

Utjecaj kombiniranog plazma pražnjenja pri razgradnji fenheksamida

Vukušić, Matija

Undergraduate thesis / Završni rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:540301>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-13**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagreb
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij: Prehrambena tehnologija

Matija Vukušić

00582061302

**Utjecaj kombiniranog plazma pražnjenja
pri razgradnji fenheksamida**

Završni rad

Predmet: Prehrambeno-procesno inženjerstvo 1

Mentor: doc. dr. sc. Tomislava Vukušić

Zagreb, 2018.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski studij: Prehrambena tehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo

Laboratorij za procesno-prehrambeno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Utjecaj kombiniranog plazma pražnjenja pri razgradnji fenheksamida

Matija Vukušić 00582061302

Sažetak:

Svrha ovog rada bila je utvrditi potencijal tretmana hladnom plazmom pri razgradnji fungicida (fenheksamida). U ovom radu su primijenjene tri različite izvedbe hladne plazme i uspoređena je njihova učinkovitost. Primijenjene izvedbe uključivale su plazmu JET (Ar), hibridnu plazmu (Ar i O₂) te plinsku plazmu (Ar i O₂). Primjena hibridne plazme se pokazala iznimno učinkovitom uz oba radna plina tijekom 30 minuta tretmana, međutim primjenom argona postignuti su najbolji rezultati razgradnje (99,90% razgradnje fenheksamida) za razliku od tretmana kisikovom plazmom (81,33%). Kod tretmana plinskom plazmom najbolji rezultati su postignuti kisikovom plazmom (99,89% razgradnje), nego u slučaju primjene argona (65,24% razgradnje). Primjenom plazma JET tretmana također su postignute visoke vrijednosti razgradnje fungicida (98,35% razgradnje fenheksamida), međutim kroz dulje vrijeme tretiranja od 60 minuta. Dobiveni rezultati potvrđuju iznimnu učinkovitost sva tri primijenjena plazma tretmana pri degradaciji fenheksamida.

Ključne riječi: plazma JET, hibridna plazma, plinska plazma, degradacija pesticida, fenheksamid

Rad sadrži: 27 stranica, 17 slika, 4 tablice

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: doc. dr. sc. Tomislava Vukušić

Pomoć pri izradi: prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusarić, dr.sc. Igor Dubrović

Datum obrane: 09.07.2018.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor Thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Department of Food Engineering

Laboratory for food Processes Engineering and Laboratory for Water Technology

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

Influence of combined plasma discharge on decomposition of fenhexamid

Matija Vukušić 00582061302

Abstract:

Main goal of this research was to determine the potential for nonthermal plasma treatments on decomposition of fungicide (fenhexamid). Three different plasma treatments have been used in this research and compared on their efficacy. The applied plasma designs included: plasma JET (Ar), hybrid plasma (Ar and O₂) and gas-phase plasma (Ar and O₂). The use of hybrid plasma has been extremely effective with both gases (Ar and O₂) during 30 minutes of treatment, however use of Ar plasma achieved the best degradation results (99.90% degradation of fenhexamid) as opposed to oxygen plasma treatment (81.33%). In gas-phase plasma treatment, the best results were achieved with oxygen plasma (99.89% degradation) compared to Ar plasma (65.24% degradation). High fungicide degradation rates of (98.35% decomposition of fenhexamid) were also achieved using plasma JET treatment, but during a longer treatment time of 60-minutes. The obtained results confirm the exceptional efficacy of all three plasma treatments at fenhexamid decomposition.

Key words: plasma JET, hybrid plasma, gas phase plasma, decomposition of pesticides, fenhexamid

Thesis contains: 27 pages, 17 figures, 4 tables

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000

Mentor: doc. dr. sc. Tomislava Vukušić

Technical support and assistance: prof. dr. sc. Jasenka Gajdoš Kljusarić, dr.sc. Igor Dubrović

Defence date: 09.07.2018.

Sadržaj:

1. Uvod.....	1
2. Teorijski dio	2
2.1. Plazma	2
2.2. Podjela plazme.....	3
2.3. Primjena hladne plazme u tehnologiji.....	4
2.4. Pesticidi.....	5
2.4.1. Fungicidi	6
2.4.2. Fenheksamid	6
2.5. Razgradnja pesticida hladnom plazmom.....	9
3. Eksperimentalni dio.....	11
3.1. Materijali	11
3.1.1. Priprema otopine fenheksamida	11
3.2. Metode.....	11
3.2.1. Tretman plazma JET izvorom	11
3.2.2. Tretman hibridnom i plinskom plazmom.....	12
3.2.3. Određivanje fizikalno-kemijskih parametara	14
3.2.4. Određivanje koncentracije slobodnih radikala	15
3.2.5. Određivanje koncentracije fenheksamida LC-MS/MS metodom.....	15
3.2.6. Snimanje NIR spektra	16
4. Rezultati i rasprava	17
5. Zaključci	24
6. Popis literature	25

1. Uvod

U posljednjih dvadeset i pet godina došlo je do intenzivnog razvoja i primjene novih tehnologija u području prehrambene industrije. Posebno se razvija trend minimalnog procesiranja hrane i primjena netoplinskih tehnologija obrade hrane, vođen povećanom sviješću potrošača o hrani koju konzumiraju. Danas je poželjno da hrana bude što svježija, pogotovo voće i povrće, te što sličnija izvornoj namirnici, a ujedno i da zahtjeva minimalno vrijeme i trud za samu pripremu. Osim toga u društvu su često popularni razni trendovi koji diktiraju popularnost određenih proizvoda na tržištu, što prehrambenu tehnologiju primorava na stalan razvoj s ciljem ispunjavanja visokih očekivanja potrošača.

Tehnologija netoplinske obrade hrane dizajnirana je s ciljem poštivanja svih zakona sigurnosti hrane, ali i produženja trajnosti namirnica, uz minimalnu promijenjenu nutritivne vrijednosti (Misra i sur., 2016). Međutim za nutritivno vrijedne namirnice, nužno je osigurati i kvalitetne sirovine, pa je tako proizvodnja hrane (sa i bez primjene pesticida) postala iznimno važna tema agronoma. Stabilizaciju u proizvodnji hrane izazvala je upravo primjena pesticida u agronomiji, pa je tako danas nemoguće zamisliti proizvodnju bez njihove upotrebe. Upravo zbog toga je i zakonski propisana uporaba pesticida, kao i maksimalno dopuštene koncentracije. Međutim osim na hrani, pesticidi zaostaju i u otpadnim vodama nakon pranja hrane, ali također i na poljima gdje prolaze u tlo i potencijalno dolaze do vodocrpilišta. Razvojem novih tehnologija nužno je provjeriti mehanizme razgradnje potencijalno štetnih faktora kako u vodama tako i hrani, s ciljem osiguravanja sigurnih proizvoda.

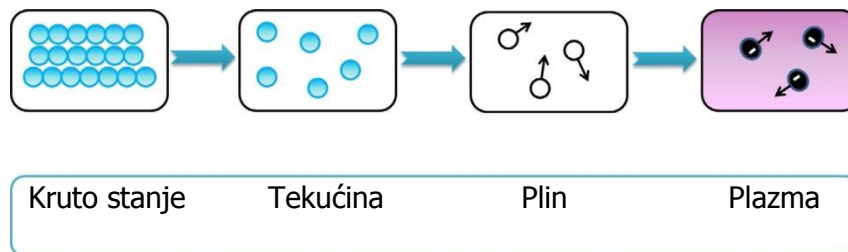
Hladna plazma kao novija metoda u obradi hrane, ali i otpadnih i pitkih voda, posljednjih se godina sve više ispituje s ciljem proširenja primjene. Generiranjem plazma pražnjenja nastaju razni ioni i radikali koji spadaju u reaktivne vrste spojeva, te ovu tehnologiju svrstavaju u napredne oksidacijske procese. Stoga je tretman plazmom pogodan za obradu otpadnih, ali i pitkih voda, s ciljem razgradnje zaostalih spojeva poput antibiotika, pesticida, bojila i drugih teško razgradnih spojeva.

Cilj ovog rada bio je ispitati učinkovitost tretmana hladnom plazmom u razgradnji odabranog pesticida fenheksamida. Tijekom istraživanja korištene su tri različite izvedbe plazma pražnjenja s ciljem optimizacije najučinkovitijeg procesa.

2. Teorijski dio

2.1. Plazma

Plazma se najčešće zove četvrtim agregatnim stanjem. U fizici se plazma definira kao ionizirani ili djelomično ionizirani plin, uglavnom najvećim dijelom sastavljen od iona i elektrona (Tonks, 1967). Generalno gledano plazma je neutralna jer oba naboja prevladavaju u jednakoj mjeri. U prirodi je plazma najzastupljenije fizikalno stanje u kojem se nalazi čak 99% vidljive materije u svemiru.



Slika 1. Shematski prikaz četiri agregatna stanja (Misra, 2015)

Svi materijali su sastavljeni od molekula i iona. Dovođenjem energije u sustav ona se predaje tim česticama i tvar prelazi iz krutog u tekuće stanje. Daljnjim dovođenjem energije tvar prelazi iz tekućine u plin te potom u slučaju da je energija dovoljno visoka u plazmu (slika 1 i 2). Kod plazme su sudari između čestica toliko jaki da dolazi do izbacivanja elektrona te pritom nastaju ioni. Ioni u gibanju stvaraju elektromagnetsko polje koje također ubrzava sam proces ionizacije (Tonks, 1967).

