

UNIVERZITET U BEOGRADU
HEMIJSKI FAKULTET



Kristina Ž. Joksimović

**Elektrohemijska degradacija reaktivnih
organskih boja upotrebom mikrobnih
gorivnih ćelija**

doktorska disertacija

Beograd, 2023. godine

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF CHEMISTRY



Kristina Ž. Joksimović

**Electrochemical degradation of reactive
organic dyes using microbial fuel cells**

Doctoral dissertation

Belgrade, 2023

Mentori:

dr Vladimir Beškoski, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet

dr Danijela Randjelović, naučni savetnik

Univerzitet u Beogradu – Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju

Komisija:

dr Dragan Manojlović, redovni profesor

Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet,

dr Gordana Gojgić-Cvijović, naučni savetnik

Univerzitet u Beogradu - Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju

dr Ljubodrag Vujisić, vanredni profesor

Univerzitet u Beogradu - Hemijski fakultet

Datum odbrane:

Mojim najmilijima

Zahvalnica

Doktorska disertacija je urađena u laboratoriji Grupe za mikrobiološku hemiju i biotehnologiju Katedre za biohemiju u okviru Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu i Centra za hemiju, Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju (IHTM), Instituta od Nacionalnog značaja Republike Srbije, Univerziteta u Beogradu.

Mentoru, dr Vladimiru Beškoskom, redovnom profesoru Hemijskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, dugujem veliku zahvalnost pre svega na prilici da pod njegovim mentorstvom završim diplomski i master rad, zatim i za predloženu temu i neposredni rad tokom izrade doktorske disertacije. Neizmerno hvala na ukazanom poverenju da se pridružim timu, na prenetom znanju, kao i smernicama u radu tokom svih ovih godina saradnje. Mom drugom mentoru, dr Danijeli Ranđelović, naučnom savetniku IHTM-a, beskrajno hvala na pomoći tokom izvođenja eksperimentalnog rada, pisanju radova i izradi same teze. Bez Vašeg znanja i iskustva u oblasti elektrotehnike, ali i strpljenja tokom rada, ne bi bilo uspeha u izvođenju eksperimenata.

Hvala svim članovima komisije. Dr Gordani Gojgić-Cvijović, naučnom savetniku IHTM-a, dugujem veliku zahvalnost na neverovatnom znanju i iskustvu koje nesebično deli, što je imalo velikog uticaja na moje napredovanje u svetu nauke. Najlepše hvala na svim idejama i smernicama, koje su dovele do uspešnosti svakog započetog eksperimenta. Profesoru Draganu Manojloviću, redovnom profesoru Hemijskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu zahvaljujem na velikodušnoj pomoći i divnoj saradnji tokom izvođenja eksperimenata. Veliko hvala i dr Ljubodragu Vujisiću, vanrednom profesoru Hemijskog fakulteta na vremenu koje je posvetio tokom čitanja ove disertacije i na mnogobrojnim sugestijama i savetima.

Dragom profesoru, dr Miroslavu Vrviću, profesoru u penziji Hemijskog fakulteta, dugujem iskrenu zahvalnost na prenesenom znanju, ukazanom poverenju i pozitivnoj atmosferi tokom svih ovih godina saradnje. Kolegama iz laboratorije Grupe za mikrobiološku hemiju i biotehnologiju beskrajno hvala na brojnim savetima, podršci i divnoj saradnji. Prijateljici, kolegini i članu porodice, dr Aleksandri Žerađanin neizmerno hvala na pomoći, podršci prilikom izrade teze, ali i svemu kroz šta smo prošle zajedno na putu do doktorske titule.

Zahvaljujem se i saradnicima iz IHTM-a, Centra za mikroelektronske tehnologije, dipl. maš. inž. Bogdanu Popoviću, el. inž. Marku Starčeviću i el. teh. Jožetu Živkoviću, na realizaciji određenih elemenata neophodnih za eksperimentalni deo rada. Takođe, kolegi Igoru Kodranovu veliko hvala na razumevanju i pomoći tokom izvođenja svih eksperimenata, kao i saradnicima iz laboratorije za analitičku hemiju, profesora Manojlovića. ICP-MS i HPLC analiza uzoraka je rađena u Anahemu d.o.o., na čemu se posebno zahvaljujem Latinki Slavković Beškoski i Jeleni Radulović. Za metagenomsku analizu i interpretaciju rezultata veliko hvala vanrednom profesoru dr Hideyuki Inuiju sa Univerziteta u Kobeu i mlađem vanrednom profesoru dr Haruko Sakurami sa Univerziteta u Kjotu.

Mojim dragim prijateljicama i kumama, Bojani i Juliji veliko hvala na bezuslovnoj podršci i pomoći koju su mi pružile tokom svih ovih godina studiranja. Jelici i Filipu, takođe hvala na svim satima druženja koje smo proveli na studijama, na poslu ali i van njega.

Ne mogu da nađem prave reči da izrazim ogromnu zahvalnost, mojim roditeljima, Biljani i Živoslavu, za sve što su mi pružili tokom svih ovih godina školovanja. Bez vas ništa od ovoga ne bi bilo moguće. Anđeli i Vukašinu, hvala na neizmernoj ljubavi i ogromnoj podršci koja me prati.

Konačno, mojim momcima, Đurađu i Srđanu hvala na svakodnevnoj radosti kojom me ispunjavate i što ste mi dali snagu da izguram ovo do kraja!

Kristina Ž. Joksimović

Elektrohemijska degradacija reaktivnih organskih boja upotrebom mikrobnih gorivnih ćelija

SAŽETAK

Cilj ove disertacije je primena MFC sistema kao obnovljivog izvora „zelene“ energije za tretman otpadnih voda. U tu svrhu je izvršena optimizacija MFC radi dobijanja struje odgovarajućeg intenziteta, koja se može iskoristiti za razgradnju reaktivnih organskih boja, glavnih zagađujućih supstanci otpadnih voda. Prvi deo istraživanja obuhvata fizičko-hemijsku i mikrobiološku karakterizaciju rečnog sedimenta koji je dalje korišćen za konstrukciju MFC sistema. Formirane su četiri MFC ćelije: sa sterilnim, sa originalnim, sa biostimulisanim i sa biostimulisanim/biaugmentisanim rečnim sedimentom. Merenja napona na formiranim ćelijama su pokazala da MFC sistem sa biostimulisanim sedimentom daje najbolje performanse.

Fokus u drugom delu eksperimenata je bio izolovanje i karakterizacija mikroorganizama koji su dominantno zastupljeni u sedimentu, a ujedno su i zaslužni za procese oksidacije u anodnom delu koji omogućavaju generisanje struje preko MFC. Izvršena je metagenomska analiza u uzorku rečnog sedimenta i u biostimulisanom rečnom sedimentu, kako bi se uporedio profil zastupljenih zajednica mikroorganizama.

Studija degradacije i dekolorizacije Reactive Black 5 (RB5) azo boje izvedena je pomoću elektrohemijski unapređenog oksidacionog procesa i opisana je u trećem segmentu disertacije. Elektro-Fentonov proces je uspostavljen upotrebom radne elektrode od 15% Fe i dodatkom H₂O₂ u rastvor RB5 boje, dok je set od tri paralelno vezane MFC, sa biostimulisanim sedimentom, služio kao izvor struje. Optimizacija procesa elektrohemijskog tretmana RB5 je sprovedena na koncentraciji boje od 25 mg/L. Efikasnost degradacija RB5 boje je potvrđena upotrebom analitičkih metoda UV/VIS, FTIR i HPLC-MS. Testovi za procenu ekotoksičnosti, izvedeni pomoću *Aliivibrio fischeri*, pokazuju da su degradacioni proizvodi nastali u ovom eksperimentu manje toksični od polazne boje.

Ključne reči: mikrobnne gorivne ćelije; metagenomska analiza; degradacija Reactive Black 5; elektro-Fentonov proces

Naučna oblast: Hemija

Uža naučna oblast: Biohemija

Electrochemical degradation of reactive organic dyes using microbial fuel cells

ABSTRACT

The goal of this dissertation is application of the MFC system as a renewable „green“ energy source in wastewater treatment. For this purpose MFC was optimized in order to obtain a suitable amount of electricity that can be used to decompose reactive organic dyes, the primary pollutants of wastewaters. The first part of the research includes physico-chemical and microbiological analysis of the river sediment, which was further used to construct the MFC system. Four MFC cells were formed containing: sterile, original, stimulated and biostimulated/bioaugmented river sediment. Voltage measurements on the established cells showed that the MFC with biostimulated sediment exhibited the best performance.

The focus of the second part of the study was the isolation and characterization of microorganisms that are dominantly represented in the sediment, which enable the generation of current through the MFC. Metagenomic analysis was used to compare the profiles of microbial populations in a composite of river sediment and biostimulated river sediment.

The study of degradation and decolorization of Reactive Black 5 (RB5) azo dye investigated using an electrochemically improved oxidation process is described in the last part of the dissertation. The Electro-Fenton process was established using a working electrode of 15% Fe and the addition of H₂O₂ to the RB5 dye solution, while a set of three MFCs connected in parallel, with biostimulated sediment, served as the current source. Optimization of the RB5 electrochemical treatment process was carried out at a dye concentration of 25 mg/L. The efficiency of degradation of RB5 dye was confirmed using analytical methods UV/VIS, FTIR and HPLC-MS. Ecotoxicity assessment tests, performed using *Aliivibrio fischeri*, show that the degradation products formed in this experiment are less toxic than the starting dye.

Keywords: microbial fuel cell; metagenomics analysis; degradation of Reactive Black 5; electro-Fenton process.

Scientific field: Chemistry

Scientific subfield: Biochemistry

SPISAK SKRAĆENICA I SIMBOLA

A_{an} – površina anode

AATCC – Američka asocijacija za tekstil i boje („American Association of Textile Chemists and Colourists”)

AB – anaerobne mezofilne hemoorganoheterotrofne bakterije

AEM – anjon izmenjivačke membrane

AOP – unapređeni oksidacioni procesi

ATP – adenzin-trifosfat

BOD – biohemijska potreba za kiseonikom

BPSH – disulfonovani poli-(arilen-etar-sulfon)

CEM – katjon izmenjivačka membrana

CI – indeks boje

COD – hemijska potreba za kiseonikom

DNK – dezoksiribonukleinska kiselina

FTIR – infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom

E₀ – standardni potencijal elektrode

EA – elektrohemijska aktivnost

EC₅₀ – efektivno razblaženje uzorka koje izaziva 50% inhibicije luminiscencije

EIS – spektroskopija elektrohemijske impedanse

E_{MFC} – elektromotorna sila MFC

EDX – energetski disperzivna rendgenska spektrometrija

HAB – hemoorganoheterotrofne, aerobne i fakultativno anaerobne bakterije

HPLC – tečna hromatografija visokih performansi

I – struja

I_{den} – gustina struje

ICP-MS – optička emisiona spektroskopija sa masenom spektrometrijom

IUPAC – međunarodna unija za čistu i primenjenu hemiju („International Union of Pure and Applied Chemistry”)

KP – kvasci i plesni

I_{An} – dužina anode

LD₅₀ – letalna doza za 50% jedinki

MFC – mikrobne gorivne ćelije

MFC₀ – kontrolna ćelija

MFC_I – ćelija sa kompozitom rečnog sedimenta

MFC_{II} – ćelija sa biostimulisanim kompozitom rečnog sedimenta

MFC_{III} – ćelija sa biostimulisanim i bioaugmentisanim kompozitom rečnog sedimenta

NAD⁺ – nikotinamid adenin dinukleotid

NADH – redukovani NAD⁺

NAD(P)H – nikotinamid adenin dinukleotid-fosfat

OCV – napon otvorenog kola

ORR – brzina redukcije kiseonika

P_{den} – gustina snage

P_n – snaga

PEM – semipermeabilna membrana

PPD – para-fenilendiamin

RB5 – boja reaktivna crna 5

R_i – unutrašnji otpor MFC

R_Ω – omski otpor

RNK – ribonukleinska kiselina

ROS – reaktivne kiseonične vrste

SDC – društvo bojadžija i kolorista („The Society of Dyers and Colourists”)

SEM – skenirajuća elektronska mikroskopija

SPEEK – sulfonovani poli-etar-etar-keton

SRB – sulfat-redukujuće bakterije

s.s. – suva supstanca

UV/VIS – ultraljubičasta-vidljiva spektrofotometrija

w_{An} – širina anode

ΔU – razlika napona tokom prekida struje

Sadržaj:

1. Uvod	1
2. Pregled literature	4
2.1. <i>Mikrobne gorivne ćelije: mehanizam generisanja energije</i>	5
2.1.1. Struktura MFC sistema	5
2.1.2. Anoda.....	7
2.1.2.1. Konvencionalni anodni materijali.....	8
2.1.2.2. Savremeni anodni materijali	10
2.1.3. Katoda.....	12
2.1.3.1. Ugljenični materijali	12
2.1.3.2. Materijali na bazi metala	13
2.1.3.3. Materijali na bazi metal-azot-ugljenik kompleksa	14
2.1.3.4. Alternativni akceptori elektrona na katodi	14
2.1.4. Membrana	16
2.1.5. Mikroorganizmi	18
2.1.5.1. Zajednice mikroorganizama kao elektrogeni na anodi	21
2.1.5.2. Mehanizam transporta elektrona na elektrode	22
2.2. <i>Tipovi MFC reaktora</i>	24
2.2.1. Jednocomorni MFC sistemi.....	24
2.2.2. Dvocomorni MFC sistemi	25
2.2.3. MFC sistemi uzlaznog toka	26
2.2.4. Složeni MFC sistemi.....	27
2.2.5. Ostali faktori koji utiču na performanse MFC	27
2.2.5.1. Supstrat	27
2.2.5.2. pH vrednost.....	28
2.2.5.3. Temperatura	28
2.2.5.4. Salinitet.....	29
2.2.5.5. Spoljašnji otpor.....	29
2.3. <i>Unutrašnja otpornost MFC sistema</i>	29
2.3.1. Metoda polarizacione krive	30
2.3.2. Metoda prekida struje	30
2.3.3. Spektroskopija elektrohemijske impedanse.....	30

2.3.4. Metoda pika gustine snage.....	31
2.3.4.1. Razdelnik napona na sistemu MFC	32
2.4. Profil snage MFC sistema	32
2.4.1. Normiranje vrednosti snage prema površini elektroda	32
2.4.2. Normiranje vrednosti snage prema zapremini sistema	33
2.4.3. Polarizaciona kriva i kriva gustine snage MFC	33
2.4.4. Uticaj spoljnih elemenata na napon MFC	35
2.5. Značaj i primena MFC	36
2.5.1. Proizvodnja električne energije	36
2.5.2. Tretman otpadnih voda	36
2.5.3. Biosenzori	38
2.5.4. Produkcija biovodonika	40
2.5.5. Perspektive primena MFC	40
2.6. Reaktivne organske (azo) boje	42
2.6.1. Podela boja po broju azo grupa	42
2.6.2. Hemijske osobine azo boja	43
2.6.2.1. Reaktivnost	43
2.6.2.2. Izomerizacija.....	43
2.6.2.3. Tautomerizam	44
2.6.3. Primena azo boja.....	45
2.6.4. Toksičnost azo boja	45
2.6.5. Degradacija azo boja.....	48
2.6.5.1. Fizičko-hemijske metode degradacije azo boja.....	49
2.6.5.2. Membranska filtracija.....	49
2.6.5.3. Koagulacija/flokulacija.....	50
2.6.5.4. Elektrohemijska degradacija.....	50
2.6.5.5. Fotokatalitička degradacija	52
2.6.6. Biodegradacija azo boja.....	53
2.6.6.1. Anaerobna degradacija azo boja.....	53
2.6.6.2. Aerobna degradacija azo boja.....	54
2.6.6.3. Kombinovani „anaerobni/aerobni” tretman za degradaciju azo boja	55

3. Materijal i metode	56
3.1. Uzorkovanje i ispitivanje sedimenta	57
3.1.1. Analitičke metode.....	57
3.1.1.1. Određivanje pH vrednosti sedimenta.....	57
3.1.1.2. Određivanje sadržaja vlage.....	57
3.1.1.3. Određivanje sadržaja karbonata.....	57
3.1.1.4. Elementarna organska mikroanaliza uzorka sedimenta.....	58
3.1.1.5. Određivanje sadržaja metala indukovano spregnutom plazmom sa masenom spektrometrijom (ICP-MS).....	58
3.1.2. Mikrobiološke metode.....	58
3.1.2.1. Podloge za izolovanje, umnožavanje i određivanje broja mikroorganizama.....	58
3.1.2.2. Hranljivi agar.....	58
3.1.2.3. Sladni agar.....	58
3.1.2.4. Hranljivi agar sa 0,5 % glukoze.....	58
3.1.2.5. Sulfitni agar.....	58
3.1.2.6. Baar-ova podloga.....	58
3.1.2.7. Pomoćni mikrobiološki rastvori.....	59
3.1.3. Identifikacija bakterijskih sojeva.....	59
3.1.3.1. 16S rRNK analiza.....	59
3.1.3.2. Metagenomska analiza.....	59
3.1.4. Priprema i umnožavanje biomase konzorcijuma mikroorganizama izolovanih sulfat-redukujućih bakterija za pripremu sedimenta MFC.....	60
3.2. Konstrukcija mikrobne gorivne ćelije (MFC)	60
3.2.1. Merenje aktivnosti MFC.....	61
3.2.3. Obrada i predstavljanje podataka.....	63
3.3. Elektrohemijska degradacija Reactive Black 5 (RB5)	63
3.3.1. Radna elektroda.....	63
3.4. Detekcija proizvoda degradacije	64
3.4.1. UV/VIS spektrofotometrija.....	64
3.4.2. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR).....	64
3.4.3. Tečna hromatografija visokih performansi (HPLC).....	65
3.5. Ispitivanje ekotoksičnosti proizvoda degradacije RB5 boje	65

4. Rezultati i diskusija	66
4.1. Optimizacija rada MFC sistema	67
4.1.1. Karakterizacija rečnog sedimenta fizičko-hemijskim i mikrobiološkim metodama	67
4.1.2. Eksperimentalna postavka MFC ćelija	68
4.1.3. Performanse MFC ćelija korišćenih za degradaciju RB5	73
4.2. Analiza mikrobnih zajednica u sedimentima	74
4.2.1. Izolovanje i karakterizacija mikroorganizama	74
4.2.2. Metagenomska analiza sedimenta	78
4.3. Dekolorizacija i degradacija azo boje RB5	79
4.3.1. Dekolorizacija različitih koncentracija boje RB5	79
4.3.2. Optimizacija dekolozacije RB5 sa varijacijama u koncentraciji peroksida	80
4.3.3. Analiza degradacionih proizvoda boje RB5	81
4.3.3.1. Rezultati UV/VIS spektrofotometrije	81
4.3.3.2. FTIR analiza degradovane RB5 boje	83
4.3.3.3. HPLC analiza degradovane RB5 boje	83
4.3.3.4. Uticaj boje RB5 i njenih degradacionih produkata na <i>Aliivibrio fischeri</i>	86
5. Zaključci	87
6. Literatura	90

1. Uvod

Porast svetske populacije doveo je do eksponencijalnog rasta u potrošnji energije. Negativan uticaj neobnovljivih izvora energije (fosilnih goriva i nuklearne energije na bazi uranijuma U-235) na životnu sredinu zahteva pronalaženje boljih rešenja energetske krize. Potraga za novim energetskim alternativama dovela je do okretanja ka obnovljivim izvorima energije poput Sunca i energije dobijene radom vetra i vode. Zahvaljujući sposobnosti generisanja struje iz otpadnih sirovina, mikrobne gorivne ćelije predstavljaju još jedan oblik izvora električne energije. Uz pomoć elektroaktivnih bakterija koje razgrađuju organske molekule, mikrobne gorivne ćelije poseduju sposobnost proizvodnje bioelektrične energije. Na ovaj način istovremeno dolazi do rešavanja dva globalna problema: biorazgradnje organskih komponenti u zagađenoj životnoj sredini i stvaranja električne energije. Premda je količina proizvedene energije na ovaj način daleko niža od energije dobijene konvencionalnim procesima, njena primena bi mogla da se koristi za napajanje malih telemetrijskih uređaja i biosenzora na lokalnom nivou.

Osnovni resurs za sve životne potrebe koje se obavljaju na planeti Zemlji, sa svojih 71% zastupljenosti, čini vodeni ekosistem. Razvoj globalne industrijalizacije i urbanizacije doveo je do velike proizvodnje otpadnih voda. Prečišćavanje i bezbedno odlaganje otpadnih voda jedno je od najozbiljnijih pitanja, na čijem rešavanju se svakodnevno radi. Među glavnim proizvođačima otpadnih voda je tekstilna industrija. Nепrečišćene otpadne vode iz tekstilne industrije, koje sadrže različite količine organskih i neorganskih zagađujućih supstanci, u značajnim količinama završavaju u životnoj sredini. Ovaj problem je odavno prešao globalne razmere, a naročito je izražen u manje razvijenim zemljama, sa niskim kapacitetom prerade otpada. Godišnja proizvodnja boja prelazi milion tona, dok je tekstilna industrija jedan od najvećih zagađivača voda među različitim ljudskim aktivnostima. Oko 70% svih tekstilnih boja predstavljaju azo boje. Potrošnja vode za bojenje i doradu pamučnog tekstila može se proceniti na oko 200 litara vode na svaki kilogram pamučne robe. Poznato je da više od 50% primenjenih boja završi kao otpadna voda. Prisustvo nefiksiranih boja u tekstilnim otpadnim vodama smatra se jednim od glavnih problema zaštite životne sredine i potrebno ih je ukloniti iz otpadnih voda pre ispuštanja u dostupne vodotokove. Glavni pokazatelj prisustva zagađenja je prisustvo različitih nijansi boja na površini vode.

Na svim industrijskim nivoima najčešće je u upotrebi organska azo boja. Azo boje sadrže najmanje jednu hromoforu koju čini azo grupa ($-N=N-$). Sposobnost za brzo formiranje kovalentnih veza sa hidroksilnom ili amino grupom na tekstilnim podlogama, je upravo ono što azo boje izdvaja u odnosu na konkurentne za široku upotrebu. Njihova struktura obezbeđuje visoku hemijsku i fotolitičku stabilnost, što implicira njihovu postojanost u životnoj sredini. Boje koje završe u otpadnim vodama, a potom se prenesu i dalje kroz životnu sredinu, predstavljaju izuzetnu pretnju po živi svet. Potencijalne alergije i sve veća potvrda kancerogenog i mutagenog svojstva boja na zdravlje ljudi je nešto sa čime se bore mnoge industrijski razvijene zemlje. Degradacija i dekolorizacija azo boja znatno je otežana zbog njihove složene strukture. Tradicionalni pristupi u razgradnji tekstilnih otpadnih voda (koagulacija, hemijska flokulacija i filtracija) ne rešavaju u potpunosti problem, zbog nagomilavanja otpada u vidu mulja. Kao najefikasnija tehnologija u tretmanima otpadnih voda, pokazala se elektrohemijaska degradacija. Sposobnost da delimično ili potpuno ukloni određenu količinu zagađujuće organske supstance u otpadnim vodama, čini elektrohemijske procese ekološki prihvatljivim. Ipak, cena celokupnog postupka je ono što ograničava elektrohemijsku primenu. Jedan od načina da se reši ovaj problem je korišćenje električne energije koju proizvode mikrobne gorivne ćelije, za elektrohemijske tretmane.

Cilj ovog rada je bio da se optimizuje proizvodnja električne energije pomoću mikrobnih gorivnih ćelija, koja će se primeniti na elektrohemijsku razgradnju reaktivnih organskih azo boja. Stepentoksičnosti rastvora boje sa početka i nakon tretmana, ispitan je pomoću ekotoksikološke analize. Da bi uspešno realizovali studiju, neophodno je bilo sprovesti sledeće zadatke:

- Okarakterisati kompozitni uzorak rečnog sedimenta, koji će se koristiti u sistemu mikrobne gorivne ćelije;
- Konstruisati jednokomornu MFC ćeliju i izvršiti merenja napona, a zatim proračunati gustinu struje i snage koju sistem proizvodi;
- Mikrobiološkim i molekularnim metodama okarakterisati zajednicu zastupljenih mikroorganizama, u cilju pravljenja konzorcijama izabranih sojeva koji će doprineti boljim performansama mikrobne gorivne ćelije i generisanju maksimalnih vrednosti struje;
- Napraviti sistem od više paralelno povezanih mikrobnih gorivnih ćelija i sabrane vrednosti električne struje usmeriti na elektrohemijsku degradaciju organske azo boje (Reactive Black 5);
- Ispitati analitičkim metodama dobijene proizvode boje nakon elektrohemijskog tretmana;
- Testirati ekotoksičnost dobijenih proizvoda degradacije azo boje na model sistemu *Aliivibrio fischeri*.

2. Pregled literature

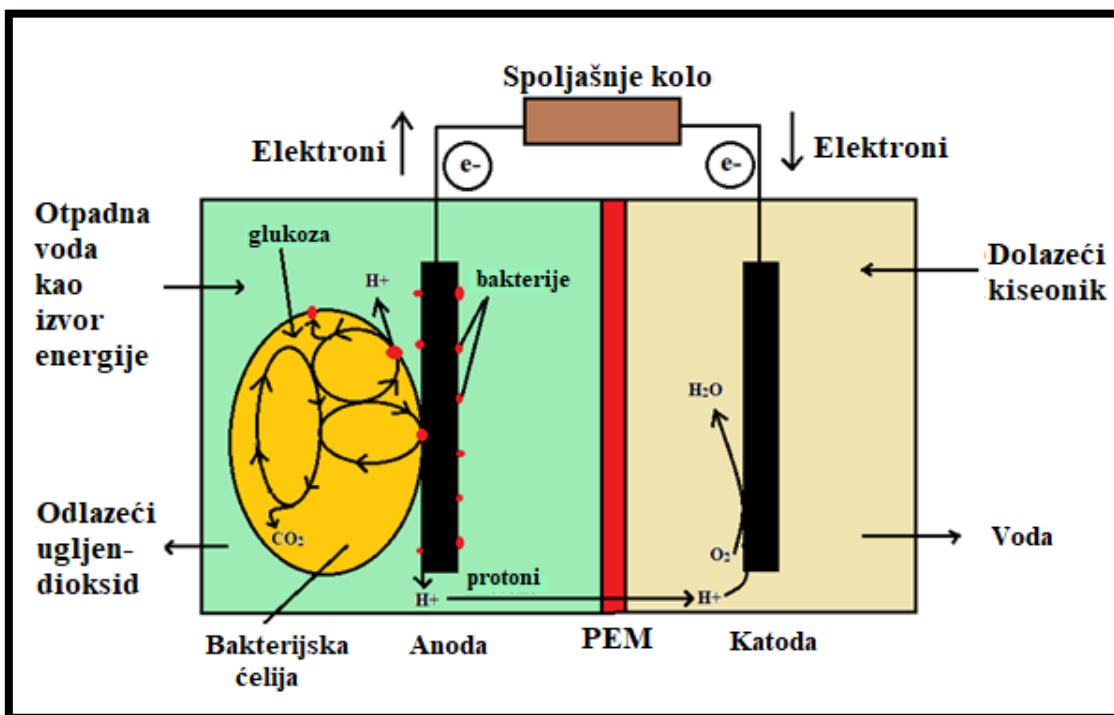
2.1. Mikrobnе gorivne ćelije: mehanizam generisanja energije

Potreba za novim obnovljivim izvorima energije, dovela je do razvoja mikrobnih gorivnih ćelija (eng. Microbial fuel cell, MFC). MFC su osmišljene kao novi pristup generisanja električne energije (bioelektrične energije) iz biomase, koristeći bakterije (Logan, 2008). Prvi koncept proizvodnje elektriciteta, pomoću živih organizama, pripisuje se Galvaniju i njegovim eksperimentima na žabama, koji potiče još iz 18. veka (Santoro et al., 2017), dok prvobitna ideja o korišćenju mikroorganizama za generisanje električne energije pripada Poteru (Potter, 1911). Dalji napredak i razvoj MFC sistema objavljeni su u Koenovim istraživanjima (Cohen, 1931), dok su se katalizatorima ključnim za MFC bavili Karube i saradnici tokom 60-tih godina (Karube et al., 1976). Tokom 80-tih i 90-tih godina prošlog veka razvijena je primena takozvanog analitičkog MFC sistema, koji se i danas upotrebljava (Bennetto, 1990). Ovi rani primeri predstavljaju odličnu osnovu za razumevanje mehanizama prenosa elektrona i funkcionisanja čitavog sistema, ali dalji razvoj i poboljšanje rada MFC je nešto što tek čeka svoju ekspanziju.

MFC sisteme čine aktivni mikroorganizmi koji služe kao biokatalizatori u reakcijama oksidacije supstrata, odnosno organskih supstanci (Ivars-Barceló et al., 2018, Masoudi et al., 2020). Mikroorganizmi degraduju (oksiduju) dostupnu organsku komponentu, proizvodeći elektrone koji putuju kroz seriju respiratornih enzima smeštenih na nivou elektron-transportnog lanca ćelijske membrane, time stvarajući gradijent protona u formi elektrohemijskog potencijala koji se može upotrebiti za deponovanje energije u vidu adenzin-trifosfata (eng. Adenosine triphosphate, ATP). Elektroni putem prenosioca putuju do krajnjeg akceptora, koji se njihovim preuzimanjem redukuje (Logan, 2008). Deo elektrona može preći i na odgovarajuću anodu. Drugim rečima, MFC sistemi transformišu energiju nastalu raskidanjem hemijskih veza organskih jedinjenja ciljano u električnu energiju bez velikih gubitaka, što ih čini direktnim pretvaračima energije (Kiran, Gaur, 2013, Xu et al., 2016).

2.1.1. Struktura MFC sistema

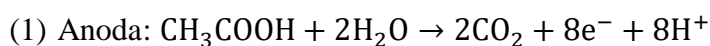
Na slici 2.1. je prikazana jedna od najčešće korišćenih MFC sistema. Njene glavne komponente predstavljaju dva odeljka, sa anodnom i katodnom elektrodom koji su u u slučaju složenijih sistema razdvojeni membranom.



Slika 2.1. Shematski prikaz osnovnih komponenti sistema MFC. Anodni i katodni deo su razdvojeni semipermeabilnom membranom (eng. Proton Exchange Membrane, PEM) za elektrone. Bakterijske kulture obrastaju anodu, oksidujući organsku supstancu prebacuju deo elektrona na anodu i otpuštaju protone u rastvor. Katoda, koja je u dodiru sa kiseonikom, omogućava reakciju između elektrona, protona i dostupnog kiseonika, na taj način zatvarajući ciklus i stvarajući energiju. Sistem je povezan otpornikom, preko kojeg se generiše energija (Adaptirano: Bose et al., 2018).

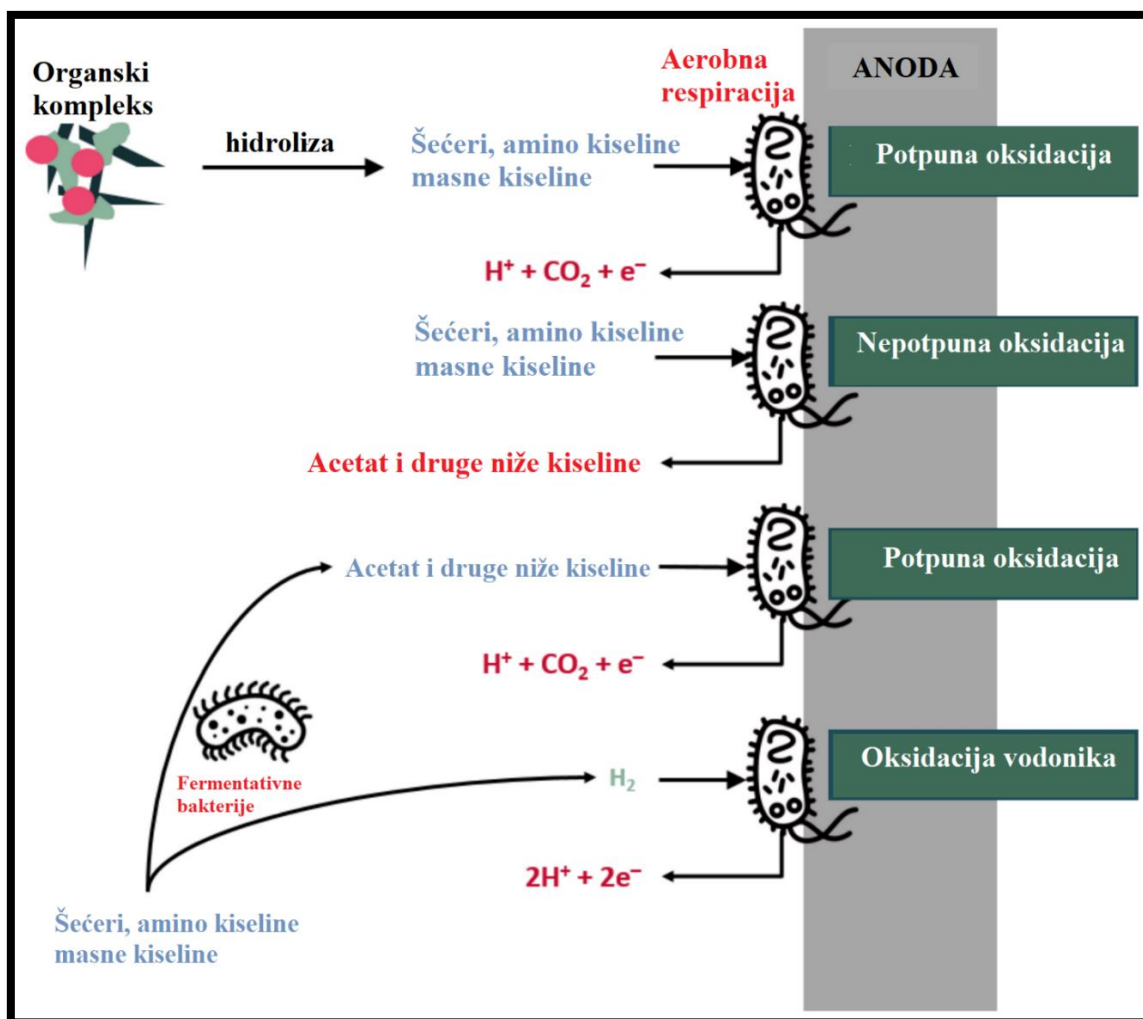
U anodnom delu odvija se razgradnja supstrata od strane bakterija što dovodi do produkcije elektrona i protona (Mashkour et al., 2021). Kiseonik svojim prisustvom ometa rad anaerobnih mikroorganizama u anodnom delu, pa je njegovo uklanjanje rešeno postavljanjem membrane. Membrana omogućava prolazak jona između anodnog dela, u kom se odvijaju bakterijski procesi i katodnog dela, gde dolazi do reakcije elektrona sa odgovarajućim katalitom. Proces u katodnom delu zahtevaju prisustvo kiseonika, pa se često komora dodatno aeriše. Svaka komora sadrži odgovarajuću elektrodu, anodu i katodu, koje su spojene provodnom žicom. Žica omogućava transfer elektrona iz anodnog dela do katode, gde dolazi do reakcije sa protonom i kiseonikom, pri čemu pored oslobođene energije nastaje i voda (Logan, 2008, Rahimnejad et al., 2015).

Reakcija koja se dešava na elektrodi u anodnom delu kod MFC predstavljena je na primeru sirćetne kiseline (kao organski izvor energije) u jednačini 1. Anodnom oksidacijom supstrata dolazi do generisanja elektrona koji se koriste u daljem radu spoljnog potrošača i redukuju kiseonik na katodi. Brzina reakcije sistema je određena redukcijom kiseonika (Rahimnejad et al., 2015, Santoro et al., 2017).



2.1.2. Anoda

Anodni deo smatra se osnovom MFC sistema, jer se isključivo preko njega odvija generisanje i dalji transport protona i elektrona. Prisustvo mikroorganizama, koji formiraju biofilm na anodnoj elektrodi, omogućava oksidativno razlaganje organskog supstrata u jednostavne molekule. Kao proizvod reakcija koje se dešavaju na anodi (slika 2.2.) nastaje elektron-protonski par. Odgovarajućim transportnim sistemima, ovaj par se premešta u katodni deo u kom se dalje odvijaju reakcije prikazane u jednačini 1 (Cai et al., 2020, Logan, 2008). Reakcije anodnog dela isključuju prisustvo kiseonika, jer se katalitička uloga mikroorganizama dešava isključivo u anaerobnim uslovima (Hoang et al., 2022, Yaqoob et al., 2021).



Slika 2.2. Proces oksidacije organskog supstrata na površini anode u prisustvu biofilma za generisanje elektrona i protona (Adaptirano: Nosek et al., 2020).

Materijal anodne elektrode i njen dizajn su najvažniji i odlučujući faktori koji doprinose performansama MFC (Wang et al., 2023). Istraživanja su do sada pokazala da izlazna energija MFC u velikoj meri zavisi od izbora i karakteristika anodne elektrode (ElMekawy et al., 2017). Dizajniranje elektrode je praćeno selekcijom mikroorganizama koji obavljaju procese razgradnje na anodi. Kriterijumi za odabir materijala su prilično teški, jer izbor anodnog materijala ima direktan uticaj na druge MFC parametre, kao što su oksidacija supstrata, transformacija elektrona, bakterijska adhezija, karakteristike biofilma i sam bakterijski rast (Khudzari et al., 2019). Ostali parametri MFC takođe imaju važnu ulogu, ali svi direktno zavise od performansi anodnog materijala. Stoga, da bi se generisala dovoljna količina energije, materijal za anodnu elektrodu mora biti idealan. Nakon

širokog pregleda literature poželjne karakteristike koje odlikuju anodu uključuju (Hoang et al., 2022, Kumar et al., 2013, Logan, 2008, Yaqoob et al., 2021):

- I. **Biokompatibilnost materijala:** Bakterije zastupljene u anodnom delu, najčešće formiraju biofilm oko površine anode i tu oksiduju organski supstrat, te je stoga neophodno da anoda bude izgrađena od odgovarajućeg materijala. Materijal za izradu elektrode treba da zadovoljava odgovarajuće biološke potrebe, da je hemijski stabilan, biološki što inertniji i bez toksičnosti po bakterijske vrste. Pojedine vrste materijala koje se koriste za izradu elektroda inhibiraju normalan rast i disanje bakterija, što za posledicu ima manju produkciju protona i elektrona. Različitim analizama proverava se hemijska toksičnost, a metodama skenirajuće elektronske mikroskopije (eng. Scanning Electron Microscopes, SEM) i energetski disperzivne rendgenske spektrometrije (eng. Energy Dispersive X-ray spectroscopy, EDX), ispituje se struktura materijala kako bi se obezbedila visoka biokompatibilnost.
- II. **Površina elektroda:** Sve biološke i elektrohemijske reakcije se dešavaju na anodnoj elektrodi, pa stoga njena površina izuzetno utiče na ukupne performanse MFC sistema. Omski gubici i smanjena proizvodnja energije su posledica većeg otpora koji se javlja na površini elektrode. Da bi se smanjila otpornost, neophodno je modifikovati samu elektrodu i povećati joj aktivnu površinu. Veća aktivna površina obezbeđuje više prostora za odvijanje reakcija, što olakšava i generisanje i kretanje elektrona. Poroznost anoda obezbeđuje uspešno vezivanje bakterija. Mikroorganizmi se efikasno imobilisu preko proširenih šupljina elektroda i obezbeđuju efikasan i direktan prenos elektrona sa bioloških katalizatora. Elektrode sa većom aktivnom površinom oslobađaju veću količinu energije (Olias et al., 2019).
- III. **Elektroprovodljivost:** Provodljivost materijala je od suštinskog značaja, jer omogućava putovanje elektrona od anodnog do katodnog dela. Visoka provodljivost anode poboljšava protok elektrona i istovremeno obezbeđuje minimalan otpor, što doprinosi visokim performansama čitavog sistema. Modifikacijama postojećeg materijala, postiže se mnogo veća energetska efikasnost, pa je elektroprovodljivost materijala jedna od najbitnijih stavki za postizanje visokih performansi (Kirubaharan et al., 2019).
- IV. **Stabilnost i izdržljivost materijala:** Ključ za održivost MFC sistema krije se u stabilnosti anodne elektrode. Oksidirajuća sredina na površini anode najčešće dovodi do korozije, bubrenja i raspada materijala. Na taj način se minimizira stabilnost anode za dugotrajni rad MFC. Dodavanjem ugljeničnih materijala i modifikovanjem elektrode dobija se na postojanosti sistema. Dakle, materijal za izgradnju anode mora biti mehanički, hemijski, termički stabilan i izdržljiv u kiselim i baznim uslovima rada MFC (Senthilkumar et al., 2019, Yaqoob et al., 2020).
- V. **Dostupnost materijala i cena:** Izvodljivost i implementacija MFC sistema su u velikoj meri diktirani cenom i dostupnošću izabranog materijala. Niska cena i laka dostupnost je ono što čini materijal prioritetnim. Na primer, iako su idealni za korišćenje, zlato, platina ili srebro su vrlo skupi i nisu lako dostupni. Kompozitna anoda bi mogla da ispuni sve do sada navedene kriterijume za širu primenu MFC u budućnosti.

2.1.2.1. Konvencionalni anodni materijali

Mnoge studije su opisivale razvoj materijala za anodne elektrode, od kojih su najpoznatiji bili konvencionalni materijali kao što su različiti metali ili oksidi metala na bazi ugljenika i oni su predstavljeni u Tabeli 2.1 (Wang et al., 2023, Yaqoob et al., 2021).

Tabela 2.1. Prikaz konvencionalnih anodnih materijala i njihovih površina (Wei et al., 2011).

Materijal anode	Površina anode (cm²)	Najveća zabeležena gustina snage (mW/cm²)	Referenca
Oksid grafita	150,7	368	Guo et al., 2014
Titanijumska šipka	78,5	0,32	Guan et al., 2019
Ogoljeno zlato	113,45	480	Ren et al., 2015
Bakarna žica	310	146	Din et al., 2020
Grafit	135	24	Yu et al., 2021
Ugljениčno platno	51	679,7	Qiao et al., 2015
Ugljениčni papir	78,5	0,32	Nourbakhsh et al., 2017
Ugljениčna četka	62	128	Yang et al., 2017
Ugljениčni filc	8	758,2	Zhao et al., 2018
Ugljениčna nanocev	394	800	Fraivan et al., 2014
Inoks mreža	100	150	Arends et al., 2014

Ugljenik i njegove modifikacije predstavljaju najpogodnijeg kandidata za izradu anode, sa visokom prilagodljivošću i svestranošću. Neki od konvencionalnih materijala na bazi ugljenika podrazumevaju ugljениčni papir, filc, četke, platno, mrežice na bazi granulisanog aktivnog uglja, granulirana ugljениčna vlakna i staklasti ugljenik (Wei et al., 2011, Yaqoob et al., 2020), što je prikazano u tabeli 2.1. i na slici 2.3. Prilikom odabira pomenutih materijala, od suštinske važnosti je površina elektroda, koja predstavlja značajano merilo gustine snage kod MFC sistema. Neki parametri ograničavaju upotrebu ovih materijala. Materijali na bazi grafita imaju dobru mehaničku stabilnost, ali pokazuju slabo formiranje biofilma, što direktno utiče na efikasnost proizvodnje energije u MFC. Suprotno njima, materijali poput ugljениčnog papira i filca obezbeđuju hrapavu površinu idealnu za formiranje biofilma, ali im je mehanička stabilnost vrlo loša, pa je i njihovo trajanje kratkoročno. Uprkos dobroj provodljivosti, tipovi elektroda sa nanočesticama metala ili metalnog oksida, poput mangan-dioksida, titanijum-dioksida, zlata, paladijuma, bakra ipak ne predstavljaju dobar anodni materijal zbog svojih antibakterijskih osobina, dugotrajnosti ali i cene. Manje štetna i nekorozivna mreža od nerđajućeg čelika predstavlja dobru alternativu što se tiče primene metala. Bolje performanse MFC sistema su usledile zamenom konvencionalnih materijala upravo savremenim anodnim materijalima. Elektrode na ovom tipu predstavljaju modifikaciju opisanog ugljениčnog materijala koji obezbeđuju visoku provodljivost, biokompatibilnost i hemijsku stabilnost (Kumar et al., 2013, Wang et al., 2023, Yaqoob et al., 2021).



Slika 2.3. Izgled konvencionalnih materijala za izradu elektrode: (A) ugljenični papir, (B) ugljenično platno, (C) ugljenično vlakno, (D) mrežasti staklasti uljenik, (E) ugljenična mreža, (F) grafitne granule, (G) ugljenične četke, (H) grafitna šipka, (I) polikristalni grafit, (J) ugljenični filc, (K) platinasta mreža, (L) različite trake metala, (M) provodljive trake na bazi polimera (Yaqoob et al., 2020).

2.1.2.2. Savremeni anodni materijali

Dugogodišnji rad na poboljšanju performansi postojećih konvencionalnih anodnih materijala za posledicu je imao stvaranje savremenih materijala. Konfiguracija savremenih anodnih materijala je doprinela boljem i bržem rešavanju problema otpadnih voda i značajan napredak u proizvodnji energije. Pored boljeg funkcionisanja same elektrode, jedna od glavnih karakteristika je daleko niža cena savremenih materijala u odnosu na do tada korišćene konvencionalne. Savremeni materijali su podeljeni u kategorije: prirodne ugljenične materijale na bazi biljne biomase, materijale na bazi kompozita koji uključuje metale, odnosno okside metala, kao i materijale na bazi ugljenika ili provodljivih polimera (Slate et al., 2019, Wei et al., 2011).

Sinteza anodnih elektroda od prirodnih materijala pružila je odličan pristup za dobijanje korisne energije iz prirode, kao i postizanje boljih performansi i održivosti sistema MFC (Sonawane et al., 2017, Yaqoob et al., 2021). Biljni otpad je najčešće korišćeni prirodni prekursor anoda na bazi ugljenika. Njegova poroznost se postiže direktnom karbonizacijom otpada na visokim temperaturama što doprinosi boljem vezivanju mikroorganizama. Dodatni kvalitet membrane se postiže dodavanjem azota u biljni otpad. Adhezija i grupisanje mikroorganizama pomaže smanjenju otpora kod prenosa naelektrisanja između biofilma i čvrstih elektroda. Prirodni biljni otpad podrazumeva ljusku kestena, kukuruzni otpad, bambus, piljevinu, ljuske badema i slično (Cai et al., 2020, Liu et al., 2017, Zhao et al., 2018). Neki od pomenutih primera su navedeni u tabeli 2.2. Zajedničke karakteristike ovih materijala uključuju dobru 3D mikropozornu strukturu, hrapavost površine, dobru elektroprovodljivost, kao i pospešivanje rasta mikroorganizama. Ovi prirodni materijali na bazi ugljenika, poput kukuruznog otpada, kokosove ljuske, biomase bambusa, su jeftini i lako dostupni, što je u skladu sa konceptom zelenog i održivog razvoja (Cai et al., 2020, Yaqoob et al., 2020).

Tabela 2.2. Moderni anodni materijali i njihove performanse nakon procesa karbonizacije (Yaqoob et al., 2020, Cai et al., 2020).

Materijal anode	Površina anode (cm ²)	Najveća zabeležena gustina snage (mW/cm ²)	Referenca
Biougalj bambusa	0,72	1652	Zhang et al., 2014
Kukuruzni otpad	0,5	3,12	Karthikeyan et al., 2015
Kokosova ljuska	1	1069	Yuan et al., 2015
Kafa	1	3927	Hung et al., 2019
Kanalizacioni mulj	12	3200	Jia et al., 2018
Fe ₃ O ₄ /grafitizovani ugljenik	4	1865	Hu et al., 2019
Fe ₃ O ₄ /ugljenično platno	6,25	728	Xu et al., 2018
SnO ₂ /grafit/ugljenično platno	6	1624	Mehdinia et al., 2014
MnO ₂ /ugljenični filc	7,1	3580	Zhang et al., 2015
Oksid grafita/polianilin	71	1,1	Yaqoob et al., 2021
Oksid grafita (aerogel)/grafitna četka	16	2520	Yang et al., 2016
Redukovani oksid grafita/poliakrilamid	120,8	990	Liu et al., 2017
Ugljenično platno/polidopamin/redukovani oksid grafita	-	2047	Li et al., 2020

Značajnu pažnju poslednjih godina dobili su materijali na bazi kompozita za konstrukciju anode. Kao važni katalizatori, neplemeniti metali, oksidi prelaznih metala i njihovi hibridi su u širokoj primeni za modifikaciju starih modela anoda (Cai et al., 2020). Samo materijali na bazi metala se u velikoj meri suočavaju sa korozijom, dok su materijali na bazi ugljenika nepovoljni zbog slabe provodljivosti. Neki nekorozivni materijali poput nerđajućeg čelika, ne postižu dovoljnu gustinu snage. Plemeniti metali, poput zlata, srebra i platine imaju odlične karakteristike, ali pored loše bakterijske adhezije njihova cena značajno ograničava upotrebu (Yaqoob et al., 2020). Kombinacija sa dve ili više vrsta materijala dovodi do visoko poboljšane efikasnosti kinetike anoda i boljeg bakterijskog prijanjanja. Primeri kompozita na bazi metala su navedeni u tabeli 2.2. sa njihovim performansama. Oni su ekološki prihvatljivi, imaju nisku cenu i mogućnost skladištenja energije visoke snage (Yaqoob et al., 2021).

Provodni materijali na bazi polimera su dobili veliku pažnju u modifikaciji MFC anode. Polimeri poput polianilina, polipirola, politiofena, kao i mnogi drugi (tabela 2.2.), zbog svoje visoke električne provodnosti daju odlične performanse u kombinaciji sa drugim materijalima na bazi ugljenika (Yaqoob et al., 2020). Modifikacija ugljeničnog platna sa polianilinom je pokazala izuzetne performanse u odnosu na nemodifikovane materijale. Grafitni filc i polianilin su takođe doveli do mnogo boljih rezultata u produkciji gustine snage i poboljšanoj bakterijskoj adheziji. Nažalost, ovo

još uvek nije dovoljno istraženo i vrlo malo se praktikuje njihova primena. Neki od pomenutih materijala su prikazani na slici 2.3.

2.1.3. Katoda

Da bi ceo sistem MFC funkcionisao i da bi se generisala energija, protoni i elektroni nastali u oksidacionim procesima na anodi moraju da dovrše svoj ciklus u katodnom delu. Na katodi dolazi prvo do reakcije elektrona sa kiseonikom, a zatim protona, kao što je prikazano u jednačini 1, pri čemu se formira voda. Zahvaljujući povezanosti anode i katode, putem odgovarajuće žice dolazi i do generisanja električne energije (Qiu et al., 2021, Santoro et al., 2017).

