

Utjecaj visokonaponskoga električnoga pražnjenja na obradu modelnih sustava koji simuliraju otpadne vode iz proizvodnje maslinova ulja

Ivanov, Mia

Doctoral thesis / Disertacija

2023

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:159:872928>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-26**



Repository / Repozitorij:

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





Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Mia Ivanov

**UTJECAJ VISOKONAPONSKOGA
ELEKTRIČNOGA PRAŽNENJA NA
OBRADU MODELNIH SUSTAVA KOJI
SIMULIRAJU OTPADNE VODE IZ
PROIZVODNJE MASLINOVA ULJA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2023



Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Mia Ivanov

**UTJECAJ VISOKONAPONSKOGA
ELEKTRIČNOGA PRAŽNJENJA NA
OBRADU MODELNIH SUSTAVA KOJI
SIMULIRAJU OTPADNE VODE IZ
PROIZVODNJE MASLINOVA ULJA**

DOKTORSKI RAD

Mentor: Dr. sc. Zoran Herceg, red. prof.

Zagreb, 2023



University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Mia Ivanov

**EFFECT OF HIGH VOLTAGE ELECTRIC
DISCHARGE ON TREATMENT OF
MODEL SYSTEMS THAT SIMULATE
OLIVE MILL WASTEWATER**

DOCTORAL DISSERTATION

Supervisor: PhD Zoran Herceg, Full professor

Zagreb, 2023.

Doktorski rad je izrađen u Laboratoriju za procesno-prehrambeno inženjerstvo Zavoda za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod mentorstvom dr. sc. Zorana Hercega, red.prof.

Ovaj doktorski rad izrađen je uz pomoć projekata „Opremanje poluindustrijskog praktikuma za razvoj novih prehrambenih tehnologija (KK.01.1.1.02.0001)“ i „Znanstveni centar izvrsnosti – BioProspecting Jadranskog mora“ (KK.01.1.1.01) financiranih iz fondova Europske unije te „Projekta razvoja karijera mladih istraživača – izobrazba novih doktora znanosti“ (DOK-09-2018) Hrvatske zaklade za znanost.

Tema doktorskog rada prihvaćena je na 1. redovnoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu za akademsku godinu 2020./2021. održanoj 28. listopada 2020. godine, a Senat Sveučilišta u Zagrebu donio je odluku o pokretanju postupka stjecanja doktorata znanosti u okviru doktorskog studija na 3. redovnoj elektroničkoj sjednici održanoj 15. prosinca 2020. godine

Informacije o mentoru

Dr. sc. Zoran Herceg, redoviti profesor Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Zoran Herceg rođen je 28. studenoga 1969. godine u Zagrebu. Diplomirao je na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu u lipnju 1994. godine. Magistrirao je 19. prosinca 1997, a doktorski rad obranio je 3. studenoga 2000 godine. Zaposlio se kao znanstveni novak na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo, Laboratorij za procesno-prehrambeno inženjerstvo u listopadu 1994., a 2015 godine izabran je u znanstveno nastavno zvanje redovitog profesora u trajnom zvanju. Trenutno je pročelnik Laboratorija za procesno-prehrambeno inženjerstvo. Koordinator je brojnih modula, na preddiplomskom studiju modula „Procesi konzerviranja hrane“ i „Prehrambeno-procesno inženjerstvo I“ na diplomskom studiju modula „Prehrambeno-procesno inženjerstvo II“ i „Nove tehnike obrade hrane“ te na doktorskom studiju modula „Prehrambeno-procesno inženjerstvo“. Autor je sveučilišnog udžbenika „Procesi-konzerviranja hrane-novi procesi“ objavljenog 2009. godine te sveučilišnog udžbenika „Procesi u prehrambenoj industriji“ koji je objavljen 2011. godine. Član je Akademije tehničkih znanosti Hrvatske. Od 2014. – 2018. godine bio je voditelj projekta Hrvatske zaklade za znanost „Application of electrical discharge plasma for preservation of liquid foods“ te projekta financiranog iz EU-a „Opremanje poluindustrijskog praktikuma za razvoj novih prehrambenih tehnologija“. Sudjelovao je na brojnim drugim projektima financiranim od strane EU poput „Višnja Maraska (Prunus cerasus var. Marasca) kao sastojak funkcionalne hrane“, „Primjena inovativnih tehnologija u izolaciji bioaktivnih spojeva iz organskog otpada u proizvodnji vina“. Član je upravnog odbora tri COST projekta, COST Action TD1104 i COST Action FA2012.

Publicirao je 89 znanstvenih radova, od čega 56 kategorije a1, 20 radova kategorije a2, 9 radova kategorije a3 i 4 rada koji nisu indeksirani u skupinama a1, a2 i a3. Sudjelovao je na 51 znanstvenom skupu, od čega 31 inozemnih i 20 domaćih s međunarodnim sudjelovanjem.

Mentor je 8 obranjenih doktorskih disertacija, jednog magistarskog rada te 30 diplomskih radova. Dobitnik je godišnje nagrade „Rikard Podhorsky“ Akademije tehničkih znanosti Hrvatske u 2014. godini te Državne nagrade za znanost u 2017. godini.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Sveučilišni poslijediplomski studij Biotehnologija i bioproceno inženjerstvo, prehrambena tehnologija i nutricionizam

UDK: 547.568.1:62-229.8:628.3:665.327.3(043.3)

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Doktorski rad

UTJECAJ VISOKONAPONSKOGA ELEKTRIČNOGA PRAŽNJENJA NA OBRADU MODELNIH SUSTAVA KOJI SIMULIRAJU OTPADNE VODE IZ PROIZVODNJE MASLINOVA ULJA

Mia Ivanov, mag. ing. techn. aliment.

Rad je izrađen u Laboratoriju za procesno-prehrambeno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu

Mentor: dr. sc. Zoran Herceg, red.prof.

Kratki sažetak:

Cilj ovog istraživanja bio je ispitati utjecaj visokonaponskog električnog pražnjenja na obradu modelnih sustava sastava sličnog otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja (OVM) te potom dobivena znanja primijeniti na obradu realnog sustava OVM-a. Prva faza istraživanja provodila se na modelnom sustavu sastavljenom od četiri polifenolna spoja (hidroksitirosolu, tirosolu, vanilinskoj kiselini i oleuropeinu). Svim uzorcima modelnog sustava određeni su fizikalno-kemijski parametri (pH, električna vodljivost, temperatura te prisutnost NO_2^- , NO_3^- i H_2O_2), a također su provedene HPLC i NIR analiza.

Na osnovu dobivenih rezultata u prvoj fazi, u drugoj fazi je proveden eksperiment visokonaponskog električnog pražnjenja na OVM prema Box Behnken dizajnu eksperimenta koji je uključivao tri različite varijable: napon (30, 40 i 50 kV), vrijeme tretmana (10, 20 i 30 min) te primijenjeni plin (kisik, dušik i zrak). Na svim uzorcima su provedene fizikalno-kemijske analize (pH, temperatura, električna vodljivost, zasićenost kisikom te prisutnost NO_2^- , NO_3^- , H_2O_2 , NH_4^+ , PO_4^- , ukupni N i P te određivanje boje), HPLC, EPR te NIR analiza. Prema dobivenim rezultatima najučinkovitijim tretmanom za razgradnju polifenolnih spojeva se pokazao tretman napona 50 kV u trajanju 30 minuta te uz primjenu kisika, dok je najveće smanjenje KPK i najveća promjena boje postignuta tretmanom napona 40 kV u trajanju 30 minuta uz primjenu zraka.

Broj stranica: 94

Broj slika: 23

Broj tablica: 25

Broj literaturnih navoda: 100

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: visokonaponsko električno pražnjenje, OVM, fenolni spojevi

Datum obrane: 3. listopada 2023.

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. dr. sc. Tomislava Vukušić Pavičić, izv. prof.
2. dr. sc. Tibela Landeka Dragičević, red. prof.
3. dr. sc. Mirna Habuda-Stanić, red. prof.
4. dr. sc. Dubravka Škevin, red. prof.

Rad je pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta u Zagrebu, Kačićeva 23, Zagreb, Nacionalnoj i sveučilišnoj knjižnici, Hrvatske bratske zajednice bb, Zagreb i na Sveučilištu u Zagrebu, Trg Republike Hrvatske 14, Zagreb.

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb

PhD thesis

Faculty of Food Technology and Biotechnology

Postgraduate study in Biotechnology and Bioprocess Engineering, Food Technology and Nutrition

UDK: 547.568.1:62-229.8:628.3:665.327.3(043.3)

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food Technology

EFFECT OF HIGH VOLTAGE ELECTRIC DISCHARGE ON TREATMENT OF MODEL SYSTEMS THAT SIMULATE OLIVE MILL WASTEWATER

Mia Ivanov mag. ing. techn. aliment.

Thesis performed at Laboratory for Food Processes Engineering, Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb

Supervisor: PhD Zoran Herceg, Full Professor

Short abstract:

The aim of this research was to examine the influence of high-voltage electric plasma discharge on the treatment of model solution with a composition similar to olive mill wastewater (OMWW), and then apply gained knowledge to the treatment of an OMWW. The initial phase of the study was carried out on a model solution composed of four polyphenolic compounds (hydroxytyrosol, tyrosol, vanillic acid and oleuropein). Physicochemical parameters (pH, electrical conductivity, temperature and presence of NO_2^- , NO_3^- and H_2O_2) were determined for all samples, as well as HPLC and NIR analysis.

Building upon the outcome of the first phase, in the second phase, an experiment of high-voltage electric discharge was carried out on the OMWW according to the Box Behnken design of the experiment, which included three different variables: voltage (30, 40 and 50 kV), treatment time (10, 20 and 30 min) and the applied gas (oxygen, nitrogen and air). Physicochemical analyses (pH, temperature, electrical conductivity, oxygen saturation and the presence of NO_2^- , NO_3^- , H_2O_2 , NH_4^+ , PO_4^- , total N and P and color determination), HPLC, EPR and NIR analysis were performed on all samples. According to the obtained results, the most effective treatment for the degradation of polyphenolic compounds was the treatment at a voltage of 50 kV for 30 minutes with oxygen, while the greatest reduction in COD and the highest change of color was achieved with the treatment at a voltage of 40 kV for 30 minutes with air

Number of pages: 94

Number of figures: 23

Number of tables: 25

Number of references: 100

Original in: Croatian

Keywords: high-voltage electric plasma discharge, OMWW, polyphenols

Date of the thesis defense: October 3, 2023

Reviewers:

1. PhD Tomislava Vukušić Pavičić, Associate Professor
2. PhD Tibela Landeka Dragičević, Full Professor
3. PhD Mirna Habuda-Stanić, Full Professor
4. PhD Dubravka Škevin, Full Professor

Thesis deposited in: Library of Faculty of Food Technology and Biotechnology, Kačićeva 23, Zagreb, National and University Library, Hrvatske bratske zajednice bb, Zagreb and University of Zagreb, Trg Republike Hrvatske 14, Zagreb).

SAŽETAK

Otpadna voda iz procesa proizvodnje maslinova ulja (OVM) tamnocrvena je do crna tekućina nastala kao nusproizvod mehaničkom preradom plodova masline tijekom procesa izdvajanja ulja iz ploda masline. Zbog svog sastava, visoke koncentracije polifenola te velikog organskog opterećenja, fitotoksična je tekućina i predstavlja potencijalni ekološki problem ukoliko se nekontrolirano odlaže u okoliš. Do sada su provedena brojna istraživanja s ciljem razgradnje OVM-a, fizikalnim (taloženje, flokulacija, sedimentacija, membranski procesi), kemijskim (koagulacija, adsorbensi), biološkim (aerobnim i anaerobnim) i elektrokemijskim metodama te naprednim oksidacijskim procesima kombinirajući tretiranje ozonom, UV-om, vodikovim peroksidom te Fentonovim reakcijama. Niti jedna od navedenih metoda nije dala zadovoljavajuće vrijednosti izlaznih efluenata za ispušt u okoliš, stoga je potrebno tražiti nova rješenja primjenom inovativnih tehnika, poput visokonaponskog električnog plazma pražnjenja, za zbrinjavanje OVM-a

Cilj ovog istraživanja je bio ispitati utjecaj visokonaponskog električnog plazma pražnjenja na obradu modelnih sustava sastava sličnog otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja (OVM) te potom dobivena znanja primijeniti na obradu realnog sustava OVM-a.

U prvoj fazi istraživanja provedeni su tretmani modelne otopine visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem. Modelna otopina je bila sastavljena od četiri polifenolna spoja karakteristična za otpadnu vodu iz procesa proizvodnje maslinova ulja: hidrokisitirosol, tirosol, vanilinska kiselina i oleuropein. Prije tretmana pH vrijednost uzoraka modelne otopine je bila korigirana na vrijednost 7 ili 10. U svim uzorcima prije i nakon visokonaponskom električnog plazma tretmana određeni su fizikalno-kemijski parametri (pH, električna vodljivost, temperatura te prisutnost NO_2^- , NO_3^- i H_2O_2), HPLC i NIR analiza. Nakon provedene prve faze istraživanja, utvrđeno je kako se najbolji rezultat razgradnje modelne otopine postiže plazma tretmanom napona 50 kV u trajanju 30 minuta uz primjenu kisika te kako provedeno istraživanje ima potencijal za primjenu na realnom sustavu otpadne vode.

U drugoj fazi istraživanja je proveden eksperiment visokonaponskog električnog pražnjenja na OVM-u prema Box Behnken dizajnu eksperimenta koji je uključivao tri različite varijable napon (30, 40 i 50 kV), vrijeme tretmana (10, 20 i 30 min) te primijenjeni plin (kisik, dušik i zrak). Na svim uzorcima OVM-a su provedene fizikalno-kemijske analize (pH, temperatura, električna vodljivost, zasićenost kisikom te prisutnost NO_2^- , NO_3^- , H_2O_2 , NH_4^+ , PO_4^- , ukupni N i P te određivanje boje), HPLC, EPR te NIR analiza. Prema dobivenim rezultatima

najučinkovitijim tretmanom za razgradnju polifenolnih spojeva se pokazao tretman napona 50 kV u trajanju 30 minuta uz primjenu kisika, dok je najveće smanjenje KPK postignuto tretmanom napona 40 kV u trajanju 30 minuta uz primjenu zraka. U svim uzorcima je primijećeno smanjenje antioksidacijske aktivnosti uz najveći pad kod uzorka tretiranog pri naponu 40 kV uz upuhivanje zraka u trajanju od 30 minuta te je kod istog uzorka primijećena i najveća promjena boje.

SUMMARY

Olive mill wastewater (OMWW) is a dark red to black liquid, a by-product of the mechanical extraction of extra virgin olive oil from olive fruit. Due to its composition, high concentration of polyphenols and high organic load, it is a phytotoxic liquid and represents a potential ecological problem if it is discharged into the environment. So far, numerous researches have been carried out with the aim of decomposing OMWW, using physical (precipitation, flocculation, sedimentation, membrane processes), chemical (coagulation, adsorbents), biological (aerobic and anaerobic) and electrochemical methods, as well as advanced oxidation processes combining treatment with ozone, UV, hydrogen peroxide and Fenton reactions. None of the mentioned methods gave satisfactory values of output effluents for release into the environment, therefore it is necessary to look for new solutions using innovative techniques, such as high-voltage electric plasma discharge, for disposal of OMWW.

The aim of this research was to examine the influence of high-voltage electric plasma discharge on the processing of model solution with a composition similar to olive mill wastewater, and then to apply the acquired knowledge to the processing of a OMWW.

In the first phase of the research, the model solution was treated with high-voltage electric plasma discharge. The model solution was composed of four polyphenolic compounds characteristic for OMWW: hydroxytyrosol, tyrosol, vanillic acid and oleuropein. Before treatment, the pH value of the model solution samples was corrected to a value of 7 or 10. In all samples before and after high-voltage electric plasma treatment, physicochemical parameters (pH, electrical conductivity, temperature, and the presence of NO_2^- , NO_3^- and H_2O_2), HPLC and NIR were determined. After the first phase of the research, it was found that the best result of decomposition of the model solution is achieved by plasma treatment at a voltage of 50 kV for 30 minutes with the use of oxygen, and that the research carried out has the potential to be applied to a real wastewater system.

In the second phase of the research, a high-voltage electrical discharge experiment was conducted on the OMWW according to the Box Behnken experiment design, which included three different variables: voltage (30, 40 and 50 kV), treatment time (10, 20 and 30 min) and applied gas (oxygen, nitrogen and air). Physicochemical analyses (pH, temperature, electrical conductivity, oxygen saturation and the presence of NO_2^- , NO_3^- , H_2O_2 , NH_4^+ , PO_4^- , total N and P and color determination), HPLC, EPR and NIR spectroscopy were performed on all OMWW samples. According to the obtained results, the most effective treatment for the degradation of

polyphenolic compounds was the 50 kV voltage treatment for 30 minutes with the application of oxygen, while the greatest reduction in COD was achieved with the 40 kV voltage treatment for 30 minutes with the application of air. In all samples, a decrease in antioxidant activity was observed, with the largest drop in the sample treated at 40 kV with air blowing for 30 minutes, and the largest color change was also observed in the same sample.

Zahvaljujem svima koji su na bilo koji način pridonijeli ostvarenju ove disertacije, posebice:

mentoru prof. dr. sc. Zoranu Hercegu na stručnom vodstvu i pomoći tijekom izrade disertacije, članicama povjerenstva prof. dr. sc. Tibli Landeka Dragičević i prof. dr. sc. Mirni Habuda-Stanić na pomoći i korisnim savjetima tijekom pisanja ovog rada.

Hvala svim članovima mog laboratorija, a posebno izv. prof. dr. sc. Tomislavi Vukušić Pavičić na ukazanoj prilici, svesrdnoj pomoći, svom prenesenom znanju, strpljenju i potpori tijekom izrade doktorskog rada.

Hvala mojim uljarima, osobito prof. dr. sc. Dubravki Škevin i izv. prof. dr. sc. Klari Kraljić na pomoći i svim savjetima.

Hvala prof. dr. sc. Jasenki Gajdoš Kljusurić na pomoći i prenošenju znanja oko statističke obrade podataka.

Veliko hvala mojim prijateljima i obitelji, mojoj seki, šogoru, mojim nećakinjama Lucii i Doris na ljubavi, strpljenju, razumijevanju, podršci i ohrabrenju kroz cijeli život.

Ovaj rad posvećujem mojim roditeljima Višnji i Denisu.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1 OTPADNA VODA IZ PROCESA PROIZVODNJE DJEVIČANSKOG MASLINOVA ULJA	3
2.2 FENOLNI SPOJEVI	6
2.3 METODE OBRADE OVM-A	11
2.3.1 Fizikalne metode obrade.....	11
2.3.2 Biološke metode obrade	12
2.3.3 Kemijske metode obrade	13
2.3.4 Elektrokemijske metode obrade	14
2.3.5 Napredni oksidacijski procesi.....	14
2.3.5.1 Kemijski napredni oksidacijski procesi.....	15
2.3.5.2 Fotokemijski napredni oksidacijski procesi	16
2.4 VISOKONAPONSKO ELEKTRIČNO PRAŽNENJE - PLAZMA.....	17
2.4.1 Nastajanje plazme.....	19
2.4.2 Tipovi plazma pražnjenja	22
2.4.2.1 Plazma pražnjenja istosmjjerne struje i niskih frekvencija.....	22
2.4.2.1.1 Koronalno pražnjenje.....	22
2.4.3 Plazma u tekućinama.....	25
2.5 NIR SPEKTROSKOPIJA	28
2.6 ESR – ELEKTRONSKA SPINSKA REZONANCIJA.....	29
3 MATERIJALI I METODE	31
3.2 MATERIJALI	31
3.2.1 Kemikalije, reagensi, otapala	31
3.2.2 Oprema	32
3.2.3 Označavanje uzoraka i dizajn eksperimenta.....	33
3.3 METODE RADA	35
3.3.1 Priprema uzoraka.....	35
3.3.2 Plazma tretman	35
3.3.3 Određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika	37
3.3.3.1 Određivanje pH vrijednosti, električne provodljivosti i temperature	37
3.3.3.2 Određivanje koncentracije anorganskih spojeva	38
3.3.3.3 Određivanje koncentracije vodikovog peroksida	38
3.3.3.4 Određivanje boje uzoraka prema CIE L* a* b* sustavu	39
3.3.3.5 Određivanje metala.....	39

3.3.4	Ukupni fenolni spojevi (TPC – <i>engl. Total phenolic content</i>).....	40
3.3.5	HPLC analiza polifenola	40
3.3.6	Određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK).....	41
3.3.7	Određivanje sadržaja ukupnog ugljika (TOC).....	42
3.3.8	ESR određivanje antioksidacijske aktivnosti	42
3.3.9	NIR spektroskopija.....	43
3.3.10	Statistička analiza	44
4	REZULTATI	45
4.1	UTJECAJ TRETMANA VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG PLAZMA PRAŽNJENJA NA SVOJSTVA MODELNOG SUSTAVA SASTAVA SLIČNOG OVM-u	45
4.2	UTJECAJ TRETMANA VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG PLAZMA PRAŽNJENJA NA SVOJSTVA OVM-a	51
5.	RASPRAVA	64
5.1	UTJECAJ TRETMANA VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG PLAZMA PRAŽNJENJA NA SVOJSTVA MODELNOG SUSTAVA SASTAVA SLIČNOG OVM-u	64
5.1.1	Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na fizikalno- kemijske karakteristike modelnih otopina sastava sličnog OVM-u	64
5.1.2.	Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na razgradnju polifenola u modelnoj otopini sastava sličnog OVM-u.....	68
5.1.3.	Određivanje promjena u modelnoj otopini sastava sličnog OVM-u primjenom blisko- infracrvene (NIR) spektroskopije	70
5.2	UTJECAJ TRETMANA VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG PLAZMA PRAŽNJENJA NA SVOJSTVA OVM-a	72
5.2.1	Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na fizikalno kemijske karakteristike OVM-a	72
5.2.2	Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na razgradnju polifenola OVM-a	74
5.2.3	Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na vrijednosti kemijske potrošnje kisika i ukupnog organskog ugljika u OVM-u.....	76
5.2.4	Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na promjenu boje OVM-a	79
5.2.5	Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na antioksidacijsku aktivnost OVM-a.....	80
5.2.6	Određivanje promjena u OVM-u primjenom blisko-infracrvene (NIR) spektroskopije	81
6.	ZAKLJUČCI	83
7.	LITERATURA	85

1. UVOD

Tijekom procesiranja hrane dolazi do tvorbe značajne količine otpadnih produkata koje je potrebno smanjiti u cilju održivosti cjelokupnog sustava gospodarenja hranom te smanjenja zagađenja okoliša nusproduktima prehrambene industrije npr. kominom i/ili otpadnim vodama pri preradi maslina. Stoga je od presudne važnosti iskoristiti nusproizvode prehrambene industrije kao vrijedne resurse za daljnju obradu i razvoj novih proizvoda, a ujedno i minimizirati rastući ekološki problem otpada prehrambene industrije (Peikert i sur., 2017). Tijekom prerade maslina osim maslinovog ulja (20 %) generiraju se i velike količine nusprodukata - čvrstog ostatka (komine) (30 %) i otpadne vode (OVM) (50 %). Oba nusprodukta zbog visokog udjela polifenolnih i sumpornih spojeva nepovoljno djeluju na okoliš, mikrobnu populaciju u tlu te vodeni ekosustav. Problemu zbrinjavanja komine znanstvenici su do danas posvetili veliku pažnju te ga, u većoj ili manjoj mjeri, možemo smatrati riješenim (Chraibi i sur., 2022; Khdaier i Abu-Rumman, 2020; Uddin i sur., 2021). Međutim, problem zbrinjavanja otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja (OVM) i dalje predstavlja znanstveni i tehnološki izazov (Genethliou i sur., 2020; Tufaner, 2019; Zrnčević, 2018). Otpadne vode proizašle iz procesa proizvodnje maslinova ulja jedne su od organskim sadržajem najzagađenijih industrijskih otpadnih voda, s kemijskim potrošnjom kisika (KPK) vrijednosti do 220 gL^{-1} , biokemijske petodnevnice potrošnje kisika (BPK_5) do 110 gL^{-1} , ukupnim organskim ugljikom (UOU) do 45 gL^{-1} te suspendiranih krutina (SK) ($1-9 \text{ gL}^{-1}$) (Genethliou i sur., 2020; Oreščanin, 2015). Stoga je iz OVM nužno prije ispuštanja u okoliš, odnosno u sustav javne odvodnje, ukloniti za okoliš štetne tvari.

Najčešće korištene metode obrade otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja uključuju različite fizikalno-kemijske obrade, biološku obradu - anaerobnu i aerobnu, elektrokemijsku obradu te razne napredne oksidacijske procese (AOP). Napredni oksidacijski procesi (AOP) podrazumijevaju nastajanje i naknadnu reakciju hidroksilnih radikala te oksidaciju organskog sadržaja OVM-a što uzrokuje dekolORIZACIJU i smanjenje „opterećenja“ otpadnih voda. Za uklanjanje organskih onečišćujućih tvari iz OVM-a znanstvenici su istraživali različite kombinacije AOP-a. Koristili su tretiranje ozonom (često u kombinaciji s H_2O_2 , UV, ili oboje), UV/ H_2O_2 sustav ili Fentonov proces pri čemu su navedene kombinacije pokazale vrlo dobre rezultate. Moguće je djelomično ukloniti boje iz otpadnih voda te smanjiti KPK i toksičnosti tretirane otpadne vode koristeći kombinirane AOP tretmane, koristeći O_3 u kombinaciji s UV, ultrazvukom i H_2O_2 (Elkacmi i Bennajah, 2019; Feng i sur., 2020; Rekhate i Srivastava, 2020). Međutim, zbog izuzetno složenog sastava OVM ne mogu se ni jednom od

prethodnih navedenih metoda postići zadovoljavajuće izlazne vrijednosti efluenata za ispust u okoliš. Stoga je za pročišćavanje OVM-a nužno tražiti nova rješenja primjenom inovativnih tehnika koje se temelje na naprednim oksidacijskim procesima (AOP).

Visokonaponsko električno pražnjenje jedno je od mogućih rješenja budući da tijekom plazma izboja dolazi do tvorbe velikog broja radikalnih vrsta, H_2O_2 , O_3 , emitiranja UV zračenja i udarnih valova nastalih razvojem hidrodinamičke kavitacije čime nastaju povoljni uvjeti za oksidaciju organskih spojeva prisutnih u OVM-u. Prethodna istraživanja su pokazala da visokonaponskim električnim pražnjenjem moguće brzo i učinkovito razgraditi mnoge organske tvari u modelnim otopinama fenola, trikloretilena, benzena, toluena, etil benzena, raznih organskih boja i slično (Crema i sur., 2020; Du i sur., 2019; Wang i sur., 2019).

Cilj ovog rada je utvrditi utjecaj visokonaponskog električnog plazma pražnjenja na obradu modelnih sustava koji simuliraju otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja, odrediti najpovoljnije i ograničavajuće čimbenike procesa, kao i potencijalne prednosti primjene plazma tehnologije u obradi realnog sustava otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja.

2. TEORIJSKI DIO

2.1 OTPADNA VODA IZ PROCESA PROIZVODNJE DJEVIČANSKOG MASLINOVA ULJA

Otpadna voda iz procesa proizvodnje maslinova ulja (OVM) je tamnocrvena do crna, blago kisela tekućina, visoke električne provodljivosti, nastala kao nusprodukt mehaničkom preradom plodova masline tijekom procesa izdvajanja ulja iz ploda masline (Genethliou i sur., 2020; Tufaner, 2019; Zrnčević, 2018). Bogata je dušikom, fosforom, kalijem i magnezijem. OVM obuhvaća dodane vode i komponente iz ploda izdvojene tijekom procesa proizvodnje maslinova ulja te je tako sačinjena od otpadne vode iz procesa pranja maslina, vegetabilne i dodane vode iz procesa centrifugiranja i završne filtracije, tkiva pulpe i ulja u obliku stabilne emulzije. Udjeli pojedinih komponenti, kao i sastav OVM-a prvenstveno ovise o zrelosti plodova i načinu prerade maslina (Esteves i sur., 2017; Rusan i sur., 2016; Tufaner, 2019; Zrnčević, 2018).

Karakteristike OVM-a ovise o velikom broju čimbenika kao što su metoda izdvajanja ulja, vrsta i zrelost plodova masline, područje uzgoja ploda, klimatski uvjeti tijekom uzgoja te postupci prerade (Tablica 1 i 2). Ovisno o navedenim čimbenicima, OVM se sastoji od 83-92 % vode, 4-16 % organskih spojeva poput lako fermentirajućih bjelančevina, organskih kiselina (octena, fumarna, oksalna kiselina), 1-2 % minerala, male količine emulzije ulja, polifenola, voštanih i smolastih tvari, vitamina te pesticida u tragovima.

Tablica 1. Utjecaj procesa prerade maslina na sastav otpadne vode (Zrnčević, 2018)

Parametar	Tradicionalni proces	Kontinuirani trofazni proces
pH	4,70-5,70	4,50-5,90
Suha tvar (gdm ⁻³)	15,00-266,00	10,00-161,00
Ulje (gdm ⁻³)	0,12-11,50	0,41-29,80
Reducirani šećeri (gdm ⁻³)	9,70-67,10	1,60-34,70
Ukupni polifenoli (gdm ⁻³)	1,40-14,30	0,40-7,10
Hidroksitirosol (mgdm ⁻³)	71,00-937,00	43,00-426,00
Pepeo (gdm ⁻³)	4,00-42,60	0,40-12,50
KPK (gdm ⁻³)	42,10-389,50	15,20-199,20
BPK ₅ (gdm ⁻³)	90,00-100,00	30,00-50,00
Organski dušik (mgdm ⁻³)	154,00-1106,00	140,00-966,00
Ukupni fosfor (mgdm ⁻³)	157,00-915,00	42,00-495,00
Natrij (mgdm ⁻³)	38,00-285,00	18,00-124,00
Kalij (mgdm ⁻³)	1500,00-5000,00	630,00-2500,00

Tablica 2. Glavne karakteristike OVM-a iz različitih područja uzgoja maslina (Elkacmi i Bennajah, 2019)

Država	Proizvodnja (t)	pH	σ (mScm⁻¹)	KPK (gL⁻¹)	BPK₅ (gL⁻¹)	UST (gL⁻¹)	Ukupni fenoli (gL⁻¹)
Španjolska	1.401.600	4,70	-	82,00	-	15,00	1,20
Italija	474.600	5,00	-	28,40	-	29,00	1,41
Grčka	320.000	4,60	17,00	47,00	-	50,30	8,10
Turska	143.000	4,28-4,85	10,04-12,01	55,73-91,55	29,93-38,60	14,08-33,50	2,44-4,51
Tunis	140.000	4,80	8,8	58,50	17,00	41,70	9,10
Maroko	130.000	4,32	11,25	24,49	11,64	3,59	3,15
Portugal	109.100	5,10-5,80	-	7,45-68,48	0,50-9,50	3,13-30,22	0,03-1,05
Alžir	83.500	4,70	-	74,50	-	-	16,50
Jordan	29.500	4,91	7,64	58,61	36,33	-	2,27
Egipat	25.000	3,80-5,20	-	45,33-134,40	12,00-78,00	17,71-66,29	19,78-22,03

Tamnu boju OVM-a osiguravaju visoke koncentracije spojeva poput tanina i lignina, dok se toksičnost OVM-a za biljke i mikroorganizme pripisuje velikom udjelu organskih komponenti, fenolnih spojeva, slobodnih masnih kiselina, tanina, niskoj pH vrijednosti, niskoj količini otopljenog kisika te visokom udjelu ukupnih otopljenih čestica (Al-Hmoud i sur., 2020; Ibrahimoglu i Yilmazoglu, 2018; Rahmanian i sur., 2014). Najdominantniji organski spojevi OVM-a su šećeri u obliku glukoze i fruktoze te manje prisutnih maltoze i saharoze. Također, identificirano je i 19 aminokiselina u kojima je sadržaj dušika od 2 do 5 % te su od anorganskih kiselina prisutne značajne količine anorganskih soli fosfata, sulfata i klorida topivih u vodi (De Marco i sur., 2007; Landeka Dragičević i sur., 2010; Tunalioglu i Bektaş, 2012).

Prilikom ispuštanja OVM-a u vodu dolazi do porasta broja mikroorganizama, koji reducirajuće šećere koriste kao izvor hrane, što uzrokuje smanjenje količine kisika potrebnog drugim živućim organizmima, čime se narušava ekološka ravnoteža. Prisutnost anorganskih soli, osobito visoke koncentracije fosfata, uzrokuje prekomjerno razmnožavanje fitoplanktona, a time i proizvodnju organskih tvari iznad kapaciteta razgradnje ekosustava. Pritom se na razgradnju suviška neiskorištene organske tvari troši kisik, što rezultira hipoksijom ili anoksijom pridonog sloja s ozbiljnim posljedicama za bentoske organizme (Zrnčević, 2018). Negativan učinak fenola na ekosustav potvrđen je kod brojnih testnih organizama. Tako primjerice 15 minutna izloženost komarčeve ribice (*Gambusia affinis*) ili vodenbuhe (*Daphnia magna*) otpadnoj vodi koja sadrži 40 mgdm⁻³ fenolnih spojeva, rezultira njihovom visokom smrtnošću (Stamatakis, 2010).

Otpadna voda iz procesa proizvodnje djevičanskog maslinova ulja sadrži više od 40 različitih fenolnih komponenti čija koncentracija značajno ovisi o području uzgoja maslina, vrsti primijenjenog procesa prerade, uvjetima uzgoja masline, a najčešće se koncentracija polifenola u OVM-u kreće u vrijednosti od 0,5 gL⁻¹ do 24 gL⁻¹. Tri najzastupljenije vrste fenolnih spojeva su hidroksitirozol, tirozol i oleuropein, a uz njih prirodne antioksidanse čine još i 2-hidroksitirozol, oleanolna kiselina, maslinska kiselina, flavonoidi, antocijani i tanini te se oni zbog hidrofilnog karaktera u većoj količini otapaju u vodi i izdvajaju tijekom procesa prerade ploda masline u vidu otpadne vode (Abu-Lafi i sur. 2017; De Marco i sur., 2007; Genethliou i sur., 2020; Rahmanian i sur., 2014; Zrnčević, 2018).

Zbog svog složenog kemijskog sastava, otpadna voda iz procesa proizvodnje maslinova ulja karakterizirana je visokim organskim opterećenjem s vrijednostima kemijske potrošnje kisika (KPK) do 220 gL⁻¹, biokemijske petodnevnne potrošnje kisika (BPK) do 110 gO₂L⁻¹, ukupnog organskog ugljika (TOC, engl. *Total Organic Carbon*) do 45 gL⁻¹ te velikim udjelom

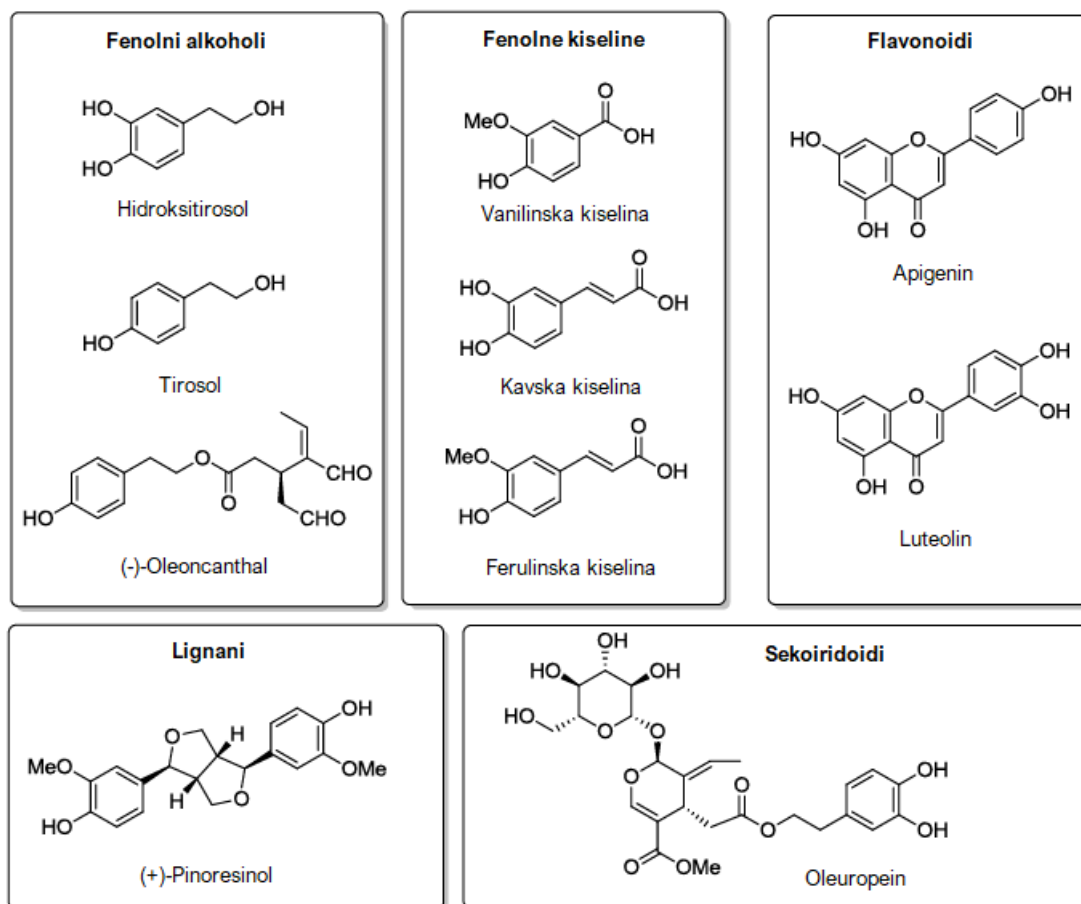
suspendiranih čestica do 20 gL^{-1} , što ju čini jednom od organskim sadržajem najzagađenijih industrijskih otpadnih voda (Oreščanin, 2015).