Cjelokupni sastav plazme ipak je nešto složeniji. Plazma je sadržana od pobuđenih atoma, molekula, iona i radikala koje se nalaze uz brojne vrlo reaktivne vrste poput elektrona, pozitivnih i negativnih iona, slobodnih radikala, UV fotona i vidljive svjetlosti. Većini aktivnih kemijskih vrsta plazme pripisuju se mnoga korisna svojstva poput jake antimikrobne djelotvornosti ili mogućnosti razgrađivanja brojnih organskih molekula (Misra i sur., 2016).

2.3. Primjena hladne plazme u tehnologiji

Prikaz mogućnosti primjene hladne plazme u različitim područjima znanosti i tehnologije je prikazan na slici 3. Iz slike je vidljivo da je područje primjene izuzetno široko i uključuje kako primjenu u svakodnevnom životu tako i gotovo sve najvažnije industrijske grane.



Slika 3. Prikaz primjene netoplinske plazme u različitim područjima znanosti i tehnologije (Misra, 2016)

2.4. Pesticidi

Pesticidi su mnogobrojni i raznoliki kemijski spojevi koji se koriste u poljoprivredi za kontrolu nametnika i produljenje roka trajanja usjeva. Važno je napomenuti da nametnici iz generacije u generaciju postaju sve otporniji na pesticide što dovodi do povećanja koncentracija tokom tretiranja i do stalne potrebe za otkrivanjem novih, učinkovitijih vrsta pesticida. Samim time dolazi do povišenja udjela ostatka pesticida kako na tretiranoj biljci tako i u tlu i u podzemnim vodama. Što se tiče prijetnji vezanih uz čovjeka, ostatak pesticida predstavlja opasnost po zdravlje ukoliko se radi o namirnicama koje se konzumiraju svježe ili uz minimalno procesuiranje (Sarangapani i sur., 2017).

Maksimalna dopuštena količina ostataka pesticida u hrani (MDK) propisana je zakonom temeljenom na poljoprivrednoj praksi s ciljem što bolje zaštite potrošača (NN, 119/2007). Važan pojam koji se također veže uz pesticide je vrijeme karence. To je najkraći potrebn period koji mora proći od posljednjeg tretiranja kemijskim sredstvom do berbe ili žetve. Važno je poštivati propisano vrijeme karence kako ne bi došlo do nakupljanja ostataka pesticida na biljci u koncentracijama višim od dopuštenih (Cvjetković i sur., 2013).

Percepcija naspram znanosti u poljoprivredi od strane javnosti u podosta razvijenih zemalja je negativna. Ponajviše u kontekstu pesticida i njihove štetnosti na ljudski organizam i okoliš. Beneficije znanstvenih dostignuća se uzimaju zdravo za gotovo dok se štetni rizici smatraju neprihvatljivima. Industrija zaštite usjeva tj. industrija proizvodnje pesticida spada pod najviše kontroliranu industriju u svijetu upravo zbog toga jer će uvijek predstavljati potencijalnu opasnost za čovjeka i okoliš (Brooks i Roberts, 1999). Većina pesticida je po svojoj prirodi bio nerazgradiva te zbog toga i predstavljaju opasnost po okoliš. Svjetska zdravstvena organizacija WHO (*eng. World Health Organization*) pretpostavlja da se godišnje u svijetu pesticidima otruje 2-3 milijuna ljudi, od čega 20 000-200 000 slučajeva završi smrću, od čega je većina u zemljama u razvoju (Misra, 2016). Unatoč potencijalnim prijetnjama pesticidi su i dalje neophodni u poljoprivredi i sljedećih par desetljeća će se zasigurno nastaviti koristiti u velikoj mjeri.

2.4.1. Fungicidi

Fungicidi su podskup veće skupine pesticida za zaštitu biljaka. Upotrebljavaju se već preko 200 godina u svrhu zaštite usjeva od raznih bolesti uzrokovanih gljivicama. U početku su se koristili razni primitivni pripravci, uglavnom za zaštitu usjeva žita i vinove loze, da bi se uporaba fungicida naglo povećala otprilike u vrijeme nakon drugog svjetskog rata. Otkriće novih kemikalija i tehnologije dovelo je do šireg spektra uporabe čime je omogućeno korištenje fungicida na mnogo većim površinama i znatno većem broju kultura (Brent i Hollomon, 2007). Fungicidi su izuzetno često korišteni; od industrije i poljoprivrede pa sve do kućne upotrebe u vrtovima. Koriste se za zaštitu sjemenki prilikom skladištenja, transporta i klijanja. Također se koriste za zaštitu već odrasle biljke tijekom rasta te za zaštitu plodova tijekom skladištenja i transporta. Fungicidi jako variraju prema svojoj potencijalnoj štetnosti za čovjeka i okoliš. U povijesti su jedna od najvećih trovanja pesticidom došla upravo zbog uporabe fungicida na bazi heksaklorbenzena i žive. Na sreću, fungicidi koji se danas koriste nemaju veliku štetnost na ljudski organizam jer su slabo toksični za sisavce i imaju slabu apsorpciju te je zapravo mali broj ljudi, u bliskom kontaktu s njima, u tolikoj mjeri da izazovu trovanje (Reigart i Roberts, 2003; EPA, 1999). Neovisno o tome, značajno je za napomenuti da fungicidi predstavljaju prijetnju za prirodu i cjelokupan ekosustav.

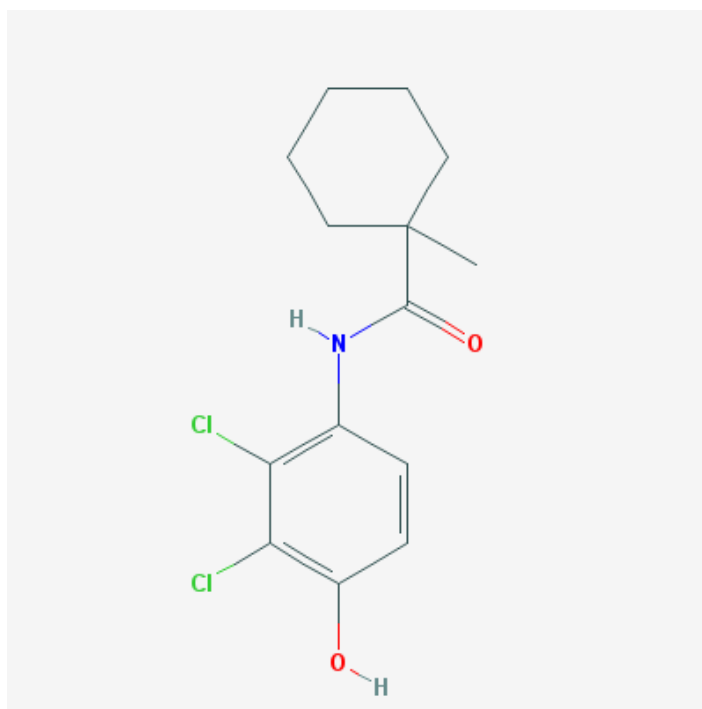
2.4.2. Fenheksamid

Fenheksamid (N-(2,3-diklor-4-hidroksifenil)-1-metilcikloheksan-karboksiamid) je fungicid iz novije kemijske grupe čije je djelovanje namijenjeno uklanjanju sive plijesni kod voća i povrća, pretežito kod vinove loze i jagoda. Posredno olakšava ručnu i strojnu berbu grožđa, smanjuje gubitak te omogućava proizvodnju zdravog mošta i vina, a da pritom ne utječe na tijek vrenja, niti na okus mošta i vina. Odlikuju ga i kratko vrijeme karence. nehlapljivost te relativno kratak životni vijek u okolišu - što ga čini pripadnikom ekološki prihvatljivim pesticidom (Hem i Choi, 2011). Međutim izvori fenheksamida u tlu mogu biti različiti, a jedan od primjera je difundiranje pesticida, nakon prskanja željene kulture u prekomjernim koncentracijama, u dublje slojeve zemlje, potencijalno do podzemnih vodama. Vrijeme zadržavanja fenheksamida u tlu je čak do 110 dana, no ta vrijednost uvelike ovisi o uvjetima: pH zemlje, temperatura, tlak, sastav zemlje i postotku kisika (Belzunces i sur., 2017). U radu (Rivera-Becerrilia i sur., 2016) proučavano je djelovanje koktela pesticida, među kojima je i fenheksamid, na arbuskularnu mikorizu u tlu vinograda. Dokazano je kako na određenim

vrstama tla dolazi do smanjenja populacije mikorize ukoliko se tlo tretira s pesticidima. Fenheksamid djeluje na gljivice iz roda *Monilia spp.*, *Sclerotinia spp.* i *Botrytis spp.* potpuno drugačijim mehanizmom u odnosu na dosad poznate fungicide (Agroklub, 2018; Brent i Hollomon, 2007). Ovaj pesticid inhibira biosintezu sterola što u konačnici vodi do inhibicije rasta mikrotubula (*eng. germ tube elongation*) i rasta micelija (Rivera-Becerril i sur., 2016).