Na radne osobine katode može uticati niz faktora, koji uključuju koncentraciju elektrona, vrstu oksidansa, prisustvo protona, aktivnost katalizatora, kako i samu konfiguraciju elektrode. Kataliza je potrebna i u anodnim i u katodnim reakcijama, jer prisustvo katalizatora u velikoj meri određuje brzinu hemijske reakcije. Kiseonik je obično krajnji akceptor elektrona zbog svoje pristupačnosti, intenzivnog oksidativnog potencijala i kada je krajnji proizvod voda, ne daje toksične proizvode (Wang et al., 2011). Često se katodna komora naziva i aerobna sredina, zbog značaja i prisustva kiseonika u njoj. U zavisnosti od primene MFC, većina katoda je konstruisana i orijentisana tako da je njen jedan deo u konstantnom kontaktu sa vazduhom (Li et al., 2023, Qiu et al., 2021). Ipak, sposobnost oksidacije u velikoj meri zavisi od odabranog materijala koji služi za konstrukciju MFC. Prednost se daje netoksičnim materijalima i njihovoj oksidacionoj sposobnosti za postizanje stabilnosti i dobrog funkcionisanja MFC (Hoang et al., 2022).

2.1.3.1. Ugljenični materijali

Odlučujući faktor koji je odgovoran za električne performanse MFC je izbor katodnog materijala. Odgovarajući materijal za izradu katode mora biti stabilan, efikasan i isplativ. Kako bi se poboljšala brzina redukcije kiseonika (eng. Oxygen Reduction Reaction, ORR) i smanjili kapitalni troškovi MFC, neophodno je angažovati efikasne i ekonomične materijale sa malom skalom izlazne energije i velikim energetske zahtevima (Logan, 2008; Santoro et al., 2017).

Modifikacije ugljenika, kao što su čađ, aktivan ugalj, ugljenične nanocevi, grafit čine izuzetno stabilne i povoljne materijale za izradu katoda. Zbog svoje velike aktivne površine, odlične elektronske provodljivosti, ekonomske izvodljivosti i visoke stabilnosti, čađ se obično primenjuje kao potporni materijal za katalizatore koji potpomažu redukciju kiseonika (Song et al., 2019). Čađ se lako može modifikovati polipiroplom i postići povećane performanse, metodama dispergovanja i oblaganja materijala. Uvođenjem funkcionalnih grupa ili hemoatoma takođe se povećava ORR. Modifikacija i drugim vrstama katodnog materijala, poput gvožđa ftalocijanina, takođe ima primenu. Relativno slaba katalitička aktivnost je ono što stavlja druge ugljenične materijale u prednost u odnosu na čađ. Ipak, ekonomska cena, trajnost i snaga koja se dobije je veliki benefit za buduća skaliranja MFC (Logan, 2008, Qiu et al., 2021).

Aktivan ugalj predstavlja još jedan od povoljnih materijala, koji obezbeđuju veliku aktivnu površinu elektroda. Međutim, zbog svoje strukture i visoke koncentracije sp^3 veza, ne smatra se tako dobrim provodnikom (Qiu et al., 2021). Hemijskim i termičkim modifikacijama aktivnog uglja, mogu se menjati funkcionalne grupe, aktivna mesta i površina, što dovodi do povećanja katalitičke sposobnosti elektroda. Jedan od razrađenih načina je umrežavanje aktivnog uglja hitozanom i dodavanjem azota u visokim koncentracijama, što dovodi do bolje elektrohemijske aktivnosti (Logan, 2008, Yuan et al, 2015).

Dobra elektronska provodljivost, visoka biokompatibilnost i niski troškovi su grafit svrstali u obećavajući materijal za katodnu elektrodu. Međutim, relativno mala površina i nedostatak aktivnih mesta ometaju njegovu širu upotrebu (Chen et al., 2018). Dopuna elektroda azotom pokazala se kao

efikasan pristup za regulisanje elektronskih, kao i površinskih karakteristika grafitne elektrode. Metali kao što su gvožđe, nikl i titanijum se često uvode sa grafitom kako bi se poboljšali uslovi prilikom reakcija redukcije kiseonika. Alotropna modifikacija grafita, grafen se takođe vrlo često nalazi u upotrebi prilikom sinteze elektroda. Iako možda od svih spomenutih materijala na bazi ugljenika, oni predstavljaju najskuplju varijantu za izradu katode, ipak njihova mehanička stabilnost je ono što čini ceo proces isplativim (Qiu et al., 2021, Yuan et al., 2015).

Brz razvoj nanotehnologije, omogućio je i primenu ugljeničnih nanomaterijala, poput ugljeničnih nanovlakana i ugljeničnih nanocevi za izradu MFC elektroda. Ugljenična nanovlakna i nanocevi su ultrafine strukture (manje od 100 nm veličine), sastavljane od sp^2 hibridizovanih ugljenika, što im daje visoku specifičnu površinu, veliku uštedu energije, izvanrednu električnu provodljivost i odličnu hemijsku stabilnost. Različitim dodacima, u vidu grafena, azota i metalnih čestica, modifikuju se ugljenični nanomaterijali, u cilju dobijanja „super performansi” katode. Grafen dodatno povećava aktivnu površinu elektroda, povećanjem poroznosti materijala (Yuan et al., 2015). Azot u kombinaciji sa drugim metalima, doprinosi povećanju ukupne gustine snage MFC sistema. Analiza je pokazala da su pojedini metali od izuzetnog značaja za poboljšanje performansi elektroda, jer obezbeđuju više aktivnih mesta za reagovanje nanovlakana i nanocevi. Najbolji rezultati se postižu kada se pravi kompleks sa gvožđem, niklom ili kobaltom, ali ništa slabiji rezultati se ne postižu ni kada se prave kompleksi sa legurama bakra i selena (CuSe) ili sa legurama gvožđa i nikla (FeNi). Kada se elektroda hibridizuje sa molibden-sulfidom (MoS_2), dolazi do povećanja katalitičke aktivnosti samih elektroda. Primena ugljeničnih nanomaterijala je dosta povoljnija od primene elektroda na bazi plemenitih metala, ali cena je ipak viša u odnosu na obične ugljenične materijale (Logan, 2008, Qiu et al., 2021, Santoro et al., 2017).

2.1.3.2. Materijali na bazi metala

Katodne elektrode izrađene od metala koji sadrže platinu pokazuju snažnu katalitičku aktivnost i pretežno se upotrebljavaju kao katalizatori u MFC. Njihovom primenom, reakcija redukcije kiseonika je i do 4 puta ubrzana (Qiu et al., 2021). Ove elektrode poseduju nisku impedansu, veću stvarnu aktivnu površinu, veću gustinu snage i bolji potencijal u poređenju sa elektrodama na bazi ugljenika. Međutim, interesovanje za primenu ovog tipa elektroda i nije naročito veliko, zbog visokih troškova koji se vezuju za upotrebu platine (Yang et al., 2017). Ovaj problem je donekle rešen, primenom raznih legura, jer obezbeđuju veću površinu elektroda i bržu aktivnost sa kiseonikom. Međutim, u nekim slučajevima se pokazalo da primena elektroda na bazi platine ima i određena neželjena svojstva. Na primer, supstrat koji difunduje iz anode, može biti oksidovan kiseonikom, stvarajući mešane potencijale i unutrašnju struju, što može dovesti do depolarizacije katode. Supstrat koji sadrži metanol, hlorid ili sulfid može da izazove degradaciju katodne elektrode na bazi platine i da smanji njenu izdržljivost. Pored visoke cene, ovo dodatno smanjuje čak i same šanse za razmatranje elektroda na bazi platine za upotrebu u MFC sistemima (Qiu et al., 2021).

Metalni oksidi, metalni sulfidi i ostali kompleksi metala se smatraju alternativom za platinu pri izradi katodnih elektroda. Prelazni metali poput mangana, gvožđa, kobalta i nikla se uglavnom primenjuju jer mogu da obezbede odlična fizičko-hemijska svojstva i visoku reaktivnost sa kiseonikom (Santoro et al., 2017). Ove dobre osobine odgovaraju katodi, zbog jednostavne strukture i prisustva promenljivih oksidacionih stanja kod prelaznih metala. Osim toga, oni su vrlo ekološki povoljni zbog svoje netoksičnosti (Chen et al., 2018). Mangan-dioksid se pokazao kao izuzetno dobar materijal za katodnu elektrodu, zbog veličine čestica, polimorfnosti strukture i same površine. Međutim, loša električna provodljivost i loša mehanička stabilnost ometaju dalju primenu mangana (Qiu et al., 2021). Modifikacije sa ugljeničnim materijalima, mogu obezbediti veću elektrohemijsku aktivnost i stabilnost mangana, samim tim i poboljšati efikasnost katode. Drugi prelazni metali kao što su molibden, bakar i vanadijum zbog niske tržišne cene dosta su u upotrebi kao katodni materijal. Uprkos navedenim činjenicama, svaka ozbiljnija primena prelaznih metala je još daleko od

industrijske primene pošto su oni još uvek na nivou laboratorijskih istraživanja (Logan, 2008, Yang et al., 2017).

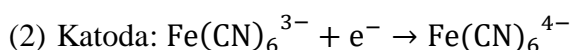
2.1.3.3. Materijali na bazi metal-azot-ugljenik kompleksa

Širok spektar materijala za izradu elektroda je dostupan kada je u pitanju primena kompleksa na bazi metala, azota i ugljenične podloge. Pirolizovana struktura, koja obezbeđuje porozne kanale za transfer elektrona svrstava katode od ovakvih kompleksa u najsposobnije katalizatore redukcije kiseonika, pored ugljeničnih elektroda sa platinom. Do sada već pomenuti metali, gvožđe, kobalt, mangan našli su svoju primenu i u ovim kompleksima. Glavni problem kod do sada opisanih materijala za izradu katoda, bio je u mehaničkoj izdržljivosti. Stvaranjem ovih kompleksa, rešava se ovaj problem uz postizanje dosta veće stabilnosti MFC sistema (Qiu et al., 2021, Santoro et al., 2017).

2.1.3.4. Alternativni akceptori elektrona na katodi

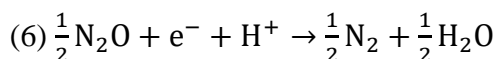
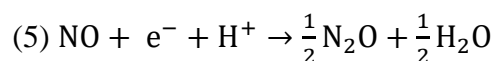
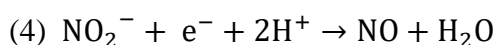
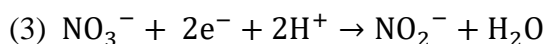
Poboljšanje naponskog potencijala MFC sistema nateralo je istraživače da se okrenu nekonvencionalnim katodnim akceptorima elektrona. Proizvodnja električne energije uz smanjenje specifičnih akceptora elektrona u katodi ima veliki potencijal u smislu proizvodnje bioenergije kao i smanjenja troškova posebnog tretmana zagađivača (azotne kiseline, persulfata, žive, bakra, hroma i perhlorata). Zagađivači koji imaju visok redoks potencijal mogu se ukloniti redukcijom u katodnom delu, a MFC bi mogao da bude efikasniji korišćenjem specifičnih akceptora elektrona (Ucar et al., 2017). Nitrati su dobro poznati kao zagađivači otpadnih voda. Kako su redoks potencijali nitrata i kiseonika veoma blizu jedan drugom, nitrat se može koristiti kao akceptor elektrona u katodnom delu (Jia et al., 2008). Osim nitrata, mogu se koristiti i neki teški metali kao što su bakar, gvožđe i živa, koji preuzimanjem elektrona mogu biti svedeni u manje toksične oblike. Na taj način se odvija istovremeno proizvodnja električne energije i prečišćavanje otpada (Ucar et al., 2017, Wang et al., 2011):

Kalijum-heksacijanoferat (III). Pored kiseonika, uobičajen donor elektrona koji se koristi u MFC studijama na laboratorijskom nivou je kalijum-heksacijanoferat (III). Standardni redoks potencijal kalijum-heksacijanoferat (III) (+ 0,37 V), iako ne toliko visok kao kod kiseonika (+ 1,23 V), dovodi do brže reakcije i proizvodi mnogo veću gustinu snage MFC (Logan et al., 2006). Procesi koji se odvijaju na katodi u ovom slučaju su prikazani u jednačini 2.



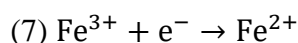
Zbog svoje stabilnosti i visokih performansi, veoma je važan kao katodni akceptor elektrona. Međutim, njegove soli nisu praktično održive. Upotreba fericijanida je ograničena, pre svega zbog toksičnosti, a zatim i zbog otežane reciklaže (Ucar et al., 2017).

Nitrati. Široka rasprostranjenost azotnih vrsta predstavlja izuzetno pogodan materijal za akceptore elektrona na katodi. Nitrati, kao najuobičajeniji zagađivači voda, izazivaju ozbiljne ekološke posledice, ali to ih čini dobrim izvorom u MFC sistemima za denitrifikaciju i proizvodnju električne energije (Sahinkaya et al., 2015, Ucar et al., 2017). Lefebvre i saradnici (2008) su istraživali katodni proces, prilikom čega dolazi do uklanjanja nitrata, ali manjeg generisanja električne energije nego u slučaju gde je kiseonik krajnji akceptor elektrona. Reakcije denitrifikacije su prikazane u jednačinama od 3-6 (Lefebvre et al., 2008).

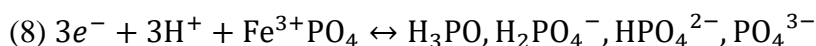


Pored nitrata, pokazano je da i nitriti mogu učestvovati kao akceptori elektrona od strane egzoelektrogenih bakterija za redukciju azota. Međutim, u prisustvu kiseonika prilikom bioloških ili elektrohemijskih procesa na katodi, dolazi do oksidacije nitrita, što smanjuje ukupnu proizvodnju električne energije (Sahinkaya et al., 2015). Cucu i saradnici su u svom radu predstavili primenu MFC *in situ*, gde su elektroni prikupljeni uz pomoć nitrata od prisutne zagađujuće supstance u reci proizvodili električnu energiju. Efikasnost uklanjanja nitrata je bila čak oko 97% (Cucu et al., 2016). Azot-suboksid je još jedan važan međuproizvod koji se javlja u procesima denitrifikacije, jednačine od 3-6, sa potencijalom akceptora elektrona na katodi. S obzirom da azot-suboksid pripada gasovima koji izazivaju efekat staklene bašte, njegovom redukcijom delimično se rešava i ovaj problem (Ucar et al., 2017).

Gvožđe. Još jedan potencijalno izuzetan posrednik u prenosu elektrona može biti redoks par gvožđa, $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, koji nastaje prema jednačini 7 (Ucar et al., 2017).

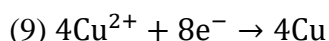


Da bi ova reakcija bila reverzibilna neophodna je upotreba hemolitoautotrofnih mikroroganzama, a među njima najviše se koristi *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Beškoski et al., 2008). Ovakav način prenosa elektrona obezbeđuje brže odvijanje reakcija, visok standardni potencijal, biološku razgradivost i oslobađanje značajnih jedinjenja kao na primer fosfata. Osim posrednika u prenosu elektrona, gvožđe je jako dobar akceptor elektrona u katodnim reakcijama. Jedinjenje koje je zastupljeno u kanalizacionom mulju gvožđe(III)-fosfat ima veliku ulogu u preuzimanju elektrona ali i u čuvanju fosfora. Preko MFC sistema Fe^{3+} se redukuje, a samim tim dolazi do oslobađanja ortofosfata, što je prikazano u jednačini 8.



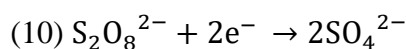
Prikazana reakcija zahteva upotrebu membrane koja izmenjuje i katjone i anjone i nisku pH vrednost (pH najviše 2,5) kako bi se gvožđe zadržalo u rastvornom obliku, a ne palo kao talog hidroksida. Glavna prednost procesa je dobijanje fosfata u čistom obliku.

Bakar. Prisustvo bakra u tragovima je od esencijalne nutritivne važnosti za sve biljne i životinjske vrste, međutim toksične vrste mogu biti izuzetno štetne za sve oblike života. Uklanjanje velikih količina Cu^{2+} jona je od izuzetne važnosti, što zahteva njegovu prethodnu redukciju, prikazanu u jednačini 9:



Redukcija Cu^{2+} jona pomoću MFC može biti izuzetno efikasna u zavisnosti od radnih parametara sistema. Neophodno je izabrati pogodan elektroodni materijal, poput inoksa ili ugljeničnih materijala. Odabirom odgovarajućih uslova, Cu^{2+} može predstavljati izuzetan prijemnik elektrona, pri čemu dolazi i do proizvodnje snage, ali ovi eksperimenti su još uvek u fazi razvoja (Li et al., 2023, Ucar et al., 2017).

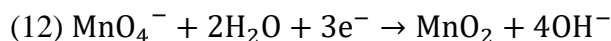
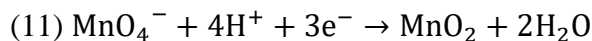
Persulfat. Poznato je da persulfat ima široku primenu, od čišćenja bazena preko izbeljivanja kose do hemijskih analiza ukupnog ugljenika. Smatra se izuzetno opasnim otpadom, jer je jako oksidaciono sredstvo (Li et al, 2009). Sa izuzetno visokim vrednostima redoks potencijala (+ 2,12 V), ima veliku primenu kao akceptor elektrona kod MFC sistema, gde dolazi do sledeće reakcije, jednačina 10:



Zbog navedenog svojstva, prepoznata je njegova primena kao akceptor elektrona. Gustina snage dostiže izuzetno visoke vrednosti, kada se persulfat nađe u upotrebi, u odnosu na prethodno

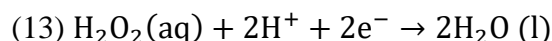
pomenute akceptore elektrona. Međutim, zbog nešto sporije kinetike i redukcije elektrona, MFC ćelija ima nešto niže performanse (Ucar et al., 2017).

Permanganat predstavlja izuzetno jako oksidaciono sredstvo sa širokom upotrebom. Prema jednačinama (11 i 12), uočava se redukcija do mangan-dioksida, što ga čini potencijalnim akceptorom elektrona na katodi MFC.



Redukcija permanganata se odvija i u kiselim i baznim uslovima što je idealno za ovakve sisteme. Nedostatak permanganata može da predstavlja kontinuirana potreba za zamenom tečnosti u sistemu, što može da se odrazi na nižu produkciju energije (Ucar et al., 2017). Potencijalna alternativa permanganata može da bude i mangan-dioksid, koji se može koristiti i kao katodni materijal (Li et al., 2023). Redoks par $\text{MnO}_2/\text{Mn}^{2+}$ može da posluži za prenos elektrona sa katode na akceptor elektrona, čime se postiže veća efikasnost. Zbog svoje pristupačne cene, predstavlja pogodnu zamenu za platinaste elektrode (Zhang et al., 2015).

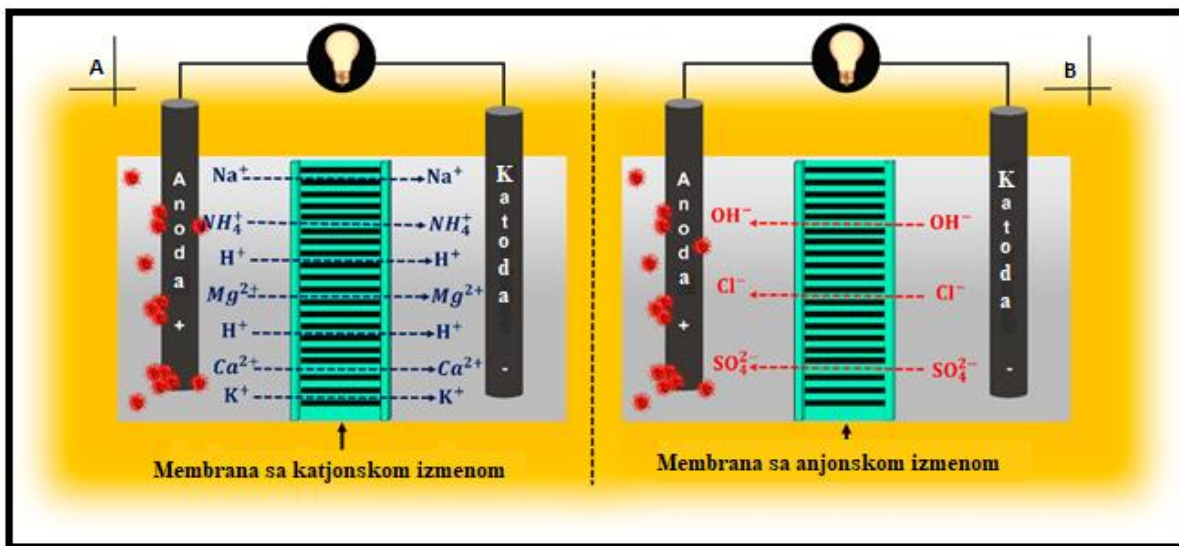
Vodonik-peroksid. Mehanizam redukcije vodonik-peroksida predstavljen je u jednačini 13. Zahvaljujući oksidacionim svojstvima, obezbeđuje se stabilnost pri dugoročnom radu MFC sistema. Prisustvo kiseonika može biti od velike koristi u reakcijama gde se upotrebljava i peroksid.



Uklanjanjem zagađujuće supstance u rastvoru pomoću hidroksilnih radikala, ostaje neizreagovani vodonik-peroksid, koji se najčešće mora izvesti iz sistema. Višak peroksida bi mogao da posluži kao potencijalni elektron akceptor, pri čemu bi došlo do efikasnog uklanjanja zagađujuće supstance i istovremene kontrole prisustva vodonik-peroksida (Zhang et al., 2015).

2.1.4. Membrana

Konstrukcija MFC sistema može biti različita, te pored spomenutih strukturnih materijala anode i katode, veoma važnu ulogu u MFC sistemu igra i membrana. Membrana primarno razdvaja anodni i katodni deo, što je ipak ne čini osnovnom komponentom svih MFC sistema, o čemu će biti reči u nastavku. Njena glavna funkcija je kod dvokomornih sistema, gde služi za razdvajanje različitih vrsta supstrata, koji ne bi smeli da se mešaju u anodnom i katodnom delu. Glavna karakteristika ovih membrana je što moraju biti permeabilne i propuštati protone koji se proizvode u anodnom delu do katode (Logan, 2008, Ramirez-Nava et al., 2021).



Slika 2.4. Transport jona u MFC sistemima na membrani A) za katodnu izmenu i B) za izmenu anjona (Ramirez-Nava et al., 2021).

Membrane takođe omogućavaju selekciju i sprečavaju migraciju drugih vrsta, slika 2.4. Čak i kod jednokomornih MFC, membrane mogu biti korisne, sprečavajući povratne reakcije usled katalize na katodi. Mana membrana je njihova velika cena i smanjenje performansi sistema, usled povećanja unutrašnje otpornosti (Logan, 2008). Kako je tekao razvoj ćelija, u nastojanju da se poboljšaju performanse, a naročito da se sistem implementira na višoj skali, rađena su brojna testiranja potencijalnih materijala koji mogu da posluže kao membrana u MFC. Razlikujemo sledeće tipove membrana (Leong et al., 2013, Ramirez-Nava et al., 2021):

Katjon izmenjivačke membrane (eng. Cation Exchange Membrane, CEM). Selektivna katjonska membrana koja propušta protone je najviše u upotrebi u MFC sistemima. Optimizuje se tako da pri visokim koncentracijama protona (niskoj pH vrednosti), formira stabilno i propustno okruženje za protone, ukoliko se količina vode u MFC sistemu kontroliše. U prisustvu veće količine vode, membrana postaje brzo zasićena i podiže pH vrednost u sistemu, do neutralne sredine, što ometa njeno normalno funkcionisanje (Logan, 2008). Uglavnom propušta protone, ali kada se u okolini nađe veća koncentracija pozitivnih jona (poput Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} ili Mg^{2+}), omogućuje njihov prolazak, što može značajno da utiče na MFC performanse. Sam efekat membrane na MFC se određuje prema generisanoj gustini snage i efikasnosti generisanja struje. Najčešće korišćen materijal za katjonske membrane je Nafion. Pored Nafion membrana za konstrukciju MFC u upotrebi su još i CMI-700 membrane koje su dosta tanje što doprinosi stabilnosti celog sistema. CMI-700 se najčešće upotrebljavaju, kada se kalijum-heksacijanoferat(III) koristi kao katalit. Međutim, njihova primena još uvek nije dovoljno istražena, pa su ove membrane jako malo u upotrebi (Hoang et al., 2022, Ramirez-Nava et al., 2021).

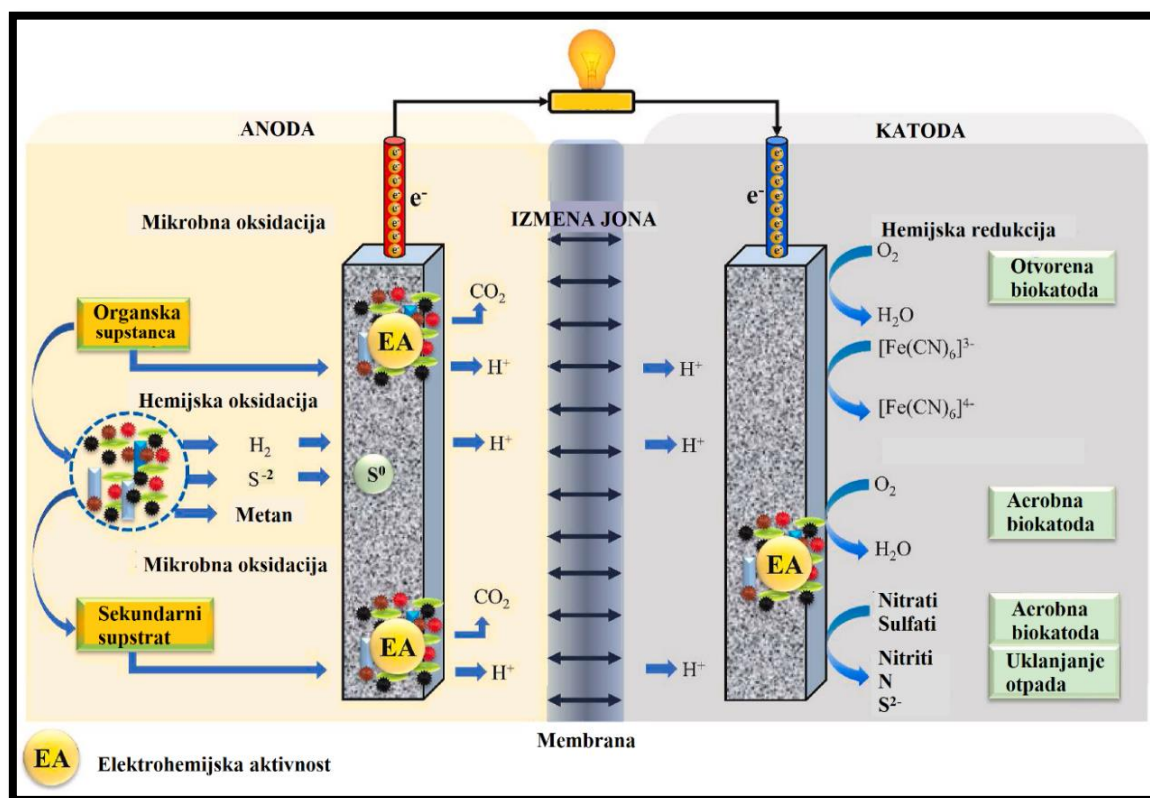
Anjon izmenjivačke membrane (eng. Anion Exchange Membrane, AEM). Pokušaji da se reši problem promene pH vrednosti kod spomenutih katjonskih membrana, doveli su do razvoja AEM koje omogućavaju prolazak hidroksilnih, fosfatnih ili karboksilnih anjona od katode do anodne komore. Na ovaj način oni deluju kao prenosioci protona, olakšavajuću njihov transport. Akumulacija protona u anodnom delu se smanjuje čime dolazi do regulacije pH vrednosti, što dovodi do poboljšane proizvodnje struje u MFC sistemu. Ono što ove membrane ne čini idealnim kandidatom je vremenski ograničena upotreba za tretiranje otpadnih voda na maksimalno mesec dana (Leong et al., 2013, Logan, 2008, Ramirez-Nava et al., 2021).

Polimerne/kompozitne membrane. Kompozitne polimerne membrane čine mešavinu polimernih membrana i drugih polimera, organskih ili neorganskih jedinjenja. Osobine pojedinačnih komponenata membrana se na ovaj način međusobno dopunjuju kako bi se kompenzovale njihove slabije osobine, kao što je niska snaga (Ramirez-Nava et al., 2021). Polimerne membrane, koje sadrže sulfonatne grupe, kao što su SPEEK (eng. Sulfonated Polyether Ether Ketone) i BPSH (eng. Disulfonated poly-(arylene-ether-sulfone)) membrane, sve više se koriste, kako bi rešili problem kod spomenutih CEM i smanjili troškove MFC. Uočeno je da ove membrane imaju nešto niži potencijal otvorenog kola, u poređenju sa CEM, ali generišu veću gustinu snage. Otvorena struktura polikarbonatnih i najlonskih nanoporoznih membrana olakšava prenos protona, ali i kiseonika, što smanjuje inhibiciju rada anaerobnih bakterija u anodnom delu. Poboljšavanje CEM i Nafion membrana, moguće je postići pravljenjem kompozitne membrane sa polianilinom, što dovodi do veće produkcije gustine snage. Veliki broj istraživanja je fokusiran na sintezu kompozitnih i nanokompozitnih membrana, jer su jeftinije i mogu da generišu veću snagu, što može imati ogroman značaj za širu primenu MFC (Hoang et al., 2022, Leong et al., 2013).

Porozne membrane. Staklena vuna i membrane za mikrofiltraciju čine povoljne i lako dostupne razdvojne membrane kod MFC. Jednokomorne MFC koje koriste staklenu vunu između dve komore, menjajući na taj način skupe PEM membrane su dosta isplativiji sistem za tretmane otpadnih voda i proizvodnju električne energije (Hoang et al., 2022, Logan, 2008). Kod obezbojavanja azo boja, najčešće su u upotrebi mikrofiltracione membrane, koje omogućavaju difuziju kiseonika u anodni deo, razgrađujući na taj način intermedijere nastale cepanjem azo veza. Problem ovih membrana je njihova porozna struktura, koja može imati isti efekat kao i sistem bez membrane. Često dolazi do ukrštanja većih molekula, kao što su supstrat i kiseonik, pa nije dobar kandidat kao membrana za izmenu jona. Jedina dobra osobina, pored niske cene je što dovodi do niskog unutrašnjeg otpora membrane, koji vremenom usled obrastanja mikroorganizama opada, pa njihova primena na duže staze nije idealan izbor (Leong et al., 2013, Ramirez-Nava et al., 2021).

2.1.5. Mikroorganizmi

Ključna uloga u radu MFC za oksidaciju organske supstance i generisanje elektron-proton para obavlja se uz pomoć mikroorganizama. Karakteristike mikroorganizama i dostupan organski supstrat određuju efikasnost uklanjanja zagađenja pomoću MFC sistema, kao i količinu generisane električne energije (Hoang et al., 2022). Mikroorganizmi imaju sposobnost da metabolišu organski supstrat, pri čemu dolazi do oslobađanja i elektrona i protona iz oksidovanog supstrata. Transfer elektrona se vrši ekstracelularno na površinu anode i odatle putem električnog kola do katode, dok protoni slobodno migriraju u katodni deo, slika 2.5. Tehnologija MFC sistema čini jedan samoodrživ sistem, jer mikroorganizmi dobijaju svu energiju i ugljenik potreban za rast od oksidacije složenog organskog materijala (Zhang et al., 2023). Sve dok se stvaraju povoljni uslovi za rast mikroorganizama, MFC ima potencijal da proizvodi struju na neodređeno vreme (Cao et al., 2019, Hoang et al., 2022, Logan, 2008, Oibileke et al., 2021).



Slika 2.5. Princip rada mikroorganizma u MFC sistemu (Adaptirano od: Hoang et al., 2022).

Brojne različite vrste mikroorganizama se dovode u vezu sa radom MFC sklopa. Organski bogati izvori, kako što su morski sediment, zemljište, otpadna voda i aktivan mulj su efikasni izvori mikroorganizama, koji se koriste za katalitičke reakcije kod MFC sistema (Obileke et al, 2021). Mešovite kulture mikroorganizama su nešto što se najčešće koristi u MFC konceptu, ali je otkriveno da postoje i pojedinačne kulture mikroorganizama koje samostalno imaju tendenciju da generišu električnu energiju. Različite grupe mikroorganizama koje oksiduju supstrat i poseduju sposobnost direktnog prenosa elektrona na anodu, nazivaju se elektrogene vrste (Cao et al., 2019, Hoang et al., 2022, Schneider et al., 2023). Najčešće zastupljene grupe mikroorganizama su arhee, eubakterije i eukarioti. Većina elektrogenih bakterija pripada tipu *Proteobacteria* i *Firmicutes* (Cao et al., 2019, Zhang et al., 2023). Pojedine bakterijske vrste učestvuju samo kao prenosnici elektrona između ćelija koje oksiduju supstrat i anode, pa je njihov uticaj na produkciju električne energije indirektan. U tabeli 2.3. su prikazani tipični predstavnici bakterija u MFC, kao i način prenosa elektrona i organskog izvora ugljenika (Obileke et al, 2021).

Tabela 2.3. Najčešći predstavnici bakterijskih rodova zastupljeni u MFC sistemima (Cao et al., 2019, Obileke et al, 2021).

Naziv	Prenos elektrona na anodu	Supstrat koji koriste
<i>Erwinia dissolvens</i>	Posrednik u prenosu elektrona	Glukoza
<i>Proteus mirabilis</i>	Posrednik u prenosu elektrona	Glukoza
<i>Geobacter metallireducens</i>	Direktno predaje elektrone	Acetat
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	Direktno predaje elektrone	Acetat
<i>Rhodoferrax ferrireducens</i>	Direktno predaje elektrone	Glukoza
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Direktno predaje elektrone	Glukoza, laktat, piruvat, acetat
<i>Klebsiella pneumonia</i>	Posrednik u prenosu elektrona	Glukoza
<i>Lactobacillus plantarum</i>	Posrednik u prenosu elektrona	Glukoza
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Direktno predaje elektrone	Acetat
<i>Clostridium butyricum</i>	Direktno predaje elektrone	Acetat

Posmatrajući različite grupe mikroorganizama odgovorne za proizvodnju električne energije na odgovarajućem supstratu, potrebno je istaći da mikroorganizmi crpe energiju prilikom prenosa elektrona sa redukovanoj supstrata niskog potencijala na akceptor elektrona visokog potencijala. Međutim, mikroorganizmi u otvorenim sistemima pod uticajem različitih okolnih supstrata teže prenose elektrone sa bakterije na elektrodu. *Geobacter* i *Shewanella* su najviše izučavani bakterijski rodovi u oblasti MFC, zbog biološke i reaktivne stabilnosti, ali i velikog potencijala u proizvodnji električne energije (Hoang et al., 2022, Obileke et al., 2021, Wang et al., 2023). U odnosu na druge mikroorganizme (tabela 2.3.), studije su pokazale da pomenuti rodovi imaju sposobnost da sami organizuju transfer elektrona, formirajući biofilm na anodi (Schneider et al., 2023). Ova sposobnost im omogućava veću otpornost na razna fizička i hemijska oštećenja. *Geobacter* i *Shewanella* takođe poseduju i sposobnost formiranja nanožica, direktno se vezujući za anodu, što može biti još jedan od načina predaje elektrona (Cao et al., 2019, Obileke et al., 2021, Schneider et al., 2023). *Shewanella* poseduje citohrom C na spoljašnjoj membrani i direktno predaje oslobođene elektrone elektrodi. *Geobacter* pored opisanog mehanizma sadrži i metaloprotein koji u sebi ima vezano gvožđe što omogućava direktno povezivanje sa elektrodom i predaju elektrona (Slate et al., 2019). Zbog sposobnosti da generišu velike količine gustine električne energije, *Geobacter sulfurreducens*, sve više dobija na značaju (Zhang et al., 2023). Ova bakterijska vrsta je striktni Gram-negativni anaerobni hemoorganotrofni mikroorganizam, koji redukuje sulfat. Nastale ekstracelularne elektrone *G. sulfurreducens* direktno predaje preko proteina koji su vezani za membranu. Imaju sposobnost i prenosa elektrona između sebe, ali i minerala poput gvožđa, kobalta i magnezijuma, što ih može kategorisati kao disimilacione mikroorganizme koji imaju sposobnost redukcije metala (Cao et al., 2019, Hoang et al., 2022). Vrsta koja pripada razdelu *Firmicutes*, *Clostridium butyricum* takođe je našla svoju primenu u MFC sistemu. Ovaj striktni anaerobni mikroorganizam može da raste u širokom pH i temperaturnom opsegu, a takođe poseduje i sposobnost redukcije metala. Kao i do sada pomenute vrste, direktno predaje oslobođene elektrone anodi, bez prisustva posrednika (Marassi et al., 2020). Među do sada opisanim bakterijskim rodovima kroz radove, dosta se spominje *E. coli* kao učesnik u MFC proizvodnji energije. Dobro opisan i okarakteristan model sistem, *E. coli* poseduje izuzetnu sposobnost brzog rasta i adaptacije na nepovoljne uslove sa niskom koncentracijom hranljivih materija. *E. coli* može da opstane i u aerobnim i anaerobnim uslovima, s tim što je u anaerobnoj sredini proizvodnja energije dosta niža. (Cao et al., 2019, Logan, 2008, Slate et al., 2019). Među pomenutim vrstama koje zahtevaju prisustvo posrednika, našla se i vrsta koja pripada klasi γ -

Proteobacteria, *Pseudomonas aeruginosa*. Prilikom raznih istraživanja, vršena je genetička manipulacija kako bi se podstakla biosinteza proteinskih vlakana koji predstavljaju nanožice. *P. aeruginosa* poseduje takođe i pile, kojima omogućava direktno pričvršćivanje za anodu (Cao et al., 2019, Zhang et al., 2023).

Dobar kandidat za MFC sisteme predstavljaju i eukariotske vrste. Dobro poznati i opisani model sistemi koji imaju sposobnost brzog rasta, svakako su i kvasci. U svojim prvim istraživanjima Potter je testirao *Saccharomyces cerevisiae* u procesima generisanja električne energije (Potter, 1991). Iako se pri upotrebi kvasaca generiše niža snaga u odnosu na korišćenje bakterijskih vrsta, njihova primena sve više privlači pažnju. Različitim modifikacijama na *S. cerevisiae*, kao i dodatkom supstrata u vidu glukoze, dobijaju se znatno bolji rezultati nego primenom običnih sojeva. Takođe, kod mešovitih kultura, *S. cerevisiae* je našao primenu kao prenosnik elektrona do anode. Od eukariotskih sojeva, kao elektrogene vrste, opisane su još *Candida melibiosica*, *Hansenula anomala*, *Arxula adenivorans* (Cao et al., 2019).

Biomasa algi predstavlja još jedan od potencijalnih supstrata u MFC sistemu, jer može da se koristi kao donor elektrona na anodi, ali i kao akceptor elektrona na katodi. U većini slučajeva, alge završavaju na katodi, jer mogu da koriste ugljen-dioksid kako bi generisale kiseonik i samim tim olakšale procese hemijske redukcije na katodi. *Chlamydomonas reinhardtii* i *Chlorella* sp. su jedine vrste do sada opisane u anodnom delu. Zelena alga, *Chlorella pyrenoidosa* u anodnom delu je uspela da generiše električnu energiju, bez prisustva supstrata (Cao et al., 2019).

2.1.5.1. Zajednice mikroorganizama kao elektrogeni na anodi

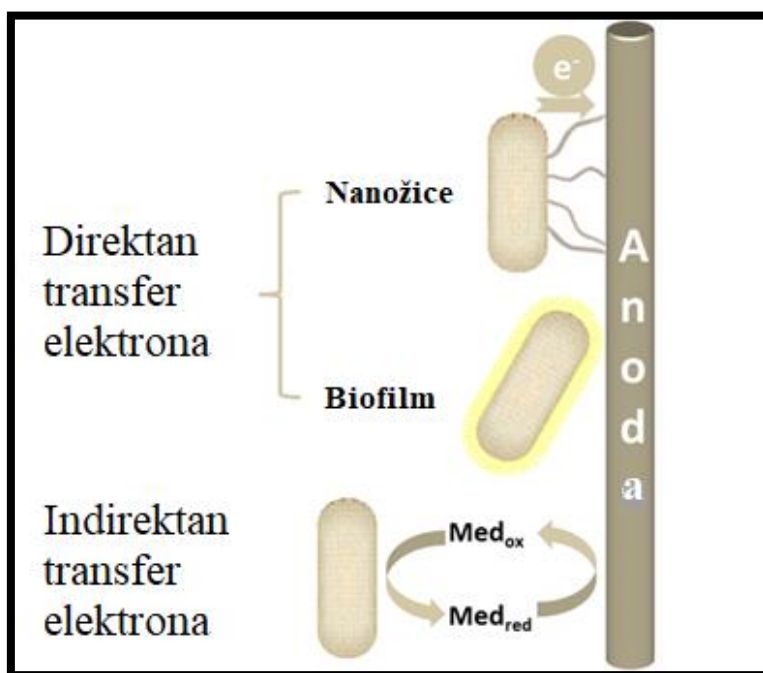
Čiste kulture mikroorganizama su korisne za opisivanje mehanizma prenosa elektrona na molekularnom nivou, kao i određivanje specifičnih elektrogenih sojeva u mešovitim zajednicama (Hoang et al., 2022). Međutim, čiste elektrogene vrste mikroorganizama često zahtevaju relativno stroge uslove i mogu se primeniti samo na selektovanim supstratima. Prilikom formiranja MFC sistema, najčešće se za inokulaciju koriste konzorcijumi različitih vrsta mikroorganizama koji imaju genetski potencijal za oksidaciju različitih organskih supstrata, čime se oslobađa više elektrona i stvara više električne energije. Najbolje performanse MFC se postižu prilikom upotrebe mešovitih zajednica iz životne sredine. Najveći izbor dostupnih izvora mikroorganizama opisan je upravo na primerima: rečnog sedimenta, otpadne vode i aktivnog mulja, koji uspešno vrše procese biokatalize u anodnom delu (Cao et al., 2019).

Rečni sediment je glavno mesto primene MFC sistema. Nažalost, evidentno je da velike vodene površine čine upravo najveći procenat zagađenih ekosistema, što ih čini idealnim izvorom različitih organskih zagađujućih supstanci. Većina organskih zagađujućih supstanci troši dostupan kiseonik u sedimentu i na taj način stvara anaerobnu sredinu, idealnu za razvoj elektrogenih vrsta. Preostala količina organske supstance može poslužiti kao donor elektrona za elektroaktivne mikroorganizme, što stvara idealne uslove za implementaciju MFC sistema (Song et al., 2019, Yang, Chen, 2021). Otpadne vode, sadrže dosta elektrohemijski aktivnih vrsta mikroorganizama, stoga bi se one mogle direktno koristiti kao inokulum za MFC model. Otpadne vode obiluju količinom organskih supstrata, koje prisutne vrste mikroorganizama lako mogu da razgrade. Većina istraživanja, bazirana je upravo na industriji otpadnih voda, pri čemu dolazi do generisanja velikih količina električne energije (Arends et al., 2014, Cao et al., 2019, Yu et al., 2021). Aktivan mulj predstavlja biološku flokulu, koja sadrži veliku količinu mikrobni zajednica, kao i njihova zavisna biorazgradiva organska jedinjenja, što ga čini izuzetno dobrim kandidatom za generisanje snage u MFC sistemu. Populacije mikroorganizama u MFC sistemima, koji sadrže otpadnu vodu ili aktivan mulj, mogu biti veoma šarenolike. Sekvenciranjem gena pomoću 16S rRNK, analizirana je struktura prisutne mikrobne zajednice, što je pokazalo da su među njima najzastupljenije prethodno gore opisane vrste. Od identifikovanih 59 vrsta u bakterijskom konzorcijumu, nađeno je da su *Geobacter* i *Pseudomonas* među dominantnim rodovima. Mešovite zajednice su veoma složene i teško je otkriti

pravi mehanizam generisanja električne energije u takvim sistemima (Hoang et al., 2022, Jia et al., 2018, Yuan et al., 2015).

2.1.5.2. Mehanizam transporta elektrona na elektrode

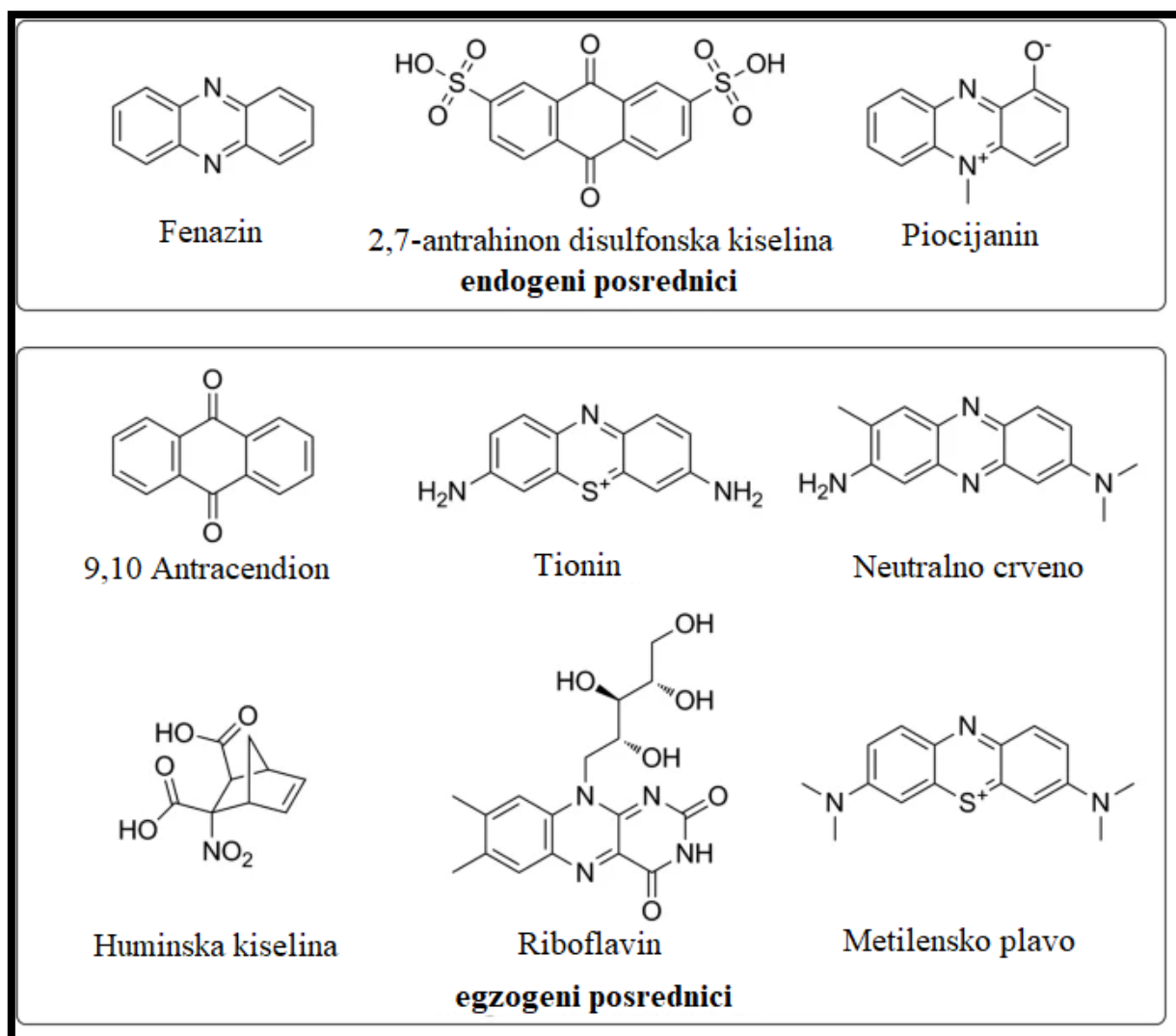
Prenos elektrona iz respiratornog lanca elektrogenih bakterija do elektrode je ključan za MFC tehnologiju i stvaranje energije. Iako mehanizam prenosa elektrona još uvek nije u potpunosti razjašnjen, veruje se da u velikoj meri zavisi od samih mikroorganizama (Cao et al., 2019). Generalno, mehanizmi se mogu podeliti na dva tipa (slika 2.6.): direktan prenos elektrona koji podrazumeva fizički kontakt između površine elektrode i mikroorganizama, i indirektan preko takozvanih medijatora-molekula koji prenose elektrone do elektroda (Cao et al., 2019, Slate et al., 2019).



Slika 2.6. Načini prenosa elektrona u anodnom delu (Adaptirano: Cao et al., 2019).

Direktan prenos je idealan za efikasno generisanje električne energije unutar MFC modela. Direktni prenos (slika 2.6.) podrazumeva da elektroni treba da stignu od redoks proteina sa spoljašnje membrane ćelije do anodne elektrode, pri čemu ostvaruju fizički kontakt. Već pomenuti bakterijski rodovi, poput *Shewanella* i *Geobacter*, imaju mikrometarske proteinske filamente koji se protežu do njihove spoljašnje membrane u ekstracelularni matriks. Ovi dodaci se zbog svoje uloge u transportu elektrona, oblika izduženih niti kao i sposobnosti električne provodljivosti nazivaju i mikrobne nanožice. Nanožice mogu biti flagele ili pili. Glavna uloga flagela je da omogući pokretljivost bakterijske ćelije, kao i njeno širenje po površini elektrode. Pili bakterijama takođe omogućavaju kretanje, sekreciju i adheziju, što se može odvijati i u sredinama veće gustine (Kumar et al., 2016, Slate et al., 2019, Zhang et al., 2023). Kada se vežu za elektrodu svojim nanožicama, dolazi do formiranja biofilma koji olakšava transfer elektrona. *G. sulfurreducens* je trenutno zlatni standard, za koji se zna da poseduje pile, jer u svim MFC sistemima gde je on prisutan dolazi do najvećeg generisanja električne energije. Redoks proteini su uključeni u proces predavanja elektrona i prisutni su na spoljašnjoj strani ćelije. U ovim procesima je pronađeno da učestvuju multi hem proteini i citohrom c. Ograničenje je to što su aktivna mesta proteina za transport elektrona prilično uronjena u ćelijsku membranu, što dovodi do sporog prenosa elektrona. Ovaj problem može se rešiti formiranjem više slojeva bakterijskog biofilma na anodi, što omogućava lakši prenos elektrona kratkog dometa i povećava brzinu reakcije (Cao et al., 2019, Prathiba et al., 2022, Slate et al., 2019).

Kod nekih mikroorganizama dolazi do stvaranja redukovanih proizvoda u vidu vodonika, amonijaka, alkohola, te nisu u stanju da predaju elektrone elektrodi. Indirektan prenos elektrona (slika 2.6.) se ostvaruje uz pomoć niskomolekulskih rastvorljivih transportera elektrona. Posrednici u transportu elektrona mogu da uđu u ćelije mikroorganizama i prikupe elektrone iz metaboličkih reakcija da bi ih u njihovom redukovanom obliku doveli do anode MFC gde se dešava oksidacija. U početku se smatralo da je prisustvo medijatora neophodno za rad MFC. Brojna hemijska jedinjenja prikazana na slici 2.7., poput tionina, huminskih kiselina, riboflavina, metilenskog plavog su dodavana u sistem, kao egzogeni posrednici u transportu elektrona. Istraživanja su ipak pokazala da njihovo dodavanje nije uvek poželjno i da oni mogu često da dovedu do relativno niske gustine struje (Prathiba et al., 2022, Slate et al., 2019). Većina njih je i toksična po prisutne mikroorganizme, što dovodi do pada performansi pri dužem korišćenju MFC. Osim toga, dodavanje egzogenih medijatora nije uvek izvodljivo, podiže cenu procesa, što otežava implementaciju MFC (Cao et al., 2019, Slate et al., 2019).