Prisutnost velikih količina nutrijenata u OVM-u predstavlja izvanredan medij za multipliciranje patogena i daljnje zagađenje već zagađenih prirodnih voda, što može imati brojne negativne utjecaje na vodeni svijet i ljude ukoliko dođu u kontakt s takvom vodom (Rusan i sur., 2016). Ekotoksikološki testovi pokazuju visoku akutnu toksičnost OVM-a, prilikom čega su zabilježene letalne doze LD50 od 2,6 % do 3,8 % za makrobekralježnjake *Gammarus pulex* i *Hydropsyche peristerica*, između 0,7 % i 12,4 % za mikrobekralježnjake *Daphnia magna* i *Thamnocephalus platyurus*, a za luminiscentnu bakteriju *Vibrio fischeri* određena je efektivna koncentracija (EC50) od 0,2 % do 1,2 % (Kučić Grgić i sur., 2020). No, odlaganje otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja u okoliš ima negativan utjecaj ne samo na vodeni ekosustav nego i na fizikalno-kemijske značajke, mikrobiološku aktivnost te smanjenje plodnosti tla, a posljedično i na poljoprivredne kulture inhibicijom klijanja sjemena, opadanjem lišća i plodova (Zrnčević, 2018).

2.2 FENOLNI SPOJEVI

Fenolni spojevi obuhvaćaju grupu polarnih spojeva koji u svojoj strukturi sadrže aromatski prsten s vezanom jednom ili više hidroksilnih skupina i funkcionalnim bočnim lancem te imaju bitnu ulogu u zaštiti biljke od oksidacije, UV-zračenja i mikroorganizama. U hrani se nalaze u slobodnom obliku ili vezani na neke njene komponente zbog prirode njihove kemijske strukture (Palčić i sur., 2009).

Polifenoli se po sastavu mogu podijeliti na jednostavne i složene. Prema zastupljenosti u otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja od jednostavnih polifenola najzastupljeniji su hidroksitirosol (2-(3,4-dihidroksifenil)-etanol), tirosol (*p*-2-(4-hidroksifenil)-etanol) te nešto manje fenolne kiseline, dok predstavnike složenih polifenola čine sekoiridoidi i njihovi aglikoni (Slika 1).



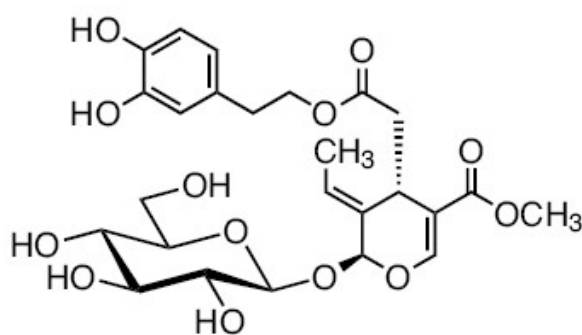
Slika 1. Strukturne formule fenolnih spojeva (Rodríguez-Morató i sur., 2015)

Fenolne kiseline se općenito mogu podijeliti na C6-C1 derivate benzojeve kiseline (hidroksibenzojeva, vanilinska, protokatehinska i siringinska kiselina) i C6-C3 derivate cimetine kiseline (kafeinska kiselina, *o*-kumarinska, *p*-kumarinska i ferulinska kiselina) (Tsagaraki i sur., 2007; Tsimogiannis i Oreopoulou, 2019). Hidroksibenzojeve kiseline se u prirodi nalaze uglavnom u obliku glukozida i to u vrlo malim količinama. Vanilinska kiselina (4-hidroksi-3-metoksibenzojeva kiselina) derivat je dihidroksibenzojeve kiseline, a sudjeluje i kao međuprodukt u proizvodnji vanilina (4-hidroksi 3-metoksibenzaldehid) iz ferulinske kiseline (Civolani i sur., 2000). Polifenolni sastav maslina je vrlo kompleksan i raznolik pa tako polifenolni sastav ekstra djevičanskog maslinovog ulja i otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja ovisi o klimatskim uvjetima, mjestu uzgoja, sorti masline, zrelosti ploda te načinu prerade, no najkarakterističniji fenolni spojevi za plod masline su hidroksitirosol, tirosol i oleuropein (Lombardo i sur., 2018).

Oleuropein je najpoznatiji i najzastupljeniji sekoiridoid u plodu maslina. Sekoiridoide kao predstavnike složenih fenolnih spojeva karakterizira prisutnost elenolne kiseline ili derivata elenolne kiseline u molekulskoj strukturi. Najčešće su prisutni u obliku derivata kao što je dialdehidni oblik elenolne kiseline povezane s tirosolom (*p*-HPEA-EDA), aldehidni oblik elenolne kiseline vezane na tirosol (*p*-HPEA-EA), dialdehidni oblik elenolne kiseline povezane s hidroksitirosolom (3,4-DHPEA-EDA), 4-(acetoksietil) -1,2-dihidroksibenzol (3,4-DHPEA-AC), oleuropein aglikon (3,4-DHPEA-EA) i njegov metilirani oblik (metil 3,4-DHPEA-EA). Osim gore navedenih skupina, u maslinovom ulju zastupljeni su i derivati lignana (pinoresinol i acetoksinoresinol) (Servili i Montedoro, 2002; Suárez i sur., 2008).

Oleuropein je prisutan u svim dijelovima biljke no u većim koncentracijama se zadržava u listu i plodu. U najvišoj je koncentraciji prisutan u malim nezrelim plodovima masline do 45 dana nakon cvatnje te mu se razvojem i sazrijevanjem ploda zbog hidrolize koncentracija počinje naglo smanjivati što je jedan od razloga zašto se ponekad ne može detektirati u otpadnoj vodi (Alagna i sur. 2016; De Marco i sur., 2007; Lombardo i sur., 2018).

Oleuropein (Slika 2) prikazuje ester 2'-(3', 4'-dihidroksifenil)-etanola (hidroksitirosol) i oleosidnog kostura zajedničkog sekoiridoidnim glukozidima porodice *Oleaceae*. Sekoiridoidi u porodici *Oleaceae* obično potječu od oleozidnog tipa glukozida (oleozidi), koje karakterizira egzociklična 8,9-oleofinska funkcionalnost, nastala kombinacijom elenolne kiseline i glukozidnog ostatka.



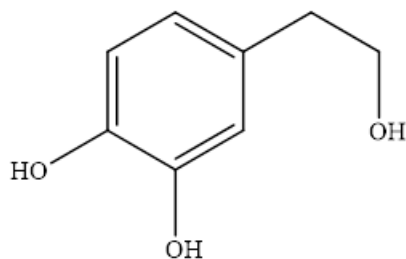
Slika 2. Strukturna formula oleuropeina

Kostur molekule oleuropeina potječe od mevalonske kiseline, a intermedijari supstrata tokom sinteze molekule su 7-deoksilogna kiselina, 7-epiloganska kiselina, 7-ketologanska kiselina, 8-epikingisidna kiselina, oleozid 11-metil ester i 7- β -1-D-lukopiranozil-11-metil oleozid.

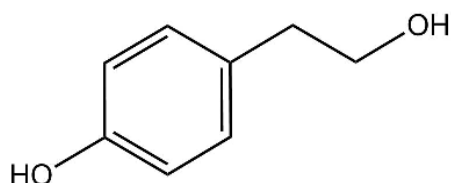
Posljednji korak sinteze oleuropeina uključuje vezanje tirosola na 7-β-1-D-glukopiranozil-11-metil oleozid, što dovodi do stvaranja ligstrozida i 3,4-DHPEA-EDA [2-(3,4-hidroksifenil) etil (3S,4E)-4-formil-3-(2-oksoetil)heks-4-enoata]. Ligstrozid je izravni međuprodukt oleuropeina, dok se 3,4-DHPEA-EDA pretvara u oleuropein aglikon, a zatim u oleuropein (Alagna i sur., 2016; Shamshoum i sur. 2017; Soler-Rivas i sur., 2000).

Oleuropein je u većim koncentracijama prisutan u zelenim plodovima i u sortama malog ploda, dok je u sortama većeg ploda, kao i u zrelih plodovima prisutan u vrlo malim koncentracijama, dok kod potpuno zrelih plodova prisutnost oleuropeina može izostati jer sazrijevanjem ploda masline oleuropein postepeno hidrolizira u elenolnu kiselinu i hidroksitirosol koji se preradom masline izdvaja putem otpadne vode. Zbog svog antibakterijskog učinka oleuropein zaštićuje biljke od brojnih biljnih patogena, a njegova antioksidacijska svojstva pokazuju brojne dobrobiti u pretkliničkim modelima liječenja bolesti. Kao antioksidans hvata slobodne radikale te na taj način zaustavlja lančane reakcije slobodnih radikala te djeluje kao kelator metala. Sa svojom kateholnom strukturom može ukloniti peroksilne radikale i prekinuti peroksidne lančane reakcije stvarajući stabilne rezonantne strukture. Antioksidativna aktivnost oleuropeina je povezana s visokom bioraspoloživošću te su istraživanja pokazala kako ima visok stupanj apsorpcije, temeljan za njegova metabolička i farmakokinetička svojstva (Lombardo i sur., 2018).

Hidroksitirosol i tirosol, kao najzastupljeniji fenolni spojevi u otpadnoj vodi iz proizvodnje maslinova ulja, spadaju u skupinu fenolnih alkohola. Njihova koncentracija u ekstra djevičanskom maslinovom ulju je u početku niska, no povećava se stajanjem zbog hidrolize sekoiridoida, koji sadrže hidroksitirosol i tirosol u svojoj strukturi.



Slika 3. Strukturna formula hidroksitirosola (2-(3,4-dihidroksifenil)etanol)



Slika 4. Strukturna formula tirozola (2-(4-hidroksifenil)etanol)

Tirosol i hidroksitirosol (Slika 3 i 4) se svojom strukturom ne razlikuju od ostalih fenola jer sadrže fenolnu funkcijsku skupinu, no ona je supstituirana hidroksietilnim lancem na *para* (*p*) poziciji. Hidroksitirosol ima još jednu dodanu hidroksilnu skupinu na *orto* položaju te stoga čini *orto*-difenol ili katehol. Takva razlika u strukturi hidroksitirosola i tirozola je razlog velike razlike u osjetljivosti na oksidaciju i antioksidacijskoj aktivnosti, kao i kemoprotetivnoj učinkovitosti u uvjetima oksidativnog stresa (Napolitano i sur., 2010; Semidalas i sur., 2016). U provedenim istraživanjima antioksidacijske aktivnosti tirozola i hidroksitirosola na hidroksilni radikal, peroksinitril, superoksidni radikal, vodikov peroksid i hipokloričnu kiselinu, tirosol ne pokazuje nikakvu aktivnost, dok hidroksitirosol ima visoku antioksidacijsku aktivnost (Napolitano i sur., 2010). Također posjeduje izrazita antioksidacijska svojstva u inhibiciji oksidacija izazvanih radikalima Fentonovih reakcija, što bi mogla biti posljedica svojstava keliranja metala. Antioksidacijska aktivnost hidroksitirosola određena je reaktivnošću njegovog *o*-kinona. Ovisno o reakcijskim uvjetima, kinon može sekvencionalno dodati hidroksilne veze između hidroksilne skupine i fenoksilnog radikala čime nastaje benzodioksin koji se dalje ciklizira ili kinon u prisutstvu nukleofilnih sredstava poput vodikovog peroksida može prijeći u 2-hidroksi-*p*-kinon, vrlo stabilnu molekulu izrazite kiselosti (Napolitano i sur., 2010; Semidalas i sur., 2016). Nastanak 2-hidroksi-*p*-kinona u reakciji oksidacije hidroksitirosola ukazuje na izrazitu nukleofilnost te mogu napasti elektrofilna mjesta drugih kinona kao što je hidroksitrosolni kinon. Za razliku od hidroksitirosola, tirosol je vrlo teško oksidirati pa čak i jakim oksidansima nastalim Fentonovim reakcijama. Također hidroksitirosol je vrlo aktivan u reakcijama s nitratnim spojevima, dok je za razliku od hidroksitirosola, tirosol nešto manje reaktivan u istim reakcijama s nitratnim spojevima. Zbog svoje izrazite biodostupnosti oba spoja imaju antikancerogeno, protuupalno, neuroprotektivno i kardioprotektivno djelovanje (Napolitano i sur., 2010; Semidalas i sur., 2016).

2.3 METODE OBRADE OVM-A

Otpadnu vodu iz procesa proizvodnje maslinova ulja karakterizira vrlo kompleksan i toksičan sustav, no u mnogim zemljama se iste bez prethodne obrade ispuštaju u okoliš. To dovodi do značajnih zagađenja rijeka i jezera te negativno utječe na sastav tla i rast biljaka. Zbog toga su do sada testirane brojne metode pročišćavanja OVM-a, koje se mogu razvrstati na fizikalne, biološke, kemijske i elektrokemijske metode (Elkacmi i Bennajah, 2019).

2.3.1 Fizikalne metode obrade

Fizikalne metode obrade koje su istraživane u obradi otpadne vode iz proizvodnje maslinova ulja su razrjeđivanje, evaporacija, sedimentacija i filtracija. Razrjeđivanje se uglavnom koristi prije bioloških metoda obrade otpadne vode kako bi se smanjila toksičnost za mikroorganizme koji razgrađuju organski materijal.

Evaporacijska jezera su jedan od najjednostavnijih i u praksi najčešće primjenjivanih metoda fizikalne obrade otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja. Evaporacija je relativno jednostavan proces, no zahtjeva veliku površinu i dugo vrijeme za djelovanje. Tijekom procesa evaporacije nastaju neugodni mirisi uslijed degradacije organskog materijala i fermentacije, a može doći i do zagađenja okoliša ukoliko stijenke evaporacijskog bazena nisu dobro zabrtvljene (Elkacmi i Bennajah, 2019; Khdaif i Abu-Rumman, 2020). Nakon procesa evaporacija ostaje otpadni mulj bogat organskim materijalom i zaostalim uljem koji je potrebno propisno zbrinuti. Kao i kod procesa evaporacije, i sedimentacija je proces izdvajanja tekućine od suspendiranih čestica pri čemu se u slučaju sedimentacije suspendirane čestice izdvajaju taloženjem. Najčešće se koristi u kombinaciji s biološkim procesima obrade, jer se sedimentacijom može koncentrirati organski materijal otpadne vode do 75 %, a izdvojena voda se može koristiti u sljedećem koraku obrade biološkim, kemijskim ili naprednim oksidacijskim metodama (Al-Hmoud i sur., 2020; Elkacmi i Bennajah, 2019; Vuppala i sur., 2022).

Membranski procesi pročišćavanja otpadne vode podrazumijevaju primjenu postupka mikrofiltracije, ultrafiltracije, nanofiltracije i reverzne osmoze, ovisno o molekularnoj masi i veličini čestica u otpadnoj vodi (Sedej i sur., 2016). Mehanizam membranske filtracije se temelji na difuziji otopine i veličini pora membrane te se obzirom na te karakteristike odabire vrsta membrane i način filtracije. U procesu nanofiltracije veličina pora membrane je najčešće

u rasponu od 1 do 10 nm što membrane čini korisnim u frakcioniranju i selektivnom uklanjanju otopljenih tvari iz složenih otopina. Učinkovitost odvajanja onečišćujućih tvari ovisi o veličini čestica te razlici u naboju čestica i elektrostatskom naboju membrane. Tako se komponente velike molekulske mase razdvajaju mehanizmom prosijavanja, dok se komponente male molekulske mase razdvajaju mehanizmom efekta naboja i difuzije otopine (Bahuguna i sur., 2021). Reverzna osmoza, kao iznimno učinkovit način pročišćavanja otpadne vode, najčešće se primjenjuje kao posljednji stupanj na već filtrirane i visoko obrađene vode. Provođi se na radnom tlaku od 20 do 100 bara kroz polupropusnu membranu te pri čemu na membrana zadržava organske i anorganske tvari, soli i većinu iona (Bahuguna i sur., 2021). Membranska filtracija može biti uspješan postupak za djelomično pročišćavanje otpadne vode i koncentriranje fenolnih spojeva, no za razgradnju i uklanjanje fenolnih spojeva iz otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja, reverznu osmozu je potrebno kombinirati s drugim postupcima obrade, a zbog visokog udjela onečišćujućih tvari, potrebno je na odgovarajući način zbrinuti koncentrat nakon procesa filtracije (Paraskeva i Diamadopoulou, 2006; Sedej i sur., 2016).

2.3.2 Biološke metode obrade

Biološki procesi u postupku razgradnje organskog sadržaja podrazumijevaju primjenu različitih vrsta mikroorganizama, ovisno o stupnju predobrade supstrata u koji se dodaju, te uvjetima procesa obrade. Tako razlikujemo aerobne i anaerobne procese razgradnje. Aerobni procesi se primjenjuju pri obradi OVM-a s niskim organskim opterećenjem te se u procesu razgradnje najčešće koriste aerobni mikroorganizmi ili gljive te je nužno i prisustvo kisika iz zraka. Aerobni procesi u obradi otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja za cilj imaju razgradnju polifenola kako bi se smanjila fitotoksičnost otpadne vode (Khdaif i Abu-Rumman, 2020). Zbog visokog sadržaja polifenola, OVM se prije aerobne razgradnje mora razrijediti ili koristiti u kombinaciji s drugim vrstama obrade jer fenolni spojevi inhibiraju rast mikroorganizama. Za razliku od aerobnih procesa, anaerobni procesi se primjenjuju za obradu OVM-a s visokim organskim opterećenjem te se također prije same obrade medij mora doraditi kako bi se korigirala niska pH vrijednost, nutritivna neravnoteža te prisutnost inhibitornih tvari koje otežavaju anaerobnu razgradnju OVM-a (Morillo i sur., 2009; Zagklis i sur., 2013). Anaerobni procesi se provode bez kisika i uz prisustvo anaerobnih bakterija, koje u otpadnoj vodi uzrokuju proces hidrolize, acidogeneze i metanogeneze te nastaje bioplina sačinjen od metana, ugljikovog dioksida i drugih plinova u tragovima. Za razliku od aerobnih procesa, u anaerobnim procesima se također proizvodi manje otpadnog mulja te imaju niske potrebe za

dodatnom energijom (Khdair i Abu-Rumman, 2020; Paraskeva i Diamadopoulos, 2006). Zbog velikog broja čimbenika koji utječu na biološku razgradnju OVM-a kao i zbog vrlo dugog procesa obrade, do nekoliko mjeseci, aerobna i anaerobna obrada se najčešće primjenjuju u kombinaciji s drugim postupcima obrade poput elektrokemijskih ili fizikalno kemijskih.

2.3.3 Kemijske metode obrade

Kemijske metode koje se najčešće kombiniraju s drugim metodama obrade su dodatak adsorbensa poput aktivnog ugljena, zeolita, gline i bentonita te metoda koagulacije i flokulacije. Najčešće se iz otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja adsorpcijom izdvajaju polifenolni spojevi koji najvećim djelom sudjeluju u toksičnosti otpadne vode (Khdair i Abu-Rumman, 2020). Polifenoli se mogu iz otpadne vode izdvojiti putem dva mehanizma adsorpcije: jednostavnom adsorpcijom na neutralnim neionskim smolama i ionska izmjena na ionskim smolama. Značajan utjecaj na učinkovitost adsorpcije polifenolnih spojeva ima pH vrijednost medija. Pri niskim pH vrijednostima dolazi do protoniranja polifenolnih spojeva te se pritom bolje apsorbiraju na neutralnim smolama, dok više pH vrijednosti pogoduju anionskom obliku polifenola, a time i adsorpciji po mehanizmu ionske izmjene (Frasconi i sur., 2019). Veliko organsko opterećenje OVM-a zahtjeva dodatak većih količina adsorbensa čime se povećava količina nastalog otpadnog mulja te se pojavljuje i problem njegovog zbrinjavanja (Elkacmi i Bennajah, 2019). Osim adsorbensa, koagulacija i flokulacija je još jedan često korišten kemijski postupak obrade otpadnih voda. Metoda koagulacije i flokulacije se temelji na dodatku soli alumijevog ili željezovog sulfata ili, u novije vrijeme, hibridnih materijala, koji uzrokuju neutralizaciju naboja organskih tvari te njihovu koagulaciju i taloženje. Na uspješnost koagulacije i flokulacije utječu brojni čimbenici poput pH otopine, količine koagulanta i flokulacijskog sredstva, brzina i dužina miješanja te temperatura (Lee i sur., 2012; Sher i sur., 2013). Koagulansi potiču aglomeraciju čestica, smanjujući površinski naboj čestica u kiselom pH području, gdje su prisutne hidrolizirane metalne vrste. Struktura flokula se može razlikovati ovisno fizikalno-kemijskim uvjetima, jer pri višim pH vrijednostima i višim količinama flokulacijsko sredstva nastaju rjeđe i poroznije flokule u odnosu na gušće i manje porozne flokule nastale pri nižim pH vrijednostima (Sher i sur., 2013). Metoda flokulacije i koagulacije je najčešće korištena zbog prihvatljive cijene i velike mase uklonjenog organskog materijala, no zaostali aluminijski i željezni spojevi mogu uzrokovati značajne probleme za ljude i prirodu (Esteves i sur., 2019).

2.3.4 Elektrokemijske metode obrade

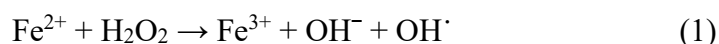
Elektrokoagulacija se primjenjuje u obradi otpadnih voda zbog učinkovitog uklanjanja organskih i anorganskih onečišćivača. Metoda se temelji na neutralizaciji električnog naboja čestica koloida, suspenzija i emulzija uslijed čega dolazi do njihova sjedinjavanja u veće aglomerate. Tijekom elektrokoagulacije se razlika potencijala izmjenjuje između anode (Fe ili Al) i katode te se ioni željeza i aluminija talože na anodi, a na katodi se stvaraju hidroksilni ioni. Ovisno o vrsti anode i pH vrijednosti otopine, elektrokemijskim metodama se u vodenoj fazi povećava koncentracija iona koji djeluju kao koagulansi i dovode do izdvajanja onečišćivača iz vodene faze. Flokule koje nastaju elektrokoagulacijom su relativno velike, stabilne i sadrže malo vezane vode što omogućava njihovo lako izdvajanje procesom sedimentacije i filtracije (Darban i sur., 2020). Iako se smatra ekološki prihvatljivom jer nije potrebno dodavanje kemikalija i vođenje procesa je jednostavno te nema mogućnosti nastanka sekundarnih zagađivača vode, elektrokoagulacija posjeduje nekoliko nedostataka kao što su pasivacija elektrode, visoka potrošnja energije te nastanak otpadnog mulja koji je potrebno propisno zbrinuti. Zato se elektrokoagulacijski procesi primjenjuju u kombinaciji s drugim procesima kako bi se postigla bolja učinkovitost i ekonomičnost (Darban i sur., 2020; Akter i sur., 2022; Neffa i sur 2010).

2.3.5 Napredni oksidacijski procesi

Napredni oksidacijski procesi (*engl. Advanced Oxidation Process, AOP*) su zbog svojih svojstava vrlo istraživane metode u obradi otpadnih voda. Naime, napredni oksidacijski procesi su inovativni procesi obrade u kojima na sobnoj temperaturi i pri atmosferskom tlaku, uz utrošak kemijske, električne ili radioaktivne energije, nastaju reaktivni radikali koji mogu neselektivno reagirati s organskim spojevima. Izrazito su praktični jer se mogu nesmetano koristiti u kombinaciji s drugim metodama pročišćavanja otpadnih voda te su sve komponente u reakcijama AOP-a sigurne za uporabu i nisu štetne za okoliš. Glavni mehanizam AOP-a je generiranje visoko reaktivnih slobodnih radikala koji učinkovito reagiraju s ugljik - ugljik dvostrukim vezama i napadaju aromatsku jezgru te oksidacijom razgrađuju onečišćenja na krajnje produkte, vodu, ugljikov dioksid i anorgansku sol. Napredni oksidacijski procesi se obzirom na način nastanka hidroksilnog radikala mogu podijeliti na kemijske, fotokemijske, sonokemijske i elektrokemijske procese. Učinkovitost svih ovih procesa ovisi o temperaturi, pH vrijednosti, vrsti zagađenja, koncentraciji oksidansa te intenzitetu UV svjetla (Oturán i Aaron, 2014, Elkacmi i Bennajah, 2019).

2.3.5.1 *Kemijski napredni oksidacijski procesi*

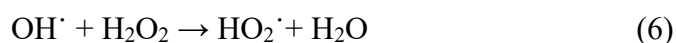
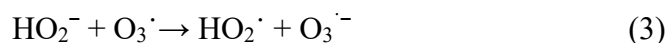
Kemijski napredni oksidacijski procesi obuhvaćaju Fentonove reakcije i Fentonu slične reakcije te ozonizaciju. U Fentonovom procesu se organske tvari razgrađuju zahvaljujući djelovanju katalitičke oksidativne smjese iona željeza i vodikovog peroksida poznatije kao Fentonov reagens. Čimbenici koji utječu na učinkovitost Fentonovog procesa su pH i temperatura, koncentracija reagensa (Fe^{2+} i H_2O_2) te početna koncentracija onečišćivača. Reakcijom vodikovog peroksida i željezo (II) sulfata, prema jednadžbi (1) u kiselom mediju dolazi do oslobađanja OH^\cdot radikala koji učinkovito oksidiraju većinu organskih spojeva.



Hidroksilni radikali nastali reakcijom vodikovog peroksida sa željezovim ionima su vrlo reaktivni i nespecifični oksidansi koji imaju sposobnost reduciranja širokog spektra organskih onečišćivača u otpadnim vodama (Esteves i sur., 2017; Elkacmi i Bennajah, 2019).

Osim brojnih prednosti Fentonovih reakcija u oksidaciji organskog sadržaja, nedostatak procesa je akumulacija željeza u otpadnom mulju koji zahtjeva dodatnu obradu prilikom zbrinjavanja. Uporaba drugih vrsta metalnih katalizatora u Fentonovom procesu, kao i kombinacija različitih metoda obrade otpadne vode, mogla bi pridonijeti smanjenju korištenja metalnih katalizatora i tako smanjiti količinu nakupljenih metala u otpadnom mulju, a i poboljšati učinak pročišćavanja otpadne vode (Oturan i Aaron, 2014).

Perokson proces je napredni oksidacijski proces koji se temelji na kombinaciji O_3 i H_2O_2 pri čemu hidroperoksidni anion povećava brzinu razgradnje O_3 u vodi i pritom nastaje veći broj reaktivnih OH^\cdot radikala kao što je prikazano jednadžbama od (2) do (5).

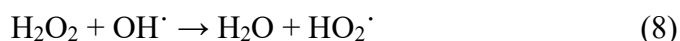


Suvišak vodikovog peroksida dovodi do reakcije s OH^\cdot radikalom i stvaranja hidroperoksidnog iona (HO_2^\cdot) kao što je prikazano jednadžbom (6), dok preniska koncentracija vodikovog peroksida nije poželjna jer H_2O_2 reagira s hidroksilnim radikalima i razgrađuje se bez oksidacije

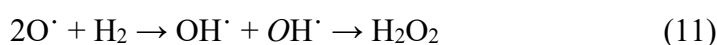
onečišćujućih tvari (jednadžba (6)). Ograničavajući čimbenici ovog procesa razgradnje su niska topljivost ozona u tekućini te visoka cijena korištenih reagensa (Rekhate i Srivastava, 2020).

2.3.5.2 Fotokemijski napredni oksidacijski procesi

Fotokemijski napredni oksidacijski procesi obuhvaćaju fotolizu vodikovog peroksida, fotolizu ozona te foto-Fenton i foto-perokson reakciju, kao i homogenu i heterogenu fotokatalizu. Svim fotokemijskim AOP procesima je zajednička primjena UV zračenja u cilju poboljšanja učinka procesa razgradnje organskog onečišćenja. Fotoliza vodikovog peroksida je proces u kojem vodikov peroksid u kombinaciji s UV zračenjem omogućava stvaranje većih koncentracija hidroksilnog radikala prema jednadžbi (7). Vodikov peroksid zatim može ući u reakciju s nastalim hidroksilnim radikalom formirajući hidroperoksidni ion kao što je prikazano jednadžbom (8).



Ozon se može kombinirati i s UV zračenjem te tada fotolizom ozona u reakciji O^\cdot radikala s vodom dolazi do nastanka OH^\cdot radikala koji dalje stupaju u reakciju razgradnje. Sinergistički učinak ozona i UV zračenja unaprjeđuje nastanak hidroksilnih radikala direktnom reakcijom prikazanom jednadžbama od (9) do (11) i indirektnom reakcijom prikazanom jednadžbama (12) i (13) (Rekhate i Srivastava, 2020).



Klasični Fentonov proces može biti potpomognut UV zračenjem kako bi se u vodenim otopinama H_2O_2 , stimulirala katalitička redukcija Fe^{3+} u Fe^{2+} ione i povećao nastanak OH^\cdot radikala. U $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}/\text{UV}$ procesu UV zračenje ima sposobnost izravne razgradnje molekula H_2O_2 u OH^\cdot radikal, kao što je to slučaj u $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$ procesu. Kao izvor svjetlosne energije foto-Fenton proces može koristiti nekoliko UV područja: UVA ($\lambda = 315 - 400$ nm), UVB ($\lambda = 285 - 315$ nm) i UVC ($\lambda < 285$ nm), a intenzitet i valna duljina UV zračenja značajno utječu na brzinu razgradnje organskih zagađivača (Feng i sur., 2020; Oturan i Aaron, 2014).

U cilju poboljšanja razgradnje bio-nerazgradivih spojeva, reakcija ozoniziranja se može poboljšati dodatkom katalizatora koji će ubrzati raspadanje ozona i nastanak hidroksilnog radikala. Reakcija ozoniziranja se tako može katalizirati ionima prijelaznih metala (Fe^{2+} , Cu^{2+} , Cr^{2+} , Mn^{2+}) što se primjenjuje za razgradnju jakih organskih zagađivača u otpadnoj vodi. Metalni ioni tada kataliziraju reakciju na način da utječu na brzinu reakcije, selektivnost oksidacije ozona i učinkovitost iskorištenja ozona. Dolazi do razgradnje ozona metalnim ionima pri čemu nastaju slobodni radikali ili se stvara kompleks između organske molekule i metala nakon čega slijedi oksidacija nastalog kompleksa. Također proces ozonizacije se može katalizirati metalnim oksidima (MnO_2 , Fe_2O_3 , CuFe_2O_4 , MgO) te nekim poroznim materijalima poput aktivnog ugljena ili zeolita. Kruti katalizatori pojačavaju vjerojatnost prijenosa elektrona između katalizatora i onečišćivača smanjujući aktivacijsku energiju ozonizacije (Oturán i Aaron, 2014; Rekhate i Srivastava, 2020).

Unatoč velikom broju metoda za obradu otpadnih voda iz proizvodnje maslinovog ulja, nijednom samostalnom metodom nije postignuta potpuna razgradnja organskih spojeva bez nastanka nusprodukata procesa razgradnje. Zato se posljednjih godina sve češće istražuju visokonaponsko električno pražnjenje kao metoda obrade OVM-a zbog njegove visoke učinkovitosti i neštetnosti za okoliš. Iako je za sada dostupno relativno malo informacija o utjecaju visokonaponskog električnog pražnjenja na komponente OVM-a, dosadašnje spoznaje su ohrabrujuće za nastavak istraživanja.

2.4 VISOKONAPONSKO ELEKTRIČNO PRAŽNJENJE - PLAZMA

Grčka riječ *plásma* u slobodnom prijevodu znači samooblikovanje materijala (Mott-Smith i Langmuir, 1926). Uz tekuće, kruto i plinovito, često se naziva četvrtim stanjem materije, a čini više od 99 % cjelokupnog svemira. Izraz "plazma" prvi je upotrijebio Irving Langmuir 1926. godine kako bi opisao pojavu električnog pražnjenja, dok je znanstveno objašnjenje plazme donio sir William Crookes 1879. godine, nazvavši je "materijom koja zrači".

Plazma je ionizirani ili djelomično ionizirani plin, koji se sastoji od pozitivnih i negativnih iona, elektrona i neutralnih čestica (atoma, molekula) (Jiang i sur., 2014). Kod plazme je gustoća elektrona i pozitivnih iona u ioniziranom plinu u ravnoteži te također sadrži značajan broj električni nabijenih čestica koje utječu na njegova električna svojstva i ponašanje (Fridman,

2008). Slobodne električki nabijene čestice, elektroni i ioni, čine plazmu električki vodljivom, interaktivnom i omogućuju joj snažan odgovor na djelovanje elektromagnetskog polja.

Plazme se mogu klasificirati prema više kriterija: energiji i gustoći nabijenih čestica, temperaturi te tlaku plina pri kojem nastaje plazma. Glavna klasifikacija plazmi je prema temperaturi pri kojoj se primjenjuju te se plazme dijele na netermalne (engl. *cold plasma, non-thermal plasma*) i termalne (engl. *hot plasma, thermal plasma*) (Jiang i sur., 2014; Kumar i sur., 2022; Tendero i sur., 2006).

Termalna plazma je plazma u stanju termodinamičke ravnoteže u kojoj je temperatura svih čestica (iona, elektrona i neutralnih čestica) jednaka i u pravilu visoka. Koristi se i izraz lokalna termodinamička ravnoteža (engl. *LTE – local thermodynamic equilibrium*) koji označava da je temperatura svih čestica jednaka u svakoj točki prostora. Stupanj ionizacije je vrlo visok i razvija se visoka temperatura, stoga ovakva plazma nije prikladna za osjetljive materijale. Vruće plazme koriste se u postupcima zavarivanja, toplinskog raspršivanja te kao metoda za utvrđivanje metala pri analizi vode (Bogaerts i sur., 2002; Tendero i sur., 2006).

Netermalna plazma, odnosno neravnotežna plazma (engl. *non-local thermodynamic equilibrium plasma*), je karakterizirana značajnom razlikom temperature elektrona i temperature težinskih ionskih čestica u plazmi. S ovim tipom plazme moguće je ostvariti uvjete u kojima je temperatura plazme jednaka sobnoj temperaturi, dok je temperatura elektrona znatno viša oko 1 eV (oko 10 000 K) zbog čega je ovaj tip plazme prikladan za obradu termički osjetljivih materijala (Bogaerts i sur., 2002; Tendero i sur., 2006).