Tablica 1. Fizikalno-kemijska svojstva fenheksamida

SVOJSTVO	VRIJEDNOST
Molekulska formula	C ₁₄ H ₁₇ Cl ₂ NO ₂
Molekularna masa	302,2
Agregatno stanje	Kruto
Točka taljenja	153 °C
Topljivost u vodi	20 mg/L
pK_a	7,3



Slika 4. Kemijska struktura fenheksamida (NIH, 2018)

Tablica 2. Dnevna izloženost čovjeka fenheksamidu kroz prehranu u Americi (EPA, 1999)

Podgrupa populacija	Izloženost mg/kg dan
Cjelokupna populacija (sve države)	0,000982
Dojenčad (<1)	0,003723
Djeca (1-6)	0,002805
Djeca (7-12)	0,001069
Cjelokupna populacija (tijekom ljeta)	0,001110
Zapadna obala	0,001347
Istočna obala	0,001515
Žene (13+ /dojilje)	0,002091

Iz rezultata prikazanih u tablici 2 vidljivo je kako su prosječni dnevni unosi pesticida putem prehrane daleko nižih koncentracija od letalnih. Prema američkoj Agenciji za zaštitu okoliša (*eng. US Environmental Protection Agency*) letalna doza (LC₅₀) iznosi 5000 mg/kg za sisavce. Za sve ostale kopnene životinje letalna doza je izrazito visoka i fungicid se smatra praktički netoksičnim za te vrste. Slaba do umjereno toksičnost izražena je kod vodenih biljaka i životinja (riba, školjkaša, mekušaca) (EPA, 1999).

Glavne probleme primjene pesticida pa tako i fenheksamida predstavljaju: primijenjene koncentracije, učestalost primjene te poštivanje karence. Zbog čestih klimatskih promjena poljoprivrednici su primorani maksimalno štititi nasade s ciljem osiguravanja profita pa tako nerijetko posežu za učestalom primjenom pesticida u "preventivno" povećanim koncentracijama. Usprkos ekološki prihvatljivom razvoju pesticida poput fenheksamida, povećane koncentracije predstavljaju problem te dugoročno dovode do akumulativnog efekta i štetnosti na okoliš. S obzirom na učestalu sezonsku konzumaciju voća i povrća određene su maksimalne dopuštene količine ostataka fenheksamida (tablica 3).

Tablica 3. Maksimalna dopuštena količina ostataka fenheksamida u hrani (NN,109/2007)

Prehrambeni proizvod	MDK mg/kg
Suhe grožđice, kivi	10
Višnja, malina, ribiz	5
Grožđe, jagode	3
Stolna sorta šljive, dinje, breskva, nektarina	2
Rajčica	1
Masno tkivo	0,3
Meso, mlijeko, jaja	0,05

2.5. Razgradnja pesticida hladnom plazmom

Pesticidi dospijevaju u tlo i podzemne vode nakon tretiranja poljoprivrednih kultura. Zagađenje tla pesticidima prepoznato je kao važan problem diljem svijeta. Znanstvenici i razne organizacije za zaštitu okoliša nastoje riješiti ovaj problem, otkrivanjem novijih kompatibilnijih pesticida koji bi imali manje posljedice na druge vrste, a samim time i manje utjecali na okoliš. Kako bi se minimalizirali zdravstveno štetni efekti, znanstvenici istražuju razne tretmane za uklanjanje pesticida iz vode. Fotokataliza, elektrokemijska degradacija, korištenje peroksida, ultrazvuk i tretman hladnom plazmom samo su neki od novije istraživanih metoda. U svrhu korištenja u prehrambenoj industriji proučava se korištenje hladne plazme za tretman vode, direktno hrane ili za tretman hrane u ambalaži (Sarangapani i sur., 2016). Misra i suradnici proveli su istraživanje u kojemu su jagode u pakiranju tretirane hladnom plazmom te je praćena degradacija četiri pesticida; azoksistrobin, ciprodinil, fludioksonil i piriprosifen. Kao izvor plazme korišteno je dielektrično barijerno pražnjenje, dok je tretman trajao 300 sekundi, pri naponu od 80 kV. Koncentracije svih pesticida su znatno smanjenje (45%-71%) te su sve koncentracije osim piriprosifena bile niže od maksimalne dopuštene koncentracije ostatka pesticida u hrani (Misra i sur., 2014). Time su dokazali kako hladna plazma pokazuje dobar potencijal kao metoda uklanjanja pesticida. Osim njih degradacijom pesticida na hrani bavili su se Su Heo i sur., (2014). Oni su proveli istraživanje u kojemu je praćena degradacija pesticida paraoksiona iz skupine organofosfornih pesticida. Obrada je provedena unutar hladnjaka na niskoj temperaturi (2-8°C) kako bi se simulirali uvjeti u kojima se jabuke skladište. Za generaciju plazme korišteno je dielektrično barijerno pražnjenje te je trajanje tretmana bilo

60 sekundi nakon kojeg se pratila degradacija 5 različitih poznatih koncentracija paraoksona. Kod svih koncentracija došlo je do značajne degradacije koja je iznosila 83,7%-99,9% čime je potvrđeno da je ova metoda indirektnog tretmana plazme na namirnicu dobra za degradaciju paraoksona (Su Heo i sur., 2014).

Međutim u literaturi nedostaju informacije o direktnoj primjeni plazma pražnjenja u tekućinama s ciljem razgradnje pesticida prisutnih u (površinskim ili otpadnim) vodama. Već i male koncentracije pesticida u pitkoj vodi mogu dovesti do akumuliranja pesticida što dovodi do apsorpcije u mikroorganizme i više oblike organizama poput biljaka i životinja. Preko njih pesticidi lako dopijevaju u hranu, a time i do čovjeka (Capellini i sur., 2012). Prema Direktivi vijeća EU (98/93/EZ, 1998) maksimalna dopuštena količina ostataka pesticida u vodi za piće je 0,10 µg/L za pojedinačni pesticid odnosno 0,50 µg/L za ukupno prisutne pesticide.

Cilj ovog rada bio je ispitati utjecaj tri različita tipa plazma pražnjenja (atmosferska plazma JET, plinskog visokonaponsko plazma pražnjenje, te kombinacija hibridnog visokonaponskog plazma pražnjenja na razgradnju povećane koncentracije fenheksamida u vodi.

3. Eksperimentalni dio

3.1. Materijali

3.1.1. Priprema otopine fenheksamida

Fungicid fenheksamid se za komercijalnu uporabu koristi kao gusta suspenzija ($\omega = 42\%$) masene koncentracije 500 g/L. Otopina se na tržištu nalazi pod imenom Teldor 500 i u vlasništvu je tvrtke Bayer CropScience. U ovom eksperimentu korišten je gore navedeni fungicid. Prije svakog seta eksperimenata pripremljena je svježja otopina fenheksamida s ciljanom koncentracijom od 10 mg/L.

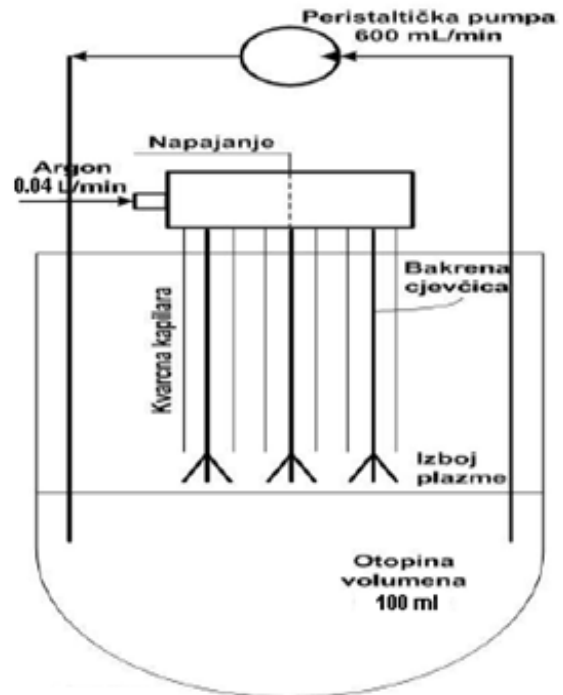
3.2. Metode

3.2.1. Tretman plazma JET izvorom

U provedenom eksperimentu koristila se izvedba atmosferske plazme JET s 3 elektrode (slike 5 i 6). Radni plin je bio argon čistoće 99.99% protoka 40 mL/min. Tri kapilarne staklene elektrode duljine 7,5 cm s unutarnjim promjerom od 0,1 cm pričvršćene su na teflonsko kućište. Bakrena cjevčica, promjera 100 μm , smještena je unutar cjevčice, te pričvršćena na izvor visokog napona. Snaga svakog izvora iznosi 4W dajući ukupnu snagu od 12W za 3 elektrode. U provedenom eksperimentu, uzorak otopine fenheksamida volumena 100 mL tretiran je u reaktoru tijekom 60 min na sobnoj temperaturi dok se kao radni plin koristio argon protoka 40 mL/min. Svakih 20 minuta tretmana uzet je alikvot od 5 mL uzorka za analize dok se pritom generacija plazme nije prekidala. Prije i nakon cjelokupnog tretmana određivane su fizikalno kemijske karakteristike, točnije mjerene su promjene pH, električne vodljivost uzorka, temperatura te koncentracija peroksida, nitrata i nitrita. Uzorci su zatim pohranjeni u hladnjak na 4 °C te čuvani za daljnje analize (spektroskopska *Near Infrared* (NIR) analiza, te tekućinska kromatografija s masenim detektorom (*eng. Liquid Chromatography – LC-MS/MS*)).



