>strain PF-19</i>	OR742332.1	<i>Pseudomonas inefficax</i> (OPYN01000008)	99,86
3M-1	20	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>strain PF-20</i>	OR742333.1	<i>Pseudomonas</i> <i>nitritireducens</i> (HM246143)	99,79
4M-2	21	n/a	n/a	<i>Pseudomonas</i> <i>nitritireducens</i> (HM246143)	89,59
5	22	<i>Pseudomonas sp.</i> <i>strain PF-22</i>	OR742334.1	<i>Pseudomonas</i> <i>nitroreducens</i> (AM088474)	99,51

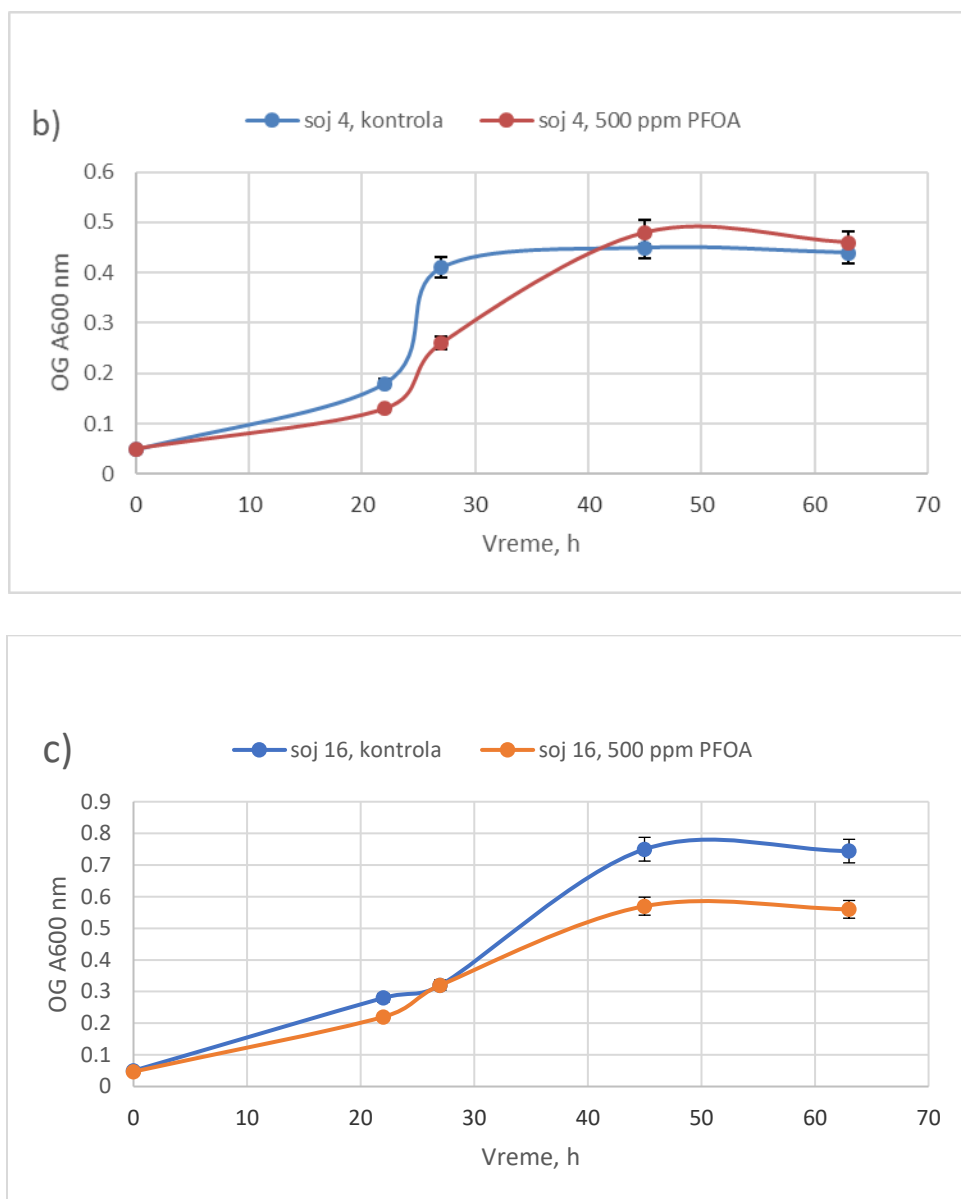
2	42	<i>Luteibacter sp.</i> strain PF-42	n/a	<i>Luteibacter rhizovicinus</i> (CP017480)	98,6
4M-2	48	<i>Sphingobium sp.</i> strain PF-49	n/a	<i>Sphingobium yanoikuyae</i> (JH992904)	99,49

4.3.3. Uticaj PFOA na aktivnost čistih sojeva

Na osnovu brzine rasta pri visokim koncentracijama PFOA, za detaljnije ispitivanje odabrani su sojevi sa oznakama 3, 4, 16 (Slika 30). Iako koncentracija PFOA primenjena u ovom istraživanju (500 ppm) prevazilazi nivoe koji se tipično detektuju u prirodnim vodenim sredinama, ona je reprezentativna za ekstremne scenarije zagađenja povezane sa industrijskim izvorima i sistemima upravljanja otpadom. Ova koncentracija je stoga odabrana kako bi se modelovao „najgori mogući“ scenario izlaganja i omogućila karakterizacija proteomskog odgovora mikroorganizama i adaptivnih mehanizama u uslovima intenzivnog PFAS stresa.

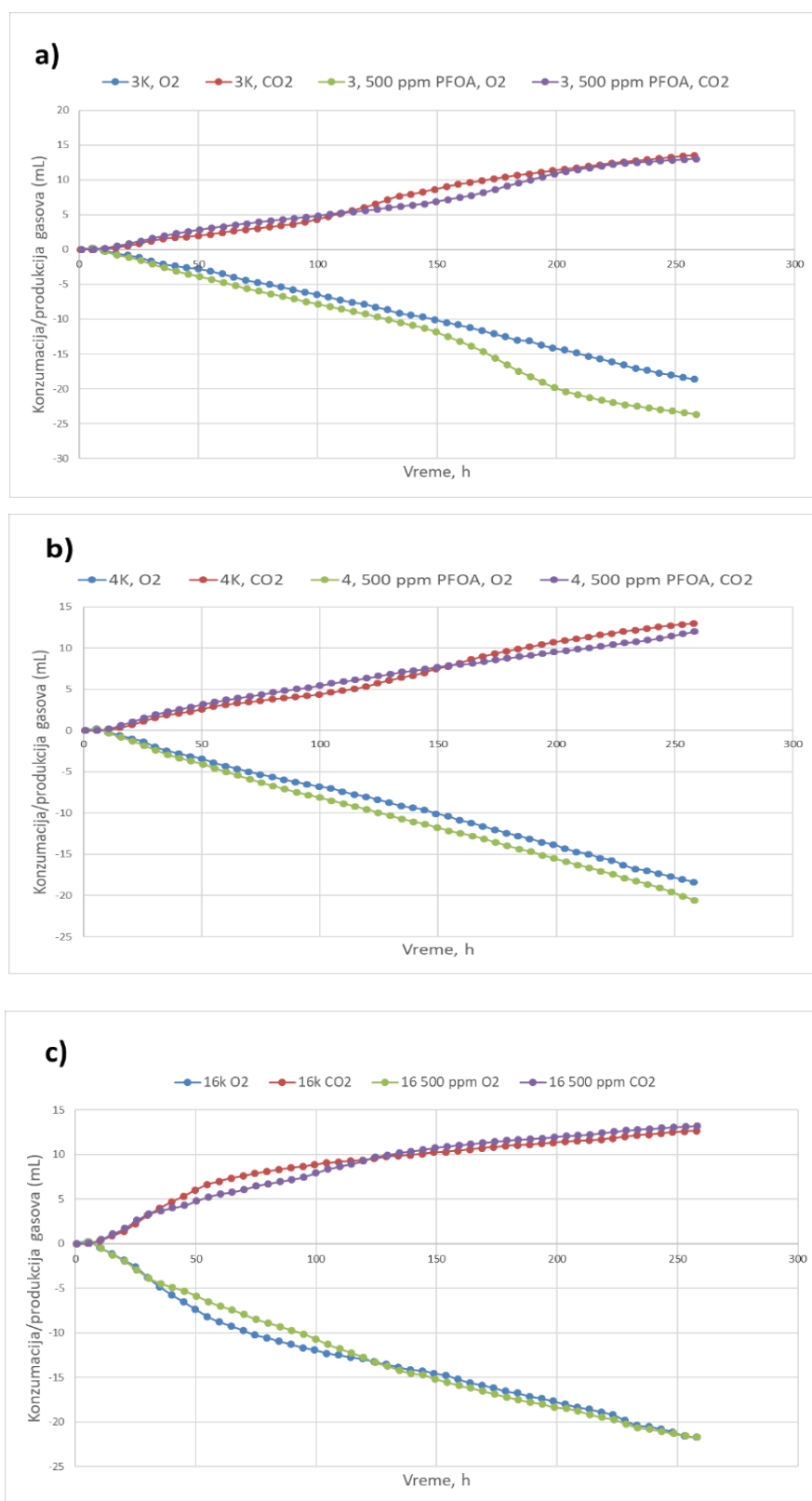
Postinkubaciona analiza pokazala je smanjenje koncentracije PFOA nakon četvorodnevne inkubacije kod tri ispitivana soja roda *Pseudomonas* (sojevi 3, 4 i 16), do maksimalno 15%. Iako je stepen smanjenja varirao između sojeva, rezultati ukazuju na mogućnost uklanjanja PFOA u primenjenim eksperimentalnim uslovima.





Slika 30. Krive rasta a) soja 3, b) soja 4 i c) soja 16 izloženih 500 ppm PFOA u poređenju sa netretiranom kontrolom.

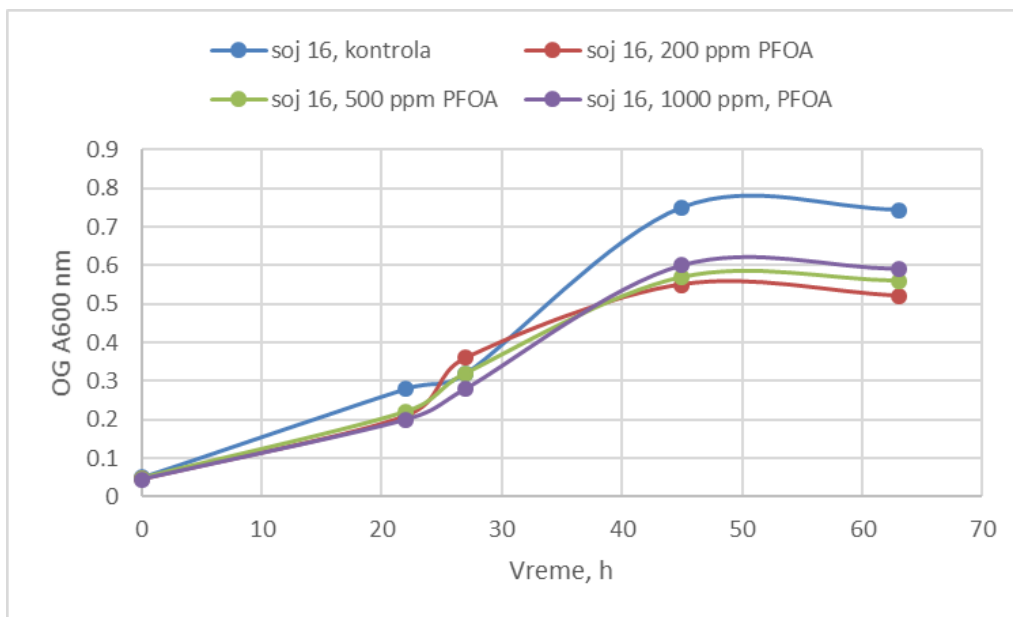
Rezultati respiratornih merenja pokazali su da izloženost PFOA značajno menja respiratorne profile svih ispitivanih sojeva (Slika 31). U poređenju sa kontrolnim uslovima, uzorci izloženi PFOA pokazali su smanjenu potrošnju kiseonika i produkciju ugljen-dioksida, što ukazuje na promenu metaboličke aktivnosti. Uprkos smanjenju respiratorne aktivnosti, svi ispitivani sojevi ostali su metabolički aktivni tokom čitavog perioda inkubacije, čak i pri visokoj koncentraciji PFOA.



Slika 31. Kumulativna produkcija CO₂ i potrošnja O₂ kod: a) soja 3, b) soja 4 i c) soja 16 nakon izlaganja 500 ppm PFOA, u poređenju sa netretiranom kontrolnom grupom.

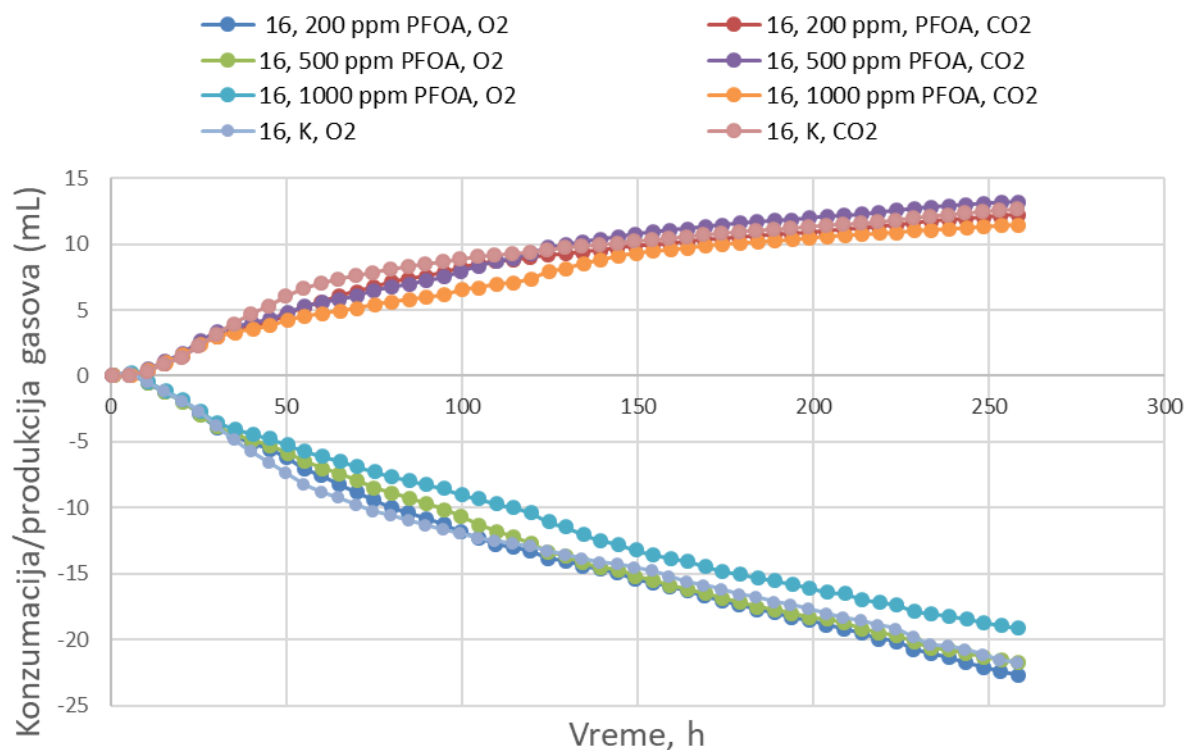
4.3.4. Rast *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca* tretiranog sa PFOA

Među ispitivanim sojevima, *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* pokazao je najkonzistentniju kombinaciju održane respiratorne aktivnosti, stabilnog rasta u uslovima izloženosti visokim koncentracijama PFOA i konzistentnih promena u koncentraciji PFOA. Na osnovu integrisane procene, ovaj soj je odabran za detaljne fiziološke, enzimske i proteomske analize u cilju razumevanja mehanizama ćelijske adaptacije i strategija preživljavanja pri ekstremnoj izloženosti PFOA.



Slika 32. Krive rasta *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca* izloženog 200 ppm, 500 ppm i 1000 ppm PFOA u poređenju sa netretiranom kontrolom.