Plazme se, obzirom na radni tlak plina, mogu podijeliti u dvije skupine: niskotlačne i atmosferske. Kod niskotlačnih plazmi, zbog male gustoće plina u vakuumu, srednji slobodni put čestica je dugačak i, sukladno tome, frekvencija sudara je niska. Stoga teže čestice ostaju hladne, dok elektroni zadržavaju visoku temperaturu pa je niskotlačna plazma u pravilu uvijek i netermalna. Nedostatak niskotlačne plazme je što oblik i veličina procesiranog materijala ovisi o dimenzijama vakuum komore, a vakuumski sustavi su također skupi i složeni. Atmosferska plazma se odvija pri atmosferskom tlaku te je srednji slobodni put čestica puno kraći, a frekvencija sudara visoka pa se može postići termodinamička ravnoteža. Prema tome atmosferska plazma se može podijeliti na termalnu i netermalnu plazmu. Nedostatak atmosferske plazme se ističe pri višim tlakovima jer je pritom potrebna primjena većeg napona za ionizaciju plina čime se stvara rizik od izbijanja električnih lukova između elektroda (Fridman, 2008; Tendero i sur., 2006).

2.4.1 Nastajanje plazme

Plazma se može generirati pomoću raznih plinova ili njihovih mješavina, od kojih se najčešće upotrebljavaju argon, dušik, helij, kisik ili zrak. Generiranje plazme u plinu doprinosi nastanku reaktivnog skupa atoma, pobuđenih molekula, nabijenih čestica, reaktivnih kisikovih i dušikovih spojeva te UV fotona (Kumar i sur., 2022; Mai-Prochnow i sur., 2014).

Električki nabijene čestice u gibanju stvaraju električna i magnetska polja čime se dobiva energija potrebna za daljnju ionizaciju i nastajanje gotovo potpuno ionizirane tvari. Dakle, kako bi došlo do stvaranja plazme, potrebno je atomima i molekulama u plinu osigurati dovod energije iz vanjskog izvora. Povećanjem dovedene energije dolazi do promjene faza iz krutog u tekuće te nadalje u plinovito stanje. Povećanjem temperature krutih materijala, dolazi do sve intenzivnijeg gibanja atoma, koji, zbog određene potencijalne energije, počinju napuštati svoje mjesto u strukturi te dolazi do prijelaza u tekuće stanje. Daljnjim zagrijavanjem tekućine, kinetička energija molekula postaje veća od njihove potencijalne energije što uzrokuje ubrzano gibanje, međusobno sudaranje i prijelaz tekućine u plinovito stanje. Povećanje temperature na više od nekoliko tisuća stupnjeva ispod određene razine u plinovitom stanju uzrokuje ionizaciju molekula i nastaje plazma. Sudari atoma postaju sve intenzivniji i dolazi do oslobađanja elektrona pri čemu nastaju negativno nabijeni elektroni te pozitivno i negativno nabijeni ioni. Koncentracija pozitivno nabijenih iona i negativno nabijenih čestica u plazmi je jednaka, što opisuju njenu kvazineutralnost (Bogaerts i sur., 2002; Hamerli, 2004; Fridman, 2008).

Mehanizmi ionizacije mogu biti vrlo različiti u različitim izvedbama plazme te se općenito mogu podijeliti na (Fridman, 2008):

1. Direktna ionizacija udarom elektrona – ionizacija neutralnih i prethodno nepobuđenih atoma, radikala ili molekula, elektronom čija energija je dovoljna za pokretanje ionizacije jednim sudarom. Ovakve vrste ionizacije su najvažnije kod netermalnih plazmi, gdje su električna polja i energije elektrona prilično velike, a zastupljenost pobuđenih neutralnih vrsta mali.
2. Postepena ionizacija udarom elektrona – ionizacija prethodno pobuđenih neutralnih vrsta. Ovakve vrste ionizacije su najzastupljenije kod termalnih (energetskih) plazmi kod kojih su stupanj ionizacije i koncentracija pobuđenih neutralnih vrsta vrlo visoki.
3. Ionizacija sudarom s teških čestica – odvija se prilikom sudara ion-molekula ili ion-atoma, ali i prilikom sudara neutralnih vrsta s elektronski ili vibracijski pobuđenim

neutralnim vrstama. Za ovu vrstu procesa je važno da je ukupna energija sudara veća od ionizacijskog potencijala neutralne vrste. U ovom slučaju može doći i do asocijativne ionizacije pri čemu se sudare dva pobuđena atoma te se pri tom spoje u ioniziranu molekulu i slobodni elektron (energija sudara je tada manja od ionizacijske energije pojedinih atoma, ali veća od ionizacijskog potencijala molekule).

4. Fotoionizacija – odvija se prilikom sudara neutralne vrste s fotonima te rezultira stvaranjem para elektron-iona. Ove vrste ionizacije su česte u termalnim plazmama.
5. Površinska ionizacija (emisija elektrona) – proces prilikom kojeg dolazi do otpuštanja elektrona s površina čvrstih tijela zbog elektronskih, ionskih i fotonskih sudara ili zbog grijanja same površine. Ovaj proces je bitan za karakteristike plazme u blizini površina čvrstih tijela.

Tijekom generiranja plazme električno polje prenosi energiju na elektrone, a oni svoju energiju sudarima na neutralne čestice. Ti sudari mogu biti elastični i neelastični. Elastični sudari su oni u kojima se unutarnja energija sudarajućih čestica ne mijenja te je ukupna kinetička energija očuvana. Sudaranje čestica rezultira samo geometrijskim raspršenjem i preraspodjelom kinetičke energije. Elastični sudari ne pobuđuju atome i molekule i ne mijenjaju kemijski sastav, no imaju veliku ulogu u električnoj vodljivosti plazme i u apsorpciji elektromagnetskog zračenja. Neelastični sudari, poput ionizacije, rezultiraju prijelazom kinetičke energije sudarajućih čestica u unutrašnju energiju, što znači da kinetička energija elektrona dovodi do promjene unutrašnjih stupnjeva slobode.

Elektroni su elementarne negativno nabijene čestice, a zbog svoje male mase imaju veliku mobilnost i lakše prihvaćaju energiju od električnih polja. Lako prenose energiju na sve ostale komponente plazme i tako ostvaruju ionizaciju, pobuđivanje i disocijaciju ostalih čestica u plazmi. Odgovarajuće električno polje i električni potencijal uzrokuju privlačenje elektrona prema anodi, dok jezgru atoma privlači katoda. Kako napon raste povećava se naprezanje u atomima, sve do dielektrične granice, kada se pojavljuje iskra i plin postaje ioniziran. Tada dolazi do lavine ionizacije, sudar elektrona i neutralnog atoma stvara nove elektrone i pozitivno nabijene ione (Bogaerts i sur., 2002; Fridman, 2008).

Ioni (pozitivni i negativni) su drugi važni konstituenti plazme i u većini slučajeva su jednostruko ionizirani. Ioni su teške čestice pa uglavnom ne mogu primiti energiju izravno iz električnog polja zbog intenzivne izmjene energije prilikom sudara. Sudari mogu biti elastični (kinetička

energija se ne mijenja) i neelastični (elektroni gube energiju koja se prenosi na česticu). Elastični sudari ne mijenjaju kemijski sastav ili pobuđenost atoma i molekula, ali imaju veliku ulogu u električnoj vodljivosti plazme, kao i u apsorpciji elektromagnetskog zračenja. Kod neelastičnih sudara dolazi do prijelaza kinetičke energije sudarajućih čestica u unutrašnju energiju. Najvažniji sudar je neelastičan sudar koji vodi do pobuđenog stanja i ionizacije. (Braithwaite, 2000).

Elektron s kinetičkom energijom malo višom od ionizacijskog potencijala je često dovoljan za pokretanje procesa ionizacije, no ionizaciju nije moguće pokrenuti sudaranjem dviju teških čestica (iona). Čak i kad imaju dovoljno kinetičke energije, sudar iona ne može pokrenuti ionizaciju jer su njihove brzine puno manje od brzina elektrona u atomima te vrlo često ne mogu energiju prenijeti na elektron unutar atoma jer proces nije rezonantan. Tako bi kinetička energija sudarajuće neutralne čestice trebala biti tri reda veličine viša od ionizacijskog potencijala (Fridman, 2008).

Uz ionizaciju, dolazi i do reakcija disocijacije, ekscitacije, rekombinacije, fragmentacije i ostalih. Nastanak plazme očituje se vidljivim sjajem, a boja plazme karakteristična je za primijenjeni plin. Boja nastaje kao rezultat relaksacije elektrona koji prelaze iz pobuđenog u osnovno stanje, pri čemu emitiraju energiju u obliku vidljive svjetlosti (Braithwaite, 2000; Hamerli, 2004). Neke od reakcija elektrona i iona u plazma fazi dvoatomnog plina prikazane su Tablicom 3.

Tablica 3 Primjeri mogućih reakcija u plazma fazi dvoatomnog plina (Braithwaite, 2000)

Reakcije elektrona	
Ionizacija	$e^- + X - X \rightarrow X - X^+ + 2e^-$
	$e^- + X \rightarrow X^+ + 2e^-$
Disocijacija	$e^- + X - X \rightarrow 2X + e^-$
Rekombinacija	$e^- + X^+ \rightarrow X$
	$e^- + X - X^+ \rightarrow X - X$
Pridruživanje	$e^- + X - X \rightarrow X - X^-$
	$e^+ + X \rightarrow X^-$
Reakcije iona	
Prijenos naboja	$X^+ + X - X \rightarrow X - X^- + X$
	$X - X^+ + X \rightarrow X - X + X^+$
Odcjepljenje	$X^- + X \rightarrow X - X + e^-$
	$X^- + X - X \rightarrow X + X - X + e^-$
Ion-ion rekombinacija	$X^- + X^+ \rightarrow X - X$
	$X^- + X - X^+ \rightarrow X - X + X$

2.4.2 Tipovi plazma pražnjenja

Tip reaktora i način pobude čestica su važne karakteristike plazma pražnjenja jer utječu na ponašanje elektrona i iona u tekućinama, a posljedično i na nastajanje atoma, molekula i drugih kemijski aktivnih vrsta te razgradnju onečišćivača (Malik i sur., 2001; Tendero i sur., 2006).

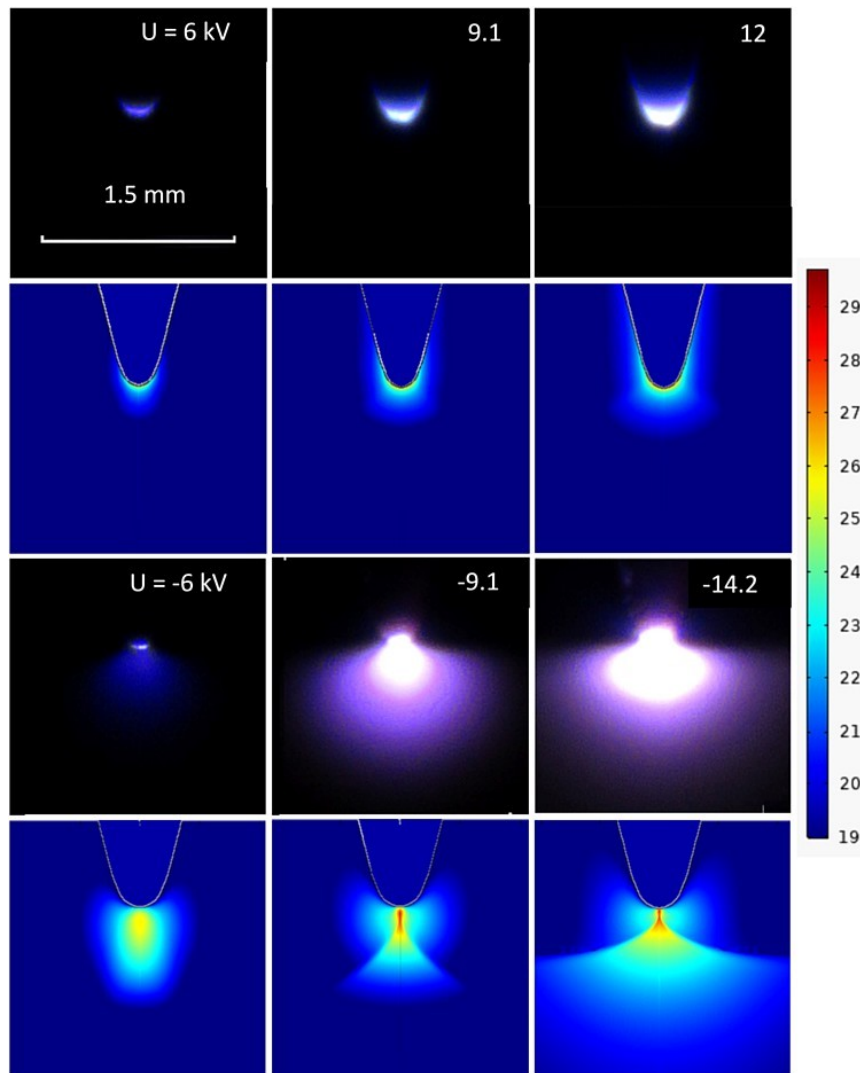
Tipovi plazme se s obzirom na njihov način pobude, mogu podijeliti na: plazma pražnjenja istosmjerne struje i niskih frekvencija, radio-frekventnu plazmu i mikrovalno induciranu plazmu (Tendero i sur., 2006).

2.4.2.1 Plazma pražnjenja istosmjerne struje i niskih frekvencija

Plazma pražnjenja istosmjerne struje i niskih frekvencija, obzirom na izvedbu, mogu biti kontinuirana i pulsirajuća. Kontinuirano plazma pražnjenje se pojavljuje u obliku plazma lukova (*engl. arc*) te plazma jet pražnjenja, dok pulsirajuće pražnjenje obuhvaća koronalno pražnjenje (*engl. corona discharge*) i pražnjenje preko izolatorske pregrade (*engl. dielectric barrier discharge – DBD*).

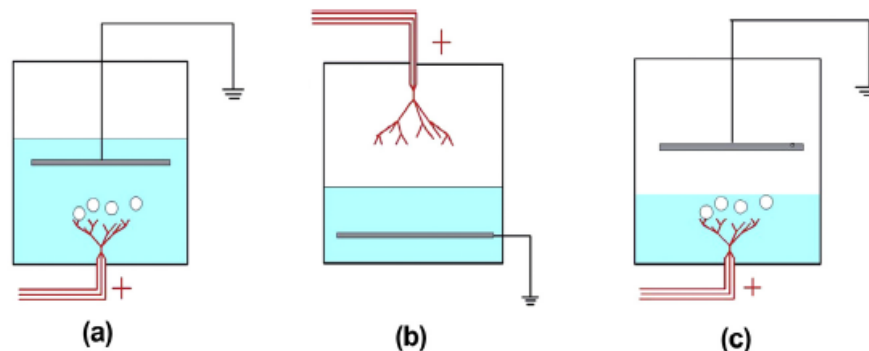
2.4.2.1.1 Koronalno pražnjenje

Koronalno pražnjenje, neravnotežno je pražnjenje s niskom gustoćom struje. Prepoznatljivo je po stvaranju svijetleće krune oko oštne elektrode, po čemu je i dobilo ime. Tipična izvedba koronalnog pražnjenja uključuje dvije asimetrične elektrode, jednu elektrodu vrlo oštne geometrije (igla, naoštreni prsten ili žica) te drugu najčešće u obliku ploče (konfiguracija točka-ploča). Koronalno pražnjenje može biti pozitivno i negativno (Slika 5). Negativno koronalno pražnjenje nastaje primjenom negativnog visokog napona, pritom se pozitivni ioni ubrzavaju prema igli i uzrokuju sekundarnu emisiju elektrona koji se ubrzavaju u plazmu i pritom nastaje streamer. Streamer, odnosno električni izboj, se sastoji od fronte elektrona visoke energije (10 eV) za kojom slijede elektroni niske energije (1 eV) (Tendero i sur., 2006). neelastičnim sudarom između visokoenergetskih elektrona i teških čestica se potiče nastajanje reaktivnih vrsta. Za razliku od negativne, kod pozitivne korone elektroni se kreću u suprotnom smjeru prema elektrodi, a pozitivni ioni prema plazmi.



Slika 5. Usporedba pozitivnih (gornja dva reda) i negativnih (donja dva reda) izboja pri različitim naponima (Ferreira i sur., 2020)

Ovisno o položaju elektroda, pulsirajuće pražnjenje se može javiti u nekoliko konfiguracija reaktora od kojih su najčešće izvedbe reaktor s tekućinskim pražnjenjem, reaktor s plinskim pražnjenjem te reaktor s hibridnim plinsko-tekućinskim pražnjenjem (Slika 6) (Jiang i sur., 2014; Tendero i sur., 2006).



Slika 6. Shematski prikaz konfiguracija reaktora pulsirajućeg pražnjenja (a) reaktor s tekućinskim pražnjenjem, (b) reaktor s plinskim pražnjenjem, (c) hibridni reaktor (Jiang i sur., 2014)

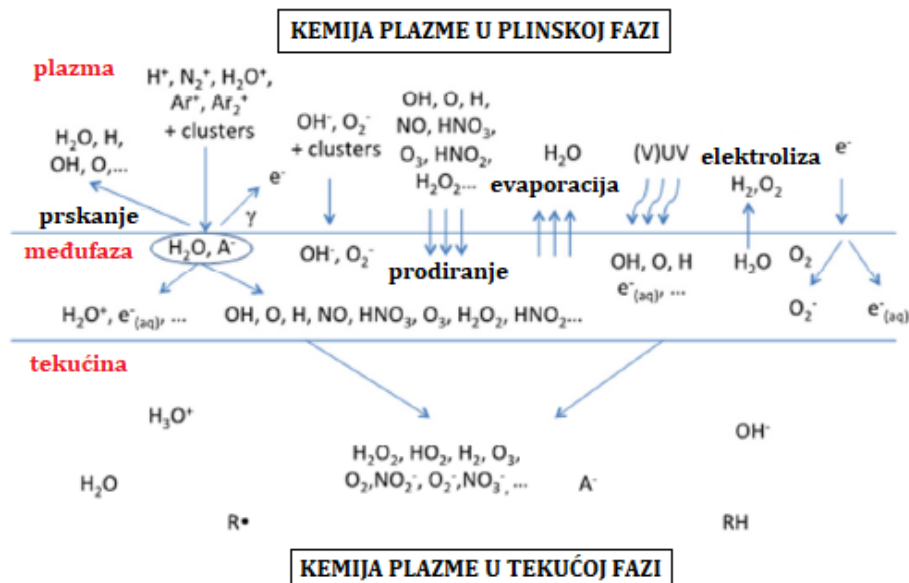
Reaktor s tekućinskim pražnjenjem (Slika 6(a)) konfiguriran je na način da se obje elektrode visokonaponskog električnog pražnjenja nalaze u tekućini te se plazma pražnjenje odvija u tekućini pri čemu se elektroda uzemljenja nalazi s gornje, a visokonaponska elektroda s donje strane reaktora. Kod ove izvedbe pražnjenja se manji dio plazma pražnjenja koristi za stvaranje reaktivnih vrsta, dok se veći dio energije rasipa u tekućini uzrokujući isparavanje tekućine. Prednost ove izvedbe reaktora je što kemijski aktivne tvari nastale u tekućini mogu odmah stupiti u reakciju s onečišćujućim tvarima. Za razliku od izvedbe reaktora s tekućinskim pražnjenjem, kod izvedbe reaktora s plinskim pražnjenjem (Slika 6(b)) visokonaponska elektroda se nalazi u plinskoj fazi iznad tekućine, dok se elektroda uzemljenja nalazi u tekućini. Takvom izvedbom reaktora dolazi do plazma pražnjenja u plinskoj fazi te proizvodnje reaktivnih kisikovih i dušikovih vrsta koje difuzijom u tekuću fazu dolaze u kontakt s onečišćujućim tvarima. Kod izvedbe reaktora s hibridnim plinsko-tekućinskim pražnjenjem (Slika 6(c)), plazma pražnjenje se odvija u međufazi tekućine i plina, tj. u mjehurićima na površini tekućine. Visokonaponska elektroda nalazi se u tekućini, dok je elektroda uzemljenja smještena u plinskoj fazi iznad tekućine. Takvu izvedbu reaktora karakterizira velika dodirna površina i visoka učinkovitost difuzije plinovitih vrsta unutar tekućine te razvoj visoko reaktivnih vrsta na granici plin-tekućina uslijed manje energije potrebne za plazma pražnjenje u odnosu na plazma pražnjenje u tekućini (Jiang i sur., 2014; Zeghioud i sur., 2020).

Glavni nedostatak koronalnog pražnjenja je relativno mala površina koja se može tretirati te nehomogenost tretmana, zbog čega je razvijeno pražnjenje uz izolatorske pregrade.

2.4.3 Plazma u tekućinama

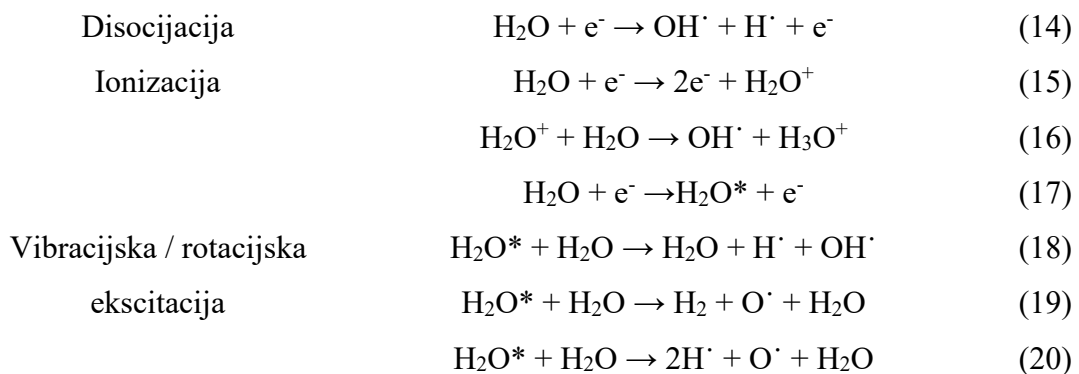
Mnogobrojna istraživanja provedena proteklih godina ispitala su mogućnost i učinkovitost primjene električnog pražnjenja u svrhu pročišćavanja otpadnih voda. Također su ispitana mogućnost primjene električnog pražnjenja u cilju mikrobiološke inaktivacije, biomedicinskih tretmana, sinteze nano-materijala te kemijske sinteze i razgradnje (Locke i sur., 2006). S obzirom na distribuciju plazmi, električno pražnjenje u tekućinama može se podijeliti u tri glavne skupine: (I) električno pražnjenje iznad površine tekućine, (II) električno pražnjenje u tekućinu i (III) električno pražnjenje u mjehuriću ili pari u tekućini.

U slučaju električnog pražnjenja iznad površine tekućine, generiranje plazme i prekid plinske faze iznad površine tekućine su slični električnom pražnjenju plina. Prilikom električnog pražnjenja iznad površine tekućine s tekućinom kao elektrodom, postojanje površine tekućine utječe na fizikalne aspekte pražnjenja, kao i na kemijske procese koji se pojavljuju u interakciji između plina i tekućine. Razlog tome je što se struja pražnjenja prevodi kroz vodenu elektrodu ionima koji imaju mnogo manju pokretljivost od elektrona u metalima. Osim toga, voda ima manji koeficijent sekundarne emisije elektrona i lakše isparava od većine metala, a i jaki oksidansi (OH, O, O₃, itd.) koji se stvaraju u plinsko-tekućim interakcijama mogu inicirati kemijske reakcije u vodi (Slika 7). Mehanizam izravnog pražnjenja u tekućini je vrlo kompleksan jer su tekućine mnogo gušće od plinova te se struja provodi pomoću iona sadržanih u tekućini. Provodljivost struje i električno pražnjenje su ovisni o provodljivosti tekućine, njenoj čistoći i mjehurićima otopljenih plinova. Za električno pražnjenje u mjehurić ili paru u tekućini značajna je velika dodirna površina između tekućine i plina čime se povećava učinkovitost difuzije plinske faze u tekuću te je potrebna manja energija za generiranje plazme. Sve navedene vrste električnog pražnjenja imaju različite karakteristike pražnjenja, vrlo velike razlike u magnitudama temperature plina i gustoći elektrona, ali također dovode do mnogih kemijskih i fizikalnih reakcija koje uzrokuju nastajanje novih molekula i radikala (Jiang i sur., 2014).



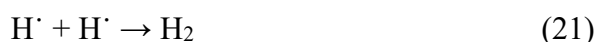
Slika 7. Shematski prikaz najvažnijih visoko reaktivnih kemijskih vrsta koje nastaju prilikom plazma pražnjenja i u kontaktu s vodom (Bruggeman i sur., 2016)

Čestice koje nastaju ekscitacijom i ionizacijom molekula tekućina mogu biti dugo živuće (ioni i neutralne molekule s visokim ionizacijskim potencijalom) i kratko živuće (radikali). Kod vodenih otopina nastaju hidroksilni, kisikovi i vodikovi radikali, vodikov peroksid i ozon (Joshi i Mededović Thagard, 2013; Kirkpatrick i Locke, 2005). Proces električnog pražnjenja u vodi dovodi do stvaranja OH^\cdot i H^\cdot radikala putem disocijacije i ionizacije te potom i vibracijske/rotacijske ekscitacije kao što je pokazano jednadžbama (14) do (20). Procesom ekscitacije molekule vode prelaze u niže energetske stanje tijekom čega može doći do nastajanja radikala kao što je prikazano jednadžbama (17) do (20) (Lukeš, 2001; Jiang i sur., 2014).

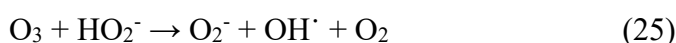


Hidroksidni radikali čine ključni čimbenik oksidacije prilikom obrade vode plazmom. Njihove reakcije s organskim spojevima se mogu podijeliti na tri različita mehanizma: (I) izdvajanje atoma vodika, (II) elektrofilnu adiciju nezasićene veze i (III) prijenos elektrona. U reakciji između hidroksidnog radikala i organskih tvari nastaje voda i organski radikal ili može doći do redukcije hidroksilnih radikala u hidroksidne anione koji također reagiraju s organskim tvarima (Jiang i sur., 2014).

Također, nastali radikali mogu međusobno reagirati i tvoriti stabilne molekule H_2 , H_2O_2 , H_2O ili mogu reagirati s drugim molekulama u otopini kao što je prikazano jednadžbama (21) do (23).



Vodikov peroksid je stabilna molekula, nastala rekombinacijom OH radikala djelovanjem plazme najčešće unutar tekućine, koja povećava oksidacijska svojstva plazme i mijenja njezin kemizam. U prisutnosti H_2O_2 moguće je direktno ili indirektno proizvesti mnogo više OH radikala putem različitih reakcija disocijacije, fotolize, metalom kataliziranih reakcija i drugih. Jedna od takvih reakcija je i reakcija u kojoj ozon (O_3) u prisutnosti vodikovog peroksida reagira s HO_2^{\cdot} i daje OH^{\cdot} radikal kao što je prikazano formulama (24) i (25).



U slučaju kada je kisik izložen plazma tretmanu dolazi do disocijacije O_2 i nastajanja O^{\cdot} atoma te ta reakcija ubrzava i poboljšava reakciju nastajanja OH^{\cdot} radikala. O^{\cdot} atom direktno reagira s organskim materijalom i sudjeluje u razgradnji, no reagira i s O_2 molekulom koja rezultira nastankom molekule ozona (O_3).

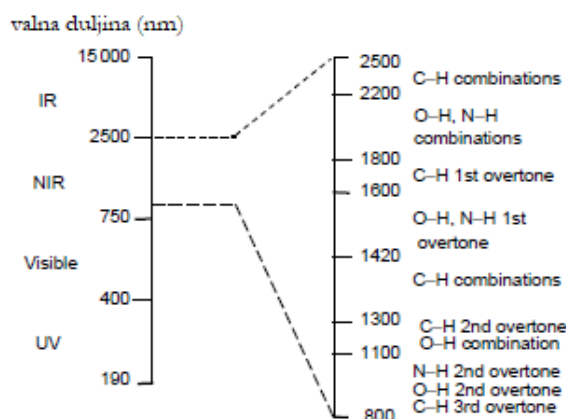
Ozon je alotropska modifikacija kisika i vrlo jak oksidans koji najbolje djeluje kao elektrofil u oksidaciji fenolnih spojeva i drugih aromatskih spojeva (Jiang i sur., 2014). Ozon također spada u skupinu najboljih kemijskih sredstava za dezinfekciju vode s mnoštvom prednosti jer inaktivira viruse, oksidira anorganske tvari te razgrađuje i oksidira organske tvari u vodi,

poboljšava okus i miris vode, uklanja boju i suspendirane čestice, uklanja fenole, klorfenole i nitrite iz vode i ne mijenja mineralni sastav vode (Gottschalk i sur., 2010).

Obzirom na veliku količinu radikalnih spojeva koji nastaju visokonaponskim električnim pražnjenjem i njihov visoki oksidacijski potencijal, u ovom istraživanju su određeni najpovoljniji i definirani ograničavajući čimbenici procesa razgradnje modelnih sustava sastava sličnog otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja. Također, prema dobivenim znanjima, istražene su potencijalne prednosti primjene plazma tehnologije u obradi realnog sustava otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja.

2.5 NIR SPEKTROSKOPIJA

NIR spektroskopija (*engl. Near-infrared spectroscopy*) analitička je metoda koja se koristi za kvalitativnu i kvantitativnu analizu u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. Temelji se na apsorpciji elektromagnetskog zračenja valne duljine u raspon 780-2500 nm te podudaranju apsorpcijskih vrpca s overtonovima i kombinacijama vibracija molekula (Zareef i sur., 2020). NIR spektri se sastoje od širokog pojasa koji proizlazi iz preklapanja apsorpcija koje odgovaraju kombinacijama vibracijskih modova C-H, O-H, N-H i S-H kemijskih veza (Slika 8). Molekularne vibracije, osobito vezama O-H i C-H, odgovorne su za snažne apsorpcijske trake u NIR spektralnom području biološkog materijala, a apsorpcijske trake O-H veza dominiraju u hidratiranom materijalu (Magwaza i sur., 2012).

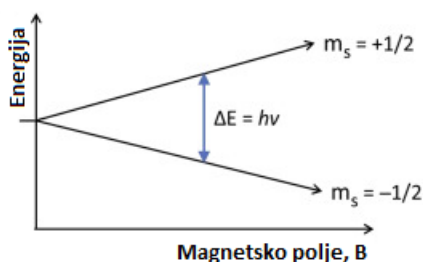


Slika 8. NIR apsorpcija prema skupinama i njihovim lokacijama (Osborne, 2006)

Trake apsorpcije vode su široke i imaju centre na približno 970, 1200, 1450 1950 i 2250 nm. Tekuće uzorke karakteriziraju složene interakcije vodikovih veza između vode, šećera, proteina i drugih molekula te su apsorpcijske trake vrlo složene zbog različitog kemijskog okruženja svake O-H i C-H veze u molekulama vode i drugih organskih molekula (Magwaza i sur., 2012). Glavni nedostatak NIR spektroskopije je ovisnost o drugim referentnim metodama, naime vrpce u NIR spektrima manje su informativne, a u mnogim slučajevima dolazi i do njihova preklapanja, stoga je podatke potrebno obraditi multivarijantnim metodama analize poput analize glavnih komponenti (PCA, *engl. principal component analysis*) regresije glavnih komponenti (PCR, *engl. principal component regression*), djelomičnog najmanjeg kvadrata (PLS, *engl. partial least squares regression*) i višestruke linearne regresije (MLR, *engl. multiple linear regression*) (Zareef i sur., 2020).

2.6 ESR – ELEKTRONSKA SPINSKA REZONANCIJA

ESR spektroskopija je analitička metoda temeljena na mjerenju tranzicije nesparenih elektrona u magnetskom polju koja omogućuje direktnu detekciju slobodnih radikala i drugih paramagnetskih vrsta (Zang i sur., 2016). Najjednostavniji EPR aktivni sustav sastoji se od jednog spina nesparenog elektrona koji se nalazi u molekularnoj orbitali i može postojati u dva M_s kvantna stanja $+1/2$ i $-1/2$ (Slika 9). U vanjskom magnetskom polju slobodni elektroni su svojim spinom poravnani paralelno (niska energija) ili okomito (visoka energija) na magnetsko polje (He i sur., 2014).



Slika 9. Dijagram energije koji pokazuje podrijetlo signala spinske rezonancije elektrona (He i sur., 2014)

Dovoljnom apsorpcijom energije, koja se nalazi u mikrovalnim frekvencijama elektromagnetskog spektra, dolazi do prijelaza između stanja niske i visoke energije. Energija ($h\nu$) potrebna za taj prijelaz je dana jednadžbom (26):

$$h\nu = g_e \mu_B B_0 \quad (26)$$

gdje je μ_B Bohr-ov magneton, B_0 je jačina magnetskog polja, a g_e Landé-ov faktor (2,0023 za slobodne elektrone).

ESR spektar se dobiva mijenjanjem jakosti magnetskog polja na fiksnoj mikrovalnoj frekvenciji. Pod određenim uvjetima svaki slobodni radikal pokazuje specifičan spektar, a intenzitet ESR signala proporcionalan je koncentraciji slobodnih radikala pa se iz dobivenog spektra može napraviti kvalitativna i kvantitativna identifikacija slobodnih radikala u uzorku (He i sur., 2014).

3 MATERIJALI I METODE

3.2 MATERIJALI

3.2.1 Kemikalije, reagensi, otapala

U pripremi modelnih sustava sastava sličnog otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja (OVM) korišteni su

- 3-Hidroksitirozol, Mr:154,16 gmol^{-1} (Sigma-Aldrich, SAD)
- 2-(4-Hidroksifenil)etanol (tirozol), Mr:138,16 gmol^{-1} (Sigma-Aldrich, SAD)
- Oleuropein Mr:540,51 gmol^{-1} (Sigma-Aldrich, SAD)
- Vanilinska kiselina, Mr:168,15 gmol^{-1} (Sigma-Aldrich, SAD)

Za određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika korišteni su sljedeći testovi i kitovi

- Kit za spektrofotometrijsko određivanje nitrata ((Sigma-Aldrich, SAD)
- Kit za spektrofotometrijsko određivanje nitrita ((Sigma-Aldrich, SAD)
- Kit za spektrofotometrijsko određivanje fosfata i fosfora ((Sigma-Aldrich, SAD)
- Kit za spektrofotometrijsko određivanje amonijaka ((Sigma-Aldrich, SAD)
- Kit za spektrofotometrijsko određivanje ukupnog dušika ((Sigma-Aldrich, SAD)
- Kit za spektrofotometrijsko određivanje TOC-a ((Sigma-Aldrich, SAD)

Sva korištena otapala, kemikalije su bila visoke čistoće

- Mravlja kiselina, p.a. (T.T.T., Hrvatska)
- Metanol, HPLC čistoće (Honeywell, Francuska)
- Redestilirana voda
- Natrijev hidroksid p.a. (Gram-mol, Hrvatska)
- Folin- Ciocalteu reagens (Kemika, Hrvatska)
- Natrijev karbonat, p.a. (T.T.T., Hrvatska)
- Galna kiselina (Sigma-Aldrich, Njemačka)
- Etanol 96 % (Gram-mol, Hrvatska)
- Sumporna kiselina, min 96% p.a. (T.T.T. Hrvatska)
- Titan (IV) oksid (Gram-mol, Hrvatska)
- 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal (DPPH) ((Sigma-Aldrich, SAD)
- Kisik 4,5 (Messer, Hrvatska)
- Dušik 4,6 (Messer, Hrvatska)

3.2.2 Oprema

- Impulsni visokonaponski generator (HVG60/1 PL, Impel, Zagreb)
- Reaktor za visokonaponsko električno pražnjenje (PR-ST 300, Puncta Global, Preko)
 - Visokonaponska elektroda - titanska žica promjera 1 mm
 - Pločasta elektroda uzemljenja – (od nehrđajućeg čelika sastava: Fe (62–69 %), Cr (16–18 %), Ni (10–14 %) te Mn (2 %)); promjera 45 mm
- Analitička vaga (ALJ 220-4NM, Kern & Sohn GmbH, Njemačka)
- pH- metar (HANNA instruments, HI 2550 Woonsocket, RI, SAD, elektroda HI1131)
- konduktometar (HANNA instruments, Woonsocket, RI, SAD, elektroda HI763100)
- oksimetar (HANNA instruments, Woonsocket, RI, SAD, elektroda HI764080)
- infracrveni termometar (InfraRed Tehrmometer, PCE-777, PCE Instruments, SAD)
- Spektrofotometar (Spectroquant prove 300, Merck, Njemačka)
- Spektrofotometar (UviLine 9400, Secomam, Francuska)
- Vorteks (IKA VORTEX 4 basic, Njemačka)
- Centrifuga (Rotina 35, Hettich Zentrifugen, Njemačka)
- Tekućinski kromatograf Agilent 1200 Series (Agilent Technologies, SAD) opremljen s:
 - kvaternom pumpom
 - autosamplerom s injektorom
 - termostatom kolone
 - DAD (*engl. diode array detector*) detektora
- NIR spektrometru Control Development, Inc., SAD
- EPR Magnettech MS-5000x (Freiburg Instruments, Njemačka)

3.2.3 Označavanje uzoraka i dizajn eksperimenta

Tablicom 4 je prikazano označavanje uzoraka modelnih sustava pri čemu su netretirani uzorci označeni s (NT) te A i B ovisno o početnoj pH vrijednosti, dok su tretirani uzorci kategorizirani prema primijenjenom plinu tijekom tretmana (oznakama K, N i Z), primijenjenom naponu (30, 40 ili 50 kV) te početnoj pH vrijednosti uzorka (A i B).

