



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

ODSTRANĚNÍ ORGANICKÉHO ZNEČIŠTĚNÍ POMOCÍ POKROČILÝCH OXIDAČNÍCH PROCESŮ

REMOVAL OF ORGANIC POLLUTION USING ADVANCED OXIDATION PROCESSES

DIZERTAČNÍ PRÁCE

DOCTORAL THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Ing. et Bc. Petra Přibilová

ŠKOLITEL

SUPERVISOR

doc. PharmDr. Ing. Radka Opatřilová, Ph.D.

BRNO 2022

Zadání dizertační práce

Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí Akademický rok: 2022/23

Studentka: **Ing. et Bc. Petra Přibilová**

Studijní program: Chemie a technologie ochrany životního prostředí

Studijní obor: Chemie životního prostředí

Vedoucí práce: **doc. PharmDr. Ing. Radka Opatřilová, Ph.D.**

Název dizertační práce:

Odstranění organického znečištění pomocí pokročilých oxidačních procesů

Zadání dizertační práce:

- 1) přehled výskytu estrogenů v životním prostředí
- 2) popis stavu současného vědeckého poznání vlivu na necílové organismy
- 3) klasifikace a popis technologie pokročilých oxidačních procesů
- 4) využití laboratorní AOP jednotky pro rychlé odbourávání vybraných derivátů estrogenů s důrazem na výběr a testování vhodných polymerních materiálů pro minimalizaci případných vlivů sorpce estrogenů na tyto materiály
- 5) nalezení vhodné AOP technologie pro rychlé odbourání vybraných derivátů estrogenů z vod
- 6) vyhodnocení efektivity jednotky na procentuální úbytek množství estrogenů v matrici

Termín odevzdání dizertační práce: 15.11.2022:

Ing. et Bc. Petra Přibilová
studentka

doc. PharmDr. Ing. Radka
Opatřilová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.9.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

Assignment Doctoral Thesis

Department: Institute of Chemistry and Technology of Environmental Protection Academic year: 2022/23

Student: **Ing. et Bc. Petra Přibilová**

Study programme: Chemistry and Technology of Environmental Protection

Field of study: Chemistry of Environmental Protection

Head of thesis: **doc. PharmDr. Ing. Radka Opatřilová, Ph.D.**

Title of Doctoral Thesis:

Removal of organic pollution using advanced oxidation processes

Doctoral Thesis:

- 1) overview of the occurrence of estrogens in the environment
- 2) description of the state of current scientific knowledge of the effect on non-target organisms
- 3) classification and description of the technology of advanced oxidation processes
- 4) the use of a laboratory AOP unit for rapid degradation of selected estrogen derivatives with ground for the selection and testing of suitable polymer materials to minimize possible effects sorption of estrogens to these materials
- 5) finding a suitable AOP technology for rapid degradation of selected estrogen derivatives from water
- 6) evaluation of the efficiency of the unit for the percentage decrease of the amount of estrogens in the matrix

Deadline for Doctoral Thesis delivery: 15.11.2022:

Ing. et Bc. Petra Přibilová
student

doc. PharmDr. Ing. Radka
Opatřilová, Ph.D.
Head of thesis

prof. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.
Head of department

In Brno dated 1.9.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
Dean

Abstrakt

Předložená dizertační práce se zabývá využitím pokročilých oxidačních procesů kombinujících hydrodynamickou kavitaci (HC) k produkci hydroxylových radikálů a radikálu na bázi síry. Sledovanými mikropolutanty jsou vybrané přírodní estrogény estron (E1), 17β -estradiol (E2), estriol (E3) a syntetický 17α -ethinylestradiol (EE2). Teoretická část obsahuje informace o vlastnostech estrogenů, informace o jejich výskytu a působení v životním prostředí na necílové organismy napříč trofickými úrovněmi; a také možnosti a účinnosti jejich odstraňování z odpadních vod. Dále jsou rozvedeny samotné pokročilé oxidační procesy a shrnuty současné poznatky v této oblasti. Ve výzkumné části jsou popsány použité analytické metody (LC-MS/MS a spektrofotometrie), designy jednotlivých experimentů a uvedeny výsledky testovaných variant. Kromě sledování účinnosti různých kombinací hydrodynamické kavitace a (oxidačního) činidla byla zkoumána i vhodnost použitých spojovacích materiálů na experimentální jednotce. A to z pohledu sorpce/desorpce na povrch hodnocených plastových materiálů (SBR, EPDM, PTFE, Tygon S3TM, PVDF a PVC). Na základě výsledků byl pak vybrán materiál pro sestavení jednotky, na které degradační experimenty probíhaly.

Zvolené metody odstraňování estrogenů z vody byly HC/H₂O₂, HC/O₃, HC/perkarbonát, HC/persulfát, samotná hydrodynamická kavitace a samotný H₂O₂. Design experimentů byl vytvořen za účelem co nejnižšího času potřebného na ošetření vody, ideálně jeden cyklus v jednotce (4 sekundy), což odpovídá průtokovému uspořádání systému.

Klíčová slova

Estrogény, pokročilé oxidační procesy, hydrodynamická kavitace, peroxid vodíku, perkarbonát, persulfát, ozon

Abstract

The presented doctoral thesis deals with the use of advanced oxidation processes combining hydrodynamic cavitation (HC) to produce hydroxyl and sulfur-based radical. The investigated micropollutants are selected natural estrogens estrone (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3) and synthetic 17 α -ethinylestradiol (EE2). The theoretical section includes information on the properties of estrogens, their occurrence and effects in the environment on non-target organisms across trophic levels; and list of options for their removal from wastewater. The advanced oxidation processes themselves are also discussed and current knowledge in this area is summarised. In the research section, used analytical methods (LC-MS/MS and spectrophotometry), designs of individual experiments and results of tested processes are described. In addition monitoring the efficiency of different combinations of hydrodynamic cavitation and other agent and the suitability of the materials used on the experimental unit were also investigated. The sorption/desorption onto the surface of selected plastic materials (SBR, EPDM, PTFE, Tygon S3™, PVDF and PVC) was also evaluated. Based on the results, the material for the unit - on which the degradation experiments were carried out - was selected.

The methods chosen for the removal of estrogens from water were HC/H₂O₂, HC/O₃, HC/percarbonate, HC/persulfate, hydrodynamic cavitation alone, and H₂O₂ alone. The design of the experiments was created to minimize the time required to treat the water, ideally one cycle per unit (4 seconds), which corresponds to the flow-through arrangement of the system.

Keywords

Estrogens, Advanced Oxidation Processes, Hydrodynamic Cavitation, Hydrogen Peroxide, Percarbonate, Persulfate, Ozone

Reference

PŘIBILOVÁ, Petra. Odstranění organického znečištění pomocí pokročilých oxidačních procesů. Brno, 2022. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/150143>. Dizertační práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí . Vedoucí práce Radka Opatřilová.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem disertační práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Disertační práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího práce a děkana FCH VUT.

.....

Ing. et Bc. Petra Příbilová

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala celému týmu Oddělení experimentální fykologie a ekotoxikologie Botanického ústavu AV ČR v.v.i., jmenovitě panu prof. Ing. Blahoslavu Maršálkovi, CSc. za ochotu a významnou pomoc stojící za vznikem této práce. Dále děkuji svým školitelkám specialistkám Mgr. Martině Repkové, Ph.D. a Ing. Kláře Odehnalové, Ph.D., za kvalitní mentoring a neuvěřitelnou podporu. Mé díky patří samozřejmě všem, kteří mi jakýmkoliv způsobem pomohli během celého studia a v nejnáročnějších chvílích byli oporou a pomocnou rukou, Peťovi a Jirkovi.

Věnováno paní profesorce RNDr. Miladě Vávrové, CSc.

Obsah

Úvod	3
1 Teoretická část	5
1.1 Relevantnost tématu: Mikropolutanty v životním prostředí	5
1.2 Estrogeny	10
1.2.1 Vlastnosti estrogenů	10
1.2.2 Estrogeny v životním prostředí	12
1.2.3 Působení estrogenů na necílové organismy	21
1.3 Odstraňování estrogenů z odpadních vod	28
1.4 Pokročilé oxidační procesy (<i>Advanced Oxidation Processes</i> , AOP)	34
1.4.1 Možnosti aplikace AOP	34
1.4.2 Výhody a nevýhody AOP	35
1.4.3 AOP založené na hydroxylových radikálech	36
1.4.4 AOP na bázi síranových radikálů	45
1.4.5 Faktory ovlivňující účinnost AOPs	55
1.5 AOP a odstraňování estrogenů z vod	59
2 Výzkumná část	61
2.1 Stanovení vybraných estrogenů pomocí LC-MS/MS	62
2.1.1 Chemikálie	62
2.1.2 Příprava vzorků	62
2.1.3 Analýza LC-MS/MS	63
2.1.4 Validace metody	65
2.1.5 Stanovení peroxidu vodíku ve vzorcích	66
2.1.6 Stanovení persíranu sodného ve vzorcích	67
2.2 Adsorpce a desorpce estrogenů na materiálech běžně používaných při manipulaci a odběru vzorků ve vodní matrici	68
2.2.1 Design experimentu	69
2.2.2 Statistické vyhodnocení dat	70
2.2.3 Výsledky: Krátkodobá expozice	70
2.2.4 Výsledky: Prodloužená expozice	72
2.3 Odstranění estrogenů pomocí AOP využívajících hydrodynamickou kavitaci	75
2.3.1 Hydrodynamická kavitace a peroxid vodíku	77