Slika 2.7. Posrednici u indirektnom transferu elektrona na anodnu elektrodu (Adaptirano: Cao et al., 2019)

Utvrđeno je da mnoge bakterijske vrste mogu da sintetišu primarne i sekundarne metabolite, kao što su fenazin, riboflavin mononukleotid, piocijanin i drugi (slika 2.7.), koji su u stanju da deluju kao endogeni redoks posrednici u transportu elektrona. Nakon transporta elektrona do površine ćelije

metaboličkim putem, koji uključuje redoks aktivne proteine i jedinjenja male molekulske težine dolazi do njihovog izbacivanja u vanćelijsku sredinu. Odatle mogu da budu preuzeti direktno od strane anodne elektrode, ili od nekih spoljašnjih posrednika, poput nerastvornog gvožđe(III)-oksida. Ovim se eliminiše potreba za direktnim kontaktom elektrode i mikroorganizama. Korišćenjem mešovite zajednice mikroorganizama u MFC sistemima, održava se efekat sinergizma, čime se rešava problem ekološke izvodljivosti i dugotrajnosti (Cao et al., 2019, Prathiba et al., 2022).

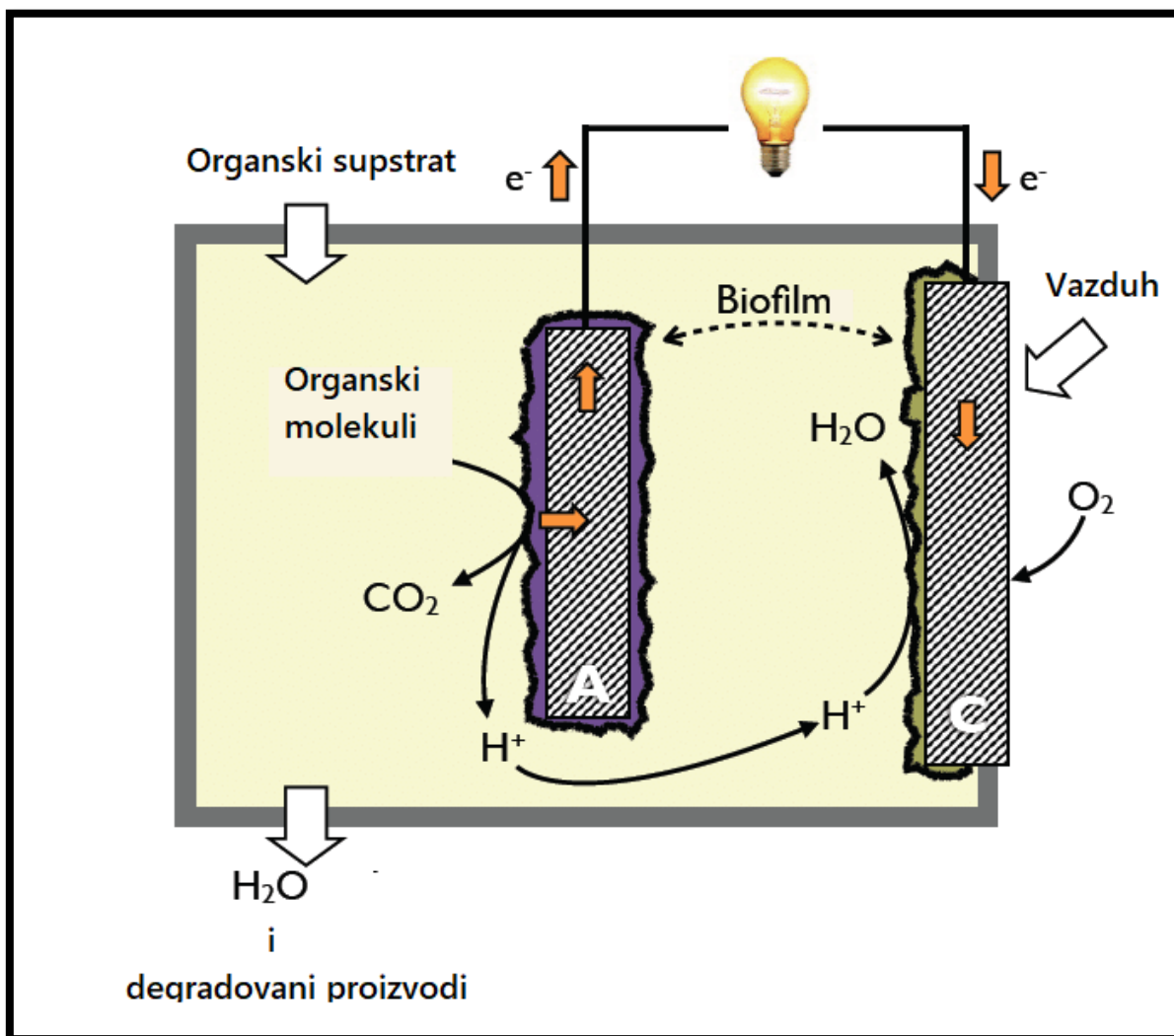
2.2. Tipovi MFC reaktora

Izgled brojnih MFC sistema privlači pažnju zbog rastuće potrebe za ekološkim stvaranjem bioenergije iz razgradivih otpadnih resursa. Sama konstrukcija reaktora u velikoj meri utiče na ukupne performanse MFC, tj. od nje zavisi i unutrašnja otpornost sistema. Obično se koriste dve vrste MFC sistema, jednokomorni i dvokomorni. Različite potrebe diktiraju i druge oblike, kao što su složeni MFC sistemi, sedimentne MFC i slično (Hoang et al., 2022).

2.2.1. Jednokomorni MFC sistemi

Sam naziv ovog MFC sistema govori da je reč o jednoj komori koja se sastoji od anode i katode koje nisu fizički razdvojene. Katoda je u direktnom kontaktu sa atmosferskim kiseonikom, zbog čega je često u upotrebi i naziv vazдушna komora. Kako u ovom dizajnu dostupnost kiseonika nije ograničena, kao što je u slučaju rastvornog vodenog oblika kiseonika, mogu se dobiti mnogo veće izlazne snage. Ovaj tip MFC nudi mnoge prednosti kao što su jednostavnost dizajna, smanjen razmak između elektroda, manji unutrašnji otpor i poboljšana difuzija protona (Nawaz et al., 2020). Nakon godina razvoja, formirano je nekoliko različitih modela jednokomornih sistema. Najjednostavniji dizajn obuhvata anodu i katodu na svakom kraju cevi, gde je katoda izložena vazduhu, slika 2.8. Park i saradnici su predložili isti princip pakovanja MFC, samo u kockastom obliku (Park, Zeikus, 2003). Opis cilindrične komore, gde je anoda pričvršćena u unutrašnjosti, a katoda prilepljena sa spoljašnje strane, dao je Logan (Logan, 2008).

Istraživanja su pokazala da kod primene jednokomorne MFC koja sadrži integrisane fotosintetičke mikroorganizme, imamo gotovo idealan sistem za generisanje električne energije, jer ne postoji zahtev za prisustvo supstrata. Korišćenjem Sunčeve svetlosti, iz vode dolazi do stvaranja kiseonika i proizvodnje ugljenih-hidrata konverzijom ugljen-dioksida. Oslobođeni elektroni preko anodne elektrode putuju do katode, gde su migrirali i dostupni protoni, nakon čega dolazi do reakcije sa rastvorenim kiseonikom, a kao proizvod formira se voda uz oslobađanje energije (Prathiba et al., 2022).

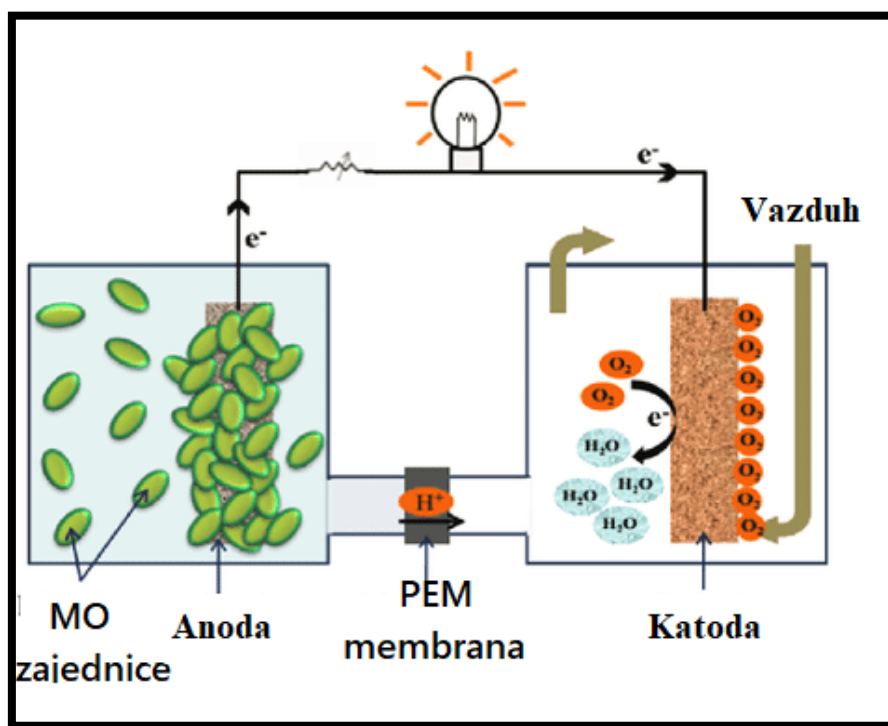


Slika 2.8. Shematski prikaz vazdušnog jednodomnog MFC sistema (Adaptirano iz: Degrenne, 2012).

Jednodomni MFC sistem ima nekoliko nedostataka. Naime, pH vrednost celog sistema jako brzo opada zbog direktnog delovanja mikroorganizama, ali se raznim procesima, dodavanjem soli, korišćenjem pufera, postižu bolji rezultati u vrednostima gustine snage. Takođe, ne postoji ograničenje u kretanju kiseonika, pa tako često može da se nađe u anodnoj sredini, što može da inhibira oksidacione procese mikroorganizama (Nawaz et al., 2020, Obileke et al., 2021).

2.2.2. Dvokomorni MFC sistemi

Tipični dvokomorni MFC sistemi se sastoje od dve komore napravljene od stakla ili plastike, koje sadrže odgovarajuću elektrodu (anodu i katodu). Anodna komora sadrži organski supstrat i adekvatnu grupu mikroorganizama, dok se kiseonik konstantno dovodi u katodni deo. Komore su međusobno povezane žicom preko sistema elektroda i fizički su razdvojene membranom, koja omogućava prolazak jona ili samo protona. Najčešće su konstruisane tako da imaju izgled slova H, što je i predstavljeno na slici 2.9. Glavna prednost dvokomornih u odnosu na jednodomne konfiguracije MFC sistema je što se performanse katode mogu kontrolisati količinom kiseonika, dodavanjem medijatora, povećanjem protoka kiseonika, čime dobijamo na ukupnom generisanju veće snage kod MFC reaktora (Nawaz et al., 2020, Prathiba et al., 2022, Yang, Chen, 2021).

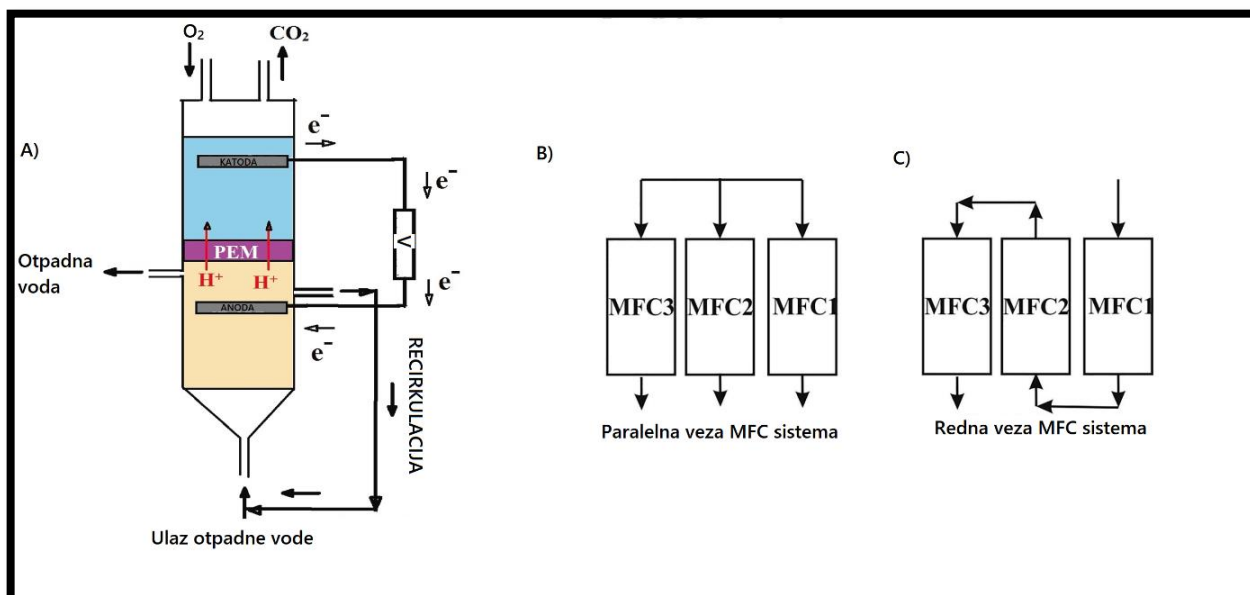


Slika 2.9. Izgled najčešće korišćene dvokomorne MFC, tip H (Adaptirano iz: Butti et al., 2016).

Nedostatak MFC H-tipa je proizvodnja male snage, usled visokog unutrašnjeg otpora koji se javlja zbog male površine membrane i dužine rastojanja između dve elektrode. Kako bi se izbegao ovaj problem potrebno je povećati površinu membrane i smanjiti rastojanje između elektroda. Međutim, problem sa ovakvim MFC sistemom je taj što zbog njihove kompleksnosti i cene proizvodnje one ne mogu da se koriste u *scale-up* procesima (Nawaz et al., 2020). U međuvremenu, razvijeni su i drugi oblici dvokomornih sistema, cilindrični, pravougaoni, kao i sistem ravnih ploča. U poslednjem tipu, elektrode su naslagane jedna na drugu i između njih je tanka PEM membrana, što je omogućilo poboljšani protok protona. Takva konstrukcija je obezbedila generisanje maksimalne moguće gustine snage za ovaj tip MFC sistema (Hoang et al., 2022, Prashanthi, 2023).

2.2.3. MFC sistemi uzlaznog toka

Konstantno usavršavanje arhitekture MFC sistema je dovelo do konstrukcije MFC sistema sa uzlaznim tokom za rad u režimu kontinuiranog protoka. Cilindar od pleksiglasa je podeljen u dve komore korišćenjem slojeva staklenih perli i staklene vune, anodnu i katodnu. Elektrode su postavljene jedna iznad druge. Protočna struja, stvorena u katodnom delu, ispušta se i dovodi na donju stranu anode, obezbeđujući na taj način kontinuiran protok otpadne vode. Ovaj sistem, slika 2.10.A, korišćen je za istovremenu proizvodnju električne energije i prečišćavanje otpadnih voda sa maksimalnim gustinama snage. MFC sistem sa uzlaznim protokom svoju prednost odražava preko visokog prenosa mase kiseonika i mogućnosti konstrukcije sistema sa velikom gustinom ćelija i kao takav predstavlja zadovoljavajući način za tretman otpadnih voda ili drugih izvora ugljenika (Nawaz et al., 2020, Prashanthi, 2023, Prathiba et al., 2022).



Slika 2.10. Prikaz A) MFC sistem uzlaznog toka, B) Paralelno vezane 3 MFC ćelije i C) Redno vezane 3 MFC ćelije (Adaptirano: Kadivarian et al., 2020, Prathiba et al., 2022).

2.2.4. Složeni MFC sistemi

Složeni MFC sistem podrazumeva više MFC ćelija koje su međusobno povezane u konfiguraciju koja predstavlja paralelnu ili rednu vezu ili pak njihovu kombinaciju. Ovakav dizajn ne utiče na efikasnost pojedinačnih ćelija, ali povećava ukupnu snagu MFC sistema koji se ponaša kao baterija. Potencijalno, ovaj sistem bi omogućio smanjenje gubitka energije usled povećanog otpora (Hoang et al., 2022). Ovakav sistem MFC pri paralelnom vezivanju (slika 2.10.B) daje veći intenzitet struje, dok se pri rednom vezivanju (slika 2.10.C) generiše veći napon u odnosu na performanse pojedinačnih MFC. U praksi, prilikom konstrukcije složenih MFC sistema potrebno je da se uzmu u obzir razni faktori kao što su pravac slaganja, bilo horizontalno ili vertikalno, tip elektroda, izbor supstrata, kao i oblik reaktora (Nawaz et al., 2020, Prathiba et al., 2022). Ipak problem bi mogla da predstavlja korozija elektroda, usled naglih promena napona, što može dovesti i do propadanja biofilma i smanjenja efikasnosti MFC sistema. Drugi problem bi mogla da predstavlja visoka cena proizvodnje i implementacije ovakvih modela (Hoang et al., 2022, Prashanthi, 2023).

2.2.5. Ostali faktori koji utiču na performanse MFC

2.2.5.1. Supstrat

Važna promenljiva u sistemu MFC, koja veoma utiče na ukupne performanse, aktivnost mikroorganizama, kao i na generisanje elektrona i protona je izvor dostupnog supstrata (Zhang et al., 2023). U MFC tehnologiji se mogu koristiti različiti supstrati kako bi se povećala proizvodnja energije, bilo da su u obliku čistih supstanci ili u formi složenih smeša organskih jedinjenja prisutnih u otpadnom materijalu. Cilj ovih procesa je uglavnom smanjenje zagađenja u životnoj sredini (Gul et al., 2021, Hoang et al., 2022). Organski supstrati koji mogu da se koriste za metabolizam su raznovrsni uključujući acetat, glukozu, butirat, skrob, saharozu, mulj, brojne industrijske otpadne vode i mnoge druge industrijske otpade (Prashanthi, 2023). Acetat je uobičajeni izvor za korišćenje u MFC, zbog velike količine ugljenika koje stimuliše elektroaktivne bakterije. Zbog svog inertnog ponašanja prema alternativnim konverzijama od strane mikroorganizama, kao što su metanogeneza i fermentacija, idealan je za istraživanja na novim poljima (Cao et al., 2019, Hoang et al., 2022). Glukoza predstavlja neizostavni supstrat za većinu mikroorganizama, pa je tako pronašla i svoju

primenu u MFC, naročito kod upotrebe konzorcijuma mikroorganizama (Pathiba et al., 2022). Još jedan od potencijalnih izvora supstrata predstavljaju i lignocelulozna jedinjenja. Kako bi se bolje iskoristio njihov potencijal u MFC, neophodno ih je hidrolizovati, pa treba voditi računa o odabiru mikroorganizama koji pored egzoelektrogene, imaju i sposobnost celulolitičke aktivnosti (Sarma et al., 2021). Otpadne vode sadrže velike količine redukovanih vrsta sumpora i cisteina, koje mogu poslužiti kao abiotski donator elektrona i poboljšati izlaznu snagu sistema za kratko vreme. Sa velikom količinom ugljenih hidrata i manjom koncentracijom amonijaka, otpadne vode iz pivarske industrije predstavljaju supstrat zadovoljavajućeg kvaliteta za MFC sisteme (Fadzli et al., 2021, Gul et al., 2021, Hoang et al., 2022).

Najveća hemijska klasa sintetičkih boja su azo boje, koje se u izobilju nalaze u otpadnim vodama tekstilne industrije i industrije boja. Izuzetno bogate različitim organskim jedinjenjima, predstavljaju odličan izbor za proizvodnju električne energije pomoću MFC i istovremeno uklanjanje zagađujućih komponenti iz životne sredine. Najbolje se iskoriste, u kombinaciji sa nekim otpadnim vodama koje sadrže visoke koncentracije glukoze, saharoze ili skroba (Arends et al., 2014, Fadzli et al., 2021, Kadivarian et al., 2020, Liu et al., 2021). Izbor supstrata je usko povezan sa izborom mikrobne zajednice koja se primenjuje u MFC sistemu (Fadzli et al., 2021, Sarma et al., 2021). Povećana aktivnost mikroorganizama, dovodi do povećane konverzije supstrata, što pozitivno utiče na ukupnu proizvodnju energije u vidu izlazne snage i električne energije. Ipak, povećana količina dostupnog supstrata, u odnosu na broj mikroorganizama, može imati i štetna dejstva. Manjak mikroorganizama prilikom obrade supstrata, može dovesti do zasićenja na anodi, stvarajući konkurenciju među mikroorganizmima koji proizvode elektrone i drugih koegzistirajućih vrsta. To dovodi do povećanog unutrašnjeg otpora što daje loše energetske rezultate (Fadzli et al., 2021, Hoang et al., 2022).

2.2.5.2. pH vrednost

Proizvodnja energije je u velikoj meri zavisna i od pH vrednosti. Gubici u polarizaciji dovode do smanjenja snage, što je prouzrokovano padom pH vrednosti pri radu MFC sistema. Kisela sredina svakako da ima negativan uticaj na procese koje se dešavaju u MFC (Gul et al., 2021). Deo protona koji nastaje razgradnjom organskog supstrata stupa u dalju reakciju sa rastvorenim kiseonikom u katodnom delu MFC, dok drugi deo ima tendenciju da se akumulira u anodnoj sredini. Zaostali protoni dovode do promene pH vrednosti čiji gradijent može izazvati usporen rast i metabolizam mikroorganizama (Hoang et al., 2022). Maksimalna snaga koja se generiše u MFC sistemima, usled najveće zabeležene aktivnosti rada mikroorganizama, javlja se pri pH vrednosti u opsegu od 7-10. Rastvori mogu tolerisati i nešto veće pH vrednosti od 10, ali aktivnost mikroorganizama tada opada. Takođe, transport katjonskih jona (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) može povećati pH vrednost u katodnoj komori. Zbog potrošnje protona u katodnoj komori, transport katjona dovodi do povećanja pH vrednosti, što dovodi do smanjenja performansi MFC. Stabilizacija pH vrednosti se može postići korišćenjem neutralnih pufera, koji omogućavaju veće gustine struje. Takođe, moguće je regulisati pH vrednost primenom hibridnih elektroda od nerđajućeg čelika i ugljeničnog filca, čime dolazi do promene polariteta (Gul et al., 2021).

2.2.5.3. Temperatura

Sve reakcije mikroorganizama su uslovljene uticajem temperature. Promene temperature utiču na sistem u pogledu kinetike (na energiju aktivacije, na koeficijent prenosa mase, na provodljivost rastvora), termodinamike (na slobodnu Gibbsovu energiju, na potencijal elektroda), kao i prirode i distribucije zajednice mikroorganizama (različite vrste imaju različite optimalne temperature) (Hoang et al., 2022). Degradacija supstrata i energetska efikasnost su veoma povezane sa radnom temperaturom. Gustina izlazne snage MFC se povećava na radnoj temperaturi jer se tada postiže idealan metabolizam mikrobne zajednice, kao i provodljivosti elektrolita i membrane, a istovremeno je i smanjen omski otpor. Temperature u opsegu od 20 do 40 °C, prema mnogim

istraživanjima omogućavaju najveću produkciju gustine struje (Larrosa-Guerrero et al., 2010, Logan, 2008, Obileke et al., 2021, Yaqoob et al., 2020). Da bi se postigle najbolje moguće performanse MFC, temperatura treba da bude u strogo kontrolisanim uslovima (Gul et al., 2021).

2.2.5.4. Salinitet

Pored brojnih faktora koji utiču na proizvodnju električne energije u MFC, prisustvo soli je izuzetno značajno za provodljivost jona. Soli pozitivno utiču na MFC sistem zbog svoje visoke provodljivosti i zbog lakšeg prenosa protona kroz membranu između anodnog i katodnog dela. Lefebvre i saradnici su opisali da je sa dodatkom soli u sistem MFC došlo do povećanja proizvodnje električne energije za čak 30%, a istovremeno su i zabeležili smanjenje unutrašnjeg otpora za 33% (Lefebvre et al., 2012). Na katodi impregniranoj određenim katalizatorima primećeno je da dodatak soli povećava i reakciju redukcije. U anodnom delu, ipak povećana koncentracija soli može predstavljati problem jer često dovodi do inhibicije aktivnosti elektrogenih mikroorganizama. Zbog toga, za najbolje performanse, salinitet treba kontrolisati na takvom nivou, da se smanji otpornost, ali ne ispod optimalnog nivoa, jer bi to imalo negativan efekat na mikrobnu zajednicu (Gul et al., 2021).

2.2.5.5. Spoljašnji otpor

Važna faktor koji utiče na performanse MFC je i uticaj vrednosti spoljašnjeg otpornika koji se nalazi u kolu koje povezuje anodu i katodu u sredini van MFC. Efekat spoljašnje električne otpornosti ogleda se u ograničavanju protoka elektrona sa anode na katodu, što samim tim ograničava potencijal i struju koja nastaje u sistemu. Povećana spoljašnja otpornost dovodi do pada proizvodnje snage u MFC, čime dolazi do manje efikasnosti tretiranja otpada. Suprotno ovome, spoljašnji otpornik manje električne otpornosti ne bi ometao transport elektrona, jer je njihovo kretanje u tom slučaju uslovljeno eksternom energijom koja se obezbeđuje u sistemu. Ipak kada za MFC nisu optimalne vrednosti spoljašnjeg otpora dolazi i do promena u sastavu zajednice mikroorganizama, što može prouzrokovati nagomilavanje protona i pada pH vrednosti. Ovaj podatak ukazuje da promene vrednosti spoljašnje otpornosti imaju uticaj na izlaznu struju i snagu sistema, raznovrsnost zajednice mikroorganizama na anodnoj površini, kao i na sam prenos elektrona sa anode na katodu. (Gul et al., 2021).

2.3. Unutrašnja otpornost MFC sistema

Unutrašnji otpor mikrobne gorivne ćelije je otpor koji pruža ćelija dok struja protiče kroz nju. Za unutrašnji otpor MFC mogu da se identifikuju slične komponente kao kod bilo koje druge elektrohemijske ćelije. Ovaj otpor se sastoji od omskog otpora (R_{Ω}), otpora prenosu naelektrisanja (aktivan otpor) i otpora difuzije (otpor koncentracije). Takođe se u literaturi nailazi i na podelu na omski, anodni i katodni otpor. Veliki deo unutrašnjih gubitka snage mikrobne gorivne ćelije je uzrokovan omskim otporom (Fan, Li, 2016). Zbog toga MFC sistem može da se modeluje električnom komponentom koja se sastoji od redne veze idealnog naponskog izvora i impedanse. Izlazna snaga MFC sistema postiže maksimum kada je otpor spoljašnjeg opterećenja jednak unutrašnjem otporu. Maksimum izlazne snage ćelije je proporcionalan kvadratu od napona otvorenog kola i obrnuto proporcionalan njegovom unutrašnjem otporu. Unutrašnja otpornost MFC sistema nije konstantna, već može da se menja usled promena u sastavu i aktivnosti mikrobne zajednice, zatim zbog uticaja spoljašnjih parametara (temperatura, vlaga), kao i zbog raznih efekata koji se javljaju tokom aktivnosti ćelije, tako da nije uvek jednostavno precizno odrediti njenu vrednost (Fan, Li, 2016).

Metode ispitivanja MFC i određivanja njene unutrašnje otpornosti su izvedene iz opštih elektrohemijskih tehnika i uključuju: metodu polarizacione krive, metodu prekida struje, metodu pika

gustine snage, i spektroskopiju elektrohemijske impedanse uz korišćenje Najkvistovog dijagrama (Logan, 2008).

2.3.1. Metoda polarizacije krive

Električna efikasnost MFC sistema se najčešće izražava preko krive polarizacije. Grafik zavisnosti napona od jačine struje na spoljašnjim otpornicima priključenim na MFC predstavlja polarizacionu krivu. Na grafiku, nagib linearnog dela polarizacione krive predstavlja unutrašnji otpor MFC i računa se na osnovu Omovog zakona, jednačina 14:

$$(14) R_i = \Delta U / \Delta I$$

Metoda polarizacione krive je jednostavna, laka za upotrebu i ne remeti normalan rad gorivne ćelije. Kada Omski otpor nije dominantan, javljaju se odstupanja od linearne zavisnosti (Fan, Li, 2016). Moguće je snimiti krive samo za anodu, ali i za celu MFC uz upotrebu potencioštata ili niza otpornika različitih vrednosti. Ono što može predstavljati problem je trajanje merenja i njegova preciznost (Logan, 2008).

2.3.2. Metoda prekida struje

U elektrohemijskom sistemu metoda prekida struje je našla široku upotrebu, pri čemu daje tačne podatke o struji i naponu. Naglim prekidanjem eksternog kola MFC koje se stabilno prazni, meri se varijacija napona između anode i katode pomoću visokofrekventnog uzorkivača-potencioštata, uz brzo i precizno određivanje potencijala nakon prekida toka struje. Moguće je dobiti razliku napona (ΔU) tokom trenutnog prekida struje, kao i vrednost same struje (I) pre prekida strujnog kola. Kako bi se primenila ova metoda potrebno je najpre prekinuti vezu između elektroda MFC sistema, prilikom čega dolazi do prestanka strujnog toka i naglog inicijalnog porasta napona. Dok ne dostigne vrednosti napona otvorenog kola, napon dalje nastavlja sa sporijim rastom. U trenutku prekida struje, omski gubici istovremeno nestaju, pa je visina u skoku potencijala ΔU , proporcionalna unutrašnjoj otpornosti sistema R_Ω , i struji I , koja je tekla pre prekida. Omski otpor je povezan sa protokom struje, pa tako kada se strujno kolo prekine, omski otpor će brzo nestati. Unutrašnji otpor se računa primenom Omovog zakona (jednačina 15):

$$(15) R_\Omega = \Delta U / I$$

Glavne prednosti metode trenutnog prekida struje su što nije potrebna dodatna oprema, jednostavna je i laka za primenu. S druge strane, glavni nedostatak je što se ne pravi razlika između omskog otpora, aktivacionog otpora ili difuzionog otpora, pa je njegova primena ograničena na MFC sisteme gde je omski otpor dominantan (Fan, Li, 2016, Logan, 2008,).

2.3.3. Spektroskopija elektrohemijske impedanse

Spektroskopija elektrohemijske impedanse (eng. Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS) je elektrohemijska metoda koja se zasniva na primeni potencijala ili struje sinusoidalnog oblika i male amplitude. Ona se primenjuje za proučavanje hemijskih i fizičkih procesa u rastvoru, kao i u čvrstom stanju, pa je jedna od boljih metoda za opis i dijagnostiku samih performansi kod MFC. EIS je jedna od retkih tehnika koja analizira MFC sisteme na dubljem nivou, pošto ne utiče na napon koji generiše MFC. Princip rada zasniva se na merenju impedanse u širokom opsegu frekvencija, kada se na potencijal radne elektrode superponira sinusoidalni signal male amplitude. Pri svojim merenjima, EIS zahteva korišćenje potencioštata sa softverom koji beleži impedanse, na osnovu čega se dobija podatak o dinamičkom odzivu sistema. Merenje spektra impedanse za MFC na različitim naponima ćelije omogućavaju određivanje unutrašnjeg otpora (R_{int}) MFC. Informacije koje dobijamo o unutrašnjem otporu se predstavljaju crtanjem izmerenih vrednosti impedanse elektrode. Unutrašnju otpornost MFC sistema je moguće predstaviti na dva načina: pomoću Najkvistovog i Bodeovog

dijagrama. Najkvistov dijagram prikazuje realnu i imaginarnu komponentu impedanse. Unutrašnja otpornost MFC se određuje sa Najkvistovog dijagrama na osnovu tačke preseka sa x osom. Svaka tačka na kompleksnoj ravni predstavlja impedansu na određenoj frekvenciji. Sa druge strane kod Bodeovog dijagrama imamo informacije o impedansi, frekvenciji i faznom uglu. Glavna prednost EIS metode je što može da izvrši razdvajanje i identifikaciju različitih mehanizama gubitaka koji se javljaju kod MFC modela u različitim frekventnim opsezima. Poslednjih godina, povećana je upotreba EIS. Na primer, primenjuje se za poređenje otpora kod dve MFC koje koriste iste elektrode, za analizu MFC kod primene različitih rastvora, ispitivanje promena na anodi, katodi, kao i ispitivanje promena usled dodatka mikroorganizama. Najveća prednost je što se može koristiti u stvarnim uslovima rada MFC sistema. Nedostatak EIS metode je što zahteva dugoročna merenja, što u nekim slučajevima nije pogodno za *on-line* monitoring (Logan, 2008).

2.3.4. Metoda pika gustine snage

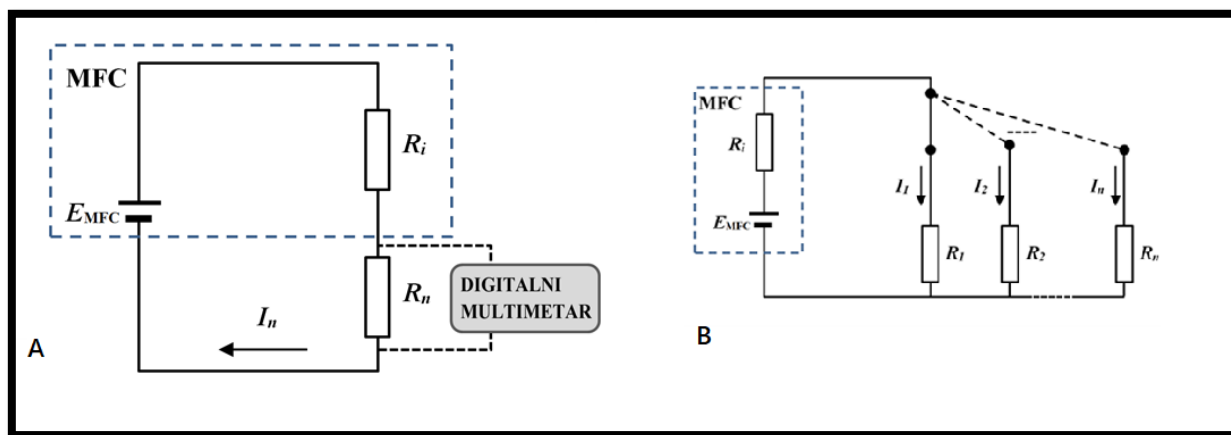
Još jedna od metoda na osnovu koje se određuje unutrašnja otpornost je metoda pika gustine snage. Iz teorije električnih kola je poznato da se maksimalna vrednost snage postiže ukoliko su unutrašnja otpornost naponskog izvora i spoljašnja otpornost jednake (Logan, 2008). Cilj je da se nađe vrednost spoljašnje otpornosti koja omogućava da se generiše maksimalna snaga. Ovo praktično znači da bismo mogli da odredimo vrednost unutrašnjeg otpora MFC, neophodno je da se odredi vrednost spoljašnje otpornosti, na koju je priključena MFC, pri kojoj se ostvaruje maksimum gustine snage. Gustina snage zavisna je od konfiguracije samog MFC sistema, a da bi dobili njenu vrednost, neophodno je da dobijenu snagu podelimo sa površinom odgovarajuće elektrode (površinska gustina snage) ili ukupnom zapreminom u MFC sistemu (zapreminska gustina snage).

Uprošćeni shematski prikaz ove metode je prikazan na slici 2.11. MFC je predstavljena (2.11. A) kao neidealni naponski izvor koji ima sposobnost da generiše elektromotornu silu E_{MFC} , i ima unutrašnju otpornost R_i , tako da su ove dve komponente vezane na red. Na nizu otpornika, prikazanim na slici 2.11. B, $R_1 - R_n$ [Ω], vrši se sukcesivno merenje napona pomoću multimetra. Primenom Omovog zakona, na osnovu očitanih vrednosti napona, U_n (V), računa se struja, I_n (A), kroz dati spoljašnji otpornik, jednačina 16:

$$(16) I_n = U_n / R_n$$

Kao posledica aktivnosti MFC, moguće je izračunati generisanu snagu na određenom otporniku P_n (W), na osnovu relacije (jednačina 17):

$$(17) P_n = U_n \times I_n$$



Slika 2.11. Shematski prikaz postupaka za određivanje unutrašnje otpornosti MFC metodom pika gustine snage: A) prikaz elektrohemijškog sistema, gde je MFC neidealni naponski izvor, koji

generiše elektromotornu silu E_{MFC} i ima unutrašnji otpor R_i , B) prikaz niza spoljašnjih otpornika R_1-R_n na kome se vrše merenja napona. (Randjelović et al., 2019).

Na osnovu rezultata merenja i proračunatih vrednosti crta se grafik zavisnost snage (ili gustine snage) od otpornosti. Maksimum pika snage se određuje sa grafika i na osnovu njega zaključuje pri kojoj vrednosti spoljašnje otpornosti je on postignut. Upravo je ova vrednost otpornosti jednaka unutrašnjoj otpornosti MFC (Logan, 2008).

2.3.4.1. Razdelnik napona na sistemu MFC

Kada je jedan od otpornika, R_n , povezan na MFC, dobijamo šemu kao na slici 2.11. A. Iz teorije električnih kola je poznato da prikazana konfiguracija predstavlja takozvani razdelnik napona. Razdelnik napona čini linearno kolo koje stvara napone, proporcionalne delu ulaznog napona za koje važe sledeće relacije:

$$(18) I = I_n = E_{MFC}/(R_i + R_n)$$

$$(19) U_n = R_n \times I_n = R_n/(R_i + R_n) \times E_{MFC}$$

Na osnovu jednačine 19, zaključuje se da je napon (U_n) na spoljašnjem otporniku proporcionalan elektromotornoj sili (E_{MFC}) koju generiše MFC (Logan, 2008).

Prema teoriji električnog kola za otpornik R_n , kroz koje teče struja I_n , rezultat aktivnosti MFC je razvijena snaga koja se računa prema jednačini 20:

$$(20) P_n = U_n \times I_n = E_{MFC}^2 \times R_n/(R_i + R_n)^2$$

Uslov za maksimalni prenos snage u slučaju razdelnika napona je da spoljašnji otpor bude jednak unutrašnjem otporu naponskog izvora. Merenje na nizu otpornika ima za cilj da odredi vrednost spoljašnjeg otpora koji zadovoljava pomenuti uslov, pri čemu je $R_i = R_n$. U zaključku maksimalna snaga na spoljašnjem otporniku će biti razvijena kada je njegov otpor jednak unutrašnjem otporu MFC. Pod tim uslovima se generiše maksimalna snaga (jednačina 21) (Roulston et al., 1982):

$$(21) P_{nmax} = E_{MFC}^2/4 \times R_n$$

2.4. Profil snage MFC sistema

Kako bi MFC sistem bio upotrebljiv, neophodno je optimizovati sistem u cilju produkcije snage. Snaga se može izračunati na osnovu napona i struje kao što je prikazano u jednačinama 17 i 20, što se direktno odnosi na merenja u MFC.

2.4.1. Normiranje vrednosti snage prema površini elektroda

Informacija o količini snage generisane pomoću MFC sistema, ne govori dovoljno o efikasnosti samog sistema, jer je svaka ćelija dizajnirana prema drugačijim uslovima i parametrima. Sposobnost MFC da generiše energiju, zavisi od brojnih faktora. Površina anode dostupna za rast mikroorganizama vrlo često ima uticaj na to koja količina snage će se generisati. Prema tome, jedan od uobičajenih načina predstavljanja generisane izlazne snage u sistemu je normalizacija u odnosu na površinu anode A_{an} (Logan, 2008). Na ovaj način se dobija površinska gustina snage, P_{an} (W/m^2), pri čemu u slučaju maksimalnog prenosa snage važi sledeća formula:

$$(22) P_{an} = U_n^2/(A_{an} \times R_n),$$

$$P_{max_{an}} = E_{MFC}^2/(4 \times A_{an} \times R_n)$$

Pri obradi rezultata, treba voditi računa kako je anoda postavljena u sistemu. Dešava se da nisu uvek obe strane dostupne mikroorganizmima. U slučaju da anodu obrastaju mikroorganizmi, neophodno je površinu anode, koja se kod pravougaonog oblika izračunava pomoću dužine (l_{An}) i širine (w_{An}) stranica, pomnožiti sa dva:

$$(23) A_{An} = 2 \times l_{An} \times w_{An}$$

Međutim, kada je anoda prislonjena na dno komore, uračunava se samo površina jedne strane elektrode. Često je konstrukcija anode takva (npr. granulirana) da vrlo lako može da dođe do pogrešne procene njene površine. Kod takvih materijala, nije uvek čitava površina elektrode obrasla mikroorganizmima, jer su neki delovi nedostupni, čak i za one vrste koje sadrže pile i flagele. Površina anode ne mora uvek da utiče na proizvodnju energije. U sistemima gde je anoda pokretna ili ako je dosta veće površine u odnosu na katodu, normiranje izlazne snage se vrši prema površini katodne elektrode. Kod dvokomornih sistema, gustina snage se normalizuje prema projektovanoj površini membrane. Prilikom konstrukcije sistema, treba voditi računa o izboru membrana i njihovoj veličini, usled njihovog uticaja na izlaznu snagu (Logan, 2008).

2.4.2. Normiranje vrednosti snage prema zapremini sistema

MFC sistemi su dizajnirani da maksimalizuju ukupnu izlaznu snagu u sistemu, pa je najvažniji faktor proizvodnja energije na osnovu ukupne zapremine reaktora MFC. Ovi rezultati se predstavljaju kao zapreminska snaga sistema P_V (W/m^3), pri čemu je V ukupna zapremina reaktora, odnosno MFC sistema. Gustina snage po jedinici zapremine se računa (jednačina 24):

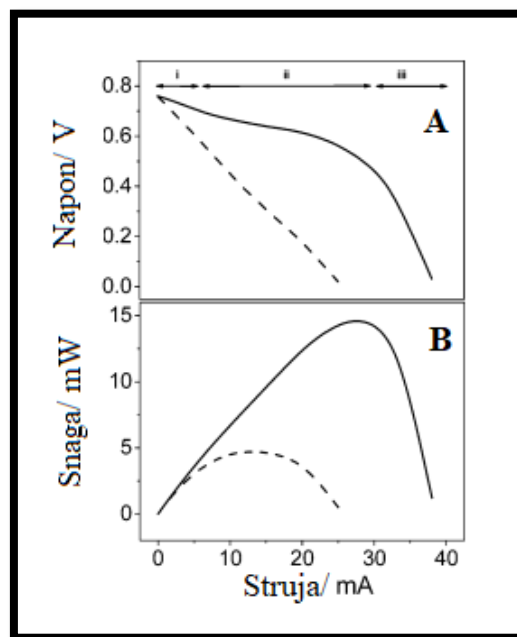
$$(24) P_V = U_n^2 / (V \times R_n)$$

$$P_{max_{an}} = E_{MFC}^2 / (4 \times V \times R_n)$$

Ukoliko su u pitanju dvokomorni sistemi, dešava se da se gustina snage obračunava prema zapremini samo jedne komore, što nije sasvim ispravno. Podjednako i katodna i anodna komora doprinose ukupnoj veličini reaktora, a samim tim i ukupnoj snazi u sistemu (Logan, 2008).

2.4.3. Polarizaciona kriva i kriva gustine snage MFC

Polarizacione krive grafički prikazuju performanse mikrobnih gorivnih ćelija i omogućavaju njihovu detaljnu analizu i karakterizaciju, predstavljajući napon kao funkciju gustine struje. U zavisnosti od potreba, mogu se snimati za anodu, katodu ili ceo sistem MFC. Merenja napona se mogu vršiti direktno preko potenciometra, ili na nizu spoljašnjih otpornika čije otpornosti obuhvataju dovoljno širok opseg, dok se vrednost struje dobija primenom Ohmovog zakona (Logan et al., 2006). Da bi očitana vrednost napona na spoljašnjem otporniku bila validna, neophodno je uspostaviti pseudo-stabilno (kvazi-stacionarno) stanje, pri čemu su varijacije napona nakon nekog vremenskog perioda manje od određene vrednosti. Pseudo-stabilno stanje je privremenog karaktera, jer se sa vremenom troši i dostupan supstrat na anodi. Zbog toga je neophodno voditi računa o ukupnom trajanju merenja kako ne bi došlo do promene aktivnosti mikrobne zajednice. U slučaju da se proučavaju performanse samo jedne komore u sistemu, neophodno je koristiti referentnu elektrodu (Logan et al., 2006, Logan, 2008).



Slika 2.12. Tipičan izgled polarizacione krive (A) i krive snage (B) na primeru MFC koja radi na skrobu kao izvoru supstrata za mikroorganizme (Adaptirano: Logan et al., 2006).

Predstavljanjem zavisnosti napona od jačine struje (ili gustine struje) dobija se polarizaciona kriva, što je i prikazano na slici 2.12 A. Na slici je prikazan maksimalni napon koji se može dobiti u sistemu MFC i koji se ostvaruje pri nultoj struji što znači da je to napon otvorenog kola, OCV (eng. Open Circuit Voltage, OCV). Vrednost OCV je ograničena izborom same mikrobne zajednice i potencijalom otvorenog kola, OCP (eng. Open Circuit Potential, OCP) katode. Pošto MFC suštinski predstavlja izvor napajanja, cilj je da se ostvari maksimalna izlazna snaga sistema, odnosno maksimalna jačina struje u uslovima maksimalnog potencijala. Najveći napon, OCV, se postiže samo pri uslovima gde postoji beskonačan otpor. U prisustvu spoljašnjeg otpora dolazi do promene napona, a samim tim se menja i jačina struje. Kada se na MFC priključe otpornici, sa opadanjem otpornosti opada i napon, pri čemu je oblast sa najmanjim padom napona najbitnija, čime se maksimizira snaga koja se generiše u opsegu vrednosti struja od interesa. Kriva polarizacije zahteva merenje napona na nizu otpornika, a iz dobijenih vrednosti zatim se računaju struja i razvijena snaga. Zavisnost napona od jačine električne struje govori o samoj efikasnosti MFC, pa je polarizaciona kriva od izuzetnog značaja (Logan, 2008). Svaka polarizaciona kriva (slika 2.12 A), sadrži tri specifične zone: I- zonu aktivacije, koja počinje od OCV pri nultoj struji, gde se javlja brzi pad napona sa vidnim gubicima; u zoni II nivo napona kreće sporije da opada i zavisi linearno od struje, a pad napona je praktično konstantan; i III zona u kojoj dominiraju gubici koncentracije (efekat transporta mase) pri većim strujama (Logan et al., 2006) što se ogleda u brzom padu napona.

Kriva snage predstavlja zavisnost snage (ili gustine snage) od struje (odnosno gustine struje), a njeni parametri se izračunavaju iz krive polarizacije. Na slici 2.12. B, vidimo tipičnu krivu snage (prikazanu punom linijom), dobijenu na osnovu polarizacione krive prikazane na slici 2.12. A. Osnovna karakteristika krive snage je postojanje pika koji se javlja pri određenoj vrednosti struje. Takođe, snaga se ne generiše ni pri nultoj struji (otvoreno kolo), niti u uslovima kratkog spoja, kada je otpor anuliran. Samu vrednost dostignutog maksimuma generisane snage uglavnom određuje omski otpor, delimično zbog niske jonske provodljivosti rastvora supstrata, ali češće zbog nedovoljnog stepena optimizacije dizajna MFC sistema. Logan i saradnici (Logan et al., 2006) su sprovedli eksperiment koji prikazuje uticaj povećanja omske otpornosti na oblik polarizacione krive. Njihov eksperiment obuhvatao je dva merna ciklusa, originalni (puna linija) i linearizovan (isprekidana linija). Linearizacija polarizacione krive je ostvorena dodavanjem otpora od 20 Ω ,

odnosno oduzimanjem pada napona na dodatnom otporniku. Linearna polarizaciona kriva ukazuje na to da je njen nagib jednak unutrašnjem otporu MFC. Simetrična kriva snage je karakteristična za visoki unutrašnji otpor MFC koji je ograničen omskim otporom (isprekidana linija na slici 2.12. B), umesto ograničenjem nastalim zbog efekta prenosa mase (puna linija prikazana na slici 2.12. B). U slučaju simetrične krive, maksimum snage se ostvaruje kada je unutrašnji otpor jednak spoljašnjem, $R_{int}=R_{ext}$.

2.4.4. Uticaj spoljnih elemenata na napon MFC

Polarizaciona kriva i kriva snage, opisane u prethodnom poglavlju 2.4.3., pokazuju da napon igra ključnu ulogu kako bi se održala konstantna proizvodnja energije sistema MFC. Gubici napona su očit pri malim strujama, gde se jasno može videti njegov pad. Smatra se da pad napona uzrokuju tri osnovna gubitka: aktivacija, metabolizam mikroorganizama i transport prenosa mase (Logan, 2008).

Aktivacioni gubici nastaju usled gubljenja energije prilikom pokretanja reakcije oksidacije ili redukcije, kao i energije koja se gubi transferom elektrona sa proteina ili enzima sa mikrobni ćelija u okviru anodne površine. Na slici 2.12 A, u okviru oblasti I, ovi gubici su jasno vidljivi usled malih gustina struje. Upotreba katalizatora na katodnoj površini kao i specifičnih bakterijskih kultura koji će poboljšati prenos elektrona u okviru anode, mogu da spreče pad napona u izvesnoj meri (Logan, 2008).

Proizvodnja struje u MFC je uslovljena bakterijskom oksidacijom supstrata, kao i transportom protona i elektrona do krajnjeg akceptora. Da bi bakterije obezbedile pumpanje protona i transport elektrona neophodna im je energija iz supstrata koja se dobija putem Krebsovog ciklusa. Ukoliko je energija nastala oksidacijom nedovoljna za pomenute procese, neizbežni su naponski gubici. Dobro funkcionisanje MFC sistema podrazumeva da se obezbedi adekvatan prenos elektrona ali treba voditi računa i o anodnom potencijalu za koji je poželjno da ostane što je više moguće negativniji (Logan, 2008).

Efekat gubitka prenosa mase ili gubici koncentracije nastaju kada je protok reaktanata do elektrode ili tok proizvoda sa elektrode nedovoljan, što dovodi do ograničavanja brzine reakcije. Ukoliko je protok protona sa anode ograničen, akumulacija će dovesti do smanjenja pH vrednosti, što dovodi do negativne kinetike na sam rad mikroorganizama. Transfer protona, takođe dovodi do posledičnog poremećaja u katodnom delu, jer će se posledicama u anodnom delu, pH vrednost povećavati i ograničiti normalan rad MFC i proizvodnju energije. Važno je voditi računa o puferskom kapacitetu kod MFC sistema gde je to moguće, kako bi se smanjilo nakupljanje materijala na katodi, što dodatno može usporiti difuziju protona. Neuravnotežen odnos protona dovodi do smanjenog prenosa mase što uzorkuje pojavu omskog otpora. Njihovo prevazilaženje bi učinilo MFC optimalnim za neku dužu primenu. Omski gubici nastaju usled otpora jonske, mahom protonske provodljivosti u rastvoru i na membrani, i protoka elektrona do tačke kontakta na elektrodi (žičanog dela koji povezuje elektrode), kao i ostalih unutrašnjih konekcija. Omske gubitke je moguće ograničiti smanjenjem razmaka između elektroda, izborom membrana ili elektroda sa niskim otporom, obezbeđivanjem dobrih kontakata između eksternog kola i elektroda, kao i povećanjem provodljivosti rastvora i puferskog kapaciteta. Izazov pri dizajniranju MFC je dobiti veću produkciju energije, što ne mora uvek da bude kontrolom omskog otpora. Čak i smanjenje rastojanja između elektroda, čime se smanjuje omski otpor, nije garancija za produkciju veće energije. Membrane sa niskim omskim otporom za protonsku izmenu, takođe neće obezbediti veću produkciju, ukoliko su u bliskom kontaktu sa katodom. Pored svih stvari koje treba uzeti u obzir, za idealne performanse MFC, mora se voditi računa i o ceni prilikom izbora materijala (Logan, 2008).