Slika 5. Plazme JET (Marković, 2017)



Slika 6. Shema plazme JET (vlastita shema)

3.2.2. **Tretman hibridnom i plinskom plazmom**

Pulsni visokonaponski generator (Spellman, UK) se koristio u svrhu generiranja visokonaponskog plazma pražnjenja. Strujni krug je bio sastavljen od sljedećih elemenata: visokonaponsko napajanje, serijski spojeni otpornici ukupnog otpora $9,5 \text{ M}\Omega$, kondenzator kapaciteta $0,75 \text{ nF}$, rotirajuća sklopka s regulatorom frekvencije i kontrolna jedinica za napajanje. Frekvencija izvora za generiranje plazme bila je 60 Hz . Reaktor posebne izvedbe s otvorom za elektrodu uzemljenja korišten je u eksperimentu. Elektrode unutar reaktora bile su postavljene u obliku točka-ploča na udaljenosti od 2 do 3 cm. Iglična visokonaponska elektroda duljine $3,81 \text{ cm}$ izrađena je od nehrđajućeg čelika (Microlance TM). Pločasta elektroda za uzemljenje promjera $4,5 \text{ cm}$ također je izrađena od nehrđajućeg čelika. Eksperiment se provodio u uvjetima sobne temperature i atmosferskog tlaka.

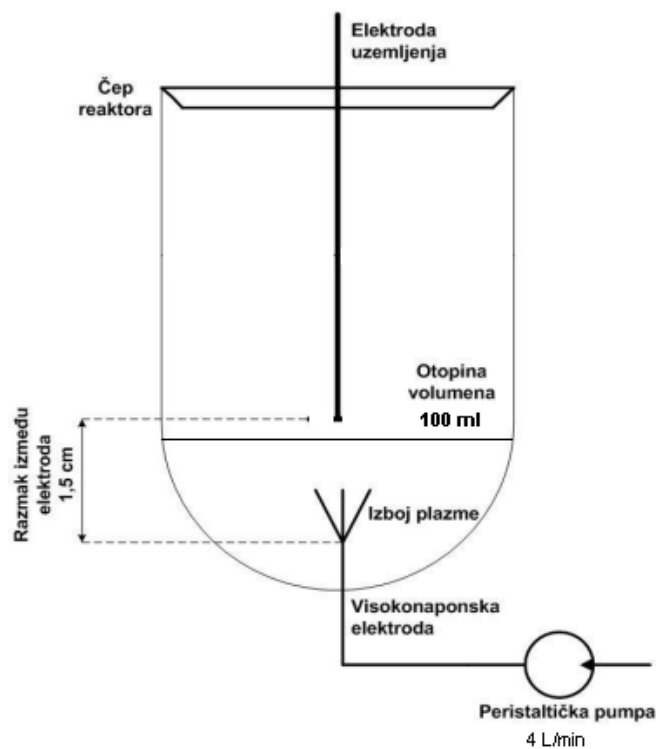
Hibridna plazma je po svojoj izvedbi kombinacija tekućinskog i plinskog plazma pražnjenja. Iglična visokonaponska elektroda smještena je u tretiranu otopinu. Kroz nju se pumpom upuhivao radni plin protoka 4 L/min te se time omogućavalo i miješanje uzorka. Elektroda za uzemljenje nalazila se 1 cm iznad površine tekućine (slike 7 i 8).

Kod plinske plazme iglična visokonaponska elektroda je smještena iznad tretirane otopine, dok se pločica za uzemljenje nalazila uronjena u otopinu. Kroz igličnu elektrodu se upuhivao radni

plin protoka 4 L/min (slike 9 i 10). Eksperiment je provođen s dva radni plina kod obje izvedbe plazme: s argonom i s kisikom. Prije početka svakog tretmana reaktor i elektrode su namještene prema zadanoj konfiguraciji. Otopina fenheksamida volumena 100mL tretirana je 30 minuta dok se svakih 10 minuta uzimao alikvot (5 mL otopine) za analizu. Prije i nakon cjelokupnog tretmana određivane su fizikalno kemijske karakteristike točnije mjerene su promjene pH, električne vodljivost uzorka, temperatura te koncentracija peroksida, nitrata i nitrita. Uzorci su zatim pohranjeni u hladnjak na 4 °C do provođenja daljnjih NIR i LC-MS/MS analiza.



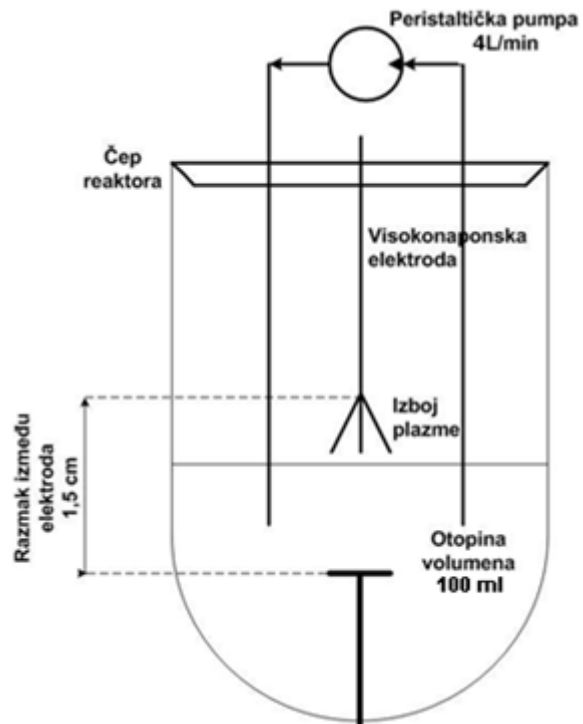
Slika 7. Hibridna plazma (vlastita slika)



Slika 8. Shema izvedbe hibridne plazme (vlastita shema)



Slika 9. Izvedba plinske plazme
(vlastita slika)



Slika 10. Shema reaktora s plinskom plazmom
(vlastita shema)

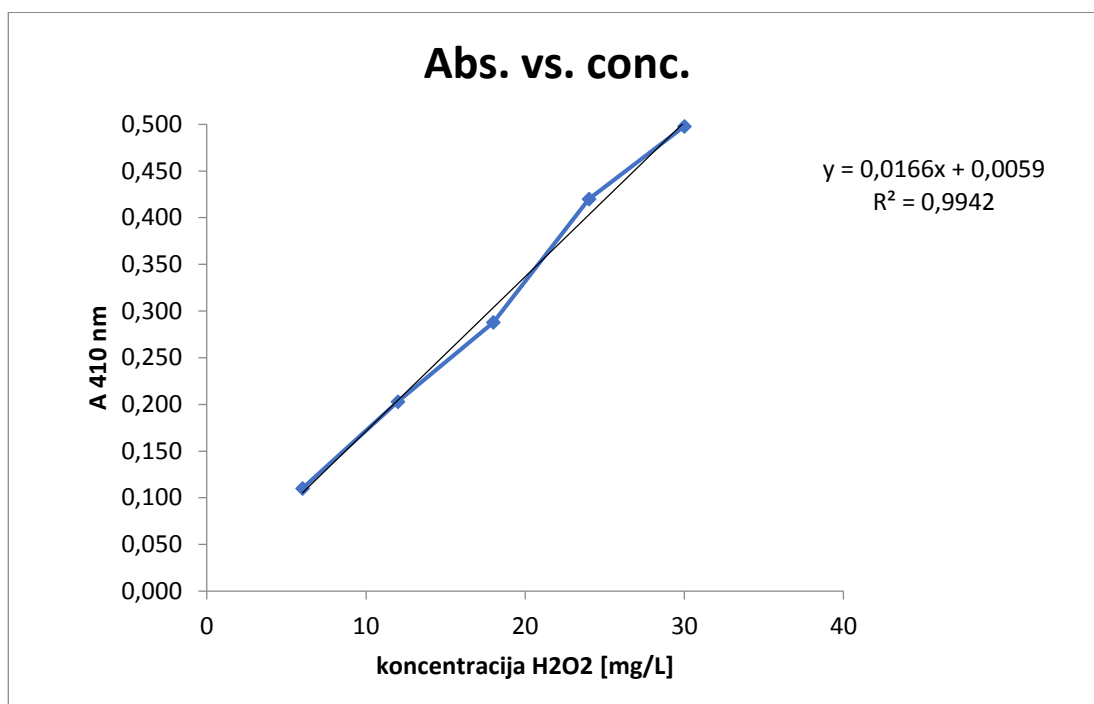
3.2.3. Određivanje fizikalno-kemijskih parametara

Određivanje pH vrijednosti, električne vodljivosti te zasićenosti kisikom u uzorcima mjereno je na digitalnom pH-metru (HANNA instruments, Woonsocket, RI, SAD, elektroda HI11310) s pripadajućim elektrodama. Mjerenje se provodi uranjanjem odgovarajuće elektrode u uzorak te se nakon stabilizacije, očitava vrijednost (pH vrijednost, električna vodljivost te zasićenost kisikom) na zaslonu uređaja.