2.3.1.1	Design experimentu	77
2.3.1.2	Výsledky: Vliv koncentrace peroxidu vodíku	77
2.3.2	Hydrodynamická kavitace a ozon	80
2.3.2.1	Design experimentu	80
2.3.2.2	Výsledky	80
2.3.3	Aktivace perkarbonátu sodného hydrodynamickou kavitací	82
2.3.3.1	Design experimentu	82
2.3.3.2	Výsledky: Vliv dávky SPC	82
2.3.3.3	Výsledky: Vliv teploty	85
2.3.3.4	Výsledky: Vliv reakční doby po HC/SPC	86
2.3.4	Hydrodynamická kavitace jako aktivace persulfátu	87
2.3.4.1	Design experimentu	87
2.3.4.2	Výsledky	87
2.3.5	Porovnání energetické náročnosti AOP procesů založených na hydrodynamické kavitaci	90
	Diskuze	92
	Závěr	95
	Seznam použité literatury	96
	Seznam zkratk	135
	Seznam obrázků	137
	Seznam tabulek	138
	Seznam příloh	140

Úvod

Voda je základním kamenem života na Zemi a je nedílnou součástí našich každodenních aktivit. Přesto je nám k dispozici jako sladká voda pouze zhruba jedno procento. Pokud ještě vezmeme v úvahu rozrůstající se seznam kontaminantů životního prostředí, důležitost tématu jejich odstranění z vod je nepopiratelná. Aktuální skupinou kontaminantů jsou tzv. CECs (*Contaminants of Emerging Concern*), kam řadíme pesticidy, farmaka, produkty osobní péče, změkčovadla, zpomalovače hoření, povrchově aktivní látky, nanomateriály, barviva, mikrocystiny a jiné. Tyto kontaminanty ohrožují nejen životní prostředí jako celek, ale také mohou představovat závažná rizika pro zdraví lidí, jako jsou bolesti hlavy, nevolnosti, hormonální nerovnováha, poruchy plodnosti, poškození mozku, nervového systému, krevního systému i imunitního systému, vrozené vady, opožděný vývoj nebo rakovina [1]. Znečištění vod je závažným celosvětovým problémem. Nedostatek čisté vody způsobuje až 2,2 milionů úmrtí ročně a každodenně vede k tisícům onemocnění [2].

V zájmu ochrany lidského zdraví, zachování ekologické rovnováhy a zajištění udržitelnosti byla v posledních desetiletích vyvinuta řada technologií s účelem kvalitního zpracování průmyslových a komunálních odpadních vod před jejich vypouštěním do životního prostředí. Jedním z nejdůležitějších vývojových trendů v tomto směru jsou pokročilé oxidační procesy (AOP), fungující na bázi vysoce reaktivních radikálů - tradičně hydroxylových radikálů. Nicméně v posledních dvou desetiletích byla věnována značná pozornost technologiím AOP využívajících i radikály síry [3].

Jako každá technologie, AOP mají svá omezení. Právě proto je stále potřeba dalšího výzkumu, primárně metod, které mají potenciál převedení do praxe. Současně je nutné myslet na environmentální i ekonomický aspekt komerčního využití. To se týká hlavně energetické náročnosti procesu a potenciálního environmentálního zatížení spojeného s přidáváním dalších, často potenciálně škodlivých, chemikálií. Největší výhodou AOP je jejich neselektivnost, tedy potenciál odstraňovat nesčetné množství různých tzv. mikropolutantů z vodní matrice. Mezi takové látky patří bezpochyby i skupina označovaná jako endokrinní disruptory. Jedná se o látky, které interferují s endokrinním systémem živočichů a tím mohou závažně narušit fungování organismu. Jedním z nejčastěji diskutovaných zástupců této skupiny jsou estrogeny - ženské pohlavní hormony. Veřejnost již slyšela o působení hormonální antikoncepce (nebo spíše syntetického estrogenu v ní) na feminizaci rybích populací. Bohužel bylo zjištěno, že to zdaleka není jediný nežádoucí účinek a jedná se spíše o problém globálního charakteru ohrožující stabilitu mnoha ekosystémů po celé planetě. V tomto kontextu je výzkum nových technologií - ideálně univerzálně odstraňujících široké spektrum podobně znepokojujících kontaminantů - stále relevantní.

Cíle předložené dizertační práce jsou následující:

- přehled výskytu estrogenů v životním prostředí,
- popis stavu současného vědeckého poznání vlivu na necílové organismy,
- klasifikace a popis technologie pokročilých oxidačních procesů,
- využití laboratorní AOP jednotky pro rychlé odbourávání vybraných derivátů estrogenů s důrazem na výběr a testování vhodných polymerních materiálů pro minimalizaci případných vlivů sorpce estrogenů na tyto materiály,
- nalezení vhodné AOP technologie pro rychlé odbourání vybraných derivátů estrogenů z vod,
- vyhodnocení efektivity jednotky na procentuální úbytek množství estrogenů v matrici.

1 Teoretická část

1.1 Relevantnost tématu: Mikropolutanty v životním prostředí

Mikropolutanty (MP) lze definovat jako látky, které se ve (vodním) prostředí vyskytují nad (potenciální) úrovní přírodního pozadí v důsledku lidské činnosti, přičemž jejichž koncentrace zůstávají na stopových úrovních, tj. řádově v mikrogramech na litr [4].

Mikropolutanty ve vodě představují dynamický celosvětový problém, který závažným způsobem ohrožuje životní prostředí a lidské zdraví. Příčinou může být narušení fyziologických funkcí nebo chování široké škály živočichů napříč trofickými úrovněmi. Nejběžnějšími příklady MP v životním prostředí (ŽP) jsou pesticidy, léčiva, prostředky osobní péče, změkčovadla a mnoho dalších skupin, například hormony a endokrinní disruptory. Významnou vlastností mnohých MP je jejich perzistence, která společně s rostoucí spotřebou představuje jeden z důvodů, proč se stále častěji vyskytují ve vodě v měřitelných koncentracích. Zdravotní účinky MP jsou stále předmětem diskuze. Přestože se důkazy o nepříznivých účincích na savce z vodních zdrojů teprve zjišťují, vzhledem k rostoucím regulacím a z preventivních důvodů se odstranění těchto polutantů stalo prioritou [5].

Významnou skupinu MP tvoří tzv. endokrinní disruptory, neboli látky narušující endokrinní systém (ED). Přestože je společnost často chybně vnímá jako farmaka nižší kvality nebo vzácné kontaminanty, data naznačují, že opak je pravdou. Jeden z průzkumů amerického Úřadu pro kontrolu potravin a léčiv identifikoval více než 1800 chemických látek, které narušují alespoň jednu ze tří endokrinních drah (estrogen, androgen a štítnou žlázu). Z 575 chemických látek prověřených na pokyn Evropské komise byl u 320 prokázán potenciál narušení endokrinní činnosti [6].

ED jsou nyní považovány za vážnou a naléhavou hrozbu pro veřejné zdraví a mohou se stát jedním z hlavních environmentálních rizik na celém světě. Mezi nevládní organizace a vládní agentury, které dokumentují rychle přibývajícím důkazům a důsledkům pro lidské zdraví, patří Endokrinní společnost, Mezinárodní federace gynekologie a porodnictví, Světová zdravotnická organizace (WHO) a Program OSN pro životní prostředí (UNEP) a Americká pediatrická akademie. Zprávy těchto organizací popisují závažné nepříznivé účinky ED na endokrinní procesy v citlivých obdobích lidského vývoje a dlouhou dobu latence mezi expozicí a onemocněním v důsledku expozice chemickým látkám v raném věku, jako je DDT, které bylo spojeno s výskytem rakoviny prsu o půl století později. Interakce plodu s ED během prenatálního vývoje mohou s relativně vysokou pravděpodobností vést k předčasnému porodu, změnám v růstu plodu, budoucí neplodnosti a akutnímu narušení metabolických cest [6].

Tabulka 1: Významní zástupci skupiny endokrinních disruptorů a jejich použití [7]

