

Biološka obrada per- i polifluoroalkila - fungalna transformacija

Petrina, Ana

Undergraduate thesis / Završni rad

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:159:551815>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-08**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija

Ana Petrina
0058214774

Biološka obrada per- i polifluoroalkila – fungalna transformacija

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Biološka razgradnja organskih spojeva

Mentor: doc. dr. sc. Dijana Grgas

Zagreb, 2023. godina.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Sveučilišni prijediplomski studij Biotehnologija

Zavod za prehrambeno-tehnološko inženjerstvo
Laboratorij za biološku obradu otpadnih voda

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti
Znanstveno polje: Biotehnologija

Biološka obrada per- i polifluoroalkila – fungalna transformacija

Ana Petrina, 0058214774

Sažetak:

Per- i polifluoroalkilne tvari stabilni su kemijski spojevi koje je sintetizirao čovjek, sa širokom primjenom u industriji i u potrošačkim proizvodima. Izuzetno su otporni na razgradnju i imaju veliki potencijal bioakumulacije, zbog čega su se proširili u cijeloj bioti. PFAS pokazuju toksični učinak na organizme. Za uklanjanje PFAS iz onečišćenog okoliša i otpadnih tokova mogu se koristiti metode poput reverzne osmoze, adsorpcije na aktivni ugljen, sonoliza, fotorazgradnja, međutim, takvi postupci primjenjuju visoki tlak i temperaturu, nepraktični su za *in situ* uklanjanje, skupi su, i rezultiraju s toksičnim otpadom. Biorazgradnja PFAS je ekološki i ekonomski povoljna alternativa, pogotovo za *in situ* remedijaciju. Lignolitičke gljivice pokazuju potencijal za biorazgradnju PFAS. Također, enzimski katalizirane oksidativne humifikacijske reakcije bi se potencijalno mogle koristiti za remedijaciju nekih PFAS.

Ključne riječi: PFAS, gljivice, peroksidaze, lakaze

Rad sadrži: 23 stranica, 5 slika, 50 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

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

Mentor: doc. dr. sc. Dijana Grgas

Datum obrane: rujan, 2023

BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb
Faculty of Food Technology and Biotechnology
University undergraduate study Biotechnology

Department of Food Engineering
Laboratory for the Biological Waste Water Treatment

Scientific area: Biotechnical Sciences
Scientific field: Biotechnology

Biological treatment of per- and polyfluoroalkyls - fungal transformation

Ana Petrina, 0058214774

Abstract:

Per- and polyfluoroalkyl substances are stable man-made chemical compounds with wide application in industry and in consumer products. They are extremely resistant to degradation and have a high bioaccumulation potential, which is why they have spread throughout the biota. PFAS show a toxic effect on organisms. Methods such as reverse osmosis, adsorption on activated carbon, sonolysis, photodegradation can be used to remove PFAS from polluted environments and waste streams, however, such procedures apply high pressure and temperature, they are impractical for *in situ* removal, expensive, and result in toxic waste. Biodegradation of PFAS is an environmentally and economically favourable alternative, especially for *in situ* remediation. Lignolytic fungi show potential for PFAS biodegradation. Also, enzyme-catalysed oxidative humification reactions could potentially be used for remediation of some PFASs.

Keywords: PFAS, fungi, peroxidases, laccase

Thesis contains: 23 pages, 5 figures, 50 references

Original in: Croatian

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

Mentor: Dijana Grgas, PhD, Assistant professor

Thesis defended: September, 2023

Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. PERFLUOROALKIL I POLIFLUOROALKIL TVARI (PFASs).....	2
2.1.1. OPASNOST KOJU PREDSTAVLJAJU PFASs.....	4
2.2. OBRADA PFASs.....	7
2.3. BIOREMEDIJACIJA.....	8
2.4. OBRADA PFASs – FUNGALNA TRANSFORMACIJA.....	9
2.4.1. ENZIMI ZA TRANSFORMACIJU PFASs.....	10
2.4.2. PRIMJERI BIOLOŠKE OBRADU PFASs POMOĆU FUNGA.....	12
3. ZAKLJUČCI.....	18
4. POPIS LITERATURE.....	19

1. UVOD

„Perfluoroalkil i polifluoroalkil tvari“ (PFASs, *engl. perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances*) izuzetno su stabilni, umjetni kemijski spojevi s hidrofobnim i oleofobnim svojstvima koji se koriste u industriji i potrošačkim proizvodima diljem svijeta od 1950-tih godina (Naidu i sur., 2020). PFASs su privukli svjetsku pozornost zbog svoje otpornosti, potencijala za bioakumuliranje, moguće štetne učinke na žive organizme, te sposobnosti transporta na velike udaljenosti kroz atmosferu i vodu (Ahrens i Bundschuh, 2014). Istraživanja sugeriraju da su PFASs izuzetno otporni na biološku i kemijsku razgradnju, kao i na razgradnju u okolišu (Glenn i sur., 2021).

Većina proizvoda koji sadrže PFAS na kraju svog korisnog života dospiju na deponij, gdje se raspadaju i dolazi do ispuštanja PFAS. Jedan od značajnijih izvora emisija PFASs su uređaji za obradu industrijske i gradske otpadne vode (Ahrens i sur., 2009) zato što primijenjene tehnologije obrade otpadnih voda nisu dovoljno učinkovite za uklanjanje mikroonečistila (Hollender i sur., 2009).

Istraživanje biotransformacije PFAS pomoću funga se često provodi pomoću funga truljenja drveta, poput *Phanerochaete chrysosporium*, i fungalnih izolata s mjesta onečišćenih s PFAS (Merino i sur., 2018; Merino, 2016; Tseng i sur., 2014), kao i pomoću enzima poput lakaze i peroksidaza (Luo i sur., 2018; Luo i sur., 2015; Colosi i sur., 2009). Nedavna istaživanja su pokazala razgradnju nekih PFAS, primjerice perfluorooktan sulfonata (PFOS) pomoću lakaza-1-hidroksilbenzotriazol (HBT) reakcijskog sustava (enzimski katalizirane oksidativne humifikacijske reakcije, ECOHR) pri čemu je došlo do cijepanja C-C veze i parcijalne defluorinacije (Luo i sur., 2018), perfluorooktanske kiseline (PFOA) pomoću peroksidaze hrena (Colosi i sur., 2009), razgradnju PFOA pomoću ECOHR (Luo i sur., 2015).