2.5. Značaj i primena MFC

Električna struja generisana pomoću MFC, jedna je od prvih potencijalnih primena koje je pružio ovaj sistem. Sa napretkom istraživanja na polju MFC tehnologije, povećavao se i broj mogućih primena. Danas, osim u proizvodnji električne energije, uočen je značajan potencijal primene MFC u tretmanu otpadnih voda, produkciji vodonika i biosenzorima.

2.5.1. Proizvodnja električne energije

MFC predstavlja ekološku tehnologiju, koja može da koristi širok spektar supstrata, materijala i brojne vrste mikroorganizama za proizvodnju električne energije. Proizvodnja energije pomoću MFC je ideja koja je stara više od jednog veka, ali kao praktičan metod u proizvodnji je tehnika koja još nije dovoljno istražena. Rad MFC je zasnovan na mikrobnoj aktivnosti, pretvaranju hemijske energije, uskladištene u organskim supstratima, u električnu energiju pri relativno malim uslovima i bez potrebe za bilo kakvom posrednom transformacijom (Logan, 2008, Obileke et al., 2021). Razvoj procesa značajno je unapređen primenom mikroorganizama koji su potpomogli proizvodnju struje. Mikroorganizmi razgrađuju organske supstance i pritom se bez posebnih zahteva razmnožavaju, što ceo sistem čini samoodrživim. U zavisnosti od bakterijskih sojeva, reakcije na kojima MFC uspešno funkcioniše podrazumevaju širok raspon temperatura, od umerenih, do visokih pa čak i niskih, na kojima funkcionišu neke bakterijske vrste (opisano u poglavlju 2.2.5.3.). Kao što je već navedeno, svaka biorazgradiva organska supstanca može poslužiti kao supstrat za MFC, uključujući kiseline, ugljene hidrate, proteine, alkohole, pa čak i relativno kompleksne polimere poput celuloze. Sistem je osmišljen sa minimalnim entropijskim gubicima zahvaljujući tome što ne zahteva zagrevanje. Visoka konverzijska efikasnost, sa pokazanih preko 70%, dajući hemijsko gorivo ćelijama uz istovremeno rešavanje problema otpada, čini MFC skoro idealnom tehnologijom. Ovaj sistem je poželjan i za omogućavanje dugoročne primene električne energije, sa potencijalnim zdravstvenim i bezbednosnim implikacijama. Istraživanja su pokazala, da MFC koja može da generiše 25 mW snage predstavlja pogodno sredstvo za stimulaciju rada srca. Glavni cilj je postizanje odgovarajućeg intenziteta struje i snage što bi omogućilo primenu za napajanje malih električnih uređaja. Rahimnejad i saradnici su uspeli da upale deset LED lampi i jedan digitalni sat, uz pomoć složenog MFC sistema sa više ćelija, koji je predstavljao izvor napajanja i omogućio da oba uređaja uspešno rade 2 dana (Hoang et al., 2022, Logan, 2008, Rahimnejad et al., 2015).

Zahtevi da se sistem MFC održi ekonomičnim su izuzetno visoki. Postoji mnogo alternativnih metoda proizvodnje energije koji su dostigli visok nivo razvoja, što ih čini konkurentnim za proizvodnju energije. Glavni nedostatak u korišćenju MFC tehnologije povezan je sa nedovoljnom izlaznom snagom. Pitanje visoke cene materijala za elektrode, membrana i katodnog katalizatora predstavlja dodatno ograničenje za ovu tehnologiju. Pribavljanje materijala za elektrode velike površine, u cilju poboljšanja izlazne snage je pravac koji bi trebalo da predstavlja fokus ove tehnologije u budućnosti, što bi dodatno doprinelo ekonomičnosti tehnologije (Hoang et al., 2022, Logan, 2008).

2.5.2. Tretman otpadnih voda

Veliki potencijal u vidu neiskorišćene energije se krije u otpadnim vodama. Navodi se da je čak do 10 puta više energije uskladišteno u otpadnim vodama u odnosu na trenutno iskorišćeni potencijal za njihovo prečišćavanje. Različite vrste otpadnih voda, kao što su sanitarni otpad, otpadne vode od prerađene industrijske hrane, otpadne vode iz stočne industrije, otpadne vode tekstilne industrije, samo su jedan od mnogih izvora u kojima je sadržana velika količina biorazgradive organske supstance (Logan, 2008, Liu et al., 2021, Rahimnejad et al., 2015). Konvencionalne tehnologije prečišćavanja otpadnih voda zahtevaju transformaciju, jer nisu u stanju da zadovolje rastuću potražnju, a pritom su ekonomski i energetske veoma neisplative. MFC predstavlja alternativu

konvencionalnim metodama prečišćavanja otpadnih voda (Venkatramanan et al., 2021). MFC sistem se pominje još iz 1991, kao tehnologija za potencijalno rešavanje problema otpadnih voda, a primena ovog sistema na tretiranju otpadne sirovine sa sobom donosi i stvaranje električne energije ili proizvodnju vodonika (Logan, 2008). Mehanizam i efikasnost tretmana otpadnih voda u velikoj meri zavise od MFC dizajna, pH vrednosti sistema, temperature, konfiguracije elektroda, dostupnog supstrata i prisustva membrane. Naravno, sve spomenute parametre treba prilagoditi tako da što efikasnije mogu da iskoriste energiju iz vrste otpadne vode koja se tretira. Zbog jedinstvenih karakteristika i brojnih prednosti MFC sve više je poželjna njihova primena u tretmanu otpadnih voda. Umrežavanjem MFC sistema i postrojenja za preradu otpadnih voda, povećava se robustnost i stabilnost samog sistema. Formiranjem biofilma kroz koje deluje zajednica mikroorganizama, obezbeđena je otpornost MFC sistema, pogotovo na toksične zagađujuće supstance i promenu pH sistema. Kod konstantno dostupnog supstrata, moguće je funcionisanje MFC sistema u dosta dužem vremenskom periodu, čak i do 2 godine, u odnosu na eksperimente na maloj skali. Integracija MFC sistema i anaerobne digestije jako je poželjna, pogotovo kod otpadnih voda visoke toksičnosti i kod otpadnih voda pivske industrije (Gul et al., 2021, Li et al., 2023, Santoro et al., 2017, Venkatramanan et al., 2021).

Proces prečišćavanja otpadnih voda zahteva izvesno vreme, ali i pogodne metode za sanaciju. Glavna ideja kod svakog tretmana je sprečavanje nastanka novog i smanjenje postojećeg zagađenja životne sredine, kao i maksimalna iskorišćenost dostupnih resursa u otpadu. Primenom MFC na tretmane otpadnih voda, uporne zagađujuće supstance poput jedinjenja koja sadrže azot, sumpor i teške metale bivaju uklonjene. Većina otpadnih voda je bogata hranljivim materijama kao što su azot i fosfor, čije velike koncentracije u vodama dovode do eutrofikacije. Otpuštanje azota u životnu sredinu predstavlja veliki problem, a dosadašnje metode njegovog uklanjanja podrazumevaju procese nitrifikacije (oksidacije amonijaka do nitrata) i denitrifikacije (redukcije nitrata u gasoviti azot) koji su dosta skupi, energetski neisplativi i dovode do stvaranja velikih količina mulja (Venkatramanan et al., 2021). MFC sistemi, koriste se i za tretiranje azota u vodi, primenom mikroorganizama poput *Nitrosomonas*, *Nitratireductor* i *Acidovorax* (Jia et al., 2008, Lefebvre et al., 2008). Ionizovani oblik amonijaka (NH_4^+) najčešće završava u katodnom delu i tu se redukuje do azota. Za ovaj proces neophodno je obezbediti neutralnu pH vrednost i anaerobnu sredinu u sistemu, kako i kombinovanje autotrofnih denitrifikujućih membranskih bioreaktora, kako bi se uklonio azot i istovremeno proizvela bioelektrična energija (Sahinkaya et al., 2015).

Prisustvo fosfora nanosi veliku štetu u vodenom ekosistemu i od velike važnosti je pristupiti njegovom uklanjanju. Tradicionalno, fosfor se uklanja korišćenjem tehnologija kao što su hemijska precipitacija i obogaćivanje sa mikroorganizmima koji mogu da akumuliraju fosfor, koji se zatim eliminiše u vidu aktivnog mulja (Guan et al., 2019). Uklanjanje fosfora se uspešno izvodi i korišćenjem MFC sistema. Kod ovog tretmana, u katodnom delu vrši se redukcija gvožđe fosfata pri čemu se oslobađa ortofosfat, koji zajedno sa dodatim magnezijumovim i amonijačnim solima formira struvit. Struvit predstavlja fosfatni mineral ($\text{NH}_4\text{MgPO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$) koji taloženjem omogućava uklanjanje i azota i fosfora. Na ovaj način uklonjen fosfat iz otpadnih voda, može se koristiti kao đubrivo. Integracija MFC sistema sa bioreaktorom algi, takođe se pokazala kao dobra u svojoj primeni na uklanjanju fosfora. Autohtoni organizmi, poput algi troše fosfor i druge hranljive supstance iz otpadne vode kako bi proizvele veću količinu svoje biomase (Venkatramanan et al., 2021).

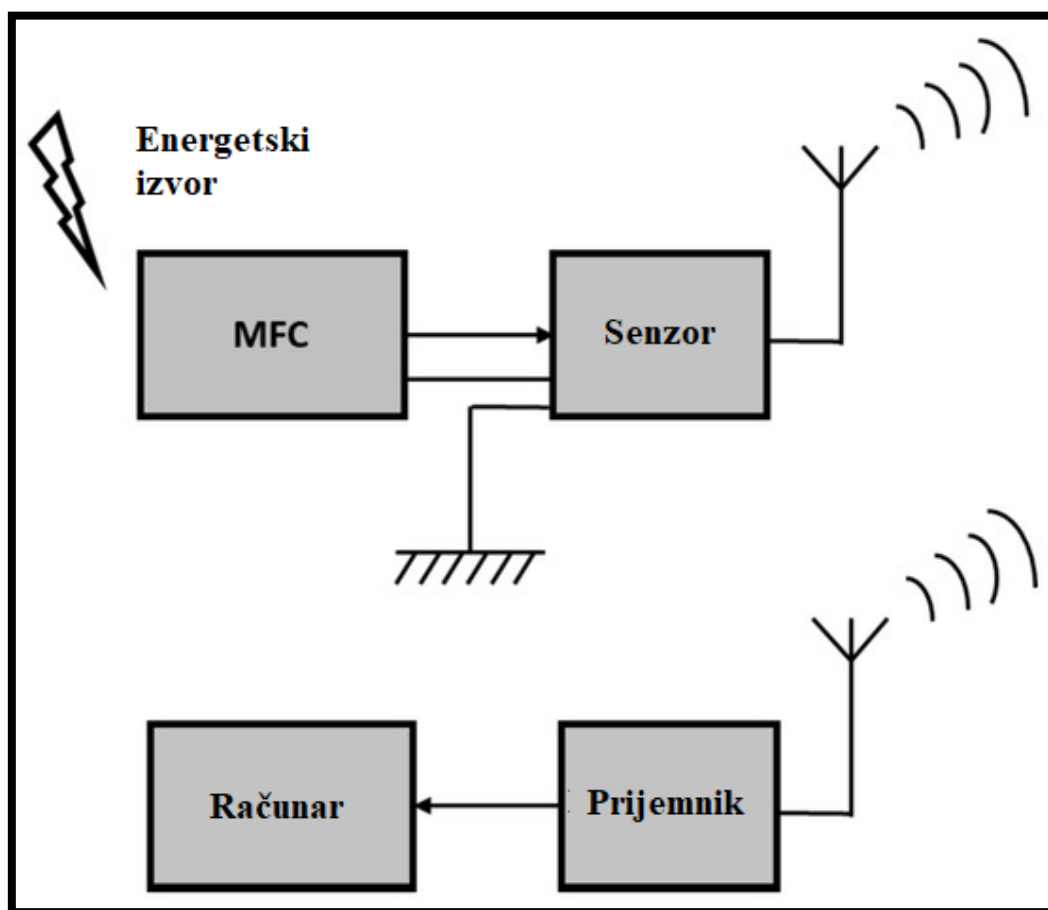
Industrija papira i celuloze, prehrambena, petrohemijska, kao i kisele rudničke vode, sadrže velike količine sulfata u svojim otpadnim vodama. Zbog negativnog uticaja na životnu sredinu i zdravlje ljudi, velika količina sulfata i sulfida zaista predstavlja problem. Isparavanje, precipitacija, adsorpcija i oksidacija su tradicionalne metode koje uključuju redukciju sulfata do sulfida, sa ciljem da se izvrši potpuno eliminisanje sulfida. Unapređenjem tehnologije i upotrebom MFC sistema kod tretmana otpadnih voda, zahvaljujući radu mikroorganizama dolazi i do oksidacije i redukcije, uz

stvaranje električne energije. Uklanjanje sulfata je obezbeđeno zahvaljujući delovanju mikroorganizama, prvenstveno sulfat-redukujućih bakterija (eng. *sulfate reducing bacteria*, SRB) (*Desulfovibrio desulfuricans*, *Desulfuromonas acetoxidans*, *Desulfobulbus mediterraneus* i drugi), koje redukuju sulfat do sulfida na anodi (Li et al., 2009, Sahinkaya et al., 2015). Sulfat-redukujuće bakterije u anodnoj sredini, redukuju sulfat u sulfid, koji se potom oksiduje u elementarni sumpor pomoću *Thiobacter* vrsta. Za uklanjanje sulfata idealno se pokazalo dodavanje konzorcijuma mikroorganizama, *Clostridium*, *Desulfovibrio* i *Tetrathiobacter*, koje zahtevaju blago alkalnu sredinu. Prelazak sa tradicionalnih metoda na MFC sisteme, dovelo je do bržeg uklanjanja sulfata, manjih troškova i dobijanja elementarnog sumpora kao krajnjeg proizvoda (Venkatramanan et al., 2021).

Uklanjanje teških metala poput bakra, cinka, hroma i nikla, javilo se kao još jedna od potencijalnih primena MFC kod rešavanja problema otpadnih voda. Metali sa visokim redoks potencijalom mogu se koristiti kao akceptori elektrona u katodnom delu, pri čemu dolazi do njihovog taloženja. Elektroni koji nastaju usled procesa mikroorganizama, omogućavaju disimilatornu redukciju metala, zahvaljujući kojoj oni čuvaju energiju nastalu procesom oksidacije supstrata. Svojom redukcijom, metali mikroorganizmima obezbeđuju i neophodnu energiju za rast. Kao i do sada, najbolje se pokazala upotreba konzorcijuma mikroorganizama prilikom tretiranja otpadnih voda bogatih metalima (Venkatramanan et al., 2021, Xu et al., 2018).

2.5.3. Biosenzori

Senzori predstavljaju merne uređaje koji pretvaraju ulazne fizičke veličine od interesa u izlazni signal koji je merljiv i čitljiv. Napajanje senzora se često vrši preko elektrohemijskih baterija, koje su ograničenog ili relativno kratkog roka trajanja. MFC tehnologija našla je svoju potencijalnu primenu i u biosenzorima. Pronalaženje efikasnih i samoobnovljivih izvora energije za uređaje postavljene na udaljenim ili teško dostupnim lokacijama, predstavlja izazov na koji MFC sistemi mogu da odgovore (Rahimnejad et al., 2015). Zamena konvencionalnih baterija, u udaljenim senzorima, značajno smanjuje troškove ali i rizike po životnu sredinu. Samoobnovljivi MFC sistemi se predstavljaju kao dugoročno alternativno napajanje za daljinska merenja kod senzora i biosenzora, što je ilustrovano na slici 2.13 (Ivars-Barceló et al., 2018).



Slika 2.13. Shematski dijagram daljinskog senzora, koji napaja izvor energije u vidu MFC (Adaptirano: Ivars-Barceló et al., 2018).

Ključni faktor za energetska efikasnost MFC je pronalaženje odgovarajućih uslova, kako bi uspešno mogla da se obezbedi održivost senzora. Neophodno je prilagoditi dizajn MFC, izvoru dostupnog supstrata, bilo da je u pitanju organska ili neorganska sirovina, u cilju postizanja što veće izlazne snage iz sistema. Ne treba zanemariti ni ostale faktore sredine, kao što su pH vrednost, brzina organskog opterećenja, prisustvo toksičnih supstanci i inhibitora. Istraživanja su pokazala da se mnogo veća količina energije generiše u slučaju paralelnog ili serijskog povezivanja više MFC, čime bi se rešio problem male snage u slučaju korišćenja samo jedne MFC za napajanje senzora (Kadivarian et al., 2020). Ipak, zahtevi za napajanjem izvorom velike snage, ne mogu se ispuniti ni paralelnom ni rednom vezom MFC, jer na ovaj način nije moguće da se nadmaši zbirna vrednost OCV pojedinačnih ćelija, kao što je pokazano u literaturi (Ivars-Barceló et al., 2018). Upotreba ultra-kondenzatora, koji bi skladištio niske količine generisane energije, kako bi se ona isporučivala samo kada se postigne adekvatan nivo izlazne energije koji je dovoljan da obezbedi funkcionisanje senzora, mogla bi da reši spomenuti problem niske izlazne snage (Ivars-Barceló et al., 2018).

Biosenzor, po IUPAC (eng. International Union of Pure and Applyed Chemistry, IUPAC) definiciji predstavlja samostalni integrisani uređaj koji pruža specifične analitičke informacije koristeći element biološkog prepoznavanja koji je u kontaktu sa elementom elektrohemijske transdukcije. Prema ovoj definiciji, MFC se može dizajnirati tako da funkcioniše kao samostalni biosenzor, koji će moći da radi na daljinskom monitoringu željenih parametara (Thevenot et al., 1999). Zahvaljujući biofilmu koji se na njoj formira, u MFC sistemu anoda deluje kao element prepoznavanja. Reakcije anodne oksidacije, izazivaju promenu brzine protoka elektrona na anodi, te se ona ponaša kao pretvarač, transformišući promenu struje u merljiv signal. Biološke komponente za prepoznavanje analita su uglavnom enzimi, fluorescentni proteini ili drugi pigmentni molekuli.

Razvijene su različite vrste enzimskih senzora glukoze. Među prvim MFC biosenzorima koji su realizovani je uređaj koji meri količinu proizvedenog vodonika i nedostatka kiseonika. Oni se odlikuju malim dimenzijama i jednostavnom izradom. Drugi tip biosenzora koristi ferocen za prenos elektrona do elektrode (Rahimnejad et al., 2015). Kod do sada korišćenih biosenzora, spoljašnji izvor napajanja je neophodan za rad svih elektronskih komponenata, uključujući i elemente odgovorne za konverziju, pojačanje i prenos signala, što dosta ograničava primenu na udaljenim mestima u životnoj sredini. Nasuprot tome, kod MFC mikroorganizmi imaju ulogu elementa za detekciju, dok generisana električna struja predstavlja izlazni signal koji je lako merljiv. Dakle, senzori zasnovani na MFC ne zahtevaju dalju konverziju signala pa se stoga smatraju pogodnim za reciklažu. Posebno obećavajuće su njihove primene za brzo praćenje faktora životne sredine kao što su pH vrednost, temperatura, sastav i koncentracija organske supstance i drugih parametara koji će tek naći primenu. Ono što je trenutno glavna prepreka za širu primenu MFC kao biosenzora je dosta visoka cena (Ivars-Barceló et al., 2018).

Biološka potrošnja kiseonika (eng. Biological Oxygen Demand, BOD) je parametar koji se koristi kao standardna metoda za određivanje koncentracije biorazgradivih organskih materija u otpadnoj vodi, na osnovu čega se procenjuje kvalitet same vode. Test se sastoji u merenju količine rastvorenog kiseonika pre i posle inkubacije otpadne vode od pet dana na 20 °C. Procena BOD u vodi korišćenjem MFC zasnovana je na proporcionalnosti koja postoji između trenutne efikasnosti ćelije (Kulonova ili Faradejeva efikasnost) i količine oksidovane organske supstance koja se koristi za MFC sistem. Tačnost, ponovljivost, jednostavna neinvazivna metoda, stabilan i brz odgovor biosenzora za detekciju BOD na bazi MFC je glavna prednost u odnosu na dosadašnje tradicionalne metode. Glavni nedostaci koji se javljaju kod ovog tipa biosenzora su ograničenost dostupnih organskih supstanci i ograničen broj bakterijskih vrsta što doprinosi niskoj efikasnosti sistema (Ivars-Barceló et al., 2018).

Svakodnevna upotreba vode zahteva i procenu kvaliteta, od kojih je toksičnost jedna od ključnih parametara. MFC predstavljaju osetljive biosenzore, jer svaka toksična supstanca, poput fenola i jedinjenja nafte koja se detektuje u vodenoj sredini utiče na metaboličku aktivnost mikroorganizama, a samim tim i na brzinu potrošnje supstrata, što rezultuje u smanjenju intenziteta generisane izlazne snage (Rahimnejad et al., 2015). Svaka toksična promena u okolini može se detektovati praćenjem perturbacija u električnoj struji koju stvara MFC sistem, čime se smanjuje vreme detekcije, kao i troškovi u odnosu na konvencionalne metode. Performanse i osetljivost na različite toksične supstance u senzoru toksičnosti zasnovanom na MFC modelu, veoma zavise od elektroaktivnih mikroorganizama koji se koriste u sistemu. Prilikom dizajniranja ovih biosenzora, ključan faktor je odabir mikroorganizama sa posebnom povećanom osetljivošću na toksične supstance od interesa (Ivars-Barceló et al., 2018).

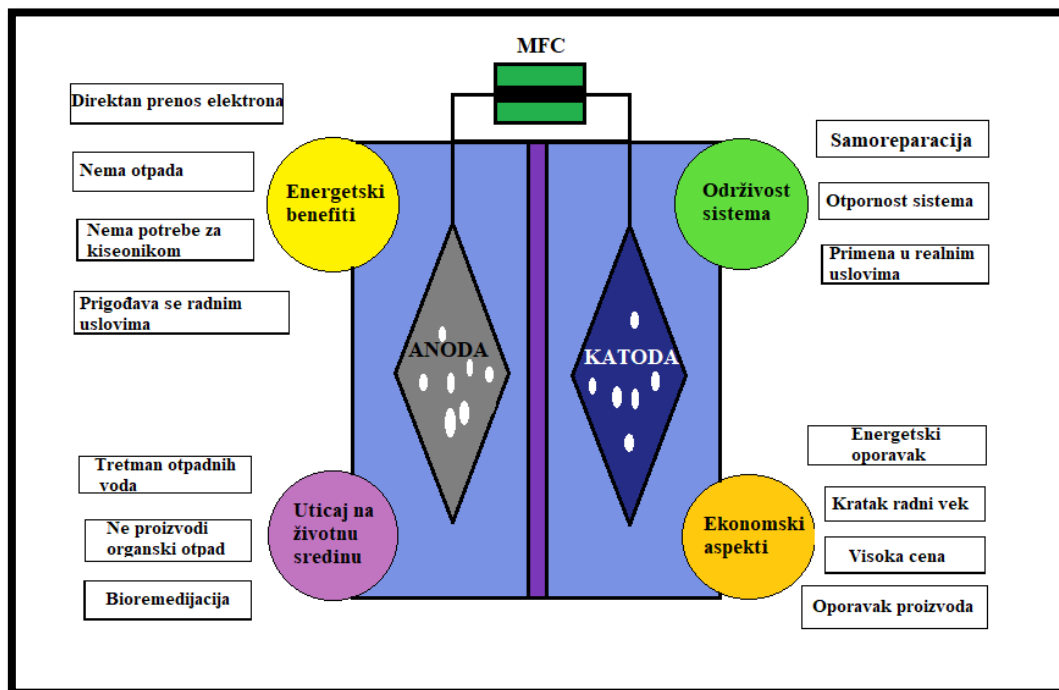
2.5.4. Produkcija biovodonika

Modifikacijama na MFC sistemu, produkcija električne energije lako se može transformisati u produkciju vodonika. Generalno, protoni oslobođeni na anodi migriraju do katodnog dela gde zajedno sa kiseonikom grade molekule vode. Generisanje vodonika iz oslobođenog protona i elektrona je termodinamički nepovoljan proces, ali povećanjem katodnog potencijala moguće je prevazići barijeru i kao finalni proizvod dobiti vodonik. Prilikom proizvodnje vodonika, kiseonik više nije potreban sistemu i na taj način se rešava problem njegovog curenja u anodnu sredinu, povećavajući efikasnost MFC. Jedna od prednosti je što se vodonik može akumulirati i skladištiti kasnije za dalju upotrebu, kao u slučaju kondenzatora (Ivars-Barceló et al., 2018).

2.5.5. Perspektive primena MFC

Do sada se nekoliko metoda pokazalo kao dobar odabir za trenutno rešenje problema održive energije. MFC tehnologija svakako pruža potencijalni pristup za eksploataciju energije iz održivih izvora koji bi mogli zameniti do sada konvencionalne izvore energije u vidu fosilnih goriva (Hoang

et al., 2022). Elektroni nastali iz metabolizma mikroorganizama se koriste za obezbeđivanje pouzdanog i kontinuiranog izvora proizvodnje obnovljive energije. Višegodišnji napredak na usavršavanju MFC sistema, nudi široku potencijalnu primenu u rasponu od proizvodnje energije, preko bioremedijacije i uklanjanja zagađujućih supstanci, do proizvodnje biogoriva. S jedne strane, bioelektričnost se smatra održivim izvorom energije jer koristi sposobnost elektrogenih bakterija u proizvodnji elektrona kroz svoj metabolizam i oksidaciju organskih supstrata. Istovremeno, anaerobni procesi mikroorganizama olakšavaju efektivno uklanjanje zagađujućih supstanci iz otpadnog supstrata (Hoang et al., 2022, Rahimnejad et al., 2015).



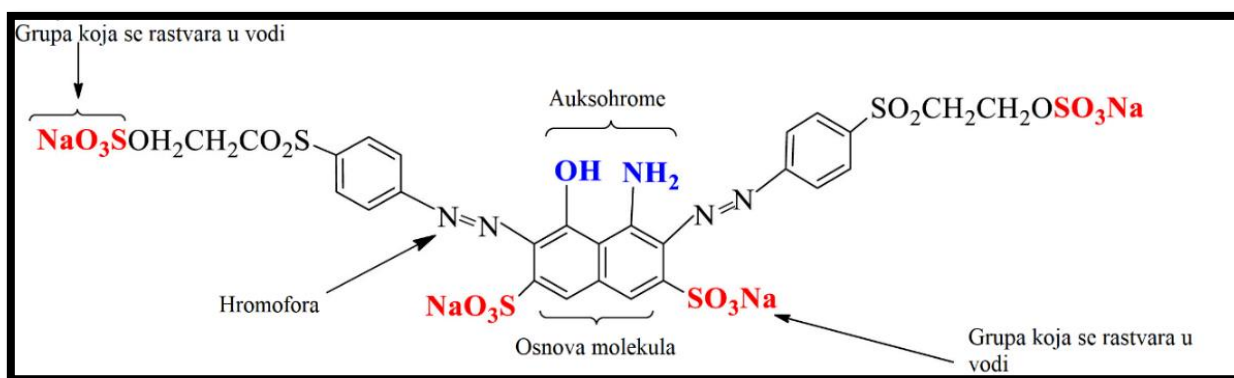
Slika 2.14. Karakteristike MFC sistema na energetskom, ekonomskom, održivom i polju životne sredine (Adaptirano: Li et al., 2014).

Dalja optimizacija i buduća primena je nešto na čemu se radi već duži vremenski period. Odabir odgovarajućih elektroda, kao i selekcija odgovarajućih mikroorganizama su među popularnim istraživačkim trendovima vezanim za MFC tehnologije, slika 2.14. Odabir mikrobnih vrsta igra važnu ulogu u proizvodnji izlazne snage, s toga se očekuje buduća upotreba genetičkog inženjeringa kako bi se poboljšale performanse i efikasnost uklanjanja otpada. U daljim istraživanjima očekuje se optimizacija rada mikrobnog konzorcijuma, tako da se u radu prenos elektrona može obavljati bez stranih medijatora ili formiranja biofilma, uz postizanje većeg prenosa brzine i mase. Fokus pri odabiru i usavršavanju elektrodnog materijala je poboljšani protok elektrona, što bi dodatno doprinelo velikoj samoodrživosti MFC sistema (Rahimnejad et al., 2015). Potreban je iskorak u stvaranju elektroda od lako dostupnih i povoljnih materijala. Za industrijsko pokretanje sveobuhvatnog sistema upravljanja energijom neophodno je i praćenje izlazne snage i minimiziranje gubitka potencijalne energije prilikom njene konverzije preko MFC. Rešenje ovog problema se krije u budućem razvoju integrisanih kola sa visokom efikasnošću. Takođe, radi se na razvoju naprednih sistema za optimalan energetski menadžment, koji se baziraju na komponentama kao što su: ultrakondenzatori, *charge pump* kondenzatori, poluprovodnički prekidači (*solid-state switches*) i podizači napona. Naravno, treba uzeti u obzir i povećane ekonomske izdatke koje sa sobom nosi konstrukcija ovog složenijeg sistema, što postavlja pitanje da li se izgradnja ovakvog sistema isplati (Hoang et al., 2022, Ivars-Barceló et al., 2018).

2.6. Reaktivne organske (azo) boje

Boje predstavljaju sastavni deo savremenog života sa širokom primenom pre svega u tekstilnoj, farmaceutskoj, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji (Murmans, Homburg, 2001). Danas, godišnja proizvodnja iznosi negde oko 0,7 miliona tona boja, gde postoji oko 100 000 različitih nijansi (Wani et al., 2020).

Azo boje su među najzastupljenijim bojama koje se trenutno primenjuju u svim oblastima. Najveće su po obimu proizvodnje u hemiji boja, sa preko 60% sa daljom tendencijom rasta u budućnosti. Ključna uloga im je na tržištu tekstila i u štamparstvu (Wani et al., 2020). Ono što ih izdvaja od ostalih sintetičkih boja je njihova sposobnost za brzo formiranje kovalentne veze sa tekstilnim podlogama (Benkhaya, et al., 2020). Azo boje čini grupa jedinjenja koja sadrže jednu ili više azo grupa ($-N=N-$), zahvaljujući kojim poseduju hromoforu, grupu koja ima prošireni konjugovani sistem π -elektrona, što dovodi do apsorpcije na vidljivim talasnim dužinama (400 do 700 nm) (Feng et al., 2012). Ove boje se sintetišu jednostavnim metodom diazotizacije i kuplovanja, gde se različitim modifikacijama postiže željena boja, stabilnost i prinos (Benkhaya et al., 2020).



Slika 2.15. Struktura azo boje (Adaptirano: Benkhaya et al., 2020).

Diazotizacijom aromatičnog primarnog amina, na koji se odvija kuplovanje sa jedne ili više nukleofila bogatih elektronima kao što su amino i hidroksi, sintetiše se većina azo boja. Postoje i druge metode, koje se slabije koriste, poput redukcije nitroaromatičnih derivata u alkalnoj sredini, redukcije nitrozo jedinjenja pomoću litijum-aluminijum-hidrida, zatim oksidacijom primarnih amina kalijum-permanganatom, kondenzacijom primarnih amina sa nitrozo derivatima i još sličnih postupaka. Azo grupa je ključan faktor koji određuje boju, a može biti vezana za benzenove prstenove, naftalene, aromatične heterocikle u kombinaciji sa nekom od funkcionalnih grupa (amino ($-NH_2$), hidroksil ($-OH$), metil ($-CH_3$), nitro ($-NO_2$) i mnoge druge). Azo boje, sintetisane iz aromatičnih jedinjenja nisu bazne u vodenom rastvoru, zbog prisustva $N=N$ veze, te se lako redukuju na hidrazine i primarne amine, što ih čini dobrim oksidujućim agensima (Ventura-Camargo, Martin-Morales, 2013). Kao što je prikazano na slici 2.15., hemijsku strukturu same azo boje čini osnova molekula na koje se dodaju auksohromne, hromoforne i solubilizujuće grupe (Benkhaya et al., 2020).

2.6.1. Podela boja po broju azo grupa

Osnovna karakteristika azo boja je formiranje kovalentnih veza sa grupama koje se nalaze na tekstilnim supstratima. Dele se prema broju azo veza koje se nalaze u istom molekulu, kao što su monoazo, diazo, triazo, poliazo i azoik. Indeks boje (eng. Color Index, CI), koje je razvilo društvo bojadžija i kolorista (eng. Society of Dyers and Colourists, SDC) u saradnji sa Američkom asocijacijom za tekstil i boje (eng. American Association of Textile Chemists and Colourists,

AATCC), koristi se za klasifikaciju. U tabeli 2.4. se nalazi prikazana klasifikacija azo boja i njihovi indeksi koji prate odgovarajuću grupu (Ayele et al., 2021, Benkhaya et al., 2020).

Tabela 2.4. Klasifikacija azo boja i odgovarajući indeksni broj boje (Benkhaya et al., 2020).

Klasa azo boja	Opseg indeksa boja
Monoazo	11 000-19 999
Diazo	20 000-29 999
Triazo	30 000-34 999
Poliazo	35 000-36 999
Azoik	37 000-39 999

Monoazo boje sadrže jednu -N=N- vezu, koja za N ima vezanu neku od spomenutih funkcionalnih grupa. Ukoliko sadrži vezanu heterocikličnu ili benzen grupu, boje se u žuto ili narandžasto, a mogu se koristiti za bojenje pamuka, poliestra i celuloznih vlakana. Kombinacijom benzena, vezanog sa jedne strane i naftalena sa druge, dominantna azo boja je crvena ili plava. Sintezom monoazo boje koja sadrži samo naftalen vezan za azo grupu, dobija se crna boja, od kojih je najpoznatija i najviše zastupljena Mordant black 17. Kod diazo boja, postoje dve funkcionalne azo grupe u molekulu, a javljaju se u tri oblika: primarne diazo boje (nastaje kuplovanjem dva molekula diazokiseline na istom mestu), sekundarne diazo boje (simetričan molekul nastao iz diamina koji je dva puta dijazotizovan i kuplovan) i sekundarne nesimetrične diazo boje (nastale kuplovanjem azotne kiseline sa fenolom). Poliazo boje predstavljaju složene boje za koje je specifično ponavljanje azo grupa, tri ili više puta u istom molekulu. Namenjene su za farbanje kože i pretežno su tamnih nijansi, crvena, braon i crna (Ayele et al., 2021, Benkhaya et al., 2020).

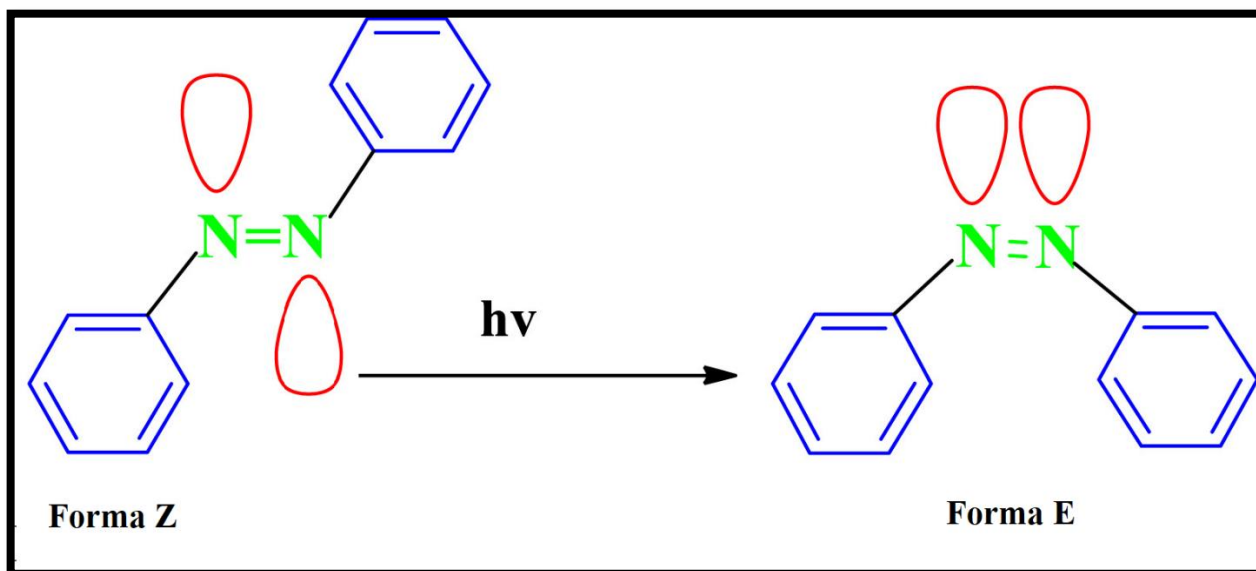
2.6.2. Hemijske osobine azo boja

2.6.2.1. Reaktivnost

Reaktivnost boje zavisi od strukture njenog reaktivnog dela. Najčešće reakcije koje se odvijaju na azo bojama su reakcije adicije vodonika i oksidacija vodonik-peroksidom. Najreaktivniji su dihlortriazini, di- ili tetrafluoropirimidini i dihlorhlorokinoksalini. Boje srednje reaktivnosti predstavljaju vinilsulfovi, bisfunkcionalne boje tipa monohlortriazina/vinil-sulfona. Kod boja izvedenih iz aminohlortriazina javlja se relativno niska reaktivnost, od kojih je najmanje reaktivan trihlorpirimidin. Njihova reaktivnost određuje sposobnost vezivanja za određene materijale sa kojima boje treba da interaguju (Benkhaya et al., 2020).

2.6.2.2. Izomerizacija

Azo boje se nalaze u dve izomerne forme, Z i E, kao što je pokazano na slici 2.16. kod molekula azobenzena. Forma E je dosta nestabilna, i potiče od *trans* oblika nastalog fotoizomerizacijom. Izomerizacija predstavlja proces kojim se molekul transformiše u drugu formu istog molekula, sa istim brojem atoma, ali drugačijim rasporedom. Kod nekih molekula izomerizacija dolazi potpuno spontanano (Benkhaya et al., 2020).

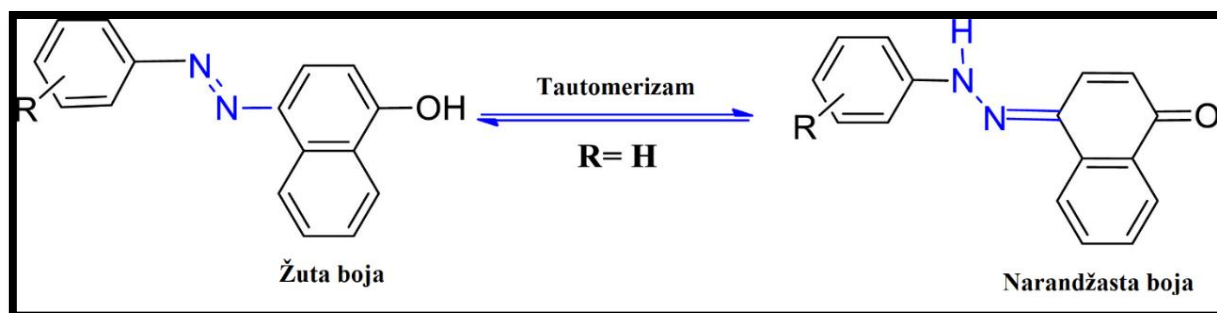


Slika 2.16. Molekul azobenzena u Z i E formi (Adaptirano: Benkhaya et al., 2020).

Molekul azobenzena predstavlja interesantan primer izomerizacije azo veze između termički stabilnije E konfiguracije i metastabilnog Z oblika. U kiselj sredini, ova dva molekula azobenzena, u *cis* i *trans* formi izazivaju stvaranje konjugovanih kiselina različitih konfiguracija (Benkhaya et al., 2020).

2.6.2.3. Tautomerizam

Intramolekulska migracija protona sa jednog elementa na drugi podrazumeva tautomerizam. Reakcija tautomerizacije azo boja podrazumeva migraciju atoma vodonika, praćenu promenom lokacije dvostruke veze, što se vidi na slici 2.17. Kod azo boja on je od velikog značaja, jer ovim se poboljšavaju neke od karakteristika prilikom vezivanja za materijale, kao što su postojanost na svetlosti, intenzitet boje i njena jačina. Ovo je naročito važno za profitabilnost boje, te je veoma korisno da ih bude u izobilju u tautomernom obliku (Benkhaya et al., 2020).



Slika 2.17. Prikaz žute boje od koje tautomerizacijom nastaje narandžasta (Adaptirano: Benkhaya et al., 2020).

U zavisnosti od rastvora, hidroksi azo boje daju istovremeno različite procenete tautomera azo i hidrazona, kao i azo i fenol tautomera koje se javljaju kod ovih boja, sa izuzetkom kod određenih slučajeva. Formiranjem imino grupe na molekulu stvara se nestabilno jedinjenje koje daje različitu boju. Kod diazo boje tautomerizacijom uočava se koegzistencija između dve grupe, jedne u azo, druge u hidrazo obliku. U slučaju kada do protonizacije dolazi na nivou azota koji je u β položaju, favorizovan je azonijum tautomer koji je stabilizovan rezonancom.

2.6.3. Primena azo boja

Od svih sintetičkih boja, azo boje predstavljaju najrasprostranjeniju grupu sa širokom primenom u oblasti farmacije, plastike, za bojenje ćelija raka, bioloških i visoko tehnoloških aplikacija kao što su laseri i nelinearni optički sistemi. One se koriste za solarne ćelije, fotodinamičku terapiju, metalohromne indikatore, bojenje tekstila, papira, kože, hrane, kozmetike kao i lekova. Kod primene na lekovima i kozmetičkim preparatima, azo boje se kombinuju sa supstituisanim aromatičnim ligandima. Ono što čini njihovu upotrebu veoma rasprostranjenom je pre svega njihova fizičko-hemijska stabilnost i optička svojstva sa različitim primenama u tečnim kristalima i nanocevima. Posebnu pažnju privlače zbog širokog spektra boja, otpornosti i jednostavne proizvodnje i dobrih performansi bojenja (Benkhaya et al., 2020, Ventura-Camargo, Martin-Morales, 2013).

Boje se prilikom industrijske i tehničke primene spremaju putem polimerizacije obojenih monomera i polimernog fiksiranja molekula boje za prethodno formirane polimere. Formirani polimeri sadrže veću koncentraciju boje koja više pogoduje pojedinim materijalima. Vezivanje boje se vrši kovalentnim ili nekovalentnim putem (Benkhaya et al., 2020).

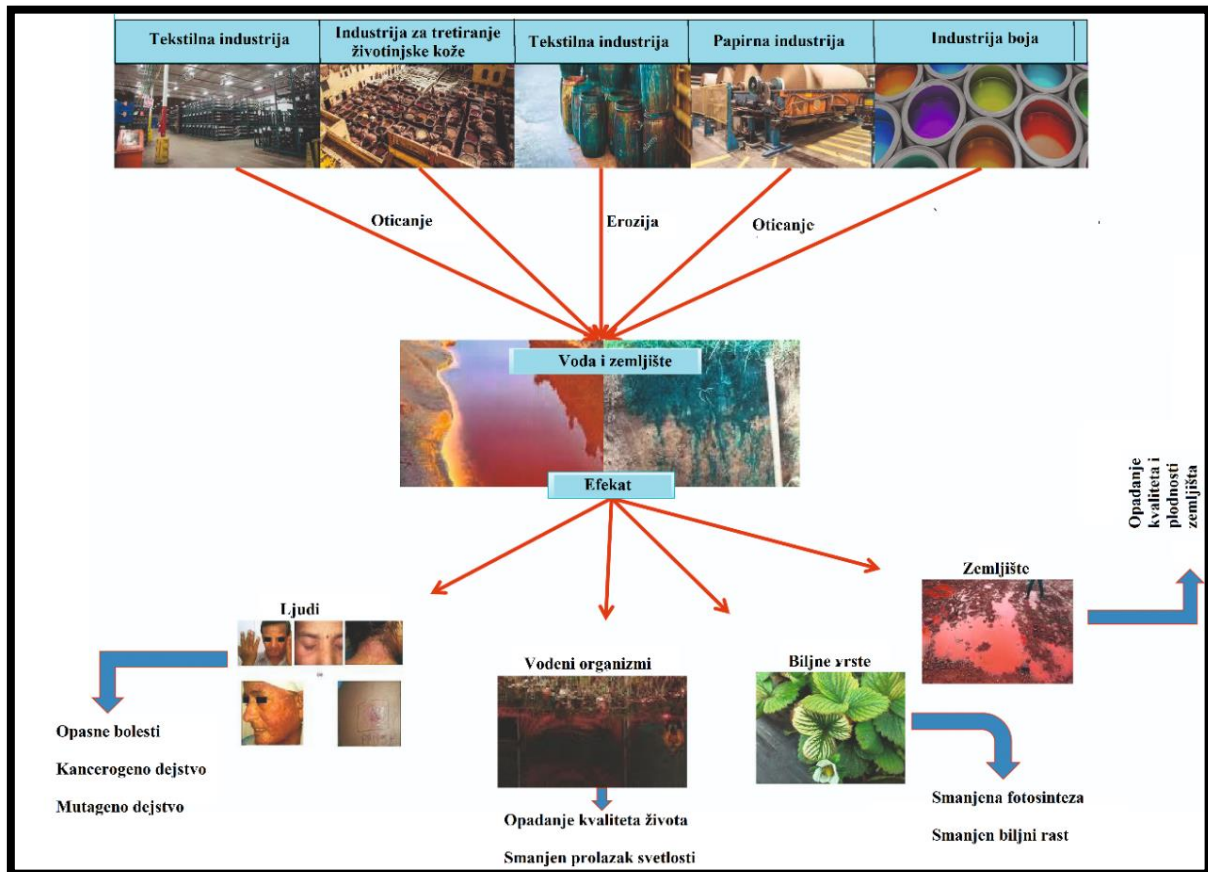
2.6.4. Toksičnost azo boja

Brojni ekološki problemi širom sveta su povezani sa tekstilnom industrijom. Tekstilna industrija otpušta ogromnu količinu obojene otpadne vode, koja uglavnom nije tretirana na propisan način, što dovodi do velikog zagađenja u životnoj sredini. Upravo sveprisutnost i prevelika upotreba, azo boje svrstava među jedne od glavnih zagađujućih supstanci životne sredine. Zbog svoje ksenobiotičke prirode i velike otpornosti, azo boje imaju dugotrajan efekat na živi svet (Lellis et al., 2019, Selvaraj et al., 2021). Naravno tu su i druge vrste otpada koje su posledica rada tekstilne industrije. Oslobođanje sitnih čestica i prašine, oksida azota, sumpora i lako isparljivih organskih jedinjenja, doprinosi zagađenju vazduha. Komadi zaostalih tkanina i odbačena ambalaža, predstavljaju čvrst otpad (Rovira, Domingo, 2019).

Azo boje su mahom fotolitički stabilne i mogu se otkriti golim okom u vodi, čak i kada su prisutne u tragovima (manje od 1 ppm). Kada se boja meša sa vodom, efikasnost prodiranja svetlosti u vodenom sistemu se smanjuje što utiče na vodeni ekosistem. Pored promene boje vode, kod reka i jezera, hemijske komponente iz boja imaju tendenciju da troše rastvoreni kiseonik, što za posledicu dovodi do pomora ribe, ali i drugih vodenih organizama. Neke od azo boja poseduju toksične delove koji su opasni po živi svet u vodi, ali i mogu da dovedu do ozbiljnih zdravstvenih problema kod ljudi putem lanca ishrane. Otpad boje koji zaostane prilikom bojenja tekstila izaziva ekstremne varijacije promenom pH vrednosti, rastvorenog kiseonika, temperature, kao i promenom koncentracije rastvorenih soli. Biohemijska potreba za kiseonikom ili biološka potrošnja kiseonika predstavlja količinu rastvorenog kiseonika koja je potrebna aerobnim bakterijama da razgrade organski materijal koji je prisutan u datom uzorku vode na određenoj temperaturi tokom nekog vremenskog perioda. BOD azo boje je u opsegu od 80 do 6 000 mg/L. Hemijska potreba za kiseonikom (eng. Chemical Oxygen Demand, COD) predstavlja meru kapaciteta vode sposobnu da troši kiseonik tokom hemijskog razlaganja organske supstance i oksidacije neorganskih hemikalija prisutnih u otpadnoj vodi različitih industrija i u rasponu je od 150-12 000 mg/L (Selvaraj et al., 2021).

Niska akutna toksičnost azo boja (LD₅₀), prema kriterijumima Evropske unije za klasifikaciju opasnih materija, iznosi od 250 do 2 000 mg/kg telesne mase. Bez obzira na to što je donja propisana granica izuzetno niska, malo koja od azo boja ima LD₅₀ vrednost ispod 250 mg/kg. Neke azobazne, kisele ili same po sebi boje mogu da se klasifikuju u toksične ili u veoma toksične za ribe, rakove, alge i bakterije, dok su reaktivne azo boje toksične samo u visokim koncentracijama (većim od 100 mg/L), pa se ne uzimaju u obzir u studijama testiranja na vodene organizme (Ventura-Camargo, Martin-Morales, 2013). Toksični materijali prisutni u azo bojama, kada se nađu u vodenom

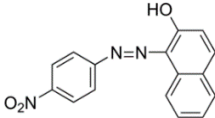
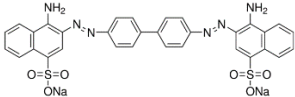
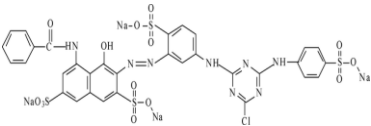
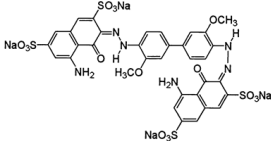
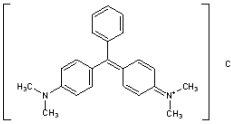
ekosistemu, putem lanca ishrane svoj put pronađu i do čoveka. Mnoge od njih, kao što su aromatični amini, uzrokuju ozbiljne zdravstvene probleme kod ljudi (Rovira, Domingo, 2019). Široka je i primena azo boja u ishrani, lekovima i kozmetici, gde se koriste boje poput Tartazina i Alur crvene, koje do sada nisu pokazale štetne efekte (Feng et al., 2012). Pojava hipertenzije, sporadični poremećaji, akutni dermatitis, učestalost nastanka raka mokraćne bešike, pa sve do poremećaja centralnog nervnog sistema, samo su neke od bolesti koje se vezuju za posledice korišćenja azo boja (Selvaraj et al., 2021, Ventura-Camargo, Martin-Morales, 2013).