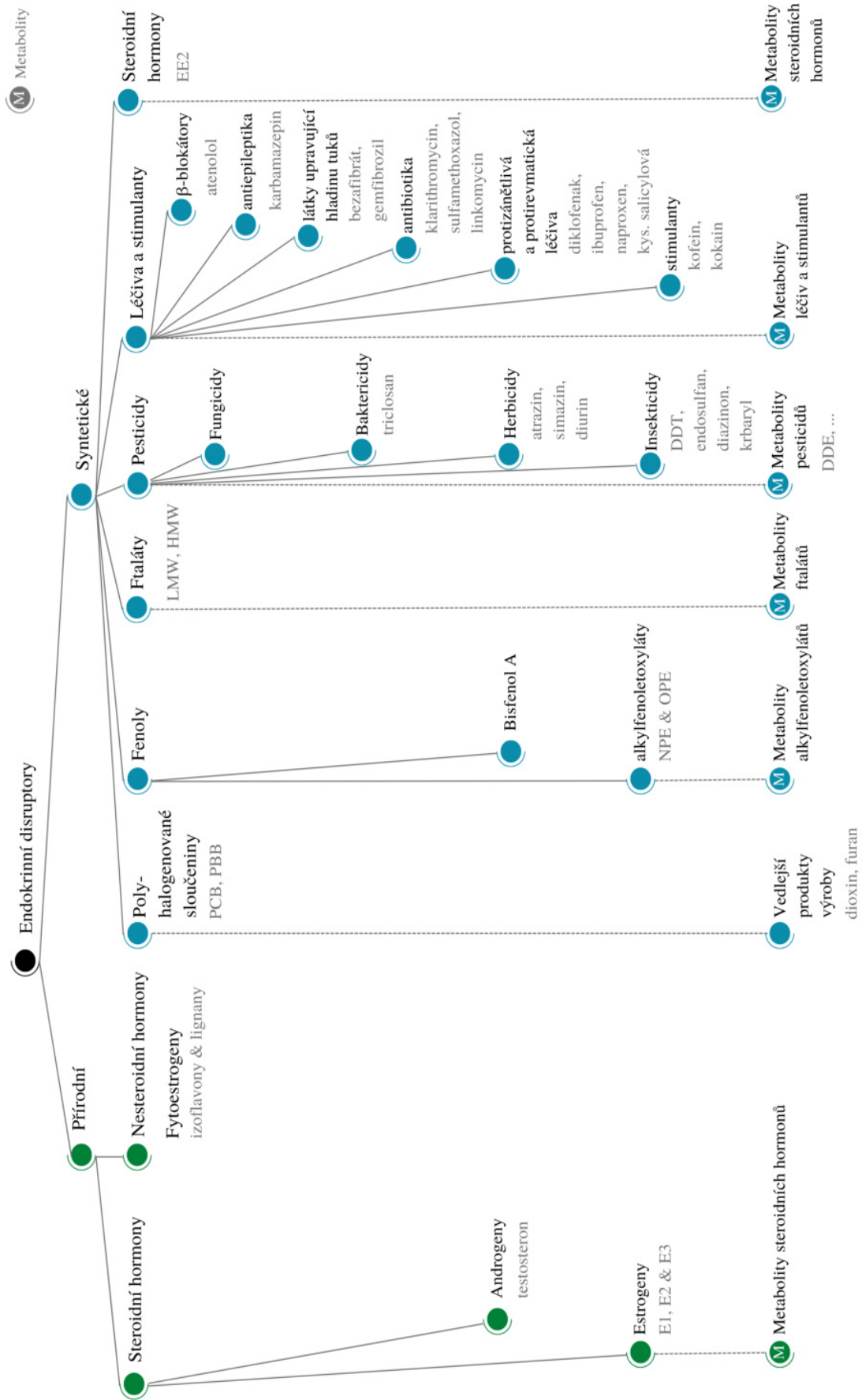
Farmaka	Trenbolonacetát, dexametazon, levonorgestrel, rosiglitazon
Kosmetika a produkty osobní péče	DBP, benzofenony, parabeny, triklosan, DEET
Pesticidy, herbicidy, fungicidy	Glyfosát, pyraklostrobin, DDT, atrazin
Průmyslové chemické látky	BPA, PCB, trifenyfosfát, PBDE
Kovy	Olovo, kadmium, rtuť, arzen
Syntetické a přirozeně se vyskytující hormony	Progesteron, testosteron, kortizol, estron, ethinylestradiol

Prenatální expozice ED může ovlivnit neurologický vývoj plodu minimálně dvěma hormonálními systémy: v souvislosti s pohlavními hormony a hormony štítné žlázy. Může vést ke změnám v dimorfizmu mozku nebo způsobit trvalé a celoživotní neurovývojové důsledky pro děti, včetně poruch pozornosti, poruch autistického spektra a kognitivních a behaviorálních dysfunkcí [6, 8].

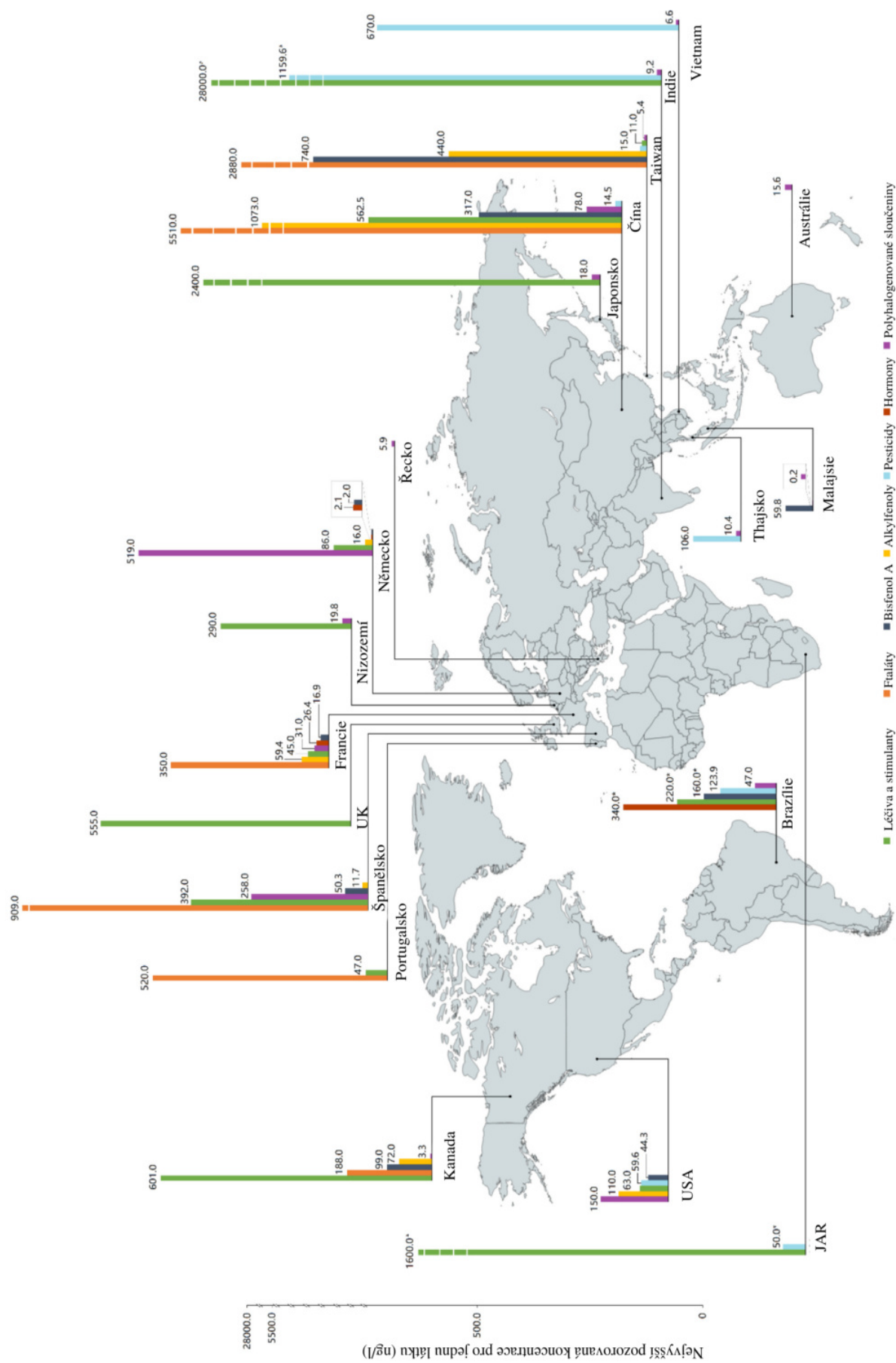
Kromě výše zmíněných negativních účinků jsou ED spojovány také se zvýšeným rizikem obezity, poruchami metabolismu (diabetes 2. typu), rakovinou prostaty, syndromem polycystických vaječníků, endometriózou a rakovinou vaječníků a prsu [6].

Endokrinní disruptory představují pro společnost značné náklady v důsledku nárůstu onemocnění a invalidity. Současně ale na rozdíl od jiných tříd toxických látek, jako jsou například karcinogeny, dosud nebyly zaneseny v právních předpisech jako nebezpečné látky. Ve vztahu k ED směřuje Evropská unie k minimalizaci expozice člověka, označení ED jakožto látek vzbuzujících mimořádné obavy a zákaz používání pesticidů. V USA se programy zaměřují na screening a testování primárně ED vykazujících estrogenovou aktivitu. Problémem pro přípravu legislativy zabezpečující minimalizaci expozice je chybějící jasná definice ED společně s nedostatečnými požadavky pro testování nových produktů před příchodem na trh [7]. Odhady finanční zátěže nemocí a zdravotního postižení obyvatelstva a nákladů na eliminaci poškození životního prostředí se ukázaly jako vhodný způsob interpretace závažnosti situace při realizaci politických rozhodnutí. Tyto nákladové odhady jsou založeny na přísné metodice, kterou poprvé popsala Národní akademie věd USA [9], a jsou využity k doložení potenciálních ekonomických přínosů kontroverzních politických opatření (např. postupné vyřazení olovnatého benzínu s ročním přínosem 110 až 319 miliard USD v USA [10] a 2-4 biliony USD celosvětově [11]) [7].

V posledních několika letech proběhla řada ekonomických průzkumů, které odhadovaly zátěž a náklady na onemocnění způsobené ED v souvislosti s různými následky, včetně neurobehaviorálních deficitů a onemocnění, poruch reprodukce u mužů, obezity a diabetu a poruch reprodukce u žen [7, 12]. Zjištěná ekonomická zátěž (163 miliard EUR v EU a 340 miliard USD v USA ročně) je i tak stále podhodnocená, protože byla zkoumána pouze malá podmnožina ED a zdravotních následků, které mohou být expozicí ED ovlivněny [13]. Tyto údaje ukazují, že legislativní regulace by prostřednictvím snížení nebo eliminace expozice mohla zlepšit zdraví občanů a současně vést k významným ekonomickým přínosům [7].