Tablica 4. Označavanje uzoraka modelnih sustava sastava sličnog otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja

OZNAKA	ZNAČENJE
NT	netretirano
K	kisik
N	dušik
Z	zrak
30, 40, 50	napon (kV)
A	početni pH 7
B	početni pH 10

Tretmani realnog sustava otpadne vode masline provedeni su prema Box-Behnken dizajnu eksperimenta izvedenom pomoću statističkog programa Statgraphics centurion 19 (Statgraphics technologies, SAD) Eksperiment se sastoji od 17 eksperimentalnih pokusa (Tablica 5), a kao nezavisne varijable su odabrani primijenjeni plin; napon (kV) i vrijeme tretmana (min).

Tablica 5. Dizajn eksperimenta za tretman OVM-a visokonaponskim električnim pražnjenjem s oznakama uzoraka

BROJ UZORKA	PLIN	NAPON (kV)	VRIJEME (min)
0	netretirano		
1	kisik	30	10
2	kisik	50	10
3	kisik	30	30
4	kisik	50	30
5	dušik	30	20
6	dušik	50	20
7	zrak	30	20
8	zrak	50	20
9	dušik	40	10
10	dušik	40	30
11	zrak	40	10
12	zrak	40	30
13	kisik	40	20
14	kisik	40	20
15	kisik	40	20
16	kisik	40	20
17	kisik	40	20

3.3 METODE RADA

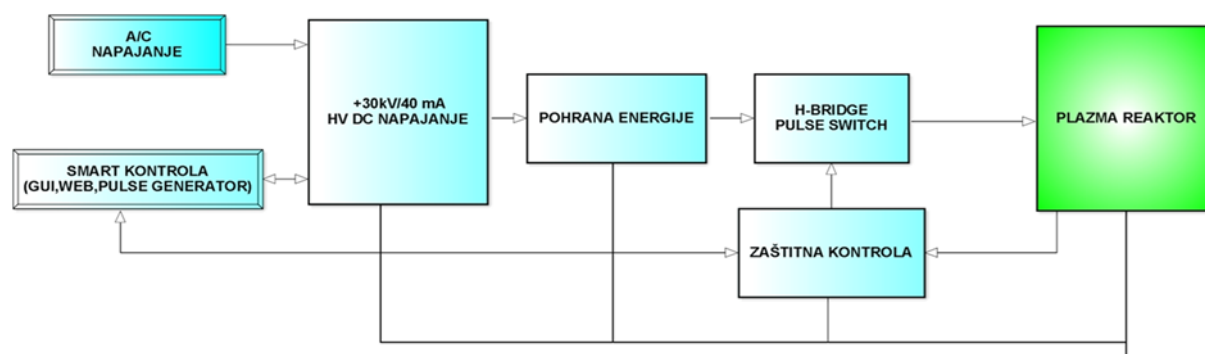
3.3.1 Priprema uzoraka

U prvoj fazi istraživanja modelni sustavi su priređeni otapanjem pojedinačnih komponenti izabranih standarda polifenola u destiliranoj vodi. Standardi korišteni u pripremi polifenolnih otopina su hidroksitirozol ($c=4,5 \text{ mgL}^{-1}$), tirozol ($c=3 \text{ mgL}^{-1}$), oleuropein ($c=5 \text{ mgL}^{-1}$) i vanilinska kiselina ($c=5 \text{ mgL}^{-1}$). Svim uzorcima polifenola je dodatkom otopinom NaOH ($c=0,1 \text{ molL}^{-1}$) pH vrijednost otopine regulirana na pH 7 ili pH 10.

U drugoj fazi istraživanja, korištena je otpadna voda iz proizvodnje maslinova ulja, uzgojnog razdoblja 2021./2022. s područja Splita. Otpadna voda iz procesa proizvodnje maslinova ulja po dopremanju u Laboratorij, analizirana je i pohranjena u manjim volumenima na -18°C do provedbe analiza. Neposredno prije provedbe pokusa OVM je temperirana na sobnu temperaturu razrijeđena je s vodom u omjeru 1:20 te profiltrirana kako bi se uklonili dijelovi pulpe i aglomerirane čestice. Profiltrirana OVM pomiješana je s 10 % zemlje za bijeljenje kako bi se uklonio dio obojenja te filtrirana kroz $1,2 \mu\text{m}$ stakleni filter papir. Tako pripremljena OVM je spremna za plazma tretman.

3.3.2 Plazma tretman

Plazma tretmani su provedeni na visokonaponskom impulsnom generatoru (HVG60/1 PL) (Slika 10).



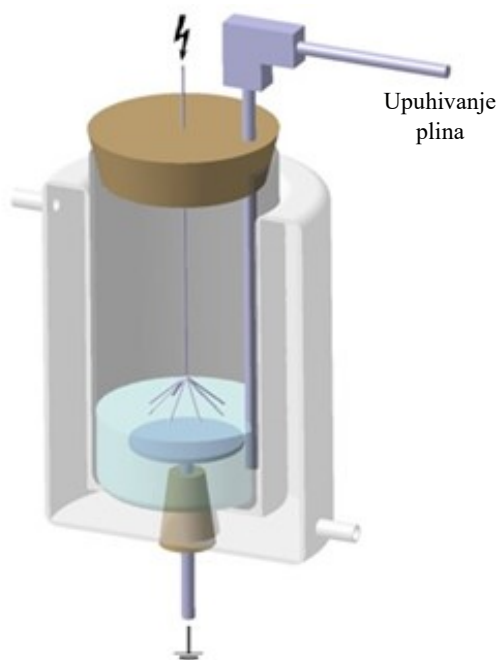
Slika 10. Blok dijagram visokonaponskog impulsnog generatora

Visokonaponski impulsni generator se sastoji od tri glavna dijela: magna control unit-a, visokonaponskog izvora napajanja i visokonaponskog generatora impulsa. Magna control unit generira upravljačke impulse visokonaponskog sustava te nadzire i kontrolira ispravnost rada

uređaja, a ujedno je i mjesto interakcije s korisnikom. Visokonaponski izvor napajanja je dio uređaja zadužen za pretvorbu ulaznog izmjeničnog napona 230 V AC u istosmjerni visoki napon u rasponu 1 do 60 kV DC, dok visokonaponski generator impulsa dobiveni visoki napon propušta u reaktor u obliku impulsa zadanih parametara. Visokonaponski izvor napajanja je spojen u strujni krug s otpornicima i kondenzatorom kako bi se ulazna izmjenična struja prevela u željeni napon istosmjerne struje te dalje u strujnom krugu preko visokonaponskog generatora impulsa emitirala u plazma reaktor.

Svi tretmani su provedeni u staklenom plazma reaktoru (PR-ST 300, Puncta Global, Preko) s dvostrukom stijenkom i mogućnošću regulacije temperature reaktorske komore. Maksimalni radni volumen reaktorske komore je 300 ml. S gornje i donje strane reaktora se nalaze otvori s brtvjenim nosačima za različite konfiguracije visokonaponskog električnog plazma tretmana. U provedenom istraživanju reaktor je opremljen s gornje strane visokonaponskom elektrodom od titana debljine 1 mm, a s donje strane pločastom elektrodom od nehrđajućeg čelika (sastava: Fe (62–69 %), Cr (16–18 %), Ni (10–14 %) te Mn (2 %)); promjera 45 mm. S gornje strane je također postavljen i sustav za uvođenje radnog plina u reaktorsku komoru te je moguća regulacija razine uvođenja plina u reaktorsku komoru (Slika 11).

Za regulaciju i održavanje temperature u reaktorskoj komori koristi se termostabilna cirkulacijska tekućina koja struji kroz oplošje reaktorske komore te se cirkulacija i temperatura cirkulacijske tekućine regulira i održava pomoću termostatske kupelji (INKO, Zagreb). Na ulaznoj i izlaznoj točki cirkulacijske tekućine u oplošje reaktorske komore nalaze se regulacijski ventili pomoću kojih se regulira protok cirkulacijske tekućine kroz oplošje reaktorske komore. Cirkulacijski medij je kroz oplošje cirkulirao brzinom između 5 i 10 Lh⁻¹ ovisno o uvjetima provođenja tretmana i tretiranom mediju, a s ciljem održavanja stalne temperature u reaktorskoj komori. Regulacija protoka i tlaka radnog plina u reaktorskoj komori provodi se regulacijskim ventilom (FM53, Spectron, Njemačka). Sustav za uvođenje radnog plina u prostor reaktorske komore je od stakla te služi za stvaranje odgovarajuće plinske atmosfere u prostoru reaktorske komore i istovremeno omogućuje miješanje tekuće faze u reaktorskoj komori. Volumen tretiranih uzoraka je bio 50 i 100 mL te je prilikom visokonaponskog električnog plazma tretmana u tekuću fazu uvođen plin dušik, kisik ili zrak (protok 1 Lmin⁻¹), a tretmani su provedeni pri frekvenciji 60 Hz, širini impulsa 0,5 μs, naponu 30, 40 i 50 kV u trajanju od 10 do 30 minuta.



Slika 11. Prikaz konfiguracije reaktora s visokonaponskim pražnjenjem u plinskoj fazi

3.3.3 Određivanje fizikalno-kemijskih karakteristika

3.3.3.1 Određivanje pH vrijednosti, električne provodljivosti i temperature

Vrijednost pH netretiranog i tretiranih uzoraka, određivana je digitalnim pH- metrom. Mjerenje se provodi uranjanjem elektrode u uzorak te se nakon stabilizacije pH vrijednost očitava na zaslonu uređaja.

Određivanje električne vodljivosti netretiranog i tretiranih uzoraka provedeno je digitalnim konduktometrom. Mjerenje se provode uranjanjem kombinirane elektrode u uzorak i nakon stabilizacije, električna vodljivost se očitava na zaslonu uređaja.

Udio otopljenog kisika netretiranog i tretiranih uzoraka provedeno je digitalnim oksimetrom. Mjerenje se provode uranjanjem kombinirane elektrode u uzorak i nakon stabilizacije, udio otopljenog kisika se očitava na zaslonu uređaja.

Digitalnim infracrvenim termometrom određivana je temperatura svih uzoraka prije i nakon tretmana. Mjerenje se provodi pozicioniranjem uređaja iznad uzorka te očitavanjem temperature sa zaslona uređaja.

3.3.3.2 Određivanje koncentracije anorganskih spojeva

Koncentracija anorganskih spojeva, nitrata NO_3^- (mgL^{-1}), nitrita NO_2^- (mgL^{-1}), ukupnog N (mgL^{-1}), PO_4^- (mgL^{-1}), ukupnog P (mgL^{-1}) te amonijaka $\text{NH}_4\text{-N}$ (mgL^{-1}), nastalih tijekom tretmana visokonaponskim električnim pražnjenjem određivana je u odabranim uzorcima testnim kitovima (Sigma Aldrich, SAD). Sva mjerenja su provedena na spektrofotometru pomoću testnih kitova te je kao slijepa proba korištena destilirana voda.

Metoda određivanja nitrata se temelji na reakciji nitratnih iona (NO_3^-) u sumpornoj i fosfornoj otopini s 2,6-dimetilfenol (DMP) pri čemu nastaje 4-nitro-2,6-dimetilfenol koji se određuje spektrofotometrijski na valnoj duljini 340 nm.

Metoda određivanja nitrita se temelji na reakciji iona nitrita (NO_2^-) u kiseloj otopini sa sulfanilnom kiselinom pri čemu nastaje diazonijeva sol, koja reagira s N-(1-naftil) etilendiamin dihidroklorid pri čemu nastaje crveno-ljubičasta azo boja koja se mjeri spektrofotometrijski na valnoj duljini 525 nm.

Određivanje ukupnog dušika (N) se temelji na reakciji transformacije organskog i anorganskog dušika u nitrat prema Koroleff-ovoj metodi s oksidansom u termostatu. U koncentriranu sumpornu kiselinu, nitrat reagira s derivatom benzojeve kiseline i tvori crveno obojeni nitro spoj koji se određuje spektrofotometrijski na valnoj duljini od 525 nm.

Metoda određivanja fosfata (PO_4^-) i ukupnog fosfora (ΣP) se temelji na reakciji ortofosfata s ionima molibdata u sumpornoj otopini pri čemu nastaje molibdofosforna kiselina. Askorbinska kiselina reducira molibdofosfornu kiselinu u fosfomolibden plavu čija koncentracija se određuje spektrofotometrijski na valnoj duljini od 690 nm.

Amonij dušik ($\text{NH}_4\text{-N}$) se ovisno o pH vrijednosti u otopini pojavljuje u dva stanja, dijelom u obliku amonijevih iona i dijelom u obliku amonijaka. U alkalnim otopinama amonijev dušik je prisutan gotovo potpuno u obliku amonijaka i tada lako reagira sa sredstvom za kloriranje te tvori monokloramin. Monokloramin reagira s timolom i tvori plavo obojeni derivat indofenola koji se spektrofotometrijski određuje na valnoj duljini od 690 nm. Zbog žućkastog obojenja reagensa krajnja boja mjerene otopine je žućkasto-zeleno do zeleno obojena.

3.3.3.3 Određivanje koncentracije vodikovog peroksida

Određivanje vodikovog peroksida u uzorku provodi se reakcijom s Titanovim reagensom. Titan reagens miješa se s uzorkom u omjeru 1:2 (1 mL titan reagens : 2 mL uzorka) te dolazi do

razvoja žutog obojenja. Koncentracija se određuje spektrofotometrijski pomoću UV-Vis spektrofotometra na valnoj duljini od 410 nm.

Za pripremu Titanovog reagensa korišten je titanov (IV) oksid. Jedan gram praha titanova dioksida se prelije s 100 mL vruće sumporne kiseline te se otopina miješa na temperaturi 190 °C u trajanju 20 sati. Zagrijavanjem reakcijske smjese može doći do značajnog pada razine tekućine u reakcijskoj posudi te je u tom slučaju potrebno dodati destiliranu vodu. Po završetku reakcije, dobivenu prozirnu otopinu Titanovog reagensa potrebno je ohladiti na sobnu temperaturu, razrijediti destiliranom vodom te skladištiti u hladnjaku.

3.3.3.4 Određivanje boje uzoraka prema CIE L* a* b* sustavu

Boja tretiranih i netretiranih uzoraka određivana je spektrofotometrijski prema CIE L*a*b* sustavu. CIE L*a*b* sustav boja predstavlja odnos između triju osi L* svijetlost (engl. *Lightness*) te a* i b* koordinatnih linija obojenja. Parametar L* se iskazuje vrijednostima od 0 (crno) do 100 (bijelo). Vrijednost a* iskazuje spektar od crvene (+a* pozitivne vrijednosti) do zelene (-a* negativne vrijednosti) boje. Vrijednost b* parametra ukazuje na spektar nijansi između žute (+b*) i plave boje (-b*). Iz kombinacije L*, a* i b* osi mogu se odrediti vrijednosti za ton (H°) i zasićenost boje (C) (Tsivas i sur., 2021).

Boja uzoraka je određivana neposredno prije ili nakon tretmana te je mjerenje provedeno u kvarcnim kivetama na valnoj duljini između 400 i 900 nm, a kao slijepa proba je korištena destilirana voda.

3.3.3.5 Određivanje metala

Kvalitativno određivanje metala u uzorcima provedeno je pomoću elektronske spinske rezonancijske (ESR) spektroskopije. ESR spektroskopija metoda je koja se temelji na detekciji nesparenih elektrona, tj. paramagnetskih svojstava uzoraka. Obzirom da prijelazni metali imaju u d-orbitali nesparene elektrone poput Mn²⁺, Cu²⁺, Fe²⁺, ESR spektroskopija je uobičajena metoda za detekciju prisustva metala u uzorcima. Snimanjem ESR spektara istraživano je prisustvo prijelaznih metala u uzorcima otpadnih voda iz procesa proizvodnje maslinova ulja.

Prisustvo metala određivano je na uređaju EPR Magnostech MS-5000x na sobnoj temperaturi pri snazi mikrovalnog polja 5 mW, magnetskom polju od 130 mT do 500 mT i modulaciji 0,5 mT te vremenu snimanja 300 s. Uzorak je uvučen u staklenu kapilaru koja se zatim stavlja u rezonantnu šupljinu te se počinje sa snimanjem ESR spektra. Po završetku mjerenja iz

dobivenog spektra, njegovim karakteristikama, broju i širini dobivenih linija se procjenjuje prisustvo pojedinog metala u uzorku.

3.3.4 Ukupni fenolni spojevi (TPC – *engl. Total phenolic content*)

Koncentracija ukupnih fenola se određuje spektrofotometrijskom metodom temeljenom na redukciji Folin–Ciocalteu reagensa u prisutstvu fenolnih spojeva i nastajanjem obojenog produkta. Djelovanje Folin–Ciocalteu reagensa (smjesa fosfovolframove i fosfomolibden kiseline) se bazira na mehanizmu prijenosa jednog elektrona te u prisustvu elektron donora tj antioksidansa dolazi do redukcije reagensa i do nastanka plavo obojenih volframovih i molibdenovih oksida. Izmjereni intenzitet nastalog obojenja pri valnoj duljini 765 nm je direktno proporcionalan koncentraciji fenola (Platzer i sur., 2021).

U staklenu epruvetu otpipetira se 100 μL ekstrakta, 200 μL Folin-Ciocalteu reagensa i 2 mL destilirane vode. Nakon 3 minute doda se 1 mL 20 % – tne zasićene otopine natrijeva karbonata i promiješa pomoću vortexa. Nakon termostatiranja u vodenoj kupelji 25 min na 50 °C, mjeri apsorbancija pri 765 nm na spektrofotometru (UviLine 9400, Secomam, Francuska). Za slijepu probu se umjesto uzorka uzima destilirana voda te se priprema i mjerenje provode na isti način.

Za pripremu baždarnog pravca odvaže se 0,5 g galne kiseline koja se otopi u 10 mL 96 % – tnog etanola u odmjerne tikvici od 100 mL i nadopuni destiliranom vodom do oznake. Iz tako pripremljene otopine galne kiseline rade se razrjeđenja koncentracija od 5 do 200 mgL^{-1} . Od svakog razrjeđenja otpipetira se 100 μL i postupa po propisu za određivanje ukupnih fenola. Iz izmjerenih vrijednost apsorbancija nacrtava se baždarni pravac. Dobivene masene koncentracije (mgL^{-1}) preračunate su i izražene kao mg ekvivalenta galne kiseline (mgGAEL^{-1}).

3.3.5 HPLC analiza polifenola

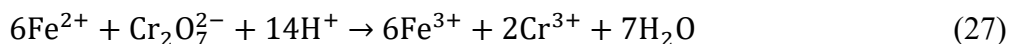
Razdvajanje polifenolnih spojeva provedeno je pri 25 °C na Phenomenex C18 nepolarnoj koloni (Kinetex 250 mm \times 4,6 mm, 5 μm , 100 Å). Količina injektiranog uzorka iznosila je 20 μL . Kao mobilne faze korištene su 0,1 % otopina mravlje kiseline u vodi (mobilna faza A) i 0,1% otopina mravlje kiseline u metanolu (mobilna faza B). Protok otapala bio je 0,9 mLmin^{-1} . Kromatogrami polifenolnih spojeva snimljeni su DAD detektorom pri valnoj duljini od 280 nm.

Tablica 6. Promjena gradijenta otapala

Vrijeme (min)	Volumni udio otopine B (%)
0	10
3	10
30	50
40	60
45	100
50	100
50,1	10
60	10

3.3.6 Određivanje kemijske potrošnje kisika (KPK)

KPK vrijednost predstavlja količinu oksidansa koji se utroši za oksidaciju organskih sastojaka, utrošak kalijeva bikromata ($K_2Cr_2O_7$), a izražava se u mgO_2L^{-1} . U staklenu kivetu, otpipetira se 2 mL uzorka, doda 1,2 mL otopine $K_2Cr_2O_7 + HgSO_4$ i 2,8 mL otopine $Ag_2SO_4 + H_2SO_4$. Srebrov sulfat (Ag_2SO_4) se dodaje kao katalizator reakcije, dok se živin sulfat ($HgSO_4$) dodaje za sprječavanje oksidacije nekih anorganskih spojeva, poput klorida. Staklena kiveta se dobro zatvori i promiješa sadržaj. Sadržaj kivete se spaljuje na $150\text{ }^\circ C$ kroz 1 sat, u termoreaktoru. Nakon spaljivanja ostavlja se u tami dok se ne ohladi na sobnu temperaturu. Suvišak kalijeva bikromata, preostao nakon oksidacije, titrira se otopinom feroamonijeva sulfata, FAS, ($FeSO_4 \times (NH_4)_2SO_4$), ($c = 0,1\text{ molL}^{-1}$), uz indikator feroin, do promjene boje iz plavo/zelene u smeđe/crvenu. Reakcija kemijske potrošnje kisika se odvija prema jednadžbi (27).



Iz dobivenih vrijednosti utroška FAS-a za titraciju preostalog kalijeva bikromata računa se KPK vrijednost prema jednadžbi (28).

$$KPK \left[\frac{mgO_2}{L} \right] = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times f \times 8000}{V_{uzorka}} \quad (28)$$

Gdje je:

V_1 -volumen [mL] FAS utrošen za titraciju slijepa probe

V_2 -volumen [mL] FAS utrošen za titraciju uzorka

c-koncentracija FAS ($0,1 \text{ molL}^{-1}$)

f-faktor otopine FAS

Faktor otopine (f) predstavlja omjer volumena otopine $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 + \text{HgSO}_4$ i $\text{FeSO}_4 \times (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ te ga je zbog nestabilnosti otopine feroamonijeva sulfata potrebno odrediti svaki put prije određivanja KPK, titracijom standardne otopine kalijeva bikromata s feroamonijevim sulfatom. Priprema se na isti način kao i slijepa proba s jedinom razlikom da se uzorak ne spaljuje, a računa se prema jednadžbi (29).

$$f = \frac{1,2}{V_{\text{fas}}} \quad (29)$$

gdje je:

1,2 - volumen (mL) otopine $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 + \text{HgSO}_4$

V_{fas} - volumen (mL) FAS otopine utrošene za titraciju

3.3.7 Određivanje sadržaja ukupnog ugljika (TOC)

Sadržaj ukupnog ugljika je mjereno spektrofotometrijskom metodom s kitom za spektrofotometrijsko određivanje TOC-a. Metoda se temelji na reakciji sumporne kiseline i peroksidisulfata s komponentama koje sadrže ugljik, a koje se u reakciji prevode u ugljikov (IV) oksid. Ugljikov dioksid potom reagira s indikatorskom otopinom čije obojenje se određuje spektrofotometrijski. Anorganski vezani ugljik, otopljeni ugljikov dioksid i anioni ugljikovog dioksida su prethodno zakiseljavanjem otopine izbačeni u plinovitom obliku. Mjerenje nastale promjene u boji se provodi na spektrofotometru te se rezultata izražava kao koncentracija ukupnog ugljika (mgL^{-1}).

3.3.8 ESR određivanje antioksidacijske aktivnosti

U svrhu određivanja antioksidacijske aktivnosti OVM-a korišten je stabilan radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil; Merck KGaA, Njemačka) otopljen u 80 % metanolu. DPPH metoda se temelji na redukciji DPPH radikala u prisutnosti elektron donora tj. antioksidansa koji sparuje

svoj elektron sa slobodnim radikalima pri čemu nastaje reducirani oblik DPPH-H. Reakcijom sparivanja elektrona DPPH radikala dolazi do promjene boje DPPH otopine od ljubičaste do žute.

Analiza je provedena na EPR uređaju na sobnoj temperaturi pri snazi mikrovalnog polja 4 mW, magnetskom polju od 330,5 mT do 342,5 mT, i modulaciji 0,2 mT te vremenu snimanja 30 s. Za analizu je korišten DPPH reagens koncentracije 0,1 mM, dobiven otapanjem 3,94 mg DPPH s 80 % metanolom u tikvici od 100 mL. U epruvetu s čepom se otpipetira 50 µL uzorka i 2 mL DPPH reagensa, sadržaj se izmiješa i ostavi u mraku 60 min. Nakon isteka vremena uzorak se uvuče u staklenu kapilaru koja se zatim stavlja u rezonantnu šupljinu te se počinje sa snimanjem ESR spektra. Kao kontrola je snimljen ESR spektar otopine DPPH i redestilirane vode kao uzorka. Ova metoda se temelji na praćenju pada intenziteta signala, odnosno pada vrijednosti dvostrukih integrala spektara u funkciji vremena, odnosno 60 minuta od trenutka dodatka DPPH uzorku OVM-a. Rezultati su izraženi kao postotak inhibicije radikala u odnosu na broj radikala u kontrolnom uzorku.

3.3.9 NIR spektroskopija

NIR spektri svih netretiranih i tretiranih uzoraka snimljeni su na NIR spektrometru Control Development, Inc., NIR-128-1.7-USB/6.25/50µm. NIR spektrometar je povezan s računalom s instaliranim Control Development software-om SPEC 32, koji omogućuje snimanje apsorpcijskog spektra i transmitancije. Kiveta s uzorkom se postavlja u držač povezan s izvorom svjetlosti i računalom te se snimanje provodi u rasponu valnih duljina do 900 do 1700 nm. Prije snimanja tekućih uzoraka u kiveti, provedena je kalibracija uređaja bez uzorka te je zabilježeno titranje oko nule. Nakon provedene kalibracije snimljeni su spektri svih netretiranih i tretiranih uzoraka te je za svaki uzorak snimljeno 3 paralelna spektra. Rezultat mjerenja je NIR spektar koji pokazuje vrijednost apsorpcije u odnosu na raspon valnih duljina na kojima je provedeno mjerenje (900 do 1700 nm). Za svaki uzorak izračunata je srednja vrijednost tri paralelna mjerenja te je u programu XLSTAT za MS Excel provedena statistička analiza dobivenih vrijednosti.

3.3.10 Statistička analiza

Dobiveni rezultati su prikazani kao srednja vrijednost tri paralelna mjerenja \pm standardna devijacija. Statistička obrada rezultata provedena je pomoću programskog paketa Statgraphics centurion 19 (Statgraphics technologies, SAD), a razina značajnosti svih korištenih statističkih metoda bila je 95 %.

Na dobivenim rezultatima tretmana modelnog sustava provedena je analiza varijance (ANOVA) u programu Statgraphics centurion 19 (Statgraphics technologies, SAD) dok je na rezultatima tretmana realnog sustava provedena multifaktorska analiza varijance (MANOVA) u kombinaciji s Tukey testom u programu SPSS statistics (IBM, SAD) kako bi se odredio utjecaj napona, vremena i plina na izlazne parametre uzoraka. Tukey test je metoda koja ima za cilj usporedbu pojedinačnih sredstava iz analize varijance nekoliko uzoraka podvrgnutih različitim tretmanima, a omogućava nam da utvrdimo jesu li dobiveni rezultati značajno različiti ili ne.

Dodatni alat za MS Excel, XLStat, korišten je za provedbu multivarijantnih analiza. Tako je analiza glavnih komponenti (engl. *Principal Component Analysis*, PCA) provedena kako bi se vizualizirao međusobni odnos pojedinih parametara, ali i utvrdilo moguće grupiranje uzoraka na osnovi ispitivanih parametara, tj. kvalitativna analiza. Regresija glavnih komponenti (engl. *Principal Component Regression*, PCR) je provedena s ciljem predviđanja ponašanja pojedinih komponenti uzoraka tijekom plazma tretmana i ona predstavlja kvantitativnu multivarijantnu analizu.

4 REZULTATI

U ovom radu istraživanje je provedeno u dva dijela, prvi dio na modelnom sustavu te drugi dio na realnom sustavu otpadne vode. Prvi dio istraživanja, na modelnim otopinama sastava sličnog otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja, proveden je u svrhu ispitivanja mehanizma djelovanja plazma tretmana na čiste komponente, najzastupljenije u sastavu otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja. Tretmani su provedeni pri naponu 30, 40 i 50 kV u vremenu trajanja od 30 minuta te uz primjenu plinova kisika, dušika i zraka. Rezultati prve faze istraživanja obuhvaćaju fizikalno-kemijske, HPLC te NIR analize netretiranih (NTA i NTB) i plazmom tretiranih uzoraka.

U drugom dijelu istraživanja OMV je tretirana plazmom prema Box-Behnken dizajnu eksperimenta prema parametrima određenim u prvoj fazi ispitivanja. Rezultati su prikazani u obliku tablica i slika, a obuhvaćaju fizikalno-kemijske, HPLC, NIR analize, parametre boje (L^* , a^* , b^*), ukupni udio fenola te EPR analizu.

4.1 UTJECAJ TRETMANA VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG PLAZMA PRAŽNENJA NA SVOJSTVA MODELNOG SUSTAVA SASTAVA SLIČNOG OVM-u

Utjecaj visokonaponskog električnog plazma pražnjenja na fizikalno-kemijska svojstva te polifenolni sastav prikazani su Tablicama 7 -14 i Slikama 13 – 16.

Tablica 7. Fizikalno-kemijske karakteristike modelnog sustava sastava sličnog OVM-u pri pH 7 prije i nakon plazma obrade u trajanju 30 minuta

	pH	σ (μScm^{-1})	T ($^{\circ}\text{C}$)	H_2O_2 (mgL^{-1})	NO_2^- (mgL^{-1})	NO_3^- (mgL^{-1})
NTA	$7,51 \pm 0,22$	$72,95 \pm 72,98$	$18,11 \pm 1,75$	$0,02 \pm 0,00$	$0,06 \pm 0,00$	$0,00 \pm 0,00$
K30A	$4,11 \pm 0,26$	$233,90 \pm 10,18$	$20,95 \pm 1,48$	$57,97 \pm 0,42$	$0,06 \pm 0,06$	$3,15 \pm 0,21$
K40A	$3,66 \pm 0,36$	$211,55 \pm 13,36$	$22,10 \pm 1,13$	$81,38 \pm 15,99$	$0,05 \pm 0,01$	$7,90 \pm 3,82$
K50A	$3,73 \pm 0,25$	$214,60 \pm 6,22$	$23,30 \pm 1,41$	$112,56 \pm 20,28$	$0,06 \pm 0,02$	$10,50 \pm 0,99$
N30A	$3,87 \pm 0,08$	$240,40 \pm 98,43$	$20,70 \pm 0,42$	$17,27 \pm 2,67$	$0,42 \pm 0,54$	$10,55 \pm 0,78$
N40A	$3,54 \pm 0,14$	$436,00 \pm 4,24$	$21,25 \pm 1,77$	$22,79 \pm 5,66$	$0,28 \pm 0,32$	$20,85 \pm 1,20$
N50A	$3,42 \pm 0,24$	$866,00 \pm 118,79$	$21,55 \pm 2,90$	$12,53 \pm 0,16$	$0,30 \pm 0,29$	$28,90 \pm 4,10$
Z30A	$3,42 \pm 0,12$	$518,00 \pm 62,23$	$19,70 \pm 0,71$	$0,64 \pm 0,42$	$0,27 \pm 0,33$	$26,85 \pm 3,04$
Z40A	$3,14 \pm 0,16$	$960,00 \pm 66,47$	$19,10 \pm 3,11$	$0,08 \pm 0,05$	$0,72 \pm 0,25$	$53,00 \pm 7,07$
Z50A	$2,97 \pm 0,09$	$1363,00 \pm 132,94$	$21,65 \pm 0,92$	$0,08 \pm 0,05$	$8,24 \pm 7,01$	$62,50 \pm 0,71$

Tablica 8. Fizikalno-kemijske karakteristike modelnog sustava sastava sličnog OVM-u pri pH 10 prije i nakon plazma obrade u trajanju 30 minuta

	pH	σ (μScm^{-1})	T ($^{\circ}\text{C}$)	H_2O_2 (mgL^{-1})	NO_2^- (mgL^{-1})	NO_3^- (mgL^{-1})
NTB	10,14 ± 0,14	51,31 ± 56,31	18,36 ± 1,77	0,02 ± 0,00	0,06 ± 0,00	0,00 ± 0,00
K30B	5,50 ± 0,99	53,30 ± 19,52	20,35 ± 1,06	61,49 ± 6,86	0,06 ± 0,02	4,50 ± 2,26
K40B	5,20 ± 1,58	187,00 ± 74,39	22,10 ± 0,00	81,73 ± 24,49	0,07 ± 0,05	5,30 ± 4,95
K50B	4,27 ± 0,13	137,45 ± 2,76	23,50 ± 0,42	114,49 ± 31,39	0,09 ± 0,04	6,25 ± 3,46
N30B	3,65 ± 0,43	503,05 ± 449,65	21,40 ± 0,14	8,04 ± 10,89	10,40 ± 14,14	30,50 ± 31,82
N40B	3,65 ± 0,13	412,50 ± 75,66	21,20 ± 3,25	23,30 ± 4,61	0,22 ± 0,25	21,25 ± 1,77
N50B	3,33 ± 0,33	670,00 ± 120,21	21,05 ± 1,48	21,93 ± 9,59	0,29 ± 0,30	24,30 ± 8,06
Z30B	3,48 ± 0,11	477,00 ± 52,33	19,75 ± 2,62	1,45 ± 0,00	0,28 ± 0,31	24,00 ± 1,41
Z40B	3,13 ± 0,12	928,50 ± 24,75	20,25 ± 3,18	0,34 ± 0,42	3,50 ± 3,96	49,50 ± 0,71
Z50B	2,98 ± 0,05	1315,00 ± 97,58	21,25 ± 1,34	0,10 ± 0,13	6,27 ± 2,59	70,50 ± 10,61

Tablica 9. Statistički parametri regresije i analize fizikalno-kemijskih karakteristika modelnog sustava sličnog OVM-u pri pH 7

	pH	σ (μScm^{-1})	T ($^{\circ}\text{C}$)	H_2O_2 (mgL^{-1})	NO_2^- (mgL^{-1})	NO_3^- (mgL^{-1})
R - kvadratna vrijednost (%)	98,31	85,59	88,14	91,41	81,43	95,55
R – kvadratna (prilagođen za stupnjeve slobode) (%)	95,49	61,58	68,37	77,08	50,49	88,14
Standardna progresa	0,07	256,01	0,70	19,50	1,88	7,12
Srednja apsolutna pogreška	0,04	123,70	0,36	9,46	0,95	3,62
p- vrijednost	0,01	0,16	0,12	0,08	0,23	0,03

Tablica 10. Statistički parametri regresije i analize fizikalno kemijskih karakteristika modelnog sustava sličnog OVM-u pri pH 10

	pH	σ (μScm^{-1})	T ($^{\circ}\text{C}$)	H_2O_2 (mgL^{-1})	NO_2^- (mgL^{-1})	NO_3^- (mgL^{-1})
R - kvadratna vrijednost (%)	95,62	93,57	77,05	94,20	87,60	96,43
R – kvadratna (prilagođen za stupnjeve slobode) (%)	88,31	82,85	38,79	84,53	66,93	90,48
Standardna progresa	0,31	167,6	0,87	16,33	2,13	6,78
Srednja apsolutna pogreška	0,15	85,29	0,41	8,07	1,07	3,44
p- vrijednost	0,03	0,05	0,30	0,04	0,13	0,02

Tablica 11. Polifenolni sastav netretiranih i tretiranih modelnih sustava sastava sličnog OVM-u pri pH 7