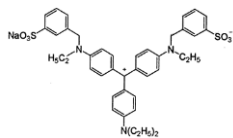
Slika 2.18. Industrijska upotreba i uticaj azo boja. (Adaptirano: Ayele et al., 2021)

Zbog lakog udisanja i rastvaranja u vodi, azo boje izazivaju brzu apsorpciju u koži što dovodi do rizika od alergijskih reakcija. Neke od azo boja, kao i njihove posledice su prikazani u tabeli 2.5.

Tabela 2.5. Primena i štetni efekti najčešće korišćenih azo boja. (Selvaraj et al., 2021).

Naziv azo boje eng.	Struktura	Primena	Štetna dejstva
Red dye		Nanosi se na sintetička i prirodna vlakna, kožu, papir i fenol-aldehidne smole.	Izaziva rak mokraćne bešike, maligne tumore (testovi na laboratorijskim životinjama)
Congo red		Kao pH indikator, na pamuku i kao biološki marker.	Benzidinem iz boje ima mutagena i kancerogena dejstva.
Reactive brilliant red		Široka industrijska primena, lekovi, kozmetika, prehrambena industrija, u boji za štampanje.	Pokreće spazam mišića, inhibira humani serum albumin, vezuje se za enzime i proteine u organizmu i usporava njihove funkcije.
Direct Blue 15		Za pamučne tkanine, kao lepak za celulozna vlakna, svilu i veštačku svilu. Koristi se za pravljenje mastila, pri razvijanju slika i u biološkim ispitivanjima.	Mutageni efekat na redukcione procese u organizmu, kao i snažna kancerogena svojstva.
Malachite green		Koristi se za bojenje svile, kože, papira i kao antimikrobno sredstvo u akvakulturi.	Kancerogena, mutagena, izaziva frakture na hromozomima, kao i respiratornu toksičnost.

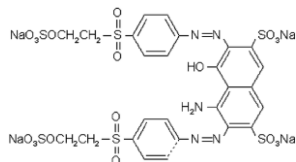
Acid Violet 17



Široko primenjena industrijska boja, na tekstilu, za bojenje hrane, kozmetike i papira.

Aberacije na hromozomima, inhibira acetilholin esteraze i izaziva peroksidaciju membranskih lipida.

Reactive black 5



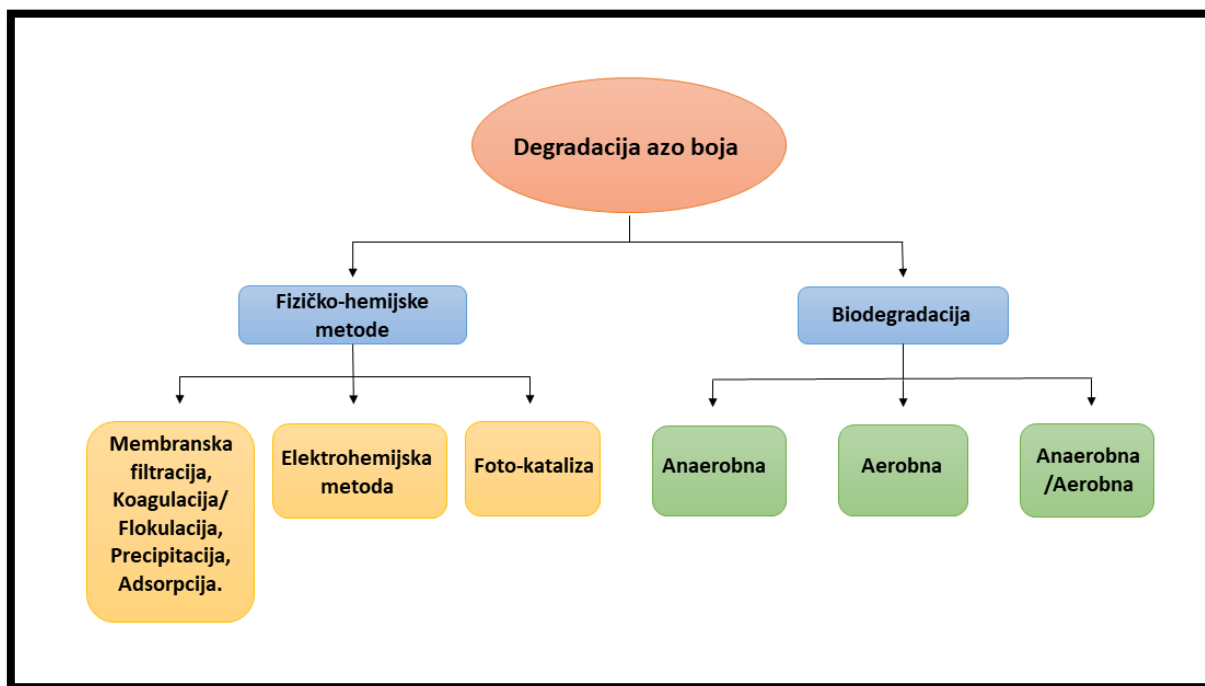
Za bojenja u tekstilnoj industriji: pamuka, celuloze, vune i najlona.

Sprečava apsorpciju azota kod biljaka, smanjuje ureaznu aktivnost a pokazuje i mutagena i kancerogena dejstva.

Para-fenilendiamin, PPD se smatra jednom od glavnih komponenti azo boja, koji je ujedno i vrlo toksična komponenta. Uticaj na ljudsko zdravlje se ispoljava već u fabrikama pri proizvodnji, gde se udisanjem ili gutanjem čestica prašine stvaraju iritacije na koži i očima, kao i simptomi mučnine ili povraćanja (Hassaan, El Nemr, 2017). PPD u kontaktu sa humanim organizmom izaziva kontaktni dermatitis, alergijski konjuktivitis, rinitis, gastritis, hipertenziju, astmu i druge alergijske reakcije koje nastaju kao posledica njegove upotrebe (Nijman et al., 2022). Gutanjem PPD doprinosi brzom razvoju edema na licu, vratu, ždrelu, jeziku zajedno sa ostalim respiratornim problemima. Spomenute posledice nastaju usled redukcije azo boje koja je dovela do stvaranja aromatičnih amina, koje se metabolički oksiduju u reaktivne elektrofilne vrste i kovalentno vezuju za DNK, gde se dešavaju trajni efekti na hromozomima (Lellis et al., 2019).

2.6.5. Degradacija azo boja

Usled brojnih komplikacija koje nastaju korišćenjem azo boja, godinama se traga za metodom koja će uspešno ukloni boje i njihove komponente iz otpadnih voda. Do danas je korišćen veliki broj različitih tretmana za obradu otpadnih voda koje su pigmentisane ili sadrže molekule boje, ali svaka od njih ima problem u potpunom i efikasnom rešavanju problema. Šta više, moderne boje su dizajnirane tako da se odupiru i mikrobnim i fizičkim reakcijama, pa je posao dodatno otežan. Tehnike su podeljene na fizičko-hemijske i biološke. Svaka od tehnika koja će biti spomenuta ima prednosti i ograničenja, što uključuje faktore kao što su priroda boja, sastav i koncentracija otpadnih voda, troškovi potrebnih hemikalija, troškovi rukovanja i operativni troškovi. Spomenuti faktori su ključni za tehničku i ekonomsku izvodljivost svake od metoda tretmana otpadnih voda i degradacije i obezbojavanja azo boja (Ayele et al., 2021, Selvaraj et al., 2021).



Slika 2.19. Metode za uklanjanje azo boja iz industrijskih otpadnih voda (Selvaraj et al., 2021).

Primenom svake od metoda nastaju i neželjeni proizvodi, koji takođe mogu biti toksični, pa često upotreba jednog pojedinačnog procesa nije dovoljna da se postigne degradacija ili potpuno uklanjanje boje. Procesni otklanjanja kontaminanata su novi i dalje predstavljaju izazov za ublažavanje postojećih ekoloških problema koji se javljaju u životnoj sredini. Na slici 2.19. su prikazane metode koje se trenutno koriste za rešavanje problema industrijskih otpadnih voda (Ajaz et al., 2020, Lellis et al., 2019).

2.6.5.1. Fizičko-hemijske metode degradacije azo boja

Za praktične i komercijalne upotrebe, tretman otpadnih voda najčešće podrazumeva fizičke ili hemijske tretmane. U fizičko-hemijskim metodama, široko korišćena membranska filtracija, koagulacija/flokulacija, adsorpcija i precipitacija daju ogromne količine mulja, što dalje zahteva bezbedno razlaganje i uklanjanje (Selvaraj et al., 2021). Pored njih primenjuju se još jonska izmena, ekstrakcija jonskih parova, ultrazvučna mineralizacija, elektroliza i napredne metode oksidacije (hlorisanje, beljenje, ozoniranje, Fentonova i fotokatalitička oksidacija) (Ajaz et al., 2020, Selvaraj et al., 2021).

2.6.5.2. Membranska filtracija

Reverzna osmoza i nano-filtracija se mogu primeniti kao glavni ili naknadni procesi tretmana za odvajanje soli i većih molekula, poput boja. Membrane koje se koriste za tretman otpadnih voda moraju imati graničnu vrednost za prolazak molekula (*cut-off*) ispod 10 000 Daltona. Filtracija sa visoko poroznim membranama, tačnije ultrafiltracija i mikrofiltracija generalno nisu prikladne jer je veličina pora prevelika da bi sprečila prolaz molekula boje, ali može biti uspešna kao predtretman za dalju nanofiltraciju ili proces reverzne osmoze. Nano-membranska filtracija ima veliku prednost, jer nema prevelike prostorne zahteve a i neke od nereaktivnih boja se mogu ovom metodom skoncentrovati i ponovo koristiti. Membranske tehnike imaju smanjen protok i neophodno je konstantno čišćenje membrana ili njihova zamena, što je glavni nedostatak ovih tehnika. Još jedna mana je što se generisani koncentrat ili otpadni materijal moraju obraditi za oksidaciju ili upotrebu. Široka primena ovih membrana je naročito popularna u tekstilnim industrijama za preradu otpadnih

voda u Južnoj Africi, čak i pored visokih kapitalnih troškova za membrane koje se koriste u ovim tehnikama filtracije (Selvaraj et al., 2021).

2.6.5.3. Koagulacija/flokulacija

Tehnike koagulacija i flokulacija se često primenjuje kod predtretmana sirovih tekstilnih otpadnih voda radi uklanjanja boje, ali i za uklanjanje COD, posle čega sledi dalja obrada otpada nekom od pomenutih metoda. Princip metode obuhvata dodavanje koagulanata kao što su kreč i soli magnezijuma, gvožđa i aluminijuma, pri čemu dolazi do formiranja flokula ili taloga, koji se mogu ukloniti iz vodene faze preko procesa filtracije. Ova neorganska jedinjenja generalno nisu pogodna za uklanjanje visoko rastvornih, sulfonovanih boja iz rastvora, osim ako se ne dodaju u prilično velikim količinama. Problem je i velika količina beskorisnog ili toksičnog mulja koji treba bezbedno spaliti ili odložiti, što može uzorkovati dodatne visoke troškove ali i probleme u životnoj sredini. Nedavni razvoj organskih polimera se vrlo efikasno pokazao kod tretmana uklanjanja boja, a i proizvodnja mulja je značajno niža u poređenju sa neorganskim polimerima. Većina katjonskih polimera koji se koriste u ovim slučajevima tretmana otpadnih voda su toksični po vodeni svet, čak i kada se koriste u niskim koncentracijama (manjim od 1 mg/L). Utvrđeno je da katjonski polimeri kao koagulansi inhibiraju procese nitrifikacije mikroorganizama u biljkama (Selvaraj et al., 2021).

2.6.5.4. Elektrohemijska degradacija

Poslednja decenija je bila značajna u razvoju elektrohemijskih tehnika za sanaciju otpadnih voda. Elektrohemijske tehnike koje se koriste za uklanjanje boja mogu se klasifikovati kao elektrohemijska oksidacija, indirektna elektrohemijska oksidacija sa jakim oksidansima (elektro-oksidacija sa hlorom i elektro-Fenton), elektrohemijska redukcija, elektro-koagulacija, i fotopotpomognute elektrohemijske metode (foto-elektro-Fenton, foto-elektrokataliza). Ove elektrohemijske tehnike prilikom svojih procesa uključuju samo elektrone i ne zahtevaju upotrebu hemikalija što ih čini ekološki jako prihvatljivim. Jednostavna upotreba, lak rad i niža radna temperatura olakšavaju njihovu primenu. Zanimljivo je napomenuti da se velike količine zagađujuće supstance mogu ukloniti uz efikasnu uštedu energije, odnosno troši se minimalna energija za redukciju maksimalne količine boje. Električna energija indukuje redoks reakcije na površini elektroda koje dovode do transformacije i degradacije organskih jedinjenja, a kao krajnji proizvodi nastaju voda i ugljen-dioksid (Selvaraj et al., 2021). Elektrohemijska oksidacija boja se može obaviti u elektrohemijskoj ćeliji bilo kojom od sledećih metodologija:

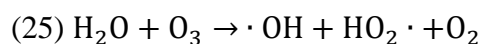
- **Direktna oksidacija** na površini same anode ili direktan prenosa elektrona na anodu, u kojoj se redoks reakcija odvija tokom cikličnog procesa. Kao rezultat oksidacije je loša degradacija boje.
- **Hemijska reakcija** u kojoj proces teče putem elektrogenisanih vrsta, kao što su formirani hidroksil radikala ($\cdot\text{OH}$), nastali pražnjenjem vode na anodi. Hidroksil radikal predstavlja drugi najjači oksidans posle fluora sa visokim standardnim elektrodnom potencijalom ($E_0=2,80\text{ V}$).

Elektrohemijska oksidacija predstavlja unapređene oksidacione procese (eng. Advanced Oxidation Process, AOP) prilikom kojih dolazi do elektro-generisanja visoko reaktivnih radikala kao posrednog oksidansa. Generisane hemijske vrste imaju kratak životni vek, ali zato jaku moć oksidacije većine organskih zagađujućih supstanci. Među aktivnim radikalima koji odlikuju AOP procese uključeni su hidroksil radikali ($\cdot\text{OH}$), superoksid radikali ($\cdot\text{O}_2^-$) i drugi. Od spomenutih upravo hidroksil radikal ima najveći oksidacioni potencijal $E_0=2,8\text{ V}$ i sposobnost brze, neselektivne reakcije sa skoro svim organskim jedinjenjima (Selvaraj et al., 2021).

Uprkos prisustvu velikog broja metoda za tretiranje otpadnih voda, AOP se sa razlogom smatraju najboljom metodom prilikom rešavanja tog problema. Odlikuje ih visoka efikasnost mineralizacije organskih zagađujućih supstanci, brza reakcija oksidacije i što je najvažnije nema

sekundarnog zagađenja. Stvaranje radikala moguće je postići bez promena spoljašnjih uslova sredine, poput temperature i pritiska, a moguća je i kombinacija AOP sa drugim procesima prilikom tretmana otpadnih voda. Četiri napredna procesa oksidacije su najviše proučavana: ozonizacija, UV/H₂O₂, Fentonova reakcija i UV/TiO₂ (Miklos et al., 2018, Selvaraj et al., 2021).

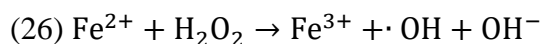
Ozon je dugo godina primenjivan kao oksidans i dezinficijens u tretmanima voda. Kao oksidans, veoma je selektivan i napada funkcionalne grupe bogate elektronima, kao što su dvostruke veze između molekula azota kod azo boja (Miklos et al., 2018). Prilikom procesa ozonizacije, hidroksilni radikali se formiraju kada se ozon raspada u vodi, prema jednačini 25 (Brillas, Martínez-Huitle, 2015):



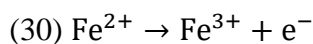
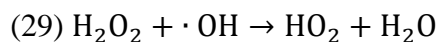
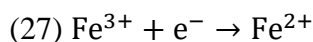
Iako je ozon jak oksidans, srednji hidroksilni radikali su još reaktivniji od njega samog. Dalje uklanjanje ozona zahteva visoku pH vrednost (> 10), pa se procesi gde se organski ozon koristi kao glavni oksidans brže odvijaju u alkalnim, nego u neutralnim ili kiselim sredinama (Miklos et al., 2018, Selvaraj et al., 2021).

Proces **UV/H₂O₂** je široko ispitivan za prečišćavanje voda, od laboratorijskog nivoa do aplikacija za tretmane površinskih voda. Kombinacija UV zračenja i vodonik-peroksida dovodi do fotolitičkog cepanja na dva hidroksil radikala. Ipak molarni apsorpcioni koeficijent vodonik-peroksida je relativno nizak, pa je prevođenje radikala u vodonik-peroksid, više od 10 %. Upotrebom UV lampi, stvara se dovoljna količina radikala, ali neophodno je uklanjanje preostalog vodonik-peroksida. Uspostavljanje UV/H₂O₂ za naprednije tretmane nije još uvek našlo veliku primenu, zbog loše UV propustljivosti i niskog stepena čišćenja sekundarnih i tercijalnih tretiranih otpadnih voda. Ipak, moguća je njegoova primena kod tretmana koji koriste integrisane membranske sisteme (ultrafiltracija/reverzna osmoza) pri obradi pijaćih voda za ponovnu upotrebu (Miklos et al., 2018).

Fentonov proces je indirektna unapređena elektro-oksidaciona metoda kojom se generišu aktivne kiseonične vrste za degradaciju neorganskih i organskih supstanci, u reakciji između jona Fe²⁺, koji su prisutni u rastvoru (ili dodati), sa vodonik-peroksidom, jednačina 26. Ova reakcija predstavlja početni korak i nosi naziv klasična Fentonova reakcija.



Dobro je poznato da se vodonik-peroksid proizvodi u vodenoj sredini preko redukcije dva elektrona sa kiseonikom koji se dovodi na katodu i on predstavlja pogonsku silu za ceo dalji postupak. Mehanizam odvijanja Fentona prikazan je u jednačinama od 27 do 30 (Miklos et al., 2018).



Fe²⁺ deluje kao katalizator sa maksimalnom katalitičkom aktivnošću pri pH 3, jer pri višim pH vrednostima dolazi do precipitacije gvožđe(III)-hidroksida (Fe(OH)₃), što dovodi do redukcije Fe³⁺ u Fe²⁺. Nasuprot tome, porast koncentracije hidroksilnog jona, inhibira nastajanje hidroksil radikala i dovodi do usporavanja Fentonovog procesa (Brillas, Martínez-Huitle, 2015).

Povećanje efikasnosti Fentonovog procesa se može postići povećanjem koncentracije soli Fe²⁺ i vodonik-peroksida. Ipak prevelika količina vodonik-peroksida smanjuje dostupnost Fe³⁺ jona čime se usporava nastajanje hidroksil radikala. Dešava se da i višak vodonik-peroksida može stupiti u reakciju sa hidroksil radikalima i usporiti proces oksidacije, čime se povećava COD. Koncentracije

Fe²⁺ iznad 500 g/L je poželjno izbegavati, jer se na taj način izbegava usporavanje Fentonovog procesa (Miklos et al., 2018).

Glavne prednosti Fentonovog procesa su rad sa niskim troškovima i mogućnost magnetnog odvajanja gvožđa, pa je u svom punom obimu uspostavljanjen u industrijskim postrojenjima. Takođe, energetski je nezavisan proces. Ipak nedostaci ovog procesa se javljaju zbog sporednih reakcija koje pravi vodonik-peroksid, kao i njegovo samorazlaganje (Brillas, Martínez-Huitle, 2015, Miklos et al., 2018).

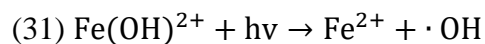
2.6.5.5. Fotokatalitička degradacija

Fotokataliza predstavlja jednu od odličnih metoda za degradaciju boja, korišćenjem reaktivnih kiseoničnih vrsta (eng. Reactive Oxxygen Species, ROS). Fotorazgradnja predstavlja važan proces abiotičke degradacije u vodenoj sredini, jer se smatraju ekološki prihvatljivim i ne dovode do pojave sekundarnih izvora zagađenja. Pri apsorbovanju svetlosti dolazi do stvaranja fotokatalizatora i rupa elektronskih parova, koji učestvuju u reakciji za ubrzavanje razgradnje boje. Bezbedni i visoko efikasni fotokatalitički procesi se koriste za eliminaciju hlorisanih fenolnih jedinjenja diktirani odgovarajućim uslovima, temperaturom, pritiskom i koncentracijom. Proizvodi koji nastaju su uglavnom bezopasni. Osim u razgradnji boja, direktna fotorazgradnja pesticida u vodenim sredinama se smatra veoma značajnom (Selvaraj et al., 2021).

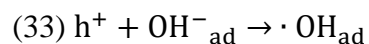
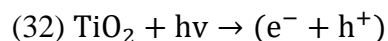
Fotokataliza se sastoji u osvetljavanju stabilne poluprovodničke anode UV svetlom ($\lambda < 400$ nm) kako bi se izazvala oksidacija organskih materijala u otpadnim vodama. Ključan faktor je materijal koji se koristi kao veza između valentnih i provodnih pojaseva, koji mora biti poluprovodnički, dok je vrednost ovog rastojanja jednaka energiji upadnog fotona za pobuđivanje elektrona (e-CB) iz valentnog u provodni pojas koji stvara pozitivno naelektrisanu šupljinu (h+VB) (Brillas, Martínez-Huitle, 2015). Ako fotoni sa dovoljno energije udare u površinu fotokatalizatora, elektron se pobuđuje u provodnom pojasu, ostavljajući pozitivno naelektrisanu rupu (h+) u valentnom pojasu. Ovakve vrste mogu izazvati oksidativne ili reduktivne transformacije sastava vode, bilo direktno na površini poluprovodnika ili putem slobodno radikalskih reakcija (Miklos et al., 2018).

Brojni katalizatori poput titanijum-dioksida (TiO₂), volfram-trioksida (WO₃), cink-oksida (ZnO) i mnogi drugi, uključeni su u fotokatalitičke reakcije. Na osnovu rastvorljivosti katalizatora reakcije se dele u dve vrste (Miklos et al., 2018):

- Homogeni foto-Fentonovi procesi, predstavljeni u jednačini 31,



- Heterogena fotokataliza zasnovana na poluprovodnicima, odnosno titanijum-dioksidu, predstavljena u jednačini 32 i 33.



Prednost fotokatalize uključuje niske troškove samog katalizatora i laku komercijalnu dostupnost u različitim kristalnim oblicima. Katalizatori su fotohemijski stabilni i netoksični. Ograničenja nastaju u odvajanju koloidnog katalizatora iz vodene suspenzije nakon tretmana otpadnih voda i ograničenja prenosa mase na površinu imobilizovanog katalizatora na podlozi. Uprkos dobrim rezultatima, primena fotokatalize na industrijskom nivou, još uvek nije zaživela (Brillas, Martínez-Huitle, 2015).

2.6.6. Biodegradacija azo boja

Biološki pristup uklanjanja azo boja se generalno smatra ekološki prihvatljivim, jer biološki agensi mogu mineralizovati organske zagađujuće supstance bez stvaranja sekundarnog toksičnog mulja, kao kod fizičko-hemijskih metoda. Pristup biodegradacije zahteva upotrebu nativnih mikroorganizama koji imaju sposobnost degradacije boja. Brojni mikroorganizmi, kao što su gljive, kvasci, bakterije i alge, ne samo da mogu da obezboje azo boje, već ih u potpunosti mogu degradovati pod određenim ekološkim uslovima. Proces razgradnje ovih složenih boja, nije nimalo lak. Korišćenjem različitih vrsta mikroorganizama primarni cilj je da se raskine dvostruka veza formirana između dva molekula azota (-N=N-) (Ajaz et al., 2020).

Mikrobiološka degradacija otpadnih voda uglavnom se fokusira na upotrebi različitih vrsta mikroorganizama za obezbojavanje kako bi se povećala efikasnost degradacije boja. Efikasnost dekolorizacije zavisi i od sredine rasta i metabolizma mikroorganizama koji su uključeni u proces razgradnje. Vrlo je važno prilagoditi uslove mikroorganizmima, kako bi se dobili što bolji rezultati pri obezbojavanju i degradaciji boja (Selvaraj et al., 2021). Dekolorizacija azo boja upotrebom bakterijskih vrsta, smatra se vrlo brzim procesom. Širok spektar aerobnih i anaerobnih bakterijskih vrsta rodova *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Rhodobacter*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Xenophilus*, *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Acinetobacter*, *Geobacillus*, *Lactobacillus*, *Rhizobium*, *Aeromonas* i *Klebsiella*, opisani su kao uspešni degraderi azo boja. Neki od mikroorganizama koriste azo boje kao jedini izvor ugljenika, dok drugi samo redukuju azo grupe (Sudha et al., 2014). Upotreba čistih kultura za obezbojavanje je efikasna metoda, međutim određene bakterijske vrste ne mogu u potpunosti da degraduju boju i takođe mogu nastati kancerogeni aromatični amini, kao prelazni proizvodi, koji se zbog toksičnosti moraju dalje ukloniti (Zhang et al., 2023). Potpuno uklanjanje boja se rešava primenom mešovitih zajednica koje zahvaljujući sinergističkom delovanju bakterija postižu napredni nivo mineralizacije i biorazgradnje boje, u odnosu na čiste pojedinačne kulture. Kako bi se ubrzao proces razgradnje, bakterijski konzorcijum podrazumeva kombinaciju različitih kultura koje imaju sposobnost degradacije širokog spektra azo boja ili sposobnost korišćenja metabolita koji nastaju usled delovanja drugih bakterijskih vrsta (Ajaz et al., 2020).

Ekonomičan, ekološki prihvatljiv proces proizvodnje mulja, ponudio je novo rešenje za sanaciju problema otpadnih voda industrije boja upotrebom gljiva i kvasaca. Za razliku od bakterijskih vrsta, gljive snažno razgrađuju višestruke komplekse zahvaljujući proizvodnji ekstracelularnog enzimskog kompleksa koji sadrži mangan-peroksidazu, lakazu i lignin-peroksidazu. Potencijal primene kvasaca za dekolorizaciju i degradaciju azo boja još uvek nije dovoljno ispitan. Nekoliko vrsta, uključujući *Candida tropicalis*, *C. zeylanoides*, *Aspergillus ochraceus*, *Trametes versicolor*, *Debaryomyces polymorphus*, *Issatchenkia occidentalis* i *Saccharomyces cerevisiae*, testirano je za procese dekolorizacije raznih azo boja. Procesu su mahom diktirani uslovima u kojima su izvođeni eksperimenti, ali kod većine je izvršena uspešna dekolorizacija (Ajaz et al., 2020).

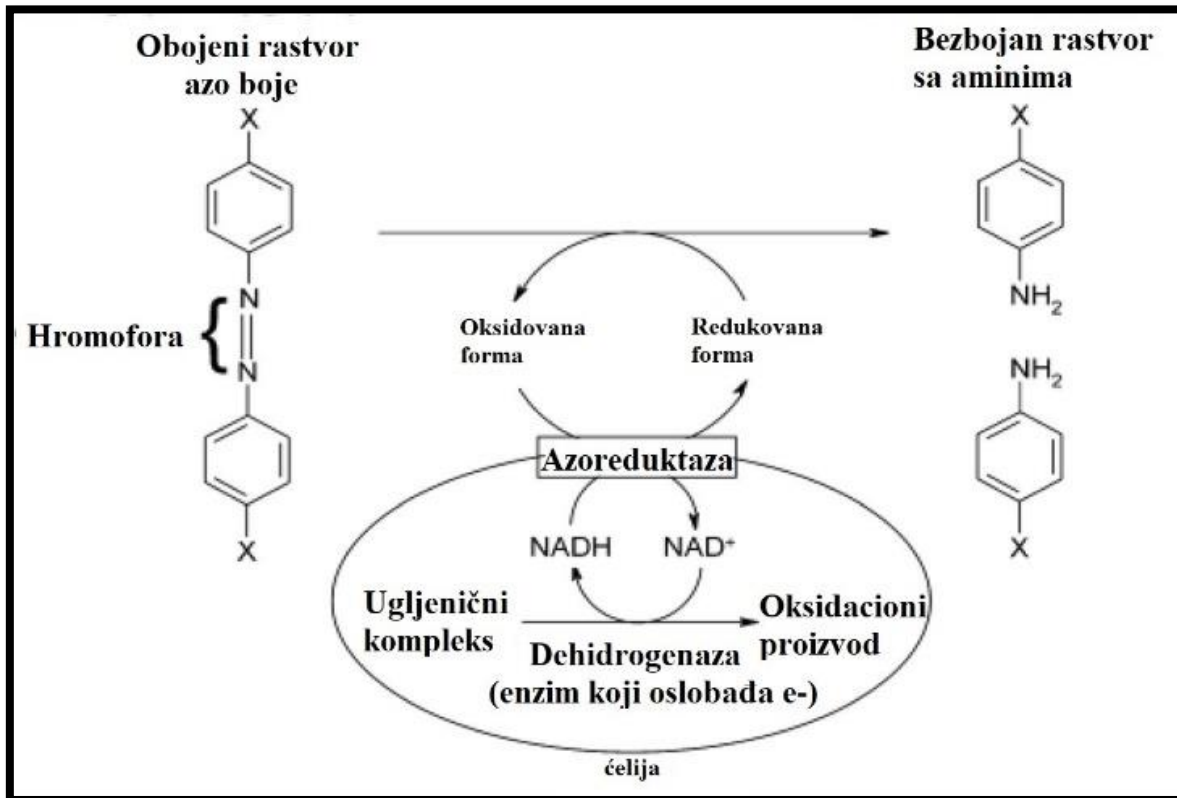
Sveprisutni fotosintetski mikroorganizmi, kao što su alge i cijanobakterije, takođe su privukli pažnju u potencijalnoj primeni tretmana azo boja, zahvaljujući azoreduktazama koje poseduju. Više od 30 vrsta azo kompleksa i osnovnih aromatičnih amina je degradovano pomoću *Chlorella vulgaris*, *C. pyrenoidosa* i *Oscillatoria sp.* Stoga, alge mogu igrati značajnu ulogu u eliminaciji azo boja kao i aromatičnih amina. Osim toga, pokazale su se kao povoljnija metoda i njihova primena bi smanjila trenutne postojeće troškove (Ajaz et al., 2020).

2.6.6.1. Anaerobna degradacija azo boja

Redukcija azo boja pod anaerobnim uslovima je relativno jednostavna, obećavajuća tehnika koja obuhvata dekolorizaciju različitih azo grupa u molekulu. Raznovrsne grupe bakterija koje učestvuju u procesu dekolorizacije azo boja zahtevaju jednostavne organske supstrate poput glukoze,

skroba, etanola kao izvor energije. Anaerobna biomasa dovodi do niza ekstracelularnih reakcija koje generišu elektrone, koji se potom koriste u dekolorizaciji boje (Pandey et al., 2007).

Većina anaerobnih mikroorganizama katalizuje proces redukcije azo boja, zahvaljujući enzimu azoreduktazi (EC 1.7.1.6). Proces uključuje prenos 4 elektrona, kao i kofaktore i intermedijere koji nastaju tokom razgradnje boje. Trenutno opisani intermedijeri podrazumevaju NAD (nikotinamid adenin dinukleotid) i NAD(P)H (nikotinamid adenin dinukleotid-fosfat), koji mogu da prime elektrone i da ih prenesu na azo boju. Tokom procesa dolazi do prekida dvostruke veze, čijom redukcijom nastaju aromatični amini i na taj način se vrši obezbojavanje azo boja. Nastali proizvodi su toksični i bez mirisa. Reakcija redukcije boje, azoreduktazom je predstavljena na slici 2.20 (Ajaz et al., 2020).



Slika 2.20. Proces dekolorizacije boje i mehanizam delovanja azoreduktaze (Adaptirano: Ajaz et al., 2020).

Kako bi se efektivno i nesmetano odvijala dekolorizacija azo boja u anaerobnim uslovima, oksidacija zahteva redoks potencijal od 50 mV. Redoks potencijal katalizatora je takođe odgovoran za nespecifične reakcije redukcije između azo boja i formiranja intermedijera. U aerobnim uslovima aromatični amini podležu mineralizaciji čime se smanjuje njihova toksičnost. Ipak, u prisustvu kiseonika smanjuje se redukcija azo veze, zbog ometanja NADH, što onemogućuje transfer elektrona ka azo vezi od NADH. Pored toga, pokazano je da neki od aromatičnih amina, koji sadrže hidroksilne i karbonilne grupe mogu biti mineralizovani i u anaerobnim uslovima, dok su neki od njih skloni samooksidaciji, što takođe rešava problem toksičnih intermedijera nastalih degradacijom azo boja (Selvaraj et al., 2021).

2.6.6.2. Aerobna degradacija azo boja

Nekoliko bakterijskih vrsta se do sada pokazalo jako uspešnim u dekolorizaciji azo boja, od kojih je *P. aeruginosa* najviše primenjivan za aerobni proces. Većina bakterija prilikom aerobnih procesa zahteva dodatni izvor ugljenika, zbog nemogućnosti da koriste boju za svoj rast. Naime,

njihova sposobnost razaranja hromofore je dosta slabija u odnosu na razlaganje u anaerobnoj sredini, te upotreba aerobnih muljeva nije toliko popularna za dekolizaciju boje. Do sada je pronađeno samo nekoliko bakterijskih vrsta koje imaju mogućnost da raskinu dvostruku vezu između azota i da iskoriste boju za svoj rast, a potiču iz rodova *Bacillus*, *Xanthomonas* i *Pseudomonas* (Pandey et al., 2007).

Razgradnja boje u aerobnim uslovima je takođe katalizovana enzimom azoreduktazom. U većini slučajeva razgradnje koristi se kombinacija različitih mikroorganizama kako bi se poboljšala kinetika razgradnje boje. Faktori, poput koncentracije boje, koncentracije enzima, temperature i brzine formiranja intermedijera, takođe utiču na to kojom brzinom će biti uklonjena azo boja iz otpadne vode. Poznato je da prilikom razgradnje boje nastaju aromatični amini kao međuprodukti metabolizma, koji se potom pomoću aerobnih mikroorganizama mineralizuju i na taj način u potpunosti uklanjaju (Ajaz et al., 2020). Upravo je konvencionalni proces tretmana aktivnog mulja je jedan od važnijih procesa aerobnog tretmana za proces razgradnje azo boja, koji omogućava stabilizaciju metabolita. Tretman otpada aktivnim muljem je često efikasan i visoko ekonomičan metod smanjenja organskih zagađujućih supstanci prisutnih u otpadnoj vodi (Selvaraj et al., 2021).

2.6.6.3. Kombinovani „anaerobni/aerobni” tretman za degradaciju azo boja

Proces kombinacije tretmana za dekolizaciju azo boja podrazumeva upotrebu mešoviti aerobnih ili fakultativno aerobnih konzorcijuma mikroorganizama. Sam proces dekolizacije zahteva anaerobnu sredinu, iako u procesima učestvuju mikroorganizmi koji mahom rastu u aerobnim uslovima. Čiste bakterijske vrste poput *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas luteola*, vrše dekolizaciju boja pod anaerobnim uslovima. Proces dekolizacije zahteva podloge koje su uglavnom sačinjene od kompleksnih organskih izvora kao što su ekstrakt kvasca, pepton ili kombinacija nekog složenog organskog izvora i ugljenih hidrata. Upotreba glukoze u anaerobnim uslovima nije poželjna, jer dovodi do stvaranja kisele sredine, što onemogućava dekolizaciju (Pandey et al., 2007, Selvaraj et al., 2021).

3. Materijal i metode

3.1. Uzorkovanje i ispitivanje sedimenta

Za potrebe istraživanja korišćen je sediment prikupljen na ušću reke Save u Dunav sa koordinatama 44°49'23,2'' severno i 20°26'32,4 istočno. Sediment sa dubine od oko 20 cm je uzorkovan sterilnom kašikom i pakovan u sterilne tegle. Kompozit prikupljenog sedimenta je do upotrebe čuvan u frižideru na +4 °C.



Slika 3.1. Lokacija sa ušća Save u Dunav, odakle je prikupljen uzorak sedimenta.

3.1.1. Analitičke metode

3.1.1.1. Određivanje pH vrednosti sedimenta

pH vrednost sedimenta je merena prema standardnoj metodi ISO DIS 10390:2002, korišćenjem digitalnog pH-metra (tip pH 300i) sa kombinovanom elektrodom (WTW-Vajlhajm, Nemačka).

3.1.1.2. Određivanje sadržaja vlage

Homogenizovani uzorak rečnog sedimenta je odmeren u vegeglase ustaljene mase i osušen u sušnici na 105 °C tokom 2 h. Rezultati su predstavljeni kao srednja vrednost tri ponavljanja (ISO 11465:1993).

3.1.1.3. Određivanje sadržaja karbonata

Procenat sadržaja karbonata u uzorcima rečnog sedimenta je određen standardnom ISO 10693:1995 metodom.

3.1.1.4. Elementarna organska mikroanaliza uzorka sedimenta

Uzorak sedimenta osušen je na 105 °C do konstantne mase, potom spraošen. Sadržaj ugljenika, vodonika, azota i sumpora pripremljenih uzoraka određen je elementarnom organskom analizom (EOMA) koristeći automatski analizator Vario EL III CHNS/O (Elementar, Nemačka). Analiza je rađena u tri nezavisna ponavljanja i rezultati predstavljaju srednju vrednost.

3.1.1.5. Određivanje sadržaja metala indukivano spregnutom plazmom sa masenom spektrometrijom (ICP-MS)

Sadržaj metala u sedimentu određen je indukivano spregnutom plazmom sa masenom spektrometrijom (ICP-MS) (iCAP Kc/SN02767R Thermo Scientific, Ujedinjeno Kraljevstvo 2014) sa mernim opsegom > 0,0003 mg/L. Za obradu rezultata korišćen je softver Intuitive Thermo Scientific™ Qtegra™ Intelligent Scientific Data Solution™ (ISDS) verzije 2.6.2270.4 (bit.4). Svi uzorci su analizirani u tri ponavljanja i korišćena je prosečna vrednost.

3.1.2. Mikrobiološke metode

3.1.2.1. Podloge za izolovanje, umnožavanje i određivanje broja mikroorganizama

Podloge korišćene za izolovanje, umnožavanje i određivanje broja mikroorganizama u sedimentu su pre upotrebe autoklavirane na 121 °C, tokom 20 min. Nakon zasejavanja, podloge su inkubirane na 28 °C tokom 48 h, odnosno 4 do 7 dana u slučaju rasta sulfat-redukujućih bakterija. Rezultati broja mikroorganizama su predstavljeni kao broj poraslih kolonija u 1 g sedimenta (eng. Colony Forming Units, CFU), CFU/g.

3.1.2.2. Hranljivi agar

Za određivanje ukupnog broja hemoorganoheterotrofnih aerobnih i fakultativno anaerobnih bakterija (HAB) prisutnih u rečnom sedimentu korišćen je Hranljivi agar (Torlak, Srbija). Podloga je pripremljena prema uputstvu proizvođača.

3.1.2.3. Sladni agar

Broj kvasaca i plesni (KP) u sedimentu određen je na Sladnom agaru (Torlak, Srbija), poštujući uputstva proizvođača.

3.1.2.4. Hranljivi agar sa 0,5 % glukoze

Hranljivi agar sa 0,5 % glukoze je podloga koja je korišćena za određivanje broja anaerobnih mezofilnih hemoorganoheterotrofnih bakterija (AB). U Hranljivi agar, pripremljen prema uputstvu proizvođača (Torlak, Srbija), dodato je se 0,5 % glukoze (Merck, Nemačka) i potom sterilisano.

3.1.2.5. Sulfitni agar

Sulfitni agar je podloga korišćena za određivanje i održavanje broja sulfat-redukujućih bakterija u sedimentu. Podloga je pripremljena prema uputstvu proizvođača (Torlak, Srbija).

3.1.2.6. Baar-ova podloga

Za izolovanje i umnožavanje sulfat-redukujućih bakterija korišćena je modifikovana Baar-ova podloga sledećeg sastava (g/L) (Zhang, Wang, 2017):

K ₂ HPO ₄	0,5
Na ₂ SO ₄	4,5
NH ₄ Cl	1,0
CaCl ₂ x 4H ₂ O	0,1
MgSO ₄ x 7H ₂ O	0,06
C ₃ H ₅ NaO ₃	6,0
FeSO ₄ x 7 H ₂ O	0,5
C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ x 6 H ₂ O	0,3
Ekstrakt kvasca	1,0

pH vrednost podloge je podešena na 7,4 i tako pripremljena je sterilisana (Zhang, Wang, 2017). Podloga je inkubirana tokom 4-7 dana (do pojave bakterijskih kolonija) na 28 °C, u anaerobnim uslovima. Anaerobna sredina je obezbeđena BD GasPak EZ™ anaerobnim sistemom (Becton, Dickinson and Company, Velika Britanija).

3.1.2.7. Pomoćni mikrobiološki rastvori

Za pripremanje serijskog razblaženja sedimenta, korišćen je 0,9 % fiziološki rastvor (9,0 g NaCl u 1000 mL demineralizovane vode). Rastvor je sterilisan prema postupku opisanom u odeljku 3.1.2.1.

3.1.3. Identifikacija bakterijskih sojeva

3.1.3.1. 16S rRNK analiza

Genomska DNK iz izolovanih čistih bakterijskih kultura je ekstrahovana korišćenjem DNeasy Blood & Tissue Kit (Nemačka), prema protokolu proizvođača za bakterijske ćelije. Prajmeri korišćeni za umnožavanje 16S RNK za PCR sekvenciranje su bili 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') i 1492R (5'-CGGCTACCTTGTTACGACTT-3'). Umnožene bakterijske DNK su ekstrahovane iz 1% agaroznih gelova i prečišćene korišćenjem QIAquick PCR Purification Kit (Nemačka) kompleta za prečišćavanje. Sekvenciranje je rađeno u Macrogen, Holandija. Proverene su sličnosti dobijenih sekvenci sa DNK sekvencama u NCBI (eng. National Center for Biotechnology Information, NCBI) bazi podataka korišćenjem BLAST programa.

3.1.3.2. Metagenomska analiza

Iz originalnog uzorka sedimenta i uzorka koji je stajao mesec dana pod anaerobnim uslovima, ekstrahovana je DNK i prečišćena korišćenjem ZymoBIOMICS™ DNA Miniprep kita (Zymo Research Corp., Irvin, SAD) za izolovanje DNK iz sedimenta. Pomoću PCR tehnike umnožena je izolovana DNK u dva koraka. Prvi korak je podrazumevao umnožavanje V3-V4 regiona 16S rRNK gena uz pomoć prajmera: 341F (ACACTCTTCCCTACACGACGCTCTTCCGATCT–NNNNN–CCTACGGGNGGCWGCAG) i 805R (GTGACTGGAGTTCAGACGTGTGCTCTTCCGATCT–NNNNN–GACTACHVGGGTATCTAATCC). Dobijeni PCR proizvodi su ponovo umnoženi pomoću indeksnih prajmera, takođe PCR metodom. Sekvenciranje dobijenih proizvoda je urađeno na Illumina MiSeq platformi (San Dijego, SAD) u Bioengineering Lab. Co. Ltd. (Kanagava, Japan), a podaci obrađeni softverom QIIME2 (verzija 2019.01). Podaci su obrađeni i nakon skraćivanja prajmera pomoću Dada2 softvera, potencijalne himerne sekvence su identifikovane i ukonjene pre

pretrage sekvenci amplikona u MiDAS bazi podataka (Bolyen et al., 2018). Obrađene sekvence su poređene sa kulturama deponovanim u NCBI bazi podataka.

3.1.4. Priprema i umnožavanje biomase konzorcijuma mikroorganizama izolovanih sulfat-redukujućih bakterija za pripremu sedimenta MFC

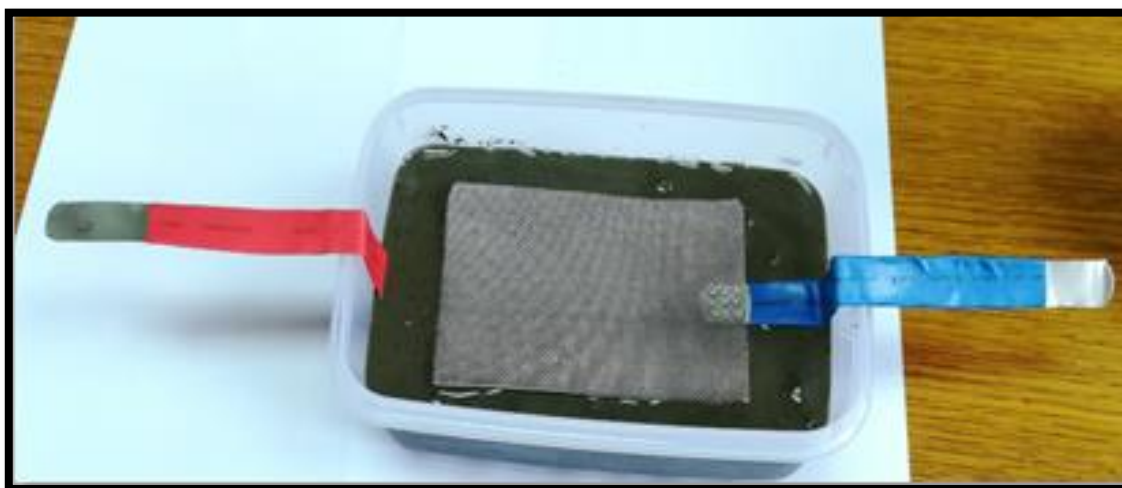
Obogaćivanje biomase SRB vršeno je višestrukim presevimima u Baar-ovu podlogu. Podloge su inkubirane na 28 °C tokom 7 dana, odnosno do pojave crnih kolonija. Postupak obogaćivanja je ponovljen tri puta. Umnožena bakterijska biomasa je pre dodavanja u sediment za formiranje MFC isprana fiziološkim rastvorom, a potom centrifugirana 10 min na 7 000 obrtaja po minuti.

Za postavku jednodomorne MFC korišćena su 4 tipa sedimenta:

- MFC₀ – sa sterilnim rečnim sedimentom,
- MFC_I – sa kompozitom rečnog sedimenta,
- MFC_{II} – sa biostimulisanim kompozitom rečnog sedimenta,
- MFC_{III} – sa biostimulisanim i bioaugmentisanim kompozitom rečnog sedimenta.

MFC₀ je konstruisana od sterilnog kompozitnog sedimenta autoklaviranog 30 min na 121 °C. Kompozit rečnog sedimenta je predstavljao osnovu za konstrukciju ćelije označene kao MFC_I. MFC_{II} je pripremljen od kompozitnog sedimenta sa dodatim solima sulfata (NaSO₄) i karbonata (Na₂CO₃) u ukupnoj zapremini 1% (w/w), kako bi se stimulisao rad autohtonih mikroorganizama, zbog čega je i sam sediment čuvan mesec dana u anaerobnoj atmosferi (3.1.2.6.) na 28 °C, nakon čega je formirana ćelija i meren je napon. Sediment ćelije MFC_{III} je pored neorganskih soli, koje je sadržao u istom odnosu kao i MFC_{II}, dodatno bioaugmentisan sa sojevima izolovanih i okarakterisanih mikroorganizama. Ovaj sediment je čuvan na isti način kao MFC_{II}.

3.2. Konstrukcija mikrobne gorivne ćelije (MFC)



Slika 3.2. Jednodomorna MFC ćelija sa setom elektroda. Plava boja bužira označava katodu, dok je crvenom predstavljena anoda.

Jednodomorni MFC sistem prikazan na slici 3.2. je korišćen u svim eksperimentima. Osnovni elementi sistema su: plastični kontejner (16,8 cm x 10,8 cm x 6,0 cm), rečni sediment, anodne i katodne elektrode. Identične elektrode, dimenzija 11,0 cm x 7,3 cm (80,3 cm²) su izrađene od inoks mreže (Fasil, Srbija) i kontaktnog uskog pravougaonog dela od inoks folije, izolovanog termoskupljajućim bužinom (Good Fellow, Velika Britanija). Elektrode su dizajnirane u skladu sa

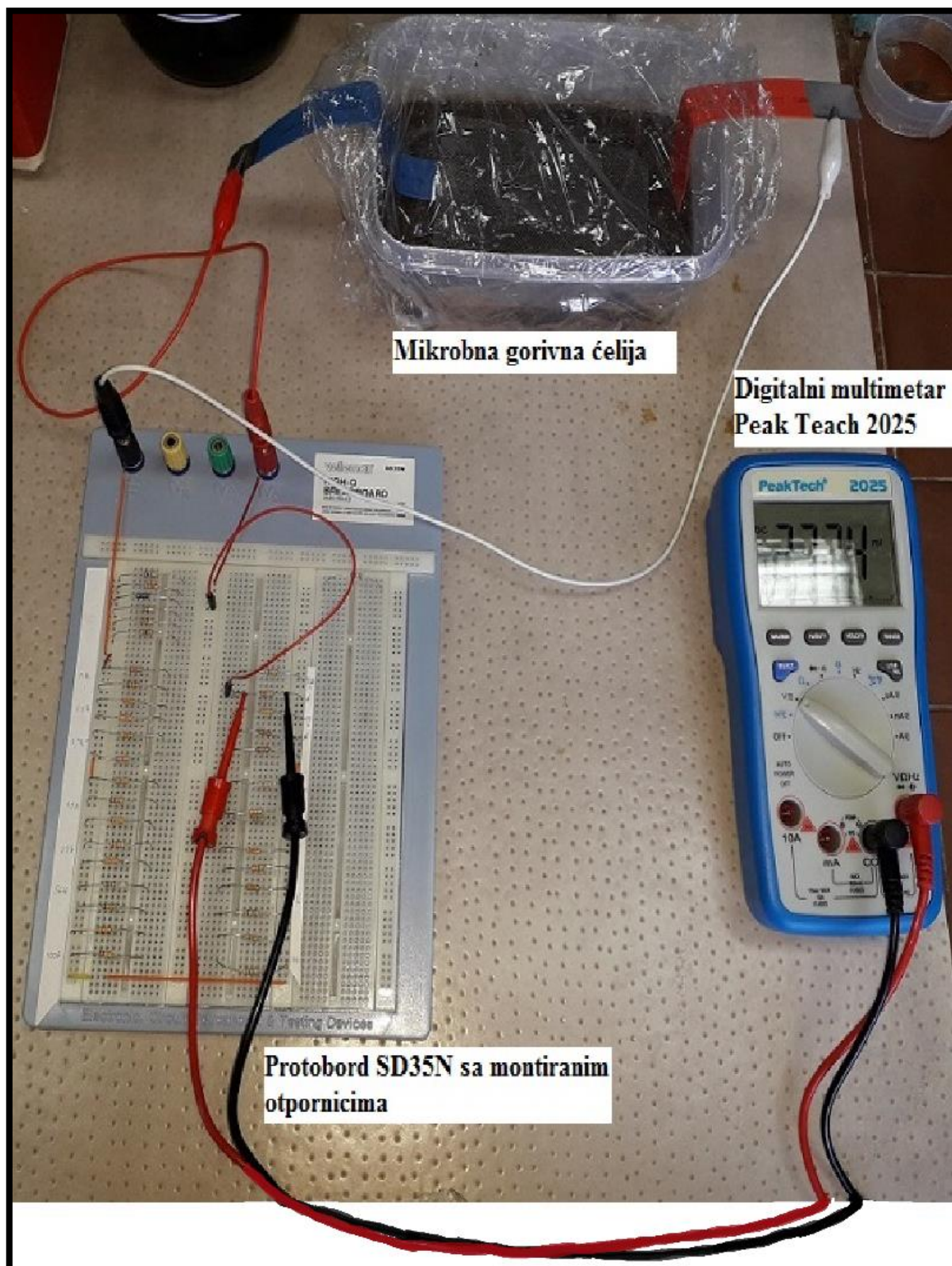
standardom IC 316. MFC je formirana tako da je anoda smeštena na dno plastičnog kontejnera, potom sledi rečni sediment (zapremine 363 cm³) na koji naleže katoda, koja je u dodiru sa vazduhom.