Obr. 1: Zařazení estrogenů do skupiny endokrinních disruptorů [14]

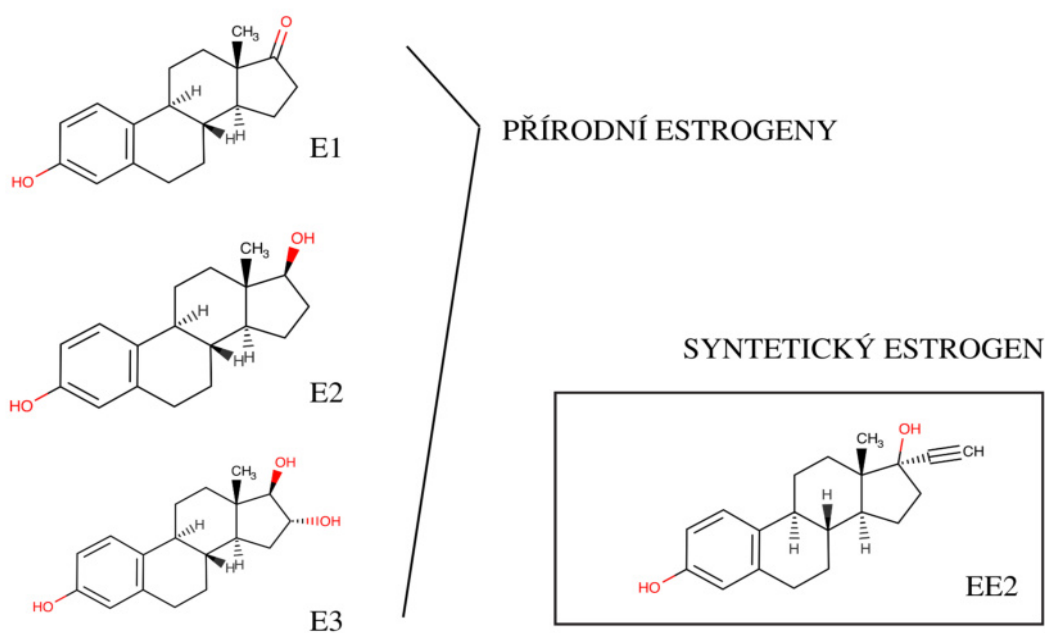


Obr. 2: Pozorované koncentrace ($\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) jednotlivých skupin endokrinních disruptorů ve světě [14]

1.2 Estrogeny

1.2.1 Vlastnosti estrogenů

Estrogeny patří mezi biologicky aktivní látky – hormony. Jsou odvozeny od cholesterolu a tvoří se v kůře nadledvinek, varlatech, vaječnících a placentě u lidí i zvířat. U některých rostlin byly rovněž nalezeny látky vykazující estrogenitu [15]. Steroidní estrogeny jsou často děleny na přírodní nebo syntetické hormony (Obrázek 3). O estrogenech se také mluví v souvislosti s tzv. endokrinními disruptory (ED), tedy látkami, které narušují správnou funkci žláz s endokrinní sekrecí [16].



Obr. 3: Struktury estrogenů E1, E2, E3 a EE2

Jako ED působí řada humánních i veterinárních, přírodních a syntetických hormonů, stejně jako některé rostlinné sloučeniny mimikrující estrogenní aktivitu. Vzhledem k jejich původu lze tyto sloučeniny také rozdělit do následujících skupin:

- i) Přírodní estrogení / androgení hormony: estron (E1), 17β-estradiol (E2), estriol (E3), testosteron, aj.
- ii) Syntetické hormony: 17α-ethinylestradiol (EE2), diethylstilbestrol, 19-norethindron aj.
- iii) Fyto- a mykoestrogeny: daidzein, genistein, zearalenon aj.

Tabulka 2 shrnující chemické vlastnosti nejběžnějších estrogenů mimo jiné srovnává jejich estrogenitu (sílu účinku) ve srovnání s E2. Tyto hodnoty jsou získány pomocí in vitro biotestu

s využitím kvasinek (tzv. YES test). YES test využívá rekombinantní lidský estrogenový receptor. Potenciál estrogenového účinku se liší v závislosti na typu použitého biologického testu a metodě stanovení; studie však ukazují, že EE2 a E2 mají nejvyšší estrogenitu a následují je E1 a E3 [15, 17]. Právě tyto sloučeniny představují ve vztahu k životnímu prostředí nejvyšší riziko, protože již velmi nízká koncentrace (rozmezí $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) nepříznivě ovlivňuje řadu vodních živočichů.

Tabulka 2: Fyzikálně chemické vlastnosti estrogenů [15]

hormon	Mr	rozpustnost ve vodě ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	Log Kw	pKa	potenciál estrogenity (YES)
estron (E1)	270,4	30	3,13	10,33	0,38 [18], 1 [15]
17 β -estradiol (E2)	272,4	3,6	4,01	10,38	1 [18], 1 [15]
17 α -estradiol	272,4	-	4,01	10,38	0,3 [18], 0,075 [15]
Estriol (E3)	288,4	441	2,45	10,33	0,024 [18], 0,001 [15]
17 α -ethinylestradiol (EE2)	296,4	116	3,67	10,33	1,19 [18], 1,5 [15]

Steroidní estrogény (také známé jako steroidní skupina C18) mají podobnou molekulární strukturu obsahující tetracyklický skelet a jednu fenolovou skupinu. Strukturální rozdíly jsou na pozicích C16 a C17; E1 má karbonylovou skupinu na C17, E2 má hydroxylovou skupinu na C17, zatímco E3 má dvě alkoholové skupiny na C16 a C17 (obr. 3). C17 hydroxylová skupina E2 může vytvářet α - nebo β - izomer. Konjugované estrogény, které také představují potenciální riziko pro životní prostředí, jsou tvořeny esterifikací volných estrogenů glukuronidovými a sulfátovými skupinami v poloze (polohách) C3 a/nebo C17 [15, 16].

Fyzikálně chemické vlastnosti těchto sloučenin hrají významnou roli při předvídání jejich osudu v životní prostředí. Jak je patrné z tabulky 2, estrogény jsou špatně rozpustné ve vodě. Hodnoty rozdělovacího koeficientu oktanol/voda (Kow), definovaného jako poměr koncentrace sloučeniny v n-oktanolu a vodě za rovnovážných podmínek při specifické teplotě, naznačují mírně hydrofobní chování a tedy tendenci sorpce na pevnou fázi [15, 19].

Většina estrogenů je z těla vyloučena močí v konjugované formě. Tyto polární konjugáty jsou biologicky neaktivní a ve vodě rozpustnější. Přesto na přítoku na čistírnu odpadních vod (ČOV) nalézáme primárně volné, nekonjugované, estrogény, což ukazuje na hydrolýzu konjugátů ještě před vstupem na čistírnu. Za ten jsou zodpovědné některé bakterie, jako například (*E. coli*) [20].

Vyskytují-li se tedy estrogény v životním prostředí, mohou vést k mnoha negativním důsledkům na zdraví nebo fungování organismů, které s ním přímo či nepřímo souvisejí. Mezi tyto efekty patří feminizace, dysregulace přírodních procesů souvisejících s reprodukcí, zhoršení celkového stavu

organismů, poruchy regulace apoptotických procesů [21] nebo dokonce podpora procesů vedoucích ke karcinogenezi [22, 23].

1.2.2 Estrogeny v životním prostředí

Zdroje estrogenů v ŽP

Zvýšený výskyt přirozených estrogenů ve velmi nízkých koncentracích v životním prostředí zkoumala řada odborných publikací a jedná se o nový problém kontaminace [16]. Voda je celosvětově znečištěna steroidními hormony, přičemž mnohé z nich se uvolňují z čistíren odpadních vod a odpadních vod z krmných zařízení pro hospodářská zvířata. Například v mlékárenském průmyslu se již dlouho používá řada steroidů regulujících růst, aby se zvýšila rychlost růstu skotu, účinnost krmiva a zajistila nárůst svalové hmoty. Tyto přísady však mají rizikové dopady na životní prostředí. Klíčový je řetězový efekt, protože zvířecí trus proniká do vodního prostředí. Steroidní estrogeny byly zjištěny ve výkalech, tekutém hnoji a pevném odpadu shromážděném od dobytka, v odpadních vodách z lagun a v hnojivech aplikovaných přímo na zemědělskou půdu [16, 24]. A právě chov zvířat je pravděpodobně největším zdrojem estrogenních hormonů v přírodním prostředí. Už v roce 2002 bylo v USA hospodářskými zvířaty vyloučeno přibližně 49 tun estrogenů a produkce stále roste. Ve Spojeném království činilo celkové vylučování estronu (E1) a estradiolu (E2) (populace hospodářských zvířat 1 315) 570 kg · rok⁻¹ [25].

Tabulka 3: Vybrané koncentrace estrogenů v zemědělství. ÚND = údaje nejsou k dispozici. [16]

Druh vzorku	E1	17 α -E2	17 β	E3	zdroj
prasečí kejda	5 900-150 000	4 000-84 000	1 800-49 000	ÚND	[26]
odpadní vody z prasečích farem	5 200-5 400	650-680	1 000-1 500	2 200-3 000	[16]
kravská kejda	2 500-80 000	2 000-5 000	800-27 000	ÚND	[26]
krmné stáje skotu	720	1 100	1 250	ÚND	[27]
odpadní vody z mléčných farem	370-2 356	1 750-3 270	351-957	ÚND	[26]

Významně vysoké množství přirozeného estrogenu E1 bylo pozorováno v lokalitách typu kejdy, těsně následované 17 α - a poté 17 β -E2. Studie zaměřující se na prasata a drůbež ukazují, že 17 β -estradiol je vylučován především ve výkalech (58 %), zatímco 17 α -estradiol a estron (E3) převážně v moči (96 % u prasat a 69 % u drůbeže) [16]. Tyto estrogeny si jako součást krmných programů v rámci intenzivního chovu snadno nacházejí cestu do povrchových a podzemních vod. V tabulce 3 je také poměrně nápadná absence sledování E3 poukazující na prostor pro rozsáhlejší výzkum. Podle průzkumu zaměřeného na odpady a kaly americké agentury US EPA obsahovalo přibližně

1 014 724 000 tun pevného odpadu, zejména zvířecího hnoje, odhadem 76 tun estrogenů. Právě jednou z identifikovaných cest, kterou se estrogены dostávají do ŽP, je přímá aplikace hnoje na zemědělskou půdu. V samotném hnoji se koncentrace 17α -estradiolu, 17β -estradiolu a estronu pohybují zhruba mezi 6 a $462 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ sušiny [16, 28].