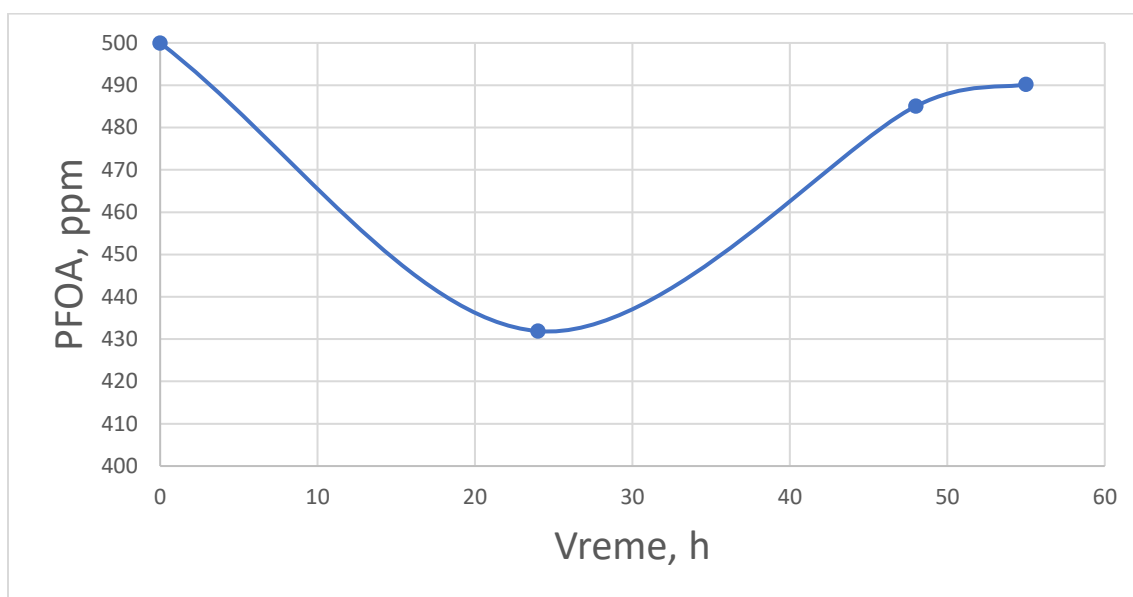
Izlaganje koncentracijama od 200, 500 i 1000 ppm PFOA uticalo je na rast i respiraciju *P. chlororaphis* podvrste *aurantiaca* u poređenju sa kontrolom (Slike 32 i 33). Sadržaj ekstrakta kvasca u podlozi eksperimentalno je određen (podaci nisu prikazani) kako bi se postigla sporija stopa rasta, čime je omogućeno preciznije uočavanje inhibitornog efekta PFOA. Izlaganje 200, 500 i 1000 ppm PFOA inhibiralo je rast za približno 30%. U skladu sa efektima PFOA na rast (Slika 32), respiracija je pokazala produženu lag fazu (Slika 33). Ovaj rezultat je u skladu sa studijama koje su ispitivale odgovor aktivnosti zemljišnih enzima i mikrobnih zajednica zemljišta tretiranih PFOA (Cai *et al.*, 2020).



Slika 33. Kumulativna produkcija CO₂ i potrošnja O₂ kod *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca* nakon izlaganja 200 ppm, 500 ppm i 1000 ppm PFOA, u poređenju sa netretiranom kontrolnom grupom.

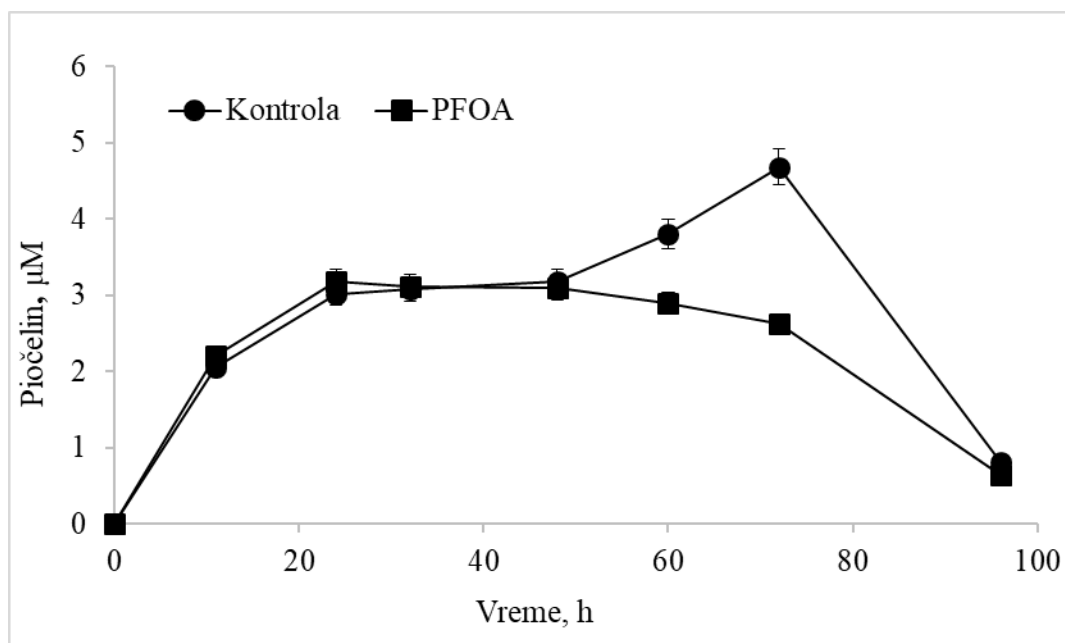
Kod kultura tretiranih PFOA, količina oslobođenog CO₂ je smanjena, dok su istovremeno sukcesivno trošile manje kiseonika.

Budući da je procenat inhibicije za sve tri koncentracije sličan, koncentracija PFOA od 500 ppm je kao srednja vrednost izabrana za dalji rad. Promena koncentracije PFOA praćena je kod *P. chlororaphis* izložene izuzetno visokoj koncentraciji od 500 ppm PFOA (Slika 34). Iako je promena koncentracije PFOA u odnosu na početnu vrednost naizgled bila neznatna, gotovo 50 ppm uklonjeno je iz tečne kulture tokom prva dva dana izlaganja, što ukazuje da *P. chlororaphis* adsorbuje ili delimično apsorbuje PFOA.

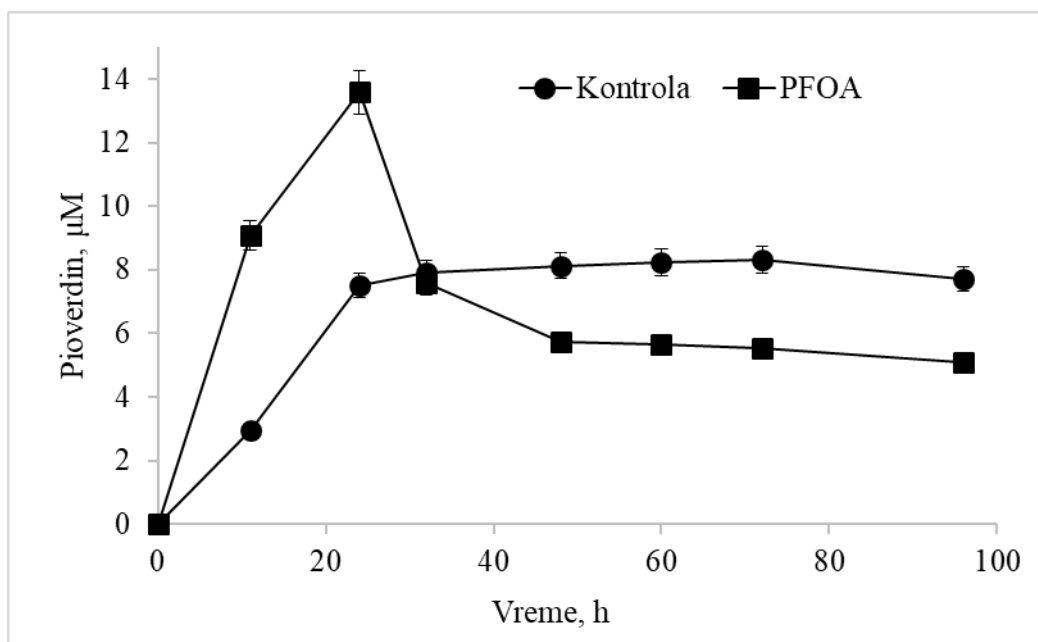


Slika 34. Promena koncentracije PFOA u kultivacionom medijumu kod *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca* izloženog 500 ppm PFOA.

Praćena je i produkcija malih sekundarnih metabolita povezanih sa redoks procesima i homeostazom gvožđa. Produkcija piocijanina (malog redoks-aktivnog molekula) nije uočena, dok je zabeleženo blago smanjenje produkcije piočelina (nespecifične siderofore) (Slika 35) i gotovo dvostruko povećanje produkcije pioverdina (visoko specifične siderofore) (Slika 36) u kulturi tretiranoj PFOA.



Slika 35. Dinamika produkcije piočelina kod *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca* izloženog 500 ppm PFOA u poređenju sa netretiranom kontrolom.



Slika 36. Dinamika produkcije pioverdina kod *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca* izloženog 500 ppm PFOA u poređenju sa netretiranom kontrolom.

4.3.5. Uticaj PFOA na aktivnost enzima

Efekti PFOA na enzime antioksidativnog odgovora i metabolizam, peroksidazu, katalazu, lakazu i lipazu, procenjavani su u odnosu na netretirane komercijalne enzime (Tabela 16). PFOA nije imala efekta na aktivnost peroksidaze pri koncentracijama od 10 i 100 $\mu\text{mol/L}$, ali je pri koncentraciji od 500 $\mu\text{mol/L}$ dovela do potpune inhibicije enzima. Aktivacija lipaze u rasponu od 30% do 100% zabeležena je nakon izlaganja odabranom opsegu koncentracija PFOA. Nakon izlaganja PFOA u koncentracijama od 10–500 $\mu\text{mol/L}$, aktivnost CAT ostala je nepromenjena. Obiako i saradnici su pokazali da do inhibicije dolazi pri izlaganju koncentraciji od 1000 ppm 2415 $\mu\text{mol/L}$ (Obiako, Sevcik & Sayes, 2023).

Relativne aktivnosti SOD, CAT i peroksidaze u ćelijskom homogenatu *P. chlororaphis* tretirane PFOA u koncentraciji od 500 ppm (1207 $\mu\text{mol/L}$) prikazane su u Tabeli 16 i ukazuju na snažnu inhibiciju SOD i peroksidaze od 75%, odnosno 60%, dok je katalaza bila inhibirana za svega 25%.

Poznato je da PFOA može različito uticati na enzime, inhibirati ili aktivirati njihovu aktivnost, što dovodi do složenih i dubokih promena u ukupnom metabolizmu i proteomu. Izražena inhibicija peroksidaze kod *P. chlororaphis* ukazuje na njenu interakciju sa PFOA, što je u skladu sa dosadašnjim zapažanjima (Harris *et al.*, 2025). S druge strane, značajna aktivacija lipaze predstavlja posledicu amfifilne prirode PFOA, koja može imati snažan uticaj na strukturu membrane i metabolizam lipida uopšte.

Tabela 16. Uticaj PFOA na aktivnosti odabranih enzima.

Enzim, poreklo	Kofaktori enzima*	Relativna aktivnost enzima (% $\pm$ SD)** izloženog PFOA (koncentracija $\mu\text{mol/L}$)			
		10	100	500	1207
Peroksidaza, <i>Armoracia rusticana</i>	Ca^{2+} , hem b	98 $\pm$ 2,4	96 $\pm$ 3,7	1 $\pm$ 0,6	/***
Katalaza, <i>Bos taurus</i>	NADP^+ , hem	105 $\pm$ 11	120 $\pm$ 14	100 $\pm$ 14	/
Lipaza, <i>Candida rugosa</i>	/	132 $\pm$ 12	147 $\pm$ 8	197 $\pm$ 28	/
Superoksid dismutaza, <i>P. chlororaphis</i> ****	Gvožđe/mangan	/	/	/	25 $\pm$ 4
Katalaza, <i>P. chlororaphis</i>	Gvožđe-hem	/	/	/	75 $\pm$ 8
Peroksidaza (ABTS), <i>P. chlororaphis</i>	Gvožđe-hem	/	/	/	41 $\pm$ 6
Lakaza, <i>P. chlororaphis</i>	Bakar	/	/	/	ND*****
Lipaza, <i>P. chlororaphis</i>	/	/	/	/	258 $\pm$ 20

*PremaUniProtKB

** Aktivnost ne tretiranog enzima je 100%, $\pm$ standardna devijacija

*** Nije određeno

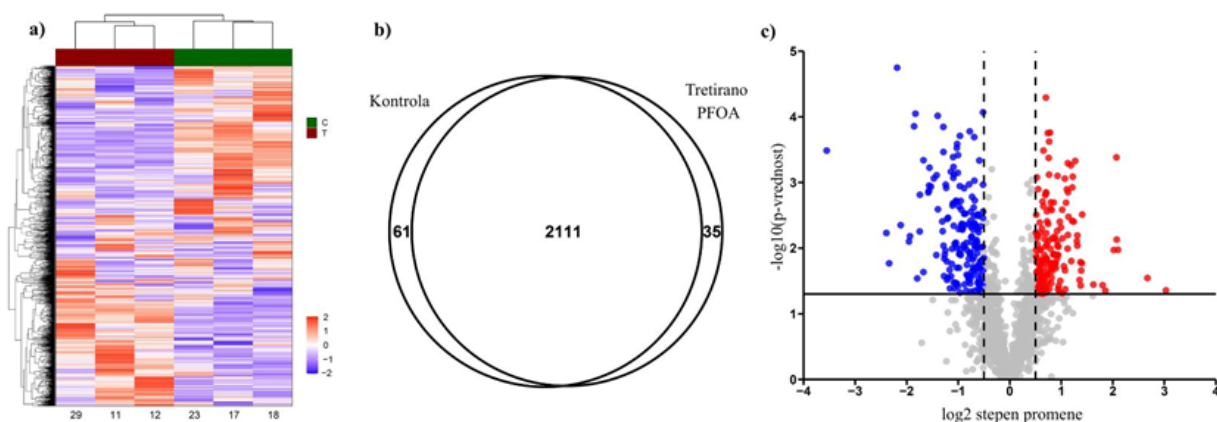
**** Enzimi iz *P. chlororaphis*. Enzimaska aktivnost kulture izložene 500 ppm (1207 $\mu\text{mol/L}$) PFOA kvantifikovana je u odnosu na kontrolne ćelije bez izlaganja, čija je aktivnost postavljena na 100%.

***** Nije detektovano

4.3.6. Proteomski odgovor *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca* na izlaganje PFOA

Uporedna proteomska analiza kultura u ranoj stacionarnoj fazi sprovedena je radi razumevanja adaptivnih strategija *P. chlororaphis* u prisustvu PFOA. Nakon uklanjanja obrnutih sekvenci i potencijalnih kontaminanata, ukupno je identifikovano 16.202 peptida koji pripadaju 2.208 proteina u svim uzorcima, pri čemu je svaki protein bio potvrđen sa najmanje jednim jedinstvenim peptidom u dve ili više replika.

Hijerarhijsko klasterovanje koje je sprovedeno radi procene stepena sličnosti između kontrolnih kultura i kultura izloženih PFOA, pokazalo je značajne razlike (Slika 37a). Venov dijagram proteina otkrio je 2.111 zajedničkih proteina, kao i 35 jedinstvenih proteina u uzorcima ćelija izloženih PFOA i 65 jedinstvenih proteina u kontroli (Slika 37b, Tabela 16). Zajednički proteini identifikovani Venovim dijagramom analizirani su pomoću vulkanskog grafika radi vizualizacije diferencijalno eksprimiranih proteina u svakoj grupi (Slika 37c). Ukupno je 158 proteina bilo značajno povišeno eksprimirano, dok je 180 proteina bilo značajno smanjeno eksprimirano u uzorcima bakterijskih ćelija tretiranih PFOA.



Slika 37. a) Toplotna mapa proteina *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca* izloženog PFOA (T – PFOA-tretman) u poređenju sa kontrolom (C – netretiran), analizirano u tri ponavljanja b) Venov dijagram koji prikazuje broj preklapajućih proteina između dve grupe c) Vulkanski grafik kvantifikovanih proteina iz PFOA-tretiranih uzoraka u poređenju sa kontrolom. Prag značajnosti bio je $p < 0,05$, a stepen promene $> \pm 1,5$; vrednosti ispod ovih pragova smatrane su statistički neznačajnim. Povećano eksprimirani proteini prikazani su crvenim tačkama, smanjeno eksprimirani plavim, a proteini bez značajne promene sivim tačkama.

KEGG analiza pokazala je da je većina značajno diferencijalno eksprimiranih proteina u bakterijskim ćelijama tretiranim PFOA povezana sa metabolizmom, posebno sa metabolizmom u različitim sredinama, metabolizmom gliksilata i propionata. Sniženo eksprimirani proteini pripadali su putevima oksidativne fosforilacije, sklapanja flageluma, metabolizma glutationa, ABC (eng. ATP-binding cassette transporters, ABC) transportera i biosinteze aromatičnih aminokiselina.

KEGG analiza proteoma *Escherichia coli* izložene PFOA pokazala je značajno obogaćenje puteva ribozoma, ABC transportera, ciklusa trikarboksilnih kiselina (eng. tricarboxylic acid cycle, TCA), kao i metabolizma propionata, triptofana, pirimidina, glioksilata i dikarboksilata (Yang *et al.*, 2017), što ukazuje na značajne razlike u odgovoru gram-negativnih rodova na PFOA. KEGG analiza je također pokazala da je većina značajno diferencijalno eksprimiranih proteina u PFOA-tretiranim ćelijama *P. chlororaphis* povezana sa metabolizmom u različitim sredinama.