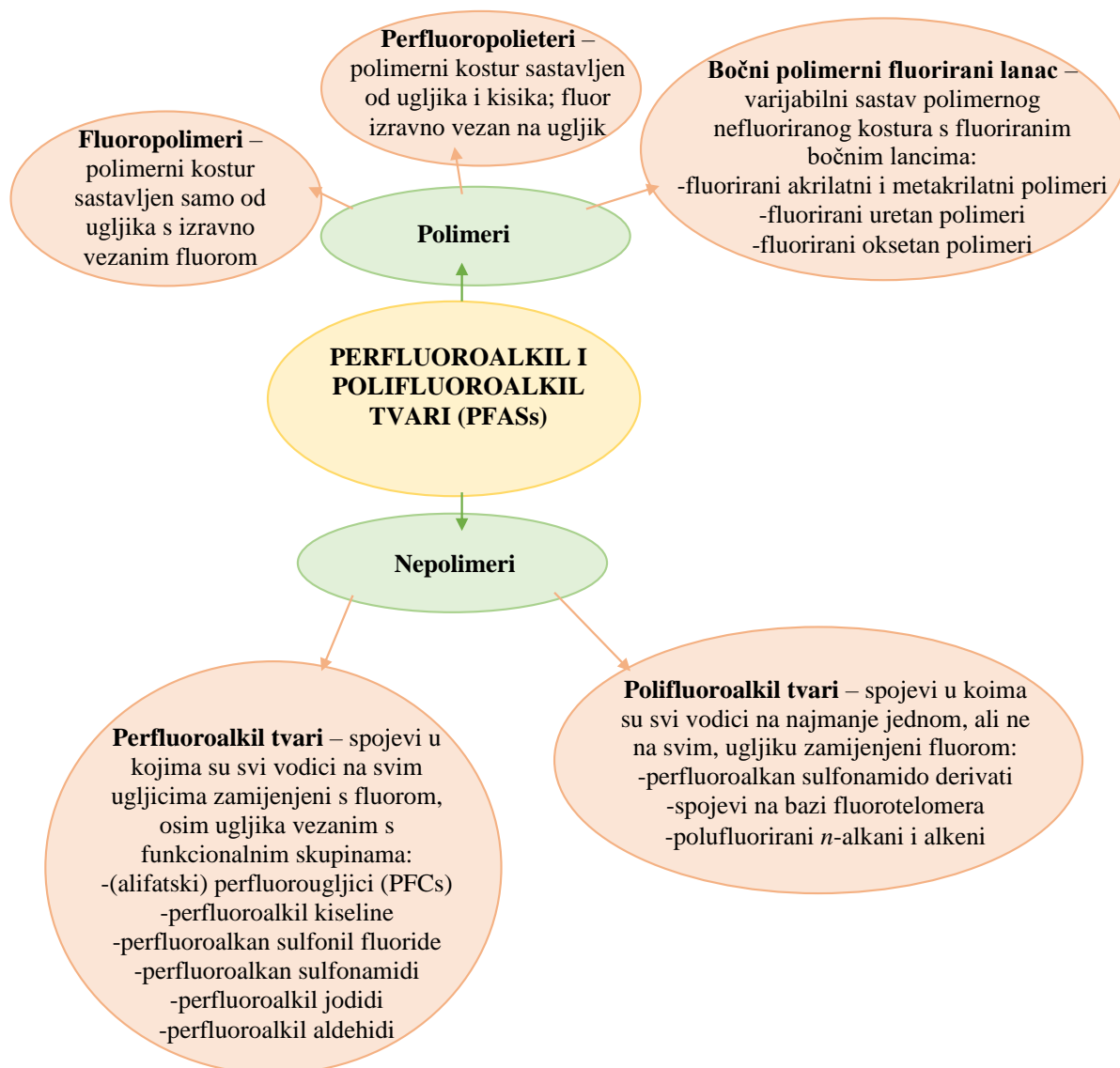
2. TEORIJSKI DIO

2.1. PERFLUOROALKIL I POLIFLUOROALKIL TVARI (PFASs)

Nespecifičan i općenit naziv „fluorirane tvari“, a koje se još nazivaju i „fluorokemikalije“ i „fluorirane kemikalije“, predstavlja skupinu organskih i anorganskih sastojaka koja sadrže najmanje jedan F atom i koju karakteriziraju vrlo raznolika fizikalna, kemijska i biološka svojstva. Podskupina fluoriranih tvari, koja sadrži perfluoroalkil dio C_nF_{2n+1-} , su visoko fluorirane alifatske tvari koje sadrže jedan ili više C atoma na kojima su svi H supstituenti, prisutni u formi nefluoriranih analoga iz kojih su izvedeni, zamijenjeni F atomima, i nazivaju se „perfluoroalkil i polifluoroalkil tvari“ (PFASs). PFASs se mogu svrstati u 3 skupine: perfluoroalkil tvari (PerFASs), polifluoroalkil tvari (PoliFASs) i fluorirane polimere (slika 1). PFASs mogu biti u lineranim i razgranatim strukturama. Perfluoroalkilne tvari su alifatske tvari u kojima F atomi zamjenjuju sve H atome vezane na C atome nefluorirane tvari od koje potječu, osim onih H atoma čija bi supstitucija promijenila prirodu neke prisutne funkcionalne skupine (Buck i sur., 2011). Polifluoroalkilne tvari se razlikuju od perfluoroalkilnih tvari po tome što kod polifluoroalkilnih tvari nisu svi ugljici u okosnici molekule potpuno zasićeni fluorom, ali je barem jedan ugljikov atom u okosnici potpuno zasićen fluorom (Glenn i sur., 2021). Kod polifluoroalkilnih tvari postoji potencijal da se abiotičkim ili biotičkim putem transformiraju u perfluoroalkilne tvari (Buck i sur., 2011).

Proizvodnja PFASs traje već 70 godina, i polimeri i surfaktanti dobiveni pomoću PFASs imaju široku komercijalnu i industrijsku primjenu. PFASs karakterizira vrlo stabilna i snažna C-F veza, termalna i kemijska stabilnost, te lipofilna i hidrofobna priroda, zbog čega surfaktanti i polimeri koji imaju perfluoroalkil skupinu imaju vrlo dugotrajna i korisna svojstva (Kissa, 2001). Duljina lanca i funkcionalne skupine daju PFASs jedinstvena fizikalno-kemijska svojstva (Ding i Peijnenburg, 2013). Perfluoroalkil spojevi su slabo topivi u vodi (Liu i Mejia Avendaño, 2013). Energija kovalentne veze između ugljika i fluora je zbog velike elektronegativnosti i male veličine atoma jako snažna te to dovodi do velike otpornosti PFASs na razgradnju putem oksidativno reduktivnih procesa (Wei i sur., 2019). Ta veza jako je polarna i pokazuje amfifilna svojstva (Jha i sur., 2021). PFASs se ne mogu razgraditi pomoću toplinske razgradnje, hidrolize, fotolize, biorazgradnje ili metaboličkim putem (Glenn i sur., 2021). Zbog stabilnosti strukture PFASs se i akumuliraju u okolišu (Naidu i sur., 2020). Postoji i mogućnost da su gotovo svi PFASs ikad proizvedeni i njihovi krajnji proizvodi sa C-F vezama u okolišu u nekom obliku zbog čega imaju nadimak

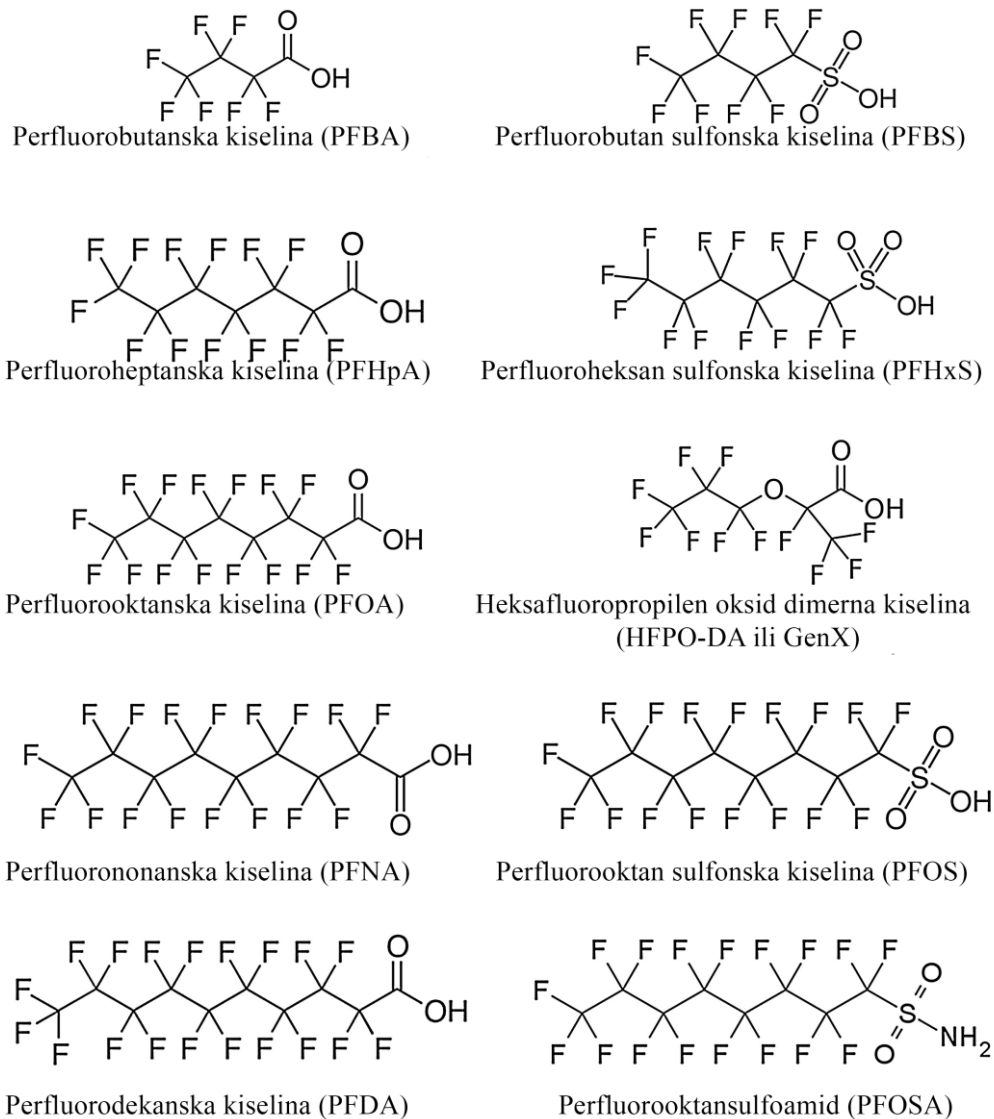
„zauvijek kemikalije“ (Glenn i sur., 2021).



Slika 1. Klasifikacijska hijerarhija okolišno važnih perfluoroalkil i polifluoroalkil tvari (PFASs) (prema Buck i sur., 2011)

PFASs imaju široku primjenu u vojsci, brojnim industrijskim, stambenim i komercijalnim sferama, kao što su surfaktanti u proizvodnji fluoropolimera, metalne obloge, vodene pjene za formiranje filma (AFFFs, *engl., aqueous film-forming foams*), te proizvodi papira, kućanstva i tekstila (Paul i sur., 2009; Merino i sur., 2018). Primjena surfaktanta je proizvodnja AFFFs koja se koristi za gašenje visoko zapaljivih tekućina, premaza, pomoćna

sredstva za proizvodnju fluoropolimera. Polimeri imaju primjenu u repelentu za zemlju, bojama za tekstil, i papiru za hranu otpornom na masnoću (Buck i sur., 2011). Slika 2 pokazuje kemijsku strukturu nekih uobičajenih PFASs.