Nejen, že je životní prostředí kontaminováno lidskou činností, významným zdrojem je lidská populace jako taková. Světová populace čítající přibližně 7 miliard lidí vypouští ročně přibližně 30 000 kg přirozených steroidních estrogenů (E1, E2 a E3) a dalších 700 kg syntetických estrogenů (EE2) pouze v důsledku užívání hormonální antikoncepce. V závislosti na publikovaném zdroji vylučují těhotné ženy v průměru $260\text{-}790 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{den}^{-1}$ estronu, $280\text{-}600 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{den}^{-1}$ 17β -estradiolu a 6 000 až téměř 10 000 $\mu\text{g} \cdot \text{den}^{-1}$ estriolu (tabulka 4) [16].

Tabulka 4: Průměrné vylučování steroidních estrogenů člověkem (na osobu) $\mu\text{g} \cdot \text{den}^{-1}$. ÚND, údaje nejsou k dispozici. [16]

	E1	17β -E2	E3	EE2
Těhotná žena	787	277	9 850	0
Žena v menopauze při hormonální léčbě	31,50	59,20	90,70	0
Žena v menopauze bez hormonální léčby	2,3-2,93	1,49-4	1-3,90	0
Žena (v rámci menstruačního cyklu)	3,50-9,32	2,40-6,14	4,40-17,4	0
Dítě (žena)	0,60	2,50	0,918	0
Dospělý muž	1,60-3,50	1,83-3,90	1,50-3,21	ÚND
Dítě (muž)	0,63	0,54	ÚND	0
Průměrná hodnota na osobu	19,00	7,70	8 100	0,41

Městské ČOV jsou tedy významným zdrojem znečištění steroidními estrogény, kdy vyčištěná odpadní voda zanáší do recipientu mnohdy významné koncentrace těchto látek [16]. Jako další významný zdroj byly identifikovány nemocnice. Několik šetření totiž odhalilo, že steroidní estrogény, zejména vysoké hladiny estriolu, byly nalezeny ve všech vzorcích nemocničních odpadních vod [29].

Výskyt estrogenů v ŽP

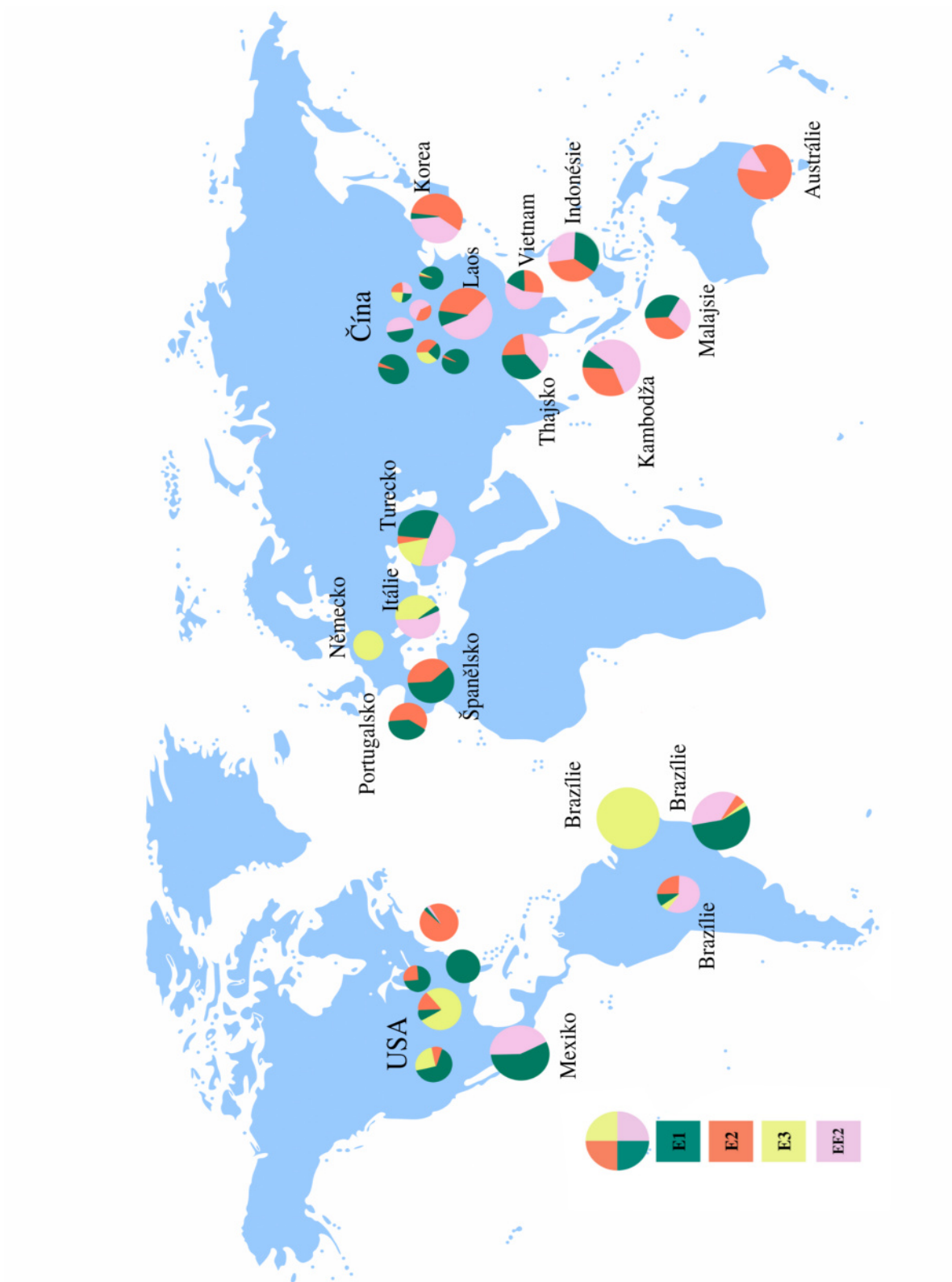
Jak již bylo zmíněno, estrogény nacházejí cestu do životního prostředí mnoha různými zdroji. Současně vzhledem k jejich fyzikálně chemickým vlastnostem není překvapivé, že byly detekovány v různých složkách ŽP, jako jsou povrchové a podzemní vody, pitná voda nebo i v půdní vodě, případně sorbované na půdách a sedimentech.

Tabulka 5: Výskyt přírodních estrogenů v ŽP v $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ [44]

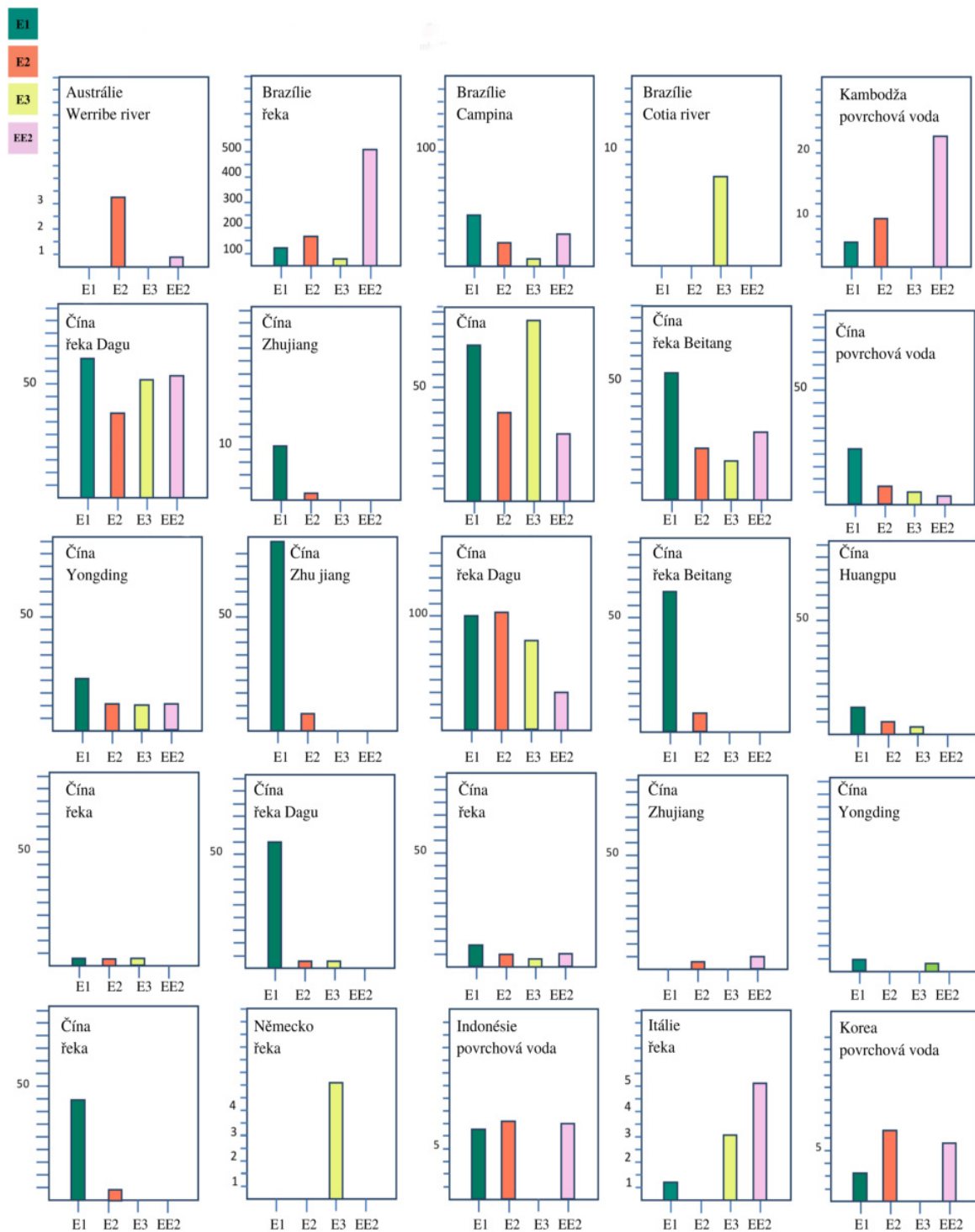
Matrice	Hodnota	E1	17 α -E2	17 β -E2	E3	Zdroj
řeka (3 lokality)	maximum	6,6	ND (0,2)	1,0	1,5	[30]
řeka (24 lokalit)	maximum	51	ÚND	3,4	5,0	[31]
řeka (77 lokalit)	rozsah	ND-7,3	ÚND	ND-7,8	ND-9,3	[32]
řeka (10 lokalit)	maximum	9,76	ND	0,86	0,70	[33]
řeka (26 lokalit)	rozsah	ND-16,0	ÚND	ND-5,79	ND-10,5	[34]
řeka (25 lokalit)	průměr	5	ND	5	32	[35]
29 řek (217 lokalit)	maximum	26	ÚND	10	31	[36]
jezero (4 lokality)	maximum	0,8	ND	ND	ND	[36]
mořská voda (15 lokalit)	maximum	0,52	ÚND	0,09	ND	[37]
splach se zemědělské půdy	průměr	58	12	ND	ND	[38]
ČOV přítok		44	ÚND	11	72	[39]
ČOV odtok		17	ÚND	1,6	2,3	
ČOV přítok		333	ÚND	5,0	89,0	[40]
ČOV odtok		14,8	ÚND	2,1	2,1	
ČOV přítok		<26	ÚND	<14	<52	[41]
ČOV odtok		<9,7	ÚND	<9,5	<10	
ČOV přítok	průměr	112,5	ÚND	8	70	[42]
ČOV odtok		7,7	ÚND	1,4	2,9	
ČOV přítok	průměr	72,7	ÚND	6,7	52,7	[43]
ČOV odtok		4,7	ÚND	0,8	2,4	
ČOV přítok	průměr	61	19	15	1 000	[35]
ČOV odtok		10	3	4	26	
nemocniční ČOV přítok		61	ND	8	591	
nemocniční ČOV odtok		12	ND	ND	70	