Jedinstveno diferencijalno eksprimirani proteini u *P. chlororaphis* tretiranog sa PFOA ukazuju na to da se bakterija prilagođava zagađenoj sredini (Tabela 17). Ovi proteini pretežno su pripadali strukturama spoljašnje membrane, proteinima uključenim u redoks homeostazu, transferazama, sintazama i proteinima odgovora na stres, koji su svi povezani sa odgovorom na promene u životnoj sredini (Abdul Aziz *et al.*, 2021).

Tabela 17. Proteini jedinstveno prisutni u *P. chlororaphis* podvrsta *aurantiaca* izloženom PFOA.

Pristupni kod*	Naziv proteina
Proteini strukture spoljašnje membrane	
A0A0D5XXU5	Porin
A0A1Q8EIK1	TonB-zavisni receptor
A0A3G7TNW9	Pretpostavljeni sklop pilusa tipa IV, transmembranski protein povezan sa FimV
A0A5M7CMQ3	Acil-CoA tioesteraza povezana sa Tol-pal sistemom
A0AAD1E000	FliT protein za sklapanje flageluma
A0AAJ0ZHQ7	Porin iz OprD familije
A0AAP9VQ73	Lipoprotein TagQ povezan sa sekrecionim sistemom tipa VI
A0AAQ3B625	Subjedinica BamD kompleksa za sklapanje beta-bure proteina
Redoks proteini	
A0AAD0ZEJ6	Više poliol-specifičnih dehidrogenaza
A0AAD0ZG63	Kratkolančana dehidrogenaza
A0AAD1E147	Oksidoreduktaza
A0AAD1E7G1	Beta subjedinica izohinolin-1-oksidoreduktaze
A0AAQ2YIR7	Protein porodice UDP-glukoza/GDP-manoza dehidrogenaze
A0AAD0ZDK3	Acil-CoA dehidrogenaza
Transferaze	
A0A0D5Y2L2	Velika subjedinica metiltransferaze ribozomalne RNK K/L
A0AAQ2YDT3	Arilamin N-acetiltransferaza
A0A0G3GMB8	Uroporfirin-III metiltransferaza
A0AAQ1FAZ8	dTDP-4-amino-4,6-dideoksigalaktoza transaminaza
Proteini odgovora na stres	
A0AAQ1F9R5	Negativni regulator RcsB-zavisnog stresnog odgovora
A0AAJ0ZGA3	Protein porodice LEA tipa 2
A0A0D5Y384	Protein toplotnog šoka IbpA
Sintaze	
A0AAQ3B4P5	Sirohem sintaza CysG
A0AAD0ZCR6	Subjedinica b ATP sintaze
A0AAD1DXX4	Subjedinica imidazol glicerol fosfat sintaze HisF
Hidrolaze	
A0AAQ1JFV2	ADP-ribozilglikohidrolaza
C4PRM7	Alkalna metaloproteinaza (fragment)
A0AAD0ZK76	Egzodeoksiribonukleaza I
Nekarakteristični proteini	
A0AAQ3B7G8	Protein koji sadrži DUF481 domen
A0AAD0ZDP6	Nekarakterističan protein
A0AAQ3B5L2	Nekarakterističan protein
A0AAJ0ZHE8	Protein koji sadrži DUF1652 domen

(*Prema UniProtKB)

4.3.6.1. Promena strukture ćelijskog zida i spoljašnje membrane u PFOA-tretiranoj kulturi

Izlaganje bakterijske kulture PFOA može dovesti do raspodele i narušavanja ćelijske membrane, menjajući površinski napon ćelije, što posledično utiče na fluidnost i permeabilnost membrane (Liu *et al.*, 2016; Naumann *et al.*, 2022). Rast *P. chlororaphis* pri visokoj koncentraciji PFOA (500 ppm) doveo je do smanjenja koncentracije PFOA u medijumu, što može biti posledica interakcije PFOA sa membranom i akumulacije PFOA u lipidnom dvosloju, što je u skladu sa produženom lag fazom i smanjenim rastom, što ukazuje na to da toksični efekat može biti privremen, praćen adaptacijom ćelija (Cai *et al.*, 2020).

Pored promene koncentracije PFOA (Slika 34), koja ukazuje da *P. chlororaphis* adsorbuje ili delimično apsorbuje PFOA, zabeležena je i snažna povećana ekspresija 12 specifičnih porina ugrađenih u membranu, koji pripadaju svim porodicama porina, zajedno sa 39 uobičajeno eksprimiranih porina i proteina spoljašnje membrane, što pokazuje duboke promene u proteinima spoljašnje membrane.

U skladu sa zapažanjima o efektima PFOA na kondenzaciju fosfolipida i povećanu fluidnost i kompresibilnost monoslojeva u literaturi (Naumann *et al.*, 2022), promene membrane kod *P. chlororaphis* bile su povezane sa povećanom ekspresijom specifičnih porina, što je dovelo do povećane permeabilnosti za glutamat (OpdP/OccD3), osnovne amino kiseline, tirozin i siderofore koji sadrže gvožđe (TonB proteini) (Tabela 18). Pored toga, primećena je i povećana ekspresija proteina H1 (Slika 38). Bell i Hancock (1989) su utvrdili da je sinteza proteina H1, membranskog proteina regulisanog dvovalentnim katjonima, indukovana do 24 puta više u uslovima nedostatka dvovalentnih katjona, što sugerise da PFOA izaziva delimični deficit katjona, praćen povećanom ekspresijom proteina H1 kod *P. chlororaphis*.

Dok su samo dva transportera i dva autotransportera bila povećano eksprimirana usled izlaganja PFOA, brojni transporteri su bili smanjeno eksprimirani (Tabela 18). Takođe su detektovani i drugi proteini čija je ekspresija povećana ili smanjena, a koji su povezani sa strukturom membrane i osmoregulacijom (Tabela 18).

Smanjena ekspresija transportera cinka i metalnih ABC transportera sugerise promene u homeostazi metalnih jona i smanjenje sistema za transport metala kako bi se sačuvala energija u uslovima ograničene dostupnosti metala. Ovo može biti posledica formiranja kompleksa metala sa PFOA.

Sutterlin, Zhang i Silhavy (2014) su utvrdili da fosfatidna kiselina može povećati barijeru spoljašnje membrane prema lipofilnim jedinjenjima i detergentima. U skladu sa ovim, fosfolipaza D, koja konvertuje fosfatidilholin u holin i fosfatidnu kiselinu, identifikovana je kao protein sa povećanom ekspresijom. Promene u sloju lipopolisaharida (LPS) dodatno su povezane sa snažnim povećanjem ekspresije lipida A 3-O-deacilaze, čija je aktivnost prethodno zabeležena kao pojačana kod ekoloških izolata uzgajanih u medijumu sa ograničenom koncentracijom magnezijuma (Ernst *et al.*, 2006).

Tabela 18. Proteini povezani sa promenjenom strukturom ćelijskog zida i spoljašnje membrane, biosintezom proteina i DNK-vezujućim transkripcionim regulatorima u kulturi izloženoj PFOA.

Pristupni kod*	Naziv proteina**	Log2.fc	Funkcija
Struktura ćelijskog zida i spoljašnje membrane			
A0AAN1QTE1	Porin niske propustljivosti spoljašnje membrane, OprD	+ 2,67	Porin sa specifičnošću za osnovne aminokiseline
A0A3G7TZN2	Porin niske propustljivosti spoljašnje membrane, OprE/OccK8	+ 1,08	Anaerobno indukovani porin, propustljiv za glutamat
A0AAD1E5G9	Porin niske propustljivosti spoljašnje membrane, OccD3/OpdP	+ 0,97	Porin niske propustljivosti za tirozin
A0A3G7TRW3	Porin niske propustljivosti spoljašnje membrane, Occk10/OpdN	+ 0,60	Efluks porin čiji je supstrat glutamat
A0AAD1E7U2	Porin spoljašnje membrane OprH1	+ 0,79	Protein spoljašnje membrane regulisan dvovalentnim katjonima
A0A5M7CW59	TonB-zavisni sideroforni receptor	+ 1,61	Transport molekula koji heliraju gvožđe
A0AAD0ZEZ3	TonB- zavisni protein receptora za ahromobaktin gvožđa	+ 2,07	Unos siderofora koji sadrže gvožđe
A0AAD1DZK4	Šoperon spoljašnje membrane, Skp	+ 0,80	Savijanje, sklapanje i održavanje proteina spoljašnje membrane
A0AAD0Z2P2	Protein MreB koji određuje oblik ćelija	- 0,56	Određivanje oblika ćelija i regulisanje sinteze ćelijskog zida radi očuvanja ćelije
A0AAJ1E4K2	Protein koji sadrži ponavljanje beta lanca povezano sa autotransporterom	+ 1,05	Autotransporter
A0AAP9VR50	Protein koji sadrži autotransporterski domen	+ 0,71	Autotransporter
A0AAJ0ZFH2	Protein koji vezuje supstrat ABC transportera	+0,60	Odgovoran za transport peptida i proteina
A0AAD0ZDD5	Kvaternarni amin transportni ATP-vezujući protein	+ 0,55	Kvartarni transport amina
	Protein koji vezuje supstrat putrescinskog transportnog sistema	- 0,75	Transport putrescina

A0AAD0ZJ36	Putrescin ABC transporter protein koji vezuje putrescin PotF	- 0,60	Transporter putrescina ABC
A0AAQ1FCH6	Protein koji vezuje supstrat sistema za transport cinka	- 1,09	Transport cinka
A0A5M7CGT9	Protein koji vezuje supstrat metalnog ABC transportera	- 1,56	Transport metala
A0AAD1E427	Signalni peptid aktivacije/sekrecije	+ 0,71	Omogućava prenos proteina sa jedne strane membrane na drugu.
A0AAJ0ZL58	Ekstracelularni protein koji vezuje rastvorene supstance	- 0,88	Protein koji vezuje rastvorene supstance
A0AAJ0ZGX7	Fosfolipaza D	+ 0,73	Pretvara fosfatidilholin u holin i PA
A0AAQ1J866	Lipid A 3-O-deacilaza	+ 1,37	Hidrolizuje estarsku vezu na poziciji 3 lipida A, komponente lipopolisaharida, oslobađajući primarni masni acilni deo
A0A1H1TIY9	Ćelijska deoba BoliA	- 0,51	Ometa biosintezu flagelara
	N-acetilmuramoil-L-alanin amidaza	- 1,75	Razgradnja i reciklaža komponenti ćelijskog zida bakterija
A0AAD1DYV4	N-acetilmuraminska kiselina 6-fosfat fosfataza	- 0,69	Razgradnja i reciklaža komponenti ćelijskog zida bakterija
A0AAD0ZK05	Protein ProX koji vezuje supstrat za transport glicin betaina-L-prolina	- 1,03	Transport glicin betaina
A0AAQ1FQE1	Protein koji vezuje supstrat za transporter glicina betaina ABC	-1,10	Transport glicin betaina
A0AAQ2Y9I7	Betain aldehyd dehidrogenaza	+ 0,89	Biosinteza glicin betaina
A0AAD0ZEI6	Protein D biosinteze glukana	+ 0,52	Biosinteza glukana
Biosinteza proteina			
A0AAD1E2W4	Velika subjedinica ribozomalne RNK metiltransferaze H	- 1,57	Specifično metiluje pseuduridin
A0AAD1DYA4	Velika subjedinica ribozomalne RNK metiltransferaza E	- 1,25	Metiluje uridin u potpuno sklopljenoj 50S ribozomskoj subjedinici

A0A0E1ECP7	Mala subjedinic ribozomalne RNK metiltransferaza G	- 0,83	
A0A0E1EHV2	Protein velike ribozomalne subjedinicice uL11	- 0,62	Čini deo ribozomske stabljike koja pomaže ribozomu da interaguje sa translacionim faktorima vezanim za GTP
A0AAD1E9E9	Protein velike ribozomalne subjedinicice bL25	- 1,06	Veže se za 5S RNK u ribozomu
A0AAD1E8Y2	Protein velike ribozomalne subjedinicice uL1	- 0,68	Direktno se vezuje za 23S rRNK i učestvuje u E mestu oslobađanja tRNK
	Mala subjedinic ribozomalne RNK metiltransferaza G	- 0,83	Specifično metiluje N7 poziciju gvanina u poziciji 527 16S rRNK
A0AAD0ZMC6	Mala subjedinic ribozomalne RNK metiltransferaze C	- 0,71	Metiluje guanin na poziciji 1207 16S rRNK u 30S delu
A0AAQ1J8J3	16S rRNK (citozin1402-N4)- metiltransferaza	- 0,68	Modifikuje citozin na poziciji 1402 u 16S rRNK-esencijalnom delu male subjedinicice ribozoma.
A0AAQ1FQX9	Protein povezan sa ribozomom	- 1,21	Sklapa se duž 30S-50S interfejsa, sprečavajući pogrešne strukture rRNK
A0AAD0Z5M9	RNA-vezujući protein YhbY	- 0,71	RNA-vezujući
A0AAJ1EAB3	Metionil-tRNA formiltransferaza	- 1,12	Kritično za pokretanje sinteze proteina proizvodnjom formilMet-tRNK
A0AAD0ZCB1	tRNA (guanin-N(7)-)-metil- transferaza	- 1,03	Katalizuje formiranje N7- metilguanina u tRNK
A0A0E1EFM3	Cys-tRNA(Pro)/Cys- tRNA(Cys) deacilaza	- 1,58	Može hidrolizovati misacilovanu Cys-tRNA(Pro) i Cys-tRNA(Cys)
A0A0E1EE90	RNA polimeraza sigma faktor RpoD	- 0,51	Primarni sigma faktor tokom eksponencijalnog rasta
A0A0E1DZT4	Faktor recikliranja ribozoma	- 0,67	Odgovoran za oslobađanje ribozoma iz informacione RNK nakon završetka biosinteze proteina
A0AAD0ZEB4	Inhibitor A povezan sa ribozomom	- 0,70	Aktivnost protiv pogrešnog kodiranja
A0AAJ0ZMQ1	33 kDa šaperonin	+ 0,61	Štiti raspletene proteine od nepovratne agregacije
DNA-vezujući transkripcioni regulatori***			
A0AAQ1JAA4	AcrR	- 1,24	Transport više lekova; flagele/pokretljivost;

A0AAJ0ZKM3	TetR/AcrR	- 0,84	prekomerna proizvodnja AcrR poboljšava toleranciju na organske rastvarače
A0AAD1E4X6	ArsR	- 1,2	<i>Idem</i> Represor za ars operon, transport neorganskih jona i metabolizam
A0AAQ1FA25	AlpA	- 0,80	Supresira dva fenotipa mutanta delta lon proteaze, prekomernu proizvodnju kapsularnog polisaharida i osetljivost na UV svetlost
A0AAP9VYK0	GntR	- 1,95	Negativno reguliše operon uključen u katabolizam D- glukonata putem Entner- Dudorofovog puta
A0AAQ3B542	MarR	- 1,31	Otpornost na antibiotike, efluks više lekova, oksidativni stres, formiranje biofilma
A0AAD0Z7J8	SlyA	- 0,92	Malo se zna o regulatornoj ulozi SlyA
A0AAQ1FP72	AraC	- 1,08	Katabolizam i transport arabinoze
A0AAD0Z8J6	LiuR	- 0,90	Put razgradnje leucina i aminokiselina sa razgranatim lancem
A0AAD1E2X0	MraZ	- 1,67	Kontrola ćelijske deobe i gena ćelijskog zida
A0AAD1DZN2	FleQ	- 0,94	Direktno i specifično reguliše transkripciju na flagelarnim promoterima flhA, fliE i fliL (Jyot et al.2002)
A0AAQ1FA25	AlpA	- 0,70	Supresor lon mutanata koji dovodi do ekspresije alternativne lon proteaze
DNA vezujući proteini			
A0AAD0ZCE3	DNK-vezujući protein HU	- 1,10- 1,10	
A0AAD0Z8C9	DNK-vezujući protein HU- beta	- 1,42	
A0A0D5Y640	DNK-vezujući protein HU, forma N	- 0,60	
A0A0E1E5N9	RecA protein	- 0,99- 0,99	

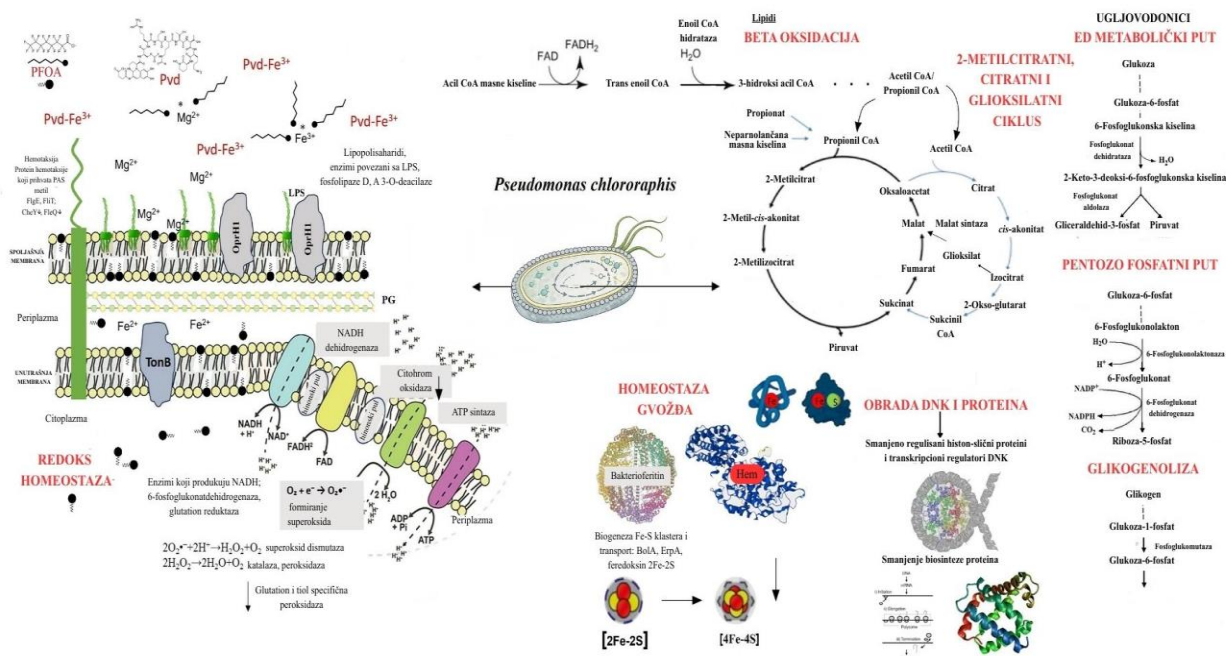
*Prema UniProtKB ** Za transkripcione regulatore koji se vezuju za DNK navedeno je ime familije
 *** Prema bazi podataka Regulona: <https://regulondb.ccg.unam.mx/regulon>

Pored toga, izrazito smanjenje ekspresije N-acetilmuramoyl-L-alanin amidaze i N-acetilmuraminske kiseline 6-fosfat-fosfataze, obe uključene u degradaciju i reciklažu komponenti bakterijskog zida, ukazuje na promene u dinamici ćelijskog zida koje održavaju njegov integritet.