	NTA	K30A	K40A	K50A	N30A	N40A	N50A	Z30A	Z40A	Z50A
hidroksitirosol (mgL⁻¹)	4,59 ± 0,22	0,61 ± 0,03	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,05 ± 0,04	0,87 ± 0,09	0,78 ± 0,21	0,82 ± 0,06	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
tirosol (mgL⁻¹)	2,99 ± 0,08	0,14 ± 0,20	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,42 ± 0,07	0,22 ± 0,02	0,19 ± 0,14	0,37 ± 0,05	0,25 ± 0,22	0,12 ± 0,16
vanilinska kiselina (mgL⁻¹)	4,81 ± 0,42	0,33 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,08 ± 0,25	0,46 ± 0,05	0,43 ± 0,20	0,84 ± 0,09	0,30 ± 0,06	0,13 ± 0,18
oleuropein (mgL⁻¹)	5,08 ± 1,01	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
neidentificirano	0,16 ± 0,24	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	1,14 ± 0,22	1,41 ± 0,23	1,68 ± 0,73	2,32 ± 0,45	3,86 ± 0,07	4,45 ± 0,53
ukupno	17,64 ± 1,46	1,08 ± 0,31	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	3,70 ± 0,14	2,97 ± 0,06	3,08 ± 1,28	4,35 ± 0,64	4,41 ± 0,35	4,69 ± 0,19

*neidentificirani spojevi su izračunati i izraženi kao mgL⁻¹ hidroksitirosola

Tablica 12. Polifenolni sastav netretiranih i tretiranih modelnih sustava sastava sličnog OVM-u pri pH 10

	NTB	K30B	K40B	K50B	N30B	N40B	N50B	Z30B	Z40B	Z50B
hidroksitirosol (mgL⁻¹)	2,00 ± 0,08	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,38 ± 0,54	0,75 ± 0,16	0,57 ± 0,04	0,70 ± 0,01	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
tirosol (mgL⁻¹)	2,96 ± 0,13	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,42 ± 0,03	0,23 ± 0,00	0,09 ± 0,00	0,33 ± 0,05	0,26 ± 0,36	0,00 ± 0,00
vanilinska kiselina (mgL⁻¹)	4,78 ± 0,46	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,55 ± 0,62	0,46 ± 0,01	0,28 ± 0,05	0,63 ± 0,06	0,11 ± 0,15	0,00 ± 0,00
oleuropein (mgL⁻¹)	0,85 ± 0,22	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00
neidentificirano	0,28 ± 0,30	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	4,64 ± 4,62	1,28 ± 0,20	1,06 ± 0,55	1,53 ± 0,26	4,04 ± 1,20	3,93 ± 0,60
ukupno	10,91 ± 0,96	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	0,00 ± 0,00	5,99 ± 3,43	2,71 ± 0,03	2,00 ± 0,56	3,19 ± 0,35	4,41 ± 1,41	3,93 ± 0,60

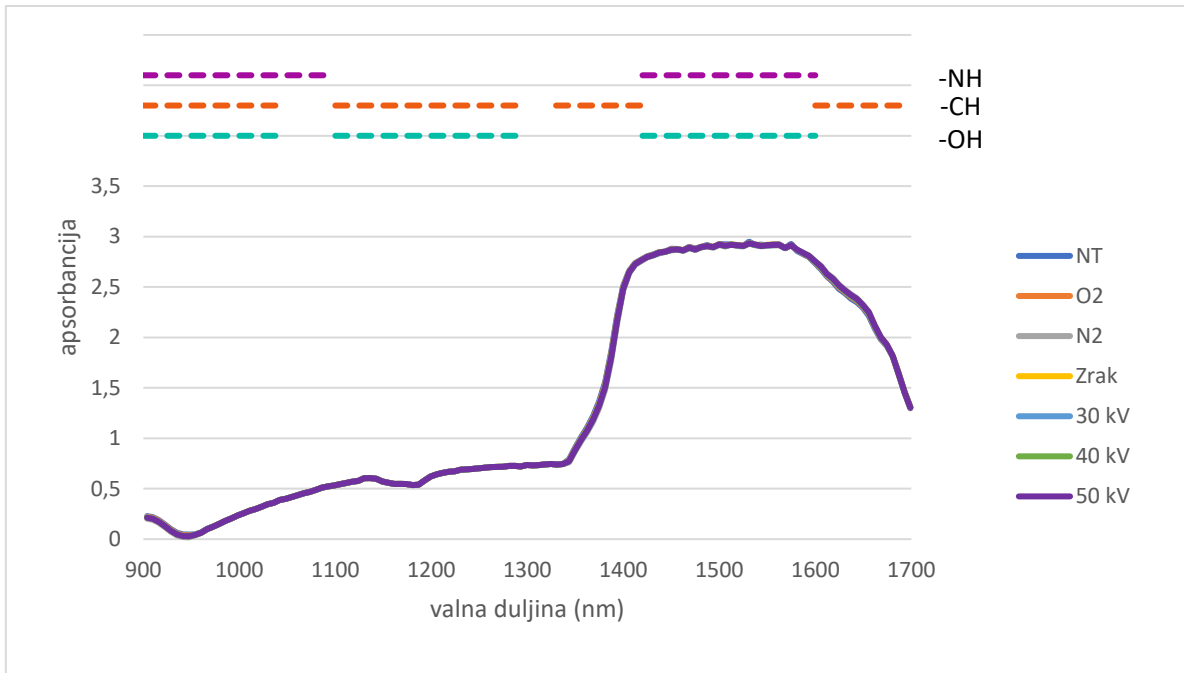
*neidentificirani spojevi su izračunati i izraženi kao mgL⁻¹ hidroksitirosola

Tablica 13. Statistički parametri regresije i analize polifenolnog sastava modelnog sustava sličnog OVM-u pri pH 7

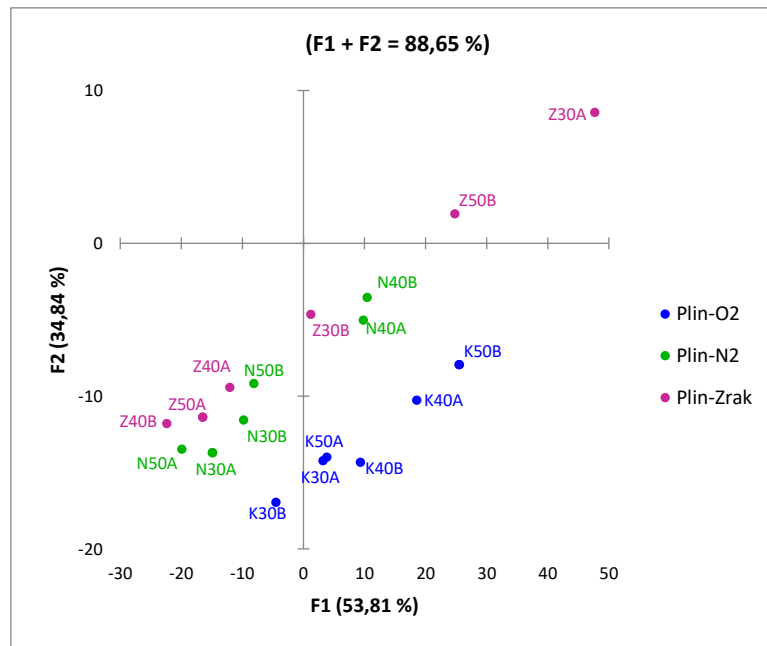
	Hidroksitirozol (mgL⁻¹)	Tirosol (mgL⁻¹)	Vanilinska kiselina (mgL⁻¹)	Oleuropein (mgL⁻¹)
R - kvadratna vrijednost (%)	61,67	83,63	71,33	-
R – kvadratna (prilagođen za stupnjeve slobode) (%)	0,00	56,34	23,53	-
Standardna progreshka	0,45	0,10	0,32	-
Srednja apsolutna pogreshka	0,23	0,04	0,15	-
p- vrijednost	0,55	0,19	0,39	-

Tablica 14. Statistički parametri regresije i analize polifenolnog sastava modelnog sustava sličnog OVM-u pri pH 10

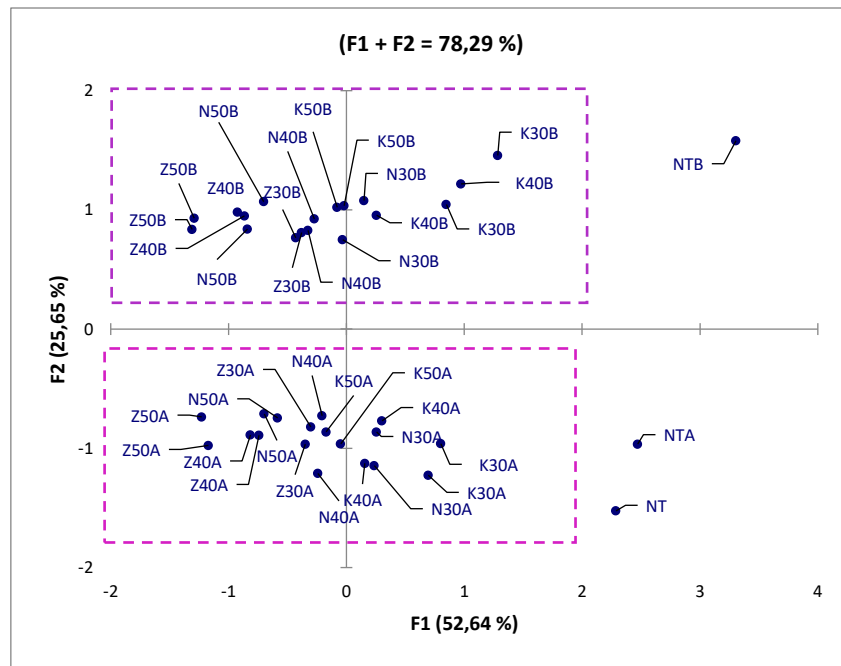
	Hidroksitirozol (mgL⁻¹)	Tirosol (mgL⁻¹)	Vanilinska kiselina (mgL⁻¹)	Oleuropein (mgL⁻¹)
R - kvadratna vrijednost (%)	50,93	82,51	69,33	-
R – kvadratna (prilagođen za stupnjeve slobode) (%)	0,00	53,36	18,20	-
Standardna progreshka	0,38	0,11	0,24	-
Srednja apsolutna pogreshka	0,19	0,05	0,12	-
p- vrijednost	0,70	0,21	0,43	-



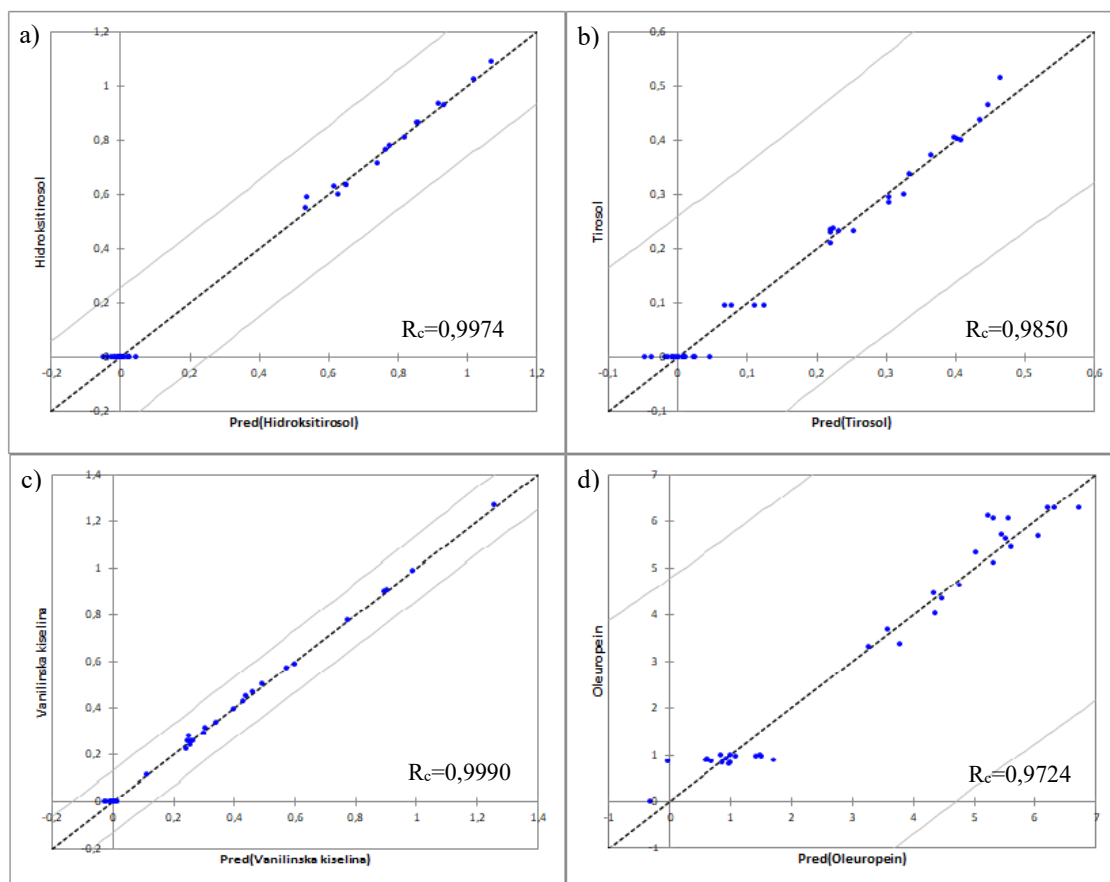
Slika 12. Usporedba NIR spektara netretiranih i tretiranih uzoraka modelnih sustava sastava sličnog OVM-u



Slika 13. Analiza glavnih komponenti uzoraka modelnog sustava OVM-a prije i nakon plazma obrade prema korištenim plinovima



Slika 14. Analiza glavnih komponenti uzoraka modelnog sustava OVM-a prije i nakon plazma obrade prema pH vrijednosti



Slika 15. Regresija glavnih komponenti prema razgradnji a) hidroksitirosola, b) tirosula, c) vanilinske kiseline, d) oleuropeina

4.2 UTJECAJ TRETMANA VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG PLAZMA PRAŽNJENJA NA SVOJSTVA OVM-a

Utjecaj visokonaponskog električnog plazma pražnjenja na fizikalno kemijske karakteristike, polifenolni sastav OVM-a, KPK i TOC vrijednosti te boju prikazani su Tablicama 15 – 24 i Slikama 17 – 24. Primijenjeni visokonaponski plazma tretmani su bili napona 30, 40 i 50 kV u trajanju 10, 20 i 30 minuta uz primjenu plinova kisika, dušika i zraka u kombinacijama prema Box-Behnken dizajnu eksperimenta.

Tablica 15. Fizikalno-kemijske karakteristike OVM-a prije i nakon plazma obrade

	pH	σ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	O ₂ (%sat)	T (°C)	H ₂ O ₂ (mgL ⁻¹)	NO ₂ ⁻ (mgL ⁻¹)	NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	ΣN (mgL ⁻¹)	PO ₄ ⁻ (mgL ⁻¹)	ΣP (mgL ⁻¹)
NT	5,32 ± 0,11	2721,12 ± 80,87	36,95 ± 7,73	18,41 ± 2,15	0,00 ± 0,00	0,20 ± 0,04	84,83 ± 1,56	0,10 ± 0,00	18,88 ± 0,05	5,91 ± 0,01	1,93 ± 0,00
1	5,45 ± 0,06	2793,50 ± 99,70	202,00 ± 5,66	22,50 ± 0,57	3,16 ± 0,00	0,49 ± 0,02	90,45 ± 1,77	0,00 ± 0,00	20,77 ± 0,15	5,11 ± 0,01	1,65 ± 0,02
2	5,17 ± 0,15	2792,50 ± 38,89	205,75 ± 2,47	23,65 ± 0,35	8,38 ± 0,05	0,40 ± 0,02	83,80 ± 6,22	0,00 ± 0,00	20,09 ± 0,06	5,85 ± 0,04	1,92 ± 0,01
3	4,88 ± 0,05	2834,00 ± 9,90	190,15 ± 23,83	29,40 ± 0,71	11,86 ± 0,05	7,50 ± 0,57	98,95 ± 0,92	0,08 ± 0,01	24,86 ± 0,23	5,94 ± 0,04	1,92 ± 0,01
4	4,66 ± 0,06	2784,50 ± 58,69	200,05 ± 1,48	32,10 ± 0,57	14,53 ± 0,05	1,02 ± 0,04	87,50 ± 1,84	0,00 ± 0,00	20,34 ± 0,12	4,82 ± 0,02	1,57 ± 0,00
5	5,21 ± 0,05	2869,50 ± 7,78	18,40 ± 1,98	26,10 ± 0,14	3,27 ± 0,05	5,30 ± 0,14	83,45 ± 1,48	0,00 ± 0,00	19,30 ± 0,05	4,86 ± 0,01	1,59 ± 0,00
6	4,26 ± 0,19	2965,50 ± 91,22	24,85 ± 0,78	30,25 ± 0,21	9,82 ± 0,42	13,25 ± 0,21	93,55 ± 1,63	0,09 ± 0,01	25,33 ± 0,44	4,93 ± 0,06	1,61 ± 0,02
7	4,89 ± 0,11	2793,00 ± 69,30	50,95 ± 1,63	25,55 ± 0,21	3,12 ± 0,37	8,75 ± 0,21	87,15 ± 2,05	0,06 ± 0,01	22,31 ± 0,13	5,02 ± 0,01	1,63 ± 0,01
8	4,41 ± 0,23	2774,00 ± 168,29	53,40 ± 0,00	30,65 ± 0,35	8,04 ± 0,00	15,85 ± 0,07	106,80 ± 0,85	0,08 ± 0,01	28,97 ± 0,35	4,36 ± 0,05	1,42 ± 0,01
9	5,07 ± 0,11	2822,50 ± 65,76	19,30 ± 2,83	25,25 ± 0,21	1,01 ± 0,10	4,40 ± 0,28	87,80 ± 1,13	0,00 ± 0,00	20,93 ± 0,11	6,31 ± 0,02	2,07 ± 0,03
10	4,57 ± 0,11	2869,50 ± 99,70	15,30 ± 5,94	30,55 ± 0,92	8,19 ± 0,84	14,60 ± 0,28	86,55 ± 0,92	0,06 ± 0,01	23,60 ± 0,99	3,68 ± 0,01	1,22 ± 0,02
11	4,60 ± 0,11	2910,00 ± 106,07	57,35 ± 1,48	23,55 ± 0,35	6,38 ± 0,26	11,50 ± 0,42	87,20 ± 0,57	0,06 ± 0,01	23,33 ± 0,21	4,81 ± 0,02	1,56 ± 0,01
12	4,28 ± 0,01	2877,50 ± 154,86	55,15 ± 0,78	28,50 ± 0,57	12,16 ± 0,26	15,90 ± 0,14	105,70 ± 1,70	0,00 ± 0,00	28,69 ± 0,27	8,22 ± 0,01	2,69 ± 0,01
13	4,59 ± 0,44	2793,50 ± 137,89	219,35 ± 6,72	28,00 ± 0,42	10,12 ± 0,00	0,75 ± 0,04	85,20 ± 3,82	0,00 ± 0,00	19,92 ± 0,29	5,08 ± 0,02	1,65 ± 0,01
14	4,76 ± 0,13	2860,50 ± 28,99	194,85 ± 8,41	27,55 ± 0,21	10,67 ± 0,16	1,23 ± 0,03	85,35 ± 1,20	0,00 ± 0,00	19,67 ± 0,28	5,42 ± 0,04	1,77 ± 0,01
15	4,87 ± 0,08	2956,00 ± 76,37	203,30 ± 2,40	26,60 ± 0,42	16,19 ± 0,10	2,56 ± 0,04	89,75 ± 1,34	0,00 ± 0,00	20,90 ± 0,55	5,42 ± 0,02	1,77 ± 0,01
16	4,88 ± 0,05	2872,00 ± 104,65	215,65 ± 6,29	27,35 ± 0,35	10,53 ± 0,16	0,62 ± 0,07	79,55 ± 1,91	0,00 ± 0,00	18,17 ± 0,42	5,43 ± 0,01	1,76 ± 0,02
17	4,79 ± 0,02	2880,00 ± 65,05	219,20 ± 2,69	27,65 ± 0,35	12,16 ± 0,26	2,54 ± 0,04	81,70 ± 2,69	0,00 ± 0,00	18,81 ± 1,24	5,02 ± 0,01	1,66 ± 0,04

Tablica 16. Multivarijantna analiza varijance (MANOVA) utjecaja tretiranja uzoraka različitim plinom i naponom u različitom vremenu

Izvor varijacije	tretman	pH	σ ($\mu\text{S/cm}$)	O ₂ (%sat)	T (°C)
napon	0	5,32 ± 0,03 ^a	2721,12 ± 12,10 ^a	36,95 ± 2,29 ^a	18,41 ± 0,15 ^a
	30	5,11 ± 0,01 ^b	2822,5 ± 6,20 ^b	115,38 ± 1,17 ^b	25,89 ± 0,08 ^b
	40	4,66 ± 0,01 ^c	2870,38 ± 4,96 ^c	123,78 ± 0,94 ^b	27,06 ± 0,06 ^c
	50	4,63 ± 0,01 ^d	2830,89 ± 5,94 ^b	133,28 ± 1,12 ^c	29,07 ± 0,07 ^d
vrijeme	0	5,32 ± 0,03 ^a	2721,12 ± 12,10 ^a	36,95 ± 2,29 ^a	18,41 ± 0,15 ^a
	10	5,07 ± 0,01 ^b	2829,63 ± 6,05 ^{bc}	121,10 ± 1,14 ^b	23,74 ± 0,08 ^b
	20	4,71 ± 0,01 ^c	2854,88 ± 4,96 ^b	71,61 ± 0,94 ^c	28 ± 0,060 ^c
	30	4,61 ± 0,01 ^d	2843,14 ± 6,09 ^c	114,81 ± 1,15 ^b	30,04 ± 0,08 ^d
plin	NT	5,32 ± 0,03 ^a	2721,12 ± 12,10 ^a	36,95 ± 2,29 ^a	18,41 ± 0,15 ^a
	N ₂	4,78 ± 0,01 ^b	2881,75 ± 6,05 ^b	19,46 ± 1,14 ^b	28,04 ± 0,08 ^b
	O ₂	4,99 ± 0,01 ^c	2816,79 ± 4,99 ^c	201,40 ± 0,94 ^c	26,94 ± 0,06 ^c
	zrak	4,55 ± 0,01 ^d	2838,63 ± 6,05 ^c	54,21 ± 1,14 ^d	27,06 ± 0,08 ^c

*Rezultati su izraženi srednjom vrijednošću± standardna pogreška te različita slova upućuju na statistički značajne razlike (p<0,05)

Tablica 17. Multivarijantna analiza varijance (MANOVA) utjecaja tretiranja uzoraka različitim plinom i naponom u različitom vremenu

Izvor varijacije	tretman	H ₂ O ₂ (mgL ⁻¹)	NO ₂ ⁻ (mgL ⁻¹)	NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	NH ₄ ⁺ (mgL ⁻¹)	ΣN (mgL ⁻¹)	PO ₄ ⁻ (mgL ⁻¹)	ΣP (mgL ⁻¹)
napon	0	0,00 ± 0,53 ^a	0,17 ± 0,32 ^a	83,55 ± 0,92 ^a	0,10 ± 0,00 ^a	18,88 ± 0,28 ^a	5,91 ± 0,14 ^a	1,93 ± 0,02 ^a
	30	5,35 ± 0,27 ^b	5,51 ± 0,16 ^b	90,00 ± 0,47 ^b	0,03 ± 0,00 ^b	21,81 ± 0,14 ^b	5,23 ± 0,07 ^{bc}	1,70 ± 0,01 ^b
	40	7,94 ± 0,22 ^c	6,01 ± 0,13 ^b	90,31 ± 0,38 ^b	0,02 ± 0,00 ^c	23,21 ± 0,11 ^b	5,55 ± 0,06 ^c	1,85 ± 0,01 ^c
	50	10,10 ± 0,26 ^c	7,86 ± 0,16 ^c	93,32 ± 0,45 ^c	0,04 ± 0,00 ^d	23,84 ± 0,14 ^c	5,03 ± 0,07 ^b	1,64 ± 0,01 ^d
vrijeme	0	0,00 ± 0,53 ^a	0,17 ± 0,32 ^a	83,55 ± 0,92 ^a	0,10 ± 0,00 ^a	18,88 ± 0,28 ^a	5,91 ± 0,14 ^a	1,93 ± 0,02 ^a
	10	4,73 ± 0,26 ^b	4,20 ± 0,16 ^b	87,31 ± 0,46 ^b	0,01 ± 0,00 ^b	21,28 ± 0,14 ^b	5,52 ± 0,07 ^b	1,80 ± 0,01 ^b
	20	7,24 ± 0,22 ^c	8,94 ± 0,13 ^c	91,05 ± 0,38 ^b	0,04 ± 0,00 ^c	23,08 ± 0,11 ^b	4,89 ± 0,06 ^a	1,59 ± 0,01 ^c
	30	11,59 ± 0,27 ^d	9,99 ± 0,16 ^d	95,08 ± 0,46 ^c	0,04 ± 0,00 ^c	24,53 ± 0,14 ^c	5,57 ± 0,07 ^b	1,86 ± 0,01 ^b
plin	NT	0,00 ± 0,53 ^a	0,17 ± 0,32 ^a	83,55 ± 0,92 ^a	0,10 ± 0,00 ^a	18,88 ± 0,28 ^a	5,91 ± 0,14 ^a	1,93 ± 0,02 ^a
	N ₂	5,57 ± 0,26 ^b	9,39 ± 0,16 ^b	87,84 ± 0,46 ^b	0,04 ± 0,00 ^b	22,29 ± 0,14 ^b	4,94 ± 0,07 ^b	1,62 ± 0,01 ^b
	O ₂	9,90 ± 0,22 ^c	2,38 ± 0,13 ^c	89,33 ± 0,38 ^b	0,02 ± 0,00 ^c	21,24 ± 0,12 ^c	5,43 ± 0,06 ^c	1,76 ± 0,01 ^c
	zrak	7,43 ± 0,26 ^d	13,00 ± 0,16 ^d	96,71 ± 0,46 ^c	0,05 ± 0,00 ^d	25,83 ± 0,14 ^d	5,47 ± 0,07 ^c	1,82 ± 0,01 ^d

*Rezultati su izraženi srednjom vrijednošću ± standardna pogreška te različita slova upućuju na statistički značajne razlike (p<0,05)

Tablica 18. Regresijski koeficijenti i koeficijenti determinacije dobiveni analizom primijenjenog Box-Behnken dizajna eksperimenata

analizirano svojstvo	parametar	odsječak ± standardna pogreška	Regresijski koeficijenti (L-linearni, Q-kvadratni) ± standardna pogreška	p	R ²
pH	napon	4,78 ± 0,08	-0,24 ± 0,06 (L)	0,00 (L)	0,84
			0,16 ± 0,08 (Q)	0,07 (Q)	
	vrijeme		-0,24 ± 0,06 (L)	0,00 (L)	
			0,10 ± 0,08 (Q)	0,25 (Q)	
	plin		-0,12 ± 0,06 (L)	0,08 (L)	
			-0,25 ± 0,08 (Q)	0,01 (Q)	
σ (μScm^{-1})	napon	2872,40 ± 27,38	3,31 ± 21,64 (L)	0,88 (L)	0,32
			-45,32 ± 29,83 (Q)	0,16 (Q)	
	vrijeme		5,88 ± 21,64 (L)	0,79 (L)	
			-25,95 ± 29,83 (Q)	0,41 (Q)	
	plin		-21,56 ± 21,64 (L)	0,34 (L)	
			23,43 ± 29,83 (Q)	0,45 (Q)	
O ₂ (% sat.)	napon	210,47 ± 3,30	2,82 ± 2,61 (L)	0,31 (L)	1,00
			-5,43 ± 3,60 (Q)	0,16 (Q)	
	vrijeme		-2,97 ± 2,61 (L)	0,28 (L)	
			-5,55 ± 3,60 (Q)	0,15 (Q)	
	plin		17,38 ± 2,61 (L)	0,00 (L)	
			-168,14 ± 3,60 (Q)	0,00 (Q)	
T (°C)	napon	27,43 ± 0,46	1,64 ± 0,36 (L)	0,00 (L)	0,91
			0,33 ± 0,50 (Q)	0,52 (Q)	
	vrijeme		3,20 ± 0,36 (L)	0,00 (L)	
			-0,85 ± 0,50 (Q)	0,12 (Q)	
	plin		-0,49 ± 0,36 (L)	0,21 (L)	
			0,38 ± 0,50 (Q)	0,46 (Q)	
NO ₂ ⁻ (mgL ⁻¹)	napon	1,54 ± 1,32	1,06 ± 1,05 (L)	0,34 (L)	0,84
			0,00 ± 1,44 (Q)	1,00 (Q)	
	vrijeme		2,78 ± 1,05 (L)	0,02 (L)	
			0,81 ± 1,44 (Q)	0,59 (Q)	
	plin		1,81 ± 1,05 (L)	0,12 (L)	
			9,25 ± 1,44 (Q)	0,00 (Q)	
NO ₃ ⁻ (mgL ⁻¹)	napon	84,31 ± 3,09	1,46 ± 2,44 (L)	0,56 (L)	0,50
			3,40 ± 3,37 (Q)	0,34 (Q)	
	vrijeme		3,68 ± 2,44 (L)	0,16 (L)	
			2,47 ± 3,37 (Q)	0,48 (Q)	
	plin		4,44 ± 2,44 (L)	0,10 (L)	
			5,03 ± 3,37 (Q)	0,17 (Q)	

Tablica 19. Regresijski koeficijenti i koeficijenti determinacije dobiveni analizom primijenjenog Box-Behnken dizajna eksperimenata (nastavak)

analizirano svojstvo	parametar	odsječak ± standardna pogreška	Regresijski koeficijenti (L- linearni, Q- kvadratni) ± standardna pogreška	p	R ²
ΣN (mgL⁻¹)	napon	19,49 ± 1,02	0,94 ± 0,81 (L)	0,27 (L)	0,69
			0,93 ± 1,11 (Q)	0,42 (Q)	
	vrijeme		1,55 ± 0,81 (L)	0,08 (L)	
	1,09 ± 1,11 (Q)		0,35 (Q)		
	plin		1,77 ± 0,81 (L)	0,05 (L)	
3,56 ± 1,11 (Q)	0,01 (Q)				
H₂O₂ (mgL⁻¹)	napon	11,93 ± 0,96	2,42 ± 0,76 (L)	0,01 (L)	0,84
			-1,66 ± 1,04 (Q)	0,14 (Q)	
	vrijeme		3,48 ± 0,76 (L)	0,00 (L)	
	-0,79 ± 1,04 (Q)		0,47 (Q)		
	plin		0,93 ± 0,76 (L)	0,25 (L)	
-4,21 ± 1,04 (Q)	0,00 (Q)				
NH₄⁺ (mgL⁻¹)	napon	0,00 ± 0,01	-0,01 ± 0,01 (L)	0,55 (L)	0,54
			0,02 ± 0,02 (Q)	0,31 (Q)	
	vrijeme		-0,01 ± 0,01 (L)	0,29 (L)	
	0,03 ± 0,02 (Q)		0,10 (Q)		
	plin		0,02 ± 0,01 (L)	0,08 (L)	
0,02 ± 0,02 (Q)	0,24 (Q)				
PO₄⁻ (mgL⁻¹)	napon	5,76 ± 0,38	-0,07 ± 0,33 (L)	0,83 (L)	0,39
			0,03 ± 0,44 (Q)	0,95 (Q)	
	vrijeme		0,48 ± 0,33 (L)	0,17 (L)	
	-0,09 ± 0,44 (Q)		0,84 (Q)		
	plin		-0,24 ± 0,33 (L)	0,48 (L)	
-0,88 ± 0,44 (Q)	0,07 (Q)				
ΣP (mgL⁻¹)	napon	1,88 ± 0,12	-0,03 ± 0,11 (L)	0,79 (L)	0,39
			0,00 ± 0,14 (Q)	0,99 (Q)	
	vrijeme		0,16 ± 0,11 (L)	0,17 (L)	
	-0,03 ± 0,14 (Q)		0,84 (Q)		
	plin		-0,08 ± 0,11 (L)	0,47 (L)	
-0,28 ± 0,14 (Q)	0,07 (Q)				

Tablica 20. Polifenolni sastav tretiranih i netretiranih uzoraka OVM-a

	NT	1	2	3	4	5	6	7	8
hidroksitirozol (mgL⁻¹)	43,12 ± 0,11	31,20 ± 0,11	20,32 ± 0,06	19,31 ± 0,12	18,23 ± 0,03	35,39 ± 0,05	19,63 ± 0,03	30,79 ± 0,03	19,45 ± 0,04
tirosol (mgL⁻¹)	5,74 ± 0,03	6,20 ± 0,08	6,07 ± 0,05	6,02 ± 0,02	7,38 ± 0,06	5,54 ± 0,03	6,01 ± 0,04	5,72 ± 0,04	5,90 ± 0,04
vanilinska kiselina (mgL⁻¹)	2,68 ± 0,09	1,21 ± 0,04	1,04 ± 0,06	2,58 ± 0,13	2,16 ± 0,03	1,39 ± 0,02	4,10 ± 0,03	2,18 ± 0,02	5,74 ± 0,02
oleuropein (mgL⁻¹)	15,85 ± 0,28	14,12 ± 0,03	16,05 ± 0,03	13,81 ± 0,01	0,00 ± 0,00	13,24 ± 0,03	10,72 ± 0,05	12,43 ± 0,07	12,98 ± 0,02
neidentificirano	90,21 ± 0,29	89,84 ± 0,24	92,59 ± 0,34	88,60 ± 0,04	73,50 ± 0,07	92,86 ± 0,06	89,47 ± 0,06	93,82 ± 0,09	91,73 ± 0,03
ukupno	157,60 ± 0,21	142,56 ± 0,36	136,07 ± 0,25	130,31 ± 0,2	101,27 ± 0,08	148,43 ± 0,14	129,92 ± 0,02	144,93 ± 0,05	135,80 ± 0,01

	9	10	11	12	13	14	15	16	17
hidroksitirozol (mgL⁻¹)	37,02 ± 0,04	28,10 ± 0,03	31,50 ± 0,02	19,45 ± 0,04	19,50 ± 0,04	18,83 ± 0,03	19,19 ± 0,03	19,87 ± 0,02	19,54 ± 0,04
tirosol (mgL⁻¹)	5,94 ± 0,05	5,50 ± 0,06	6,04 ± 0,03	6,54 ± 0,03	7,05 ± 0,04	7,07 ± 0,07	6,99 ± 0,04	7,05 ± 0,05	7,05 ± 0,05
vanilinska kiselina (mgL⁻¹)	1,27 ± 0,05	2,49 ± 0,03	2,32 ± 0,04	5,55 ± 0,05	1,81 ± 0,02	1,66 ± 0,01	1,91 ± 0,03	1,02 ± 0,04	1,72 ± 0,04
oleuropein (mgL⁻¹)	13,59 ± 0,02	11,62 ± 0,02	14,84 ± 0,04	11,18 ± 0,02	15,51 ± 0,07	0,00 ± 0,00	12,02 ± 0,03	14,50 ± 0,03	16,24 ± 0,03
neidentificirano	96,53 ± 0,03	104,53 ± 0,08	88,73 ± 0,04	106,64 ± 0,07	96,45 ± 0,05	90,04 ± 0,05	88,59 ± 0,03	90,42 ± 0,04	87,71 ± 0,05
ukupno	154,36 ± 0,04	152,24 ± 0,17	143,42 ± 0,12	149,35 ± 0,11	140,32 ± 0,17	117,60 ± 0,11	128,70 ± 0,05	132,86 ± 0,08	132,27 ± 0,04

Tablica 21. Multivarijantna analiza varijance (MANOVA) utjecaja tretiranja uzoraka različitim plinom i naponom u različitom vremenu

Izvor varijacije	tretman	HTS	TYR	VAN	OLE
napon	0	43,12 ± 0,09 ^a	5,74 ± 0,05 ^a	2,68 ± 0,07 ^a	15,85 ± 1,48 ^a
	30	23,67 ± 0,05 ^b	5,87 ± 0,03 ^a	1,84 ± 0,04 ^b	13,4 ± 0,76 ^{ab}
	40	27,09 ± 0,04 ^c	6,33 ± 0,02 ^b	2,19 ± 0,03 ^c	12,58 ± 0,61 ^b
	50	19,45 ± 0,04 ^d	6,58 ± 0,03 ^c	3,26 ± 0,04 ^d	10,42 ± 0,73 ^b
	vrijeme	0	43,12 ± 0,09 ^a	5,74 ± 0,05 ^a	2,68 ± 0,07 ^a
	10	30,01 ± 0,05 ^b	6,07 ± 0,03 ^b	1,45 ± 0,04 ^b	14,64 ± 0,74 ^{ab}
	20	24,93 ± 0,04 ^c	6,04 ± 0,02 ^c	3,01 ± 0,03 ^c	12,2 ± 0,61 ^{bc}
	30	21,31 ± 0,05 ^d	6,31 ± 0,03 ^d	3,21 ± 0,04 ^d	9,64 ± 0,75 ^c
plin	NT	43,12 ± 0,09 ^a	5,74 ± 0,05 ^a	2,68 ± 0,07 ^a	15,85 ± 1,48 ^a
	N ₂	30,04 ± 0,05 ^b	5,75 ± 0,03 ^a	2,31 ± 0,04 ^b	12,29 ± 0,74 ^{ab}
	O ₂	21,72 ± 0,04 ^c	6,51 ± 0,02 ^b	1,73 ± 0,03 ^c	11,52 ± 0,61 ^b
	zrak	25,3 ± 0,05 ^d	6,05 ± 0,03 ^c	3,95 ± 0,04 ^d	12,86 ± 0,74 ^{ab}