Obrázek 4 znázorňuje kontaminaci řek a povrchových vod v globálním měřítku. Z dostupných dat je patrné, že je tento jev omezen primárně na americký středozápad, na východní pobřeží Severní Ameriky, Mexiko, Brazílii a Chile, Evropu a Asii a jižní Austrálii. Otázkou zůstává, zda zbytek světa nepodléhá takové kontaminaci nebo prostě jen chybí data, která by znečištění potvrdila [16].

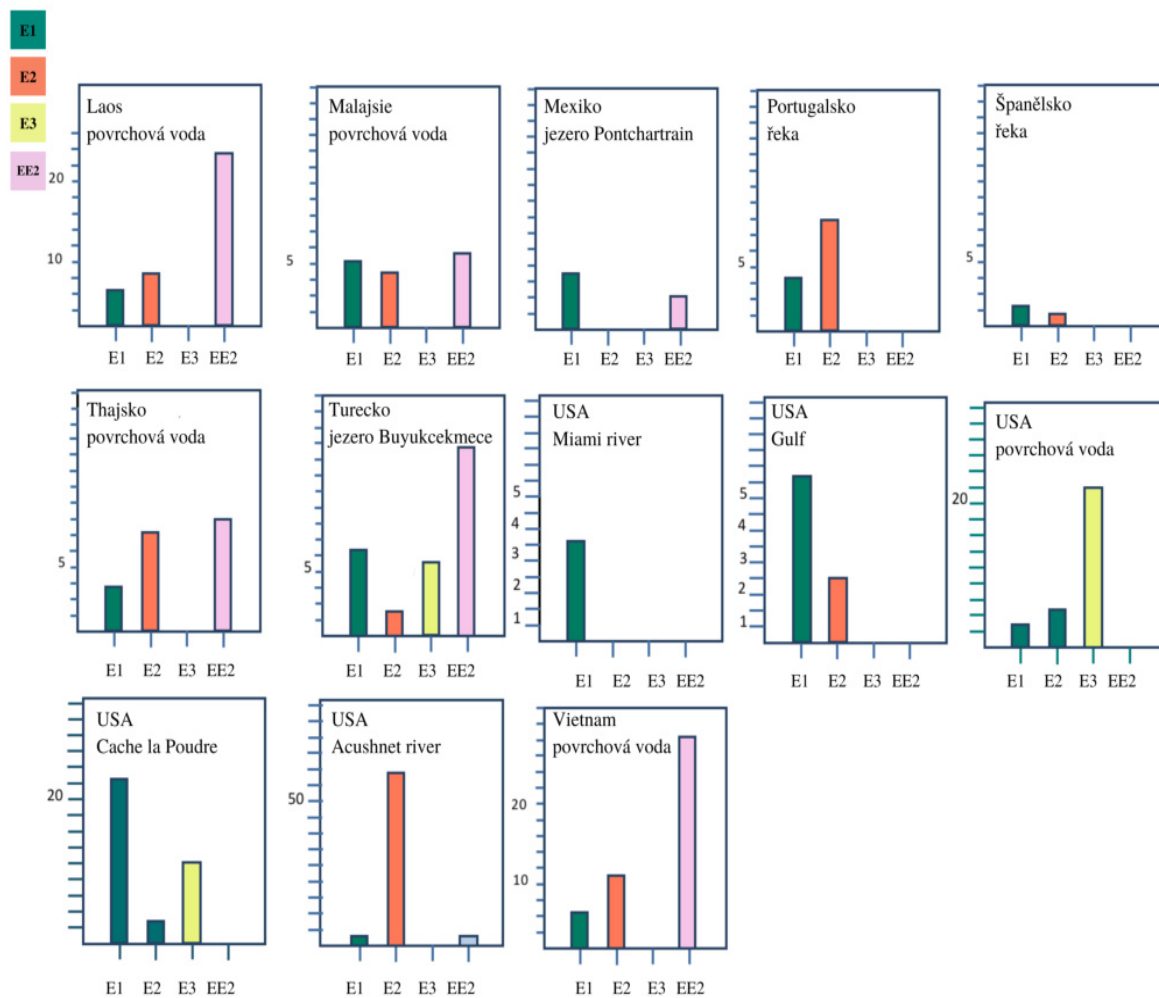
Současně obrázek 7 obdobně znázorňuje zastoupení estrogenů naměřených na čistírnách odpadních vod. I zde lze pozorovat, že distribuce zastoupení není uniformní, ale na různých lokalitách se výrazně liší [16].



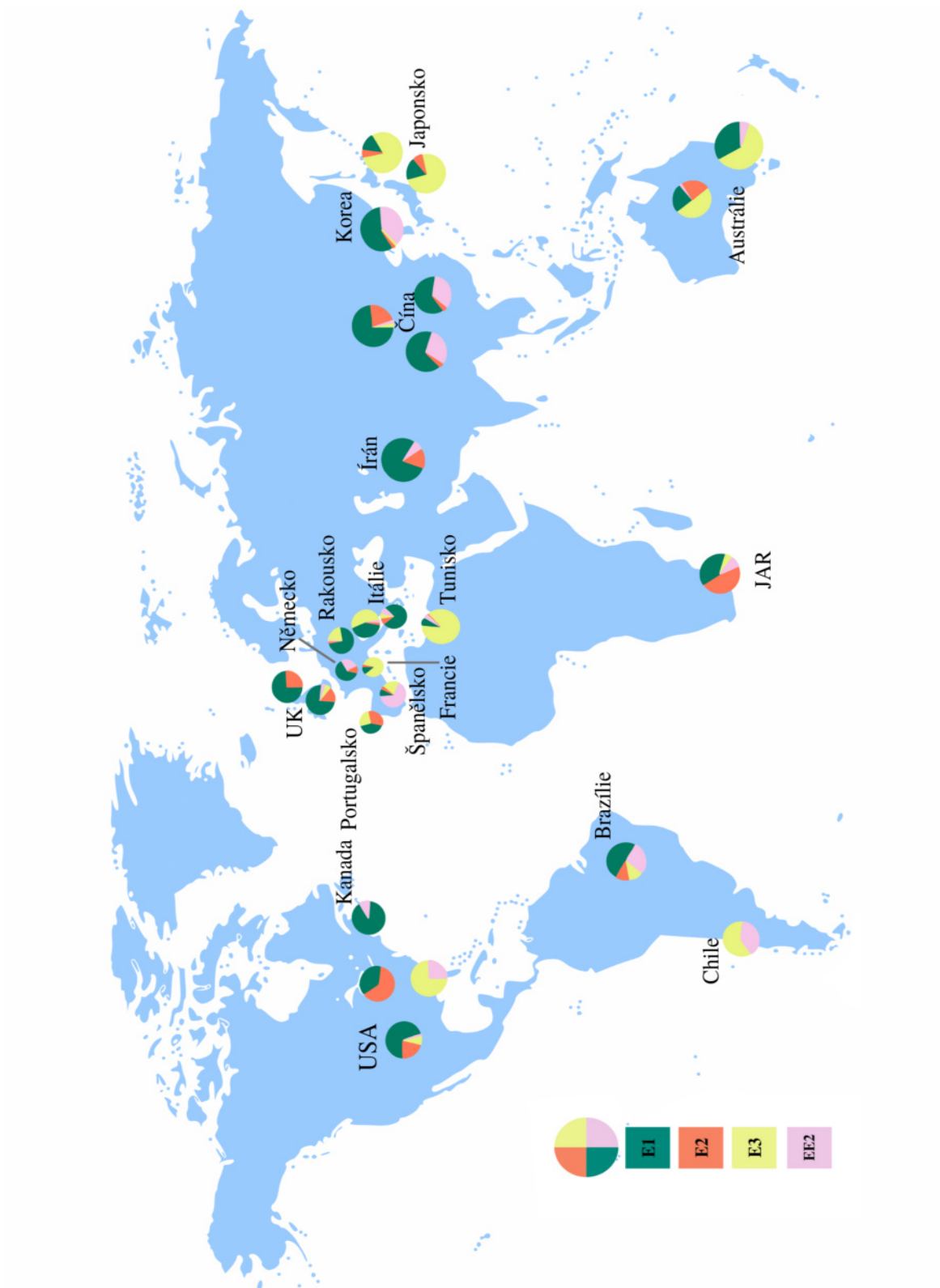
Obr. 4: Celosvětová distribuce estrogenu v říčních a povrchových vodách. Každý koláčový graf obsahuje přirozené estrogenu: E1, E2, E3 a syntetický EE2 jako procenta z celkového množství estrogenu detekovaném v dané lokalitě. (Na základě dat z obrázku 5 a 6) [16].