Polianjonska površina i fosfolipidna struktura čine ćelijsku membranu ključnom za osmosenzitivnost (Wood, 2015). Smanjena ekspresija proteina za transport glicin betaina ukazuje na smanjenje osmotskog pritiska, što može biti povezano sa širenjem ćelije i promenama u strukturi membrane i spoljašnje membrane (Izrael Živković *et al.*, 2023) (Tabela 18). Sa druge strane, povećana ekspresija betain aldehid dehidrogenaze pokazuje pojačanu sintezu glicin betaina i unapređeni zaštitni mehanizam protiv osmotskog stresa izazvanog prisustvom PFOA unutar ćelija. Povećana ekspresija proteina D uključenog u biosintezu glukana reguliše strukturalni glukozni skelet osmoregulisanih periplazmatskih glukana.

4.3.6.2. Redoks homeostaza

Veliki broj proteina koji su povišeno ili smanjeno eksprimirani u *P. chlororaphis* tretiranog sa PFOA, povezani su sa redoks homeostazom (Tabela 19). Tioeredoksin proteini prisutni podjednako i kod tretirane i kod netretirane kulture (Tabela 19). Najefikasniji enzimi za razgradnju H_2O_2 , CAT i katalaza-peroksidaza, bili su pojačano eksprimirani, dok su glutathion-peroksidaza i tiol-specifična peroksidaza bili smanjeni, što ukazuje na oslabljen ciklus ditiol-disulfid i izmenjen redoks proces tiol grupa (Slika 38).



Slika 38. Konceptualni prikaz PFOA-indukovanih promena u strukturalnoj organizaciji i glavnim ćelijskim putevima kod *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca*.

Pretpostavljene strukture označene su zvezdicom. Strelice nadole označavaju smanjeno ekspimirane proteine; svi ostali prikazani proteini i povezani procesi ili su detektovani isključivo u uslovima izloženosti PFOA ili su povećano ekspimirani; nazivi proteina identični su onima u tabelama. Pvd - pioverdin, PG - peptidoglikan, LPS - lipopolisaharidi, ED - Entner-Doudoroffov put. Preuzeto od (Lješević *et al.*, 2026).

Kulture tretirane i ne tretirane sa PFOA proizvode SOD u jednakim količinama, međutim aktivnost SOD u kulturi izloženoj PFOA iznosi samo 25% aktivnosti u kulturi bez izlaganja. Suprotno tome, iako je količina CAT u PFOA tretiranoj kulturi gotovo četverostruko veća nego u kontroli, njena stvarna aktivnost iznosi samo 75% u odnosu na kontrolu, što ukazuje na inhibicioni efekat PFOA na funkciju enzima (Tabela 13).

Smanjena ekspresija nekoliko peroksiredoksina, uključujući peroksidativnu cistein grupu potrebnu za reakciju enzima, dodatno ukazuje na smanjenu sposobnost bakterije da se odbrani od toksičnih organskih peroksida (Dubbs and Mongkolsuk, 2007). Enzimi koji proizvode redukovani nikotinamid adenin dinukleotid fosfat (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH, eng.), poput 6-fosfoglukonat dehidrogenaze i glutation reduktaze (Tabela 17), pomažu u kontroli formiranja ROS kod PFOA-tretiranih ćelija. *P. chlororaphis* se nosi sa formiranjem ROS pomoću više enzima koji proizvode NADPH, poput 6-fosfoglukonat dehidrogenaze i glutation reduktaze, kako je prikazano u Tabeli 17. U kulturama tretiranim PFOA, 17 dehidrogenaza (DH) je povišeno ekspimirano, dok su više poliol-specifičnih DH, kratkolančanih DH i jedna acil-CoA DH jedinstveno identifikovani u ćelijama izloženim PFOA.

Usled izlaganja *P. chlororaphis* PFOA može doći do ometanja metaboličkih puteva, a posebno TCA ciklusa. Aktivacija akonitaze B (eng. aconitase B, AcnB) ukazuje na pokretanje 2-metilcitrarnog ciklusa, koji se odvaja od glavnog TCA ciklusa i učestvuje u metabolizmu propionil-CoA, što sugerise povećanu β-oksidaciju neparnih i razgranatih masnih kiselina. Aconitaza B takođe funkcioniše kao regulator vezan

za RNK (ribonukleinska kiselina), tokom oksidativnog stresa, neaktivni enzim bez Fe-S klastera stabilizuje acnB iRNK (informaciona ribonukleinska kiselina) i povećava sintezu AcnB (Tang and Guest, 1999). Aktivacija metilizocitrat-lijaze i 2-metilcitrat-sintaze dodatno potvrđuje pojačanu aktivnost 2-metilcitratnog ciklusa, dok je pojačana ekspresija malat sintaze pokazala aktivaciju glikolatnog ciklusa, koji je međusobno povezan sa TCA i 2-metilcitratnim ciklusom (Slika 38).

Perfluoroalkilne supstance poput PFOA mogu uticati na mikrobni metabolizam (Yang *et al.*, 2017), ali njihov specifičan efekat na metaboličke puteve poput 2-metilcitratnog ciklusa do sada nije bio dokumentovan. Aktivacija ovog ciklusa takođe ukazuje na promene u metabolizmu lipida, što je u skladu sa zabeleženim promenama u odnosu zasićene/nezasićene masne kiseline kod *E. coli* tretiranih PFOA-om (Liu *et al.*, 2016).

Tabela 19. Povećano i smanjeno eksprimirani proteini uključeni u redoks ravnotežu, homeostazu gvožđa i sumpora, kao i proteini povezani sa metabolizmom ključnih biomolekula i odgovorom virulencije kod *P. chlororaphis* izložene PFOA.

Pristupni kod*	Naziv proteina	log2.fc
Proteini redoks homeostaze		
A0AAJ0ZN09	Katalaza	+1,19
A0AAJ0ZHL4	Katalaza peroksidaza	+0,59
A0AAJ0ZF12	Glutation reduktaza	+0,54
A0AAD0ZL93	Protein za izmenu Tiola:disulfida DsbD	+0,62
A0A0E1EDZ9	Glutation peroksidaza	-1,83
A0AAJ1E6W6	Tiol-specifična peroksidaza	-0,54
A0AAD0ZC52	Peroksiredoksin OsmC	-0,56
A0AAQ1FPA5	Peroksiredoksin Q/BCP	-0,76
A0AAP9W447	Peroksiredoksin	-0,51
A0A3G7TGN8	Protein povezan sa polihidroksialkanoat granulama	+0,57
Proteini Fe i S homeostaze		
A0AAD0ZBV5	Bakterioferitin	+1,13
A0AAD0ZEM8	Glutaredoksin	-0,54
A0A1H1TIY9	Protein ćelijske deobe BolA	-0,51
A0AAD0ZBS7	Protein ErpA za ubacivanje Fe-S klastera	-0,64
A0AAQ1F9R1	Feredoksin 2Fe-2S	-0,70
A0A5M7CW59	TonB-zavisni protein receptora za siderofore	+1,61
A0AAD0ZEZ3	TonB-zavisni protein receptora za ahromobaktin gvožđa	+2,07
A0AAD0Z4C4	Adenozin 5'-fosfosulfat reduktaza	+0,71
A0AAQ1FEB3	Sulfit reduktaza (NADPH) hemoprotein beta-komponenta	+0,60
A0AAD1E6G9	O-sukcinilhomoserin sulfhidrilaza	+0,65
A0AAD0ZLQ5	Adenozilmetionin sintaza	+0,71
A0AAQ1F6Z9	Adenozilhomocisteinaza	+0,55
Proteini Krebsovog ciklusa		
A0AAD1E5S1	Akonitat hidratataza B	+0,93
A0AAQ0AT93	Akonitat hidratataza AcnA	+0,81
A0AAQ2YFJ6	2-metilcitrat sintaza	+0,98

A0AAJ0ZLY4	Malat sintaza	+0,52
Respiracioni proteini		
	Citohrom c oksidaza	-1,22
	NADH-hinon oksidoreduktaza	+0,94
A0A0E1ECJ7	Alfa subjedinica ATP sintaze	-0,83
A0AAD0ZCS5	Delta subjedinica ATP sintaze	-2,11
A0AAD0ZC09	Beta subjedinica elektron transfer flavoproteina	-0,69
Proteini i aminokiseline		
A0AAQ2YDD8	Urokanat hidrataza	+0,72
A0AAQ1FRE0	Histidin amonijum-liaza	+0,69
A0AAQ1FNB3	Histidinol dehidrogenaza	+1,39
A0AAQ1F460	Formimidoilglutamat deiminaza	+0,92
A0AAD1E5E5	Glutamin sintetaza	+0,61
A0AAP9VRX2	N-sukcinilarginin dihidrolaza	+0,76
A0AAQ2Y7U7	Arginin deiminaza	+0,73
A0AAQ1JFN6	Ornitin dekarboksilaza- smanjeno eksprimirana	-0,62
A0AAN1R2K1	Pirolin-5-karboksilat reduktaza	-0,64
Proteini metabolizma ugljenih hidrata		
A0AAD1E359	Fruktoza-1,6-bisfosfat aldolaza	+0,53
A0AAD0ZD94	6-fosfoglukonat dehidrogenaza	+0,55
A0AAQ1J7I5	Transketolaza	+0,65
A0AAJ0ZF72	Fosfoglukomutaza	+0,81
A0AAJ0ZJ97	6-fosfoglukanolaktanaza	-1,39
Proteini metabolizma lipida		
A0AAJ0ZFT6	Proteini familije Acil-CoA dehidrogenaze	+0,62
A0AAQ1FNM1	Enoil-CoA hidrataza	+0,67
A0AAJ1E0S6	Dihidrolipoil dehidrogenaza	+0,79
A0AAQ2YDR0	Beta-ketoacil-ACP sinataza I	+0,58
A0A0E1EE42	Acil dehidrataza	-0,90
A0AAQ1FBS0	Fosfoglicerol transferaza MdoB	+0,84
A0AAD0ZD43	Lipoprotein	+0,64
A0AAD0ZIX7	Lipoprotein	+1,01
A0A0E1DZD3	2-dehidro-3-deoksifosfooktonat aldolaza	+0,51
Proteini odgovora na virulentnost		
A0AAJ0ZHS2	Beta laktamaza	- 1,42
A0AAD0ZGR7	Periplazmatski inhibitor lizozima c-tipa	-1,09
A0AAD0ZT38	Fosfolipaze/ lecitinaze/ hemolizin	+ 0,85
A0AAQ2Y8W9	Hemotaksijski protein sa PAS domenom-metil-akceptujući	+ 1,27
A0AAP9VS57	Flagelarni kuka protein FlgE	+ 0,79
A0AAP9VXQ5	Regulator odgovora hemotaksije	-1,16
A0AAD1DZN2	Motori flageluma i FleQ	-0,94
A0AAD0ZIB8	Acil-homoserin lakton acilaza PvdQ	- 2,34
A0AAD0Z622	Izokinolin 1-oksidoreduktaza, alfa subjedinica	+ 0,54
A0A3G7TMT3	Izokinolin 1-oksidoreduktaza, beta subjedinica	+ 0,73
A0AAQ1FPF0	Beta subjedinica protokatehual 3,4-dioksigenaze	+ 0,70
A0AAQ2YCL3	4-karboksimumkanolaktan dekarboksilaza	+ 0,97

A0AAD1DZ53	3-oksoadipat CoA-transferaza	+ 1,22
A0AAQ1FBI5	Horizmat mutaza	+ 1,19
A0AAQ0ASL6	Fosfošikimat 1-karboksiviniltransferaza	+ 0,60
A0AAQ1FR76	Antranilat 1,2-dioksigenaza	+ 2,09

*Prema UniProtKB

Pojačana ekspresija AcnB, osetljive na oksidaciju *in vivo* (Vásquez-Vivar, Kalyanaraman and Kennedy, 2000), zajedno sa akonitazom A (eng. *aconitase* A, AcnA) ukazuje na povećano stvaranje superoksidnih radikala kao nusprodukta respiratornog lanca, koji se potom razgrađuju antioksidativnim sistemima. Čini se da PFOA ometa metaboličke puteve, dovodeći do promena u ekspresiji gena povezanih sa stresom, metabolizmom i sistemima za izbacivanje toksina, što potencijalno povećava otpornost na zagađivače (Liu *et al.*, 2016).

Pseudomonas poseduje razgranati respiratorni lanac (Stover *et al.*, 2000). Smanjena ekspresija citohrom c oksidaze koja je utvrđena u okviru ovog rada u skladu je sa smanjenom respiracijom kod *P. chlororaphis* tretiranog PFOA (Slika 33). Ipak, redukovani nikotinamid adenin dinukleotid-hinon, NADH-hinon oksidoreduktaza je pojačano izražena, što ukazuje na pojačanu proizvodnju superoksidnih radikala (Slika 38). Pošto SOD nije bio pojačano izražen, višak superoksida može reagovati sa drugim molekulima unutar ćelije (posebno osetljivom acnB).

Smanjena ekspresija ATP sintaze (eng. *adenosine triphosphate*, ATP) podržava pretpostavku da promena u komponenti transporta elektrona može uticati na normalan tok elektrona i proizvodnju ATP-a. Istovremeno, flavoprotein, koji prenosi elektrone sa dehidrogenaza na membranski respiratorni lanac preko ubikinon oksidoreduktaze, takođe je smanjeno eksprimiran. Paradoksalno, NADH-hinon oksidoreduktaza je povećano eksprimirana dok je flavoprotein za prenos elektrona smanjeno eksprimiran, što implicira nizak dotok elektrona u hinonski bazen, što može dovesti do masovne formacije superoksidnih radikala (Hazan *et al.*, 2016).

4.3.6.3. Homeostaza gvožđa i sumpora

Kod *P. chlororaphis* tretiranog sa PFOA identifikovana je povećana ekspresija bakterioferitina, proteina koji sadrži gvožđe, kao i TonB-zavisnih receptora za siderofore, dok su ferredoksin 2Fe-2S i tri proteina povezana sa biogeneom Fe-S klastera (monotiolni glutation-reduktazni kompleks povezan sa proteinom ćelijske deobe BolA i protein za ugradnju gvožđe-sumpornih klastera ErpA) bili smanjeno eksprimirani (Tabela 19). Homeostaza sumpora bila je izmenjena usled povećane ekspresije više proteina uključenih u asimilatornu redukciju sulfata (Tabela 19).

Nekoliko proteina/enzima koji sadrže hem, gvožđe ili gvožđe-sumporne klastera bilo je povećano eksprimirano u proteomu *P. chlororaphis* tretiranog sa PFOA (Tabela 19, Tabela S2). Relativne aktivnosti metaloenzima SOD, CAT i peroksidaze, prikazane u Tabeli 16, ukazuju na njihovu snažnu inhibiciju pod uticajem PFOA.