3.2.1. Merenje aktivnosti MFC

Za merenje aktivnosti MFC, korišćen je eksperimentalni sklop koga čine: MFC sa elektrodama, protobord SD35N sa 2420 rupa (Velleman, Belgija) i digitalni multimetar Peak Tech 2025 (PeakTech, Nemačka). Anoda i katoda MFC su povezane na protobord preko buksni za napajanje. Otpornici iz širokog opsega od 10 Ω do 10 MΩ, su postavljeni na protobord tablu. Po jedan kraj otpornika je u kratkom spoju i vezan na anodu, dok se drugi kraj svakog otpornika pri merenjima sukcesivno priključuje na katodu MFC. U svakom mernom koraku, jedan od otpornika je povezan sa digitalnim multimetrom radi očitavanja vrednosti otpornosti i napona. Ceo sistem je prikazan na slici 3.3.

Merne sonde i kablovi za povezivanje sistema su posebno adaptirani za ovaj merni proces. Merne sonde multimetra, sa finim i malim “ hvataljkama” su prilagođene da odgovaraju osetljivim otpornicima. Kablovi za povezivanje elektroda na buksne za napajanje test table su takođe prilagođeni za ova merenja. Na jednom kraju kablova nalaze se krokodili, dok su na drugom kraju zalemljeni banana konektori.

Pre povezivanja MFC na protobord, izmerene su vrednosti niza otpornika, od najmanjeg ka najvećem, zbog mogućih odstupanja od nominalnih fabričkih vrednosti. Merenje napona je započeto povezivanjem MFC na prvi otpornik u nizu, nakon čega se nastavlja sukcesivno merenje. Vrednosti napona za dati otpornik su očitavane na multimetru nakon što je dostignuto kvazi-stacionarno stanje pri čemu je pad napona manji od 0,5 mV/min (Capodaglio et al., 2013). Empirijski je utvrđeno da je potrebno od 3 do 10 minuta da se napon na datom otporniku stabilizuje. Merni ciklus je završen merenjem napona otvorenog kola tokom 20 minuta. Sva merenja napona na MFC sistemima su sprovedena jednom dnevno, u maksimalnom trajanju od 12 dana, ukoliko nije drugačije naglašeno. Zapremina MFC tokom ovog perioda je održavana svakodnevnim merenjem i dodavanjem sterilne demineralizovane vode do početne zapremine.



Slika 3.3. Eksperimentalni sklop: MFC ćelija, protobord tabla sa otpornicima i multimetar.

3.2.3. Obrada i predstavljanje podataka

Primenom Omovog zakona, na osnovu očitanih vrednosti napona U [V], računata je jačina struje I [A] kroz dati spoljašnji otpornik.

$$(34) I = U/R$$

Snaga razvijena na otporniku P [W], posledica je aktivnosti mikrobne gorivne ćelije i računata je upotrebom sledeće formule:

$$(35) P = U \times I$$

Na osnovu ovih vrednosti dobijeni su grafici sledećih zavisnosti: izmerenog napona od otpornosti, intenziteta generisane struje od otpornosti, količine generisane snage od otpornosti, kao i gustine snage u zavisnosti od gustine struje.

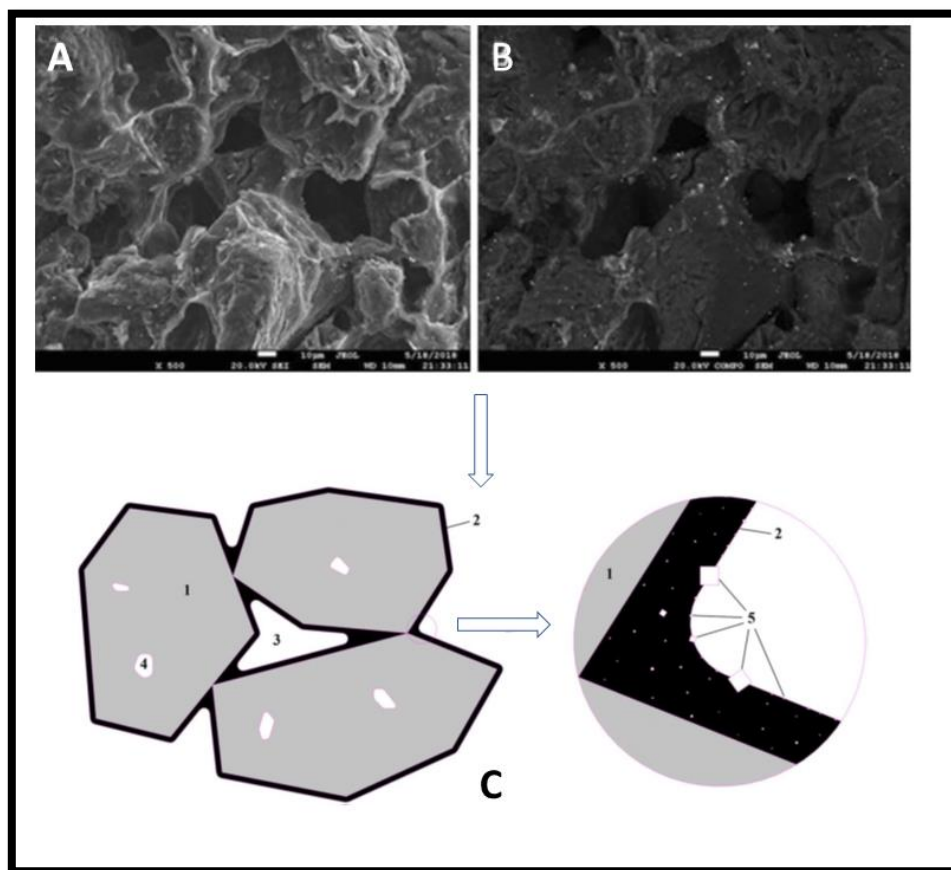
Gustina struje J [A/m³] i gustina snage P_d [W/m³] su dobijene nakon što se izračunate vrednosti podele sa ukupnom zapreminom MFC sistema.

3.3. Elektrohemijska degradacija Reactive Black 5 (RB5)

Za elektrohemijsku degradaciju azo boja, gde je MFC korišćena kao izvor električne energije, upotrebljen je vodeni rastvor boje Reactive black 5 ($\geq 50\%$, Sigma-Aldrich). Radni rastvor RB5 je napravljen u koncentraciji od 25 i 50 mg/L, u ukupnoj zapremini od 100 mL. Kao pomoćni elektrolit korišćen je 0,1M Na₂SO₄ (Jović et al, 2013). Za generisanje hidrosil radikala, elektro-Fentonovom reakcijom, u nepodeljenu elektrohemijsku ćeliju dodavan je vodonik-peroksid (30% w/w, Zorka), u koncentracijama od 0,5, 1, 3, 5, 7 i 10 mM. Da bi se utvrdio udeo električne energije generisane iz MFC u ukupnoj degradaciji RB5 postavljen je kontrolni eksperiment u kome su korišćeni isti odnosi RB5 i vodonik-peroksida ali bez uključivanja MFC u strujno kolo. Za degradaciju je korišćen dvoelektrodni sistem koji se sastojao od Pt (3 cm²) elektrode i radne elektrode koja sadrži Fe (15% Fe, 12,56 cm²). Razlika potencijala između elektroda tokom procesa degradacije praćena je pomoću pH-metra (MA 5705, Iskra, Jugoslavija). Sva merenja su izvođena u tri ponavljanja.

3.3.1. Radna elektroda

Radna elektroda koja je korišćena u studiji je mikroporozna grafitna elektroda sa 15% Fe. Napravljen je kalcinacijom grafitnih granula veličine 70 μ m (prosečna srednja vrednost granula), smole i gvožđe(III)-nitrata nanohidrata (Fe(NO₃)₃ x 9H₂O). Za pripremu elektrode korišćeno je 3 g grafitnih granula visoke gustine (oznake VPG-4), 0,9 g Novolac fenol-formalehid smole SFPR-054 (koja sadrži 26% mase heksametilentetramina) i 0,585 g Fe(NO₃)₃ x 9H₂O. Termoliza je vršena na 950 °C, tokom 10 h. Ceo proces pravljenja grafitne elektrode sa gvožđem opisali su Manojlović i saradnici (Manojlović et al., 2020). Na slici 3.4. predstavljen je SEM snimak kompozitne mikroporozne grafitne elektrode sa 7% gvožđa i granulacijom od 70 μ m, koji najviše odgovara opisanoj radnoj elektrodi.



Slika 3.4. SEM prikaz (A, B) grafitne mikroporozne elektrode sa 7% gvožđa pod uvećanjem od 500 x; C) model kompozita radne elektrode na kome su prikazane grafitne granule (1), sloj staklastog ugljenika (2), otvorene pore (3), zatvorene pore (4) i čestice gvožđe(II,III)-oksida (Fe_3O_4) (Adaptirano: Manojlović et al., 2020).

3.4. Detekcija proizvoda degradacije

3.4.1. UV/VIS spektrofotometrija

Efikasnost obezbojavanja RB5 je praćena nakon 0, 2, 4 i 6 h elektrodegradacije snimanjem spektra na talasnim dužinama u opsegu od 200-800 nm (UV Visible 1280 spektrofotometar, Shimadzu). Procenat dekolorizacije RB5 boje je određen na osnovu sledeće relacije:

$$(36) \text{ Dekolorizovana boja (\%)} = (A_0 - A) / A - 100$$

A_0 - izmerena absorbanca početnog rastvora boje na maksimalnoj talasnoj dužini ($\lambda_{\text{max}}=590$)

A - izmerena absorbanca boje nakon određenog vremenskog intervala elektrohemijske degradacije

Procenat dekolorizacije praćen je poređenjem UV spektara uzorka boje posle elektrodegradacije kao i ekvivalentne kontrole koja je identična uzorku ali nije podvrgnuta elektrohemijskoj degradaciji.

3.4.2. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom (FTIR)

Prisustvo odgovarajućih funkcionalnih grupa kod degradovane i nedeogradovane RB5 je potvrđeno snimanjem spektra na aparatu Nicolet 6700 (Thermo Scientific, SAD) metodom

prigušene totalne refleksije (eng. Attenuated Total Reflectance - Fourier Transform Infrared Spectroscopy, ATR-FTIR). Oblast snimanja je obuhvatala od 4000 do 500 cm⁻¹. Snimljeni su spektri za inicijani rastvor boje RB5 25 mg/L (0 h) i degradovane boje (25 mg/L + 3% H₂O₂) nakon 6 h. Spektri su obrađivani u Omnic 7.0 programu, a potom su upoređivani sa literaturnim podacima (Pretsch et al., 2000).

3.4.3. Tečna hromatografija visokih performansi (HPLC)

Identifikacija glavnih proizvoda degradacije RB5 je izvršena korišćenjem Thermo Scientific Accela tečne hromatografije visokih performansi (eng. High-performance liquid chromatography, HPLC) sa trostrukim kvadrupolnim analizatorom mase, TSQ Quantum Access MAX (Thermo Fisher Scientific, SAD). Korišćena je kolona Thermo Scientific Accucore aQ. Eluiranje je izvedeno korišćenjem mobilne faze koja se sastojala od rastvora A: ultra čiste vode, 0,1% HCOOH, 5 mM HCOONH₄ i rastvora B: MeOH, 0,1% HCOOH, 5 mM HCOONH₄, na sledeći način: 0-0,5 min 0% rastvora B, 0,5-7 min 70% rastvora B, 7-12 min 100% rastvora B i od 12-16,5 min 0% rastvora B. Jonizacija je izvedena u H-ESI režimu. MS spektri su dobijeni skeniranjem koje pokriva opseg od 40-1000 m/z. Uzorci su bili filtrirani kroz PTFE filtere od 0,22 mm, pre puštanja kroz kolonu. Podaci su analizirani korišćenjem softvera Xcalibur 3.0.63, 2014 (Thermo Fisher Scientific, SAD).

3.5. Ispitivanje ekotoksičnosti proizvoda degradacije RB5 boje

Ekotoksičnost boje RB5 pre i nakon elektrohemijske degradacije ispitivana je u skladu sa standardom ISO 11348-3, pri čemu je korišćen luminometar BioFix® Lumi-10 (Macherei-Nagel GmbH & Co. KG, Duren, Nemačka). Liofilizovana bakterijska suspenzija, *Aliivibrio fischeri* NRRL B-11177, korišćena za ispitivanje toksičnosti pripremljena je od komercijalno dostupnog reagensa (Macherei-Nagel GmbH & Co. KG, Duren, Nemačka). Nakon rekonstitucije, bakterije su inkubirane na 15 °C sa 0,5 mL različitih koncentracija netretirane i tretirane azo boje u koje je dodat NaCl do finalne koncentracije od 2%. Uzorci su pripremljeni metodom serijskog razblaženja i ispitivane koncentracije su bile: 3,13%, 6,25%, 12,5%, 25%, 50% (v/v). Bioluminiscencija je praćena nakon 15 min. Svi testovi su rađeni u triplikatu. Rezultati su prikazani kao EC₅₀ vrednosti tj. efektivno razblaženje uzorka koje izaziva 50% inhibicije luminiscencije.

4. Rezultati i diskusija

U okviru ove doktorske disertacije ispitivana je upotreba električne energije generisane u metaboličkim procesima anaerobne i aerobne respiracije mikroorganizama prisutnih u **MFC** sistemu za elektrohemijsku degradaciju **reaktivnih organskih (azo) boja**.

Prvi deo eksperimenata je obuhvatio fizičko-hemijsko i mikrobiološko ispitivanje sedimenta prikupljenog sa ušća reke Save u Dunav. Dizajnirana je MFC sa rečnim sedimentom i analizirane su njene performanse merenjem napona, a potom i preračunavanjima na generisanu struju i snagu u samom sistemu. Za postizanje maksimalnih radnih performansi, ispitivane su MFC ćelije nakon biostimulacije i bioaugmentacije rečnog sedimenta. Pored ispitivanja pojedinačne MFC, praćene su i vrednosti produkcije električne energije prilikom paralelnog vezivanja 3 MFC ćelije.

Zajednica mikroorganizama koja je odgovorna za generisanje električne energije, opisana je u drugom delu, izolovani su i okarakterisani mikroorganizmi zastupljeni u anodnom i katodnom delu MFC, molekulskom karakterizacijom. Takođe, metagenomskom analizom okarakterisan je rečni sediment i rečni sediment koji je biostimulisan.

Fokus u trećem delu eksperimentalnog rada je bio na upotrebi generisane električne energije na dekolorizaciju i degradaciju **azo boje Reactive Black 5 (RB5)**. Praćena je promena koncentracije boje RB5 i variran je sadržaj vodonik-peroksida u elektrohemijskim reakcijama dekolorizacije. Strukturnim instrumentalnim metodama detaljno je praćen proces razgradnje same boje i njenih nastalih proizvoda. Azo boje stvaraju ogromne probleme u životnoj sredini, pa je ekotoksikološkom analizom ispitan uticaj RB5 i njenih novonastalih degradacionih proizvoda.

4.1. Optimizacija rada MFC sistema

4.1.1. Karakterizacija rečnog sedimenta fizičko-hemijskim i mikrobiološkim metodama

Originalni uzorak rečnog sedimenta sa ušća reke Save u Dunav okarakterisan je blago alkalnom pH vrednošću, umerenim sadržajem organske supstance i sa visokim sadržajem azota (Tabela 4.1.). Zastupljenost teških metala je u okviru granica propisanih Pravilnikom o kvalitetu zemljišta Srbije (Službeni glasnik, 2019), osim nikla i kobalta, čije su koncentracije nešto više od gornjih graničnih vrednosti.

Broj zastupljenih različitih grupa mikroorganizama u rečnom sedimentu je bio u opsegu od 10^4 do 10^5 CFU/mL (Tabela 4.1.). Prema do sada opisanim rezultatima upotrebljenog rečnog sedimenta u MFC sistemima, broj sulfat-redukujućih bakterija zahteva prisustvo od najmanje 10^7 CFU/mL (Angelov et al., 2013). Kako bi bile dobijene bolje performanse rada same ćelije, stimulisan je rad anaerobnih mikroorganizama, naročito SRB bakterija.

Tabela 4.1. Sastav kompozita rečnog sedimenta korišćenog za konstrukciju MFC

Parametar	Vrednost	Sadržaj metala	Vrednost, mg/kg s.s.	Grupa mikroorganizama	Vrednost, CFU/g
Procenat vlage, %	33,4	Hg	<0,01	HAB	2,40 x 10 ⁵
pH (1:2.5 u H ₂ O)	7,70	As	5,68	KP	7,90 x 10 ³
CaCO ₃ , %	4,99	Co	12,1	AB	2,40 x 10 ⁴
Ukupni C, %	3,58	Ca	81066	SRB	6,47 x 10 ⁴
Organski C, %	2,98	Mg	15772		
Neorganski C, %	0,60	Na	1150		
Ukupni N, %	4,74	K	4667		
Ukupni S, %	0,24	Fe	7715		
Ukupni H, %	0,89	Ni	51,8		
		Cu	10,4		
		Zn	93,7		
		Pb	18,3		
		Al	6849		
		Cd	0,31		
		Mn	287		
		Cr	52,3		
		Mo	<0,10		
		B	385		

4.1.2. Eksperimentalna postavka MFC ćelija

Osnovni sediment za formiranje MFC ćelija je bio rečni sediment. U prvom delu je izvršeno postavljanje i karakterizacija 4 različite MFC ćelije, kako bi se odredilo koja od ovih ćelija se odlikuje optimalnim performansama radi postizanja najboljih vrednosti gustine struje i snage u narednim eksperimentima:

- MFC₀ – kontrolna ćelija,
- MFC_I – ćelija sa kompozitom rečnog sedimenta,
- MFC_{II} – ćelija sa biostimulisanim kompozitom rečnog sedimenta,
- MFC_{III} – ćelija sa biostimulisanim i bioaugmentisanim kompozitom rečnog sedimenta.

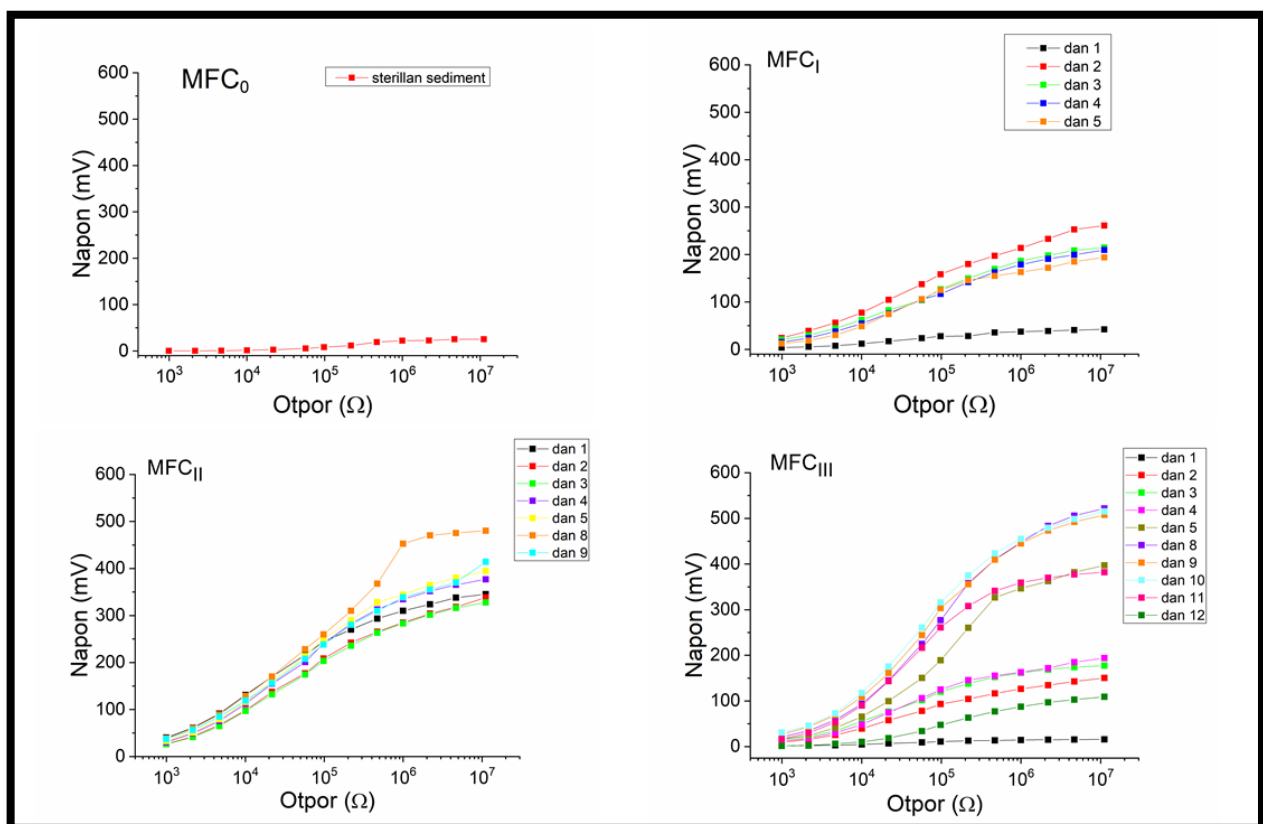
MFC₀ je sadržao sterilan sediment (kompozitni sediment autoklaviran 30 min na 121 °C) između anode i katode. Snaga MFC potiče od biohemijskih procesa mikroorganizama (Hoang et al., 2022, Obileke et al., 2021), te je ova ćelija služila kao abiotička kontrola za sve ostale MFC. Nakon formiranja MFC₀, odmah je izvršeno merenje napona, zbog daljeg gubitka sterilnosti. MFC_{II} je pripremljen od kompozitnog sedimenta sa dodatim solima sulfata (NaSO₄) i karbonata (Na₂CO₃) u ukupnoj zapremini 1% (w/w), kako bi se stimulisani autohtoni mikroorganizmi. Nakon pravljnja, sediment je čuvan mesec dana u anaerobnoj atmosferi (3.1.2.6.) na 28 °C, nakon čega je formirana ćelija i meren je napon. MFC_{III} je pored neorganskih soli, dodatno bioaugmentisan sojevima izolovanih i okarakterisanih mikroorganizama. Skladišten je i čuvan mesec dana u anaerobnoj sredini na 28 °C, kao i MFC_{II}.

Naponi za MFC_I, MFC_{II} i MFC_{III} su svakodnevno mereni, a potom su na osnovu njih računate vrednosti gustine struje i snage sistema. Maksimalne vrednosti napona, gustine struje i gustine snage po zabeleženim danima, navedeni su u tabeli 4.2. Na slici 4.1. se može videti da napon raste sa povećanjem otpora za svaku od ćelija. Kontrolna ćelija, MFC₀ generisala je maksimalan napon od

25,3 mV tokom merenja. MFC_I je bila aktivna svega pet dana, nakon čega njena aktivnost opada. Najveće zabeležene vrednosti za napon su bile tokom drugog dana, od 261,2 mV. U sličnim studijama sa rečnim sedimentom, Abbas i koautori su dobili napone u rasponu od 200 do 300 mV (Abbas et al., 2018). Poređenjem vrednosti napona između MFC_0 i MFC_I , još jednom je dokazano da mikroorganizmi imaju važnu ulogu u razgradnji organske supstance, samim tim i produkciji većeg napona (Alipanahi, Rahimnejad, 2018). Kod MFC_0 , svi mikroorganizmi su iz rečnog sedimenta uklonjeni sterilizacijom i mala količina napona potiče isključivo od organske supstance. Razlika u prisustvu mikroorganizama, dovodi do generisanja skoro 10 puta većeg napona kod MFC_I u odnosu na MFC_0 .

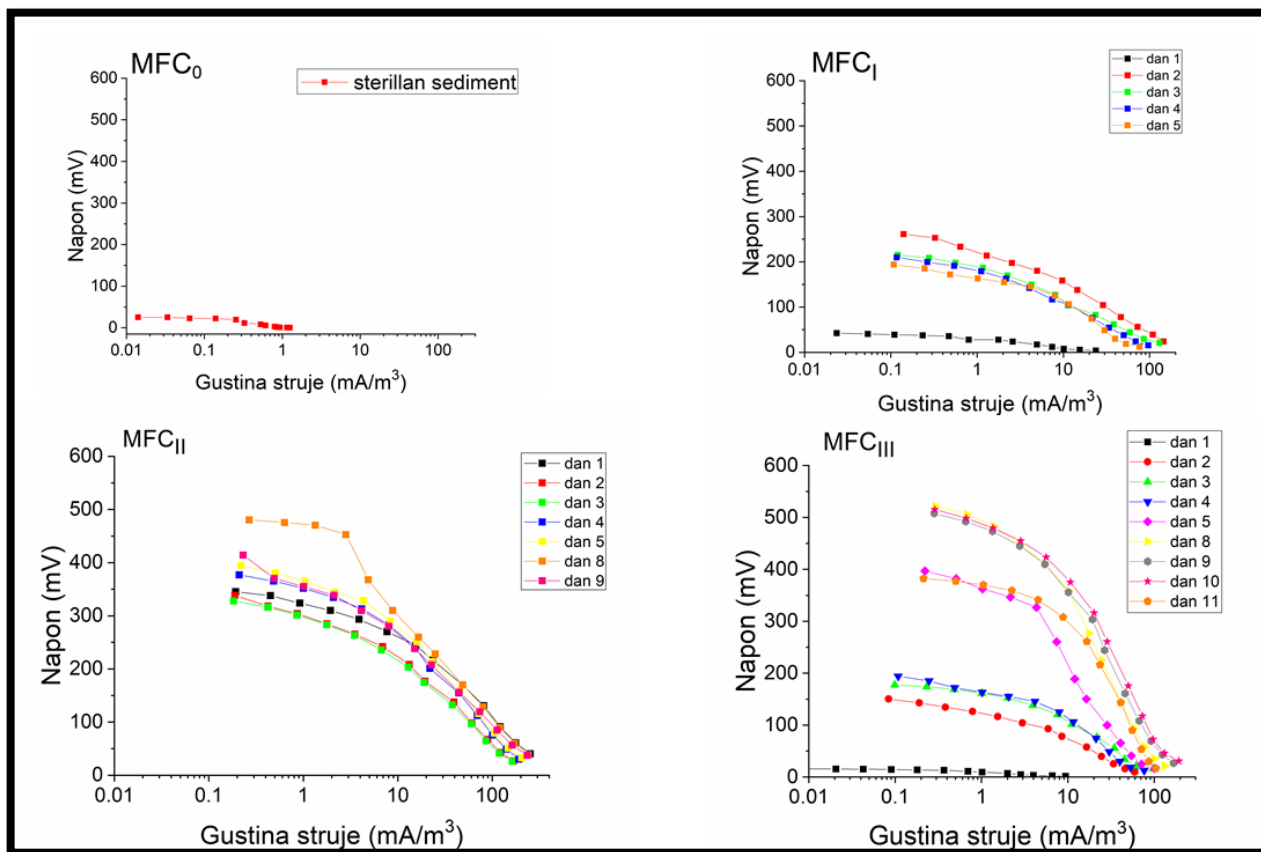
Tabela 4.2. Maksimalne vrednosti napona (U), gustine struje (I_{den}) i gustine snage (P_{den}) za opisane ćelije: MFC_0 , MFC_I , MFC_{II} i MFC_{III} . Opseg otpornika na kojima su vršena merenja su od 1 k Ω do 10 M Ω .

	MFC_0	MFC_I	MFC_{II}	MFC_{III}
U (mV)	25,3	261	480	521
I_{den} (mA/m ³)	0,93	145	241	192
P_{den} (mW/m ³)	0,004	4,25	10,6	8,80
Postignut maksimum	Prvog dana	Drugog dana	Osmog dana	Desetog dana



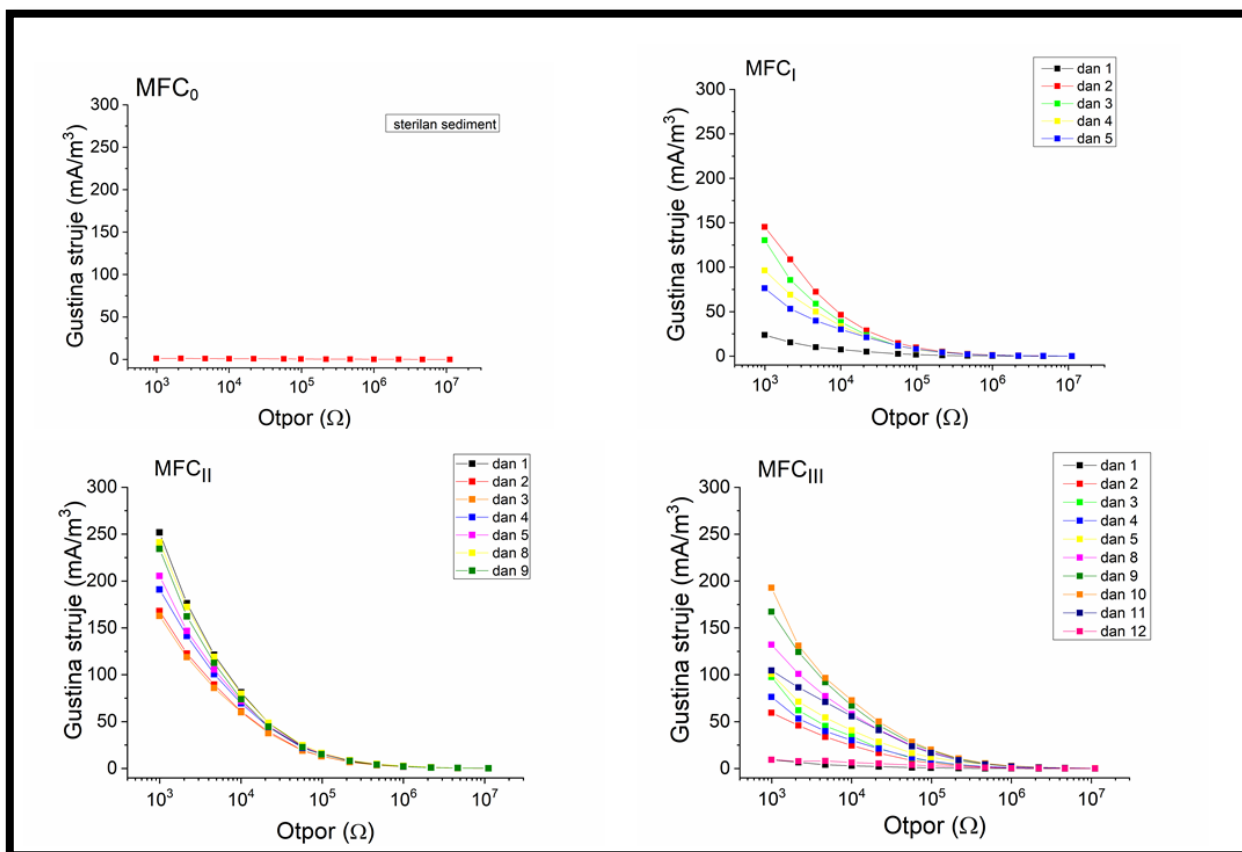
Slika 4.1. Vrednosti napona na nizu otpornika za četiri različita tipa MFC (MFC_0 , MFC_I , MFC_{II} , MFC_{III}) tokom višednevnih merenja (Adaptirano iz Joksimović et al., 2020).

Maksimalne vrednosti napona, od 480 mV, MFC_{II} je proizvela osmog dana od početka merenja. MFC_{III} je dostigla nešto veći napon od 520 mV, dva dana kasnije. Značaj sulfata i karbonata, kao dodatnih izvora koji podstiču rast mikroorganizama u anodnom delu, ogleda se u produkciji većeg napona MFC_{II} i MFC_{III} , u odnosu na MFC_I . Sličan trend zapazili su Li i saradnici (Li et al., 2019), koji su koristili sulfatni supstrat za mikroorganizme u MFC sistemima.



Slika 4.2. Zavisnost napona od gustine struje za MFC_0 , MFC_I , MFC_{II} , MFC_{III} .

Na slici 4.2. mogu se videti vrednosti napona u zavisnosti od gustine struje, gde se uočavaju mala odstupanja među krivama. Takođe, može se zaključiti da sa porastom gustine struje dolazi do naglog pada napona. Najveće vrednosti napona dostižu MFC_{II} i MFC_{III} sistemi, osmog, odnosno desetog dana. Vrednosti napona MFC_{II} iznose 480,4 mV pri gustini struje od 0,27 mA/m³ za otpornik otpornosti 10 MΩ. Na istom otporniku MFC_{III} ima vrednost napona 515 mV pri gustini struje od 0,28 mA/m³.

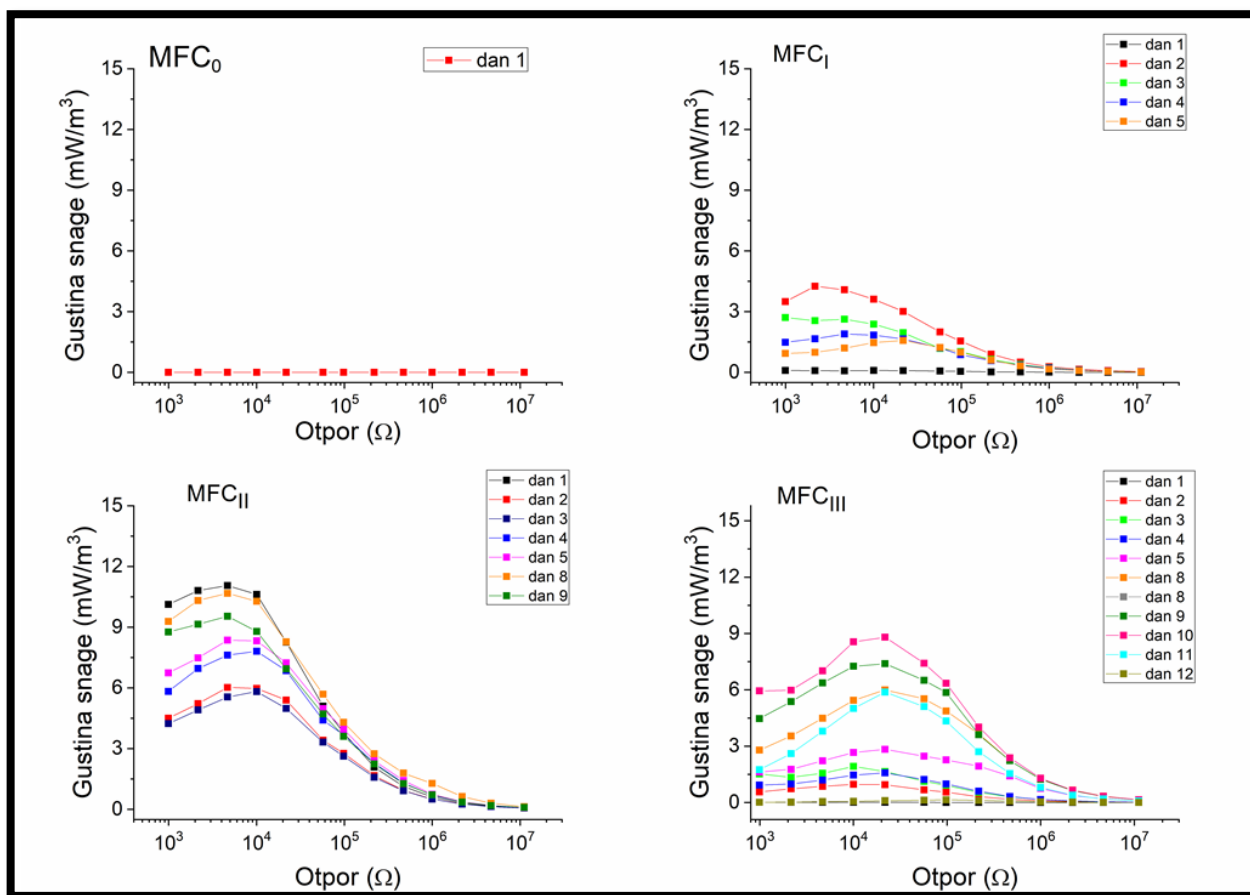


Slika 4.3. Gustina struje izračunata na seriji otpornika za MFC₀, MFC_I, MFC_{II}, MFC_{III} (Adaptirano iz Joksimović et al., 2020).

Prema prikazu na slici 4.3., najveće vrednosti struje su zabeležene, upravo na najmanjim otpornostima, što je u korelaciji sa jednačinom Omovog zakona. Očekivano, najmanja gustina struje je zabeležena kod MFC₀, od svega 0,93 mA/m³. Ova količina potiče prvenstveno iz organske supstance i razlike potencijala u anodnom i katodnom delu, usled izostanka prisustva mikroorganizama (Abbas et al., 2019; Guo et al., 2019). Kod MFC_I najveća gustina struje je izmerena nakon drugog i trećeg dana, i to 145,3 mA/m³ (6.50 mA/m²) i 130,3 mA/m³ (5.90 mA/m²) redom. Do sada publikovane studije o količine struje, iz prirodnog rečnog sedimenta su daleko nižih vrednosti (4,1 mA/m² i 0,75 mA/m²), koje su prikazali Abbas, Nastro i koautori (Abbas et al., 2018, Nastro et al., 2019), što pokazuje da sediment Dunava ima visok potencijal za proizvodnju energije. Dodatni supstrati i izolovani mikroorganizmi iz sedimenta kod MFC_{III} su pokazali dobre prinose u količini generisane gustine struje, gde su tokom osmog i devetog dana zabeležene vrednosti od 192,9 i 167,3 mA/m³. Dobijene vrednosti za gustinu struje kod MFC_{III} su ipak nešto niže u odnosu na MFC_{II}, gde je zabeleženo tokom prvog dana gustinu struje od 251,8 mA/m³ i tokom osmog dana gustinu struje od 241,1 mA/m³. Ovakav rezultat pokazuje da je bilo dovoljno biostimulisati mikroorganizme već prisutne u sedimentu za bolju degradaciju i oslobađanje elektrona u MFC sistemu (Gojgić-Cvijović et al., 2012; Xu et al., 2019).

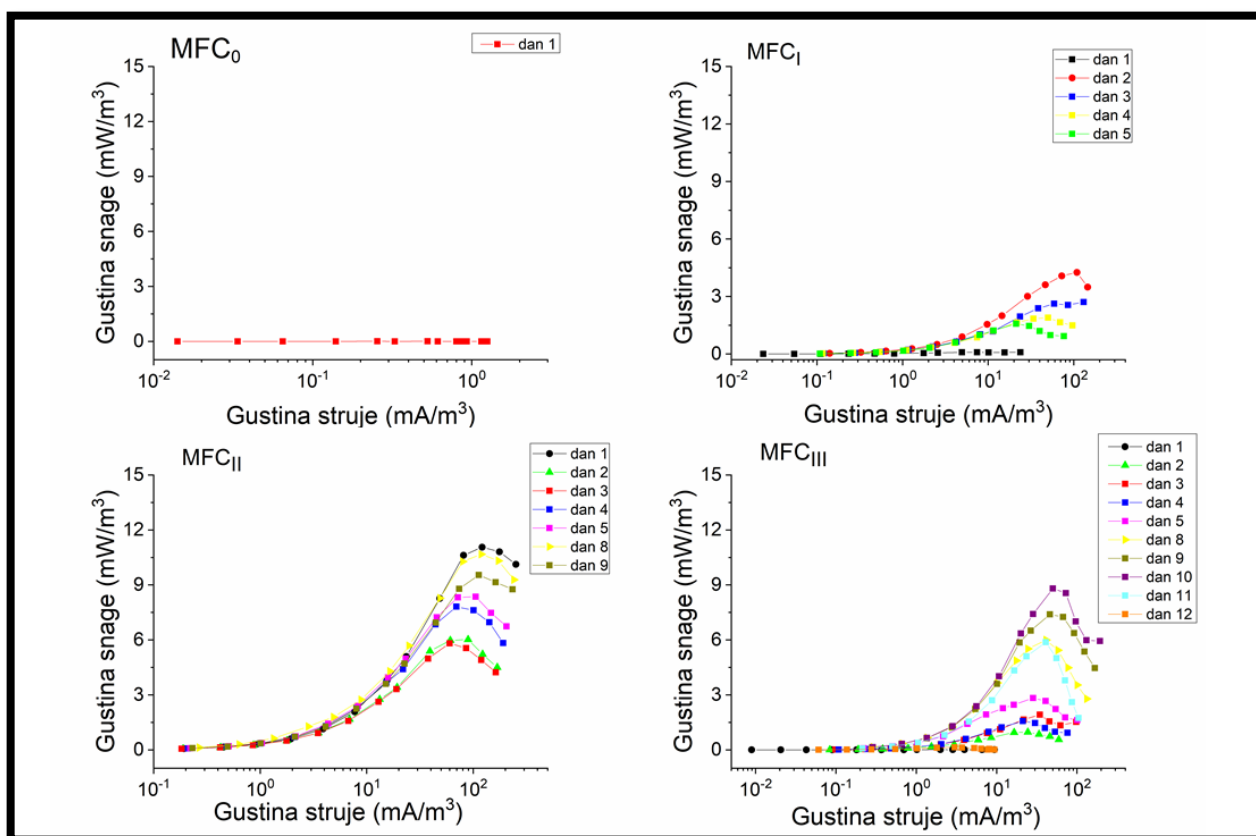
Napon dobijen uzastopnim merenjima i izračunata gustina struje, omogućili su određivanje gustine snage po jedinici zapremine MFC sistema, slika 4.4. Kontrolna MFC₀ je pokazala najmanju gustinu snage 4,89 x 10⁻³ mW/m³ pri otporniku od 500 kΩ. Najveća gustina snage je izračunata kod MFC_{II} 10,67 mW/m³ pri otporniku od 5 kΩ, zatim sledi MFC_{III} sa nešto nižim vrednostima od 8,80 mW/m³ (na otporniku od 20 kΩ) i MFC_I sa svega 2,71 mW/m³ (na otporniku od 2 kΩ). Vrednosti

dobijene gustine snage su korelaciji sa dobijenim vrednostima kod drugih publikacija (Wang et al., 2019).



Slika 4.4. Gustina snage po jedinici zapremine na seriji otpornika za MFC₀, MFC_I, MFC_{II}, MFC_{III} (Adaptirano iz Joksimović et al., 2020).

Važne podatke nam daje i kriva gustine snage, koja predstavlja zavisnost gustine snage od gustine struje u MFC sistemu, što je za svaku ćeliju prikazano na slici 4.5. Iz ovoga se vidi da je najveća aktivnost kod MFC_{II} bila tokom osmog dana, kada su zabeležene i najveće vrednosti gustine snage i napona.

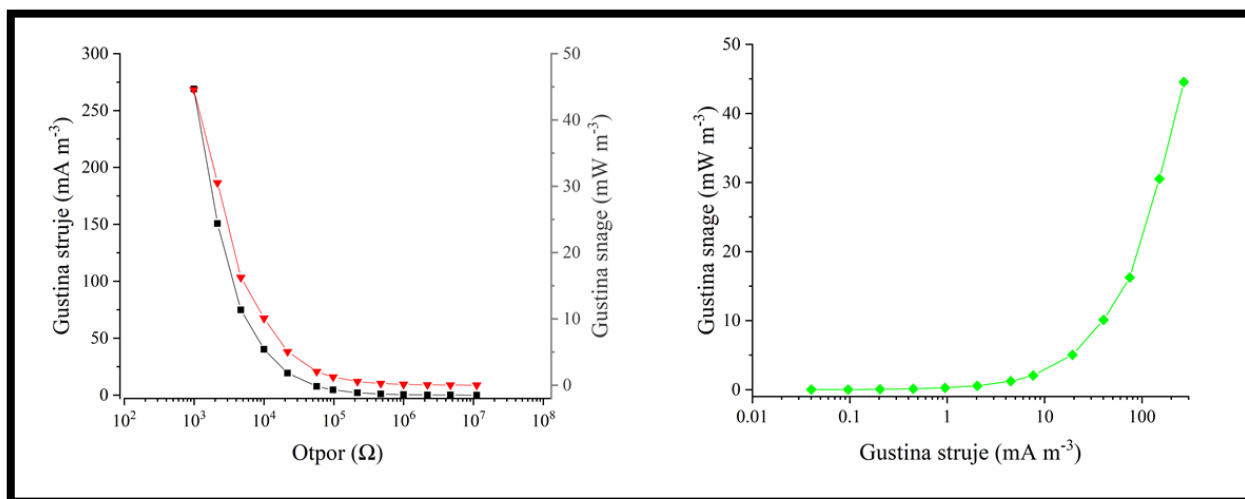


Slika 4.5. Kriva gustine snage-poređenje gustine snage u odnosu na gustinu struje za sve ćelije (MFC₀, MFC_I, MFC_{II}, MFC_{III}) (Adaptirano iz Joksimović et al., 2020).

Elektrogena zajednica prisutnih mikroorganizama, sa dovoljnom količinom izvora hrane, u obliku organske supstance, može proizvesti aktivne MFC sisteme sa ovakvim gustinama snage (Winfield et al., 2011). Razlika u aktivnosti kod MFC_{II} i MFC_{III} se može objasniti drugačijim protokom elektrona i provodljivosti same ćelije. Ne može se sa sigurnošću tvrditi da li je veći uticaj konzorcijuma mikroorganizama ili specifičnih vrsta na produkciju struje i snage MFC, jer je neophodno uzeti u obzir i ostale faktore, poput izvora supstrata i radnih uslova (Cao et al., 2019, Hoang et al., 2022, Logan et al., 2019).

4.1.3. Performanse MFC ćelija korišćenih za degradaciju RB5

Tri MFC ćelije su formirane od sedimenta koji je korišćen za formiranje MFC_{II} i paralelno povezane, u cilju generisanja većeg intenziteta električne struje (Prasad, Tripathi, 2018). Direktna veza ostvarena je između tri MFC sistema, radne i Pt elektroda koje su uronjene u rastvor boje RB5. Pre tretmana same boje, opisane su elektrohemijske performanse MFC.



Slika 4.6. Eksperimentalni rezultati karakterizacije MFC sistema, koji se sastoji od tri paralelno povezane ćelije, korišćene u procesu dekolorizacije: A) Gustina struje i gustina snage na eksternim otpornicima povezanim na MFC sistem; B) Kriva gustine snage za MFC sistem koji se koristi u elektrohemijском tretmanu RB5 (Adaptirano iz: Joksimović et al., 2022).

Slika 4.6. predstavlja performanse MFC sistema koji čine tri paralelno povezane MFC ćelije. Na osnovu svakodnevnih merenja, najveća zabeležena količina gustine struje iznosila je 276,05 mA/m³. Generisana struja je skoro pet puta viša, nego ona što su Tampa i koautori koristili u svojim eksperimentima za tretman otpadnih voda (Tampa et al., 2020). U nastavku, dalji eksperimenti su pokazali da je ova količina električne energije dovoljna za dekolorizaciju i degradaciju RB5 nakon samo 2 h. Da bi se proizvele veće količine električne energije neophodna je i postavka većih MFC sistema ili povećanje broja paralelno povezanih ćelija, što bi doprinelo da se ceo proces degradacije ubrza. Ne treba zaboraviti da je ovo besplatna energija koja se generiše i ne zahteva dodatna ulaganja (Jović et al., 2013, Kariyajjanavar et al., 2011).

Pre otpočinjanja procesa degradaciju boje, merene su vrednosti napona koji generiše MFC sistem, iz čega su potom obračunate vrednosti gustine struje i snage. Tokom elektrohemijske degradacije, merena je razlika potencijala između radne i platinaste elektrode, svakodnevno. Razlika potencijala je iznosila od 264 do 320 mV, što je pokazano u tabeli 4.4. Ovakvi rezultati odgovaraju dobijenim podacima koje su saopštili Dios i saradnici (De Dios et al., 2014, Kariyajjanavar et al., 2011). Proces dekolorizacije i degradacije rastvora boje od 25 mg/L RB5 sa 0,5 mM H₂O₂ pri razlici potencijala od 295 mV i gustini snage od 50 mW/m³, iznosio je čak 98%, što je u rangu sa jačinom MFC u drugim istraživanjima (Khalik et al., 2017). Vrednosti napona za svaku ćeliju ponaosob biće predstavljeni u tabeli 4.4. u delu optimizacije degradacije RB5 (4.3.2).