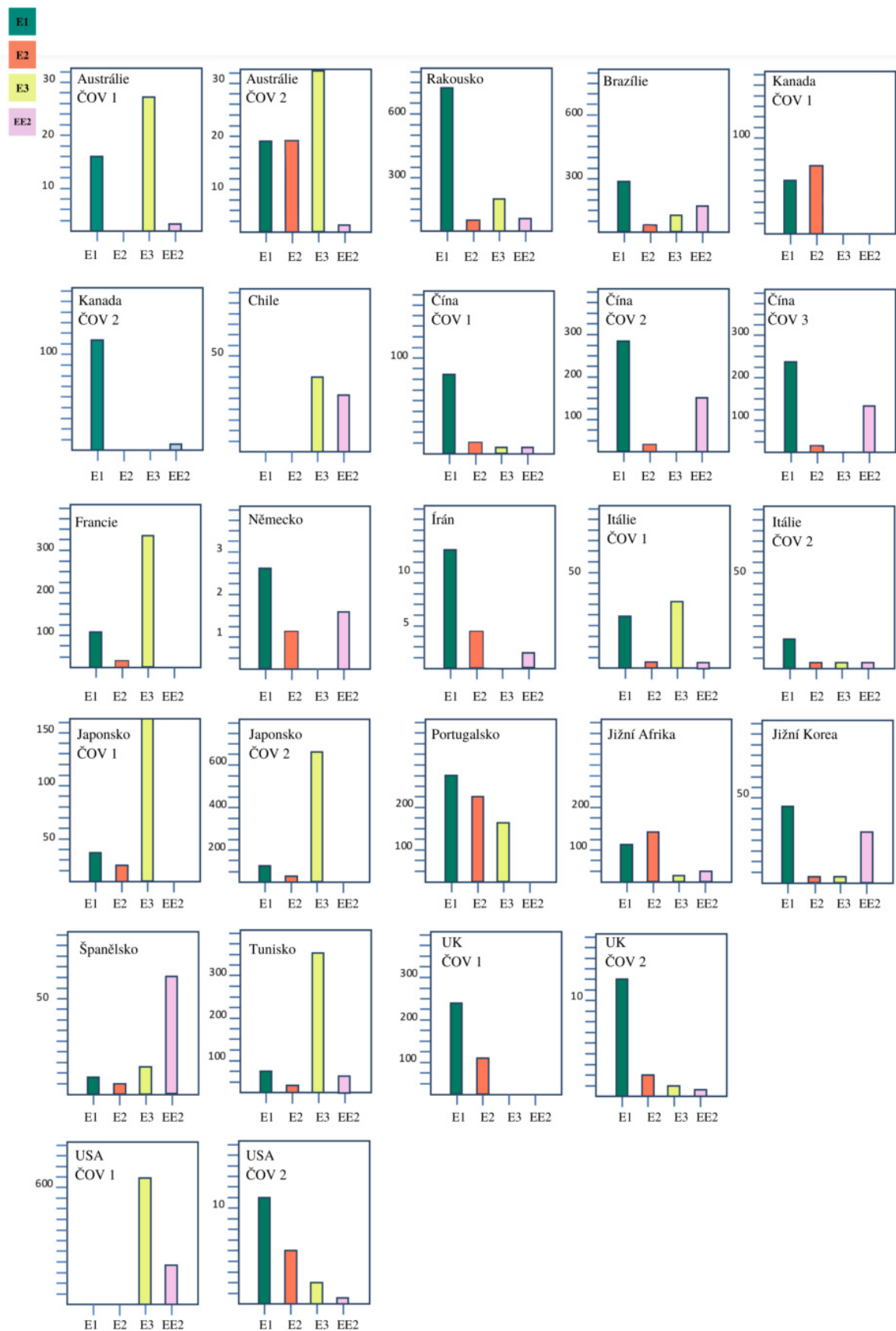
Obr. 5: Vstupní údaje pro obrázek 4 (1/2): Hladiny estrogenu v povrchových vodách ($\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) na různých lokalitách [16].



Obr. 6: Vstupní údaje pro obrázek 4 (2/2): Hladiny estrogenu v povrchových vodách (ng · l⁻¹) na různých lokalitách [16].



Obr. 7: Celosvětová distribuce estrogenů na ČOV. Každý koláčový graf obsahuje přirozené estrogeny: E1, E2, E3 a syntetický EE2 jako procenta z celkového množství estrogenů detekovaném v dané lokalitě. (Na základě dat z obrázku 8) [16].



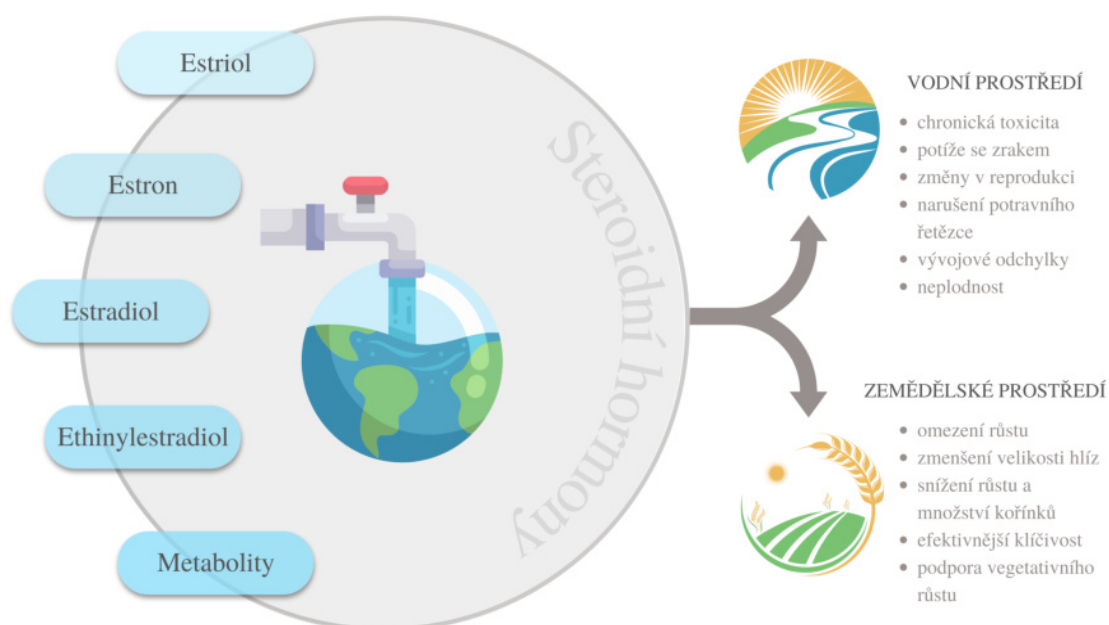
Obr. 8: Vstupní údaje pro obrázek 7: Hladiny estrogenu na ČOV ($\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) na různých lokalitách [16].

1.2.3 Působení estrogenů na necílové organismy

Výčet ověřených i potenciálních účinků na necílové organismy je sám o sobě rozsáhlý a váže se na princip působení těchto látek v těle. Estrogeny interagují s kompatibilními receptory v cytoplazmě buněk, jako komplexy jsou transportovány do jádra buňky a spouští proces transkripce. Současný výzkum stále přichází s novými poznatky ve spojitosti s funkčností a podobností jednotlivých receptorů i v oblasti dalších procesů na úrovni genové exprese [45].

Kromě živočichů byl pozorován i vliv na rostlině. Protože se zvýšené koncentrace estrogenů nacházejí v hnoji nebo čistírenském kalu často aplikovaném na zemědělskou půdu jako hnojivo, byly sledovány účinky primárně na zemědělské plodiny [16, 46].

Nejvýznamnější účinky na vodní organismy a zemědělské plodiny shrnuje obrázek 9 [46].



Obr. 9: Působení estrogenů v životním prostředí [46]

Následuje přehled nejvýznamnějších zjištění o účincích estrogenů na živočichy napříč trofickými úrovněmi.

Bezobratlí

Bezobratlí představují jednu ze skupin nejcitlivějších na kontaminaci životního prostředí - a to nejen estrogenu. Tento fakt souvisí s jejich životním stylem a neustálému vystavení látkám ve vodním prostředí v rámci buďto celého životního cyklu nebo v jeho nejkritičtějších fázích. V případě bezobratlých je také třeba věnovat pozornost mírně odlišnému fungování endokrinního systému, což ovšem nemění nic na tom, že přírodní i syntetické estrogenu mohou ovlivnit mnoho aspektů jejich života [47, 48].