4.3.6.4. Izmenjena obrada proteina

Brojni proteini odgovorni za pravilnu biosintezu proteina bili su smanjeno eksprimirani u ćelijama tretiranim PFOA (Tabela 18), što odražava snažan uticaj PFOA na fundamentalne biološke procese. Među te proteine spadaju proteini velike subjedinice ribozoma, koji su ključni za strukturu i funkciju ribozoma; metiltransferaze velike subjedinice ribozomalne RNK (rRNK) (H i E), odgovorne za visoko specifičnu metilaciju RNK; tri proteina velike ribozomalne subjedinice (proteini uL11, bL25 i protein

uL1) koji se direktno vezuju za rRNK (Tabela 18); kao i dva visoko bazna proteina povezana sa ribozomima i vezivanjem za RNK. Smanjena ekspresija proteina velike ribozomske subjedinice, povezanih enzima i dva visoko bazna proteina, uočena u ovom istraživanju, ukazuju na duboke promene u strukturi ribozoma (Ostheimer, Barkan and Matthews, 2002). O snažnom uticaju PFOA na fundamentalne biološke procese upravo govori to da su struktura i funkcija velike i male ribozomalne subjedinice bile su narušene, zajedno sa samim procesom translacije, koji obuhvata inicijaciju, elongaciju, terminaciju i reciklažu ribozoma (White, 2000).

Proces biosinteze proteina bio je narušen smanjenjem ekspresije proteina uključenih u sve faze translacije, od inicijacije do završnog oslobađanja ribozoma sa iRNK pri terminaciji sinteze proteina. Poremećaj inicijacije ogleda se u smanjenoj ekspresiji metionil-tRNK formiltransferaze, tRNK guanin-N(7)-metiltransferaze i sigma faktora RNK polimeraze RpoD. Uočena je i smanjena ekspresija Cys-tRNK(Pro)/Cys-tRNK(Cys) deacilaze, koja održava tačnost translacije, kao i faktora za recikliranje ribozoma, koji posreduje u oslobađanju ribozoma nakon završetka biosinteze proteina. Dodatno, smanjena ekspresija ribozomskog inhibitora A, koji poseduje anti-miskodirajuću aktivnost i učestvuje u opštoj adaptaciji translacionog aparata na stresne uslove sredine (Agafonov and Spirin, 2004), zajedno sa prethodno navedenim promenama, jasno ukazuje na ozbiljno narušenu strukturu i funkciju sistema za biosintezu proteina kod PFOA-tretiranog *P. chlororaphis*.

U prisustvu PFOA kod *P. chlororaphis* došlo je do pojačane sinteze enzima odgovornih za produkciju glutamata i za biosintezu baznih aminokiselina, histidina, arginina i ornitina (Tabela 18). Produkcija L-glutamata bila je povećana kod ćelija tretiranih sa PFOA, usled povišene ekspresije urokanat hidrataze i formimidolglutamat deiminaze, kao i jedinstveno identifikovane dTDP-4-amino-4,6-dideoksigalaktoza transaminaze (Tabor and Wyngarden, 1959). Glutamin sintetaza, koja katalizuje pretvaranje glutamata u glutamin, takođe je bila povišeno eksprimirana. Pored uloge u sintezi proteina i energetskom metabolizmu, glutamat može delovati i kao signalni molekul, utičući na pokretljivost, formiranje biofilma i osmoregulaciju (Csonka and Hanson, 1991).

Sa druge strane, ornitin dekarboksilaza i pirolin-5-karboksilat reduktaze (koje katalizuju poslednji korak biosinteze prolina redukcijom 1-pirolin-5-karboksilata, nastalog iz L-ornitina i 2-oksoglutarata), povezane sa L-ornitinom, bile su smanjeno eksprimirane. Izražena smanjena ekspresija enzima uključenih u biosintezu prolina ukazuje na potrebu očuvanja L-ornitina, za koji je poznato da podstiče formiranje biofilma i deluje kao hemoatraktant kod roda *Pseudomonas* (Dhodary *et al.*, 2022; Xu *et al.*, 2024). Može se pretpostaviti da ornitin signalizira dostupnost drugih nutrijenata, usmeravajući bakterije ka manje toksičnim područjima ili izvorima hranljivih materija, što je u skladu sa činjenicom da većina poznatih hemoreceptora posreduje hemotaksiju ka jedinjenjima metaboličke vrednosti (Matilla, Gavira and Krell, 2023).

Enzim u metaboličkom putu arginin sukciniltransferaze (eng. *arginine succinyltransferase*, AstA), N-sukcinilarginin dihidrolaza, bio je povišeno eksprimiran u PFOA-tretiranom *P. chlororaphis*. Povišeno eksprimirana arginin deiminaza učestvuje u degradaciji L-arginina, dok je histidin amonijum-lijaza uključena u razgradnju L-histidina. HisF subjedinica imidazol-glicerol-fosfat sintetaze i histidinol dehidrogenaza učestvuju u biosintezi L-histidina. Razgradnja L-arginina katalizovana arginin-deiminazom, čija je ekspresija povećana u ovom istraživanju, može predstavljati neredoksni put produkcije ATP-a, aktiviran u različitim stresnim uslovima (White, 2000). U uslovima ograničenog prisustva kiseonika, kao što su dublji slojevi biofilma, arginin može predstavljati značajnu alternativu kao izvor energije (Izrael Živković *et al.*, 2023). L-glutamat nastao degradacijom L-histidina može se, nakon konverzije u α -ketoglutarat, uključiti u TCA ciklus. Povećana ekspresija više enzima biosinteze L-histidina ukazuje na ukupno povećanu potrebu ćelije za histidinom kod PFOA tretiranog *P. chlororaphis*.

U PFOA tretiranim ćelijama zabeležena je izražena smanjena ekspresija, histonu-sličnih proteina (HU), koji se vezuju za dezoksiribonukleinsku kiselinu (DNK) (HU, HU-beta i HU oblik N). HU, se mogu vezivati za ekstracelularnu DNK i interagovati sa fosfatnim grupama u lipopolisaharidima (LPS), olakšavajući adheziju bakterija za DNK i formiranje biofilma (Thakur *et al.*, 2021). Navedeni autori ukazuju da se LPS i DNK takmiče u vezivanje za HU proteine. Smanjena ekspresija HU ne samo da ukazuje na otežanu agregaciju LPS-a usled njegove smanjene dostupnosti, već i na strukturne promene LPS-a izazvane prisustvom PFOA.

RecA protein je ključan u popravci i održavanju DNK, kao i brojnih transkripcionih regulatora koji modulišu transkripciju skupova gena. Smanjenjem ekspresije ovog ATP-zavisnog proteina, *P. chlororaphis* na izlaganje PFOA odgovara smanjenom popravkom DNK, opšteg stresnog odgovora i virulentnosti (Aranda *et al.*, 2011). Brojni transkripcioni regulatori koji modulišu ekspresiju skupova gena (Tabela 18) verovatno odražavaju metaboličko reprogramiranje ćelije, uključujući aktivaciju 2-metilcitratnog i glikosilatnog ciklusa, promene u biosintezi masnih kiselina i ugljenih hidrata, kao i izmene u respiratornoj aktivnosti i rastu ćelija, što potvrđuju rezultati ovog istraživanja.

4.3.6.5. Modulacija metabolizma ključnih biomolekula

Enzimi uključeni u TCA ciklus, AcnB i AcnA, enzimi specifični za metilcitratni ciklus, 2-metilcitrat sintaza i metilizocitrat lijaza, kao i enzim glioksilatnog ciklusa, malat sintetaza, bili su povišeno eksprimirani (Tabela 19).

P. chlororaphis tretirana PFOA pokazala je smanjenu respiraciju u poređenju sa kontrolom (Slika 32), što je u skladu sa izraženom smanjenom ekspresijom citohrom c oksidaze (hemoproteina respiratornog lanca), kao i alfa i delta subjedinica ATP sintaze. Međutim, NADH–hinon oksidoreduktaza, koja prenosi elektrone sa NADH preko flavin-mononukleotida (engl. flavin mononucleotide, FMN) i gvožđe-sumpornih (Fe-S) centara na hinone u respiratornom lancu, bila je povišeno eksprimirana.

Kao odgovor na izlaganje PFOA, dolazi do aktivacije glikogenolize, Entner–Doudoroffovog puta i pentozno-fosfatnog puta kod *P. chlororaphis* (Slika 38). Enzimi odgovorni za metabolizam ugljenih hidrata uglavnom su bili povišeno eksprimirani, 2-dehidro-3-deoksi-fosfoglukonat aldolaza i fosfoglukonat dehidrataza iz Entner–Doudoroff metaboličkog puta, kao i fosfoglukomutaza, koja katalizuje međukonverziju glukoza-1-fosfata i glukoza-6-fosfata tokom glikogenolize. Enzimi pentozofosfatnog puta takođe su bili pod uticajem izlaganja PFOA, 6-fosfoglukonat dehidrogenaza bila je povišeno eksprimirana, dok je 6-glukonolaktonaza bila smanjeno eksprimirana (Tabela 19). Pentozno-fosfatni put može obezbediti ribozu i/ili NADPH, u zavisnosti od ćelijskih uslova.

Pojačana ekspresija enzima uključenih u katabolizam lipida kroz β -oksidaciju masnih kiselina ukazuje na povećanu produkciju acetyl-CoA, koji ulazi u TCA ciklus, kao i povećanu proizvodnju redukujućih NADH i FADH₂ (eng. flavin adenine dinucleotide (reduced form), FADH₂), koji se koriste za generisanje energije (Slika 38). S druge strane, nekoliko pojačano eksprimiranih enzima uključenih u biosintezu masnih kiselina ukazuje na pojačanu sintezu lipidnih struktura, posebno dugolančanih masnih kiselina potrebnih za sintezu membrane i/ili skladištenje energije.

Povećana ekspresija uočena je kod enzima uključenih u katabolizam lipida putem β -oksidacije masnih kiselina, ukazuje na povećanu produkciju acetyl-CoA, koji ulazi u TCA ciklus, enoil-CoA hidrataza, kao i povećanu proizvodnju redukujućih NADH i FADH₂, koji se koriste za generisanje energije (Slika 38). Takođe je povišeno eksprimirana beta-ketoacil-ACP sintaza I, enzim biosinteze masnih kiselina (Tabela 19).

Nasuprot tome, acil-dehidrataza koja je neophodna za uvođenje *cis*-nezasićenosti u masne kiseline putem dehidratacije, je bila smanjeno ekspresirana. Smanjena ekspresija acil-dehidrataze, odgovorne za uvođenje nezasićenosti u masne kiseline, odražava moguću promenu fluidnosti membrane kod ćelija tretiranih PFOA. Acilni lanci ulaze u sastav fosfolipida koji su odgovorni za homeoviskoznu adaptaciju. Slično, pojačana ekspresija biosinteze masnih kiselina u *E. coli* tokom izlaganja PFOA smatra se jednim od glavnih regulatornih događaja koji kontrolišu homeostazu membrane (Yang *et al.*, 2017).

Membranski lipidi su takođe bili zahvaćeni promenama, što potvrđuje povišena ekspresija fosfoglicerol transferaze MdoB i dva lipoproteina. Dva lipoproteina, čija je ekspresija pojačana, učestvuju u sastavljanju transportnog proteina D za LPS i samih LPS-a u spoljašnjoj membrani, koji može služiti kao mesto prepoznavanja LPS-a. Fosfolipidi kao i LPS utiču na funkcije membrane, posebno na pasivnu propustljivost hidrofobnih molekula, aktivni transport i interakcije protein–protein (Yang *et al.*, 2017). Yang i sar. (2017) takođe navode da izmenjeni metabolizam lipida, energije i ugljenih hidrata zajedno utiče na održavanje homeostaze membrane kako bi se izborila sa stresom izazvanim PFOA u *E. coli*.

4.3.6.6. Odgovor virulentnosti

Poznato je da je odgovor virulentnosti kod roda *Pseudomonas* strategija koja se koristi u borbi protiv izlaganja toksinima (Izrael Živković *et al.*, 2023). Pored toga, hemotaksija, zajedno sa pokretljivošću i formiranjem biofilma, neophodna je za punu virulentnost (Schwarzer, Fischer and Machen, 2016).

Izlaganje *P. chlororaphis* PFOA je indukovalo odgovor virulentnosti, koji je obuhvatao izmenjenu produkciju siderofora (Slika 35, 36), diferencijalnom ekspresijom 14 proteina povezanih sa sintezom flagela i 15 proteina uključenih u hemotaksiju i formiranje biofilma, kao i promenama u ekspresiji β -laktamaze, periplazmatskog inhibitora c-tipa lizozima, fosfolipaze, kao i 2,6 puta povećanu aktivnost ekstracelularne lipaze (Tabela 16). Smanjena ekspresija beta-laktamaze i inhibitora lizozima može ukazivati na oslabljenu odbranu, što je u skladu sa izmerenom smanjenom ekspresijom transkripcionih regulatora SlyA i MarR, uključenih u kontrolu ekspresije faktora virulentnosti.

Međutim, jedinstveno detektovan lipoprotein povezan sa produkcionim sistemom tipa VI, TagQ, pojačana ekspresija fosfolipaze i povećana aktivnost lipaze, kao i produkcija pioverdina, mogu ukazivati na povećanu invazivnu sposobnost *P. chlororaphis* tretirane PFOA. Pioverdin doprinose bakterijskoj patogenezi tako što se efikasno nadmeću sa mehanizmima domaćina za vezivanje gvožđa i podržavaju formiranje biofilma (Banin, Vasil and Greenberg, 2005). Očigledno je da PFOA izaziva izmenjenu regulaciju proteina povezanih sa virulentnošću, što ukazuje na značajan uticaj ove supstance na *P. chlororaphis*.

Tabela 16 prikazuje povišenu ekspresiju metil-akceptorskih proteina hemotaksije sa PAS domenom, koji je uključen u detekciju promena redoks potencijala i nivoa kiseonika, zajedno sa flagelarnim kukastim proteinom FlgE i proteinom FliT uključenim u sklapanje flagela, koji su bili prisutni isključivo u kulturi tretiranoj PFOA.

Pored toga, regulator odgovora hemotaksije CheY (eng. chemotaxis response regulator), koji učestvuje u prenosu senzorskih signala sa hemoreceptora na flagelarne motore, kao i FleQ (eng. flagellar master regulator), glavni regulator flagela i transkripcioni aktivator, bili su smanjeno ekspresirani u ćelijama tretiranim PFOA.

Pojava većeg broja proteina povezanih sa flagelama i hemotaksijom ukazuje na izraženu sposobnost *P. chlororaphis* da naseljava različite sredine, krećući se ka ili od određenih faktora okoline, što joj može dati kompetitivnu prednost u različitim staništima (Xu *et al.*, 2024). Povećana hemotaksija i izmenjena pokretljivost flagela kod *P. chlororaphis* izložene PFOA jasno su naznačene pojačanom ekspresijom

proteina FlgE, FlhT i PAS hemotaksijskih proteina. S druge strane, smanjena ekspresija CheY i FleQ kod *P. chlororaphis* tretirane PFOA ukazuje na adaptivni odgovor na složene uslove sredine, u kojima atraktanti možda nisu korisni, što dovodi do toga da se bakterije oslanjaju na hemotaksiju kako bi pronašle povoljnije uslove za rast (Zhang *et al.*, 2019). Izmenjena hemotaksija kod *E. coli* tretirane PFOA takođe je ranije zabeležena (Yang *et al.*, 2017).

Odbrambeni potencijal *P. chlororaphis* izložene PFOA ogledao se i u pojačanoj produkciji enzima uključenih u razgradnju izohinolinskih jedinjenja, kao i u intenziviranom metabolizmu aromatičnih jedinjenja, što je prikazano u Tabeli 19.

5. Zaključak

Izuzetna hemijska stabilnost PFAS, koja proističe iz snažnih ugljeniko-fluorovih veza, omogućava im da opstanu u atmosferi, vodi, zemljištu i otpadnim vodama gotovo neograničeno dugo, što je tokom decenija industrijske upotrebe dovelo do globalnog zagađenja životne sredine. Izvori ovog zagađenja su brojni i raznovrsni; od fabrika koje proizvode ili prerađuju PFAS jedinjenja i pri tome oslobađaju ove hemikalije putem industrijskih emisija, prosipanja i ispuštanja neprečišćenih otpadnih voda, do široke potrošačke upotrebe u tekstilnoj, prehrambenoj, farmaceutske i elektronske industriji. Krajnja posledica svega navedenog jeste da se PFAS jedinjenja danas mogu detektovati u izvorima pijaće vode, morskim organizmima, arktičkom ledu, pa i u krvi i tkivima ljudi koji nikada nisu bili neposredno izloženi industrijskim izvorima zagađenja. Epidemiološke studije su povezale izloženost PFAS jedinjenjima sa nizom štetnih zdravstvenih efekata, uključujući hormonske poremećaje, imunosupresiju, hepatotoksičnost i povišen rizik od određenih vrsta karcinoma. PFOA, kao jedan od najrasprostranjenijih i najdetaljnije proučavanih predstavnika ove grupe, detektovana je u površinskim i podzemnim vodama, sedimentima, pa čak i u serumu i majčinom mleku ljudi na svim kontinentima. Uprkos globalnim regulatornim naporima i postepenom povlačenju iz industrijske upotrebe, PFOA i srodni predstavnici ove grupe i dalje predstavljaju aktuelan i rastuć problem za upravljanje vodnim resursima. Razvoj pouzdanih, efikasnih i skalabilnih metoda remedijacije kontaminiranih voda stoga ima ne samo naučni, već i neposredan zdravstveni i ekološki značaj.