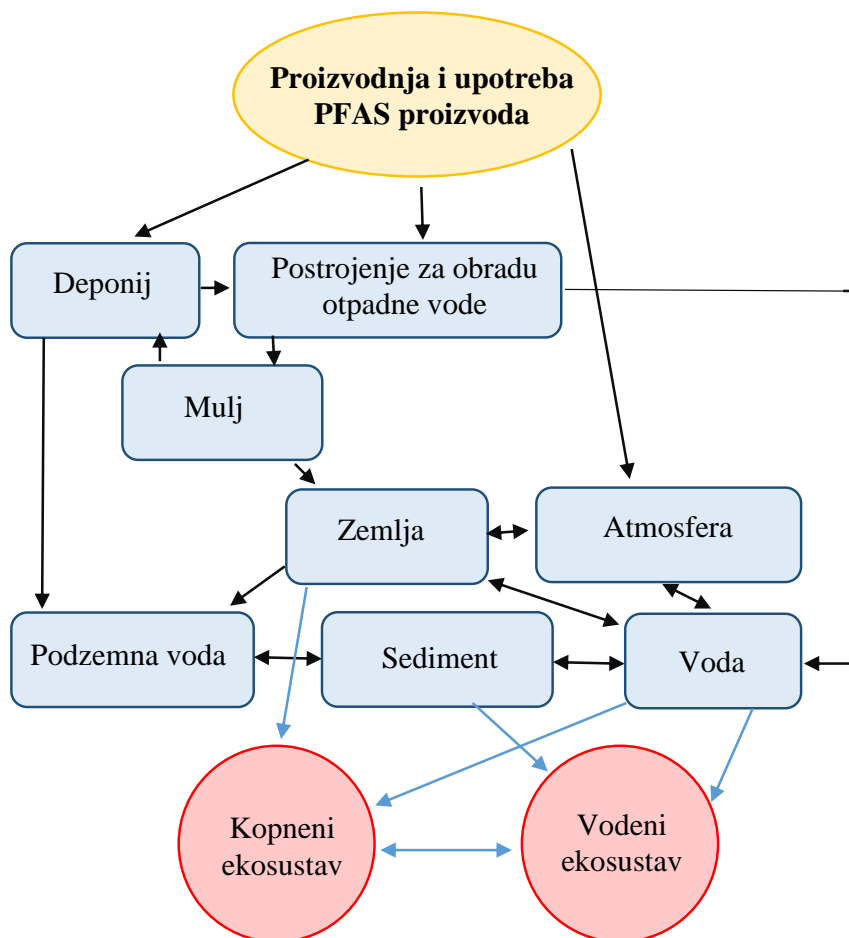


Slika 2. Struktura uobičajenih PFASs (*prema* Blake i Fenton, 2020)

2.1.1. Opasnost koju predstavljaju PFASs

Dugolančane perfluoroalkil sulfonske kiseline ($C_nF_{2n+1}SO_3H$, $n \geq 6$) (PFASs, *engl.*, *perfluoroalkyl sulfonic acids*) i perfluoroalkil karboksilne kiseline ($C_nF_{2n+1}COOH$, $n \geq 7$) (PFCAs, *engl.*, *perfluoroalkyl carboxylic acids*) i njihovi anioni, u odnosu na njihove

kratkolančane analoge, značajno se više bioakumuliraju i biokoncentriraju (Buck i sur., 2011), te su prepoznati kao postojani i toksični spojevi (Gomis i sur., 2015). Široka primjena PFASs je dovela do toga da su PFASs pronađeni u ljudima, divljim životinjama i okolišu (Buck i sur., 2011), s potencijalom za dalekosežni transport (slika 3) (Gomis i sur., 2015).



Slika 3. Put dospijeca PFASs u okoliš i njihova sudbina (prema Ahrens i Bundschuh, 2014)

Otpornost PFASs na biološku razgradnju znači da kad se jednom nađu u vodi i tlu, ljudi i divlje životinje bit će direktno i indirektno izložene PFASs bioakumuliranim u lancu prehrane kroz vlastitu prehranu (Jha i sur., 2021). Perfluorooktan sulfonska kiselina, $C_8F_{17}SO_3H$ (PFOS) ima visoki potencijal bioakumulacije, iznimno je postojana (Martin i sur., 2003), i uzrokuje kronične i akutne posljedice na razini pojedinca, populacije i zajednice (Ding i Pijnenburg, 2013). Pokazano je da PFOS i perfluorooktanska kiselina, $C_7F_{15}COOH$ (PFOA) mogu uzrokovati neplodnost, imunotoksičnost, kancerogenost i ometaju endokrini sustav (Luo i sur., 2018). Neki PFASs mogu imati toksične učinke kao što su

hepatotoksičnost, reproduktivna i razvojna toksičnost. Također, neki PFASs su povezani sa različitim razinama neurorazvojnih tokikanata te niz istraživanja pokazuje mogući odnos između izloženosti određenim PFASs i neurorazvojnih poremećaja kod ljudi (Jha i sur., 2021; Naidu i sur., 2020; Wei i sur., 2019).

PFASs dolaze do ljudi, divljih životinja i okoliša preko materijala koji su u kontaktu s hranom, preko hrane, mlijeka za dojenje, vode za piće, zraka, prašine nošene zrakom i tako redom (D'Hollander i sur., 2010). Ambalaža hrane također je izvor izlaganja hrane PFASs – pokazano je da je razina PFASs viša u serumu ispitanika koji konzumiraju kokice za mikrovalnu i brzu hranu omotane u ambalaži koja sadrži PFASs (Glenn i sur., 2021). Također, industrijska upotreba PFASs, i njihovo otpuštanje u okoliš, počevši od korištenja i odlaganja proizvoda koji sadrže PFASs kao nečistoće, preko abiotičke odnosno biotičke razgradnje derivata i polimera koji sadrže perfluoroalkil dio čime nastaju PFOA, PFOS i slični spojevi, doprinose prisutnosti tih spojeva u okolišu. Ti prekursori se češće komercijalno koriste i mogu dospjeti u okoliš preko industrijskih sirovih materijala i produkata, kao i iz konačnih produkata i artikala (Buck i sur., 2011).

Iako nije poznata pouzdana procjena proizvodnje PFASs, izravnih i neizravnih emisija PFASs u okoliš (Ahrens i Bundschuh, 2014), velika većina emisija PFASs, preko 95 %, je izravno ispuštena u vodeni okoliš, a emisija PFASs kroz atmosferu ima mali doprinos sveukupnoj emisiji, manje od 5 % (Paul i sur., 2009). PFASs se oslobađaju u vodeni okoliš tijekom njihove proizvodnje, duž opskrbnih lanaca, tijekom korištenja proizvoda i njihovog odlaganja (Ahrens i Bundschuh, 2014). Odlagališta otpada, gdje se PFASs oslobađaju iz stambenog, komercijalnog i industrijskog otpada, smatraju se završnom fazom njihovog životnog ciklusa, međutim PFASs se mogu isprati iz odlagališta otpada i utjecati na okolno tlo i vodene sustave (Wei i sur., 2019). Proizvodi u odlagalištu otpada podliježu fizičkom ispiranju kroz infiltraciju oborina i anaerobnoj biorazgradnji. Onečišćena voda koja se infiltrira kroz masu otpada i koju treba sakupljati i obrađivati naziva se procjedna voda (Lang i sur., 2016). PFASs koji su topljivi u vodi (anionski) se skupljaju u procjednoj vodi, a neutralni PFASs slabo topljivi u vodi, s visokim tlakom pare se otpuštaju u atmosferu ako ih učinkovito ne ukloni sustav za prikupljanje plina. Procjedna voda se najčešće skuplja i šalje u postrojenja za pročišćavanje otpadnih voda da se obradi prije konačnog otpuštanja u površinske vode. Međutim ta postrojenja nisu opremljena za uklanjanje PFASs te djeluju kao sekundarni izvori PFASs u vodenom okolišu (Hamid i sur., 2018).

PFASs mogu dospjeti u okoliš tla na više načina kao što je atmosfersko suho i mokro

taloženje, korištenje mulja u poljoprivredi i navodnjavanje kanalizacijom (Mei i sur., 2021). Tada se PFASs mogu adsorbirati na čestice tla ili otopiti u otopini tla. Biljke onda mogu preuzeti PFASs iz otopine tla i tako ih uključiti u prehrambene lance (Mei i sur., 2021).

Dugolančani PFCAs i PFSAAs su izazvali zabrinutost zbog mogućeg toksikološkog i ekološkog učinka, te su u industriji i regulatornim tijelima poduzeti brojni međunarodni mehanizmi za smanjenja prisutnosti dugolančanih PFCAs, PFSAAs i njihovih prekursora u okolišu, kao i njihovog otpuštanja u okoliš (Buck i sur., 2011; Gomis i sur., 2015). Tako primjerice tijekom 2000 – 2002 glavni globalni proizvođač se obvezao postupno ukinuti proizvodnju PFOS i povezanih spojeva, i PFOA, i zamijenio je njihovu upotrebu u određenim ključnim proizvodima sa kemikalijama na bazi perfluorobutan sulfonil florida (PBSF, C₄) (3M Company, 2000; USEPA, 2000). PFOS je uključen u Stockholmsku konvenciju o postojanim organskim onečišćujućim tvarima u Anex B tvari, odnosno, zabrana njihovog korištenja (UNEP, 2009). Nadalje, marketing Europske unije i Direktiva o korištenju su zabranili upotrebu „perfluorooktan sulfonata“ (European Parliament, 2006).