*Rezultati su izraženi srednjom vrijednošću ± standardna pogreška te različita slova upućuju na statistički značajne razlike (p<0,05)



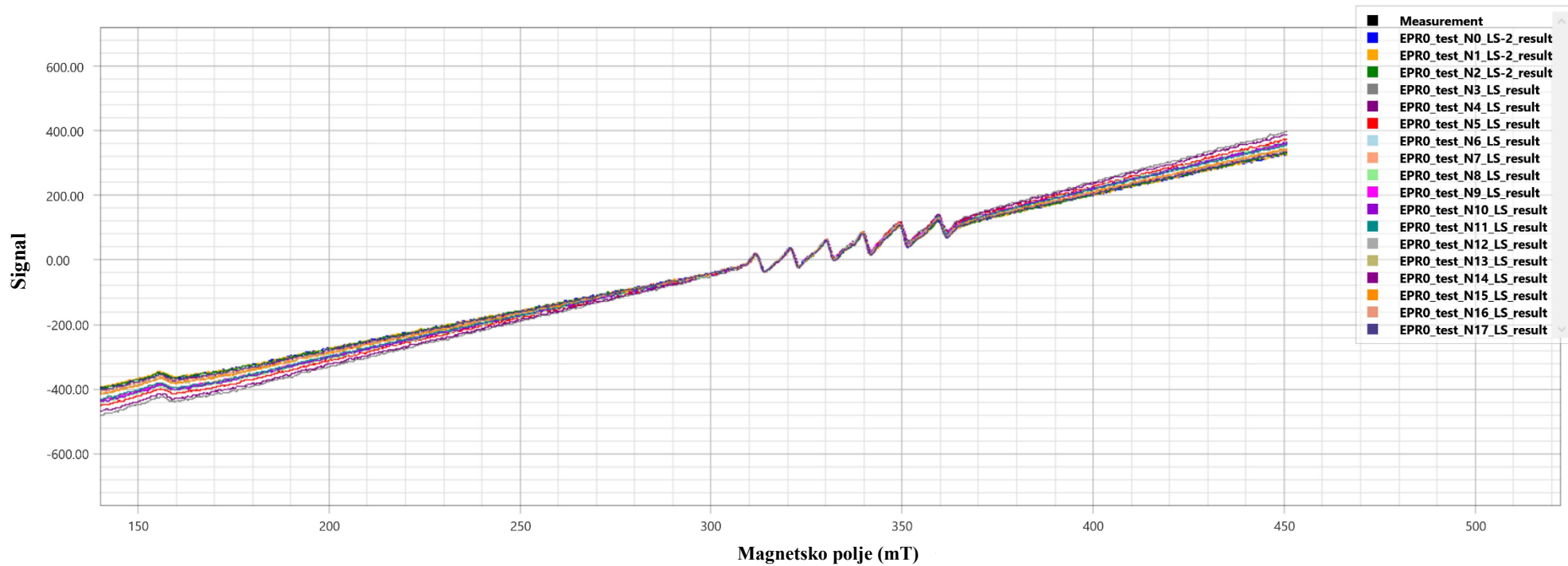
Slika 16. Ukupni fenolni spojevi (TPC) u uzorcima OVM-a prije i nakon plazma obrade

Tablica 22. KPK (kemijska potrošnja kisika) i TOC (ukupni organski ugljik) vrijednosti u uzorcima OVM-a prije i nakon plazma obrade

	KPK (mgO ₂ L ⁻¹)	TOC (mgL ⁻¹)
NT	4481,51 ± 22,52	6835,06 ± 3,54
1	3028,67 ± 9,12	6485,50 ± 6,36
2	3131,24 ± 13,44	5794,00 ± 7,07
3	3724,65 ± 12,06	6623,00 ± 4,24
4	3110,71 ± 19,70	6608,00 ± 8,49
5	3562,10 ± 9,26	5582,50 ± 9,19
6	3332,56 ± 9,99	5791,00 ± 5,66
7	3212,05 ± 17,03	5919,50 ± 9,19
8	2947,83 ± 8,34	6665,00 ± 5,66
9	3018,22 ± 9,13	6299,50 ± 9,19
10	3260,12 ± 12,03	4851,00 ± 4,24
11	3789,03 ± 12,76	4006,50 ± 3,54
12	1348,50 ± 8,26	5052,00 ± 9,9
13	3246,09 ± 8,61	4300,50 ± 6,36
14	3314,69 ± 15,27	4445,50 ± 4,95
15	2511,31 ± 8,73	3637,50 ± 10,61
16	3520,08 ± 8,99	5383,50 ± 6,36
17	3897,16 ± 9,85	4683,00 ± 4,24

Tablica 23. Multivarijantna analiza varijance (MANOVA) utjecaja tretiranja uzoraka različitim plinom i naponom u različitom vremenu

Izvor varijacije	tretman	TPC	KPK	TOC
napon	0	126,71 ± 1,45 ^a	4503,70 ± 106,46 ^a	7009,00 ± 131,45 ^a
	30	101,03 ± 0,74 ^b	3373,48 ± 54,54 ^b	6149,75 ± 67,35 ^b
	40	114,83 ± 0,59 ^c	2936,68 ± 43,64 ^c	4938,28 ± 53,88 ^c
	50	101,69 ± 0,71 ^b	3148,36 ± 52,27 ^{bc}	6214,96 ± 64,54 ^b
vrijeme	0	126,71 ± 1,45 ^a	4503,70 ± 106,46 ^a	7009,00 ± 131,45 ^a
	10	112,48 ± 0,73 ^b	3238,68 ± 53,23 ^b	5647,25 ± 65,73 ^b
	20	112,94 ± 0,59 ^b	3264,07 ± 43,64 ^b	5686,68 ± 53,88 ^c
	30	92,60 ± 0,73 ^c	2873,91 ± 53,61 ^c	5781,96 ± 66,20 ^b
plin	NT	126,71 ± 1,45 ^a	4503,70 ± 106,46 ^a	7009,00 ± 131,45 ^a
	N ₂	120,50 ± 0,73 ^b	3286,11 ± 53,23 ^b	5629,25 ± 65,73 ^b
	O ₂	93,40 ± 0,60 ^c	3272,35 ± 43,93 ^b	6000,45 ± 54,25 ^c
	zrak	109,00 ± 0,73 ^d	2816,15 ± 53,23 ^c	5407,75 ± 65,73 ^b



Slika 17. EPR spektar prisutnosti metalnih iona u OVM-u

Tablica 24. Parametri boje (L*, a* i b*) OVM-a prije i nakon plazma obrade

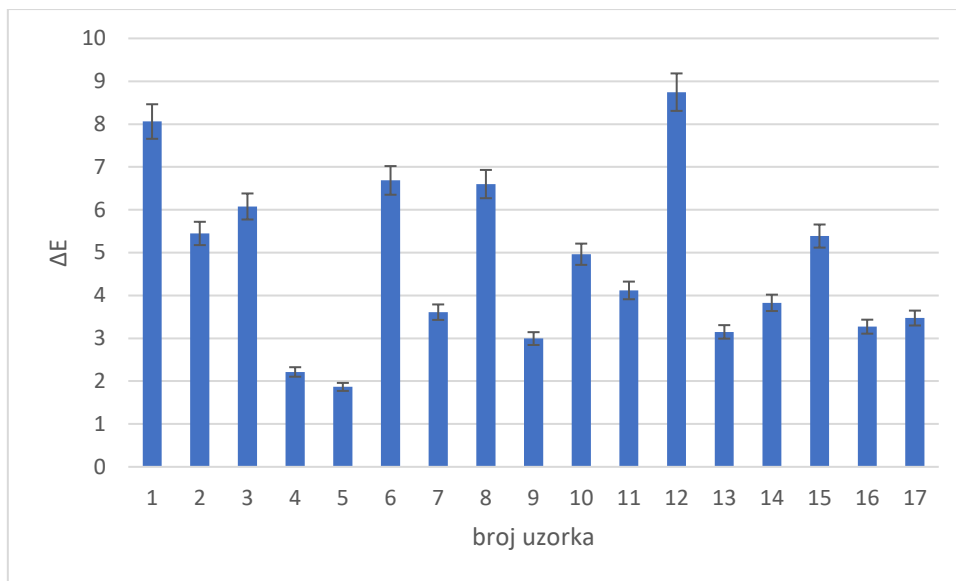
	NT	1	2	3	4	5	6	7	8
L*	91,98 ± 3,51	84,06 ± 0,77	86,99 ± 0,90	89,18 ± 0,72	92,58 ± 0,57	91,20 ± 0,11	93,38 ± 0,06	92,93 ± 0,08	93,17 ± 0,06
a*	-1,93 ± 0,15	-1,19 ± 0,06	-0,86 ± 0,02	-1,83 ± 0,04	-0,65 ± 0,05	-1,73 ± 0,06	-3,03 ± 0,03	-2,39 ± 0,06	-2,97 ± 0,01
b*	7,10 ± 0,97	8,38 ± 0,08	8,99 ± 0,07	12,49 ± 0,40	8,80 ± 0,04	8,78 ± 0,01	13,54 ± 0,04	10,55 ± 0,04	13,51 ± 0,04

	9	10	11	12	13	14	15	16	17
L*	89,29 ± 0,08	88,55 ± 0,06	95,62 ± 0,04	94,95 ± 0,03	94,95 ± 0,02	95,72 ± 0,07	94,64 ± 0,03	95,06 ± 0,08	95,31 ± 0,05
a*	-1,53 ± 0,02	-1,52 ± 0,01	-2,54 ± 0,01	-3,63 ± 0,08	-1,46 ± 0,04	-1,38 ± 0,04	-1,74 ± 0,04	-1,42 ± 0,02	-1,54 ± 0,02
b*	8,34 ± 0,03	10,66 ± 0,04	8,92 ± 0,03	15,15 ± 0,09	8,04 ± 0,03	7,69 ± 0,11	11,78 ± 0,05	8,07 ± 0,04	8,01 ± 0,01

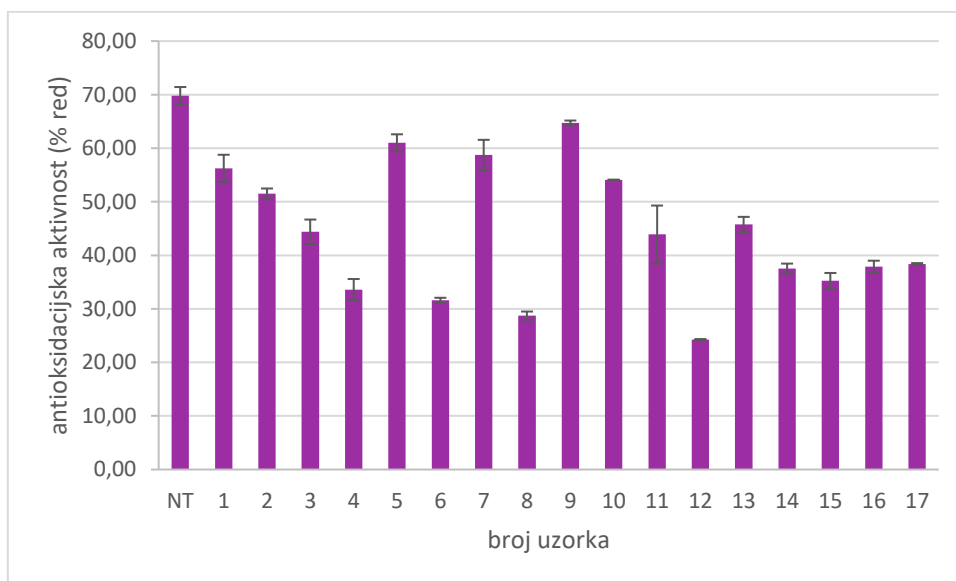
Tablica 25. Multivarijantna analiza varijance (MANOVA) utjecaja tretiranja uzoraka različitim plinom i naponom u različitom vremenu

Izvor varijacije	tretman	L*	a*	b*
napon	0	91,98 ± 0,16 ^a	-1,93 ± 0,05 ^{ab}	7,1 ± 0,38 ^a
	30	89,34 ± 0,08 ^b	-1,78 ± 0,03 ^c	10,05 ± 0,2 ^b
	40	92,71 ± 0,06 ^c	-2,14 ± 0,02 ^{bc}	10,36 ± 0,16 ^b
	50	91,41 ± 0,08 ^a	-1,92 ± 0,03 ^{bc}	11,34 ± 0,19 ^c
vrijeme	0	91,98 ± 0,16 ^a	-1,93 ± 0,05 ^a	7,1 ± 0,38 ^a
	10	88,99 ± 0,08 ^a	-1,53 ± 0,03 ^b	8,66 ± 0,19 ^b
	20	93,16 ± 0,06 ^a	-2,32 ± 0,02 ^a	11,02 ± 0,16 ^c
	30	91,19 ± 0,08 ^a	-1,95 ± 0,03 ^a	11,9 ± 0,19 ^d
plin	NT	91,98 ± 0,16 ^a	-1,93 ± 0,05 ^a	7,1 ± 0,38 ^a
	N ₂	90,6 ± 0,08 ^a	-1,95 ± 0,03 ^a	10,33 ± 0,19 ^b
	O ₂	89,49 ± 0,06 ^a	-1,24 ± 0,02 ^b	9,58 ± 0,16 ^c
	zrak	94,17 ± 0,08 ^b	-2,88 ± 0,03 ^c	12,03 ± 0,19 ^d

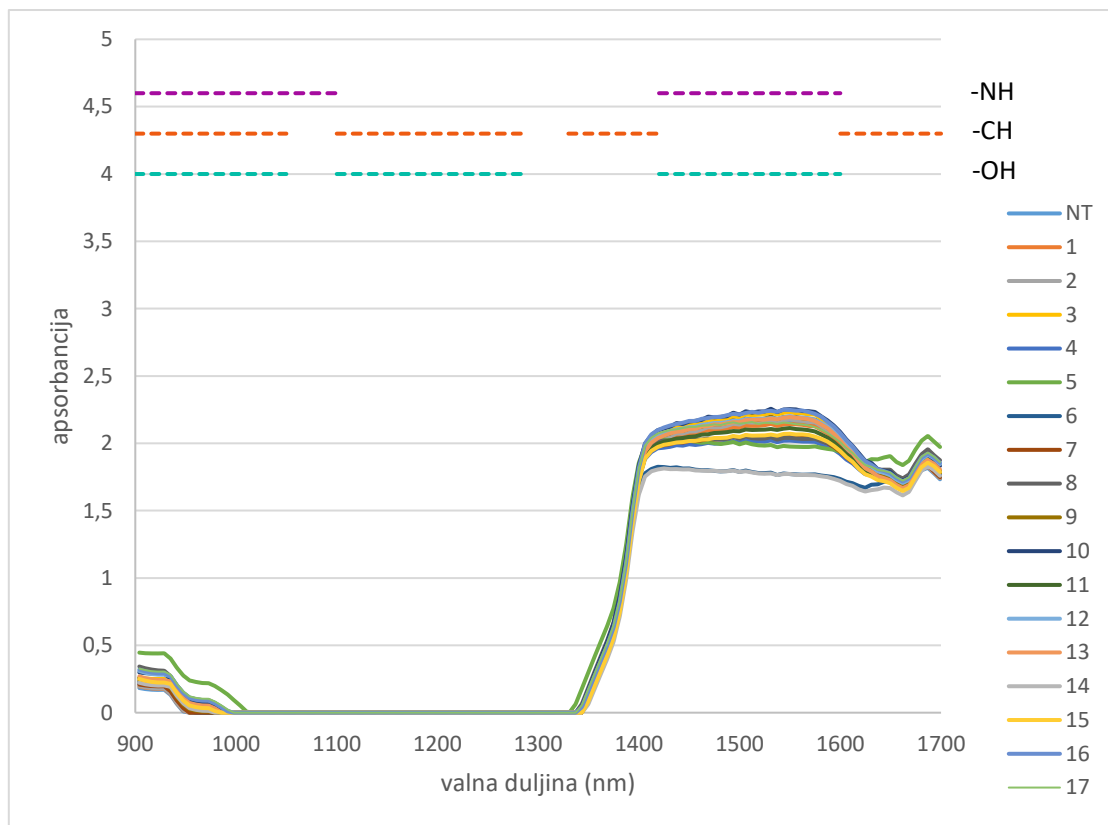
*Rezultati su izraženi srednjom vrijednošću ± standardna pogreška te različita slova upućuju na statistički značajne razlike (p<0,05)



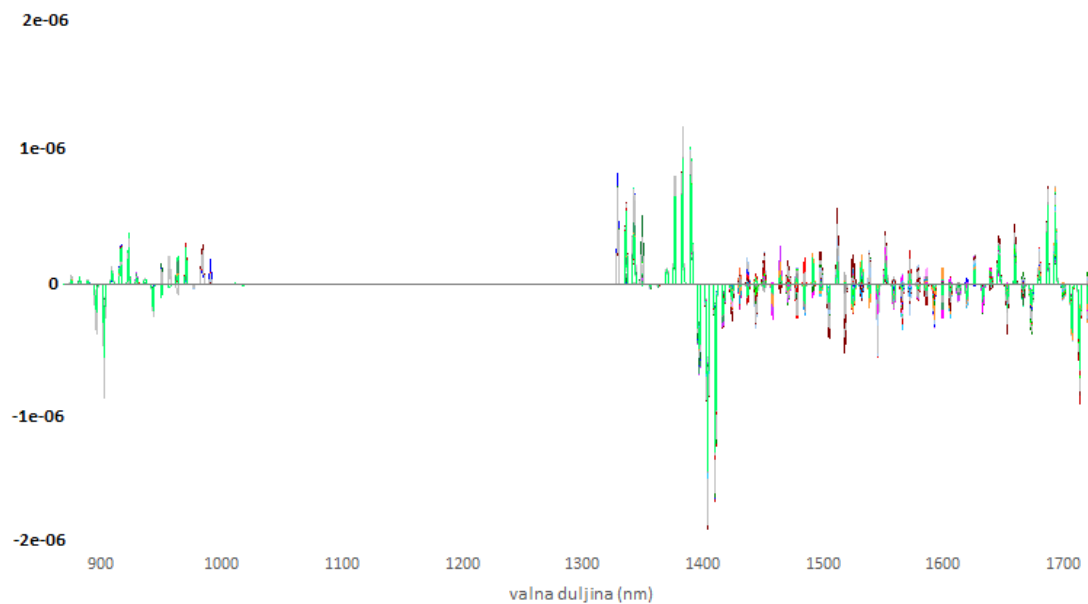
Slika 18. Promjena boje OVM-a prije i nakon plazma obrade



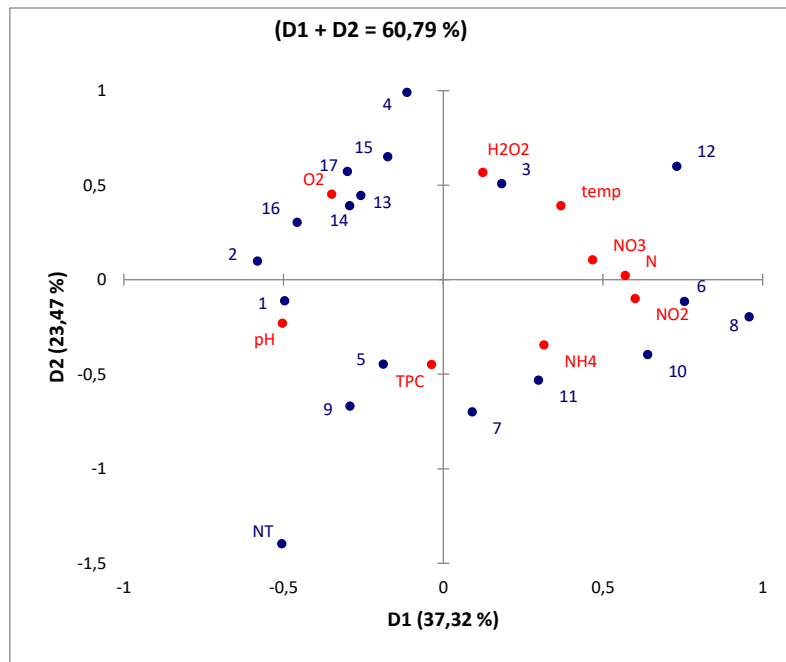
Slika 19. Antioksidacijska aktivnost uzoraka OVM



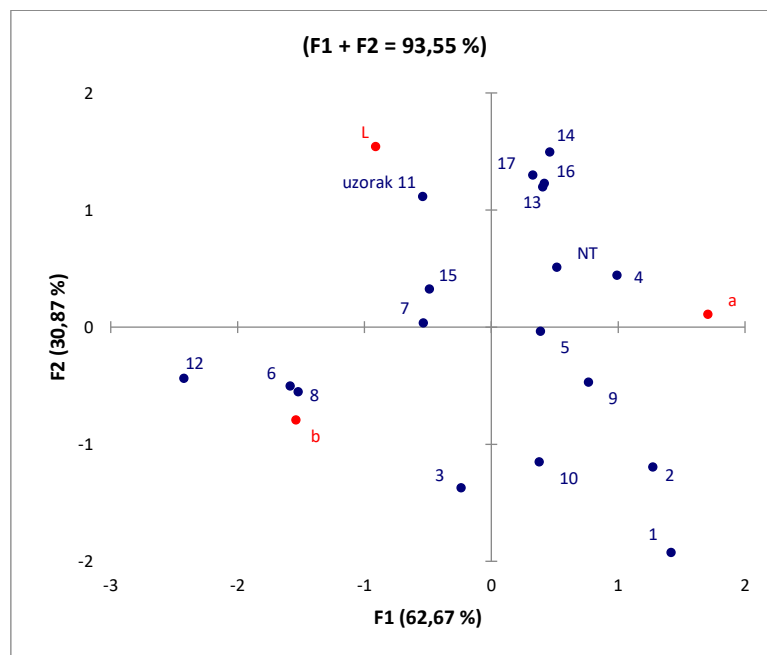
Slika 20. Usporedba NIR spektara netretiranih i tretiranih uzoraka OVM-a



Slika 21. Predprocesirani NIR spektri (umekšavanje + 2. derivacija prema Savitzky–Golay)



Slika 22. Analiza glavnih komponenti za sedamnaest promatranih uzoraka OVM-a prema fizikalno-kemijskim karakteristikama



Slika 23. Analiza glavnih komponenti za sedamnaest promatranih uzoraka prema parametrima boje

5. RASPRAVA

Otpadna voda iz procesa proizvodnje maslinova ulja zbog svog složenog sastava i raznolikosti organskog materijala predstavlja velik izazov za odlaganje i razgradnju te veliki ekološki problem. Vrlo složen kemijski sastav, visoka koncentracija polifenola i organskog sadržaja, visoke vrijednosti KPK, TOC-a te niska pH vrijednost otpadne vode, glavni su čimbenici na koje se u ovom radu pokušalo djelovati tretmanom visokonaponskog plazma pražnjenja, kao vrlo dobrom oksidacijskom metodom, zahvaljujući brojnim nastalim radikalima i ostalim molekularnim vrstama. S ciljem optimiranja uvjeta razgradnje, a zbog složenosti sustava, važno ga je primarno provesti na pojedinačnim komponentama otpadne vode te potom ispitane parametre primijeniti na otpadnu vodu iz procesa proizvodnje maslinova ulja. Stoga je i ovaj eksperiment podijeljen u dvije faze.

5.1 UTJECAJ TRETMANA VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG PLAZMA PRAŽNJENJA NA SVOJSTVA MODELNOG SUSTAVA SASTAVA SLIČNOG OVM-u

5.1.1 Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na fizikalno-kemijske karakteristike modelnih otopina sastava sličnog OVM-u

Prilikom visokonaponskog pražnjenja, a u prisustvu plinova poput kisika, dušika i zraka, dolazi do disocijacije molekula plina te nastanka različitih kemijskih vrsta poput O^{\cdot} , OH^{\cdot} , H^{\cdot} i N^{\cdot} radikala koji se rekombiniraju međusobno ili s početnim molekulama te induciraju nove molekule kao što su NO_2 , HNO_2 i HNO_3 . Novonastale molekule otapanjem u vodi djeluju na naglo snižavanje pH vrijednosti te sudjeluju u brojim reakcijama (Jiang i sur., 2014; Lukes i Locke, 2005; Zeghioud i sur., 2020).

U uzorcima modelnih sustava prikazanih u Tablici 7 vidljivo je značajno smanjenje pH vrijednosti u odnosu na pH vrijednost u početnim uzorcima. Kod uzoraka s početnom pH vrijednošću 7 (NTA), najmanje smanjenje od 3,40 jedinica vidljivo je kod uzorka K30A pri plazma tretmana napona 30 kV uz primjenu kisika, dok je najveće smanjenje pH vrijednosti od 4,54 jedinice primjetno u uzorku Z50A obrađenom plazma tretmanom napona 50 kV uz primjenu zraka. Parametri tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem su imali statistički značajan utjecaj na promjenu pH vrijednosti uzoraka ($p < 0,05$) (Tablica 9). Isti trend pada pH vrijednosti je vidljiv i u Tablici 8, kod uzoraka s početnom pH vrijednošću 10 (NTB),

gdje je najmanje smanjenje pH vrijednosti od 4,63 jedinica u uzorcima tretiranim pri naponu 30 kV uz upuhivanje kisika (K30B), dok je najveće smanjenje pH vrijednosti od 7,15 jedinica u uzorku tretiranom pri naponu 50 kV uz upuhivanje zraka (Z50B). Parametri tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem su imali statistički značajan utjecaj na promjenu pH vrijednosti uzoraka ($p < 0,05$) (Tablica 10). Iz rezultata je također vidljivo kako je pri tretmanima s istim plinom, slabije sniženje pH vrijednosti pri nižim naponima plazma tretmana, dok je najveći pri najvišim naponima plazma pražnjenja. Kod tekućina s visokom električnom vodljivošću, zbog visoke koncentracije iona može se postići velik protok struje te se posljedično stvaraju velike količine kemijski aktivnih vrsta koje utječu na pad pH vrijednosti otopine (Zeghioud i sur., 2020). Pad pH vrijednosti vodene otopine tretirane visokonaponskim plazma pražnjenjem uzrokovano je nastankom reaktivnih kisikovih i dušikovih vrsta poput stabilnijih nitrata (NO_3^-), nitrita (NO_2^-) i vodikovog peroksida (H_2O_2) te manje stabilnih hidroksilnih radikala (OH^\cdot), dušikovih oksida (NO^\cdot), superoksida (O_2^-), peroksinitrata (OONO_2^-) i peroksinitrita (OONO^\cdot). Navedene vrste u vodenim otopinama međusobno reagiraju, rekombiniraju se te posljedično dolazi do smanjenja pH vrijednosti otopina (Kooshki i sur., 2023). Iz rezultata modelnih otopina je primjetno i kako je pri početnoj pH vrijednosti modelne otopine 7 nakon tretmana postignuta niža pH vrijednost uzoraka u odnosu na uzorke kojima je početna pH vrijednost bila 10.

Isto je primijećeno i tijekom procesa ozoniziranja gdje dolazi do postepenog smanjenja pH vrijednosti tijekom tretmana pri početnoj pH vrijednosti otopine 10, dok je pri nižoj početnoj pH vrijednosti otopine, primijećen brži pad pH vrijednosti tijekom tretmana. Pri pH vrijednosti 10 najvjerojatnije se sav ozon razgrađuje te ozon ne otapa ili vrlo malo otapa u tretiranom mediju, jer visoka pH vrijednost potiče razgradnju ozona u hidroksilne radikale (Rekhate i Srivastava 2020).

Istraživanja su pokazala i kako se pH otopine mijenja s električnom vodljivošću otopine, kao i da visoka vodljivost otopina ($> 1 \text{ mScm}^{-1}$) kod plazma pražnjenja u mjehurićima rezultira visokom strujom pražnjenja, jačim UV zračenjem, većom gustoćom elektrona te kraćom duljinom pulsa, što rezultira kraćim, ali sjajnijim izbojima te utječe na kemiju plazme (Joshi i Thagard, 2013; Shih i Locke, 2010). Visoka električna vodljivost otopine utječe na fizikalno-kemijske karakteristike plazme te koncentraciju proizvedenih reaktivnih kemijskih vrsta. Vrijednost električne vodljivosti koja nije optimalna ili niska vrijednost električne vodljivosti otopine rezultira smanjenjem učinkovitosti plazma pražnjenja zbog brze kompenzacije

električnog polja prostornog naboja na vrhu izboja, što posljedično uzrokuje nastanak manje reaktivnih vrsta koje utječu na pH vrijednost otopine (Zeghioud i sur., 2020).

Navedeno je vidljivo i kod uzoraka modelnih sustava gdje se može primijetiti promjena u pH vrijednost uzoraka te električnoj vodljivosti otopine. Električna vodljivost (σ) svih uzoraka modelnih otopina je porasla nakon primijenjenih plazma tretmana, dok je pH vrijednost svih uzoraka značajno pala (Tablica 7 i 8). Najveći porast električne vodljivosti je vidljiv u uzorcima nakon plazma tretmana pri naponu 50 kV u kombinaciji sa zrakom i to podjednako vrijednošću, $1363,00 \pm 94,00 \mu\text{Scm}^{-1}$ u uzorcima s početnom pH vrijednošću 7 (Z50A) te $1315,00 \pm 69,00 \mu\text{Scm}^{-1}$ u uzorcima s početnom pH vrijednošću 10 (Z50B). Također je kao i kod pH vrijednosti primjetno kako do manjeg porasta električne vodljivosti dolazi pri plazma tretmanima nižih napona, dok do većeg porasta električne vodljivosti dolazi pri plazma tretmanima viših napona.

Tijekom svih tretmana praćena je i temperatura netretiranih i tretiranih uzoraka. Iako je temperatura u reaktorskoj komori bila održavana tijekom tretmana, u svim uzorcima je primjetan porast temperature između 2 i 5 °C. Tijekom plazma tretmana do porasta temperature otopine dolazi zbog većeg broja faktora, no najveći utjecaj imaju snaga i frekvencija visokonaponskih pulseva. Izravno visokonaponsko električno pražnjenje u vodi dovodi do stvaranja plazma kanala povišene temperature, elektrohidrauličkih kavitacija kao i ultraljubičaste fotolize čijim međudjelovanjem dolazi do zagrijavanja i porasta temperature (Shih i Locke, 2010; Zeghioud i sur., 2020).

Do najmanjeg porasta temperature došlo je u tretmanima napona 30 kV neovisno o primijenjenom plinu, dok je najveći porast temperature vidljiv u uzorcima tretiranim naponom 50 kV neovisno o primijenjenom plinu. Prema Arrheniusovoj jednadžbi porastom temperature se povećavaju konstante brzina reakcija, a u procesima oksidacije je hidroksilni radikal istaknuti agens te povećanjem brzine reakcije isti može brže reagirati s tvarima iz okoline, zbog veće koncentracije agensa od ciljane molekule zagađivača. Sukladno tome povećanje temperature tijekom reakcije uzrokuje smanjenje udio razgradnje (Jiang i sur., 2014; Lukes, 2001). Povećanjem temperature se smanjuje i topljivost ozona u vodi čime se smanjuje i učinkovitost reakcija razgradnje onečišćujućih tvari (Rekhate i Srivastava 2020).

Osim temperature, na razgradnju organskih molekula značajan utjecaj ima nastanak radikalnih vrsta i njihove rekombinacije koje ovise o pH vrijednosti i električnoj vodljivosti otopine. Istraživanja su pokazala kako koncentracija nastalih OH^\cdot , O^\cdot i H^\cdot radikala kao i molekula O_2 ,

H_2 i H_2O_2 opada porastom električne vodljivosti tekućine. Vodikov peroksid nastaje kombinacijom hidroksilnih radikala čiji nastanak ovisi o električnoj vodljivosti otopine. Pri nižoj električnoj vodljivosti otopine, hidroksilni radikali nastaju cijepanjem molekula vode, dok kod veće vodljivosti nastaju reakcijom kisikovog radikala s vodom. Također nastanku i stabilnosti vodikovog peroksida pogoduje niža pH vrijednost otopine (Kumar i sur., 2022). Shih i Locke (2010) u svom radu su istraživali utjecaj primijenjenog napona od 45 kV na koncentraciju nastalih OH radikala i H_2O_2 molekula te zaključili kako porastom vodljivosti iznad $150 \mu Scm^{-1}$ nastanak O^{\cdot} i H^{\cdot} radikala polako počinje slabiti, a porastom vodljivosti iznad $500 \mu Scm^{-1}$ se smanjuje nastanak svih radikala. Takav rezultat su objasnili fizikalnim i kemijskim promjenama u plazma pražnjenju koje nastaju prilikom porasta vodljivosti otopine. Slično su u svom radu zaključili i Thagard i sur. (2009) koji su otkrili da plazma pražnjenje pozitivnog polariteta povećava vodljivost otopine te snažno utječe na koncentraciju nastalih molekula H_2O_2 u tekućini. Pri niskim pH vrijednostima uzoraka (pH oko 3,5), zbog veće snage taloženja u plazmi, povećanjem električne vodljivosti dolazi do povećanja koncentracije nastalog vodikovog peroksida u tekućini, dok pri visokim pH vrijednostima povećanje električne vodljivosti uzrokuje smanjenje koncentracije H_2O_2 u tekućini. Smanjenje koncentracije vodikovog peroksida pripisuju uklanjanju prekursora vodikovog peroksida s hidroksidnim ionima. Kod plazma pražnjenja negativnog polariteta, povećanje električne vodljivosti tekućine uzrokuje smanjenje koncentracije nastalog vodikovog peroksida, bez obzira na pH vrijednost.

Sličan trend smanjenja koncentracije vodikovog peroksida i radikala uslijed porasta električne vodljivosti je vidljiv i iz uzoraka modelnih otopina (Tablica 7 i 8). Kod svih uzoraka neovisno o početnoj pH vrijednosti uzoraka, povećanjem napona tretmana dolazi do povećanja električne vodljivosti te posljedično do minimalnog porasta koncentracije vodikovog peroksida u otopini. Navedeno je vidljivo iz uzoraka Z50A i Z50B s najvišim vrijednostima električne vodljivosti, gdje kod uzorka Z50A električna vodljivost nakon tretmana iznosi $1363,00 \pm 132,94 \mu Scm^{-1}$ te je koncentracija nastalog peroksida nakon tretmana $0,08 \pm 0,05 mgL^{-1}$, dok kod uzorka Z50B električna vodljivost iznosi $1315,00 \pm 97,58 \mu Scm^{-1}$ (Tablica 7 i 8). Kod uzoraka s povećanjem električne vodljivosti do oko $200 \mu Scm^{-1}$ došlo je do povećanja koncentracije vodikovog peroksida od 50 do $120 mgL^{-1}$, dok je pri vrijednostima električne vodljivosti iznad $500 \mu Scm^{-1}$ koncentracija nastalog vodikovog peroksida do $10 mgL^{-1}$. Parametri tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem su imali statistički značajan utjecaj na promjenu koncentracije vodikovog peroksida uzoraka s početnom pH vrijednošću 10 ($p < 0,05$)

(Tablica 10), no nije vidljiv statistički značajan utjecaj na promjenu koncentracije vodikovog peroksida uzoraka s početnom pH vrijednošću 7 ($p > 0,05$) (tablica 9). Također je mjerena i koncentracija nitrita (NO_2^-) i nitrata (NO_3^-) te je najveća koncentracija nastalih spojeva dobivena upuhivanjem zraka u odnosu na dušik i kisik neovisno o početnoj pH vrijednosti uzoraka. Neovisno o primijenjenom plinu najveća koncentracija spojeva nastala je kod tretmana napona 50 kV, razlog tomu je što povećanjem napona dolazi do povećanja predane energije što uzrokuje povećanje razina reakcije i poboljšava prinos produkta kao i učinak tretmana (Wu i sur., 2020). Koncentracija nastalih nitrata u svim uzorcima, neovisno o početnoj pH vrijednosti uzoraka i primijenjenom plinu i naponu, je značajno veća od koncentracije nastalih nitrita. Parametri tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem su imali statistički značajan utjecaj na promjenu koncentracije nitrata uzoraka ($p < 0,05$) (Tablica 9 i 10). Razlog tomu je što se dušik u prisustvu hidroksilnih radikala i H_2O_2 , oksidira u nitrit, no također se uslijed velike koncentracije oksidirajućih vrsta, koje stvara plazma pražnjenje, nitrit odmah oksidira u nitrat (Wu i sur., 2020). Statističkom analizom dobivenih rezultata nije primijećen statistički značajan utjecaj parametara tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na promjenu električne provodljivosti, temperature te promjenu koncentracije nitrita u uzorcima ($p > 0,05$) (tablica 9 i 10).