U okviru ove doktorske disertacije su, koristeći PFOA kao model jedinjenje, sistematski ispitana tri komplementarna pristupa remedijaciji voda kontaminiranih PFAS jedinjenjima: adsorpcija, fotokataliza i mikrobiološke transformacije. Na taj način je formiran sveobuhvatan naučni okvir koji objedinjuje fizičko-hemijske i biološke aspekte ove kompleksne problematike.

U prvom istraživačkom segmentu ispitana je efikasnost adsorpcije PFOA na dva sorbenta, praškastom aktivnom uglju (K/B) i jonoizmenjivačkoj smoli Amberlite IRA 402, primenom četiri dvoparametarska izotermna modela: Langmuirovog, Freundlichovog, Temkinovog i Dubinin-Radushkevich modela. Sva četiri modela su primenjena sa ciljem razjašnjavanja mehanizma adsorpcije, a ne samo kvantifikacije kapaciteta. Rezultati su pokazali da Langmuirov model, koji pretpostavlja monoslojnu adsorpciju na homogenoj površini, odgovara eksperimentalnim podacima samo pri niskim koncentracijama PFOA, dok pri višim koncentracijama dolazi do značajnih odstupanja. Ovo ukazuje na to da se adsorpcija ne odvija isključivo unutar jednog sloja, već da postoje složenije interakcije na površini sorbenta. Freundlichov model, koji opisuje višeslojnu adsorpciju na heterogenoj površini, pokazao je nešto bolje slaganje, a vrednosti konstante $1/n$ (između 0,28 i 0,85) ukazuju na povoljnu adsorpciju, naročito pri nižim temperaturama, što dodatno naglašava heterogeni karakter adsorpcionih mesta. Temkinov model se pokazao kao najprikladniji za oba sorbenta na svim ispitivanim temperaturama, ukazujući na egzoterman proces i višeslojnu adsorpciju, dok su vrednosti Dubinin-Radushkevich modela, sa energijama adsorpcije ispod 8 kJ/mol, potvrdile da dominantni mehanizam predstavlja fizisorpcija. Generalni zaključak prvog istraživačkog dela jeste da se adsorpcija PFOA na K/B i IRA 402 odvija primarno putem fizisorpcije, uz višeslojnu adsorpciju na heterogenoj površini, pri čemu K/B pokazuje nešto veći adsorpcioni kapacitet za PFOA u poređenju sa IRA 402. Ovi rezultati ne samo da potvrđuju visok potencijal oba materijala za praktičnu primenu u tretmanu voda kontaminiranih PFAS jedinjenjima, već i pružaju mehanistički uvid koji je neophodan za racionalni dizajn adsorpcionih sistema u realnim uslovima.

Drugi segment ovog istraživanja posvećen je razvoju i karakterizaciji naprednih fotokatalitičkih materijala za degradaciju PFOA, sa posebnim fokusom na imobilizovane premaze na bazi TiO_2 i rGO-dopiranog TiO_2 sintetisane PEO metodom na titanijumskim supstratima. Ovakav pristup je naučno posebno značajan jer prvi put demonstrira primenu PEO metode za sintezu imobilisanih fotokatalizatora

namenjenih razgradnji PFAS jedinjenja, čime se prevazilazi ključni nedostatak suspendovanih fotokatalitičkih sistema, kao što su otežana separacija i potencijalno sekundarno zagađenje. Detaljna fizičko-hemijska karakterizacija pokazala je da svi dobijeni premazi poseduju visoku površinsku homogenost i čipkaste teksture malih zrna, dok je XPS analiza potvrdila formiranje Ti–O, Ti–C, Ti–O–C i P–O–Ti veza, što ukazuje na stvarnu hemijsku interakciju između rGO i TiO₂, a ne samo fizičku mešavinu komponenti. Smanjenje širine energetskog procepa sa povećanjem sadržaja rGO, utvrđeno difuzionom refleksionom spektroskopijom, direktna je posledica ove interakcije i mehanistički objašnjava poboljšanu fotoaktivnost. Fotokatalitička aktivnost povećavala se u nizu $\text{Ti/TiO}_2 < \text{Ti/TiO}_2\text{--rGO}(1) < \text{Ti/TiO}_2\text{--rGO}(10)$, što se pripisuje sinergijskom efektu rGO i TiO₂, gde rGO deluje kao zamka za elektrone, smanjuje rekombinaciju elektronsko-šupljinskih parova i povećava broj kiseoničnih vakanci koje unapređuju adsorpciju PFOA na površini katalizatora. Identifikovani produkti degradacije, PFHpA, PFHxA, PFPeA i slobodni fluoridni joni, potvrđuju da se razgradnja odvija postepenim skraćivanjem perfluorovanog lanca. Ekotoksikološki test kojim je utvrđeno smanjenje toksičnosti tretiranih rastvora dodatno podupire praktičnu primenljivost ovih materijala.

Treći istraživački segment proširio je dosadašnje razumevanje PFAS jedinjenja u životnoj sredini sagledavanjem biološkog aspekta, konkretno, ispitivanjem adaptacionih mehanizama bakterije *Pseudomonas chlororaphis* podvrsta *aurantiaca* pri izlaganju PFOA. Usporeni rast i produžena lag faza uočeni u kulturama izloženim PFOA jasni su pokazatelji stresnog odgovora ćelija. Komparativna proteomska analiza otkrila je sveobuhvatne promene koje obuhvataju modifikacije u strukturi i funkciji ćelijske membrane, poremećaje homeostaze gvožđa i metalnih jona uopšte, kao i promene u centralnim metaboličkim putevima, naročito u metabolizmu lipida. Posebno je značajno povećano formiranje ROS i aktivacija antioksidativnih odbrambenih mehanizama, što ukazuje na oksidativni stres kao ključnu komponentu toksičnog delovanja PFOA na prokariotske ćelije. Pored toga, PFOA izaziva promene u odgovoru virulencije bakterije, što ima šire ekološke implikacije kada je reč o interakcijama mikroorganizama u kontaminiranim sredinama. Ovi nalazi pružaju mehanistički temelj za razumevanje kako mikroorganizmi preživljavaju u prisustvu PFAS jedinjenja i mogu poslužiti kao polazna osnova za razvoj biotehnoloških strategija remedijacije zasnovanih na mikroorganizmima prilagođenim ili inženjerski modifikovanim za razgradnju ovih persistentnih zagađivača.

Posmatrano u celini, rezultati ove doktorske disertacije formiraju sveobuhvatan doprinos oblasti remedijacije PFAS jedinjenja iz voda. Adsorpcija na aktivnom uglju i jonoizmenjivačkim smolama potvrđena je kao pouzdana, brzo primenljiva metoda za uklanjanje PFOA, sa jasno definisanim mehanizmima koji omogućavaju dalje optimizovanje. Za razliku od adsorpcijskih metoda koje zagađenje prenose sa jednog nosača na drugi, fotokatalitička degradacija primenom rGO-dopiranih TiO₂ premaza omogućava stvarnu razgradnju PFOA, a upravo sinergijsko dejstvo između rGO i TiO₂ pokazalo se kao ključni faktor koji određuje ukupnu efikasnost ovog procesa. Biološka istraživanja otvaraju perspektivu mikrobiološki posredovane remedijacije i ukazuju na kompleksnost interakcija između PFAS jedinjenja i živih organizama na molekularnom nivou. Kombinovanje ovih pristupa, fizičke adsorpcije, hemijske razgradnje i biološke adaptacije, predstavlja najracionalniji put ka razvoju integrisanih sistema za tretman voda kontaminiranih PFAS jedinjenjima, koji bi bili primenljivi kako u komunalnim postrojenjima za prečišćavanje, tako i u remedijaciji industrijski zagađenih lokaliteta.

6. Literatura

- Abdul Aziz, M. *et al.* (2021) 'Plant Group II LEA Proteins: Intrinsically Disordered Structure for Multiple Functions in Response to Environmental Stresses', *Biomolecules*, 11(11), p. 1662. Available at: <https://doi.org/10.3390/biom11111662>.
- Agafonov, D.E. and Spirin, A.S. (2004) 'The ribosome-associated inhibitor A reduces translation errors', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 320(2), pp. 354–358. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2004.05.171>.
- Ahrens, L. *et al.* (2025) 'Removal of perfluoroalkyl substances (PFAS) from different water types by techniques based on anion exchange (AIX), powdered activated carbon (PAC), iron(III) chloride and nanofiltration (NF) membrane – A systematic comparison', *Science of The Total Environment*, 970, p. 179004. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.179004>.
- Ahrens, L. and Bundschuh, M. (2014) 'Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: A review', *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(9), pp. 1921–1929. Available at: <https://doi.org/10.1002/etc.2663>.
- Ali, G. *et al.* (2024) 'Template-free hierarchical TiO₂/rGO nanocomposites for enhanced photocatalytic performance', *Chemical Physics Letters*, 848, p. 141372. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2024.141372>.
- Aranda, J. *et al.* (2011) 'Acinetobacter baumannii RecA Protein in Repair of DNA Damage, Antimicrobial Resistance, General Stress Response, and Virulence', *Journal of Bacteriology*, 193(15), pp. 3740–3747. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.00389-11>.
- Arias Espana, V.A., Mallavarapu, M. and Naidu, R. (2015) 'Treatment technologies for aqueous perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA): A critical review with an emphasis on field testing', *Environmental Technology & Innovation*, 4, pp. 168–181. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2015.06.001>.
- Arvaniti, O.S. *et al.* (2015) 'Reductive degradation of perfluorinated compounds in water using Mg-aminoclay coated nanoscale zero valent iron', *Chemical Engineering Journal*, 262, pp. 133–139. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.09.079>.
- Banin, E., Vasil, M.L. and Greenberg, E.P. (2005) 'Iron and Pseudomonas aeruginosa biofilm formation', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(31), pp. 11076–11081. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0504266102>.
- BEERS, R.F. and SIZER, I.W. (1952) 'A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase.', *The Journal of biological chemistry*, 195(1), pp. 133–40. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14938361>.
- Bell, A. and Hancock, R.E. (1989) 'Outer membrane protein H1 of Pseudomonas aeruginosa: purification of the protein and cloning and nucleotide sequence of the gene', *Journal of Bacteriology*, 171(6), pp. 3211–3217. Available at: <https://doi.org/10.1128/jb.171.6.3211-3217.1989>.
- Benaafi, M. and Bafaqeer, A. (2024) 'Comprehensive Review of Global Perspectives on Per- and Polyfluoroalkyl Compounds: Occurrence, Fate, and Remediation in Groundwater Systems', *Water*, 16(11), p. 1583. Available at: <https://doi.org/10.3390/w16111583>.
- Bentel, M.J. *et al.* (2019) 'Defluorination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) with Hydrated Electrons: Structural Dependence and Implications to PFAS Remediation and Management', *Environmental Science & Technology*, 53(7), pp. 3718–3728. Available at:

<https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06648>.

Berhanu, A. *et al.* (2023) 'A review of microbial degradation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): Biotransformation routes and enzymes', *Science of The Total Environment*, 859, p. 160010. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.160010>.

Bharal, B. *et al.* (2024) 'Neurotoxicity of per- and polyfluoroalkyl substances: Evidence and future directions', *Science of The Total Environment*, 955, p. 176941. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.176941>.

Bradford, M.M. (1976) 'A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.', *Analytical biochemistry*, 72, pp. 248–54. Available at: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3).

Brennan, N.M. *et al.* (2021) 'Trends in the Regulation of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS): A Scoping Review', *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(20), p. 10900. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijerph182010900>.

Cai, Y. *et al.* (2020) 'Metagenomic analysis of soil microbial community under PFOA and PFOS stress', *Environmental Research*, 188, p. 109838. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109838>.

Chen, J. *et al.* (2025) 'Per- and poly-fluoroalkyl substances (PFAS) in water matrices impacted by industrial activities: Challenges and treatment strategies', *Journal of Hazardous Materials Advances*, 20, p. 100920. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2025.100920>.

Chen, M.-J. *et al.* (2015) 'Photocatalytic decomposition of perfluorooctanoic acid by transition-metal modified titanium dioxide', *Journal of Hazardous Materials*, 288, pp. 168–175. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.004>.

Costa, N.A. *et al.* (2025) 'Effect of NaOH etching and oxygen plasma treatments on surface characteristics and their potential to activate micro-arc oxidized TiO₂ coatings', *Applied Surface Science*, 682, p. 161748. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2024.161748>.

Cox, J. *et al.* (2011) 'Andromeda: A Peptide Search Engine Integrated into the MaxQuant Environment', *Journal of Proteome Research*, 10(4), pp. 1794–1805. Available at: <https://doi.org/10.1021/pr101065j>.

Csonka, L.N. and Hanson, A.D. (1991) 'PROKARYOTIC OSMOREGULATION: Genetics and Physiology', *Annual Review of Microbiology*, 45(1), pp. 569–606. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev.mi.45.100191.003033>.

Cui, H.-L. *et al.* (2026) 'Molecular bioindicators for assessing environmental impacts of emerging contaminants', *Fundamental Research* [Preprint]. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fmre.2026.03.011>.

Dhodary, B. *et al.* (2022) 'The Arginine Catabolism-Derived Amino Acid l-ornithine Is a Chemoattractant for *Pseudomonas aeruginosa*', *Microorganisms*, 10(2), p. 264. Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020264>.

Dixit, F. *et al.* (2021) 'PFAS removal by ion exchange resins: A review', *Chemosphere*, 272, p. 129777. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.129777>.

Dobrzyńska, E., Wasilewski, P. and Pośniak, M. (2025) 'Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs): A Comprehensive Review of Environmental Distribution, Health Impacts, and Regulatory Landscape', *Applied Sciences*, 15(22), p. 11884. Available at: <https://doi.org/10.3390/app152211884>.

- Dodds, J.N. *et al.* (2021) 'From Pesticides to Per- and Polyfluoroalkyl Substances: An Evaluation of Recent Targeted and Untargeted Mass Spectrometry Methods for Xenobiotics', *Analytical Chemistry*, 93(1), pp. 641–656. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c04359>.
- Duan, L. *et al.* (2022) 'Titanium oxide improves boron nitride photocatalytic degradation of perfluorooctanoic acid', *Chemical Engineering Journal*, 448, p. 137735. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.137735>.
- Dubbs, J.M. and Mongkolsuk, S. (2007) 'Peroxiredoxins in Bacterial Antioxidant Defense', in, pp. 143–193. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6051-9_7.
- Ebrahimi, S. *et al.* (2019) 'Improving optoelectrical properties of photoactive anatase TiO₂ coating using rGO incorporation during plasma electrolytic oxidation', *Ceramics International*, 45(2), pp. 1746–1754. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.10.057>.
- Ernst, R.K. *et al.* (2006) 'The Pseudomonas aeruginosa Lipid A Deacylase: Selection for Expression and Loss within the Cystic Fibrosis Airway', *Journal of Bacteriology*, 188(1), pp. 191–201. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.188.1.191-201.2006>.
- Essar, D.W. *et al.* (1990) 'Identification and characterization of genes for a second anthranilate synthase in Pseudomonas aeruginosa: interchangeability of the two anthranilate synthases and evolutionary implications.', *Journal of bacteriology*, 172(2), pp. 884–900. Available at: <https://doi.org/10.1128/jb.172.2.884-900.1990>.
- Estrella-Pajulas, L.L. and Gamala, B.J.I. (2024) 'A review on the synthesis, characterization, and recent advancements of visible light-activated C-TiO₂ nanomaterials for environmental remediation', *Next Nanotechnology*, 6, p. 100082. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.nxnano.2024.100082>.
- Fernandes, R.J.C. *et al.* (2025) 'Potential of photocatalytic nanomaterials for PFOA and PFOS degradation: Challenges and opportunities', *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 13(1), p. 115201. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2024.115201>.
- Gaber, N., Bero, L. and Woodruff, T.J. (2023) 'The Devil they Knew: Chemical Documents Analysis of Industry Influence on PFAS Science', *Annals of Global Health*, 89(1). Available at: <https://doi.org/10.5334/aogh.4013>.
- Gaines, L.G.T. (2023) 'Historical and current usage of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): A literature review', *American Journal of Industrial Medicine*, 66(5), pp. 353–378. Available at: <https://doi.org/10.1002/ajim.23362>.
- Gajić, B. *et al.* (2026) 'Nitrogen-driven photocatalysis in carbonized PANI/TiO₂ nanocomposites: mechanistic insights into lindane and methyl orange degradation', *Applied Surface Science*, 748, p. 167799. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2026.167799>.
- Giesy, J.P. and Kannan, K. (2002) 'Peer Reviewed: Perfluorochemical Surfactants in the Environment', *Environmental Science & Technology*, 36(7), pp. 146A-152A. Available at: <https://doi.org/10.1021/es022253t>.
- Gomez-Ruiz, B. *et al.* (2018) 'Photocatalytic degradation and mineralization of perfluorooctanoic acid (PFOA) using a composite TiO₂ -rGO catalyst', *Journal of Hazardous Materials*, 344, pp. 950–957. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.11.048>.
- González-Rubio, S. *et al.* (2021) 'A review on contaminants of emerging concern in European raptors (2002–2020)', *Science of The Total Environment*, 760, p. 143337. Available at:

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143337>.