Posljednjih godina koncentracije PFSAAs pokazuju padajuće trendove u bioti zbog postupnog ukidanja PFOS u 2002., međutim koncentracije drugih PFASs poput PFCAs ne pokazuju nikakav očiti trend (Ahrens i Bundschun, 2014). Zbog postupnog uklanjanja dugolančanih PFASs, kao alternativa koriste se PFASs druge generacije koje imaju kraće biološke poluživote i niži nivo bioakumulacije u ljudima. PFASs druge generacije imaju puno kraće biološke poluživote, ali svejedno može doći do kroničnog izlaganja ako kontaminiraju hranu i vodu koju milijuni koriste dnevno (Glenn i sur., 2021).

Kako je zaustavljena proizvodnja, pa tako i izravno ispuštanje PFOS i PFOA u okoliš, određivanje izloženosti i učinka PFASs se određuje preko mjerenja PFOS, PFOA i ostalih perfluoroalkil kiselina (PFAA, *engl. perfluoroalkyl acids*) u koje su se konvertirale razne PFASs. Tako se istražuje koja količina PFCA i PFSA, s naglaskom na PFOA i PFOS, potječe od cijepanja nefluoriranih skupina, odnosno polifluorolalkil i perfluoroalkil skupina u okolišu (Liu i Mejia Avendaño, 2013).

2.2. OBRADA PFASs

Metode remedijacije PFAS uključuju fizikalne, kemijske i biološke pristupe integrirane unutar integriranog sustava usjeva i stoke. Metode remedijacije PFASs mogu se podijeliti u

tri kategorije: remedijacija tla i sedimenta, remedijacija vode, i biološka remedijacija (Jha i sur., 2021). Svi pristupi obradi općenito se mogu kategorizirati u dvije vrste: ne destruktivski (uklanjanje, poput sorpcije), i destruktivski (razgradnja ili mineralizacija). Kod sorpcije se PFASs transportiraju iz jedne sredine u drugu, gdje su PFASs prisutni u puno višoj koncentraciji, u puno manjem volumenu, a kod razgradnje se PFASs uništavaju, što zahtjeva visoko energetske metode, pa je to skupo i nije praktično (Naidu i sur., 2020).

Glavne metode za izdvajanje PFASs iz vode su adsorpcija i odvajanje pomoću frakcioniranja vode, reverzna osmoza, nanofiltracija, ionska izmjena na membrani smole, spaljivanja, elektrokemijska oksidacija, fotoliza, enzimska redukcija i oksidacija vode (Jha i sur., 2021).

Metode remedijacije tla temelje se na adsorpciji/odvajanju, ispiranju tla i toplinskoj obradi, ukapljivanju tla, iskopavanju i postavljanju u nepropusne materijale, odlaganju izvan lokacije na odlagalištima, sonokemijskom uništavanju, naprednim procesima oksidacije i redukcije, mljevenju kugličnim mlinovima ili metodama stvaranja pare (Jha i sur., 2021).

Fizikalno-kemijske metode uništavanja PFASs mogu razgraditi PFASs do različitih stupnjeva, međutim sve imaju karakteristične nedostatke poput potrebe za teškim metalima, velike potrošnje energije, stvaranja toksičnih međuproizvoda i nusproizvoda (Khan i sur., 2023).

2.3. BIOREMEDIJACIJA

Bioremedijacija je korištenje živih organizama, i to prvenstveno mikroorganizama, da bi se onečišćivači razgradili u manje toksične oblike. Bioremedijacija koristi bakterije i gljive ili biljke za razgradnju ili detoksikaciju tvari opasnih za ljudsko zdravlje ili okoliš (Kensa, 2011). Mineralizacija je pretvorba organskog supstrata u anorganski produkt, a biorazgradnja je biološki katalizirano smanjenje složenosti kemikalija. Kako u organskoj kemiji to često znači konverzija mnogo C, N, P, S i drugih elemenata u organskom spoju u anorganski produkt, mineralizacija i biorazgradnja nekad se koriste kao sinonimi (Alexander, 1999). Biotransformacija je korak u biokemijskom putu u kojem se molekula prevodi u manje toksičan produkt (Whiteley i Lee, 2006).

Učinkovitost bioremedijacije ovisi o mnogim čimbenicima, među kojima su kemijska priroda i koncentracija zagađivača, njihova dostupnost mikroorganizmima i fizikalno kemijske karakteristike okoliša (Abatenh i sur., 2017). Mikroorganizmi se mogu izolirati iz gotovo svih

okolišnih uvjeta te se zbog svoje prilagodljivosti mogu koristiti za razgradnju ili remedijaciju. Primjeri mikroorganizama koji se koriste za bioremedijaciju su gljive, poput gljiva bijelog truljenja *Phanerochaete chrysosporium* koje imaju sposobnost razgraditi iznimno raznolik raspon zagađivača okoliša, i metilotrofne bakterije (Kensa, 2011).

Neke od prednosti bioremedijacije su to da je prirodan proces koji zahtjeva malo vremena i produkti nakon procesa uobičajeno su bezopasni produkti poput vode i CO₂, često može biti provedena na licu mjesta, troškovno je učinkovita, pomaže u potpunom uništavanju zagađivača, ne koristi opasne kemikalije, održiva je i relativno jednostavno se implementira (Abatenh i sur., 2017).

Biološka obrada PFASs posebno je poželjna za obradu PFASs u kontaminiranom tlu i u otpadu, uključujući procjednu vodu, zbog niske cijene i ekološke prihvatljivosti (Wei i sur., 2019). Bioremedijacija i biorazgradnja obećavajuće su metode za uklanjanje organskih zagađivača, međutim procesi biorazgradnje za obradu PFASs trenutno su nedovoljno razvijeni (Douna i Yousefi, 2023).

2.4. OBRADA PFASs – FUNGALNA TRANSFORMACIJA

Mikoremedijacija je oblik bioremedijacije u kojem se za dekontaminaciju područja koriste gljive (Kensa, 2011). Gljive imaju važnu ulogu u ekosustavu i čine do 75 % mikroba u biomasi tla (Merino i sur., 2018). Obrada i uklanjanje PFASs putem mikološke razgradnje je područje istraživanja u razvoju za obradu voda, dok je razgradnja niza fluoriranih spojeva istražena korištenjem funga, i to ekstracelularnim lignolitičkim enzimima (Verma i sur., 2021). U biotransformaciji otrovnih organskih tvari gljive bijelog truljenja pokazale su relativan uspjeh (Shahsavari i sur., 2021). Gljive mogu sudjelovati u bioremedijaciji različitih medija jer hife gljiva mogu prodrijeti u tlo, kao i biti u dodiru sa vodom i zrakom, pa njihovo raspršivanje ne zahtjeva kontinuiranu vodenu fazu kakvu zahtijevaju bakterije (Tang i Kristani, 2022). Gljive bijelog truljenja najčešće korištene za mikoremedijaciju su *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus* i *Trametes versicolor*, a od njih najviše je proučavana *P. chrysosporium* i smatra se modelnim organizmom u mikoremedijaciji (Stiebeling i Labes, 2022).

Gljive bijelog truljenja nitaste su gljive, karakterizirane strukturama poput niti poznatim kao hife. Obično se mogu naći u okruženjima kao što su trulo drvo, hrpe komposta i šumska tla

gdje imaju važnu ulogu u kruženju hranjivih tvari i sekvestraciji ugljika (Latif i sur., 2023). Gljive bijelog truljenja imaju sposobnost biorazgradnje lignina, a naziv im dolazi od bijelog izgleda drva kojeg su napale gljive bijelog truljenja jer uklanjanje lignina daje izbjeljeni izgled (Asgher i sur., 2008). Ta sposobnost posljedica je izlučivanja nespecifičnih enzimskih kompleksa tokom njihovog sekundarnog metabolizma, obično kod ograničene dostupnosti nutrijenata (Rodríguez-Couto, 2017).

2.4.1. Enzimi za transformaciju PFASs

Mnogi enzimski sustavi koriste se za razgradnju raznolikih organskih zagađivača, a prednosti obrade na bazi enzima su sposobnost djelovanja kod visoke i niske koncentracije zagađivača, smanjena količina stvaranja mulja, činjenica da djeluju na katalitički način, mogu se primijeniti na širok raspon zagađivača, nizak unos energije i druge prednosti (Morsi i sur., 2020). Enzimski kompleksi gljiva bijelog truljenja uglavnom se sastoje od lignin peroksidaze (LiP), mangan peroksidaze (MnP) i lakaze (LaC) zajedno sa pomoćnim enzimima (Rodríguez-Couto, 2017). Pomoćni enzimi koji su izolirani iz gljiva bijelog truljenja su celobioza dehidrogenaza, glioksal oksidaza, aril-alkohol oksidaza, oksalat dekarboksilaza, NAD-ovisna format dehidrogenaza, P450 monooksigenaza, glutation reduktaza, bakar radikal oksidaza, izoamil alkohol oksidaza, peroksiredoksini, benzokinon reduktaza, piranoza 2-oksidaza, multibakar oksidaza, glutation S-transferaza, glukoza oksidaza i mangan superoksid dismutaza (Manavalan i sur., 2014).