4.2. Analiza mikrobnih zajednica u sedimentima

4.2.1. Izolovanje i karakterizacija mikroorganizama

Iz kompozitnog sedimenta izolovane su i okarakterisane čiste kulture bakterija, zastupljenih u anodnom i katodnom delu MFC, pri čemu je pažnja bila usmerena na anaerobne bakterije. Sekvenciranjem 16s rRNA dobijene su sledeće konsenzusne sekvence:

>Consensus I

```
ACCAATTTGTTACCTTAGGCGGCTGGCTCCTTACGGTTACCCCCCGACTTCCGGTGT
TACAAACTCTCCTGGGGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGGCCCGAACGTATTCCCCC
```

GGCATGCTGATCCCCGATTACTAACGATTCCAGCTTCATGTAGGCCAATTGCAGCCTAC
AATCCGAACCTGGGAATGGGTTTATGGGATTGGGTCTACCTCCCGGGTTCCTCGACCCTTT
GTACCTTCCCTTTGTACCCGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGGGTGGAGAATTGGCC
GCCTCCCCACCTTCCCCCGGTTGGCACCGGGAATCCCCTTTAAAGTGCCAACCTTAAGG
GTGGCAACCTAAATTAAGGAAGGTTCCGCTTGCTGGACTTTTCCCCACAACACATCAC
CACAAGTTATGAACACCTAGGTGCACCACGTATTTTGTGTCCCCCGAGGGGGAAAAC
TCTATCAGGAGAGCGGAAAAGGACAACAAAATTAAGAGAGCTCTTCTTGGTTGGACTG
AAAAAGTATATTTTACATTGTTAGTGAGAACCTAAAAAATACAATTTAAATTTTCTCTT
CCCACCCAGCAACGAACCGGACAAAAAAGGAGTAATCAG

>Consensus II

TGGTATAGACAGTGGAATCCGCCGACCGAGGTATTTCCAATGGGGTGGCTGAAGCCCA
CAATGTTTGAGAGCACCACACTGCCCGCCACACATGTTCCGGGCCCTTGCATAAGTGG
CGCCGTACGACTAGGCGCTAATGATCGCTAAGGTTCGAAGTACATCCGCTCAACGTCGG
ATGTTAGGCTTGACTCTTGCCAAAATACTCTAATCGAGGTGGAGCGCCAGAACGTCTG
GGAAGGGGGGGTGTCTAATATCATGCACAGATCGAGCGAATGGATTGAGAGCTTGCTA
CTTAACTGAAGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGCCGTAACTGCCATAAG
ACTGGTTGAATAACTACCGTGACGCATACGACAACRTGAATGCATGGTTCGARATTGA
AAGGCTCGGCTTCGGCTGTCACCTTATGGATGGACCCTGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTG
AGGRAACGGCTCACCAAGGTCTCCAACGATGCGTAGCCGATTCTGAGAGGGTGTATCG
AAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAA
TCTTCCGCAATGGACGAAAGTCGGCATGACGGACAACGCCTCACGAGTGATGAAGGCT
TTCGGGTGCTAAAACCTCTGTTGTTAGGGAGAACGTGAAGTGCTAGTTGAATAAGCTG
GCACCTTGACGGTACCATAGACCAGGACAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTAATAC

>Consensus III

GCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCGTAGCCGA
CCTGAGAGGGTGTATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGATTCTACGGGAG
GCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGA
GTGATGAAGGTTTTCCGATCGTAAAACCTCTGTTGTCAGGGAAGAACAAAGTACCGGAGT
AACTGCCGGTACCTTGACGGTACCTGACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCA
GCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCG
CAGGCGGTTCCCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGGTCATTGG
AACTGGGGAACCTTGAGTGCAGAAGAGAAGAGTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAA
TGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTCTTTGGTCTGTAACCTGAC
GCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCC
GTAAACGATGAATGCTAAGTGTTAGAAGGTTTCCGCCCTTATAGTGCTGCAGCAAACGC
ATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTT
ACCAGGTCTTGACATCTCCTGACAACCCTAGAGATAGGGCGTTCCCCTTCGGGGGACA
GGATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAAAATGTTGGGTTAAGT
CCCGCAACGAGCGCAACCCTTGATCTTAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTAAGG
TGAAGTCCCGGTGACAAACCGGAAGGAAAGGTGGGGGATGACGTCAAATCATCATGGC
CCTTTATGACCTGGGGCTACCCCGTGCTAAAAGGGATGGTACAAAGGGCTGCAAAA
ACCGCA

>Consensus IV

AATTATGACGTTTTTTCGAATTGTAAAGCTTTTTTTTTTAGGGACGATAATGACGGTACCT
AAGGAGGAAGCCAGGGGTAACCTACGTCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGACAA

GCGTTGTCCGGATTTACTGGGCGTAAAGGGAGCGTAGGTGTATATTTAAGTGGGATGT
GAAATACCCGGGCTTAACCTGGGTGCTGCATTCCAAACTGGATATCTAGAGTGCAGGA
GAGGAAAGGAGAATTCCTAGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATTAGGAAGAATACC
AGTGGCGAAGGCGCCTTTCTGGACTGTAACCTGACACTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAG
CAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAATACTAGGTGTAGG
GGTTGTCATGACCTCTGTGCCGCCGCTAACGCATTAAGTATTCCGCCTGGGGAGTACG
GTCGCAAGATTA AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGCGGAGCATG
TGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCTAGACTTGACATCTCGTGAATTACT
CTGTAATGGAGGAAGCCACTTCGGTGGCAGGAAGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCA
GCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTT
GCTACCATTTAGTTGAGCACTCTAGCGAGACTGCCCGGGTTAACCGGGAGGAAGGTGG
GGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTCTAGGGCTACACACCTGCTACAATGGTC
GGTACAATGAGATGCAACCTCGCGAGAATGAGCAAACTATAAAAACCGATCTCAGGT
CGGATTGTAAGCTGAAACTCGCCTACATGAAGCTGGAGTTGCTAGTAATCGCGAATCA
GAAGGCCCGGGAAACCTTCCCGGCCTGTACCCCCCTCCCTTAAATTGCTACCCC
CATTTTGGGTTCCCGGGGGGGGCGCTTGGGGGGGGAGAGTGGGGGGGGGGGGGGCGTG
GGGGGGGGGGCCACCAAAAATAAAAAAAAAAAAAAAAAAGAAAAAAAAAAAAAAAA
AAAAGATAAGGGGTTCTTCTCGAGGTGTAGGGTGAAGTATAGTTTTTGTGTAGTAAA
ACACCTCGTCGACCCCCAGTGTAGCGGACCACAAAATAAAGTGGTATTAGAGCATGT
TATTTTGCGTAGTGTGATTGGACAAGCAGGCTACACACGTATCTCTTTGCTGACTGTT
ATATTTAATACTCCATCGACGATTGTAGTGCAGAGTTTGCGTGTTT

>Consensus V

TTTTTTTCTTCCCAAAAAACGGGGGGGGCCATAAAAAAGAAGAAAAAAAGGGTT
TTTCTTTTTTTGGGGGAGGGGGGAAAACGGTGAATTTCTTAAAGGGGGAAATTCCG
GAACCGGGGTAAAACCGGATAAAAAAGAAGAAGCATTCTTCTTTTTTAAAGTCGGT
TTCGGCTGACACTTACAGAAGAGCCCGCGGGGCCTTAGCTAGTTGGTGAAGTAACGGT
TCACCAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTG
AGACACGGCCCAGATTCTTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCGGCAATGGGCGA
AAGCCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGCGATGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGT
TGTTAGAGAAGAACAAGTACGAGAGTAACCTGCTCGTACCTTGACGGTACCTAACCGA
AAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATC
CGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTCTCTTAAGTCTGATGTGAAAGCCC
ACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAACTGGGAGACTTGAGTGCAGGAGAGAAAA
GTGGAATTCCACGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAACACCAGTGGCG
AAGGCGGCTTTTTGGCCTGTAACCTGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACA
GGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAGGTGTTGGGGGGTT
CCACCCTCAGTGCTGAAGTTAACACATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAA
GGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCAGTGGAGCATGTGGTTTA
ATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGA
TAGAGCTTTCCCTTCGGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCG
TGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGACCTTAGTTGCCA
GCATTCAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGA
TGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGA
TACAAAGGGTTGCGAAGCCGCCAGGCCAAGCCAATCCCAAAAAGTCATTCTCAGTTCC
GATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATTAACCGGAATTGCTAGTTATCGCGGATCAAC
ATGCCGCGGTGAATAAGTTCGGGGCCTTTCCCGCCGCTACCCCAAG

>Consensus VI

CATGCAGTCGAGCGAGGAAAGATAGCTTGCTATCAATCCTAGCGGCGGACGGGTGAGT
AACGCGTGGGTAACCTGCCCTATACACATGGATAACATACCGAAAGGTATGCTAATAC
AAGATAAAACATTGATAAGGCATCTTATTAATGTCAAAGATTTATCGGTATAGGATGG
GCCCCGCTCCCATTACTTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGACCACGATGGGTAG
CCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAAGTGGAGACACGGTCCAGACTCCTACGG
GAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCAACGCCGCG
TGAGCGATGAAGGCCTTCGGGTCGTAAAGCTCTGTCTCAAGGAAGAATATTGACGGT
ACTTGAGGAGGAAGCCCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGG
GCTAGCGTTATCCRGTAATTWSKAGGGYRTAWAGSGTGCCTWGGKKGTTTWWTMAC
GTCMGMGGTGAMAKGSTRCGRYCAACYGTAGTMASCCYTATGAAACTATARAACCT
GAGTGCMGGASAGGARAGTARAWTTCCCAGTGTASCGGTGAAATGCGTAGATATTTG
GGAGGAATACCAGTTGCGAAGGCGGCTTTTCTGGACTGTAAGTACACTGAGTGCACG
AAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGA
GTACTAGGTGTCCGGGGGTTACCCCCCTCGGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGTACTCCG
CCTGGGAAGTACGCTCGCAAGAGTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAA
GCAGCGGAGCATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCTAGGCTTGACA
TCCCTTAGACCGATTCTTAACCGAATCTTCCCTTCGGGGACTAAGGTGACAGGTGGTG
CATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAA
CCCCTATTTTATGTTGCCAGCATTTTCGGATGGGCACTCTAGAGAGACTGCCGAGGATA
ACTCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGCTTAGGGCTACA
CACGTGCTACAATGGCTAGTACAGAGGGCTGCGAGACCGCGAGGTGGAGCTAATCCCT
TAAAGCTAGTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGAAACTCGCCTACATGAAGCTGGAGTTG
CTAGTAATCGCGAATCAGAATGTCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCG
CCCCTCACACCACGGGAGTCGGGGGCACCCGAAGTCAGCTATCCAACCGCAAGGAGG
AAG

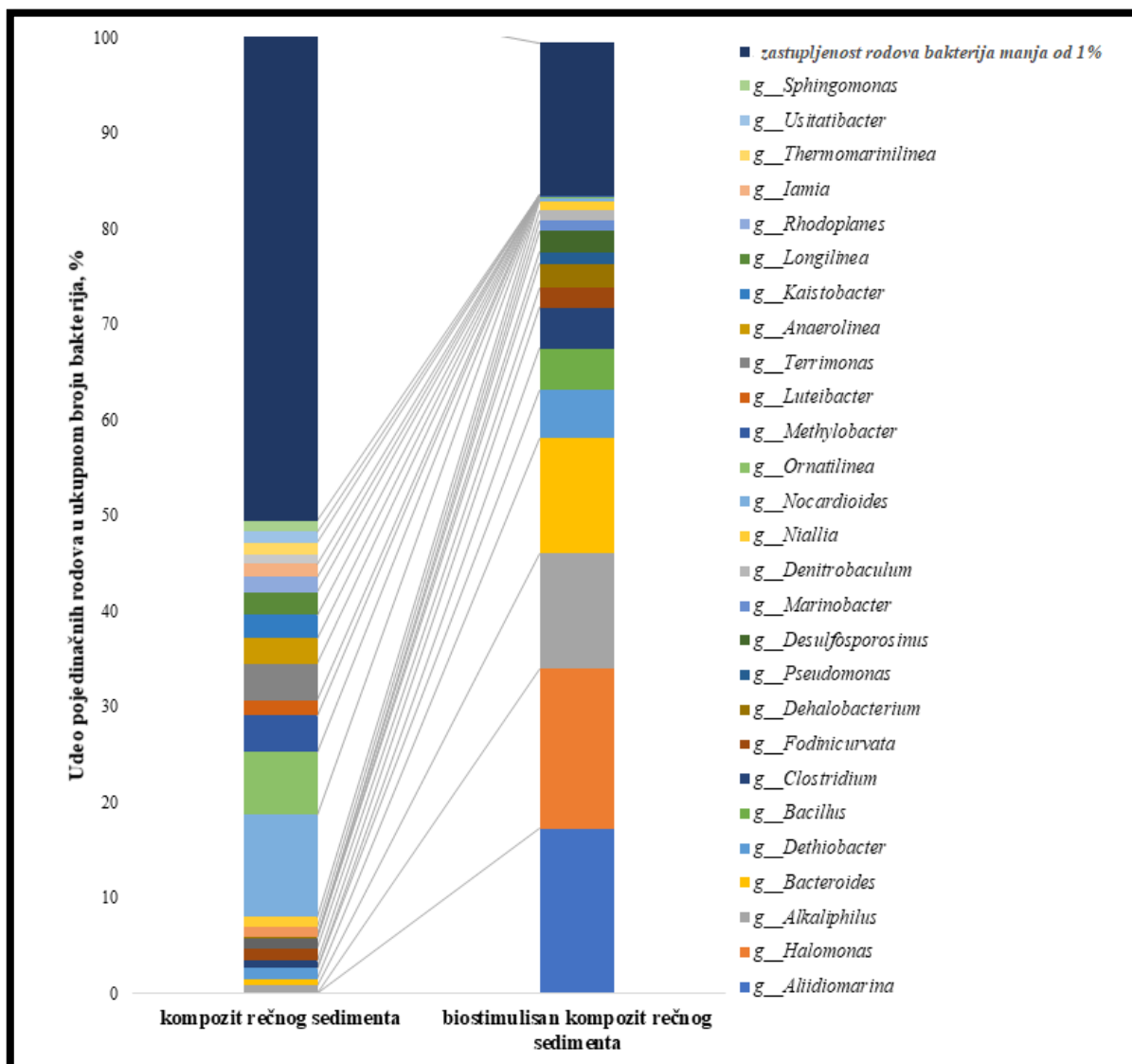
Poređenjem dobijenih sekvenci sa bazom podataka dobijeni mikroorganizmi pripadaju rodovima *Clostridium*, *Bacillus* i *Tepidibacter*. Prema dostupnoj literaturi, upravo ove grupe mikroorganizama imaju najveći doprinos u MFC sistemima. Rodovi *Clostridium* (Abbas et al., 2019) *Bacillus* (Liu et al., 2017) i *Tepidibacter* (Li, Neelson, 2015) omogućavaju transfer ekstracelularnih elektrona bez posrednika (Guo et al., 2019, Xu et al 2019). Među izolovanim sojevima, *Clostridium* se pokazao kao najbolji izbor u MFC sistemima za proizvodnju električne energije i najveće snage.

Tabela 4.3. Molekularna identifikacija na osnovu sekvenciranja 16s rRNK izolovanih bakterijskih sojeva iz rečnog sedimenta

Oznaka konsenzusne sekvence	Identifikacija	Identifikacioni broj u NCBI bazi podataka	Procenat sličnosti, %	Dužina sekvence, bazni parovi
I	<i>Bacillus marasmi</i>	NR_147397.1	86,76	624
II	<i>Bacillus thuringiensis</i>	NR_043403.1	88,58	763
III	<i>Cytobacillus firmus</i>	NR_112635.1	98,08	1044
IV	<i>Clostridium butyricum</i>	NR_113244.1	97,50	1320
V	<i>Fictibacillus phosphorivorans</i>	NR_118455.1	98,41	1375
VI	<i>Tepidibacter mesophilus</i>	NR_108539.1	91,58	1387

4.2.2. Metagenomska analiza sedimenta

Metagenomska analiza je korišćena da bi se utvrdile razlike u sastavu zajednice mikroorganizama u kompozitu rečnog sedimenta, koji je služio za formiranje MFC_I, kao i u biostimulisanom kompozitu rečnog sedimenta, koji se koristio prilikom formiranja MFC_{II}. Pored čistih bakterijskih kultura opisanih u poglavlju 4.2.1., metagenomskom analizom poređena su dva sedimenta i detektovane su vrste koje nije uvek moguće izolovati u laboratorijskim uslovima. Uzorak rečnog sedimenta ima veliki diverzitet, više od 50% identifikovanih rodova je zastupljeno sa manje od 1%. Ostatak prisutnih rodova činili su *Nocardioides* (10,7%), *Ornatilinea* (6,6%), *Terrimonas* (3,9%), *Methylobacter* (3,8%), *Anaerolinea* (2,7%), *Kaistobacter* (2,4%), *Longilinea* (2,3%), *Rhodoplanes* (1,6%), *Luteibacter* (1,6%), *Iamia* (1,4%), *Fodinicurvata* (1,3%) i *Dethiobacter* (1,1%) kao najzastupljeniji. U biostimulisanom sedimentu, odnos mikroorganizama je nešto drugačiji u odnosu na polazni sediment. U čak 84% opisanih mikroorganizama našli su se *Aliidiomarina* (17,2%), *Halomonas* (16,7%), *Alkaliphilus* (12%), *Bacteroides* (12%), *Dethiobacter* (5%), *Bacillus* (4,4%), *Clostridium* (4,3%), *Dehalobacterium* (2,6%), *Fodinicurvata* (2%), *Pseudomonas* (1,2%), *Desulfosporosinus* (1,1%), *Marinobacter* (1,1%), *Desulfosporosinus* (1,1%) i *Denitrobaculum* (1,1%). Poklapanja između dva sedimenta se uočavaju i na slici 4.7., ali je više nego očigledno veće prisustvo biostimulisanih mikroorganizama. Dominantan tip kod oba sedimenta je tip *Proteobacteria* sa 39,6% zastupljenosti kod biostimulisanog sedimenta i 12,87% kod kompozita rečnog sedimenta. U nativnom sedimentu posle tipa *Proteobacteria*, potvrđeno je još prisustvo *Actinobacteria* (12,18%), *Chloroflexi* (10,55%), *Bacteroidetes* (3,88%) i *Firmicutes* (3,84%). Povećano prisustvo tipa *Chloroflexi* obezbeđuje nedostatak elektrona tako što proizvodi vodonik koji je neophodan za proizvodnju energije (Wang et al., 2019). Kod biosimulisanog sedimenta uočava se povećana zastupljenost bakterijskih tipova *Firmicutes* (33,33%) i *Bacteroidetes* (10,65%), dok je tip *Actinobacteria* (0,26%) najmanjem procentu prisutan. U svojim nezavisnim studijama, Cao, Xu i Zhao sa saradnicima prijavili su sličan odnos dominantnih tipova egzoelektrogenih bakterija, što pokazuje da upravo oni igraju važnu ulogu prilikom prenosa elektrona u prirodnom okruženju koji je doprineo dobrim performansama MFC ćelije (Cao et al., 2019, Xu et al., 2018, Zhao et al., 2018).

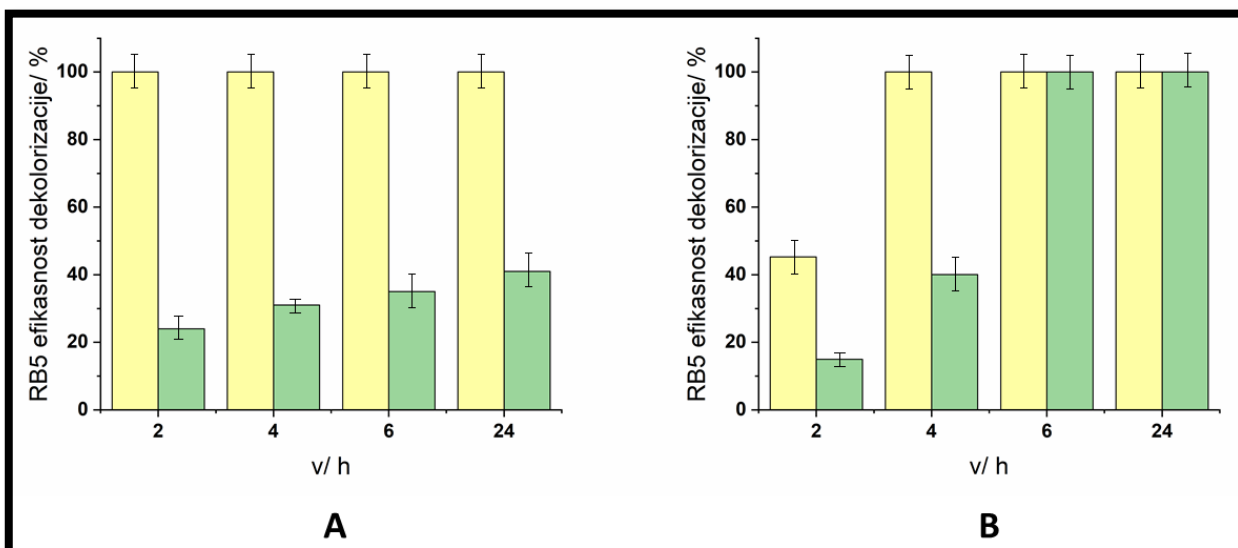


Slika 4.7. Metagenomska analiza nativnog kompozita i biostimulisanog kompozita rečnog sedimenta upotrebljenih za formiranje MFC.

4.3. Dekolorizacija i degradacija azo boje RB5

4.3.1. Dekolorizacija različitih koncentracija boje RB5

Za ispitivanje efikasnosti dekolozacije korišćene su različite koncentracije RB5 od 25 i 50 mg/L. Svi eksperimenti su izvođeni pri istim uslovima u okviru eksperimentalne greške. Međutim, kako se u našem slučaju radi o heterogenoj katalizi, usled nehomogenosti raspodele čestica gvožđa i magnetita na aktivnoj površini elektrode, može doći i do povremenih promena u katalitičkoj aktivnosti elektrode.



Slika 4.8. Efikasnost dekolorizacije različitih koncentracija RB5 boje, predstavljenih po bojama žuta 25 mg/L i zelena 50 mg/L, sa koncentracijama H_2O_2 : A) 0,5 mM H_2O_2 i B) 1 mM H_2O_2 (Adaptirano iz: Joksimović et al., 2022).

Koncentracija boje od 25 mg/L se za naše elektrohemijske degradacije pokazala kao idealan model sistem za varijacije sa peroksidom. Sa 0,5 mM H_2O_2 došlo je do dekolorizacije od 98% nakon svega 2 h. Kod primene 1 mM H_2O_2 , trebalo je 4 h kako bi se se dekolorizovalo 93% boje RB5. Uspešnu potvrdu dekolorizacije 25 mg/L boje RB5 od preko 90% pokazali su i ostali istraživači, Dafale, El-Dein, Kansal i drugi (Dafale et al., 2008, El-Dein et al., 2003, Kansal et al., 2009). Dosta dobar rezultat pokazan je i na rastvoru boje od 50 mg/L sa 1 mM H_2O_2 , gde nakon 6 h se dobija 97,8% dekolorizovane RB5. Ovakav rezultat je u saglasnosti sa ostalim istraživanjima (Saba et al., 2018). Na osnovu rezultata i grafičkog prikaza na slici 4.8. vidimo da je sa 25 mg/L boje kod obe varijante peroksida u najkraćem vremenskom intervalu postignuta najveća dekolorizacija. Ovi preliminarni rezultati su pokazali da je za dalju optimizaciju dekolorizacije i degradacije najbolje raditi sa koncentracijom RB5 boje od 25 mg/L.

4.3.2. Optimizacija dekolorizacije RB5 sa varijacijama u koncentraciji peroksida

Rastvor boje od 25 mg/L RB5, sa različitim koncentracijama H_2O_2 (0,5-10 mM) elektrohemijski je tretiran sa MFC kao izvorom struje. Kontrola je predstavljala identičan rastvor boje i peroksida koji ne podleže tretmanu. Procenti dekolorizacije su prikazani u tabeli 4.4.

Tabela 4.4. Izmereni naponi kod rastvora RB5 prilikom elektrohemijske dekolorizacije i procenat dekolorizacije nakon 2, 4 i 6 h, u prisustvu različitih koncentracija H₂O₂.

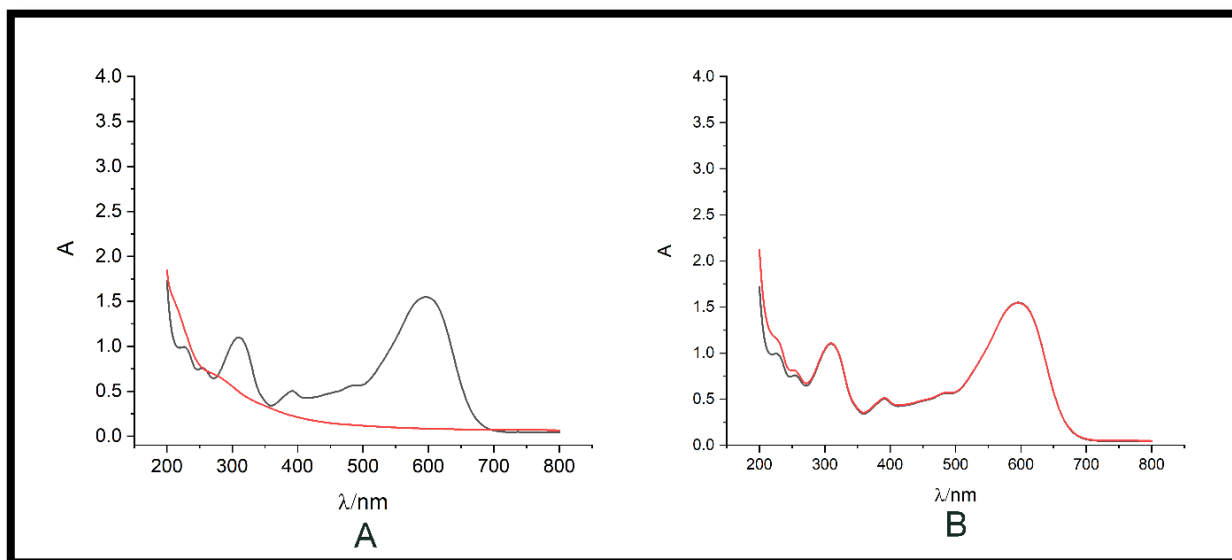
		Procenat dekolorizacije, %		
	Izmereni srednji napon, mV	2 h	4 h	6 h
25 mg/L RB5 sa 0.5 mM H ₂ O ₂	± 295	98,0	/	/
Kontrola		0,8	1,9	/
25 mg/L RB5 sa 1 mM H ₂ O ₂	± 264	87,7	93,3	/
Kontrola		0,5	1,3	3,6
25 mg/L RB5 sa 3 mM H ₂ O ₂	± 289	28,6	49,5	96,9
Kontrola		5,2	6,1	8,9
25 mg/L RB5 sa 5 mM H ₂ O ₂	± 309	37,5	74,8	85,9
Kontrola		2,9	6,5	7,3
25 mg/L RB5 sa 7 mM H ₂ O ₂	± 320	8,0	9,7	30,7
Kontrola		2,8	6,5	7,3
25 mg/L RB5 sa 10 mM H ₂ O ₂	± 305	25,2	38,1	35,5
Kontrola		16,2	29,7	39,9

Najveća vrednost postignuta je sa svega 0,5 mM H₂O₂ za izuzetno kratko vreme. Nešto slabiji rezultati su dobijeni sa 1 i sa 3 mM H₂O₂, gde je za 4 h, odnosno 6 h od početka tretmana dekolorizovano 93% i 97% RB5 boje. Tretiranjem boje i 5 mM H₂O₂, dobija se 85% dekolorizacije nakon 6 h. Slične rezultate prikazali su i drugi istraživači, sa dužim vremenskim tretmanom (Al-Tohamy et al., 2020). Najslabiji procenti dekolorizacije (30 i 35%) su dobijeni sa 7 i 10 mM H₂O₂. Ovakav rezultat potvrđuje bolju efikasnost kod uklanjanja boje RB5 sa niskom koncentracijom H₂O₂ (Bai et al., 2020, Yonus et al., 2020). Prisustvo veće koncentracije H₂O₂ dovodi do sporednih reakcija koje smanjuju količinu dostupnog [•]OH radikala a samim tim i njihove manje raspoloživosti za reakciju sa bojom (Li et al., 2006). Kod više koncentracije boje, postojeći radikali se dosta brže troše, a stvaranje novih je usporeno (Zhong et al., 2011), pa kod takvih koncentracija RB5 potrebne su ipak više koncentracije H₂O₂, što se i vidi sa slike 4.8 kod koncentracije od 50 mg/L nakon dva sata. Nakon 4 sata je već generisano dovoljno za potpunu dekolorizaciju.

4.3.3. Analiza degradacionih proizvoda boje RB5

4.3.3.1. Rezultati UV/VIS spektrofotometrije

Za potvrdu degradacije boje korišćene su analitičke metode. Prva od njih podrazumevala je snimanje UV/VIS apsorbanse RB5 boje u opsegu od 200 do 800 nm. Talasna dužina na kojoj je praćena promena odgovara maksimumu od 590 nm (Dojčinović et al., 2011) Izabran je rastvor boje, gde je pokazana najveća degradacija, od 25 mg/L i 0,5 mM H₂O₂. Merena je promena apsorbanse na početku (0 h) i nakon što je primećeno da je došlo do potpunog obezbojavanja rastvora, 2 h od početka tretmana. Istovremeno je sniman spektar i kontrolnog uzorka, netretiran rastvor boje i peroksida.



Slika 4.9. A) UV/VIS apsorpcioni spektri inicijalne boje RB5 boje (crna linija) i proizvoda dekolorizacije (crvena linija) RB5 + 0,5 mM H₂O₂ nakon 2 h elektrohemijske degradacije, pomoću struje iz MFC sistema, B) UV/VIS apsorpcioni spektri kontrole, rastvora boje RB5 (crna linija) i boje RB5 sa 0,5 mM bez elektrohemijskog tretmana (crvena linija) (Adaptirano iz: Joksimović et al., 2022).

UV/VIS spektar inicijalne boje (RB5, 25 mg/L + 0,5 mM H₂O₂) nakon 2 h bez uključivanja MFC i nakon 2 h tretmana pod uobičajenim uslovima pri uključenom MFC su prikazani na slici 4.9. A. Uticaj vodonik-peroksida na boju, prikazan na 4.9. B slici, pokazuje da nema značajne razlike u spektrima na početku i nakon 2 h od postavke eksperimenta. Pik na 590 nm potiče od konjugovanih aromatičnih prstenova koji sadrže -N=N- vezu (Al-Tohamy et al., 2020), koja predstavlja karakterističnu odliku svake azo boje ponaosob (Noradin et al., 2017). Raskidanjem -N=N- veze, koju izazivaju [•]OH radikali, dolazi do gubitka boje rastvora. Na slici 4.7. je očigledno smanjenje apsorbanse RB5 boje na 590 nm nakon 2 h, što je i vizuelno potvrđeno, slika 4.10.

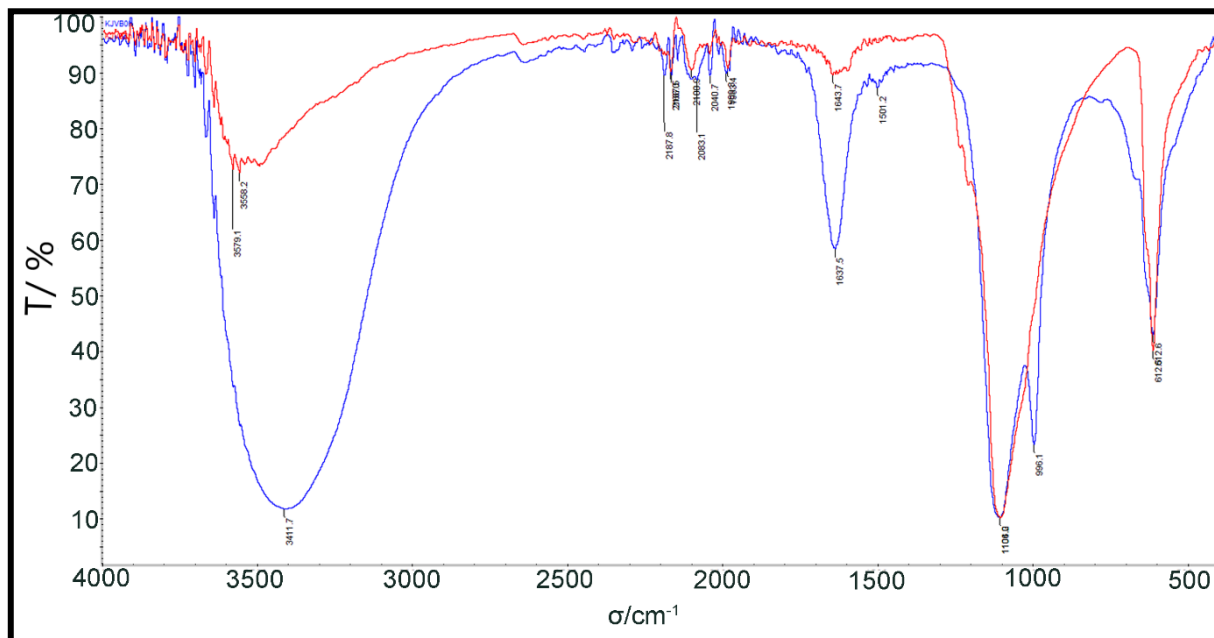


Slika 4.10. Promena boje nakon elektrohemijske dekolorizacije RB5 25 mg/L + 0,5 mM H₂O₂, nakon 2 h tretmana.

Takođe, na priloženom spektru boje, možemo zapaziti pik u oblasti između 200-300 nm, koji potiče od prisustva manjih molekula (amina, ftalne kiseline, benzenovog prstena i drugih), gde takođe dolazi do smanjenja intenziteta pika, ali nakon dužeg elektrohemijskog tretiranja rastvora boje (Asad et al., 2007, Bheemaraddi et al., 2014). Predložen mehanizam degradacije boje je prikazan na slici 4.12. Evidentno je da, struja primenjenja iz MFC sistema ima stimulativan efekat na dekolorizaciju RB5, što je u skladu sa drugim istraživanjima (Lucas, Peres, 2006).

4.3.3.2. FTIR analiza degradovane RB5 boje

Za potvrdu degradacije RB5 boje, pored UV/VIS spektrofotometrije, rađena je FTIR analiza inicijalne boje od 25 mg/L RB5 i njenog rastvora nakon elektrohemijskog tretmana. IR spektri ova dva proizvoda su poređeni i prikazani na slici 4.11.



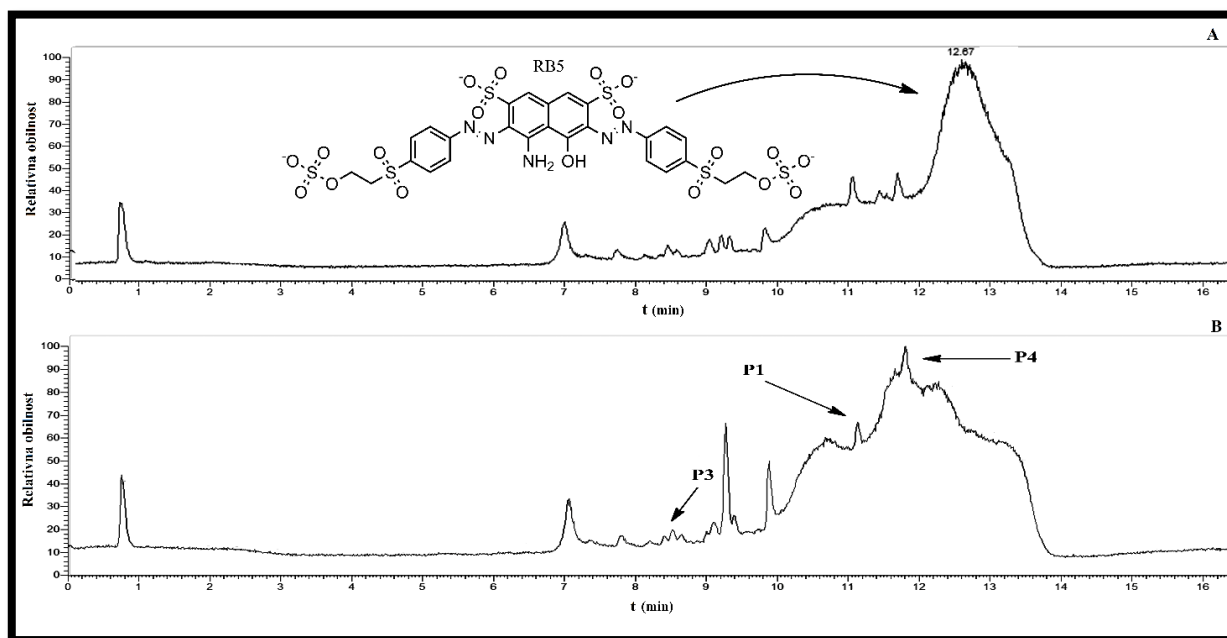
Slika 4.11. FT-IR spektr rastvora RB5 boje, pre početka elektrohemijske degradacije (plava boja) i nakon 2 h tretmana (crvena boja) (Adaptirano iz: Joksimović et al., 2022).

Najveća razlika u snimljenim spektrima se zapaža u intenzitetu traka, prikazanih kod originalne boje RB5, koje su nakon tretmana dosta umanjene. Fisija aromatičnih prstenova, potvrđena je smanjenim intenzitetom i gubitkom pikova u niskofrekventnom području od 620-850 cm^{-1} (Al-Tohamy et al., 2020). Spektr boje RB5 je imao uočljivu traku na oko 3400 cm^{-1} , koja potiče od -NH vibracija. Signal za C-C valentne vibracione strukture benzena je blago pomeren na 1637 cm^{-1} , što je pokazano u drugim istraživanjima (Gahlout et al., 2013), a nakon elektrohemijskog tretmana od 2 h, intenzitet ovog pika je smanjen. Pikovi niskog intenziteta, koji potiču od -N=N- veza na 1500 cm^{-1} i 1000 cm^{-1} koji potiču od -C-O- valentnih vibracija, nakon tretmana nestaju. Ovo predstavlja potvrdu da je došlo do razgradnje upravo tih veza kod same boje. Dva pika, na 1100 i 600 cm^{-1} , koji potiču od C-H, odnosno -NH vibracija, zapažaju se i posle degradacije, što je u skladu sa rezultatima koje su prikazali Noex, Bilal i saradnici (Bilal et al., 2017, Neoh et al., 2015).

4.3.3.3. HPLC analiza degradovane RB5 boje

HPLC analiza rastvora boje RB5 (25 mg/L) je prikazana na hromatogramu slika 4.12A, dok je hromatogram degradovanog proizvoda (25 mg/L + 0,5 mM H_2O_2 nakon 2 h) prikazan na slici 4.12 B. Na inicijalnom uzorku rastvora boje, primećuje se glavni pik sa retencionom vremenom od 12,67 minuta, što odgovara retencionom vremenu za RB5. Nakon elektrohemijskog tretmana, usled posledica degradacije, glavni pik boje se razlaže i prostire na hromatogramu u rasponu od 11,11 do

13,34 minuta. Nestanak prvobitnog glavnog pika i pojava novih u različitim vremenskim zadržavanjima ukazuje na to da je došlo do novih proizvoda degradacije RB5.



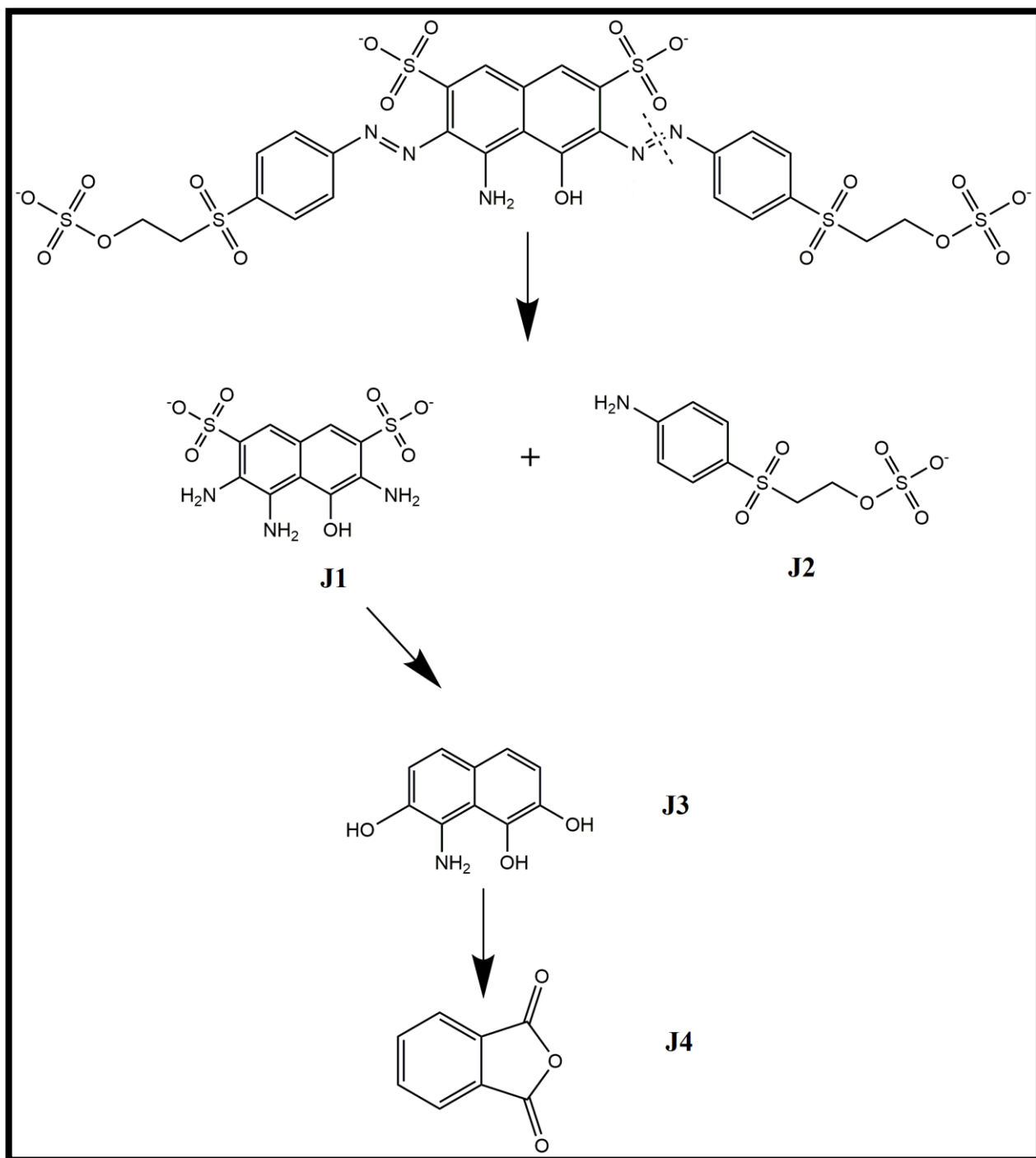
Slika 4.12. HPLC spektar: A) 25 mg/L rastvora RB5 boje na početku i B) spektar RB5 boje nakon 2 h elektrohemijskog tretmana (Adaptirano iz: Joksimović et al., 2022).

Na osnovu podataka prikupljenih HPLC-MS/MS analizom, pokazano je da prvo dolazi do razlaganja -N=N- veze kod RB5 boje. Daljim raspadom, dolazi do stvaranja nekoliko poluproizvoda koji su takođe pronađeni na osnovu fragmentacije i dobijenih vrednosti m/z. Vrednosti su prikazane u tabeli 4.5., dok je mehanizam same degradacije RB5 boje predložen na slici 4.13.

Tabela 4.5. Identifikovani proizvodi degradacije RB5 na osnovu opisanih analitičkih metoda.

Naziv jedinjenja	Retenciono vreme	Molekulska težina
J1 3, 4, 6-triamino-5-hidroksinaftalen-2,7-disulfonat	11,14	348
J2 2-(4-aminofenil)sulfoniletlen hidrogen sulfat	/	280
J3 8-aminonaftalen-1,2,7-triol	8,52	191
J4 2-benzofuran-1,3-dione	11,81	150

Razlaganjem azo veze (-N=N-) kod RB5 došlo je do formiranja hidroksinaftalen-2,7-disulfonata (J1) i 2-(4-aminofenil)sulfoniletlen vodonik sulfata (J2). Daljom degradacijom J1 nastao je 8-aminonaftalen-1,2,7-triol (J3), a kao konačni proizvod razgradnje nastao je 2-benzofuran-1,3-dion (J4). Retenciono vreme za jedinjenje J2 nije otkriveno, ali prema El Bouraieu i El Dinu, ono je takođe deo puta degradacije RB5 (El Bouraie, El Din, 2006).



Slika 4.13. Predloženi mehanizam degradacije RB5 boje elektrohemijским tretmanom pomoću struje generisane iz MFC sistema (Adaptirano iz: Joksimović et al., 2022).

Primećeno je da, tokom degradacije boje dolazi do formiranja fragmentiranih jedinjenja koja ne poseduju nikakve hromofore kao što su azo veze i samim tim dolazi do gubitka boje (slika 4.10.), što je u skladu sa prethodnim studijama Bilala (Bilal et al., 2017) i El Bouraie i El Dina (El Bouraie, El Din, 2006).

4.3.3.4. Uticaj boje RB5 i njenih degradacionih produkata na *Aliivibrio fischeri*

Ekotoksičnost RB5 i njegovih proizvoda razgradnje dobijenih u ovoj studiji, ispitivani su na bakterijskom modelu, *Aliivibrio fischeri*, da bi se procenilo da li je boja nakon tretmana strujom dobijenom pomoću MFC manje toksična od originalnog rastvora boje. Toksičnost je ispitivana na dekolorizovanom uzorku boje RB5 + 3 mM H₂O₂ i pripremljenoj bakterijskoj suspenziji. Rezultati su izraženi kao EC₅₀ i dati su u tabeli 4.6.

Tabela 4.6. EC₅₀ vrednosti i njihovi odgovarajući intervali od 95% pouzdanosti nakon 15 minuta izlaganja *A. fisheri* RB5 boji koncentracije 25 mg/L sa 3 mM H₂O₂ i produkata razgradnje dobijenih nakon 2, 4 i 6 sati elektrohemijskog tretmana RB5 boje. (*EC₅₀ vrednosti su izražene kao procenat razblaženja početnog uzorka).

Degradacioni model	EC ₅₀ , %*
RB5 (25 mg/L+ 3 mM H ₂ O ₂)	44,58 (42,81-46,35)
RB5 (25 mg/L + 3 mM H ₂ O ₂) nakon 2 h degradacije	33,39 (25,53-41,25)
RB5 (25 mg/L + 3 mM H ₂ O ₂) nakon 4 h degradacije	56,52 (49,21-63,82)
RB5 (25 mg/L + 3 mM H ₂ O ₂) nakon 6 h degradacije	57,03 (52,23-61,84)

Toksičnost boje nakon 2 h razgradnje bila je nešto veća od one kod početnog jedinjenja, RB5. Posle 4 h elektrohemijskog tretmana, dobijeni rastvori su slične toksičnosti kao i inicijalni rastvor boje, dok su proizvodi degradacije posle 6 h nešto manje toksični od početne boje RB5. Ovo ukazuje da se razgradnja dešava postepeno, sa malo toksičnijim intermedijerima koji se formiraju u početku, nakon čega sledi dalja transformacija u manje toksična jedinjenja. Rehorek je izvestio da koncentracija H₂O₂, koja je korišćena u trenutnoj studiji za razgradnju boje, nije bila toksična za sličan bakterijski test u kojem se takođe koristi *Aliivibrio fischeri* (Rehorek et al., 2004). Slične izveštaje o netoksičnim proizvodima razgradnje boje potvrdili su Bilal i saradnici (Bilal et al., 2017) kao i Marković i saradnici (Marković et al., 2014).

5. Zaključci

U okviru ove doktorske teze ispitivana je elektrohemijska degradacija organske reaktivne azo boje, Reactive black 5, pri čemu je napajanje elektroda sprovedeno pomoću električne energije koju je generisao MFC sistem. Kao supstrat za pravljenje ćelija koje čine MFC sistem korišćen je sediment sa ušća reke Save u Dunav, bogat organskom supstancom.

Prvi deo eksperimenata je posvećen ispitivanju fizičko-hemijskih i mikrobioloških karakteristika samog sedimenta, ali i napona, gustine struje i snage formirane MFC. U daljem eksperimentalnom radu sediment je izmenjen, odnosno biostimulisan mikroorganizama koji su tu zastupljeni, ali i kombinovano biostimulisan i bioaugmentisan u cilju dobijanja MFC sistema sa najboljim karakteristikama. Nakon što je utvrđeno koja MFC daje najbolje performanse, postavljene su tri paralelno vezane optimizovane MFC koje su upotrebljene za degradaciju same boje.

U drugoj seriji eksperimenata su izolovani i okarakterisani dominantni bakterijski rodovi koji omogućavaju degradaciju prisutne organske materije u samom sedimentu. Metagenomskom analizom utvrđen je sastav zajednice mikroorganizama u korišćenom sedimentu, kao i onom koji je dodatno biostimulisan.

Treći deo rada je posvećen degradaciji azo boje i praćenjem degradacionih proizvoda upotrebom UV/VIS, FTIR, HPLC-MS tehnika. Ekotoksikološkom analizom, dobijeni degradacioni proizvodi su testirani na model sistemu *Aliivibrio fischeri*, kako bi se procenilo da li dolazi do smanjenja toksičnosti dobijenih proizvoda u odnosu na samu boju.

Na osnovu sprovedenih eksperimenata i dobijenih rezultata, može se zaključiti sledeće:

- Kompozit sedimenta je okarakterisan sa umerenim sadržajem organskog ugljenika, praćen bogatim izvorom azota;
- Koncentracija teških metala je u okviru propisanih graničnih vrednosti, sem nikla i kobalta, koji su malo iznad dozvoljene koncentracije;
- Broj zastupljenih različitih vrsta mikroorganizama je prisutan u velikom broju (od 10^4 do 10^5 CFU/mL). Upravo ovakav odnos mikroorganizama doprinosi sveukupnoj aktivnosti MFC sistema;
- Kod kontrolne MFC₀ zabeležen je napon od 25,3 mV, gustina struje od 0,93 mA/m³ i gustina snage od 0,004 mW/m³;
- Ćelija MFC_I sa kompozitom rečnog sedimenta je generisala najveći napon drugog dana, od 261 mV, gustinu struje od 145 mA/m³ i gustinu snage od 4,25 mW/m³;
- Maksimalne vrednosti kod biostimulisane MFC_{II} solima sulfata i karbonata, zabeležene su osmog dana sa vrednostima napona od 480 mV, gustinom struje od 241 mA/m³ i gustinom snage od 10,6 mW/m³;
- Ćelija MFC_{III}, koja je biostimulisana i bioaugmentisana dodatkom izolovanog konzorcijuma mikroorganizama iz rečnog sedimenta, desetog dana je pokazala najveće vrednosti napona od 521 mV, mV, gustinu struje od 192 mA/m³ i gustinu snage od 8,80 mW/m³;
- Najveće vrednosti napona su zabeležene kod MFC_{III}, ali kako je MFC_{II} postigla bolje performanse u pogledu gustine struje i snage, ova MFC je odabrana za dalju postavku sistema koji je služio za degradaciju boje;
- Sistem formiran od tri paralelno povezane MFC_{II} ćelije je generisao gustinu struje od 276,05 mA/m³ i napon u rasponu od 264-320 mV;
- Među izolovanim i okarakterisanim bakterijama javljaju se tri dominantna predstavnika, rodovi *Clostridium*, *Bacillus* i *Tepidibacter*, koja upravo i doprinose najboljim performansama MFC sistema;
- Metagenomskom analizom izdvojeno je oko 45% dominantnih vrsta mikroorganizama u kompozitu rečnog sedimenta i oko 84% u biostimulisanom sedimentu. U kompozitu rečnog sedimenta pronađeni su tipovi *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Chloroflexi*, *Bacteroidetes* i *Firmicutes*. Među njima su rodovi: *Nocardioides*, *Ornatilinea*, *Terrimonas*, *Methylobacter*,

Anaerolinea, *Kaistobacter*, *Longilinea*, *Rhodoplanes*, *Luteibacter*, *Iamia*, *Fodinicurvata* i *Dethiobacter*. Kod biostimulisanog rečnog sedimenta pored tipa *Proteobacteria* kao preovlađujućeg, nalaze se i *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Actinobacteria*, uključujući rodove: *Aliidiomarina*, *Halomonas*, *Alkaliphilus*, *Bacteroides*, *Dethiobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Dehalobacterium*, *Fodinicurvata*, *Pseudomonas*, *Desulfosporosinus*, *Marinobacter*, *Desulfosporosinus* i *Denitrobaculum*.