5.1.2. Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na razgradnju polifenola u modelnoj otopini sastava sličnog OVM-u

Polifenoli su vrlo zastupljena komponenta u biljkama koje karakteriziraju brojna bioaktivna svojstva te vrlo širok spektar korisnih funkcija, no u otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja, zbog svoje vrlo visoke koncentracije, imaju štetan učinak na biljke i životinje. Zbog toga je koncentraciju polifenola u OVM-u potrebno smanjiti tijekom obrade otpadne vode.

Polifenolni sastav modelnih otopina prikazan je u Tablicama 11 i 12 iz kojih je vidljiv pozitivan učinak tretmana plazma pražnjenjem na razgradnju polifenolnih spojeva u modelnoj otopini. Polifenolni sastav netretiranih uzoraka modelnih otopina NTA i NTB se, osim u početnoj pH vrijednosti uzoraka, razlikuju i u koncentracijama polifenola prisutnim u početnim uzorcima. Naime, za korekciju pH vrijednosti početnih otopina je korištena 1 M otopina NaOH. Dodatkom NaOH u otopinu polifenola dolazi do hidrolize oleuropeina na hidroksitirozol i glukozid elenolne kiseline, pojedini spojevi poput rutina se potpuno hidroliziraju, dok tirozol, vanilinska kiselina, kafeinska i p-kumarinska ostaju nepromijenjene (Soler-Rivas i sur., 2000).

Iz navedenog razloga je vidljiva razlika u ukupnoj koncentraciji polifenola u netretiranim, početnim uzorcima modelnih otopina. Nadalje iz dobivenih rezultata vidljivo je kako boljoj razgradnji polifenola pogoduju tretmani napona 50 kV neovisno o primijenjenom plinu, a među plinovima najbolja razgradnja je dobivena upuhivanjem kisika u odnosu na dušik i zrak.

Učinkovitija razgradnja pri višim naponima uzrokovana je povećanom koncentracijom elektrona u mediju, a kako se povećava ulazna snaga, elektroni dobivaju veću količinu energije u električnom polju, povećava se brzina sudara molekula što inducira daljnju ionizaciju molekula kisika i vode te nastajanje ozona, fotona i UV zračenja te velikog broja reaktivnih vrsta (Zeghioud i sur., 2020). Ovisno o plinu koji se upuhuje, prilikom stvaranja plazme, razlikuju se i karakteristike nastalih radikala, kao i kemijske reakcije do kojih dolazi. Disocijacija molekula kisika se događa pri nižem intenzitetu reduciranog električnog polja oko plazma kanala, što zahtjeva manje energije od one potrebne za disocijaciju molekula dušika, a i visoko energetske elektroni prvenstveno reagiraju s kisikom stvarajući aktivne vrste s duljim poluzivotom (Bruggeman i sur., 2016; Kumar i sur., 2022). Stoga je za pretpostaviti da je do bolje razgradnje polifenola kod tretmana s upuhivanjem kisika, u odnosu na dušik i zrak, došlo iz razloga što se tijekom plazma pražnjenja, u kisiku stvara velik broj OH radikala, ali i singletnog kisika, superoksida i ozona koji sudjeluju u kemijskim reakcijama razgradnje (Kumar i sur., 2022; Shen i sur., 2008).

Iz Tablice 11 vidljivo je da uzorci s početnom pH vrijednošću 7 i uzorci kod kojih je tretman plazma pražnjenja kombiniran s upuhivanjem kisika, pokazuju potpunu razgradnju svih polifenolnih spojeva modelne otopine pri naponima 40 i 50 kV, dok je kod uzroka K30A tretmanom postignuto 86,71 % razgradnje hidroksitirosola, 95,30 % razgradnje tirosola, 92,99 % razgradnje vanilinske kiseline te potpuna razgradnja oleuropeina. Zatim po uspješnosti razgradnje četiri ispitivana polifenola, slijedi plazma tretman u kombinaciji sa zrakom, gdje je pri tretmanima 40 i 50 kV došlo do potpune razgradnje hidroksitirosola i oleuropeina dok su tirosol i vanilinska kiselina pri navedenim naponima razgrađeni u rasponu od 91,75 do 97,55 %. Rezultati plazma tretmana uz upuhivanje dušika pokazuju najslabiju razgradnju fenolnih spojeva u odnosu na kombinaciju plazma tretmana s kisikom i zrakom. Razgradnja hidroksitirosola u tretmanima napona 30, 40 i 50 kV u kombinaciji dušikom se kreće između 76,96 i 82,87 %, tirosola između 85,91 i 93,45 %, vanilinske kiseline između 77,31 i 90,99 %, dok je oleuropein u svim uzorcima u potpunosti razgrađen (100 %). Kod uzoraka s početnom pH vrijednošću 10 (Tablica 12) moguće je primijetiti sličan trend razgradnje gdje je plazma tretmanom, uz primjenu kisika, postignuta 100%-tna razgradnja svih praćenih polifenola

neovisno o naponu tretmana. Kod plazma tretmana u kombinaciji sa zrakom, pri naponu 50 kV, postignuta je potpuna razgradnja svih polifenola, dok je tretmanom napona 40 kV postignuta potpuna razgradnja hidroksitirosola i oleuropeina, a tirosol i vanilinska kiselina su razgrađeni 91,43 %, odnosno 97,70 %. Najslabiji rezultati razgradnje su, kao i u skupini A, zabilježeni kod primjene plazma tretmana u kombinaciji s dušikom gdje se za tirosol i vanilinsku kiselinu najbolji pokazao tretman napona 50 kV, za hidroksitirosol tretman napona 30 kV, dok je oleuropein potpuno razgrađen. Primjenom statističke analize dobivenih rezultata nije primijećen statistički značajan utjecaj parametara tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na promjenu koncentracije hidroksitirosola, tirosola, vanilinske kiseline i oleuropeina u uzorcima ($p > 0,05$) (Tablica 13 i 14).

Bolju razgradnju fenola pri višim pH vrijednostima su u svom radu uočili i Chen i suradnici (2004) koji su istraživali razgradnju fenola u vodenim otopinama primjenom visokonaponskog plazma pražnjenja. U svom radu autori navode kako je razgradnja fenola uzrokovana ozonom u kombinaciji s hidroksilnim radikalima koji nastaju razgradnjom vodikovog peroksida nastalog otapanjem ozona u vodi. Isto primjećuju i Wang i suradnici (2019) koji su istraživali razgradnju *p*-metilfenola u vodenoj otopini primjenom visokonaponskog plazma pražnjenja preko izolatorskih pregrada. Ispitali su razgradnju *p*-metilfenola u rasponu pH vrijednosti od 2 do 12 te navode kako povećanjem pH vrijednosti dolazi do porasta razgradnje *p*-metilfenola do 76,8% pri pH 12. Autori navode kako iznad kritične vrijednosti pH, hidroksidni anioni djeluju kao inicijatori ubrzanja razgradnje ozona te nastali ioni i molekule pozitivno djeluju na razgradnju (Wang i sur., 2019). Pri višim pH vrijednostima, zahvaljujući prisutnosti hidroksilnih iona, povećava se razgradnja ozona u hidroksilne i superoksidne radikale koji su puno jači oksidansi od ozona (Zeghioud i sur., 2020). Hidroksilni radikali reagiraju s fenolnim prstenom pa je tako i razgradnja fenola intenzivnija pri višim pH vrijednostima, dok je pri niskim pH vrijednostima nastanak hidroksilnih radikala sporiji te je time i razgradnja fenolnih spojeva slabija.

5.1.3. Određivanje promjena u modelnoj otopini sastava sličnog OVM-u primjenom blisko-infracrvene (NIR) spektroskopije

Bliska-infracrvena (NIR) spektroskopija korištena je za određivanje strukturnih promjena na polifenolima modelnog sustava izazvanih visokonaponskim električnim pražnjenjem. U NIR spektroskopiji, spektar dobivamo na osnovu kombiniranih vrpci osnovnih molekulskih

vibracija (C-H, N-H, O-H, S-H) opaženih u srednjem IR spektralnom području. Kemijske veze vibriraju na određenim frekvencijama, a te su vibracije određene oblikom molekule, masom atoma, krutošću veza i razdobljima pridruženog vibracijskog spreznja. Apsorpcijske vrpce u područjima NIR spektra se mogu koristiti za identifikaciju i kvantifikaciju kemijskih vrsta zbog specifičnih vibracija atoma u molekulama pri ozračivanju NIR frekvencijom (Rouxinol i sur., 2022).

Iz dobivenih NIR spektara (Slika 12) vidljivo je da su vrlo slični u cijelom rasponu mjerenja. Mala razlika u uzorcima je vidljiva u rasponu valnih duljina od 1350 do 1699 nm, što odgovara području prvog i drugog overtona N-H i O-H veza, a također i prvom overtonu C-H veze. Dobiveni spektri zahtijevaju složenu obradu i vrlo često se podacima NIR analize pridružuju analitički podaci te se modeliranjem dolazi do spoznaja o interakciji među uzorcima (Valinger i sur. 2018).

Dobiveni rezultat je u skladu s radom Kima i suradnika (2021) koji su NIR analizom procjenjivali sastav otpadne vode nakon procesa filtriranja i centrifugiranja. U njihovom radu su također među spektrima uzoraka otpadne vode vidljive minimalne razlike, s istaknutim područjem od 1400 do 1699 nm te su provedene dodatne kemometrijske analize kako bi se procijenila uspješnost tretmana.

Kod svih uzoraka uočeni su specifični dijelovi NIR spektra koji mogu ukazivati na razlike među uzorcima te su provedene PCA (analiza glavnih komponenti) i PCR (regresija glavnih komponenti) analiza. Kemometrijske metode, pojednostavljaju multivarijantne podatke u nekoliko dimenzija te se lako razumiju i procjenjuju. Kod PCA analize se uzorci mogu grupirati, što omogućuje lakšu vizualnu procjenu sličnosti i razlika između uzoraka, dok se kod PCR analize izračun glavnih komponenti koristi kao prediktor u linearnom regresijskom modelu (Gajdoš Kljusurić i sur., 2022).

Analiza glavnih komponenti uzoraka modelnog sustava OVM-a prije i nakon plazma obrade prema korištenim plinovima (Slika 13) obuhvaća 88,65 % svih varijacija u promatranom skupu podataka. Iz grafičkog prikaza je vidljiva sličnost između uzoraka tretiranih kisikom, dušikom i zrakom jer su smješteni u 3. i 4. kvadrantu prikaza. Prema PCA analizi uzorci tretirani plinovima dušikom i zrakom su grupirani bliže jedan drugom što ukazuje da su nešto sličniji u odnosu na tretmane kisikom. Uzorci grupe 1 (Z40A, N50B, Z50A, N30B, Z40B, N50A, N30A) te grupe 2 (Z30B, N40A, N40B) upućuju na slične strukturne promjene uzoraka unutar grupa. Grupiranje uzoraka se može primijetiti i na Slici 14 gdje se uzorci tretirani uz primjenu plinova

dušika i zraka grupiraju bliže i na suprotnim stranama prikaza obzirom na y os od uzoraka tretiranih uz primjenu kisika. Analiza glavnih komponenti uzoraka modelnog sustava OVM-a prije i nakon plazma obrade prema pH vrijednosti (Slika 14) obuhvaća 78,29 % varijanci u promatranom skupu. Iz Slike 14 vidljiva je jasna razlika između uzoraka početne pH vrijednosti 10, koji su se smjestili u 1. i 2. kvadrant u odnosu na uzorke početne pH vrijednosti 7, koji se nalaze u 3. i 4. kvadrantu. Također, vidljiva je i razlika između netretiranih i tretiranih uzoraka koji se nalaze na suprotnim stranama grafičkog prikaza obzirom na y os što upućuje na to da je u svim uzorcima došlo do promjena u fizikalno-kemijskim karakteristikama tretiranih uzoraka uz najznačajnije promjene kod uzoraka Z50A i Z50B jer su smješteni najdalje u odnosu na netretirane uzorke NTA i NTB. Regresijom glavnih komponenti prema razgradnji (Slika 15) je prikazano predviđanje razgradnje polifenola u modelnim otopinama. Rezultati regresijskog modela su na grafičkom prikazu poredani linearno po pravcu te su dobiveni s R vrijednostima većim od 0,97 što prikazuje dobar potencijal za daljnja ispitivanja primjene visokonaponskog električnog plazma pražnjenja na razgradnju OVM-a.

5.2 UTJECAJ TRETMANA VISOKONAPONSKOG ELEKTRIČNOG PLAZMA PRAŽNJENJA NA SVOJSTVA OVM-a

5.2.1 Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na fizikalno kemijske karakteristike OVM-a

Tablicom 15 su prikazane fizikalno-kemijske karakteristike realnog sustava otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja tretiranih prema Box-Behnken dizajnu eksperimenta. Iz dobivenih rezultata je vidljivo kako nema značajne promjene u pH vrijednosti prije i nakon plazma tretmana. Promjene u pH vrijednosti s obzirom na netretirani uzorak se smanjuju u rasponu od 0,11 do 1,06 jedinica. Također se niti kod električne vodljivosti prije i nakon tretmana ne uočavaju značajne razlike među tretmanima, unatoč razlikama u temperaturi uzoraka prije i nakon tretmana. Iako je reaktorska komora tijekom tretmana hladena, u svim uzorcima je primjetan porast temperature, s time da su veći porasti temperature primjetni kod tretmana naponom 50 kV (uzorci 4, 6, 8) ili kod uzoraka tretiranih u trajanju 30 minuta (uzorci 3, 12). Porast temperature prilikom visokonaponskog pražnjenja ovisi o brojnim čimbenicima: dovedenoj snazi, smjesi plinova, energetske gustoći, vremenu zadržavanja te tipu reaktora (Parvulescu i sur., 2012). Obzirom na upuhivane plinove tijekom plazma tretmana, kisik, dušik

i zrak, vidljiva je razlika u zasićenosti uzoraka kisikom prije i nakon plazma tretmana. Osobito značajan porast udjela zasićenosti kisikom više od 190 % je vidljiv u uzorcima tretiranim uz upuhivanje kisika (uzorci 1, 2, 3, 4 te 13-17). Nešto slabija zasićenost kisikom oko 55 % je vidljiva u uzorcima sa zrakom (uzorci 7, 8, 11 i 12), dok je najmanja zasićenost kisikom od oko 15 do 20 % primjetna kod tretmana s dušikom (uzorci 5, 6, 9 i 10). Statističkom analizom dobivenih rezultata je primijećen statistički značajan utjecaj svih pojedinačnih parametara tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem (napona, vremena tretmana i korištenog plina) na promjenu pH vrijednosti, zasićenosti kisikom i temperature uzoraka ($p < 0,05$) te statistički značajan utjecaj primijenjenog plina na električnu vodljivost uzoraka ($p < 0,05$) (Tablica 16). Također je primijećen statistički značajan utjecaj kombinacije parametara napona i vremena tretmana na promjenu temperature uzoraka ($p < 0,05$), kombinacije parametara napona i primijenjenog plina tijekom tretmana na promjenu pH vrijednosti, temperature i električne vodljivosti uzoraka ($p < 0,05$) te kombinacije primijenjenog plina i vremena tretmana na promjenu pH vrijednosti i električne vodljivosti uzoraka ($p < 0,05$) (Tablica 16). Iz dobivenih rezultata je ispitana i statistička povezanost između varijabli te njihov regresijski koeficijent (Tablica 18).

Budući da viša vodljivost tekućina kod plazma pražnjenja rezultira jačom strujom pražnjenja, intenzivnijim UV zračenjem i višom temperaturom plazme, djelovanje tih efekata dovodi do niže stope stvaranja aktivnih vrsta, što nije pogodno za obradu otpadnih voda (Jiang i sur, 2004). Ta pojava objašnjava niže vrijednosti koncentracija nastalih molekula vodikovog peroksida, nitrata, nitrita i fosfata (Tablica 15) u odnosu na tretmane provedene na modelnim otopinama (Tablica 7 i 8). Obzirom na modelne otopine električna vodljivost uzoraka otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja je značajno veća (između $2721,12 \mu\text{Scm}^{-1}$ i $2965,50 \mu\text{Scm}^{-1}$) te su stoga jasne značajno niže koncentracije vodikovog peroksida nakon plazma tretmana. Naime koncentracije vodikovog peroksida u OVM-u nakon tretmana se kreću u rasponu od $1,01$ do $16,19 \text{mgL}^{-1}$, s višim vrijednostima kod tretmana u kombinaciji s kisikom (uzorci 3, 4, 12-17), a nižim vrijednostima kod tretmana u kombinaciji s dušikom (uzorci 1, 5 i 9). Koncentracije nitrata i nitrita u uzorcima OVM-a nakon tretmana u kombinaciji s dušikom i zrakom (uzorci 6, 8, 10, 12) su više nego u uzorcima 2, 4, 13 i 16 nakon tretmana s kisikom, te su dobivene vrijednosti značajno veće od dobivenih vrijednosti nitrata i nitrita većine uzoraka modelnog sustava. Osim visokih vrijednosti nitrita i nitrata analiza otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja prije i nakon plazma tretmana je pokazala i visoke koncentracije fosfata, ukupnog dušika i ukupnog fosfata u uzorcima, dok je koncentracija amonijaka vrlo

niska te je u gotovo svim uzorcima i potpuno uklonjen (Tablica 15). Vrijednosti nitrita, nitrata, fosfata, ukupnog dušika i fosfora su porasle nakon plazma tretmana no i početne vrijednosti netretiranog uzorka su bile vrlo visoke. Vrijednosti fosfata su u uzorcima prisutne u koncentracijama između $4,36 \text{ mgL}^{-1}$ i $6,31 \text{ mgL}^{-1}$ uz odstupanje koncentracije uzorka broj 10 ($3,68 \text{ mgL}^{-1}$) i uzorka broj 12 ($8,22 \text{ mgL}^{-1}$). Vrijednosti koncentracije ukupnog fosfora svih uzoraka su u vrijednostima između $1,22 \text{ mgL}^{-1}$ i $2,69 \text{ mgL}^{-1}$, dok su vrijednosti koncentracija ukupnog dušika između $18,17 \text{ mgL}^{-1}$ i $28,97 \text{ mgL}^{-1}$ u svim uzorcima iako su najviše vrijednosti ukupnog dušika primjetne kod tretmana napona 40 i 50 kV u kombinaciji sa zrakom u trajanju 20 i 30 minuta (uzorci 8 i 12). Vrijednosti nitrita, nitrata, fosfata, ukupnog dušika, fosfora, kalija i ukupnih fenola se u otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja razlikuju ovisno o godini proizvodnje, zrelosti plodova te količini korištenog gnojiva za biljku iz kojeg se anorganske tvari prvo nakupljaju u plodu masline te zatim u procesu proizvodnje maslinovog ulja prelaze u otpadnu vodu (Ntougias i sur., 2013).

Statističkom analizom dobivenih rezultata je primijećen statistički značajan utjecaj svih pojedinačnih parametara tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem (napona, vremena tretmana i korištenog plina) na promjenu koncentracije vodikovog peroksida, nitrita, nitrata, amonijaka te ukupnog dušika i fosfora u uzorcima ($p < 0,05$) te statistički značajan utjecaj primijenjenog vremena tretmana na koncentraciju fosfata u uzorcima ($p < 0,05$) (Tablica 17). Također je primijećen statistički značajan utjecaj kombinacije parametara napona i vremena tretmana na promjenu koncentracije vodikovog peroksida, nitrita, amonijaka, fosfata te ukupnog dušika i fosfora u uzorcima ($p < 0,05$), kombinacije parametara napona i primijenjenog plina tijekom tretmana na promjenu koncentracije nitrata, amonijaka, fosfata te ukupnog fosfora u uzorcima ($p < 0,05$) te kombinacije primijenjenog plina i vremena tretmana na promjenu koncentracije nitrita, nitrata, amonijaka, fosfata te ukupnog dušika i fosfora u uzorcima ($p < 0,05$) (Tablica 17). Iz dobivenih rezultata je utvrđena i statistička povezanost između varijabli te njihov regresijski koeficijent (Tablica 18 i 19).

5.2.2 Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na razgradnju polifenola OVM-a

U Tablici 20 prikazan je polifenolni sastav otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja prije i nakon tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem. Iz dobivenih rezultata je vidljiva razgradnja hidroksitirosole u svim uzorcima nakon visokonaponskog

plazma tretmana. Tretman napona 50 kV u trajanju 30 minuta uz upuhivanje kisika (uzorak 4) je djelovao najbolje na razgradnju hidroksitirosola 57,72 %. Nasuprot tome najmanja razgradnja hidroksitirosola 14,14 % je bila pri tretmanu napona 40 kV u trajanju 10 minuta uz upuhivanje dušika (uzorak 9).

Među rezultatima analize može se primijetiti kako je došlo do povećanja koncentracije tirosola u većini uzoraka nakon plazma tretmana. Iznimka su uzorci 5, 7, i 10 u kojima je kombiniran tretman napona 30 kV u trajanju 20 minuta uz dušik i zrak te 40 kV u trajanju 30 min uz dušik. Najveća razgradnja tirosola (26,71 %) je postignuta u uzorku 10, dok je najveće povećanje koncentracije tirosola 28,61 % zabilježeno u uzorku 4.

U većini uzoraka postignuta je razgradnja vanilinske kiseline i to najučinkovitije (61,20 %) u uzorku 2 tretiranom 10 minuta na 50 kV uz primjenu kisika, dok je najveći porast koncentracije vanilinske kiseline 114,59 % u uzorku 8 tretiranom 20 minuta na 50 kV uz upuhivanje zraka.

Iz rezultata određivanja koncentracije oleuropeina u uzorcima, također je većinom primjetna razgradnja uz najbolji rezultat i potpunu razgradnju (100 %) u uzorku 4 pri tretmanu u trajanju 30 min, naponu 50 kV uz upuhivanje kisika, dok je najveći porast koncentracije od 1,26 % nakon tretmana vidljiv u uzorku 2, tretman u trajanju 10 minuta na naponu 50 kV uz upuhivanje kisika. Gledajući ukupnu razgradnju polifenola u uzorku najbolji učinak razgradnje 35,74 % vidljiv je nakon tretmana u trajanju 30 minuta pri naponu 50 kV uz upuhivanje kisika, uzorak 4, dok je najlošija razgradnja ukupnih fenola 2,06 % vidljiva nakon tretmana u trajanju 10 minuta uz napon 40 kV i upuhivanje dušika, uzorak 9.

Glavni razlog povećanja koncentracije se može naći u razgradnim produktima oleuropeina, hidroksitirosola i tirosola te drugih neidentificiranih polifenola koji se pregrađuju u sekoroide, alglikone i druge modifikacije polifenola (Lombardo i sur., 2018; Rahmanian i sur., 2013). No dobiveni rezultati s najboljom razgradnjom polifenola uz primjenu kisika su u skladu s podacima rada Jiang i suradnika (2014), koji navode kako se bolja razgradnja organskih spojeva postiže primjenom kisika nego dušika. Također isto u svom radu primjećuju Selçuk Kuşçu i Eke (2020) koji navode kako učinak tretmana razgradnje fenola ovisi o vremenu trajanja tretmana te korištenom plinu, a navode kako korištenje kisika ili zraka kao plina tijekom pulsno visokonaponskog pražnjenja pospješuje razgradnju. U istraživanju su tretmanom pulsno visokonaponskim pražnjenjem u trajanju 60 minuta početnu koncentraciju fenola reducirali za 76 % primjenom kisika, a 68 % primjenom zraka, dok je tretman kisikom na

otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja pokazao 8 % bolju razgradnju polifenola u odnosu na tretman zrakom.

Statističkom analizom dobivenih rezultata je primijećen statistički značajan utjecaj svih pojedinačnih parametara tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem (napona, vremena tretmana i korištenog plina) na promjenu koncentracije hidroksitirosola, tirosola i vanilinske kiseline u uzorcima ($p < 0,05$) te statistički značajan utjecaj primijenjenog plina na koncentraciju oleuropeina u uzorcima ($p < 0,05$) (Tablica 21). Također je primijećen statistički značajan utjecaj kombinacije parametara napona i vremena tretmana na promjenu koncentracije hidroksitirosola, tirosola i oleuropeina u uzorcima ($p < 0,05$), kombinacije parametara napona i primijenjenog plina tijekom tretmana na promjenu koncentracije hidroksitirosola, tirosola i vanilinske kiseline u uzorcima ($p < 0,05$) te kombinacije primijenjenog plina i vremena tretmana na promjenu koncentracije hidroksitirosola, tirosola i vanilinske kiseline u uzorcima ($p < 0,05$) (Tablica 21).

Rezultati dobiveni HPLC analizom (Tablica 20) u skladu su s rezultatima mjerenja ukupnih fenolnih spojeva Folin-Ciocalteuom (FC) metodom (Slika 16) gdje je najveće smanjenje ukupnih fenola 38,48 % vidljivo u uzorku 4, nakon tretmana u trajanju 30 min pri naponu 50 kV uz primjenu kisika, a najmanje smanjenje je vidljivo nakon tretmana 10 minuta pri naponu 40 kV uz primjenu dušika (uzorak 9). Razlika u koncentracijama polifenola mjerenim ovim dvjema metodama može se objasniti FC metodom koja daje vrijednost prisutnih fenola najčešće u obliku ekvivalenta galne kiseline, a osim toga FC metoda često interferira s prisutnim redukcijskim sredstvima te može dati pogrešan rezultat (Genethliou i sur., 2020).

5.2.3 Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na vrijednosti kemijske potrošnje kisika i ukupnog organskog ugljika u OVM-u

Uspješnost visokonaponskog električnog plazma tretmana se može procijeniti i vrijednostima kemijske potrošnje kisika (KPK) i ukupnog organskog ugljika (TOC). Kako je vidljivo iz Tablice 22 u svim uzorcima je primjetno smanjenje KPK i TOC vrijednosti u odnosu na početni uzorak prije plazma tretmana. Najveće smanjenje KPK vrijednosti za 70,19 % na vrijednost $1348,50 \pm 8,26 \text{ mgO}_2\text{L}^{-1}$ postignuto je tretmanom zrakom u trajanju 30 minuta uz tretman napona 40 kV (uzorak 12). Najučinkovitijim tretmanom po smanjenju vrijednosti TOC-a za 42,87 % na vrijednost $4006,50 \pm 3,54 \text{ mgL}^{-1}$ (uzorak 11) se pokazao tretman zrakom uz napon

40 kV u trajanju 10 minuta, dok je vrijednost KPK u istom uzorku pri tim uvjetima smanjena za 16,07 % što je ujedno najmanja vrijednost smanjenja KPK vrijednosti među svim uzorcima. Najmanje učinkovitim tretmanom za smanjenje vrijednosti TOC-a se pokazao tretman zrakom pri naponu 50 kV u trajanju 20 minuta (uzorak 8) pri čemu je postignuto 4,85 %-tno smanjenje početne vrijednosti TOC-a.

Statističkom analizom dobivenih rezultata je primijećen statistički značajan utjecaj svih pojedinačnih parametara tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem (napona, vremena tretmana i korištenog plina) na smanjenje vrijednosti KPK u uzorcima ($p < 0,05$), statistički značajan utjecaj primijenjenog napona na koncentracije ukupnih fenola te smanjenje vrijednosti TOC-a u uzorcima ($p < 0,05$) (Tablica 23). Također je primijećen statistički značajan utjecaj kombinacije parametara napona i vremena tretmana, primijenjenog plina i vremena tretmana na promjenu koncentracije ukupnih fenola i smanjenje vrijednosti KPK i TOC-a u uzorcima ($p < 0,05$). Primijećen je i statistički značajan utjecaj kombinacije parametara napona i primijenjenog plina tijekom tretmana na promjenu koncentracije ukupnih fenola i smanjenje vrijednosti TOC-a u uzorcima ($p < 0,05$) (Tablica 23).

Visoke vrijednosti razgradnje i uklanjanja KPK i TOC mogu biti potaknute prisutnošću iona željeza i mangana (Slika 17) koji sudjeluju u Fentonovoj reakciji razgradnje organskih spojeva. Fentonov proces se temelji na reakciji iona željeza s vodikovim peroksidom u kiselom mediju pri čemu dolazi do katalitičke razgradnje vodikovog peroksida i nastanka hidroksilnog radikala koji stupa u reakciju s organskim molekulama (Tufaner, 2019). S ciljem proširenja radnog pH raspona djelovanja Fentonove reakcije posljednjih godina se istražuje heterogena kataliza i dodavanje kelirajućih liganada. Jedna od istraživanih metoda je dodavanje redoks-aktivnih metala kao što je mangan, koji je posebno zanimljiv jer je prirodno prisutan u vodama, netoksičan te se pojavljuje u nekoliko redoks stanja koja se međusobno mogu pretvarati u prisutstvu peroksida i reaktivnih kisikovih vrsta (Rekhate i Srivastava, 2020; Yang i sur., 2022). Prisutnost Mn u reakcijama dovodi do nastanka $\text{HO}_2^\cdot/\text{O}_2^{\cdot-}$ radikala koji pridonose redukciji Fe(III). Također dodatak Mn(II) ubrzava Fentonovu reakciju te zahtjeva manji utrošak vodikovog peroksida i iona željeza za postizanje podjednakog stupnja razgradnje kao obična Fentonova reakcija (Yang i sur., 2022). Prednosti prisutnosti mangana i željeza u OVM-u su vidljivi iz dobivenih rezultata osobito u uzorcima 4 i 6 tretiranih pri 50 kV uz upuhivanje kisika i dušika, kod kojih se može primijetiti veće smanjenje udjela mangana uz manje smanjenje udjela željeza te veću koncentraciju vodikovog peroksida u uzorku nakon tretmana u odnosu na netretirani uzorak.

Prisutnost iona željeza i Fentonova reakcija tijekom razgradnje organskih spojeva poboljšava učinak razgradnje KPK do 60 % (Selçuk Kuscı i Eke, 2015). U svom radu isto navode Ivanov i suradnici (2021) koji primjećuju trend rasta razgradnje KPK za više od 40 % primjenom Fentonovog procesa prilikom visokonaponske plazma obrade otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja.

Niske koncentracije vodikovog peroksida mogu biti ograničavajući čimbenik Fentonove reakcije ukoliko je prisutan u preniskoj koncentraciji, što objašnjava niske vrijednosti razgradnje i uklanjanja TOC-a i KPK te slabu oksidaciju i mineralizaciju (Vuppala i sur., 2022). Niska pH vrijednost otpadne vode je također jedan od limitirajućih faktora razgradnje i uklanjanja KPK i TOC-a. Naime pri niskoj pH vrijednosti otopine dolazi do selektivne razgradnje molekule ozona te ozon može lako oksidirati molekule sklone elektrofilnim napadima, no dovodi do stvaranja visoke koncentracije među spojeva koji se zbog niske elektronske gustoće ne mogu dalje oksidirati ozonom (Domingues i sur., 2022). Također primijećeno je kako viša pH vrijednost otopine pogoduje boljoj razgradnji TOC-a tijekom visokonaponskog električnog plazma pražnjenja dok alkalni uvjeti pogoduju boljoj razgradnji onečišćujućih tvari (Wang i sur., 2019). U reakcijama ozoniziranja pri niskim pH vrijednostima dolazi do niskog uklanjanja KPK oko 17 % te se s ciljem povećanja razgradnje kombinira s dodatkom metalnih iona ili drugim procesima koji potiču nastajanje hidroksilnih radikala i razgradnju organskih onečišćivača (Domingues i sur., 2022; Rekhate i Srivastava, 2020).

U svom istraživanju djelovanja pulsirajućeg visokonaponskog električnog pražnjenja kojem prethodi kiselinško krekiranje Selçuk Kuscı i Eke (2020) primjećuju kako je veće smanjenje KPK vrijednosti nakon 60 minuta tretmana u kombinaciji sa zrakom 74,41 %, dok isti tretman u kombinaciji s kisikom ima učinak od 68 % smanjenja vrijednosti KPK. Za isti uzorak TOC vrijednost se nakon 60 minuta tretmana u kombinaciji s kisikom smanjila za 61 %, dok je sa zrakom tretman imao učinkovitost u smanjenju vrijednosti TOC-a od 52 %. Navedeno je u skladu s dobivenim rezultatima (Tablica 22) jer se najučinkovitijim tretmanom za uklanjanje KPK također pokazao tretman u kombinaciji sa zrakom te je podjednaka razgradnja postignuta u upola kraćem vremenu u odnosu na istraživanje Selçuk Kuscı i Eke.

5.2.4 Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na promjenu boje OVM-a

Tablicom 24 prikazani su parametri boje L^* , a^* i b^* netretiranog i tretiranih uzoraka te je iz dobivenih rezultata vidljivo kako svi uzorci imaju visoku svjetlinu koja se iščitava iz visoke vrijednost parametra L^* i zeleno žutu boju iskazanu negativnom vrijednošću parametra a^* te pozitivnom vrijednošću parametra b^* . Najsvjetliji uzorak nakon visokonaponskog električnog plazma tretmana je uzorak 11 tretiran visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem pri naponu 40 kV u trajanju 10 minuta uz primjenu zraka, dok se najtamnijim pokazao uzorak 1 tretiran pri naponu 30 kV u trajanju 10 minuta uz primjenu kisika. U svim uzorcima tretiranim u kombinaciji s kisikom uočeno je smanjenje parametra a^* , dok je u svim uzorcima tretiranim u kombinaciji sa zrakom primjetan porast parametra a^* bez obzira na primijenjeni napon i dužinu tretiranja. U odnosu na netretirani uzorak, u svim uzorcima tretiranim u kombinaciji s kisikom došlo je do smanjenja intenziteta zelene boje, dok je u uzorcima tretiranim u kombinaciji sa zrakom došlo do povećanja intenziteta zelene boje. Također, u svim tretiranim uzorcima je došlo do povećanja vrijednosti parametra b^* , što znači da je došlo do povećanja intenziteta žute boje u uzorcima. Iz dobivenih rezultata se može iščitati kako je u uzorcima došlo do smanjenja intenziteta obojenja te su uzrci postali svjetliji. Uzrok smanjenja boje uzoraka može se pronaći u oksidacijskim procesima iniciranim visokonaponskim plazma pražnjenjem u kojima nastaju dugoživeće kemijski aktivne vrste koje učinkovito sudjeluju u reakcijama s ciljanim molekulama (Crema i sur., 2020).

Parametar ΔE najbolje izražava promjenu boje između netretiranog i tretiranih uzoraka, jer se izračunava uzimajući u obzir parametre L^* , a^* i b^* . Prema Cserhalmi i sur. (2006) promjena boje je „nezamjetljiva“ ukoliko je $0 < \Delta E < 0,5$, „jedva zamjetljiva“ za $0,5 < \Delta E < 1,5$, „zamjetljiva“ za $1,5 < \Delta E < 3$, „jasno vidljiva“ za $3 < \Delta E < 6$ i „velika“ za $6 < \Delta E < 12$. U svim uzorcima nakon tretmana je uočljiva velika promjena boje ($\Delta E > 7$) (Slika 18).

Statističkom analizom dobivenih rezultata je primijećen statistički značajan utjecaj svih pojedinačnih parametara tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem (napona, vremena tretmana i korištenog plina) na promjenu a^* i b^* vrijednosti uzoraka ($p < 0,05$) te statistički značajan utjecaj primijenjenog napona i plina na promjenu L^* vrijednosti uzoraka ($p < 0,05$) (Tablica 25). Također je primijećen statistički značajan utjecaj kombinacije parametara napona i vremena tretmana te primijenjenog plina i vremena tretmana na promjenu

a* i b* vrijednosti uzoraka ($p < 0,05$), kao i kombinacije parametara napona i primijenjenog plina tijekom tretmana na promjenu L*, a* i b* vrijednosti uzoraka ($p < 0,05$) (Tablica 25).