Lignin peroksidaza je enzim koji sadrži hem, djeluje kao katalizator za oksidaciju raznih aromatskih i nearomatskih spojeva, te ima sposobnost izravnog napadanja lignina cijepanjem C-C i C-O veza prisutnih unutar struktura lignina (Latif i sur., 2023). Oksidativna depolimerizacija lignina koju LiP katalizira ovisna je o H_2O_2 (Morsi i sur., 2020). LiP ima visok redoks potencijal što joj dopušta da prirodno razgradi i oksidira nekoliko tvrdokornih zagađivači poput policikličkih aromatskih ugljikovodika, tekstilnih boja i mnogih fenolnih spojeva (Latif i sur., 2023). Fungalne lignin peroksidaze globularne su strukture i uglavnom su spiralni glikoproteini veličine približno 30-50 kDa, s izoelektričnom točkom od 3,2-4,0 (Manavalan i sur., 2014). Imobilizacija lignin peroksidaze poboljšava njezin pH i temperaturni optimum, kao i njezinu termostabilnost i katalitička svojstva. Redoks medijatori za stimulaciju oksidacije širokog spektra otpornih supstrata, kataliziranu lignin

peroksidazom, su prirodni fungalni sekundarni metaboliti veratril alkohol i 2-kloro-1, 4-dimetoksibenzen (Asgher i sur., 2008).

Mangan peroksidaza je također enzim koji sadrži hem. Hem pomaže u oksidaciji Mn^{2+} u Mn^{3+} , a Mn^{3+} može razgraditi niz fenolnih i nefenolnih spojeva. Mangan peroksidaza može, zbog proizvodnje Mn^{3+} , neizravno napasti i razgraditi lignin putem oksidacije (Latif i sur., 2023). MnP je opisana kao najčešći enzim koji razgrađuje lignin kojeg luče gotovo sve bazidomicete koje trule drva (Morsi i sur., 2020). MnP djeluje kao posrednik prijenosa naboja i omogućuje oksidaciju raznih fenolnih supstrata poput jednostavnih fenola, amina, boja, i fenolnih ligninskih spojeva. Aktivnost MnP u potpunosti inhibiraju Hg^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+ , laktat, NaN_3 , askorbinska kiselina, beta-merkaptetanol i ditreito (Manavalan i sur., 2014). Međutim, aktivnost mangan peroksidaze se može i pojačati u prisutnosti kooskidansa kao što su glutation, nezasićene masne kiseline i neionski surfaktant Tween 80. Također, može se poboljšati i stabilnost MnP imobilizacijom sa natrijevim alginatom, želatinom ili hitozanom kao nosačima i glutaraldehydom kao sredstvom za umrežavanje (Asgher i sur., 2008).

Svestrana peroksidaza (VP, *engl., versatile peroxidase*) također je jedan od glavnih enzimskih sustava gljiva bijelog truljenja za razgradnju lignina. VP je ligninolitička peroksidaza koja sadrži hem i molekularnom arhitekturom je hibrid lignin peroksidaze i mangan peroksidaze (Manavalan i sur., 2014).

Lakaza je izvanstanična N-glikolizirana multibakrena plava oksidaza (Manavalan i sur., 2014) koja pomaže u ubrzavanju oksidacije fenolnih i nefenolnih spojeva, s povezanom redukcijom molekularnog kisika u vodu. Redoks potencijal lakaze je niži od redoks potencijala LiP i MnP, ali i lakaza ima sposobnost razgradnje i oksidacije niza zagađivača, kao što su fenoli, tekstilne boje, spojevi koji ometaju endokrini sustav (Latif i sur., 2023). Također, lakaze mogu razgraditi razne supstrate bez korištenja vanjskog izvora H_2O_2 ili Mn^{2+} ili bilo kojeg kofaktora koji je potreban kad se koriste neke peroksidaze poput LiP ili MnP (Morsi i sur., 2020). Dodatak iona Cu^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Mo^{2+} ili Mn^{2+} uglavnom povećava aktivnost lakaza gljiva bijelog truljenja, a Ag^+ , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , NaN_3 , $NaCl$ i H_2O_2 inhibiraju njihovu aktivnost (Manavalan i sur., 2014). Lakaze se osim u gljivama mogu naći u bakterijama, biljkama i insektima. Bakterijske lakaze obično imaju veću termotoleranciju i širi raspon pH, međutim lakaze iz gljiva obično imaju veći redoks potencijal (Steffens i sur., 2023).

Nespecifičnost enzima gljiva bijelog truljenja omogućuje im transformaciju raznovrsnih, tvrdokornih kemikalija sa strukturom sličnom ligninu. Izvanstanična priroda ovih enzima

omogućuje gljivama pristup nepolarnim i netopivim spojevima te to sve čini gljive bijelog truljenja atraktivnim za različite biotehnoške i industrijske primjene kao što je i razgradnja tvrdokornih zagađivača okoliša (Rodríguez-Couto, 2017).

Osim razgradnje i oksidacije zagađivača pomoću enzimskih sustava, gljive bijelog truljenja imaju sposobnost procesa biosorpcije i bioprecipitacije za uklanjanje određenih zagađivača iz otpadnih voda. Stanična stijenka gljive obično je ispunjena hitinom i nekim drugim polimerima što pomaže vezanju i pohranjivanju metalnih iona i nekih drugih zagađivača u staničnu stijenku gljive pomoću elektrostatskih interakcija, kompleksiranja i ionske izmjene (Latif i sur., 2023).

Pokazano je da je remedijacija i obrada PFASs, kao i učinkovita razgradnja PFOA moguća pomoću enzimski katalizirane oksidativne humifikacijske reakcije (ECOHR, *engl. enzyme catalyzed oxidative humification reaction*) (Colosi i sur., 2009). Reakcije ECOHRs se nalaze u sustavu zemlje koje karakterizira niz oksidativnih reakcija tijekom procesa humifikacije. ECOHRs provode prirodni ekstracelularni enzimi koje luče bijele odnosno smeđe funge truljenja, to su lakaze, lignin peroksidaze, mangan peroksidaze i tako redom (Weber i Huang, 2003). Ti enzimi razgrađuju PFASs tako što prvo konvertiraju kemijske spojeve iz prirode u reaktivne radikale koji zatim reagiraju s PFASs (neaktivna molekula) (Naidja i sur., 1998). Iako su PFOA i PFOS tvrdokorni u okolišu, postoje dokazi da kad su reakcije katalizirane u laboratorijskim uvjetima, PFOA i PFOS se razgrađuju u enzimskim sustavima (Liu i Mejia Avendaño, 2013).

2.4.2. Primjeri biološke obrade PFASs pomoću funga

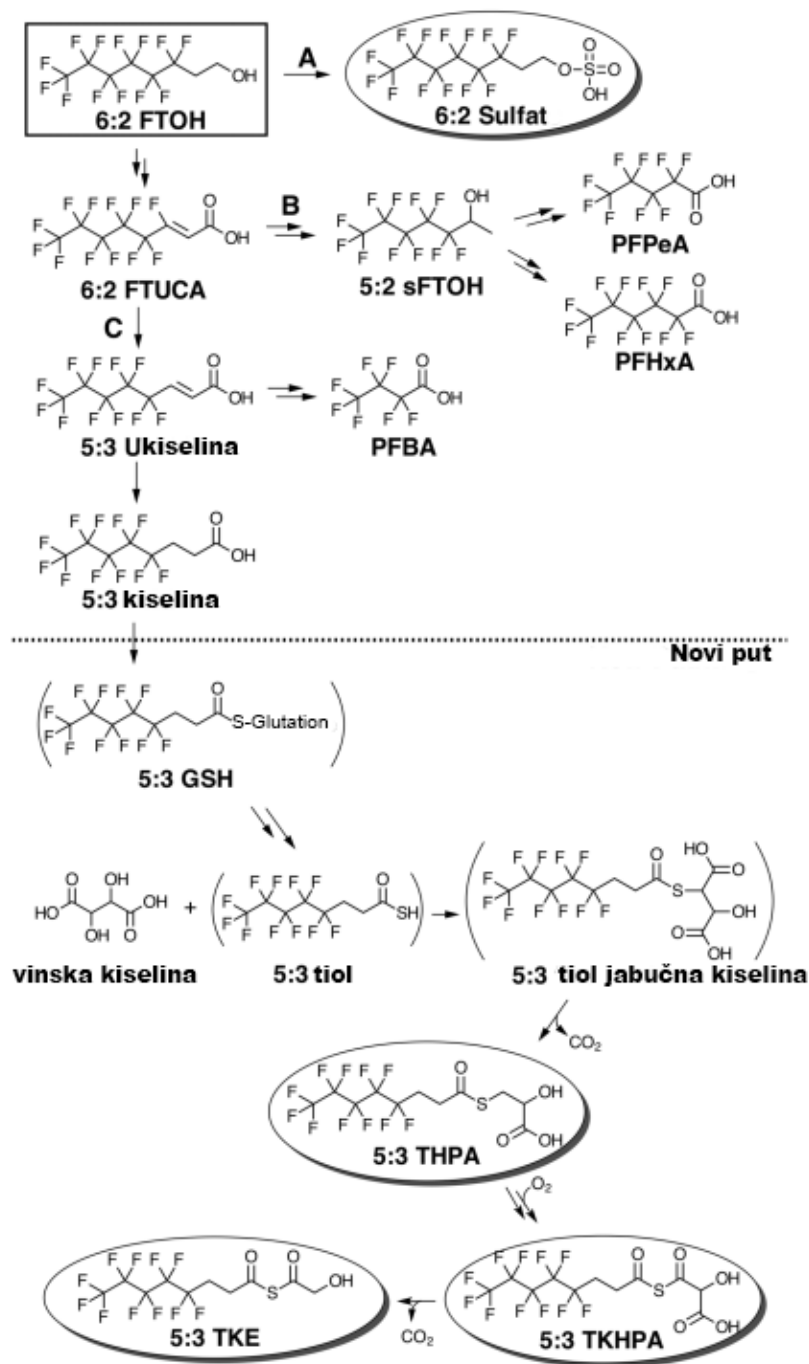
Luo i sur. (2018) su istraživali razgradnju PFOS pomoću lakaze izolirane iz funge *Pleurotus ostreatus* tijekom 162 dana. PFOS, skupa s PFOA, predstavljaju dvije najčešće PFAAs detektirane u okolišu, pri čemu su obje pronađene u značajnim količinama u podzemnim vodama (Xiao i sur., 2015). PFOS karakterizira struktura koju je teško razgraditi tradicionalnim procesima obrade vode i mikrobnim putem (Luo i sur., 2018). Za razgradnju PFOS korišteni su ECOHR inducirane sa lakazom s medijatorom 1-hidroksibenzotriazol (HBT). Luo i sur. (2018) postigli su 59 %-tnu transformaciju PFOS u Cu^{2+} otopini, pri čemu je reakcija slijedila model pseudo prvog reda, a konstanta brzine reakcije je iznosila 0,0066/d ($r^2 = 0,87$). Prilikom transformacije PFOS u Mg^{2+} otopini konstanta brzine reakcije je iznosila