- Ispitivane su koncentracije azo boje (RB5) od 25 i 50 mg/L pri elektrohemijskoj dekolorizaciji, u kombinaciji sa 0,5 i 1 mM vodonik-peroksida. Najbolje vrednosti od 100% dekolorizacije su zabeležene upravo sa bojom koncentracije od 25 mg, nakon dva sata od početka tretmana u prisustvu 0,5 mM peroksida i nakon 4 sata sa 1 mM vodonik-peroksida;
- Optimizacija degradacije boje RB5 od 25 mg/L, ispitivana je sa koncentracijama peroksida od 0,5, 1, 3, 5, 7 i 10 mM;
- Najbolju degradaciju pokazuje boja sa 0,5 mM H₂O₂ (98%), zatim sa 1 mM H₂O₂ (93%), 3 mM H₂O₂ (96,9%) i sa 5 mM H₂O₂ (85,9%), pri naponima od 295 mV, 264 mV, 289 mV i 309 mV. Nešto slabiju degradaciju su pokazale boje sa 7 mM i 10 Mm H₂O₂ (30,7% i 39,9%), gde je zabeležen napon od 320 mV i 305 mV.
- Na osnovu poređenja koncentracija peroksida, može se zaključiti da je najbolja efikasnost dekolorizacije boje upravo sa najmanjim koncentracijama vodonik-peroksida, zbog idealnog odnosa trošenja i stvaranja hidroksilnih radikala koji reaguju sa RB5 bojom;
- Dekolorizacija RB5 boje potvrđena je vizuelno, a zatim i njena degradacija upotrebom analitičkih metoda: UV/VIS, FTIR i HPLC-MS;
- Ekotoksikološka analiza pomoću *Aliivibrio fischeri* je pokazala da manju toksičnost poseduju proizvodi degradacije nakon 4 i 6 sati od tretmana boje RB5 (EC₅₀ 56,52 i 57,03 %), dok nastali degradacioni proizvodi nakon 2 sata (EC₅₀ 33,39%) imaju veću toksičnu vrednost čak i u odnosu na inicijalni rastvor boje (EC₅₀ 44,58).

6. Literatura

- Abbas, S.Z., Rafatullah, M., Ismail, N., Shakoori, F. (2018) Electrochemistry and microbiology of microbial fuel cells treating marine sediments polluted with heavy metals. *RCS Adv.* **8**, 18800-18813. <https://doi.org/10.1039/C8RA01711E>.
- Abbas, S.Z., Rafatullah, M., Khan, M.A., Siddiqui, M.R. (2019) Bioremediation and electricity generation by using open and closed sediment microbial fuel cells. *Front. Microbiol.* **9**, 3348. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03348>.
- Ajaz, M., Shakeel, S., Rehman, A. (2020) Microbial use for azo dye degradation—a strategy for dye bioremediation. *Int. Microbiol.* **23**, 149–159. <https://doi.org/10.1007/s10123-019-00103-2>
- Alipanahi, R., Rahimnejad, M. (2018) Effect of different ecosystems on generated power in sediment microbial fuel cell. *Int. J. Energ. Res.* **48**, 4891-4897. <https://doi.org/10.1002/er.4199>
- Al-Tohamy, R., Sun, J., Fereed, M.F., Kenewy, E., Ali, S. (2020) Ecofriendly biodegradation of Reactive Black 5 by newly isolated *Sterigmatomyces halophilus* SSA1575, valued for textile azo dye wastewater processing and detoxification. *Sci. Rep.* **10**, 12370. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69304-4>
- Angelov, A., Bratkova, S., Loukanov, A. (2013) Microbial fuel cell based on electroactive sulphate-reducing biofilm. *Energ. Convers. Manage.* **67**, 283-286. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2012.11.024>.
- Arends, J. B.A., Van Denhouwe, S., Verstraete, W., Boon, N., Rabaey, K. (2014) Enhanced disinfection of wastewater by combining wetland treatment with bioelectrochemical H₂O₂ production. *Bioresour. Technol.* **155**, 352-358. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.12.05>
- Asad, S., Amoozegar, M.A., Pourbabae, A.A., Sarbolouki, M.N., Dastgheib, S.M.M. (2007) Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria. *Bioresour. Technol.* **98**, 2082–2088. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.08.020>
- Ayele, A., Getachew, D., Kamaraj, M., Suresh, A. (2021) Phycoremediation of synthetic dyes: An effective and eco-friendly algal technology for the dye abatement. *J. Chem-NY.* **2021**, 9923643. <https://doi.org/10.1155/2021/9923643>
- Bai, H., Chen, J., Wang, Z., Wang, L., Lamy, E. (2020) Simultaneous removal of organic dyes from aqueous solutions by renewable alginate hybridized with graphene oxide. *J. Chem. Eng. Data*, **65** (9), 4443-4451. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jced.0c00277>
- Bheemaraddi, M.C, Patil, S., Shivannavar, C.T, Gaddad, S.M. (2014) Isolation and characterization of *Paracoccus sp.* GSM2 capable of degrading textile azo dye Reactive Violet 5. *Sci. World J.* **2014**, 410704. <https://doi.org/10.1155/2014/410704>
- Benkhaya, S., M'rabet, S., El Harfi, A. (2020) Classifications, properties, recent synthesis and applications of azo dyes. *Heliyon*, **6**, 1-26. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03271>
- Bennetto, H. P. (1990) Electricity generation by microorganisms. *Biotechnology education*, **1** (4), 163-168. <https://www.ncbe.reading.ac.uk/wp-content/uploads/sites/16/2021/09/bennetto.pdf>
- Beškoski, V. P., Milić, J., Mandić, B., Takić, M., Vrvic, M. M. (2008) Removal of organically bound sulfur from oil shale by iron (III)-ion generated–regenerated from pyrite by the action of *Acidithiobacillus ferrooxidans*—Research on a model system. *Hydrometallurgy*, **94** (1-4), 8-13. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2008.05.015>

- Bilal, M., Rasheed, T., Iqbal, H.M.N., Hu, H., Wang, W., Zhang, X. (2017) Toxicological assessment and UV/TiO₂-based induced degradation profile of Reactive Black 5 dye. *Environ. Manage.* **61**, 171-180. <https://doi.org/10.1007/s00267-017-0948-7>
- Bose, D., Kandpal, V., Dhawan, H., Vijay, P., Gopinath, M. (2018) Energy Recovery with Microbial Fuel Cells: Bioremediation and Bioelectricity. In: Varjani, S., Gnansounou, E., Gurunathan, B., Pant, D., Zakaria, Z. (eds) Waste Bioremediation. Energy, Environment, and Sustainability. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7413-4_2
- Brillas E, Martínez-Huitle C.A. (2015) Decontamination of wastewaters containing synthetic organic dyes by electrochemical methods. An updated review. *Appl. Catal. B.* **166–167**, 603–643. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2014.11.016>
- Butti, S. K., Velvizhi, G., Sulonen, M. L., Haavisto, J. M., Koroglu, E. O., Cetinkaya, A. Y., Singh, S., Arya, D., Modestra, J.A., Krishna, K.V., Verma, A., Ozkaya, B., Lakaniemi, A.M., Puhakka, J., Mohan, S. V. (2016) Microbial electrochemical technologies with the perspective of harnessing bioenergy: maneuvering towards upscaling. *Renew. Sust. Energ. Rev.* **53**, 462-476. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.08.058>
- Cai, T., Meng, L., Chen, G., Xi, Y., Jiang, N., Song, J., Zheng, S., Lui, Y., Zhen, G., Huang, M., (2020) Application of advanced anodes in microbial fuel cells for power generation: A review. *Chemosphere*, **248**, 125985. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.125985>
- Capodaglio, A. G., Molognoni, D., Dallago, E., Liberale, A., Cella, R., Longoni, P., Pantaleoni, L. (2013) Microbial fuel cells for direct electrical energy recovery from urban wastewaters. *Sci. World J.* **2013**, 634738 <https://doi.org/10.1155/2013/634738>
- Cao, Y., Mu, H., Liu, W. Zhang, R., Guo, J., Xian, M., Lui, H. (2019) Electricigens in the anode of microbial fuel cells: pure cultures versus mixed communities. *Microb. Cell Fact.* **18**, 39. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1087-z>
- Chen, S., Patil, S. A., Schröder, U. (2018) A high-performance rotating graphite fiber brush air-cathode for microbial fuel cells. *Appl. Energ.* **211**, 1089-1094. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2017.12.013>
- Cohen, B., (1931). The bacterial culture as an electrical half-cell. *J. Bacteriol.* **21** (1), 18-19.
- Cucu, A., Tiliakos, A., Tanase, I., Serban, C. E., Stamatin, I., Ciocanea, A., Nichita, C. (2016) Microbial fuel cell for nitrate reduction. *Energy Procedia* **85**, 156–161. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2015.12.286>
- Dafale, N., Rao, N.N., Meshram, S.U., Wate, S.R. (2008) Decolorization of azo dyes and stimulated dye bath wastewater using acclimatized microbial consortium: Biostimulation and halo tolerance. *Bioresour. Technol.* **99**, 2552-2558. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.04.044>.
- Degrenne, N. (2012) Power Management for microbial fuel cells. Doctoral dissertation, L'école doctorale Électronique Électrotechnique Automatique, Ecole Centrale de Lyon, Lyon, France.
- De Dios, F.M.A., Iglesias, O., Bocos, E., Pazos, M., Sanroman, M.A. (2014) Application of benthonic microbial fuel cells and electro-Fenton process to dye decolorization. *J. Ind. Eng. Chem.* **20** (5), 3754-3760. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.12.075>
- Din, MI., Iqbal, M., Hussain, Z., Khalid, R. (2020) Bioelectricity generation from waste potatoes using single chambered microbial fuel cell. *Energ. Source Part A.* **31**, 1-11. <https://doi.org/10.1080/15567036.2020.1797944>

Dojčinović, B.P., Roglić, G.M., Obradović, B.M., Kuraica, M.M., Kostić, M.M., Nešić, J., Manojlović, D.D. (2011) Decolorization of reactive textile dyes using water falling film dielectric barrier discharge. *J. Hazard. Mater.* **192**, 763-771. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.05.086>

El Bouraie, M., El Din, W.S. (2016) Biodegradation of Reactive Black 5 by *Aeromonas hydrophila* strain isolated from dye-contaminated textile wastewater. *Sustain. Environ. Res.* **26**, 209-216. <https://doi.org/10.1016/j.serj.2016.04.014>

El-Dein, M.A., Libra, J.A., Wiesmann, U. (2003) Mechanism and kinetic model for the decolorization of the azo dye Reactive Black 5 by hydrogen peroxide and UV radiation. *Chemosphere*, **52** (6), 1063-1077. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00226-1](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00226-1)

ElMekawy, A., Hegab, H. M., Losic, D., Saint, C. P., Pant, D. (2017) Applications of graphene in microbial fuel cells: the gap between promise and reality. *Renew. Sust. Energ. Rev.* **72**, 1389-1403. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.10.044>

Fadzli, F. S., Bhawani, S. A., Adam Mohammad, R. E. (2021) Microbial fuel cell: recent developments in organic substrate use and bacterial electrode interaction. *J. Chem.* **2021**, 4570388. <https://doi.org/10.1155/2021/4570388>

Fan, L.P., Li, J.J. (2016) Overviews on internal resistance and its detection of microbial fuel cells. *Int. J. Circuits Syst. Signal Process.* **10**, 1998-4464. ISSN: 1998-4464

Feng, J., Cerniglia, C. E., Chen, H. (2012) Toxicological significance of azo dye metabolism by human intestinal microbiota. *Front. Biosci.* **4**, 568-586. <https://doi.org/10.2741/400>

Fraiwani, A., Adusumilli, S.P., Han, D., Steckl, A.J., Call, D.F., Westgate, C.R., Choi, S. (2014) Microbial power-generating capabilities on micro-/nano-structured anodes in micro-sized microbial fuel cells. *Fuel Cell.* **14**, 801-809. <https://doi.org/10.1002/fuce.201400041>

Gahlout, M., Gupte, S., Gupte, A. (2013) Optimization of culture condition for enhanced decolorization and degradation of azo dye Reactive Violet 1 with concomitant production of ligninolytic enzymes by *Ganoderma cupreum* AG-1. *Biotech.* **3** (2), 143-152. <https://doi.org/10.1007/s13205-012-0079-z>

Gojgić-Cvijović, G.D., Milic, J.S., Solevic, T.M., Beškoski, V.P., Ilić, M.V., Djokić L.S., Narancic, T.M., Vrvic, M.M. (2012) Biodegradation of petroleum sludge and petroleum polluted soil by a bacterial consortium: a laboratory study. *Biodegradation* **23**, 1-14. <https://doi.org/10.1007/s10532-011-9481-1>

Guan, Y.F., Zhang, F., Huang, B.C., Yu, H.Q. (2019) Enhancing electricity generation of microbial fuel cell for wastewater treatment using nitrogen-doped carbon dots-supported carbon paper anode. *J. Clean. Prod.* **229**, 412-419. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.05.040>

Gul, H., Raza, W., Lee, J., Azam, M., Ashraf, M., Kim, K. H. (2021) Progress in microbial fuel cell technology for wastewater treatment and energy harvesting. *Chemosphere*, **281**, 130828. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130828>

Guo, W., Cui, Y., Song, H., Sun, J. (2014) Layer-by-layer construction of graphene-based microbial fuel cell for improved power generation and methyl orange removal. *Bioproc. Biosyst. Eng.* **37** (9), 1749-1758. <https://doi.org/10.1007/s00449-014-1148-y>

Guo, F., Shi, Z., Yang, K., Wu, Y., Lui, H. (2019) Enhancing the power performance of sediment microbial fuel cells by novel strategies: Overlying water flow and hydraulic-driven

cathode rotating. *Sci. Total Environ.* **678**, 533-542.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.04.439>.

Hassaan, M., El Nemr, A. (2017) Health and environmental impact of dyes: Mini review. *Am. J. Environ. Sci.* **1**, 64-67. <https://doi.org/10.11648/j.ajese.20170103.11>

Hoang, A. T., Nižetić, S., Ng, K. H., Papadopoulos, A. M., Le, A. T., Kumar, S., Hadiyanto, H. (2022) Microbial fuel cells for bioelectricity production from waste as sustainable prospect of future energy sector. *Chemosphere*, **287**, 132285. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132285>

Hu, M., Li, X., Xiong, J., Zeng, L., Huang, Y., Wu, Y., Cao, G., Li, W. (2019) Nano- $\text{Fe}_3\text{C}@pgc$ as a novel low-cost anode electrocatalyst for superior performance microbial fuel cells. *Biosens. Bioelectron.* **142**, 111594. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111594>

Hung, Y. H., Liu, T.Y., Chen, H.Y. (2019) Renewable coffee waste-derived porous carbons as anode materials for high-performance sustainable microbial fuel cells. *ACS Sustain. Chem. Eng.* **7**, 16991–16999. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b02405>

Ivars-Barceló, F., Zuliani, A., Fallah, M., Mashkour, M., Rahimnejad, M., Luque, R. (2018) Novel applications of microbial fuel cells in sensors and biosensors. *Appl. Sci.* **8** (7), 1184. <https://doi.org/10.3390/app8071184>

ISO 11465 (1993). Soil Quality – Determination of dry matter and water content on a mass basis – Gravimetric method. Geneve.

ISO 10693 (1995). Soil Quality – Determination of carbonate content – volumetric method. Geneve.

ISO DIS 10390 (2002). Soil Quality – Determination of pH. Geneve.

ISO 11348-3 (2007). Water quality - Determination of the inhibitory effect of water samples on the light emission of *Vibrio fischeri* (Luminescent bacteria test) — Part 3: Method using freeze-dried bacteria. Geneve.

Jia, Y.F., Feng, H.J., Shen, D.S., Zhou, Y.Y., Chen, T., Wang, M.Z., Chen, W., Ge, Z.P., Huang, L.J., Zheng, S.T. (2018) High-performance microbial fuel cell anodes obtained from sewage sludge mixed with fly ash. *J. Hazard. Mater.* **354**, 27-32. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.04.008>

Jia, Y.H., Tran, H.T., Kim, D.H., Oh, S.J., Park, D.H., Zhang, R.H., Ahn, D.H. (2008) Simultaneous organics removal and bio-electrochemical denitrification in microbial fuel cells. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **31**, 315–321. <https://doi.org/10.1007/s00449-007-0164-6>

Jović, M., Stanković, D., Manojlović, D., Anđelković, I., Milic, A., Dojčinović, B., Roglić, G. (2013) Study of the electrochemical oxidation of reactive textile dyes using platinum electrode. *Int. J. Electrochem. Sci.* **8** (1), 168-183. ISSN: 1452-3981

Joksimović, K., Žerađanin, A., Randjelović, D., Avdalović, J., Miletić, S., Gojgić-Cvijović, G., Beškoski, V.P. (2020) Optimization of microbial fuel cell operation using Danube River sediment. *J. Power Sources* **476** (2020) 228739. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2020.228739>

Joksimovic, K., Kodranov, I., Randjelovic, D., Slavković Beškoski, L., Radulović, J., Lješević, M., Manojlović, D., Beškoski, V.P., (2022) Microbial fuel cells as an electrical energy source for degradation followed by decolorization of Reactive Black 5 azo dye. *Bioelectrochemistry*, **145**, 108088. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2022.108088>

Kadivarian, M., Dadkhah, A. A., Esfahany, M. N. (2020) Oily wastewater treatment by a continuous flow microbial fuel cell and packages of cells with serial and parallel flow connections. *Bioelectrochemistry*, **134**, 107535. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2020.107535>

Kansal, S.K., Kaur, N., Singh, S. (2009) Photocatalytic degradation of two commercial Reactive dyes in aqueous phase using nanophotocatalysts. *Nanoscale. Res. Lett.* **4**, 709-716. <https://doi.org/10.1007/s11671-009-9300-3>

Kariyajjanavar, P., Jogtappa, N., Nayaka, Y.A. (2011) Studies on degradation of reactive textile dyes solution by electrochemical method. *J. Hazard. Mater.* **190**, 952-961. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.04.032>

Karthikeyan R., Wang B., Xuan J., Wong J.W., Lee P.K., Leung M.K. (2015) Interfacial electron transfer and bioelectrocatalysis of carbonized plant material as effective anode of microbial fuel cell. *Electrochim. Acta*, **157**, 314-323. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.01.029>

Karube, I., Matsunaga, T., Tsuru, S., Suzuki, S. (1976) Continuous hydrogen production by immobilized whole cells of *Clostridium butyricum*. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* **444** (2), 338-343. [https://doi.org/10.1016/0304-4165\(76\)90376-7](https://doi.org/10.1016/0304-4165(76)90376-7)

Khalik, W.F., Ho, L., Ong, S., Voon, C., Wong, Y., Yusoff, N., Lee, S., Yusuf, S.Y. (2017) Optimization of degradation of Reactive Black 5 (RB5) and electricity generation in solar photocatalytic fuel cell system. *Chemosphere*. **184**, 112-119. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.05.160>

Khudzari, J.M., Gariépy, Y., Kurian, J., Tartakovsky, B., Raghavan, G.V. (2019) Effects of biochar anodes in rice plant microbial fuel cells on the production of bioelectricity, biomass, and methane. *Biochem. Eng. J.* **141**, 190-199. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2018.10.012>

Kiran, V., Gaur, B. (2013) Microbial fuel cell: technology for harvesting energy from biomass. *Rev. Chem. Eng.* **29** (4), 189-203. <https://doi.org/10.1515/revce-2013-0005>

Kirubakaran, C.J., Kumar, G.G., Sha, C., Zhou, D., Yang, H., Nahm, K.S., Raj, B.S., Zhang, Y., Yong, Y.C. (2019) Facile fabrication of Au@ polyaniline core-shell nanocomposite as efficient anodic catalyst for microbial fuel cells. *Electrochim. Acta*, **328**, 135136. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2019.135136>

Kumar, G. G., Sarathi, V. S., Nahm, K. S. (2013) Recent advances and challenges in the anode architecture and their modifications for the applications of microbial fuel cells. *Biosens. Bioelectron.* **43**, 461-475. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2012.12.048>

Kumar, R., Singh, L., Zularisam, A.W. (2016) Exoelectrogens: Recent advances in molecular drivers involved in extracellular electron transfer and strategies used to improve it for microbial fuel cell applications. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **56**, 1322-1336. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.029>

Larrosa-Guerrero, A., Scott, K., Head, I. M., Mateo, F., Ginesta, A., Godinez, C. (2010) Effect of temperature on the performance of microbial fuel cells. *Fuel*, **89** (12), 3985-3994. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2010.06.025>

Lefebvre, O., Al-Mamun, A., Ng, H. Y. (2008) A microbial fuel cell equipped with a biocathode for organic removal and denitrification. *Water Sci. Technol.* **58**, 881-885. <https://doi.org/10.2166/wst.2008.343>

- Lefebvre, O., Tan, Z., Kharkwal, S., Ng, H. Y. (2012) Effect of increasing anodic NaCl concentration on microbial fuel cell performance. *Bioresour. Technol.* **112**, 336-340. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.048>
- Lellis, B., Favaro-Polonio, C.Z., Pamphile, J.A., Polonio, J.C. (2019) Effects of textile dyes on health and the environments and bioremediation potential of living organisms. *Biotechnol. Res. Innov.* **3**, 275-290. <https://doi.org/10.1016/j.biori.2019.09.001>
- Leong, J. X., Daud, W. R. W., Ghasemi, M., Liew, K. B., Ismail, M. (2013) Ion exchange membranes as separators in microbial fuel cells for bioenergy conversion: A comprehensive review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* **28**, 575-587. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.08.052>
- Li, D., Sun, Y., Shi, Y., Wang, Z., Okeke, S., Yang, L., Zhang, W., Xiao, L. (2023) Structure evolution of air cathodes and their application in electrochemical sensor development and wastewater treatment. *Sci. Total Environ.* **869**, 161689. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.161689>
- Li, Y., Lu, Y., Zhu, X. (2006) Photo-Fenton discoloration of the azo dye X-3B over pillared bentonites containing iron. *J. Hazard. Mater.* **132**, 196-201. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.07.090>
- Li, J., Fu, Q., Liao, Q., Zhu, X., Ye, D., Tian, X. (2009) Persulfate: a self-activated cathodic electron acceptor for microbial fuel cells. *J. Power Sources.* **194**, 269-274. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2009.04.055>
- Li, W. W., Yu, H. Q., He, Z. (2014) Towards sustainable wastewater treatment by using microbial fuel cells-centered technologies. *Energ. Environ. Sci.*, **7** (3), 911-924. <https://doi.org/10.1039/C3EE43106A>
- Li, S.L., Nealson, K.H. (2015) Enriching distinctive microbial communities from marine sediments via an electrochemical-sulfide-oxidizing process on carbon electrodes. *Front. Microbiol.* **6**, 111. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00111>.
- Li, W., Ren, R. Lui, Y., Li, J., Lv, Y. (2019) Improved bioelectricity production using potassium monopersulfate as cathode electron acceptor by novel bio-electrochemical activation in microbial fuel cell. *Sci. Total Environ.* **690**, 654-666. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.06.527>.
- Li, Y., Liu, J., Chen, X., Yuan, X., Li, N., He, W., Feng, Y. (2020) Enhanced electricity generation and extracellular electron transfer by polydopamine-reduced graphene oxide (PDA-rGO) modification for high-performance anode in microbial fuel cell. *Chem. Eng. J.* **387**, 123408. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123408>
- Liu, T., Yu, Y., Chen, T., Chen, W.N. (2017) A synthetic microbial consortium of *Shewanella* and *Bacillus* for enhanced generation of bioelectricity: Synthetic microbial consortium. *Biotechnol. Bioeng.* **114**, 526-532. <https://doi.org/10.1002/bit.26094>.
- Liu, H., Zhang, Z., Xu, Y., Tan, X., Yue, Z., Ma, K., Wang, Y. (2021) Reduced graphene oxide@ polydopamine decorated carbon cloth as an anode for a high-performance microbial fuel cell in congo red/saline wastewater removal. *Bioelectrochem.* **137**, 107675. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2020.107675>
- Logan, B. E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., Aelterman, P., Verstraete, W., Rabaey, K. (2006) Microbial fuel cells: methodology and technology. *Environ. Sci. Technol.* **40** (17), 5181-5192. <https://doi.org/10.1021/es0605016>

Logan, B. E. (2008) *Microbial fuel cells*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, United State. ISBN 978-0-470-23948-3

Logan, E.B., Rossi, R., Ragab, A., Saikaly, P.E., (2019) Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems. *Nat. Rev. Microbiol.* **17**, 307-319. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0173-x>.

Lucas, M.S., Peres, J.A. (2006) Decolorization of the azo dye Reactive Black 5 by Fenton and photo-Fenton oxidation. *Dyes Pigments*, **71**, 236-244. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2005.07.007>

Manojlović, D., Lelek, K., Roglić, G., Zhrebtsov, D., Avdin, V., Buskina, K., Sakthidharan, C., Sapozhnikov, S., Samodurova, M., Zakirov, R., Stanković, D.M. (2020) Efficiency of homely synthesized magnetite: carbon composite anode toward decolorization of reactive textile dyes. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **17**, 2455-2462. <https://doi.org/10.1007/s13762-020-02654-8>

Marassi, R. J., Queiroz, L. G., Silva, D. C. V., da Silva, F. T., Silva, G. C., de Paiva, T. C. B. (2020) Performance and toxicity assessment of an up-flow tubular microbial fuel cell during long-term operation with high-strength dairy wastewater. *J. Clean Prod.* **259**, 120882. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.120882>

Marković, M., Jović, M., Stanković, D., Mutić, J., Roglić, G., Manojlović, D.D. (2014) Toxicity screening after electrochemical degradation of reactive textile dyes. *Pol. J. Environ. Stud.*, **23** (6), 2103-2019. <https://doi.org/10.15244/pjoes/28298>

Mashkour, M., Rahimnejad, M., Raouf, F., Navidjouy, N. (2021) A review on the application of nanomaterials in improving microbial fuel cells. *Biofuel Res. J.* **30**, 1400-1416. <https://doi.org/10.18331/BRJ2021.8.2.5>

Masoudi, M., Rahimnejad, M., Mashkour, M. (2020) Fabrication of anode electrode by a novel acrylic-based graphite paint on stainless steel mesh and investigating biofilm effect on electrochemical behavior of anode in a single chamber microbial fuel cell. *Electrochim. Acta.* **344**, 136168. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136168>

Mehdinia, A., Ziaei, E., Jabbari, A. (2014) Facile microwave-assisted synthesized reduced graphene oxide/tin oxide nanocomposite and using as anode material of microbial fuel cell to improve power generation *Int. J. Hydrogen Energ.*, **39**, 10724-10730. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2014.05.008>

Miklos, D. B., Remy, C., Jekel, M., Linden, K. G., Drewes, J. E., Hübner, U. (2018) Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment—A critical review. *Water Res.*, **139**, 118-131. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.042>

Murmann, J., Homburg, E. (2001) Comparing evolutionary dynamics across different national settings: the case of the synthetic dye industry, 1857–1914. *J. Evol. Econ.* **11**, 177–205. <https://doi.org/10.1007/PL00003863>

Nastro, R.A., Gambino, E., Toscanesi, M., Arienzo, M., Ferrara L., Trifuoggi, M. (2019) Microbial fuel cells (MFCs) remediation activity of marine sediments sampled at a dismissed industrial site: What opportunities? *J. Clean. Prod.*, **235**, 1559-1566. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.07.019>

Nawaz, A., Hafeez, A., Abbas, S. Z., Haq, I. U., Mukhtar, H., Rafatullah, M. (2020) A state-of-the-art review on electron transfer mechanisms, characteristics, applications and recent advancements in microbial fuel cells technology. *Green Chem. Lett. Rev.* **13** (4), 365-381. <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1854871>

- Neoh, C.H., Lam, C.Y., Lim, C.K, Yahya, A., Bay, H.H., Ibrahim, Z., Noor, Z.Z. (2015) Biodecolorization of recalcitrant dye as the sole source of nutrition using *Curvularia clavata* NZ2 and decolorization ability of its crude enzymes. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **22**, 11669–11678. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-4436-4>
- Nijman, L., Rustemeyer, T., Franken, S. M., Ipenburg, N. A. (2022). The prevalence and relevance of patch testing with textile dyes. *Contact Dermatitis.* **2023** (88), 220-229. <https://doi.org/10.1111/cod.14260>
- Noradin, N., Ho, L.N., Ong, S.A., Ibrahim, A.H., Wong, Y., Lee, S., Oon, Y.S., Oon, Y.L. (2017) Hybrid system of photocatalytic fuel cell and Fenton process for electricity generation and degradation of Reactive Black 5. *Sep. Purif. Technol.* **177**, 135-141. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.12.030>
- Nosek, D., Jachimowicz, P., Cydzik-Kwiatkowska, A. (2020) Anode modification as an alternative approach to improve electricity generation in microbial fuel cells *Energy*, **13**, 6596-6618. <https://doi.org/10.3390/en13246596>
- Nourbakhsh, F., Mohsennia, M., Pazouki, M. (2017) Nickel oxide/carbon nanotube/polyaniline nanocomposite as bifunctional anode catalyst for high-performance *Shewanella*-based dual-chamber microbial fuel cell. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **40** (11), 1669-1677. <https://doi.org/10.1007/s00449-017-1822-y>
- Obileke, K., Onyeaka, H., Meyer, E. L., Nwokolo, N. (2021) Microbial fuel cells, a renewable energy technology for bio-electricity generation: A mini-review. *Electrochem. Commun.* **125**, 107003. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2021.107003>
- Olias, G. D., Cameron P.J., Di-Lorenzo M. (2019) Effect of electrode properties on the performance of a photosynthetic microbial fuel cell for atrazine detection *Front. Energy Res.* **7**, 105-116. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2019.00105>
- Pandey, A., Singh, P., Iyengar, L. (2007) Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *Int. Biodeter. Biodegr.* **59**, 73-84. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2006.08.006>
- Park, D.H., Zeikus, J.G. (2003) Improved fuel cell and electrode designs for producing electricity from microbial degradation. *Biotechnol. Bioeng.* **81**, 348–355. <https://doi.org/10.1002/bit.10501>
- Prasad, J., Tripathi, R.K. (2018) Scale up sediment microbial fuel cell for powering Led lighting. *Int. J. Renew. Energy Dev.* **7**, 53–58. <https://doi.org/10.14710/ijred.7.1.53-58>
- Prashanthi, R. (2023) A review on microbial fuel cell and green energy. *Ionics.* 2023. <https://doi.org/10.1007/s11581-023-04956-6>
- Prathiba, S., Kumar, P. S., Vo, D. V. N. (2022) Recent advancements in microbial fuel cells: A review on its electron transfer mechanisms, microbial community, types of substrates and design for bio-electrochemical treatment. *Chemosphere*, **286**, 131856. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131856>
- Pretsch, E., Buhlmann, P., Affolter, C. (2000) Structure Determination of Organic Compounds. Tables of Spectral Data [Internet]. 3rd ed., Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 121-122. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-62439-5>
- Potter, M. C. (1991) Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. *Proc. Biol. Sci.* **84** (571), 260-276. <https://doi.org/10.1098/rspb.1911.0073>

- Qiao, Y., Wen, G.-Y., Wu, X.-S., Zou, L. (2015) L-Cysteine tailored porous graphene aerogel for enhanced power generation in microbial fuel cells. *RSC Adv.* **5** (72), 58921-58927. <https://doi.org/10.1039/C5RA09170E>
- Qiu, S., Guo, Z., Naz, F., Yang, Z., Yu, C. (2021) An overview in the development of cathode materials for the improvement in power generation of microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry*, **141**, 107834. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2021.107834>
- Rahimnejad, M., Adhami, A., Darvari, S., Zirepour, A., Oh, S.E., (2015) Microbial fuel cell as new technology for bioelectricity generation: A review. *Alex. Eng. J.* **54**, 745–756. <https://doi.org/10.1016/j.aej.2015.03.031>
- Ramirez-Nava, J., Martínez-Castrejón, M., García-Mesino, R. L., López-Díaz, J. A., Talavera-Mendoza, O., Sarmiento-Villagrana, A., Rojano, F., Hernández-Flores, G. (2021) The implications of membranes used as separators in microbial fuel cells. *Membranes*, **11** (10), 738. <https://doi.org/10.3390/membranes11100738>
- Randjelović, D., Jakšić, O., Popović, B., Joksimović, K., Miletic, S., Poljak, O., Beškoski, B. (2019) Electrical characterization of microbial fuel cell-method and preliminary results, in: 31st International Conference on microelectronics. <https://doi.org/10.1109/MIEL.2019.8889650>.
- Rehorek, A., Tauber, M., Gubitz, G. (2004) Application of power ultrasound for azo dye degradation. *Ultrason. Sonochem.* **11**, 177-182. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2004.01.030>
- Ren, H., Pyo, S., Lee, J.I., Park, T.J., Gittleson, F.S., Leung, F.C.C., Kim, J., Taylor, A.D., Lee, H.S., Chae, J. (2015) A high-power density miniaturized microbial fuel cell having carbon nanotube anodes. *J. Power Sourc.* **273**, 823–830. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.09.165>
- Rovira, J., Domingo, L.J. (2019) Human health risks due to exposure to inorganic and organic chemicals from textiles: A review. *Environ. Res.* **168**, 62-69. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.09.027>
- Roulston, D.J., Arora, N.D., Chamberlain, S.G. (1982) Modeling and measurement of minority-carrier lifetime versus doping in diffused layers of n⁺-p silicon diode, *IEEE Transactions on Electron Devices*, **29** (2), 284-291. <https://doi.org/10.1109/T-ED.1982.20697>
- Saba, B., Christy, A.D., Park, T., Yu, Z., Li, K., Tuovinen, O.H. (2018) Decolorization of Reactive Black 5 and Reactive Blue 5 dyes in microbial fuel cells. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **186**, 1017-1033. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-2774-7>
- Sahinkaya, E., Yurtsever, A., Aktaş, Ö., Ucar, D., Wang, Z. (2015) Sulfur-based autotrophic denitrification of drinking water using a membrane bioreactor. *Chem. Eng. J.* **268**, 180–186. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.01.045>
- Santoro, C., Arbizzani, C., Erable, B., Ieropoulos, I. (2017) Microbial fuel cells: From fundamentals to applications. A review. *J. Power sources*, **356**, 225-244. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2017.03.109>
- Sarma, R., Tamuly, A., Kakati, B. K. (2021) Recent developments in electricity generation by microbial fuel cell using different substrates. *Mater. Today: Proceedings*, **49** (29), 457-463. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.02.522>
- Schneider, G., Pásztor, D., Szabó, P., Kőrösi, L., Kishan, N. S., Raju, P. A. R. K., Calay, R. K. (2023) Isolation and characterisation of electrogenic bacteria from mud samples. *Microorganisms*. **11** (3), 781. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11030781>

Selvaraj, V., Karthika, T. S., Mansiya, C., Alagar, M. (2021) An over review on recently developed techniques, mechanisms and intermediate involved in the advanced azo dye degradation for industrial applications. *J. Mol. Struct.* **1224**, 129195. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.129195>

Senthilkumar N., Pannipara M., Al-Sehemi A.G., Kumar G.G. (2019) PEDOT/NiFe 2O₄ nanocomposites on biochar as a free-standing anode for high-performance and durable microbial fuel cells. *New J. Chem.*, **43** (20), 7743-7750. <https://doi.org/10.1039/C9NJ00638A>

Slate A.J., Whitehead K.A., Brownson D.A., Banks C.E. (2019) Microbial fuel cells: An overview of current technology. *Renew. Sustain. Energ Rev.*, **101**, 60-81. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.09.044>

Službeni glasnik, 2019. Službeni glasnik Republike Srbije 64, 2019.

Song, H. L., Zhu, Y., Li, J. (2019) Electron transfer mechanisms, characteristics and applications of biological cathode microbial fuel cells—A mini review. *Arab. J. Chem.* **12** (8), 2236-2243. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.01.008>

Sonawane, J. M., Yadav, A., Ghosh, P. C., Adeloju, S. B. (2017) Recent advances in the development and utilization of modern anode materials for high performance microbial fuel cells. *Biosen. Bioelectron.* **90**, 558-576. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.10.014>.

Sudha, M., Saranya, A., Selvakumar, G., Sivakumar, N. (2014) Microbial degradation of azo dyes: a review. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* **3** (2), 670-690. <https://www.researchgate.net/publication/284548975>

Tampa, P., Rani, N., Yadav, A.K. (2020) Enhanced wastewater treatment in a novel compact stacked constructed wetland-microbial. *Environ. Chem. Lett.* **18**, 871-879. <https://doi.org/10.1007/s10311-020-00966-2>

Thevenot, D. R., Tóth, K., Durst, R. A., Wilson, G. S. (1999) Electrochemical biosensors: Recommended definitions and classifications (Technical report). *Pure Appl. Chem.* **71** (12) 2333-2348. <https://doi.org/10.1351/pac199971122333>

Ucar, D., Zhang, Y., Angelidaki, I. (2017) An overview of electron acceptors in microbial fuel cells. *Front. Microbiol.* **8**, 643. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00643>

Venkatramanan, V., Shah, S., Prasad, R. (2021) A critical review on microbial fuel cell technology: Perspectives on wastewater treatment. *Open Biotechnol. J.* **15** (1), 131-141. <https://doi.org/10.2174/1874070702115010131>

Ventura-Camargo, B., Martin-Morales, M.A. (2013) Azo dyes: characterization and toxicity-A review. *Textiles and light industrial science and technology*, **2** (2), 85-106. https://www.researchgate.net/publication/282815745_Azo_Dyes_Characterization_and_Toxicity_-_A_Review

Wang, Z., Lim, B., Choi, C. (2011) Removal of Hg²⁺ as an electron acceptor coupled with power generation using a microbial fuel cell. *Bioresour. Technol.* **102** (10), 6304–6307. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.02.027>

Wang, H. Fu, B., Xi, J., Hu, H., Liang, P., Huang, X., Zhang, X. (2019) Remediation of stimulated malodorous surface water by columnar air-cathode microbial fuel cells. *Sci. Total Environ.* **687**, 287-296. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135921>.

- Wang, C., Yin, L., Wang, S., Jin, X., Yang, J., Lui, H. (2023) Role played by the physical structure of carbon anode materials in MFC biosensor for BOD measurement. *Sci. Total Environ.* **856**, 158848. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.158848>
- Wani, K. A., Jangid, N. K., Bhat, A. R. (Eds.). (2020) Impact of Textile Dyes on Public Health and the Environment: Chapter 1: World of the dye, *IGI Global.*, Hershey, Pennsylvania, SAD, pp. 1-19 <https://doi.org/10.4018/978-1-7998-0311-9>
- Wei J., Liang P., Huang X. (2011) Recent progress in electrodes for microbial fuel cells *Bioresour. Technol.*, **102** (20), 9335-9344. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.07.019>
- Winfield, J., Ieropoulos, I., Greenman, J., Dennis, J. (2011) The overshoot phenomenon as a function of internal resistance in microbial fuel cells. *Bioelectrochemistry*, **81**, 22-27. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2011.01.001>.
- Xu, L., Zhao, Y., Doherty, L., Hu, Y., Hao, X. (2016) The integrated processes for wastewater treatment based on the principle of microbial fuel cells: a review. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.* **46** (1), 60-91. <https://doi.org/10.1080/10643389.2015.1061884>
- Xu H., Quan X., Xiao Z., Chen L. (2018) Effect of anodes decoration with metal and metal oxides nanoparticles on pharmaceutically active compounds removal and power generation in microbial fuel cells. *Chem. Eng. J.* **335**, 539-547. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.159>
- Xu, G., Zheng, X., Lu, Y., Lui, G., Luo, H., Li, X., Zhang, R., Jin, S. (2019) Development of microbial community within the cathodic biofilm of single-chamber air-cathode microbial fuel cell. *Sci. Total Environ.* **665**, 641-648. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.175>.
- Yang, W., Kim, K.Y., Saikaly, P.E., Logan, B.E. (2017) The impact of new cathode materials relative to baseline performance of microbial fuel cells all with the same architecture and solution chemistry. *Energ. Environ. Sci.* **10** (5), 1025-1033. <https://doi.org/10.1039/C7EE00910K>
- Yang X., Ma X., Wang K., Wu D., Lei Z., Feng C. (2016) Eighteen-month assessment of 3D graphene oxide aerogel-modified 3D graphite fiber brush electrode as a high-performance microbial fuel cell anode. *Electrochim. Acta.* **210**, 846-853. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.05.215>
- Yang, X., Chen, S. (2021) Microorganisms in sediment microbial fuel cells: Ecological niche, microbial response, and environmental function. *Sci. Total Environ.* **756**, 144145. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144145>
- Yaqoob A.A., Khatoon A., Mohd Setapar S.H., Umar K., Parveen T., Ibrahim M.N.M., Ahmad A., Rafatullah M. (2020) Outlook on the role of microbial fuel cells in remediation of environmental pollutants with electricity generation. *Catalysts*, **10** (8), 819. <https://doi.org/10.3390/catal10080819>
- Yaqoob, A. A., Ibrahim, M. N. M., Guerrero-Barajas, C. (2021) Modern trend of anodes in microbial fuel cells (MFCs): an overview. *Environ. Technol. Inno.* **23**, 101579. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2021.101579>
- Yonus, Y., Mousavi, S.A. (2020) Sono-photo-Fenton degradation of Reactive Black 5 from aqueous solution: performance and kinetics. *Desalin. Water Treat.* **174**, 354-360. <https://doi.org/10.5004/dwt.2020.24843>

Yuan, Y., Liu T., Fu P., Tang J., Zhou S. (2015) Conversion of sewage sludge into high-performance bifunctional electrode materials for microbial energy harvesting. *J. Mater. Chem. A*, **3** (16), 8475-8482. <https://doi.org/10.1039/C5TA00458F>

Yu, B., Feng, L., He, Y., Yang, L., Xun, Y. (2021) Effects of anode materials on the performance and anode microbial community of soil microbial fuel cell. *J. Hazard Mater.* **401**, 123394. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123394>

Zhang C., Liang P., Jiang Y., Huang X. (2015) Enhanced power generation of microbial fuel cell using manganese dioxide-coated anode in flow-through mode. *J. Power Source.* **273**, 580-583. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.09.129>

Zhang J., Li J., Ye D., Zhu X., Liao Q., Zhang B. (2014) Tubular bamboo charcoal for anode in microbial fuel cells. *J. Power Source.* **272**, 277-282. <https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2014.08.115>

Zhang, M., Wang, H. (2017) Characterization of sulfate reducing bacteria isolated from urban soil. IOP conference series: Earth and environmental science, International symposium on Resource Exploration and Environmental Science, April 14-16, Ordos, China. **64**, 012113. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/64/1/012113>

Zhang, L., Liu, Y., Lv, S., Wang, R., Wang, Y., Lin, K., Hu, X., Liu, Y., Dong, Z., Liu, L. (2023) An overview on constructed wetland-microbial fuel cell: Greenhouse gases emissions and extracellular electron transfer. *J. Environ. Chem. Eng.* **11** (2), 109551. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2023.109551>

Zhao, Y., Ma, Y., Li, T., Dong, Z., Wang, Y. (2018) Modification of carbon felt anodes using double-oxidant HNO₃/H₂O₂ for application in microbial fuel cells. *RSC Adv.* **8** (4), 2059-2064. <https://doi.org/10.1039/C7RA12923H>

Zhong. X., Royer, S., Zhang, H., Huang, Q.Q., Xiang, L.J., Valange, S., Brault, J. (2011) Mesoporous silica iron-doped as stable and efficient heterogeneous catalyst for the degradation of C.I. Acid Orange 7 using sono-photo-Fenton process, *Sep. Purif. Technol.* **80**, 163-171. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2011.04.024>

A. BIOGRAFSKI PODACI O KANDIDATKINJI

Kristina (Živoslav) Joksimović je rođena 31. maja 1991. godine u Arandjelovcu, Srbija. Osnovnu školu završila je u Orašcu, a potom gimnaziju u Arandjelovcu. Studije na Univerzitetu u Beogradu-Hemijski fakultet, odsek biohemija, upisuje 2010. godine. Diplomirala je 2015. godine sa prosečnom ocenom 8,06 i ocenom 10 na odbrani završnog rada. Master studije na istom fakultetu završila je u septembru 2016. godine sa prosečnom ocenom 9,00 i ocenom 10 na odbrani master rada. Doktorske studije na Hemijskom fakultetu upisala je 2017. godine, studijski program doktor biohemijskih nauka i do sada položila sve ispite predviđene planom i programom sa prosečnom ocenom 10,00.

Od 2018. godine, Kristina Joksimović je kao istraživač pripravnik bila zaposlena na Inovacionom centru, Hemijskog fakulteta. Od decembra 2019. godine, zaposlena je u Centru za hemiju, Instituta za hemiju, tehnologiju i metalurgiju, Institutu od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju. Bila je član nacionalnog projekta III43004 koji je finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (2011.-2019. god.), kao i deo tima na projektu „Pivo+HyZn” finansiranog od strane Fonda za inovacionu delatnost (2020-2021. god.) u okviru poziva Dokaz koncepta. Učesnik je na međunarodnom projektu „Enviro-Improve” finansiranom od strane Japanske agencije za međunarodnu saradnju (JICA), H2020 RIA projektu „BioICEP”, HE Twinning Western Balkan projektu „PFASwin” i projektu „VISION” finansiranom od strane kompanije SOLVAY. Od 2018. godine angažovana je kao saradnik u nastavi na predmetima osnovnih i master studija na Katedri za biohemiju, Hemijskog fakulteta u Beogradu, a 2020. godine u okviru osnovnih studija i na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Beogradu.

B. OBJAVLJENI NAUČNI RADOVI KOJI ČINE DEO DISERTACIJE

Kristina Joksimović je do sada prezentovala rezultate svog naučno-istraživačkog rada u okviru 9 radova sa SCI liste od kojih 2 čine deo disertacije. Radovi se nalaze u sledećim kategorijama: dva rada u vrhunskom međunarodnom časopisu (kategorija M21a), tri rada u vrhunskom međunarodnom časopisu (kategorija M21), rad u istaknutom međunarodnom časopisu (M22) i tri rada u međunarodnom časopisu (kategorije M23). Rezultati naučno-istraživačkog rada proistekli iz doktorske disertacije prezentovani su i u vidu 8 saopštenja na skupovima međunarodnog i nacionalnog značaja.

Radovi u časopisima međunarodnog značaja koji su deo doktorske disertacije:

M21a, Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu

1. **Joksimović, K.**, Žerađanin, A., Randjelović, D., Avdalović, J., Miletić, S., Gojgić- Cvijović, G., Beškoski, V., Optimization of microbial fuel cell operation using Danube River sediment; Journal of Power Sources 475, 2020, 228739 (DOI: 10.1016/j.jpowsour.2020.228739, IF₂₀₂₀ 9.127, Material Science, Multidisciplinary 45/334).
<https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2020.228739>

M21, Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu

1. **Joksimovic, K.**, Kodranov, I., Randjelovic, D., Slavković Beškoski, L., Radulović, J., Lješević, M., Manojlović, D., Beškoski, V.P. Microbial fuel cells as an electrical energy source for degradation followed by decolorization of Reactive Black 5 azo dye. Bioelectrochemistry, 145, 2022, 108088 (DOI: 10.1016/j.bioelechem.2022.108088, IF₂₀₂₁ 5.760, Biochemistry and Molecular Biology 81/297).
<https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2022.108088>

Ostali radovi u časopisima međunarodnog značaja:

M21a, Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu

1. Avdalović, J., Miletić, S., Božović, O., Šolević Knudsen, T., Stanković, D., Lugonja, N., Spasić, S., **Joksimović, K.**, Dragičević, I., Vrvic, M. M. Study on the assessment of humification processes during biodegradation of heavy residual fuel oil. *Science of The Total Environment*, 797, 2021, 149099 (DOI: 10.1016/j.scitotenv.2021.149099, IF₂₀₂₁ 10.754, *Environmental Sciences*, 26/279).
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149099>

M21, Rad u vrhunskom međunarodnom časopisu

1. Nedić, N., Nešović, M., Radišić, P., Gašić, U., Baošić, R., **Joksimović, K.**, Pezo, L., Tešić, Ž., Vovk, I. Polyphenolic and chemical profiles of honey from Tara mountain in Serbia. *Frontiers in Nutrition*, 9, 2022, 941463 (DOI: 10.3389/fnut.2022.941463, IF₂₀₂₁, 6.590, *Nutrition and Dietetics*, 16/90).
<https://doi.org/10.3389/fnut.2022.941463>
2. Jovanović, J., Ćirić, J., Radojković, A., Mutavdžić, D., Tanasijević, G., **Joksimović, K.**, Bakić, G., Branković, G., Branković, Z. Chitosan and pectin-based films and coatings with active components for application in antimicrobial food packing. *Progress in Organic coatings*, 158, 2021, 106349 (DOI: 10.1016/j.porgcoat.2021.106349, IF₂₀₂₁ 6.206, *Chemistry, Applied* 12/73).
<https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2021.106349>

M22, Rad u istaknutom međunarodnom časopisu

1. Marić, N., Štrbački, J., Polk, J., Beškoski Slavković, L., Avdalović, J., Lješević, M., **Joksimović, K.**, Žerađanin, A., Beškoski, V.P. Spatial-temporal assessment of hydrocarbon biodegradation mechanisms at a contaminated groundwater site in Serbia. *Chemistry and Ecology* 38, 2022 (DOI: 10.1080/02757540.2021.2017903, IF₂₀₂₁ 2.381, *Environmental Sciences* 210/279, *Ecology* 103/174).
<https://doi.org/10.1080/02757540.2021.2017903>

M23, Rad u međunarodnom časopisu

1. Miletić, S., Nikolić-Kokić, A., Jovanović, D., Žerađanin, A., **Joksimović, K.**, Avdalović, J., Spasić, S. Investigation of the Antioxidant Role of Acidic and Alkaline Hydrolysates of Pectin Isolated from Quince (*Cydonia oblonga*). *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2022, (DOI: 10.1134/S1068162023010193, IF₂₀₂₁ 1.254, *Biochemistry, Molecular Biology* 284/297).
<https://doi.org/10.1134/S1068162023010193>
2. Miletić, S. B., Avdalović, J., Milić, J., Ilić, M., Žerađanin, A., **Joksimović, K.**, Spasić, S. Oxidized humic acids from the soil of heat power plant; *Journal of the Serbian Chemical Society* 85(3), 2020, 421-426 (DOI: 10.2298/JSC190726099M, IF₂₀₂₀ 1.240, *Chemistry, Multidisciplinary* 141/179)
<https://doi.org/10.2298/JSC190726099M>
3. Žerađanin, A., **Joksimović, K.**, Avdalović, J., Gojgić-Cvijović, G., Nakano, T., Miletić, S., Ilić, M., Beškoski, V., Bioremediation of river sediment polluted with polychlorinated biphenyls: A laboratory study. *Journal of the Serbian Chemical Society* 87(1), 2022, 95-107 (DOI: 10.2298/JSC211217113Z, IF₂₀₂₁ 1.100, *Chemistry, Multidisciplinary* 153/180).
<https://doi.org/10.2298/JSC211217113Z>

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора **Кристина Јоксимовић**

Број индекса **ДБ05/2017**

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Електрохемијска деградација реактивних органских боја употребом микробних горивних ћелија

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора **Кристина Јоксимовић**

Број индекса **ДБ05/2017**

Студијски програм **Биохемија**

Наслов рада **Електрохемијска деградација реактивних органских боја употребом микробних горивних ћелија**

Ментор **др Владимир Бешкоски, редовни професор Универзитета у Београду-Хемијског факултета**

др Данијела Ранђеловић, научни саветник Универзитета у Београду, Института за хемију, технологију и металургију, Института од националног значаја за Републику Србију

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањивања у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, _____

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Електрохемијска деградација реактивних органских боја употребом микробних горивних ћелија

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
- 3. Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)**
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.

Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, _____

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

Ауторство – делити под истим условима. Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног *кода*.