Guan, N. *et al.* (2017) 'Microbial response to environmental stresses: from fundamental mechanisms to practical applications', *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(10), pp. 3991–4008. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8264-y>.

Hamandi, M. *et al.* (2017) 'Influence of reduced graphene oxide on the synergism between rutile and anatase TiO₂ particles in photocatalytic degradation of formic acid', *Molecular Catalysis*, 432, pp. 125–130. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mcat.2017.01.003>.

Harris, B.A. *et al.* (2025) 'Enzymatic Degradation of PFAS: Current Status and Ongoing Challenges', *ChemSusChem*, 18(2). Available at: <https://doi.org/10.1002/cssc.202401122>.

Hazan, R. *et al.* (2016) 'Auto Poisoning of the Respiratory Chain by a Quorum-Sensing-Regulated Molecule Favors Biofilm Formation and Antibiotic Tolerance', *Current Biology*, 26(2), pp. 195–206. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2015.11.056>.

Holm, K.A. (1995) 'Automated determination of microbial peroxidase activity in fermentation samples using hydrogen peroxide as the substrate and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate) as the electron donor in a flow injection system', *The Analyst*, 120(8), pp. 2101–2105. Available at: <https://doi.org/10.1039/AN9952002101>.

Hori, H. *et al.* (2005) 'Efficient Decomposition of Environmentally Persistent Perfluorocarboxylic Acids by Use of Persulfate as a Photochemical Oxidant', *Environmental Science & Technology*, 39(7), pp. 2383–2388. Available at: <https://doi.org/10.1021/es0484754>.

Hu, Z., Li, H. and Yu, H. (2025) 'Study on the performance and mechanism of a p–n type In₂O₃/BiOCl heterojunction prepared using a sacrificial MOF framework for the degradation of PFOA', *RSC Advances*, 15(19), pp. 15029–15051. Available at: <https://doi.org/10.1039/D5RA01317H>.

Hussain, H.N. *et al.* (2025) 'Advances in the removal of Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) from water using destructive and non-destructive methods', *Green Analytical Chemistry*, 12, p. 100225. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.greeac.2025.100225>.

Ismail, U.M. and Tizaoui, C. (2025) 'A critical review of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in wastewater biosolids and sludge', *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 13(6), p. 120422. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.120422>.

Iyyappan, J. *et al.* (2024) 'Critical review on wastewater treatment using photo catalytic advanced oxidation process: Role of photocatalytic materials, reactor design and kinetics', *Case Studies in Chemical and Environmental Engineering*, 9, p. 100599. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cscee.2023.100599>.

Izrael Živković, L. *et al.* (2023) 'A comprehensive proteomics analysis of the response of *Pseudomonas aeruginosa* to nanoceria cytotoxicity', *Nanotoxicology*, 17(1), pp. 20–41. Available at: <https://doi.org/10.1080/17435390.2023.2180451>.

Jasper, E.E., Ajibola, V.O. and Onwuka, J.C. (2020) 'Nonlinear regression analysis of the sorption of crystal violet and methylene blue from aqueous solutions onto an agro-waste derived activated carbon', *Applied Water Science*, 10(6), p. 132. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13201-020-01218-y>.

Jiang, Y. *et al.* (2022) 'Improved efficiency of quantum dot sensitized solar cells based on TiO₂/rGO/TiO₂ photoanode', *Chemical Physics Letters*, 804, p. 139881. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2022.139881>.

- Junqué, E. *et al.* (2026) ‘Assessment of PFAS pollution in fish and water from the United Kingdom and Spain and implications for human exposure’, *Environmental Pollution*, 390, p. 127515. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2025.127515>.
- Juve, J.-M.A. *et al.* (2024) ‘Photocatalysts for chemical-free PFOA degradation – What we know and where we go from here?’, *Journal of Hazardous Materials*, 462, p. 132651. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132651>.
- Kannan, U. *et al.* (2026) ‘Short-chain PFAS: A global challenge - Environmental fate, health risks, and promising removal technologies’, *Results in Chemistry*, 20, p. 103000. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.rechem.2025.103000>.
- Karadzic, I. *et al.* (2006) ‘Purification and characterization of an alkaline lipase from *Pseudomonas aeruginosa* isolated from putrid mineral cutting oil as component of metalworking fluid’, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 102(2), pp. 82–89. Available at: <https://doi.org/10.1263/jbb.102.82>.
- Karbasi, M. *et al.* (2023) ‘A review on plasma electrolytic oxidation coatings for organic pollutant degradation: How to prepare them and what to expect of them?’, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 11(3), p. 110027. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.110027>.
- Khazdooz, L., Zarei, A. and Abbaspourrad, A. (2025) ‘Synthesis of an anion exchange resin for enhanced PFAS adsorption in water treatment’, *RSC Applied Polymers*, 3(4), pp. 885–896. Available at: <https://doi.org/10.1039/D5LP00035A>.
- Krahn, K.M. *et al.* (2023) ‘Sewage sludge biochars as effective PFAS-sorbents’, *Journal of Hazardous Materials*, 445, p. 130449. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.130449>.
- Kumar, R. *et al.* (2023) ‘Microbial and thermal treatment techniques for degradation of PFAS in biosolids: A focus on degradation mechanisms and pathways’, *Journal of Hazardous Materials*, 452, p. 131212. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131212>.
- Kurwadkar, S. *et al.* (2022) ‘Unregulated discharge of wastewater in the Mahanadi River Basin: Risk evaluation due to occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbon in surface water and sediments’, *Marine Pollution Bulletin*, 179, p. 113686. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.113686>.
- Lacerda, C.M.R., Choe, L.H. and Reardon, K.F. (2007) ‘Metaproteomic Analysis of a Bacterial Community Response to Cadmium Exposure’, *Journal of Proteome Research*, 6(3), pp. 1145–1152. Available at: <https://doi.org/10.1021/pr060477v>.
- LaFond, J.A. *et al.* (2023) ‘Bacterial transformation of per- and poly-fluoroalkyl substances: a review for the field of bioremediation’, *Environmental Science: Advances*, 2(8), pp. 1019–1041. Available at: <https://doi.org/10.1039/D3VA00031A>.
- Lashuk, B. *et al.* (2022) ‘Application of photocatalytic ozonation with a WO₃/TiO₂ catalyst for PFAS removal under UVA/visible light’, *Science of The Total Environment*, 843, p. 157006. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157006>.
- Lendewig, M. *et al.* (2025) ‘PFAS regulations and economic impact: A review of U.S. pulp & paper and textiles industries’, *Chemosphere*, 377, p. 144301. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2025.144301>.
- Lente, G. (2015) *Deterministic Kinetics in Chemistry and Systems Biology*. Cham: Springer International Publishing (SpringerBriefs in Molecular Science). Available at: <https://doi.org/10.1007/978-3-319->

- Leung, S.C.E. *et al.* (2022) 'Emerging technologies for PFOS/PFOA degradation and removal: A review', *Science of The Total Environment*, 827, p. 153669. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.153669>.
- Li, M. *et al.* (2016) 'Photocatalytic decomposition of perfluorooctanoic acid by noble metallic nanoparticles modified TiO₂', *Chemical Engineering Journal*, 286, pp. 232–238. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.10.037>.
- Li, S. and Mohseni, M. (2025) 'Enhanced removal of per- and poly-fluoroalkyl substances (PFAS) by modified clay: Adsorption behavior, simulation, and regeneration', *Colloids and Surfaces C: Environmental Aspects*, 3, p. 100083. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.colsuc.2025.100083>.
- Liang, J. *et al.* (2023) 'Research Updates on the Mechanism and Influencing Factors of the Photocatalytic Degradation of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) in Water Environments', *Molecules*, 28(11), p. 4489. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules28114489>.
- Lin, Zhi *et al.* (2024) 'Exploring the environmental contamination toxicity and potential carcinogenic pathways of perfluorinated and polyfluoroalkyl substances (PFAS): An integrated network toxicology and molecular docking strategy', *Heliyon*, 10(17), p. e37003. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e37003>.
- Liu, G. *et al.* (2016) 'Toxicity of perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid to *Escherichia coli*: Membrane disruption, oxidative stress, and DNA damage induced cell inactivation and/or death', *Environmental Pollution*, 214, pp. 806–815. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.04.089>.
- Liu, Y. (2014) 'Hydrothermal synthesis of TiO₂–RGO composites and their improved photocatalytic activity in visible light', *RSC Advances*, 4(68), p. 36040. Available at: <https://doi.org/10.1039/C4RA06342B>.
- Lješević, M. *et al.* (2026) 'Insights into adaptation mechanisms and survival strategies of *Pseudomonas chlororaphis* subsp. *aurantiaca*: A comparative proteomic study under PFOA exposure', *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 311, p. 119859. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2026.119859>.
- Mai, J. *et al.* (2026) 'Transport dynamics of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in a saturated flow cell: Impacts of intermittent flow, capillary fringe dynamics, and biochar amendment', *Journal of Hazardous Materials: Organics*, 2, p. 100008. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.hazmo.2025.100008>.
- Mallek, M. and Barcelo, D. (2026) 'Assessment of remediation technologies for the removal of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) from natural and treated waters and soil samples', *Chemical Engineering Journal*, 539, p. 177067. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2026.177067>.
- Marchiandi, J. *et al.* (2020) 'Characterising the effects of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) on health and disease: An opportunity for exposomics?', *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 15, pp. 39–48. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2020.05.006>.
- Mashima, R. (2025) 'Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS): History, Current Concerns, and Future Outlook', *Molecules*, 30(22), p. 4415. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules30224415>.
- Matilla, M.A., Gavira, J.A. and Krell, T. (2023) 'Accessing nutrients as the primary benefit arising from chemotaxis', *Current Opinion in Microbiology*, 75, p. 102358. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mib.2023.102358>.

McCleaf, P. *et al.* (2017) 'Removal efficiency of multiple poly- and perfluoroalkyl substances (PFASs) in drinking water using granular activated carbon (GAC) and anion exchange (AE) column tests', *Water Research*, 120, pp. 77–87. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.057>.

Medić, A. *et al.* (2022) 'A study of the flexibility of the carbon catabolic pathways of extremophilic *P. aeruginosa* strain exposed to benzoate versus glucose as sole carbon sources by multi omics analytical platform', *Microbiological Research*, 259, p. 126998. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.126998>.

Medić, A.B. and Karadžić, I.M. (2022) 'Pseudomonas in environmental bioremediation of hydrocarbons and phenolic compounds- key catabolic degradation enzymes and new analytical platforms for comprehensive investigation', *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 38(10), p. 165. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11274-022-03349-7>.

Meegoda, J.N., Mudalige, R.N. and Perera, D.C. (2026) 'Maximum Adsorption Capacity of Perfluorooctanoic Acid (PFOA) on Clays', *Environments*, 13(1), p. 37. Available at: <https://doi.org/10.3390/environments13010037>.

Meservey, A. *et al.* (2026) 'Competitive adsorption of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) on activated carbon: Impact of activated carbon and PFAS properties', *Journal of Hazardous Materials*, 505, p. 141462. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2026.141462>.

MEYER, J.M. and ABDALLAH, M.A. (1978) 'The Fluorescent Pigment of *Pseudomonas fluorescens*: Biosynthesis, Purification and Physicochemical Properties', *Journal of General Microbiology*, 107(2), pp. 319–328. Available at: <https://doi.org/10.1099/00221287-107-2-319>.

More, S.S. *et al.* (2011) 'Isolation, Purification, and Characterization of Fungal Laccase from *Pleurotus* sp.', *Enzyme Research*, 2011, pp. 1–7. Available at: <https://doi.org/10.4061/2011/248735>.

Nannaware, M., Mayilswamy, N. and Kandasubramanian, B. (2024) 'PFAS: exploration of neurotoxicity and environmental impact', *Environmental Science and Pollution Research*, 31(9), pp. 12815–12831. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11356-024-32082-x>.

Narasimhappa, P. *et al.* (2025) 'Environmental behavior and human health risks of PFAS: occurrence, toxicity, and the state-of-the-art removal approaches', *RSC Advances*, 15(52), pp. 44555–44583. Available at: <https://doi.org/10.1039/D5RA07672B>.

Nastasović, A. *et al.* (2022) 'Methacrylate-Based Polymeric Sorbents for Recovery of Metals from Aqueous Solutions', *Metals*, 12(5), p. 814. Available at: <https://doi.org/10.3390/met12050814>.

Naumann, A. *et al.* (2022) 'PFAS fluidize synthetic and bacterial lipid monolayers based on hydrophobicity and lipid charge', *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(2), p. 107351. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107351>.

Niu, Q. *et al.* (2024) 'Aerobic or anaerobic? Microbial degradation of per- and polyfluoroalkyl substances: A review', *Journal of Hazardous Materials*, 480, p. 136173. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.136173>.

Noori, M.T. *et al.* (2025) 'Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): An emerging environmental challenge and (microbial) bioelectrochemical treatment strategies', *Current Opinion in Environmental Science & Health*, 43, p. 100588. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.coesh.2024.100588>.

Noyes, T.S. *et al.* (2025) 'Per and polyfluoroalkyl substances affect thyroid hormones for people with a history of exposure from drinking water', *Scientific Reports*, 15(1), p. 12502. Available at:

<https://doi.org/10.1038/s41598-025-91977-y>.

Obiako, P., Sevcik, A. and Sayes, C.M. (2023) ‘Rapid enzymatic activity model (REAM) to decipher the toxic action of per- and polyfluoroalkyl substances’, *Food and Chemical Toxicology*, 182, p. 114117. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2023.114117>.

Omagamre, E.W. and Custer, G.F. (2025) ‘Digging deep: microbial PFAS-degradation in landfill sediments’, *Trends in Microbiology*, 33(7), pp. 709–712. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tim.2025.03.004>.

Ostheimer, G.J., Barkan, A. and Matthews, B.W. (2002) ‘Crystal Structure of E. coli YhbY’, *Structure*, 10(11), pp. 1593–1601. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(02\)00886-9](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(02)00886-9).

Panchangam, S.C. *et al.* (2018) ‘Facile fabrication of TiO₂-graphene nanocomposites (TGNCs) for the efficient photocatalytic oxidation of perfluorooctanoic acid (PFOA)’, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 6(5), pp. 6359–6369. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.10.003>.

Park, K., Ali, I. and Kim, J.-O. (2018) ‘Photodegradation of perfluorooctanoic acid by graphene oxide-deposited TiO₂ nanotube arrays in aqueous phase’, *Journal of Environmental Management*, 218, pp. 333–339. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.016>.

Perera, D.C. and Meegoda, J.N. (2024) ‘PFAS: The Journey from Wonder Chemicals to Environmental Nightmares and the Search for Solutions’, *Applied Sciences*, 14(19), p. 8611. Available at: <https://doi.org/10.3390/app14198611>.

Polychronidou, V. and Nag, R. (2025) ‘Human health risk assessment of Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS)’, *Science of The Total Environment*, 1000, p. 180428. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2025.180428>.

Presentato, A. *et al.* (2020) ‘On the Ability of Perfluorohexane Sulfonate (PFHxS) Bioaccumulation by Two Pseudomonas sp. Strains Isolated from PFAS-Contaminated Environmental Matrices’, *Microorganisms*, 8(1), p. 92. Available at: <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010092>.

Rani, L. *et al.* (2025) ‘Sustainable remediation strategies for emerging PFAS contaminants in water’, *RSC Advances*, 15(59), pp. 50963–50984. Available at: <https://doi.org/10.1039/D5RA05521K>.

Risha, Y. *et al.* (2020) ‘The proteomic analysis of breast cell line exosomes reveals disease patterns and potential biomarkers’, *Scientific Reports*, 10(1), p. 13572. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70393-4>.

Rispens, B. and Hendriks, A.J. (2024) ‘Towards process-based modelling and parameterisation of bioaccumulation in humans across PFAS congeners’, *Chemosphere*, 359, p. 142253. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.142253>.

Rivero, M.J. *et al.* (2020) ‘Comparative performance of TiO₂-rGO photocatalyst in the degradation of dichloroacetic and perfluorooctanoic acids’, *Separation and Purification Technology*, 240, p. 116637. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.116637>.

Rückbeil, F.E. *et al.* (2025) ‘Comparing activated carbons, ion exchange resins and alternative adsorbents for the removal of perfluoroalkyl and other persistent and mobile substances’, *Chemical Engineering Journal*, 516, p. 164070. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2025.164070>.

Ruidíaz-Martínez, M. *et al.* (2020) ‘Hydrothermal Synthesis of rGO-TiO₂ Composites as High-Performance UV Photocatalysts for Ethylparaben Degradation’, *Catalysts*, 10(5), p. 520. Available at:

<https://doi.org/10.3390/catal10050520>.

Sanzana, S. *et al.* (2025) “A review of PFAS remediation: Separation and degradation technologies for water and wastewater treatment”, *Journal of Water Process Engineering*, 74, p. 107793. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2025.107793>.

Schwarzer, C., Fischer, H. and Machen, T.E. (2016) ‘Chemotaxis and Binding of *Pseudomonas aeruginosa* to Scratch-Wounded Human Cystic Fibrosis Airway Epithelial Cells’, *PLOS ONE*. Edited by S. Ahmad, 11(3), p. e0150109. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150109>.