0,0021/d. Autori studije tu razliku pripisuju različitom učinku na strukturu PFOS kada radi komplekse s različitim kationima. Otpuštanje fluorida je bilo brže u sustavu s Cu^{2+} nego s Mg^{2+} , a defluorinacijski omjer je iznosio 47,4 % za Cu^{2+} i 47,1 % za Mg^{2+} . Autori smatraju da se razgradnja PFOS provodi sličnim mehanizmima ali pri različitim brzinama. Ti autori sugeriraju da bi Mg^{2+} i Cu^{2+} mogli predstavljati sponu kojom se približavaju negativno nabijeni PFOS i lakaza te tako povećavaju mogućnost radikala koje otpušta lakaza da dosegne i reagira sa PFOS. ECOHR bi mogao biti potencijalan put razgradnje PFOS u okolišu, što bi mogao biti održiv pristup za remedijaciju kontaminacije PFOS preko dodatka odgovarajućih enzima i medijatora (Luo i sur., 2018).

Luo i sur. (2015) su također koristili ECOHRs za razgradnju PFOA pomoću lakaze iz *Pleurotus ostreatus*. Tijekom 157 dana u prisutnosti 1-hidroksilbenzotriazola i mineralne puferske otopine zabilježili su 50 % razgradnju PFOA. Produkti razgradnje su fluorirani alkoholi i aldehidi s kraćim ugljikovim lancima. Nisu detektirali PFCA kraćih ugljikovih lanaca. Autori sugeriraju da bi se transformacija PFOA mogla odvijati tijekom humifikacije (Luo i sur., 2015).

Merino i sur. (2018) su istraživali fungálnu biotransformaciju 6:2 fluorotelomer alkohola (6:2 FTOH, $\text{C}_6\text{F}_{13}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$) tijekom 28 dana. Istraživali su dva fungálna soja propadanja drveta: *Gloeophyllum trabeum* i *Trametes versicolor*, i šest izolata funga: TW1-3 (usko povezan s rodom *Fusarium sp.*), TW4-2 (usko povezan s rodom *Aspergillus sp.*), TW4-1 (usko povezan s rodom *Aspergillus sp.*), B76 (usko povezan s rodom *Fusarium sp.*), B78 (usko povezan s rodom *Penicillium sp.*) i B79 (usko povezan s rodom *Penicillium sp.*), sa mjesta koje je kontaminirano sa PFASs, upotrebom AFFF. 6:2 FTOH je važan jer je jedan od supstituenata kraćeg lanca od 8:2 FTOH (*engl. 8:2 fluorotelomer alcohol*), pri čemu je 8:2 FTOH prekursor dugolančanih PFCAs (Ding i Peijnenburg, 2013). Jednom kada 6:2 FTOH dospije u okoliš može se pomoću bioloških i fizikalno-kemijskih procesa transformirati u PFCAs i druge polifluoroalkil tvari, a putovi biotransformacija 6:2 FTOH u *P. chrysosporium* prikazani su na slici 4. (Merino i sur., 2016). Fungalna biotransformacija 6:2 FTOH je povoljnija za remedijaciju produkata na bazi 6:2 FTOH od bakterijske biotransformacije zbog prirode metabolita biotransformacije koji se zatim lakše transformiraju u okolišu (Merino i sur., 2018). Većina funga, *Gloeophyllum trabeum*, izolati TW4-2, TW4-1, B79 i B76, su pokazali sličan obrazac razgradnje, pri čemu su funge iskoristile više 5:3 kiseline, do 51 mol % početne koncentracije 6:2 FTOH, u odnosu na druge metabolite, do 12 mol % ukupnih PFCAs. *G. trabeum* i *T. versicolor* su transformirali 6:2 FTOH do 9 i 6 kvantibilnih

transformacijskih produkata. Svih šest fungalnih izolata su tijekom 28 dana pokusa pri ispitivanim uvjetima postigli transformaciju 6:2 FTOH do 5-9 kvantibilnih transformacijskih produkata (Merino i sur., 2018).



Slika 4. Biotransformacijski putevi 6:2 FTOH u *P. chrysosporium*. Smjer „A“ vodi do 6:2 sulfata, smjer „B“ vodi do PFPeA i PFHxA, a smjer „C“ vodi do 5:3 kiseline i tri nova konjugata, 5:3 THPA (5:3 polifluortiol 2-hidroksi propanska kiselina), 5:3 TKHPA (5:3

polifluoro tiol keto 2-hidroksi propanska kiselina) i 5:3 TKE (5:3 polifluoro tiol keto etanol).

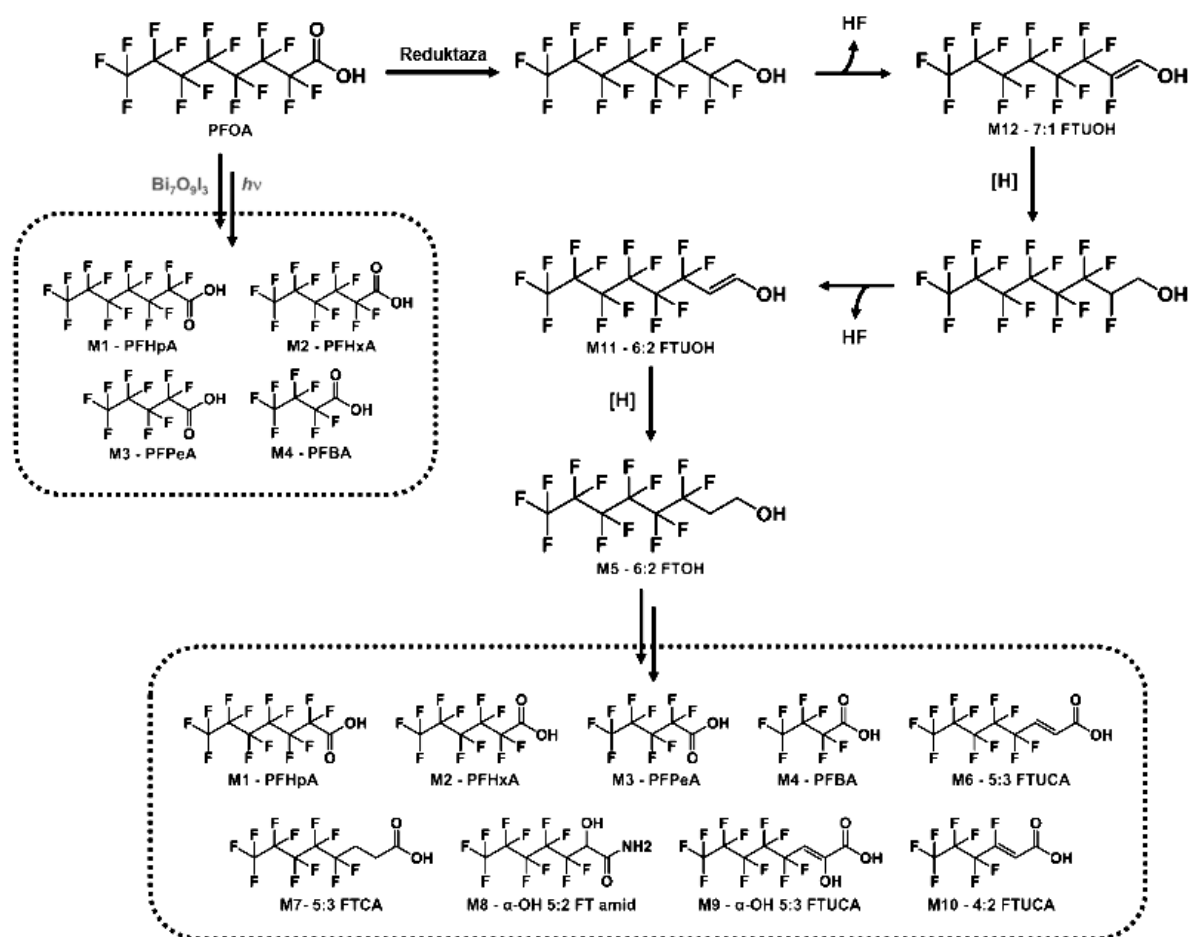
Kemijske strukture u zagradama predstavljaju pretpostavljene intermedijere, a dvostruke strelice označavaju višestruke enzimske korake (*prema* Merino, 2016)