Određivanje temperature provođeno je digitalnim infracrvenim termometrom (InfraRed Thermometer, PCE-777, PCE Instruments, SAD). Uređaj se prilikom mjerenja pozicionira iznad uzorka te se očitava vrijednost na zaslonu.

3.2.4. Određivanje koncentracije slobodnih radikala

Nakon tretmana plazmom odredila se koncentracija vodikovog peroksida u uzorku i to UV-Vis spektroskopijom pri 410 nm. Volumen od 1 mL pripremljenog titan reagensa (Sigma Aldrich, CAS: 13463-67-7) pomiješao se sa 2 mL uzorka te se preko izrađenog baždarnog pravca vidljivog na slici 11. očitala koncentracija vodikovog peroksida.



Slika 11. Baždarni dijagram ovisnosti apsorbancije o koncentraciji H₂O₂

Koncentracije nitrata i nitrita su nakon tretmana određene prema metodi uranjanja indikatorskih listića (Quantofix Nitrate / Nitrite test strips, Macherey-Nagel Germany).

3.2.5. Određivanje koncentracije fenheksamida LC-MS/MS metodom

Prije i nakon tretmana iz reaktora je izuzeto 5 mL uzorka te prebačeno u kivetu sa 50 mL smjese acetonitril-voda u omjeru 1:1. Uzorak se zatim ekstrahirao na tresilici tijekom sat vremena. Tako pripremljeni uzorci su zatim profiltrirani zbog osjetljivosti LC-MS/MS metode. Postupak se provodi korištenjem filter papira i potom filter diska otvora pora (0,20 µm), te se tako pripremljeni uzorak injektira i analizira LC-MS/MS metodom (Metoda za određivanje

ostataka pesticide u hrani po normama: HRN EN ISO 12393-1:2013, 12393-2:2013 i 12393-3:2013) prema danim kromatografskim uvjetima:

Kolona: Phenomenex Kinetex 2,6 μm C18 100 Å 100x2,1 mm

Mobilna faza A: 90% voda, 10% methanol + 5mM NH₄Ac (acetat)

Mobilna faza B: 10% voda, 90% methanol + 5mM NH₄Ac

Temperatura kolone: 40°C

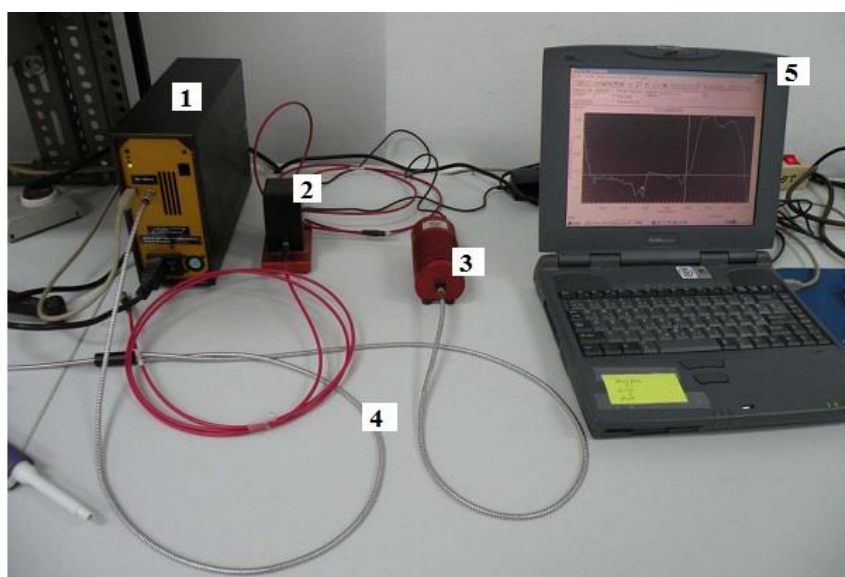
Protrok kroz kolonu: 0,4 mL/min

Volumen ubacivanja uzorka: 30 μL

Trajanje: 20 min.

3.2.6. Snimanje NIR spektra

Analiza tekućeg uzorka, pripremljenoj prema istoj metodi kao i za LC-MS/MA analize, se provodi spektrofotometrijski te se kroz nju propušta NIR spektar zračenja. Za snimanje apsorpcijskog spektra se koristio računalni program SPEC 32. Spektri su snimani u triplikatu, te pohranjeni na računalu. Nakon mjerenja se iz analize spektara izračuna srednja vrijednost kako bi se smanjile različitosti. Za konačnu analizu uzorka korišten je računalni program XI Stats. Na slici 12 prikazana je shema svih komponenti koje su sačinjavale uređaj za mjerenje NIR spektra.



Slika 12. NIR instrument povezan s računalom s označenim dijelovima: 1) NIR instrument; 2) mjesto za snimanje uzorka u kivetu; 3) izvor svjetlosti; 4) optički kablovi; 5) računalo

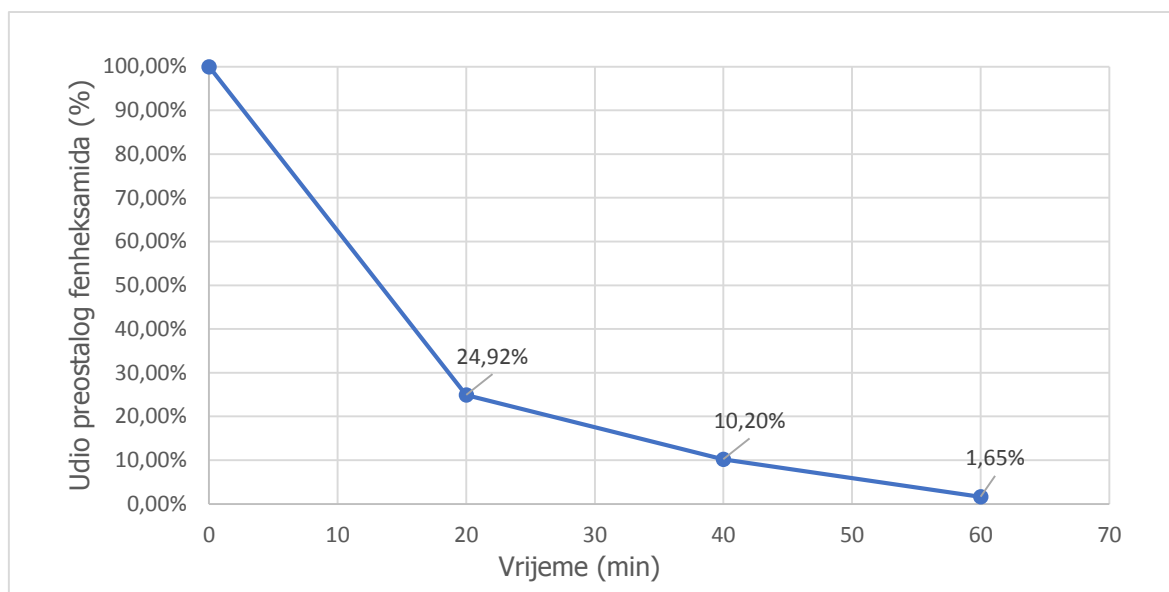
4. Rezultati i rasprava

Osnovni cilj ovog rada bio je ispitati potencijal korištenja različitih tretmana hladne plazme i odrediti učinkovitost pojedine metode za uklanjanje pesticida iz vodene otopine. Eksperiment je proveden s tri različita tipa plazma pražnjenja: tretmanom plazmom JET gdje je kao radni plin korišten argon, u reaktoru s izvedbom hibridne plazme gdje su kao radni plin korišteni argon i kisik te u reaktoru s izvedbom plinske plazme gdje su također korišteni navedeni radni plinovi. Rezultati analize su prikazani su tablicom 4, te grafički na slikama od 13-15.