Shahid, M. and Shafi, Z. (2026) ‘Microbial and molecular approaches for PFAS transformation in soils: prospects and limitations’, *RSC Advances*, 16(5), pp. 4184–4203. Available at: <https://doi.org/10.1039/D5RA07508D>.

Shahsavari, E. *et al.* (2021) ‘Challenges and Current Status of the Biological Treatment of PFAS-Contaminated Soils’, *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.602040>.

Sikdar, S., Pathak, S. and K Ghorai, T. (2015) ‘Aqueous Phase Photodegradation Of Rhodamine B And P-nitrophenol Destruction Using Titania Based Nanocomposites’, *Advanced Materials Letters*, 6(10), pp. 867–873. Available at: <https://doi.org/10.5185/amlett.2015.5858>.

Sisay, Z., Li, Y. and Tabassum, S. (2025) ‘Biological treatment of Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in industrial wastewater and biosolids: A comprehensive review’, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 13(5), p. 118527. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2025.118527>.

Skinner, J.P. *et al.* (2025) ‘Biotransforming the “Forever Chemicals”: Trends and Insights from Microbiological Studies on PFAS’, *Environmental Science & Technology*, 59(11), pp. 5417–5430. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.est.4c04557>.

Sokol, P.A. (1986) ‘Production and utilization of pyochelin by clinical isolates of *Pseudomonas cepacia*’, *Journal of Clinical Microbiology*, 23(3), pp. 560–562. Available at: <https://doi.org/10.1128/jcm.23.3.560-562.1986>.

Spyrou, A., Vlastos, D. and Antonopoulou, M. (2024) ‘Evidence on the genotoxic and ecotoxic effects of PFOA, PFOS and their mixture on human lymphocytes and bacteria’, *Environmental Research*, 248, p. 118298. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118298>.

Standardization, I.O. for (2007) *ISO 11348 Water quality — Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test)*. Geneva.

Stockbridge, R.B. and Wackett, L.P. (2024) ‘The link between ancient microbial fluoride resistance mechanisms and bioengineering organofluorine degradation or synthesis’, *Nature Communications*, 15(1), p. 4593. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-024-49018-1>.

Stojadinović, S. *et al.* (2012) ‘Photocatalytic properties of TiO₂/WO₃ coatings formed by plasma electrolytic oxidation of titanium in 12-tungstosilicic acid’, *Applied Catalysis B: Environmental*, 126, pp. 334–341. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2012.07.031>.

Stojadinović, S. *et al.* (2016) ‘Structural, photoluminescent and photocatalytic properties of TiO₂:Eu³⁺ coatings formed by plasma electrolytic oxidation’, *Applied Surface Science*, 370, pp. 218–228. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.02.131>.

Stojadinović, S. *et al.* (2022) ‘Photocatalytic degradation of methyl orange in the presence of transition

metals (Mn, Ni, Co) modified TiO₂ coatings formed by plasma electrolytic oxidation', *Solid State Sciences*, 129, p. 106896. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.solidstatesciences.2022.106896>.

Stojadinović, S. and Radić, N. (2025) 'Photocatalytic activity of Al₂O₃:Eu²⁺ and Al₂O₃:Ce³⁺ coatings formed by plasma electrolytic oxidation of aluminum', *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 203, p. 112709. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2025.112709>.

Stojadinović, S., Radić, N. and Vasilić, R. (2023) 'High photocatalytic activity of TiO₂/Al₂TiO₅ coatings obtained by plasma electrolytic oxidation of titanium', *Materials Letters*, 338, p. 134069. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2023.134069>.

Stover, C.K. *et al.* (2000) 'Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen', *Nature*, 406(6799), pp. 959–964. Available at: <https://doi.org/10.1038/35023079>.

Sun, M. and Zigman, S. (1978) 'An improved spectrophotometric assay for superoxide dismutase based on epinephrine autoxidation', *Analytical Biochemistry*, 90(1), pp. 81–89. Available at: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90010-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90010-6).

Sun, Z. *et al.* (2023) 'Toxic effects of per- and polyfluoroalkyl substances on sperm: Epidemiological and experimental evidence', *Frontiers in Endocrinology*, 14. Available at: <https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1114463>.

Sutterlin, H.A., Zhang, S. and Silhavy, T.J. (2014) 'Accumulation of Phosphatidic Acid Increases Vancomycin Resistance in *Escherichia coli*', *Journal of Bacteriology*, 196(18), pp. 3214–3220. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.01876-14>.

Tabor, H. and Wyngarden, L. (1959) 'The Enzymatic Formation of Formiminotetrahydrofolic Acid, 5,10-Methenyltetrahydrofolic Acid, and 10-Formyltetrahydrofolic Acid in the Metabolism of Formiminoglutamic Acid', *Journal of Biological Chemistry*, 234(7), pp. 1830–1846. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)69935-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)69935-1).

Tang, C.Y. *et al.* (2007) 'Effect of Flux (Transmembrane Pressure) and Membrane Properties on Fouling and Rejection of Reverse Osmosis and Nanofiltration Membranes Treating Perfluorooctane Sulfonate Containing Wastewater', *Environmental Science & Technology*, 41(6), pp. 2008–2014. Available at: <https://doi.org/10.1021/es062052f>.

Tang, Y. and Guest, J.R. (1999) 'Direct evidence for mRNA binding and post-transcriptional regulation by *Escherichia coli* aconitases', *Microbiology*, 145(11), pp. 3069–3079. Available at: <https://doi.org/10.1099/00221287-145-11-3069>.

Thakur, A. *et al.* (2025) 'Comprehensive strategies for the remediation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): Mechanisms, technologies, and future perspectives', *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 306, p. 119374. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2025.119374>.

Thakur, B. *et al.* (2021) 'The DNA-binding protein HU is a molecular glue that attaches bacteria to extracellular DNA in biofilms', *Journal of Biological Chemistry*, 296, p. 100532. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2021.100532>.

Urbańska-Kozłowska, H., Wolska, M. and Solipiwo-Pieścik, A. (2025) 'An assessment of contaminations levels of source and tap water in light of the new EU Directive 2020/2184', *Desalination and Water Treatment*, 321, p. 101031. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2025.101031>.

Vásquez-Vivar, J., Kalyanaraman, B. and Kennedy, M.C. (2000) 'Mitochondrial Aconitase Is a Source

of Hydroxyl Radical', *Journal of Biological Chemistry*, 275(19), pp. 14064–14069. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.275.19.14064>.

Wackett, L.P. (2022) 'Nothing lasts forever: understanding microbial biodegradation of polyfluorinated compounds and perfluorinated alkyl substances', *Microbial Biotechnology*, 15(3), pp. 773–792. Available at: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13928>.

Wang, D.-Z. *et al.* (2016) 'Environmental Microbial Community Proteomics: Status, Challenges and Perspectives', *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8), p. 1275. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms17081275>.

Wang, W. *et al.* (2012) 'Enhanced photocatalytic activity of hierarchical macro/mesoporous TiO₂–graphene composites for photodegradation of acetone in air', *Applied Catalysis B: Environmental*, 119–120, pp. 109–116. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2012.02.035>.

Wee, S.Y. and Aris, A.Z. (2023) 'Environmental impacts, exposure pathways, and health effects of PFOA and PFOS', *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 267, p. 115663. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115663>.

White, D. (2000) *The Physiology and Biochemistry of Prokaryotes*. 2nd edn. New York, NY: Oxford University Press.

Woke, J.C. *et al.* (2025) 'Impact of coexisting nitrate and sulfate ions on per- and polyfluoroalkyl substances removal by anion exchange resins', *Chemical Engineering Science*, 318, p. 122126. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2025.122126>.

Wood, J.M. (2015) 'Bacterial responses to osmotic challenges', *Journal of General Physiology*, 145(5), pp. 381–388. Available at: <https://doi.org/10.1085/jgp.201411296>.

Xu, B. *et al.* (2017) 'Photocatalytic removal of perfluoroalkyl substances from water and wastewater: Mechanism, kinetics and controlling factors', *Chemosphere*, 189, pp. 717–729. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.09.110>.

Xu, Q. *et al.* (2024) 'Advancements in bacterial chemotaxis: Utilizing the navigational intelligence of bacteria and its practical applications', *Science of The Total Environment*, 931, p. 172967. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172967>.

Yadav, S., Propper, C.R. and Moreira, B.R.D.A. (2026) 'Not all biochar is equal: Feedstock-specific trade-offs for agricultural use under PFAS and trace contaminant realities', *Science of The Total Environment*, 1016, p. 181483. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2026.181483>.

Yamada, T. *et al.* (2005) 'Thermal degradation of fluorotelomer treated articles and related materials', *Chemosphere*, 61(7), pp. 974–984. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.03.025>.

Yan, R. *et al.* (2025) 'Inhibition of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* in coconut juice by graphene-doped photocatalyst rGO/TiO₂', *Food Chemistry*, 463, p. 141103. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.141103>.

Yang, M. *et al.* (2017) 'Influence of perfluorooctanoic acid on proteomic expression and cell membrane fatty acid of *Escherichia coli*', *Environmental Pollution*, 220, pp. 532–539. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.09.097>.

Yang, X. *et al.* (2022) 'Optimization of the adsorption and removal of Sb(III) by MIL-53(Fe)/GO using response surface methodology', *RSC Advances*, 12(7), pp. 4101–4112. Available at:

<https://doi.org/10.1039/D1RA08169A>.

Yates, B.J. *et al.* (2014) 'High-valent iron-based oxidants to treat perfluorooctanesulfonate and perfluorooctanoic acid in water', *Environmental Chemistry Letters*, 12(3), pp. 413–417. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10311-014-0463-5>.

Ye, D. *et al.* (2025) 'Biodegradation of per- and polyfluoroalkyl substances: microbes, enzymes and their interactions', *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 24(1), pp. 43–62. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11157-025-09721-x>.

Yi, L.B. *et al.* (2016) 'Isolation, identification, and degradation performance of a PFOA-degrading strain', *Genetics and Molecular Research*, 15(2). Available at: <https://doi.org/10.4238/gmr.15028043>.

Yuan, Y. *et al.* (2020) 'Rapid photochemical decomposition of perfluorooctanoic acid mediated by a comprehensive effect of nitrogen dioxide radicals and Fe³⁺/Fe²⁺ redox cycle', *Journal of Hazardous Materials*, 388, p. 121730. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121730>.

Zeidabadi, F.A. *et al.* (2024) 'Managing PFAS exhausted Ion-exchange resins through effective regeneration/electrochemical process', *Water Research*, 255, p. 121529. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.121529>.

Zhang, Q. *et al.* (2011) 'Removal of perfluorooctane sulfonate from aqueous solution by crosslinked chitosan beads: Sorption kinetics and uptake mechanism', *Bioresource Technology*, 102(3), pp. 2265–2271. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.10.040>.

Zhang, X. *et al.* (2019) 'Escape band in Escherichia coli chemotaxis in opposing attractant and nutrient gradients', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(6), pp. 2253–2258. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1808200116>.

Zhang, Xinyuan *et al.* (2023) 'Association of per- and polyfluoroalkyl substance exposure with fatty liver disease risk in US adults', *JHEP Reports*, 5(5), p. 100694. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhepr.2023.100694>.

Zhu, R. *et al.* (2024) 'Engineering high-efficient phosphorus-doped TiO₂ photocatalyst employed for a sophisticated visible-light driven photocatalytic coating', *Progress in Organic Coatings*, 189, p. 108272. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2024.108272>.

Prilozi

Biografija

Kristina B. Kasalica je rođena 20. avgusta 1996. godine u Beogradu, Srbija. Osnovnu školu „Sveti Sava“ i gimnaziju „Treća beogradska gimnazija“ završila je u Beogradu. Hemijski fakultet Univerziteta u Beogradu, odsek Biohemija, upisuje 2015. godine. Diplomirala je 2020. godine sa završnim radom „Elektrohemijska degradacija azo boje Reactive black 5 upotrebom energije mikrobne gorivne ćelije – karakterizacija proizvoda“. Iste godine na studijskom programu Biohemija upisuje i master studije i završava 2021. godine odbranom master teze pod naslovom: „Biosvojivost cinka od strane pivskog kvasca, *Saccharomyces cerevisiae*, Safale US-05“. Doktorske studije, odsek Biohemija, upisuje 2021. godine.

U zvanje istraživač pripravnik izabrana je 26. novembra 2021. godine, kada je i zasnovala radni odnos u Centru za katalizu i hemijsko inženjerstvo, Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju. Nakon toga, 9. oktobra 2024. godine, izabrana je u zvanje istraživač saradnik. U nastavi na Hemijskom fakultetu Univerziteta u Beogradu bila je angažovana kao saradnik u nastavi na kursovima na osnovnim akademskim studijama, „Mikrobiološka hemija sa mikrobiologijom (412B2)“ i „Osnovi biotehnologije (413B2)“, kao i na master akademskim studijama, na kursu „Biotehnološka i industrijska biohemija (414B2)“.

Učestvovala je na međunarodnim projektima EnviroImprove, koji je finansirala Japanska agencija za međunarodnu saradnju, Twinning Horizon Europe projektu PFASwin, a takođe je bila deo i VISION projekta. Pored međunarodnih projekata, učestvovala je i na nacionalnom projektu PhytoPFAS, koji je finansirao Fond za nauku Republike Srbije.

Izjava o autorstvu

Ime i prezime autora: Kristina Kasalica

Broj indeksa DB01/2021

Izjavljujem

da je doktorska disertacija pod naslovom:

„Efikasnost adsorpcije, fotokatalize i mikrobioloških transformacija u remedijaciji vode zagađene perfluorovanim jedinjenjima“

- rezultat sopstvenog istraživačkog rada;
- da disertacija u celini ni u delovima nije bila predložena za sticanje druge diplome prema studijskim programima drugih visokoškolskih ustanova;
- da su rezultati korektno navedeni i
- da nisam kršio/la autorka prava i koristio/la intelektualnu svojinu drugih lica.

U Beogradu, _____

Potpis autora: _____

Izjava o istovetnosti štampane i elektronske verzije doktorskog rada

Ime i prezime autora: Kristina Kasalica

Broj indeksa: DB01/2021

Studijski program: biohemija

Naslov rada:

„Efikasnost adsorpcije, fotokatalize i mikrobioloških transformacija u remedijaciji vode zagađene perfluorovanim jedinjenjima“

Mentor: redovni profesor dr Vladimir Beškoski

Izjavljujem da je štampana verzija mog doktorskog rada istovetna elektronskoj verziji koju sam predao/la radi pohranjivanja u **Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu**.

Dozvoljavam da se objave moji lični podaci vezani za dobijanje akademskog naziva doktora nauka, kao što su ime i prezime, godina i mesto rođenja i datum odbrane rada.

Ovi lični podaci mogu se objaviti na mrežnim stranicama digitalne biblioteke, u elektronskom katalogu i u publikacijama Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, _____

Potpis autora: _____

Izjava o korišćenju

Ovlašćujem Univerzitetsku biblioteku „Svetozar Marković“ da u Digitalni repozitorijum Univerziteta u Beogradu unese moju doktorsku disertaciju pod naslovom:

„Efikasnost adsorpcije, fotokatalize i mikrobioloških transformacija u remedijaciji vode zagađene perfluorovanim jedinjenjima“

koja je moje autorsko delo.

Disertaciju sa svim prilogima predao/la sam u elektronskom formatu pogodnom za trajno arhiviranje.

Moju doktorsku disertaciju pohranjenu u Digitalnom repozitorijumu Univerziteta u Beogradu i dostupnu u otvorenom pristupu mogu da koriste svi koji poštuju odredbe sadržane u odabranom tipu licence Kreativne zajednice (Creative Commons) za koju sam se odlučio/la.

1. Autorstvo (CC BY)
2. Autorstvo – nekomercijalno (CC BY-NC)
- ☒ 3. Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada (CC BY-NC-ND)
4. Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima (CC BY-NC-SA)
5. Autorstvo – bez prerada (CC BY-ND)
6. Autorstvo – deliti pod istim uslovima (CC BY-SA)

(Molimo da zaokružite samo jednu od šest ponuđenih licenci. Kratak opis licenci je sastavni deo ove izjave).

U Beogradu, _____

Potpis autora: _____

1. **Autorstvo.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence, čak i u komercijalne svrhe. Ovo je najslobodnija od svih licenci.
2. **Autorstvo – nekomercijalno.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
3. **Autorstvo – nekomercijalno – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela. U odnosu na sve ostale licence, ovom licencom se ograničava najveći obim prava korišćenja dela.
4. **Autorstvo – nekomercijalno – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca ne dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada.
5. **Autorstvo – bez prerada.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, bez promena, preoblikovanja ili upotrebe dela u svom delu, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela.
6. **Autorstvo – deliti pod istim uslovima.** Dozvoljavate umnožavanje, distribuciju i javno saopštavanje dela, i prerade, ako se navede ime autora na način određen od strane autora ili davaoca licence i ako se prerada distribuira pod istom ili sličnom licencom. Ova licenca dozvoljava komercijalnu upotrebu dela i prerada. Slična je softverskim licencama, odnosno licencama otvorenog koda.