Tseng i sur. (2014) proveli su istraživanje o biotransformaciji 6:2 FTOH pomoću gljive bijelog truljenja *Phanerochaete chrysosporium*. U 28 dana aktivne kulture *P. chrysosporium* transformirale su 6:2 FTOH u PFCA, polifluoroalkil karboksilne kiseline i prolazne intermedijere, a 5:3 kiselina bila je glavni proizvod fungalne transformacije. Isto tako sugerirano je da je ograničen izvor glukoze potreban da kultura gljiva aktivno transformira 6:2 FTOH, jer je *P. chrysosporium* koji raste uz kontinuiranu opskrbu 1 % glukoze jedva biotransformirao 6:2 FTOH, a *P. chrysosporium* s 0,1 % glukozom kao kosupstratom transformirao je 6:2 FTOH, i to puno brže nego bez glukoze (Tseng i sur., 2014).

Cranwill (2022) je ispitala potencijal lakaze iz *Trametes versicolor* za razgradnju PFASs. Procijenjen je potencijal za biorazgradnju pet PFASs pomoću lakaze i pomoću sustava lakaza-1-hidroksibenzotriazol sa bakar (II) sulfatnim ili citrat fosfatni puferom pri pH 4,5. Pet PFASs u ovom istraživanju bile su PFOA, PFOS, 6:2 fluorotelomer karboksilna kiselina, 6:2 fluorotelomer sulfonska kiselina i amonijeva sol heksafluoropropilen oksid dimerne kiseline, te je u eksperimentu sa citrat fosfatnim puferom kao dodatan PFAS evaluirana i 7:3 fluorotelomer karboksilna kiselina. U otopini bakrovog sulfata niti lakaza niti lakaza-HBT sustav nisu uspjeli razgraditi niti jedan PFASs. U eksperimentu sa citrat fosfatnim puferom razgradnja tri fluorotelomera bila je uspješna. Od toga su se oni sa 6:2 strukturom lanca razgradili u odsustvu HBT, a fluorotelomer sa 7:3 strukturom lanca razgradio se u prisutnosti HBT. PFOA i PFOS nisu se razgradili ni u eksperimentima sa citrat fosfatnim puferom. Ponavljanjem eksperimenata sa različitim koncentracijama bakra moglo bi se odrediti inhibira li bakar sustav lakaza_{TV}-HBT, a ponavljanjem eksperimenata sa različitim metalnim ionima u različitim koncentracijama moglo bi se odrediti trebaju li lakaze iz različitih izvora različite metalne ione u lakaza-HBT sustavima (Cranwill, 2022).

Steffens i sur. (2023) također su ispitali mogućnost korištenja lakaze iz *T. versicolor*, same i u sustavu sa HBT, za biorazgradnju PFOA i PFOS. Reaktori su sadržavali i CuSO₄. U ovom istraživanju nije došlo do prepoznatljive razgradnje PFOA i PFOS. Međutim, nastao je artefakt koji je oponašao gubitak supstrata. Sorpcija supstrata na protein je stvorila artefakt. Već je poznato da se PFASs adsorbiraju na proteine, te bi adsorpcija sama po sebi mogla biti održiva strategija sanacije PFASs, međutim količina potrebnih enzima mogla bi biti previsoka (Steffens i sur., 2023).

Khan i sur. (2023) su istraživali razgradnju PFOA u kombinaciji fotokatalitičke razgradnje s bizmut jodid oksidom nakon koje je slijedila razgradnja sa gljivom *Cunninghamella elegans*. Nakon 3 h fotokatalitičke razgradnje došlo je do otprilike 35 % ukupne razgradnje sa 20 % defluorinacije. *Cunninghamella elegans* je nakon 48 h razgradila 40 % PFOA sa 30 % defluorinacije (Khan i sur., 2023). Prethodno je dokazana razgradnja 6:2 fluorotelomer alkohola sa *C. elegans* (Khan i Murphy, 2023), međutim ovo je bila prva zabilježena razgradnja PFOA u bilo kojoj gljivi (Khan i sur., 2023), a slika 5 prikazuje predloženi fungalni put razgradnje PFOA nakon fotokatalize.



Slika 5. Sažetak predloženog puta razgradnje obrade PFOA fotokatalizom i fungalne obrade (prema Khan i sur., 2023)

Nakon toga slijedila je sekvencijalna obrada PFOA koja je imala poboljšane rezultate razgradnje i defluorinacije, a najbolji ishod dobiven je sa fotokatalitičkim obradom u trajanju

od 2 h nakon kojeg je slijedila inkubacija s gljivom 48 h. Takvom obradom dobivena je 90 %-tna razgradnja PFOA sa 60 %-tnom defluorinacijom. Kod takve obrade se u putu razgradnje izbjegava nakupljanje inhibitora fungalne biorazgradnje 5:3 FTCA (*engl. 5:3 Fluorotelomer carboxylic acid*) što produžuje fungalni katabolizam fotokatalitičkih proizvoda i preostale PFOA. Ova metoda ima potencijal za održivu sanaciju PFOA i drugih PFASs u okolišu, međutim potrebna je optimizacija uvjeta da bi se osigurala potpuna razgradnja (Khan i sur., 2023).

3. ZAKLJUČCI

1. PFASs su izuzetno stabilni i tvrdokorni spojevi koji imaju štetan učinak na organizme te je potrebno pronaći učinkovite načine njihove sanacije.
2. Biološke metode obrade PFASs su poželjne iz ekoloških i ekonomskih razloga.
3. Fungalne metode istražuju se zbog nespecificnosti enzima gljiva. Posebno su zanimljive gljive bijelog truljenja koje tokom sekundarnog metabolizma izlučuju nespecifične enzimske komplekse koji imaju širok raspon supstrata na koje mogu djelovati.
4. Pokazan je potencijal za djelomičnu razgradnju PFAS putem fungalne transformacije, kao i pomoću enzima izoliranih iz funga, do spojeva koji imaju kraći lanac od roditeljskog spoja, i koji su vjerojatno benigniji za okoliš.

4. POPIS LITERATURE

- 3M Company (2000) Voluntary Use and Exposure Information Profile for Perfluorooctanoic Acid and Salts. USEPA Administrative Record AR226-0595. Available from: www.regulations.gov as document EPA-HQ-OPPT-2002-0051-0009.
- UNEP UN Environment Programme (2009) Governments unite to step-up reduction on global DDT reliance and add nine new chemicals under international treaty. [cited 2010 December 11]. Available from: <http://chm.pops.int/Convention/Pressrelease/COP4Geneva8May2009/tabid/542/language/en-US/Default.aspx>
- USEPA US Environmental Protection Agency (2000) EPA and 3M announce phaseout of PFOS. [cited 2011 January 9]. Available from: <http://yosemite.epa.gov/opa/admpress.nsf/0/33aa946e6cb11f35852568e1005246b4>
- Abatenh E, Gizaw B, Tsegaye Z, Wassie M (2017) The Role of Microorganisms in Bioremediation- A Review. *Open J Environ Biol* **2**, 038-046. <https://doi.org/10.17352/ojeb.000007>
- Ahrens L, Bundschus M (2014) Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the aquatic environment: A review. *Environ Toxicol Chem* **33**, 1921–1929. <https://doi.org/10.1002/etc.2663>
- Ahrens L, Felizeter S, Sturm R, Xie Z, Ebinghaus R (2009) Polyfluorinated compounds in waste water treatment plant effluents and surface waters along the River Elbe, Germany. *Mar Pollut Bull* **58**, 1326–1333. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.04.028>
- Alexander M (1999) Biodegradation and bioremediation. Gulf Professional Publishing, str. 4.
- Asgher M, Bhatti HN, Ashraf M, Legge RL (2008) Recent developments in biodegradation of industrial pollutants by white rot fungi and their enzyme system. *Biodegradation* **19**, 771–783. <https://doi.org/10.1007/s10532-008-9185-3>
- Blake BE, Fenton SE (2020) Early life exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and latent health outcomes: A review including the placenta as a target tissue and possible driver of peri- and postnatal effects. *Toxicology* **443**, 152565. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2020.152565>
- Buck RC, Franklin J, Berger U, Conder JM, Cousins IT, de Voogt P, i sur. (2011) Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and origins. *Integr Environ Assess Manag* **7**, 513-541.

<https://doi.org/10.1002/ieam.258>

Colosi LM, Pinto RA, Huang Q, Weber WJ (2009) Peroxidase-mediated degradation of perfluorooctanoic acid. *Environ Toxicol Chem* **28**, 264–271.