Tablica 4. Prikaz rezultata fizikalno-kemijskih parametara otopine fenheksamida

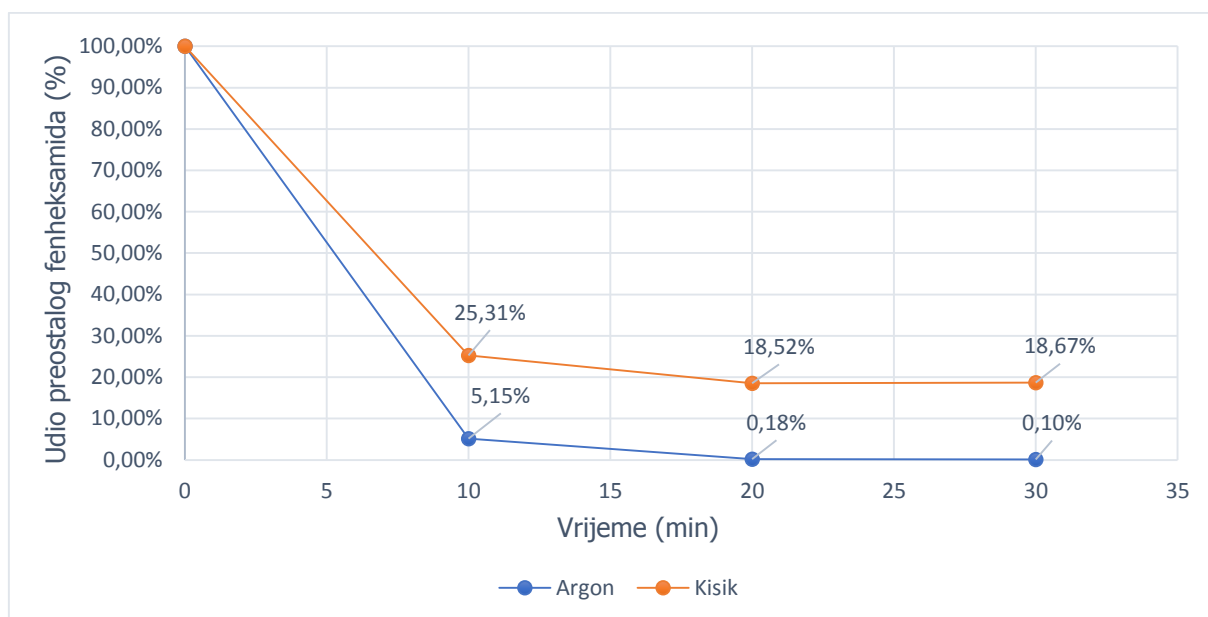
Uzorak	Netretirano	JET	Hibridna (Ar)	Hibridna (O ₂)	Plinska (Ar)	Plinska (O ₂)
pH	6,55	3,35	3,2	3,4	3,53	3,67
Σ (μS/cm)	2,81	50	61	36,3	48,8	44
O ₂ (% saturacije)	66,5	41,3	37,5	>300	32,2	96,1
ΔT (°C)	/	19,8	22,3	16,8	26,4	29,6
γ [H ₂ O ₂] (mg/l)	0	59,33	64,2	42	108,8	32
γ [NO ₃ ⁻] (mg/l)	0	50	50	50	10	25
γ [NO ₂ ⁻] (mg/l)	0	5	5	5	0	0

Iz određenih fizikalno-kemijskih karakteristika prije i nakon provedenih plazma tretmana uočen je značajan pad pH vrijednosti nakon svih tretmana, te je najveći zabilježen nakon tretmana hibridnom plazmom (Ar). Visoke vrijednosti koncentracija vodikova peroksida nakon plazma tretmana upućuju na razlog pada pH vrijednosti u uzorcima otopine fenheksamida. Ionizacijom plina argona u sva tri tipa plazme došlo je i do najveće produkcije vodikovog peroksida što se posebno očituje kod tretmana plinskom plazmom (108,8 mg/L). Koncentracije nitrata nisu zabilježene u tretmanima plinske plazme s kisikom, dok su u ostalim tretmanima niske, za razliku od nitrata koji se pojavljuju u svim plazma tretmanima.



Slika 13. Prikaz preostalog fenheksamida nakon tretmana plazmom JET

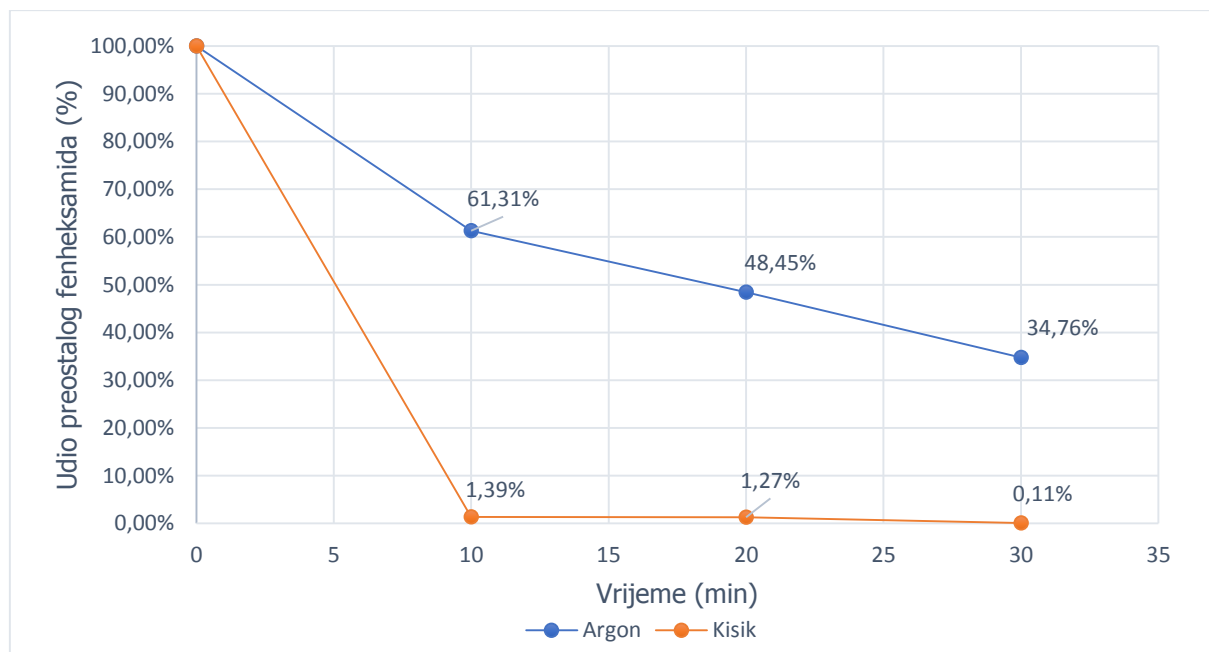
Na slici 13 prikazani su rezultati dobiveni nakon tretmana plazmom JET s argonom kao radnim plinom. Važno je za napomenuti da se ovaj proces odvijao 60 minuta što je dvostruko dulje vrijeme nego kod ostalih obrada. Razlog tome je slabiji izvor plazme. Korištena su 3 izvora ukupne snage 12 W, zbog čega ova metoda spada u nisko energetske tretmane. Kao i kod ostalih izvedbi u početku se degradacija fenheksamida odvijala brže te je nakon prvih 20 minuta koncentracija fenheksamida iznosila 24,92%. Sljedećih 40 minuta degradacija fenheksamida se odvijala sporije pri čemu je na kraju tretmana preostalo svega 1,65% fenheksamida u obrađivanoj otopini.



Slika 14. Prikaz utjecaja odabranih plinova (Ar i O₂) na razgradnju fenheksamida hibridnom plazmom

Na slici 14 prikazani su rezultati dobiveni primjenom hibridne plazme s dva različita radna plina; kisikom i argonom. Za razliku od plinske plazme na rezultate degradacije fenheksamida hibridnom plazmom značajno ne utječe vrsta primijenjenog radnog plina. Već u prvih 10 minuta obrade plazmom i primjenom oba plina ostvaren je nagli pad koncentracije fenheksamida. Tretman argonovom plazmom bio je pet puta uspješniji (5,15% preostalog fenheksamida) u odnosu na tretman kisikovom plazmom (25,31% preostalog fenheksamida). U preostalih 20 minuta proces degradacije fenheksamida se u eksperimentu s argonom kao radnim plinom odvijao bez značajnih promjena u koncentraciji, te je u konačnoj otopini koncentracija fenheksamida iznosila svega 0,10%. Također se može uočiti da u zadnjih 10 min tretmana sa kisikom kao radnim plinom nije postignuta značajna promjena u koncentraciji odnosno potpuna razgradnja fenheksamida (18,67% konačnoj otopini). Kod hibridne plazme u kojoj dolazi do plazma pražnjenja iznad i u samoj tekućini dolazi do otapanja radikala nastalih u plinskoj fazi, te u samoj tekućini u blizini plazma izboja. Razlog uspješnije razgradnje primjenom plina argona se može pripisati i nastanku velike koncentracije vodikova peroksida kao i visokoenergetskih slobodnih argonovih elektrona, inicijatora razgradnih reakcija (Stratton i sur., 2017). Na taj način se energija plazme troši samo na nastajanje vodikovih i kisikovih radikala (Stefan, 2018) koji bez smetnji mogu reagirati s fenheksamidom i spojevima nastalim njegovom razgradnjom. Ionizacijski potencijal argona iznosi 15,7 eV, što daje dovoljnu količinu energije molekuli fenheksamida za brzu fragmentaciju. Također velike koncentracije