5.2.5 Utjecaj tretmana visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na antioksidacijsku aktivnost OVM-a

Iz Slike 19 je vidljiva redukcija DPPH radikala u svim netretiranim i tretiranim uzorcima otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja. Postotak antioksidacijske aktivnosti odgovara količini antioksidansa uzorka u odnosu na kontrolni uzorak. Iz rezultata je primjetno smanjenje antioksidacijske aktivnosti u svim uzorcima nakon visokonaponskog električnog plazma tretmana i to u rasponu između 7 i 65 %. Najmanje smanjenje antioksidacijske aktivnosti (7,33 %) u odnosu na netretirani uzorak je primjetno u uzorku 9 tretiranom u trajanju 10 minuta, pri naponu 40 kV uz primjenu dušika, dok je najveće smanjenje od 65,24 % u odnosu na netretirani uzorak vidljivo kod uzorka 12 tretiranog primjenom zraka pri naponu 40 kV u trajanju 30 minuta. Razlog tome se može pronaći u koncentraciji polifenola u uzorcima nakon visokonaponskog električnog plazma tretmana, jer je poznato kako otpadna voda iz procesa proizvodnje maslinova ulja pokazuje vrlo visoku antioksidacijsku aktivnost zahvaljujući visokom udjelu polifenola koje sadrži, a koji su poznati kao hvatači slobodnih radikala (El Moudden i sur., 2022). Tako iz rezultata antioksidacijske aktivnosti (Slika 19) i polifenolnog sastava uzoraka OVM-a (Tablica 20) može se primijetiti kako uzorak 9 s najmanjim smanjenjem antioksidacijske aktivnosti ima najmanju promjenu polifenolnog sastava nakon tretmana. Uzorak 12 s najmanjom antioksidacijskom aktivnost pokazuje razgradnju polifenola osobito hidroksitirosole. Također je kod uzoraka 4, 6 i 8 primjetno smanjenje antioksidacijske aktivnosti za više od 50 % te je u tim uzorcima vidljiva i razgradnja polifenola osobito hidroksitirosole, a zajedničko tim uzorcima je što su tretirani pri naponu 50 kV. Na Slici 19 se može primijetiti kako je veće smanjenje koncentracije antioksidanasa u uzorcima tretiranim kisikom i zrakom u odnosu na tretmane uz primjenu dušika, neovisno o primijenjenom naponu i dužini tretmana. Nastankom veće količine radikala kod primjene plazma pražnjenja u kisiku i zraku dolazi do jače oksidacije u odnosu na visokonaponski plazma tretmana uz primjenu plina dušika (Bruggeman i sur., 2016).

5.2.6 Određivanje promjena u OVM-u primjenom blisko-infracrvene (NIR) spektroskopije

Prije i nakon tretmana visokonaponskim električnim pražnjenjem uzorci otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja analizirani su NIR spektroskopijom kako bi se utvrdile strukturne promjene na polifenolima otpadne vode. Kao rezultat preklapanja overtona i vibracijskih kombinacija istezanja, savijanja i titiranja intramolekularnih O-H veza, Apsorpcijske vrpce karakteristične za vodu se javljaju u širokom rasponu od 1300 nm do 1600 nm te od 1900 nm do 2200 nm, a također su osjetljive i na promjene u intermolekularnim vodikovim vezama (Gowen i sur., 2015).

Kod uzoraka OVM-a zabilježene su značajne razlike u NIR spektrima (Slika 20) u rasponu valnih duljina od 1350 do 1699 nm koje odgovaraju području prvog overtona C-H veze te prvog i drugog overtona N-H i O-H veza, što jesu veze i grupe karakteristične za antioksidanse i fenolne spojeve (Herceg i sur., 2016). Značajne razlike u NIR spektrima upućuju na strukturne promjene na polifenolnim spojevima OVM-a osobito kod uzoraka 6 i 14.

Kod svih uzoraka su NIR spektri podvrgnuti predprocesiranju, kako bi se utvrdio potencijalni otisak na molekularnoj razini, a koji se može povezati s polifenolima u uzorcima.

Nakon umekšavanja i druge derivacije prema Savitzky–Golay filteru, u spektrima su se izdvojile sljedeće valne duljine: 935 nm, 954 nm, 998 nm, 1337 nm, 1343 nm, 1375 nm, 1381 nm, 1387 nm, 1400 nm, 1406 nm, 1662 nm, 1668 nm te 1687 nm (Slika 21). Navedeni trend ogovara područjima karakterističnima za polifenolne spojeve koja su izdvojena u radovima (Bursać Kovačević i sur., 2016; Herceg i sur., 2016).

Analizom glavnih komponenti uzoraka OVM-a prema fizikalno-kemijskim karakteristikama (Slika 22) obuhvaćeno je 60,79% varijanci u promatranom skupu. Iz grafičkog prikaza vidljivo je izdvajanje netretiranog uzorka od svih tretiranih uzoraka što upućuje na fizikalno-kemijske te strukturne promjene na polifenolima. Uzorci 2, 4, 13-17 grupirani u 2. kvadrantu grafičkog prikaza pokazuju zajedničko svojstvo visoke zasićenosti kisikom nakon tretmana. Uzorci 1, 5 i 9, grupirani u 3. kvadrantu upućuju na nešto manju razliku u odnosu na netretirani uzorak jer se i netretirani uzorak pojavljuje u 3. kvadrantu. Također, navedeni uzorci se u 3. kvadrantu grupiraju prema pH vrijednosti i ukupnoj koncentraciji fenola koja je nešto viša u odnosu na druge uzorke što ukazuje na vrlo male strukturne promjene u uzorcima 1, 5 i 9. Uzorci 3, 4 i 12 pokazuju najveće strukturne promjene u odnosu na netretirani uzorak jer se nalaze najudaljenije

od netretiranog uzorka. Obzirom na boju uzoraka, iz analize glavnih komponenti (Slika 23) se može iščitati kako je najveća promjena u boji uzoraka nakon visokonaponskog električnog plazma tretmana vidljiva kod uzoraka 6, 8 i 12. Navedeni uzorci se na grafičkom prikazu nalaze najudaljeniji od netretiranog uzorka te se prema njihovom položaju može zaključiti kako su svjetliji od netretiranog uzorka i kako je u njima nakon tretmana došlo do pojačanja intenziteta žute boje.

6. ZAKLJUČCI

Nakon provedene prve faze ispitivanja utjecaja visokonaponskog električnog plazma pražnjenja na modelnu otopinu sastava sličnog otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje maslinova ulja, iz dobivenih rezultata se može zaključiti:

- Nakon provedenog tretmana dolazi do značajnih promjena u fizikalno-kemijskom sastavu modelne otopine, odnosno smanjenja pH vrijednosti i povećanja električne vodljivosti tretiranih otopina te povećanja koncentracije vodikovog peroksida, nitrata i nitrita ovisno o primijenjenom plinu tijekom tretmana.
- Najveći utjecaj na razgradnju polifenolnih spojeva je imao tretman napona 50 kV u trajanju 30 minuta u kombinaciji s kisikom pri čemu je postignuta potpuna razgradnja svih polifenolnih spojeva u modelnoj otopini.
- Regresijom glavnih komponenti (PCR analizom) dobiveni su linearni modeli koji pokazuju potencijal za primjenu provedenog istraživanja na realni sustav otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinova ulja (OVM).

U drugoj fazi istraživanja provedeni su tretmani visokonaponskim električnim plazma pražnjenjem na OVM-u te se iz dobivenih rezultata može zaključiti:

- Značajne promjene u pH vrijednosti i električnoj vodljivosti OVM-a nisu zabilježene, dok zasićenost uzoraka kisikom ovisi o primijenjenom plinu tijekom tretmana.
- Značajno povećanje koncentracije nastalih radikala nije zabilježeno, a njihove koncentracije ovisile su o primijenjenom plinu tijekom tretmana.
- U svim uzorcima OVM-a zabilježena je razgradnja hidroksitirosola, no u pojedinim uzorcima je primjetno i povećanje koncentracije polifenola: tirosola, vanilinske kiseline te oleuropeina.
- Najveći utjecaj na razgradnju ukupnih polifenola je imao tretman napona 50 kV u trajanju 30 minuta uz primjenu kisika.
- Najznačajnije smanjenje KPK vrijednosti postignuto je tretmanom napona 40 kV u trajanju 30 minuta uz primjenu zraka, dok je na smanjenje TOC-a najviše utjecao tretman napona 40 kV u trajanju 10 minuta uz primjenu zraka.
- Plazma tretman ima pozitivan učinak na promjenu boje te je u svim uzorcima došlo do posvjetljenja uzoraka, a najveća promjena je dobivena tretmanom napona 40 kV u trajanju 30 minuta uz primjenu zraka.

- U svim uzorcima je došlo do smanjenja antioksidacijske aktivnosti sukladno razgradnji polifenolnih spojeva.

7. LITERATURA

Abu-Lafi, S., Al-Natsheh, M.S., Yaghmoor, R., Al-Rimaw, F. (2017) Enrichment of phenolic compounds from olive mill wastewater and in vitro evaluation of their antimicrobial activities. *Evid-Based. Compl. Alt.* 3706915

Akter, S., Suhan, Md B. K., Islam, Md S. (2022) Recent advances and perspective of electrocoagulation in the treatment of wastewater: a review. *Environ. Nanotechnol. Monit. Manag.* **17**, 100643

Al-Hmoud, L., Al-Saida, B., Sandouqa, A. (2020) Olive mill wastewater treatment: A recent review. *Jordanian Journal of Engineering and Chemical Industries.* **3**, 91-106.

Alagna, F., Geu-Flores, F., Kries, H., Panara, F., Baldoni, L., O'Connor, S.E., Osbourn A. (2016) Identification and characterization of the iridoid synthase involved in oleuropein biosynthesis in olive (*Olea europaea*) fruits. *J. Biol. Chem.* **291**, 5542-5554.

Bahuguna, A., Singh, S.K., Bahuguna, A., Sharma, S., Dadarwal, B.K. (2021) Physical method of wastewater treatment-A review. *JREES* **7**, 29-36.

Bogaerts, A., Neyts, E., Gijbels, R., van der Mullen, J. (2002) Gas discharge plasmas and their applications. *Spectrochim Acta Part B.* **57**, 609-658.

Braithwaite, N.S.J. (2000) Introduction to gas discharges. *Plasma Sources Sci. Technol.* **9**, 517-527.

Bruggeman, P.J., Kushner, M.J., Locke, B.R., Gardeniers, J.G.E., Graham, W.G., Graves, D.B., Hofman-Caris, R.C.H.M., Maric, D., Reid, J.P., Ceriani, E., Fernandez Rivas, D., Foster, J. E., Garrick, S.C., Gorbanev, Y., Hamaguchi, S., Iza, F., Jablonowski, H., Klimova, E., Kolb, J., Krcma, F., Lukes, P., Machala, Z., Marinov, I., Mariotti, D., Mededovic Thagard, S., Minakata, D., Neyts, E., Pawlat, J., Petrovic, Z.Lj., Pflieger, R., Reuter, S., Schram, D.C., Schröter, S., Shiraiwa, M., Tarabová, B., Tsai, P.A., Verlet, J.R.R., von Woedtke, T., Wilson, K.R., Yasui, K., Zvereva, G. (2016) Plasma-liquid interactions: a review and roadmap. *Plasma Sources Sci. Technol.* **25**, 053002

Bursać Kovačević, D., Gajdoš Kljusurić, J., Putnik, P., Vukušić, T., Herceg, Z., Dragović-Uzelac, V. (2016) Stability of polyphenols in chokeberry juice treated with gas phase plasma *Food Chem.* **212**, 323-331.

Chen, Y.-S., Zhang, X.-S., Dai, Y.-C., Yuan, W.-K. (2004) Pulsed high-voltage discharge plasma for degradation of phenol in aqueous solution, *Sep. Purif. Technol.* **34**, 5-12.

Chraibi, H., El Abbassi, F-E., Sakami, S., Kchikach, A. (2022) Investigation on the use of co-products from olive oil industry in earth bricks. *Mater. Today-Proc.* **58**, 1044-1048.

Civolani C, Barghini P, Roncetti AR, Ruzzi M, Schiesser A. (2000) Bioconversion of ferulic acid into vanillic acid by means of a vanillate-negative mutant of *Pseudomonas fluorescens* strain BF13. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 2311–2317.

Crema, A.P.S., Borges, L.D.P., Micke, G.A., Debacher, N.A. (2020) Degradation of indigo carmine in water induced by non-thermal plasma, ozone and hydrogen peroxide: A comparative study and byproduct identification. *Chemosphere.* **244**, 125502

Cserhalmi, Z., Sass-Kiss, Á., Tóth-Markus, M., Lechner, N. (2006) Study of pulsed electric field treated citrus juices. *Innov. Food Sci. Emerg.* **7**, 49–54.

Darban, A.K., Shahedi, A., Taghipour, F., Jamshidi-Zanjani, A. (2020) A review on industrial wastewater treatment via electrocoagulation processes, *Curr. Opin. Electrochem.*, **22**, 154-169.

De Marco, E., Savarese, M., Paduano, A., Sacchi, R., (2007) Characterization and fractionation of phenolic compounds extracted from olive oil mill wastewaters, *Food Chem.* **104**, 858-867.

Domingues, E., Fernandes, E., Gomes, J., Castro-Silva, S., Martins, R. C. (2022). Advanced oxidation processes at ambient conditions for olive oil extraction industry wastewater degradation. *Chem. Eng. Sci.* **263**, 118076

Du, C., Gong, X., Lin, Y. (2019) Decomposition of volatile organic compounds using corona discharge plasma technology, *J. Air Waste Manag. Assoc.* **69**, 879-899.

Elkacmi, R., Bennajah, M. (2019) Advanced oxidation technologies for the treatment and detoxification of olive mill wastewater: a general review. *J. Water Reuse Desalin.* **9**, 463–505.

El Moudden, H., El Idrissi, Y., El Guezzane, C., El Idrissi, Z.L., Harhar, H., Assaggaf, H., Goh, K.W., Ming, L.C., Bouyahya, A., Tabyaoui, M. (2022) Spatial variation of phytochemical and antioxidant activities of olive mill wastewater: A chemometric approach. *Sustainability.* **14**, 14488

Esteves, B.M., Rodrigues, C.S.D., Madeira, L.M. (2017) Synthetic olive mill wastewater treatment by Fenton's process in batch and continuous reactors operation. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **25**, 34826–34838.

Esteves, B.M., Rodrigues, C.S.D., Maldonado-Hódar, F.J., Madeira, L.M. (2019) Treatment of high-strength olive mill wastewater by combined Fenton-like oxidation and coagulation/flocculation. *J. Environ. Chem. Eng.* **7**, 103252

Feng, W., Li, J., Gao, K., An, H., Wang, Y (2020) A comparison of spent resin degradation by Fenton and O₃-Fenton process. *Prog. Nucl. Energy.* **130**, 103566

Ferreira, N.G.C., Almeida, P.G.C., Benilov, M.S., Panarin, V.A., Skakun, V.S., Tarasenko, V.F., Naidis, G.V. (2020) Computational and experimental study of time-averaged characteristics of positive and negative DC corona discharges in point-plate gaps in atmospheric air. *IEEE T. Plasma Sci.* **48**, 4080-4088.

Frascari, D., Rubertelli, G., Arous, F., Ragini, A., Bresciani, L., Arzu, A., Pinelli, D. (2019) Valorisation of olive mill wastewater by phenolic compounds adsorption: development and application of a procedure for adsorbent selection. *Chem. Eng. J.* **360**, 124-138.

Fridman, A. (2008) *Plasma Chemistry*, Cambridge University Press, New York

Gajdoš Kljusurić, J., Boban, A., Mucalo, A., & Budić-Leto, I. (2022). Novel application of NIR spectroscopy for non-destructive determination of 'Maraština' wine parameters. *Foods*, **11**, 1172

Genethliou, G., Kornaros, M., Dailianis, S. (2020) Biodegradation of olive mill wastewater phenolic compounds in a thermophilic anaerobic up flow packed bed reactor and assessment of their toxicity in digester effluents. *J. Environ. Manage.* **255**, 109882

Gottschalk, C., Libra, J. A., Saupe, A., (2010) *Ozonation of water and waste water: a practical guide to understanding ozone and its application*, 2. izd., Wiley – VCH, Weinheim

Gowen, A. A., Marini, F., Tsuchisaka, Y., De Luca, S., Bevilacqua, M., O'Donnell, C., Downey, G., Tsenkova, R. (2015) On the feasibility of near infrared spectroscopy to detect contaminants in water using single salt solutions as model systems. *Talanta* **131**, 609–618.

Hamerli, P. (2004) *Plasma aminofunctionalisation of polymeric membrane surfaces for tissue engineering applications*, Dissertation, Univesity of Veszprem.

- He, W., Liu, Y., Wamer, W. G., & Yin, J. J. (2014). Electron spin resonance spectroscopy for the study of nanomaterial-mediated generation of reactive oxygen species. *J. Food Drug Anal.* **22**, 49-63.
- Herceg, Z., Bursać 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 Chem.* **190**, 665-72.
- Ibrahimoglu, B., Yilmazoglu, M.Z. (2018) Disposal of olive mill wastewater with DC arc plasma method. *J. Environ. Manag.* **217**, 727–734.
- Ivanov, M., Vukušić Pavičić, T., Kraljić, K., Grgas, D., Landeka Dragičević, T., Herceg, Z. (2021) Effects of High Voltage Electrical Discharge Plasma on Olive Mill Wastewater Treatment. *Sustainability*, **13**,1552.
- Jiang, B., Zheng, J., Qui, S., Wu, M., Zhang, Q., Yan, Z., Xue, Q., (2014) Review on electrical discharge plasma technology for wastewater remediation, *Chem. Eng. J.* **236**, 348-368.
- Joshi R. P., Mededović Thagard S., (2013) Streamer-Like Electrical Discharges in Water: Part II. Environmental Applications, *Plasma. Chem. Plasma. Process.* **33**, 17-49.
- Khdair, A., Abu-Rumman, G. (2020) Sustainable Environmental Management and Valorization Options for Olive Mill Byproducts in the Middle East and North Africa (MENA) Region. *Processes*, **8**, 671
- Kim, S. Y., Čurko, J., Kljusurić, J. G., Matošić, M., Crnek, V., López-Vázquez, C. M., Garcia, H.A., Brdjanović, D., Valinger, D. (2021). Use of near-infrared spectroscopy on predicting wastewater constituents to facilitate the operation of a membrane bioreactor. *Chemosphere*, **272**, 129899
- Kirkpatrick, M., J., Locke, B., R., (2005) Hydrogen, oxygen, and hydrogen peroxide formation in aqueous phase pulsed corona electrical discharge, *Ind. Eng. Chem. Res.* **44**, 4243-4248.
- Kooshki, S., Pareek, P., Mentheour, R., Janda, M., Machala, Z. (2023) Efficient treatment of bio-contaminated wastewater using plasma technology for its reuse in sustainable agriculture, *Environ. Technol. Innov.* **32**, 103287
- Kučić Grgić, D., Gavran, M., Miškić, K., Škunca, A., Ocelić Bulatović, V. (2020) Utjecaj komine masline na okoliš. *Kem. Ind.* **69**, 153-162.

- Kumar, S., Pipliya, S., Srivastav, P.P. (2022) Effect of cold plasma on different polyphenol compounds: a review. *J. Food Process Eng.* **46**, 14203
- Landeka Dragičević, T., Zanoški Hren. M., Gmajnić, M., Pelko, S., Kungulovski, D., Kungulovski, I., Čvek, D., Frece, J., Markov, K., Delaš, F. (2010) Biodegradation of olive mill wastewater by *Trichosporoncutaneum* and *Geotrichumcandidum*. *Arh. Hig. Rada. Toksikol.* **61**, 399-405.
- Lee, K.E., Morad, N., Teng, T.T., Poh, B.T. (2012) Development, characterization and the application of hybrid materials in coagulation/flocculation of wastewater: A review. *Chem. Eng. J.* **203**, 370-386.
- Locke, B.R., Sato, M., Sunka, P., Hoffmann, M.R., Chang, J.-S. (2006) Electrohydraulic discharge and nonthermal plasma for water treatment. *Ing. Eng. Chem. Res.* **45**, 882-905.
- Lombardo, L., Grasso, F., Lanciano, F., Loria, S., Monetti, E. (2018) Chapter 2- Broad spectrum health protection of extra virgin olive oil compounds U: Studies in natural products chemistry, vol. 57. (Atta- ur-Rahman, ured.), Elsevier B.V., London, str. 41-77.
- Lukes, P. Water Treatment by Pulsed Streamer Corona Discharge. Ph.D. Thesis, Institute of Chemical Technology, Prague, Czech Republic, 2001.
- Lukes, P., Locke, B.R. (2005) Degradation of substituted phenols in a hybrid gas-liquid electrical discharge reactor. *Ind. Eng. Chem. Res.* **44**, 2921-2930.
- Magwaza, L.S., Opara, U.L., Nieuwoudt, H., Cronje, P.J.R., Saeys, W., Nicolaï, B. (2012) NIR Spectroscopy Applications for Internal and External Quality Analysis of Citrus Fruit—A Review. *Food Bioprocess. Technol.* **5**, 425-444.
- Mai-Prochnow, A., Murphy, A.B., McLean, K.M., Kong, M.G., Ostrikov, K. (2014) Atmospheric pressure plasmas: Infection control and bacterial responses. *Int J Antimicrob Agents* **43**, 508-517.
- Malik, M.A., Ghaffar, A., Malik, S.A. (2001) Water purification by electrical discharges. *Plasma Sources Sci. T.* **10**, 82-91.
- Morillo, J. A., Antizar-Ladislao, B., Monteoliva-Sanchez, M., Ramos-Cormenzana, A., Russell, N. J., (2009), Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes, *Appl Microbiol. Biotechnol.* **82**, 25-39.

Mott-Smith, H. Jr., Langmuir, I., (1926) The theory of collectors in gaseous discharges, *Phys. Rev.* **28**, 727-763.

Napolitano, A., De Lucia, M., Panzella, L., d'Ischia, M. (2010) Specific components of olive oil and their effects on tissue and body systems U: Olives and olive oil in health and disease prevention (Preedy V.R., Watson R.R., ured.), Elsevier Academic Press, New York, str. 1221-1465.

Neffa, M., Hanine, H., Lekhlif, B., Taourirt, M., Habbari, K. (2010) Treatment of wastewater olive mill by electrocoagulation and biological process. *Linnaeus eco-tech '10*. 295-304.

Ntougias, S., Gaitis, F., Katsaris, P., Skoulika, S., Iliopoulos, N., Zervakis, G.I. (2013) The effects of olives harvest period and production year on olive mill wastewater properties- Evaluation of *Pleurotus* strains as bioindicators of the effluent's toxicity. *Chemosphere* **92**, 399-405.

Oreščanin V. (2015) Otpadne vode od prerade maslina – porijeklo, kemijski sastav, toksični učinci i metode pročišćavanja. *Hrvatske vode*. **92**, 111-122.

Osborne, B.G. (2006) Near-infrared spectroscopy in food analysis U: Encyclopedia of Analytical Chemistry (Meyers, R.A., McGorin, R.J., ured.) John Wiley & Sons, Australia, str. 1-14.

Oturan, M.A., Aaron, J.J. (2014) Advanced oxidation processes in water/wastewater treatment: Principles and applications. A review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **44**, 2577-2641.

Palčić, I., Benčić, Đ., Moslavac, T., (2009) Mogućnosti zbrinjavanja vegetabilne vode nastale procesom ekstrakcije maslinovog ulja, *Glasnik zaštite bilja* **6**, 117–131.

Paraskeva P., Diamadopoulos E., (2006) Technologies for olive mill wastewater treatment: a review, *J Chem. Technol. Biotechnol.* **81**, 1475-1485.

Parvulescu, V. I., Magureanu, M., Lukes, P. (2012). Plasma chemistry and catalysis in gases and liquids, John Wiley & Sons

Peikert, B., Schaumann, G.E., Bibus, D., Fischer, J., Braun, U., Brunkhardt, J. (2017) Effects of olive oil mill wastewater on chemical, microbiological, and physical properties of soil incubated under four different climatic conditions. *Biol Fertil Soils* **53**, 89–102.

- Platzer, M., Kiese, S., Herfellner, T., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. (2021) How does the phenol structure influence the results of the Folin-Ciocalteu assay? *Antioxidants*, **10**, 811.
- Rahmanian, N., Jafari, S. M., Galanakis, C. M. (2014) Recovery and Removal of Phenolic Compounds from Olive Mill Wastewater. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **91**, 1-18.
- Rekhate, C.V., Srivastava, J.K. (2020) Recent advances in ozone-based advanced oxidation processes for treatment of wastewater – a review. *Chem. Eng. J. Adv.* **3**, 100031
- Rodríguez-Morató, J.; Xicota, L.; Fitó, M.; Farré, M.; Dierssen, M.; De la Torre, R. (2015) Potential role of olive oil phenolic compounds in the prevention of neurodegenerative diseases. *Molecules*. **20**, 4655-4680.
- Rouxinol, M. I., Martins, M. R., Murta, G. C., Mota Barroso, J., Rato, A. E. (2022). Quality Assessment of Red Wine Grapes through NIR Spectroscopy. *Agronomy*, **12**, 637
- Rusan, M.J.M., Albalasmeh, A.A.; Hanan, I., Malkawi, H.I. (2016.) Treated olive mill wastewater effects on soil properties and plant growth. *Water Air Soil Pollut.* **227**, 135-145.
- Sedej, I., Milczarek, R., Wang, S.C., Sheng, R., Avena-Bustillos, RdJ., Dao, L., Takeoka, G. (2016) Membrane-filtered olive mill wastewater: Quality assessment of the dried phenolic-rich fraction. *J. Food. Sci.* **81**, 889-896.
- Selçuk Kuşçu Ö., Eke, E. (2015) Treatment of olive oil mill wastewater by a pulsed high-voltage discharge process; process optimization and combination with Fe⁺² and H₂O₂. *J. Chem. Technol. Biot.* **90**, 1040-1050.
- Selçuk Kuşçu Ö., Eke, E. (2020) Oxidation of Olive Mill Wastewater by a Pulsed High-Voltage Discharge Using Oxygen or Air, *J. Environ. Chem Eng.* **9**, 104701
- Semidalas, C., Semidalas, E., Matsoukas, M.T., Nixyrlidis, C., Zoumpoulakis, P. (2016) In silico studies reveal the mechanisms behind the antioxidant and anti-inflammatory activities of hydroxytyrosol. *Med. Chem. Res.* **25**,2498-2511.
- Servili, M., Montedoro, G. (2002) Contribution of phenolic compounds to virgin olive oil quality. *J. Lipid Sci. Technol.* **104**, 602–613.
- Shamshoum, H., Vlatcheski, F., Tsiani, E. (2017) Anticancer effects of oleuropein. *Biofactors*. **43**, 517-528.

- Shen, Y.; Lei, L.; Zhang, X.; Zhou, M.; Zhang, Y. (2008) Effect of various gases and chemical catalysts on phenol degradation pathways by pulsed electrical discharges. *J. Hazard Mater.* **150**, 713–722.
- Sher, F., Malik, A., Liu, H. (2013) Industrial polymer effluent treatment by chemical coagulation and flocculation. *J. Environ. Chem Eng.* **1**, 684-689.
- Shih, K. Y., i Locke, B. R., (2010) Chemical and physical characteristics of pulsed electrical discharge within gas bubbles in aqueous solutions, *Plasma Chem. Plasma P.* **30**, 1-20.
- Soler-Rivas, C., Espín J.C., Wichers, H.J. (2000) Oleuropein and related compounds. *J. Sci. Food. Agric.* **80**, 1013-1023.
- Suárez, M., Macià, A., Romero, M.P., Motilva, M.J. (2008) Improved liquid chromatography tandem mass spectrometry method for the determination of phenolic compounds in virgin olive oil. *J. Chromatogr. A* **1214**, 90-99.
- Stamatakis G. (2010.): Energy and geo-environmental applications for olive mill wastes. A review. *Hellenic J. Geosci.* **45**, 269-282.
- Tendero C., Tixier C., Tristant P., Desmaison J., Leprince P. (2006) Atmospheric pressure plasmas: a review. *Spectrochim Acta B.* **61**, 2-30.
- Thagard, S.M., Takashima, K., Mizuno, A. (2009) Chemistry of the positive and negative electrical discharges forme din liquid water and above a gas-liquid surface. *Plasma Chem. Plasma Process.* **29**, 455-473.
- Tsagaraki, E., Lazarides, H., N., Petrotos, K., B., (2007) Olive mill wastewater treatment U: Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry, (Oreopoulou, V., Russ, W., ured.), Springer Science + Business Media, New York, str. 133-157.
- Tsimogiannis, D., Oreopoulou, V. (2019) Classification of phenolic compounds in plants. U: Polyphenols in Plants, 2. izd. (Watson R.R., ured.), Elsevier Academic Press, London, str. 263-284.
- Tsivas, D., Vlyssides, A., Vlysidis, A. (2021). Monitoring of a III-phase olive pomace composting process using the CIELAB colorimetric method. *Waste Biomass Valori.* **12**, 5029-5039.

- Tufaner, F. (2019) Evaluation of COD and color removals of effluents from UASB reactor treating olive oil mill wastewater by Fenton process. *Separ. Sci. Technol.* **55**, 3455-3466.
- Tunalioglu, R., Bektaş, T., (2012) The Problem of olive mill wastewater in Turkey and some solution alternatives, *Agric.conspect.sci.* **77**, 57-60.
- Uddin, M.A., Siddiki, S.Y.A., Ahmed, S.F., Rony, Z.I., Chowdhury, M.A.K., Mofijur, M. (2021) Estimation of Sustainable Bioenergy Production from Olive Mill Solid Waste. *Energies*, **14**, 7654
- Valinger, D., Kušen, M., Jurinjak Tušek, A., Panić, M., Jurina, T., Benković, M., Radojčić Redovniković, I., Gajdoš Kljusurić, J. (2018). Development of near infrared spectroscopy models for quantitative prediction of the content of bioactive compounds in olive leaves. *Chem. Biochem. Eng. Q.* **32**, 535-543.
- Vuppala, S., Paulista, L.O., Morais, D.F.S., Pinho, I.L., Martins, R.J.E., Gomes, A.I., Moreira, F.C., Vilar, V.J.P. (2022) Multistage treatment for olive mill wastewater: Assessing legal compliance and operational costs. *J. Environ. Chem. Eng.* **10**, 107442
- Wang, J., Li, L., Cao, H., Yang, C., Guo, Z., Shi, Y., Li, W., Zhao, H., Sun, J., Xie, Y. (2019) Degradation of phenolic compounds by dielectric barrier plasma: Process optimization and influence of phenol substituents. *J. Chem. Eng.* **385**, 123732
- Wu, S., Thapa, B., Rivera, C., Yuan, Y. (2020) Nitrate and nitrite fertilizer production using a continuous flow liquid-phase plasma discharge process. *J. Environ. Chem. Eng.* **9**, 104761
- Yang, Z., Shan, C., Pignatello, J. J., Pan, B. (2022). Mn (II) acceleration of the picolinic acid-assisted Fenton reaction: new insight into the role of manganese in homogeneous Fenton AOPs. *Environ. Sci. Technol.* **56**, 6621-6630.
- Zagklis, D.P., Arvaniti, E.C., Papadakis, V.G., Paraskeva, C.A. (2013) Sustainability analysis and benchmarking of olive mill wastewater treatment methods, *J Chem. Technol. Biotechnol.* **88**, 742-750.
- Zang, S., Tian, S., Jiang, J., Han, D., Yu, X., Wang, K., Li, D., Lu, D., Yu, A., Zhang, Z. (2017). Determination of antioxidant capacity of diverse fruits by electron spin resonance (ESR) and UV-vis spectrometries. *Food Chem.*, **221**, 1221-1225.

Zareef, M., Chen, Q., Hassan, M.M., Arslan, M., Hashim, M.M., Ahmad, W., Kutsanedzie, F.Y.H., Agyekum, A.A. (2020) An Overview on the applications of typical non-linear algorithms coupled with NIR spectroscopy in food analysis. *Food. Eng. Rev.* **12**, 173-190.

Zeghioud, H, Nguyen-Tri, P., Khezami, L., Amrane, A., Assadi, A.A. (2020) Review on discharge plasma for water treatment: mechanism, reactor geometries, active species and combined processes. *J. Water Process Eng.* **38**, 101664

Zrnčević, S. (2018) Valorizacija otpadnih voda prerade maslina. *Hrvatske vode.* **104**, 75-90.

ŽIVOTOPIS

Mia Ivanov mag. ing. rođena je 28. ožujka 1993. godine u Zagrebu. Osnovnu školu, a potom i jezičnu gimnaziju Lucijan Vranjanin pohađala je i završila u Zagrebu. Preddiplomski studij Prehrambene tehnologije na Prehrambeno-biotehnološkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu upisuje 2011. godine. Nakon diplome preddiplomskog studija, 2016. godine upisuje diplomski studij Prehrambenog inženjerstva. Titulu magistre inženjerke prehrambenog inženjerstva stječe 2018. godine pod mentorstvom doc. dr. sc. Marka Obranića u Laboratoriju za tehnologiju ulja i masti. U proljeće 2019. godine zapošljava se u svojstvu asistenta u Laboratoriju za procesno-prehrambeno inženjerstvo Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u sklopu projekta Hrvatske zaklade za znanost „Projekt razvoja karijera mladih istraživača – izobrazba novih doktora znanosti“ (DOK-09-2018). U akademskoj godini 2020./2021. upisuje poslijediplomski studij „Biotehnologija i bioproceno inženjerstvo, prehrambena tehnologija i nutricionizam“ pod mentorstvom prof. dr. sc. Zorana Hercega te svoj doktorski rad izrađuje u okviru dva projekta „Opremanje poluindustrijskog praktikuma za razvoj novih prehrambenih tehnologija“ i „Znanstveni centar izvrsnosti - BioProspecting Jadranskog mora“ financirana iz sredstava Europske Unije.

Kao asistent sudjeluje u izvođenju laboratorijskih i terenskih vježbi te seminara iz modula Procesi konzerviranja hrane, Prehrambeno-procesno inženjerstvo 1 i 2 te Nove tehnike obrade hrane. Također sudjeluje u izradi završnih i diplomskih radova. Tijekom svog znanstveno-istraživačkog rada objavila je četiri znanstvena rada iz skupine a1 te jedan znanstveni rad iz skupine a2. Sudjelovala je i na nekoliko međunarodnih znanstvenih skupova, te domaćih skupova s međunarodnim sudjelovanjem.

POPIS OBJAVLJENIH RADOVA

Znanstveni radovi iz skupine a1

- Stulić, V., Butorac, A., Pavičić, T. V., Ivanov, M., & Herceg, Z. (2021). Stress response of *Escherichia coli* and *Listeria innocua* to plasma treatment. *LWT*, **147**, 111695. (Q1)
- Vukušić Pavičić, T., Grgić, T., Ivanov, M., Novotni, D., Herceg, Z. (2021) Influence of Flour and Fat Type on Dough Rheology and Technological Characteristics of 3D-Printed Cookies. *Foods*, **10**, 193. (Q1)
- Kraljić, K.; Balbino, S.; Filipan, K.; Herceg, Z.; Ivanov, M.; Vukušić Pavičić, T.; Stuparević, I.; Pavlić, K.; Škevin, D. (2023) Innovative Approaches to Enhance Activity of Endogenous Olive Enzymes—A Model System Experiment: Part I—Thermal Techniques. *Processes*, **11**, 1194. (Q2)
- Ivanov, M., Vukušić Pavičić, T., Kraljić, K., Grgas, D., Landeka Dragičević, T., Herceg, Z. (2021) Effects of High Voltage Electrical Discharge Plasma on Olive Mill Wastewater Treatment. *Sustainability*, **13**, 1552. (Q2)

Znanstveni radovi iz skupine a2

- Ivanov, M., Perić, K., Vukušić, T., Štefanac, T., Stulić, V., Kraljić, K., Smoljanić, G., Landeka Dragičević, T., Herceg, Z. (2019) Advanced oxidation treatments of olive mill wastewater. *EnvEng-IO*, **6**, 71-78.