<https://doi.org/10.1897/08-282.1>

Cranwill A (2022) Potential of a Laccase from *Trametes versicolor* to Degrade Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Water (doktorski rad), Queen's University, Kingston.

D'Hollander W, de Voogt P, De Coen W, Bervoets L (2010) Perfluorinated substances in human food and other sources of human exposure. *Rev Environ Contam Toxicol* **208**,

179–215. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6880-7_4

Ding G, Peijnenburg WJGM (2013) Physicochemical properties and aquatic toxicity of poly- and perfluorinated compounds. *Crit Rev Env Sci Tech* **43**, 598–678.

<https://doi.org/10.1080/10643389.2011.627016>

Douna BK, Yousefi H (2023) Removal of PFAS by Biological Methods. *Asian Pac Environ Cancer*, **6**, 53-64. <https://doi.org/10.31557/APJEC.2023.6.1.53>

European Parliament (2006) Directive 2006/122/EC of the European Parliament and of the Council of 12 December 2006. Official Journal of the EU, 27 December 2006, L372/32-L372/34.

Glenn G, Shogren R, Jin X, Orts W, Hart-Cooper W, Olson L (2021) Per- and polyfluoroalkyl substances and their alternatives in paper food packaging. *Compr Rev Food Sci Food Saf* **20**, 2596-2625. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12726>

Gomis MI, Wang Z, Scheringer M, Cousins IT (2015) A modeling assessment of the physicochemical properties and environmental fate of emerging and novel per- and polyfluoroalkyl substances. *Sci Total Environ* **505**, 981-991.

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.10.062>

Hamid H, Li LY, Grace JR (2018) Review of the fate and transformation of per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in landfills. *Environ Pollut* **235**, 74-84.

<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.030>

Hollender J, Zimmermann SG, Koepke S, Krauss M, McArdell CS, Ort C, i sur. (2009) Elimination of organic micropollutants in a municipal wastewater treatment plant upgraded with a full-scale post-ozonation followed by sand filtration. *Environ Sci Technol* **43**, 7862–7869. <https://doi.org/10.1021/es9014629>

Jha G, Kankarla V, McLennon E, Pal S, Sihi D, Dari B, i sur. (2021) Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Integrated Crop–Livestock Systems: Environmental Exposure

- and Human Health Risks. *Int J Environ Res Public Health* **18**, 12550. <https://doi.org/10.3390/ijerph182312550>
- Kensa VM (2011) Bioremediation-an overview. *J Ind Pollut Control* **27**, 161–168.
- Khan MF, Murphy CD (2023) Fluorotelomer alcohols are efficiently biotransformed by *Cunninghamella elegans*. *Environ Sci Pollut Res* **30**, 23613–23623. <https://doi.org/10.1007/s11356-022-23901-0>
- Khan MF, Paul Guin J, Thampi RK, Sullivan JA, Murphy CD (2023) Enhanced removal of perfluorooctanoic acid with sequential photocatalysis and fungal treatment. U Environmental Science and Pollution Research. Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s11356-023-28588-5>
- Kissa E (2001) Fluorinated surfactants and repellents (2nd edition revised and expanded) (Surfactant science series 97). New York (NY): Marcel Dekker. 640 p.
- Lang JR, Allred BM, Peaslee GF, Field JA, Barlaz MA (2016) Release of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs) from Carpet and Clothing in Model Anaerobic Landfill Reactors. *Environ Sci Technol* **50**, 5024–5032. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b06237>
- Latif W, Ciniglia C, Iovinella M, Shafiq M, Papa S (2023) Role of White Rot Fungi in Industrial Wastewater Treatment: A Review. *Appl Sci* **13**, 8318. <https://doi.org/10.3390/app13148318>
- Liu J, Mejia Avendaño S (2013) Microbial degradation of polyfluoroalkyl chemicals in the environment: A review. *Environ Int* **61**, 98–114. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.08.022>
- Luo Q, Lu J, Zhang H, Wang Z, Feng M, Chiang S-YD, i sur. (2015) Laccase-Catalyzed Degradation of Perfluorooctanoic Acid. *Environ Sci Technol Lett* **2**, 198–203. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.5b00119>
- Luo Q, Yan X, Lu J, Huang Q (2018) Perfluorooctanesulfonate Degrades in a Laccase-Mediator System. *Environ Sci Technol* **52**, 10617–10626. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b00839>
- Manavalan T, Manavalan A, Heese K (2014) Characterization of Lignocellulolytic Enzymes from White-Rot Fungi. *Curr Microbiol* **70**, 485–498. <https://doi.org/10.1007/s00284-014-0743-0>
- Martin JW, Mabury SA, Solomon KR, Muir DCG (2003) Bioconcentration and tissue distribution of perfluorinated acids in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Environ*

- Toxicol Chem* **22**, 196–204. <https://doi.org/10.1002/etc.2376>
- Mei W, Sun H, Song M, Jiang L, Li Y, Lu W, i sur. (2021) Per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in the soil–plant system: Sorption, root uptake, and translocation. *Environ Int* **156**, 106642. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106642>
- Merino NSL (2016) Fungal Biotransformation of Polyfluoroalkyl Substances: Identification of Growth Substrates for Favorable Biotransformation Pathways (doktorski rad), UCLA, Los Angeles.
- Merino N, Wang M, Ambrocio R, Mak K, O'Connor E, Gao A, i sur. (2018) Fungal biotransformation of 6:2 fluorotelomer alcohol. *Remediation* **28**, 59–70. <https://doi.org/10.1002/rem.21550>
- Morsi R, Bilal M, Iqbal HMN, Ashraf SS (2020) Laccases and peroxidases: The smart, greener and futuristic biocatalytic tools to mitigate recalcitrant emerging pollutants. *Sci Total Environ* **714**, 136572. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.136572>
- Naidja A, Huang PM, Bollag JM (1998) Comparison of reaction products from the transformation of catechol catalyzed by birnessite or tyrosinase. *Soil Sci Soc Am J* **62**, 188–195. <https://doi.org/10.2136/sssaj1998.03615995006200010025x>
- Naidu R, Nadebaum P, Fang C, Cousins I, Pennell K, Conder J, i sur. (2020) Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): Current status and research needs. *Environ Technol Innov* **19**, 100915. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.100915>
- Paul AG, Jones KC, Sweetman AJ (2009) A first global production, emission, and environmental inventory for perfluorooctane sulfonate. *Environ Sci Technol* **43**, 386–392. <https://doi.org/10.1021/es802216n>
- Rodríguez-Couto S (2017) Industrial and environmental applications of white-rot fungi. *Mycosphere* **8**, 456–466. <https://doi.org/10.5943/mycosphere/8/3/7>
- Shahsavari E, Rouch D, Khudur LS, Thomas D, Aburto-Medina A, Ball AS (2021) Challenges and Current Status of the Biological Treatment of PFAS-Contaminated Soils. *Front Bioeng Biotechnol* **8**, 602040. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.602040>
- Steffens SD, Antell EH, Cook EK, Rao G, Britt RD, Sedlak DL, i sur. (2023) An Artifact of Perfluoroalkyl Acid (PFAA) Removal Attributed to Sorption Processes in a Laccase Mediator System. *Environ Sci Technol Lett* **10**, 337–342. <https://doi.org/10.1021/acs.estlett.3c00173>
- Stiebeling DA, Labes A (2022) Mycoremediation of sewage sludge and manure with marine fungi for the removal of organic pollutants. *Front Mar Sci* **9**, 946220.

<https://doi.org/10.3389/fmars.2022.946220>

- Tang KHD, Kristanti RA (2022) Bioremediation of perfluorochemicals: current state and the way forward. *Bioprocess Biosyst Eng* **45**, 1093–1109. <https://doi.org/10.1007/s00449-022-02694-z>
- Tseng N, Wang N, Szostek B, Mahendra S (2014) Biotransformation of 6:2 Fluorotelomer Alcohol (6:2 FTOH) by a Wood-Rotting Fungus. *Environ Sci Technol* **48**, 4012–4020. <https://doi.org/10.1021/es4057483>
- Verma S, Varma RS, Nadagouda MN (2021) Remediation and mineralization processes for per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in water: A review. *Sci Total Environ* **794**, 148987. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148987>
- Weber WJ, Huang Q (2003) Inclusion of persistent organic pollutants in humification processes: direct chemical incorporation of phenanthrene via oxidative coupling. *Environ Sci Technol* **37**, 4221–4227. <https://doi.org/10.1021/es030330u>
- Wei Z, Xu T, Zhao D (2019) Treatment of per- and polyfluoroalkyl substances in landfill leachate: status, chemistry and prospects. *Environ Sci Water Res Technol* **5**, 1814–1835. <https://doi.org/10.1039/c9ew00645a>
- Whiteley CG, Lee DJ (2006) Enzyme technology and biological remediation. *Enzyme Microb Technol* **38**, 291–316. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2005.10.010>
- Xiao F, Simcik MF, Halbach TR, Gulliver JS (2015) Perfluorooctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) in soils and groundwater of a U.S. metropolitan area: Migration and implications for human exposure. *Water Res* **72**, 64–74. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2014.09.052>

Izjava o izvornosti

Ja Ana Petrina izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

Ana Petrina
Vlastoručni potpis