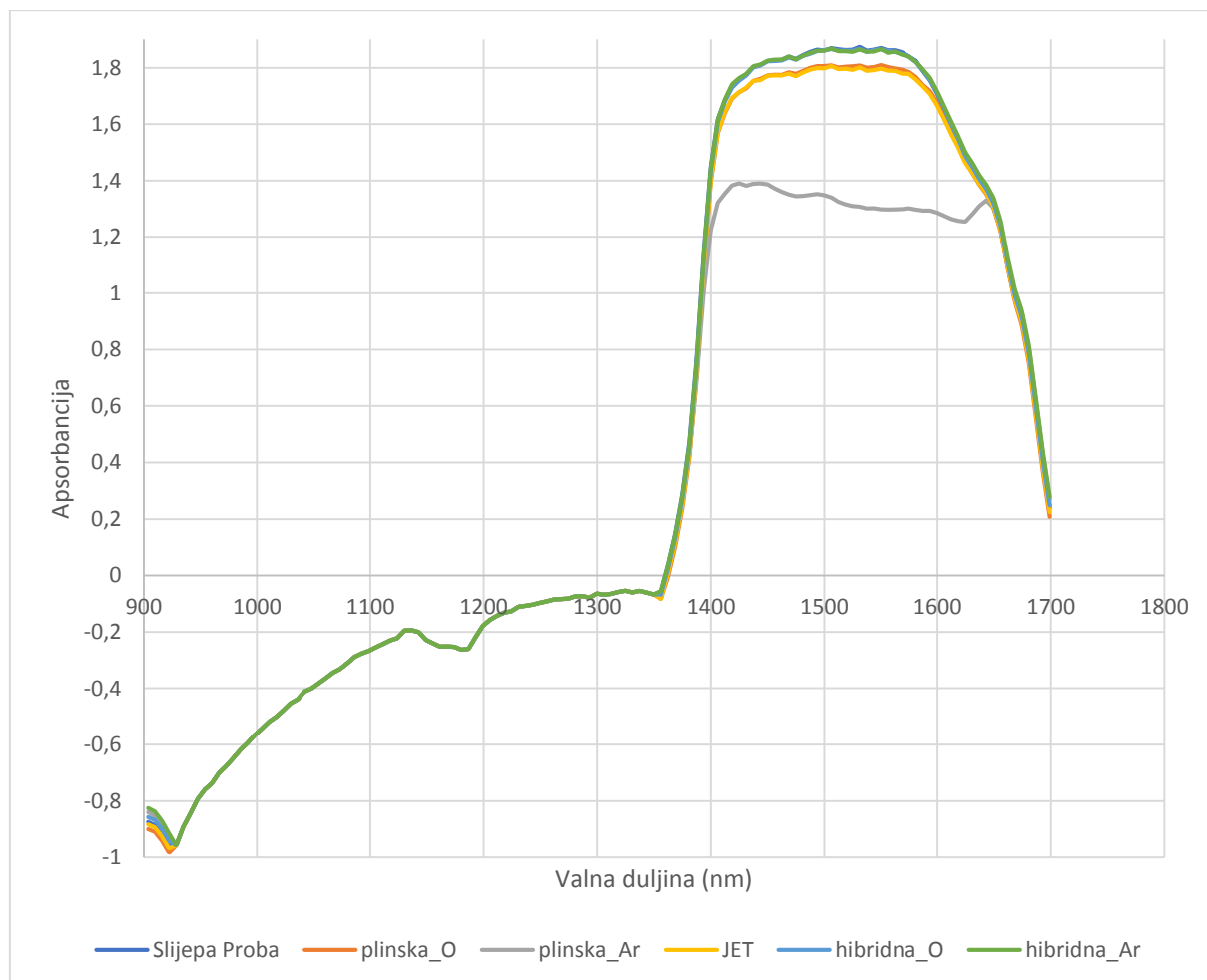
generiranog vodikova peroksida, ionizacijskog potencijala 12,1 eV, kao i dušikovih radikala 11,2 eV, znatno doprinose učinkovitoj razgradnji fenheksamida.



Slika 15. Prikaz utjecaja odabranih plinova (Ar i O₂) na razgradnju fenheksamida plinskom plazmom

Na slici 15 su prikazani rezultati razgradnje fenheksamida dobiveni primjenom plinske plazme s dva različita radna plina; kisikom i argonom. Iz grafa je jasno vidljivo kako je postignuta znatno bolja degradacija fenheksamida u slučaju kada je za radni plin korišten kisik, nego u slučaju primjene argona. Već u prvih 10 minuta tretmana sa kisikom kao radnim plinom uklonjeno je 60 puta više fenheksamida nego u slučaju s argonom. U slučaju primjene kisika gotovo sav fenheksamid se degradirao u prvih 10 minuta (1,39% preostalog fenheksamida), a u preostalih 20 minuta tretmana koncentracija je pala na svega 0,11%. Ionizacijski potencijal kisika od 50eV, doprinosi bržoj energetski potpomognutoj razgradnji molekule fenheksamida. U slučaju primjene argona kod plinske plazme, degradacija fenheksamida se odvijala znatno umjerenije pri čemu nije uočen nagli pad koncentracije fenheksamida. U ovom slučaju postotak fenheksamida u otopini nakon provedene obrade od 30 minuta je iznosio 34,76%. Reakciju degradacije bilo bi potrebno provoditi dulje vrijeme da bi ostvarili potpunu degradaciju fenheksamida. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da sve metode pokazuju dobar potencijal za degradaciju fenheksamida. Najbolja degradacija dobivena je tretmanom plinskom kisikovom plazmom te tretmanom hibridnom argonovom plazmom. U oba slučaja je već nakon 10 min

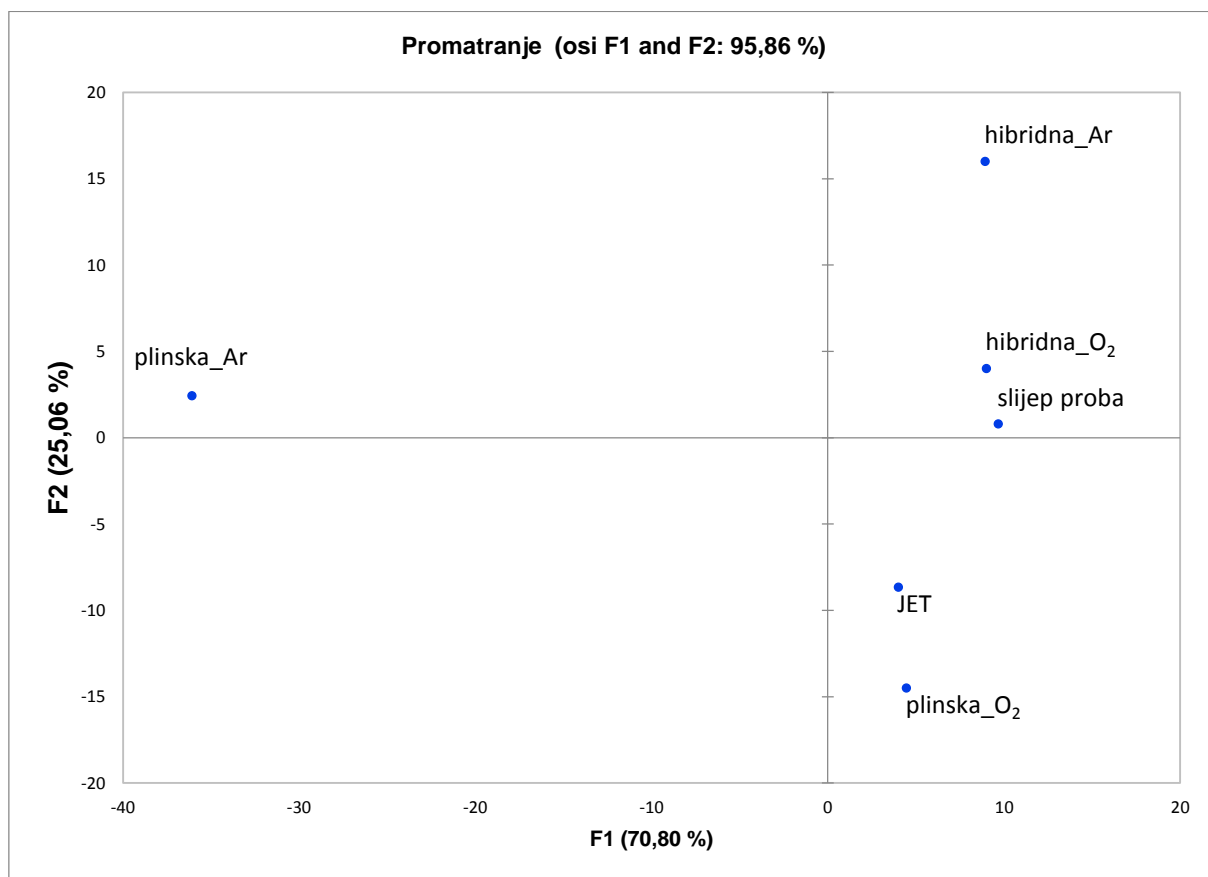
obrade degradirano više od 90% početne vrijednosti fenheksamida, da bi nakon 30 minuta obrade udio fenheksamida u otopini bio svega 0,10%, odnosno 0,11%.



Slika 16. NIR spektar za slijepu probu i tretirane uzorke

Na slici 16 je prikazana apsorpcija NIR zračenja za 6 uzoraka (1 slijepa proba i 5 otopina fenheksamida nakon različitih tretmana). Odstupanja su vidljiva u području od 1400 do 1670 nm što odgovara drugoj regiji (*eng. overtone*) NIR zračenja. U navedenom području mogu se pratiti promjene R-OH i R-NH₂ veza. Kada pogledamo strukturu fenheksamida (slika 4) vidljivo je da on sadrži upravo te vrste veze. Pošto su odstupanja upravo u tom području može se zaključiti da se mehanizam degradacije fenheksamida odvija upravo pucanjem neke od tih veza. Najveće odstupanje od slijepa probe je nastalo kod uzorka koji je tretiran plinskom plazmom (Ar), dok je kod uzoraka tretiranih plinskom plazmom (O₂) i plazmom JET odstupanje manje no ipak zamjetno. Kod uzoraka tretiranih hibridnom plazmom (O₂ i Ar) nema većeg odstupanja od slijepa probe no kako je LC-MS/MS metodom utvrđeno da je do degradacije

došlo (0,10% i 18,67% fenheksamida u konačnoj otopini) može se zaključiti da se degradacija fenheksamida hibridnom plazmom odvija drugačijim mehanizmom od degradacije vršene plinskom plazmom. Potencijalni razlog je nastanak različitih koncentracija radikala kao i ostalih reaktivnih vrsta kod plinske i hibridne plazme, koji utječu na proces razgradnje.



Slika 17. Primjena analize glavnih komponenta za raspodjelu uzoraka, ovisno o tretmanu

Vrijednosti apsorbancije dobivene NIR metodom analizirane su i analizom glavnih komponenta (*eng. PCA – Principal component analysis*). Vrijednosti su prikazane kao matrica $a \times b$ oblika gdje je a predstavlja varijablu (valnu duljinu), dok b predstavlja opažaj (apsorbanciju).

U PCA grafu (slika 17) vrijednosti su se grupirale tako da su uzorci slijepe probe i hibridne plazme (O₂ i Ar) smješteni u prvi kvadrant, plinske plazme (Ar) u drugi kvadrant te plazme JET i plinske plazme (O₂) u četvrti kvadrant. Pošto su nakon svih provedenih tretmana utvrđene niske koncentracije preostalog fenheksamida (0,10% - 34,76%) dolazimo do zaključka da je uzrok različite razgradnje razlika u različitom mehanizmu degradacije fenheksamida.

Ukoliko bi se razvijali predikcijski modeli za sadržaj fenheksamida na osnovu NIR spektara, bilo bi uputno koristiti spektar naveden u slici 16 (1400-1670 nm). Takve metode u kojima se razvija predikcijski model za neku bioaktivnu komponentu na osnovu NIR spektara, našle su svoju primjenu u agronomiji i prehrambenoj industriji (Herceg i sur., 2016) jer NIR spektroskopija predstavlja jednostavan mjerni postupak koji je nedestruktivan za promatrani uzorak.

5. Zaključci

- Iz dobivenih rezultata vidljivo je da sva tri plazma tretmana pokazuju učinkovitu degradaciju pesticida fenheksamida.
- Primjena plazme JET dala je učinkovite rezultate (98,35% razgradnje) no vrijeme obrade je moralo biti dvostruko duže da bi postigli podjednaku učinkovitost i usporedivost s druge dvije metode.
- Primjena hibridne plazme također se pokazala učinkovitom za primjenu s oba plina, no obrada argonom se ipak pokazala efikasnijom (99,90% razgradnje) od obrade kisikom (81,33% razgradnje).
- Kod primjene plinske plazme uz korišteni radni plin kisik postignuti su znatno bolji rezultati degradacije fenheksamida (99,89% razgradnje), nego u slučaju primjene argona (65,24% razgradnje).
- Promatranjem apsorpcija NIR spektra na području R-OH i R-NH₂ veze može se zaključiti da se mehanizam razgradnje fenheksamida razlikuje u slučaju primjene hibridne plazme od slučajeva primjene plinske i plazme JET.

6. Popis literature

- Agroklub Hrvatska, www.agroklub.com/zastitna-sredstva/aktivne-tvari/fenheksamid-123/, pristupljeno 15. ožujka 2018.
- Belzunces B., Hoyau S., Cuny J., Bessac F. (2017) Pesticide interaction with environmentally important cations: A molecular dynamics and DFT study of metamitron and fenhexamid, *Computational & Theoretical Chemistry*, str. 220-234.
- Bogaerts A., Neyts E., Gijbels R., Van der Mullen J. (2002) Gas discharge plasmas and their applications. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy*, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, str. 609-658.
- Brent K. J., Hollomon D. W. (2007) Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed?, 2. izdanje, str. 4-5.
- Brooks G.T., Roberts T. (1999) Pesticide Chemistry and Bioscience: The Food-Environment Challenge, *Agriculture, Ecosystems and Environment* 78 (2000), str. 193–195.
- Capellini L. D. T., Cordeiro D., Brondi S. H. G., Prieto K. R., Viera E. M. (2012) Development of methodology for determination of pesticides residue in water by SPE/HPLC/DAD, *Environmental Technology*, 33. izdanje, str. 2299-2304.
- Cvjetković B., Baričić I., Barić K., Bažok R., Ostojić Z. (2013.) Pregled sredstava za zaštitu bilja u Hrvatskoj za 2010. godinu, *Glasilo biljne zaštite*, Broj 1-2.
- Čunko R., Ercegović Ražić S. (2009) Modifikacija svojstva tekstilija primjenom plazme, *Tekstil* 58 (3), str. 55-74.
- Direktiva vijeća 98/93/EZ 1998, Službeni list Europske Unije, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/HTML/?uri=CELEX:31998L0083&from=EN>, pristupljeno 25. lipnja 2018.
- Hem L., Choi J. H. (2011) Residual pattern of fenhexamid on pepper fruits grown under greenhouse conditions using HPLC and confirmation via tandem mass spectrometry, *Food Chemistry* 126, str. 1533–1538.
- Herceg Z., Bursač Kovačević D., Gajdoš Kljusurić J., Režek Jambrak A., Zorić Z., Dragović-Uzelac V. (2016) Gas Phase Plasma Impact on Phenolic Compounds in Pomegranate Juice, *Food Chemistry* 190, str. 665-672.
- Kogelschatz U. (2007) Twenty Years of Hakone Symposia: From Basic Plasma Chemistry to Billion Dollar Markets, *Plasma Processes and Polymers*, str. 678–681.

- Marković L. (2017) Uklanjanje azitromicina i atrazina iz modelnih voda hladnom plazmom, Diplomski rad.
- Misra N. N. (2015) The contribution of non-thermal and advanced oxidation technologies towards dissipation of pesticide residues, *Trends in Food Science & Technology* 45, str. 229-244.
- Misra N. N., Pankaj S. K., Walsh T., O'Reganb F., Bourkea P., Cullena P. J. (2014) In-package nonthermal plasma degradation of pesticides on fresh produce, *Journal of Hazardous Materials* 271, str. 33–40.
- Misra N. N., Schlüter O., Cullen P. J. (2016) *Cold Plasma in Food and Agriculture: Fundamentals and Applications*, 1. izdanje, Academic Press, str. 1-13, 17-19, 83-109.
- NIH (2018) Fenhexamid, NIH-National Institutes of Health: Pubchem-open chemistry data base, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/213031#section=Top>, pristupljeno 1. ožujka 2018.
- Pravilnik o maksimalnim razinama ostataka pesticida u hrani i hrani za životinje (2007) *Narodne novine* 109 (NN, 109/2007).
- Reigart R. J., Roberts J. T. (2003.) *Recognition and management of pesticide poisoning*, Office of Pesticide Programs, U.S. Environmental Protection Agency, 6. izdanje.
- Rivera-Becerril F., van Tuinen D., Chatagnier O., Rouard N. (2016) Impact of a pesticide cocktail (fenhexamid, folpel, deltamethrin) on the abundance of Glomeromycota in two agricultural soils, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*.
- Sands B. L., Ganguly N., Tachibana H. (2008) A streamer-like atmospheric pressure plasma jet, *Applied Physics Letters*, str. 92.
- Sarangapani C., O'Toole G., Cullen P. J., Bourke P. (2017) Atmospheric cold plasma dissipation efficiency of agrochemicals on blueberries, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, doi:10.1016/j.ifset.2017.02.012.
- Stratton G. R., Dai, F., Bellona C. L., Holsen T. M., Dickenson E. R., Mededovic T. S. (2017) Plasma-Based Water Treatment: Efficient Transformation of Perfluoroalkyl Substances in Prepared Solutions and Contaminated Groundwater. *Environmental science & technology*, izdanje 51, str. 1643-1648.
- Tonks L. (1967) *The Birth of "Plasma"*, 407 Oakridge Drive, Schenectad, New York.
- US EPA - Pesticides - Fact Sheet for Fenhexamid, May 20, 1999, https://www3.epa.gov/pesticides/chem_search/reg_actions/registration/fs_PC-090209_20-May-99.pdf, pristupljeno 1. travnja 2018.

- Sarangapani C., Misra N. N., Milosavljević V., Bourkea P., O'Regan F. (2016) Pesticide degradation in water using atmospheric air cold plasma, *Journal of Water Process Engineering* 9, str. 225–232.
- Stefan M. I. (2018) *Advanced Oxidation Processes for Water Treatment*, 1. izdanje. IWA publishing, str. 498.-502.
- Su Heo N., Moon-Keun L., Gi Wook K., Seok J. L., Park J. Y., Park T. J. (2014) Microbial inactivation and pesticide removal by remote exposure of atmospheric air plasma in confined environments, *Journal of Bioscience and Bioengineering* 117, str. 81-85.