Dostupná literatura zmiňuje rozmanitou škálu negativních vlivů na bezobratlé. Například u octomilky obecné (*Drosophila melanogaster*), významném modelovém organismu, při kontaktu s EE2 (jakožto přísadkou v krmném mediu) došlo k významnému poklesu plodnosti i úmrtnosti ve srovnání s kontrolou [49].

Další studie ukazuje, že přítomnost EE2 v životním prostředí nezmara obecného (*Hydra vulgaris*), blešivců (*Gammarus pulex* a *Hyalella Azteca*), pakomára (*Chironomus riparius*) a plovatky bahenní (*Lymnaea stagnalis*) může nepříznivě ovlivnit líhnutí, velikost, reprodukční chování i počet nakladených vajíček [45]. Přestože nejvýznamnější změny byly pozorovány při koncentracích převyšujících koncentrace v ŽP, byly odhaleny i případy statisticky významného vlivu při koncentracích kolem $30 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ [50], přičemž jako nejcitlivější organismus byla pozorována plovatka bahenní [45]. Přirozeně jsou ohroženy i juvenilní stádia měkkýšů. Byl potvrzen negativní účinek EE2 na vývoj ústřic (*Saccostrea glomerata*) [45, 51] nebo vliv na genovou expresi slávky (*Mytilus edulis*) již při relativně nízkých koncentracích E2 ($3,5\text{--}130 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$) [52]. Na druhou stranu studie provedená na hrotnatkách (*Daphnia magna*) v koncentracích EE2 do $1\,000 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ neprokázala žádný významný vliv na generaci F0 nebo na rychlost růstu potomstva [45, 53].

Ryby

Endokrinní systém ryb funguje velmi podobně jako endokrinní systém savců. Současně jsou působení estrogenů vystaveny jak přímo - životem v kontaminované vodě, tak i nepřímo - procesem bioakumulace, uvolňování estrogenů z říčních sedimentů nebo synergickým efektem způsobeným přítomností jiných kontaminantů, které mohou negativní účinky zvyšovat nebo až násobit [45, 54]. Estrogenu v tělech ryb neregulují pouze reprodukci, ale také teritoriální chování [55] nebo imunitní systém [56]. Jedním z nejčastěji diskutovaných účinků na ryby je feminizace samců. Ta se projevuje změnami jak primárních, tak sekundárních pohlavních znaků [45, 57, 58, 59]. Tyto změny mohou vést ke snížení počtu pohlavních buněk nebo jejich morfologickým změnám znemožňující reprodukci. Stejně tak může expozice estrogenům způsobit změny v genderové struktuře populací,

tj. nedostatku zastoupení (zdravých) samců [45, 57, 58, 60]. U samic byl zjištěn vliv na tvorbu a kvalitu jiker a to u řady sladkovodních i mořských druhů [60, 61].

Konkrétním příkladem je situace v jezerech v Kanadě, kde dlouhodobé vystavení EE2 (5–6 $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) významným způsobem ovlivnilo populaci střevle tuponosé (*Pimaphales promelas*); feminizace samců a změny v oogenezi samic vedly téměř k vyhynutí tohoto druhu v dané oblasti [62]. Obdobný efekt byl pozorován i v řekách ve Velké Británii u plotic (*Rutilus rutilus*) [63]. Některé studie také poukazují na poruchy periodické migrace lososovitých ryb způsobené přítomností estrogenů (E2) ve vodách [64, 65]. U některých estrogenů byly popsány i jiné toxické účinky. Například při vyšších koncentracích E1 v prostředí (1-100 nM) dánío pruhované (*Danio rerio*) vykazuje větší množství kosterních deformací než u kontroly [45, 66]. Dokonce byly pozorovány toxické účinky E1, E2 a E3 na jaterní buňky pstruha duhového (*Oncorhynchus mykiss*), přičemž jako nejtoxičtější se projevil E2 [67]. V tomto kontextu velmi optimistické výsledky přinesla modernizace kanadské ČOV na Grand River, kde velmi rychle došlo k poklesu koncentrace estrogenů v řece a k výraznému omezení počtu intersexuálních jedinců candátka modropásého (*Etheostoma caeruleum*) [45, 68].

Obojživelníci

Další skupinou, která má velmi blízko k vodnímu prostředí, jsou obojživelníci. Z toho přirozeně vyplývá vysoký potenciál ohrožení různými xenobiotiky ve vodách. Celosvětový trend v poklesu populace obojživelníků považuje několik studií právě za důsledek znečištění steroidními hormony [45, 69]. Negativní účinky estrogenů byly pozorovány na různých vývojových stádiích. Nejčastěji se jednalo o fyziologické a behaviorální změny, případně i smrt jedince [45]. Například samci hrotnatky vodní (*Xenopus laevis*) jsou po vystavení EE2 ochotni vokalizovat a tím pádem nepřilákají samičky. Současně samice méně reagují na výzvy k páření. Mimo to byl pozorován vliv EE2 (již od koncentrace pod $3 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$) na feminizaci populace, vznik abnormalit samčích gonád a také snížení hladiny testosteronu [70].

Přestože tyto výsledky poukazují na snížení reprodukční úspěšnosti obojživelníků (předpokládá se obdobný vliv EE2 i na jiné druhy, vzhledem k působení na specifickou část mozku obojživelníků), existují i studie poukazující na opačný efekt: v přítomnosti estrogenů se zesiluje odpověď Jacobsonova orgánu (v nosní dutině) na feromony [45, 71].

Plazi

Plazi jsou v kontextu působení xenobiotik v životním prostředí nejméně často sledovanými organismy. Účinek estrogenů na plazy je poměrně složité posoudit. Je to dáno zvláštnostmi jejich biologie - mohou žít v rozmanitých podmínkách, mají poměrně dlouhou délku života a určení pohlaví je dvojitý (genotypické i závislé na faktorech prostředí) [45]. Primárně je hodnocena hladina vitelogeninu v krvi zkoumaných jedinců. Zvýšené množství E2 vedlo ke zvýšené hladině vitelogeninu u želv (*Mauremys reevesii* a *Trachemys scripta*) a současně byl pozorován i negativní vliv na vývoj želvích vaječníků [45].

Vysoká hladina E2 v krvi samic aligátorů amerických (*Alligator mississippiensis*) vede k výskytu abnormální ovariální struktury s nadpočetnými folikuly a polynukleárními oocyty. U mladých samců se naopak objevuje podhodnocená hladina testosteronu [72].

Ptáci

U ptáků, stejně jako u savců, jsou estrogény biosyntetizovány v pohlavních žlázách a v jiných tkáních, jako je kůže, srdce, svaly, játra, mozek, tuková tkáň, slinivka břišní a nadledviny. Estrogény hrají klíčovou roli v kontrole reprodukčního chování a regulaci endokrinního systému a jsou nezbytné pro regulaci růstu a diferenciaci neuronů v mozku [45]. Zvýšená hladina estrogenů u ptáků snižuje plodnost, zpomaluje pohlavní dospívání samic a narušuje pářící chování samců i samic (např. vnímání samčích zvuků samicemi). Mimo to se hromadí v tkáních dospělých jedinců i ve vejcích, což může negativně až fatálně ovlivnit vývoj embryí [73]. Příliš vysoká hladina estrogenů v životním prostředí může také narušit chování ptáků, často zvyšuje riziko agresivního chování a zhoršovat fungování imunitního systému [45].

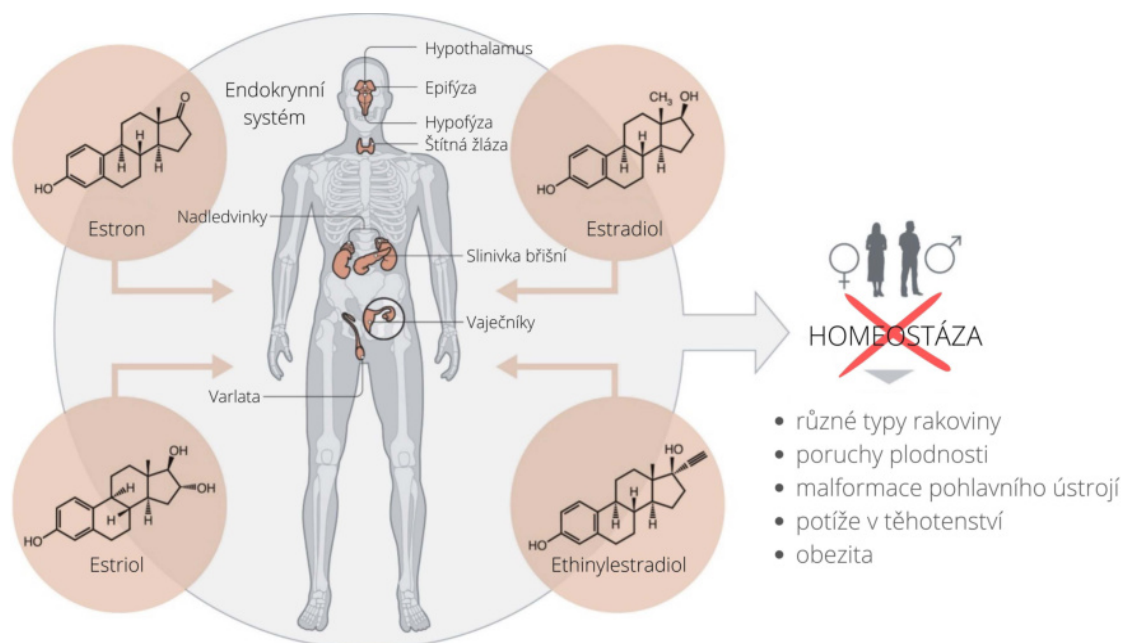
Savci

Estrogény se mohou do těla savců dostat mnoha způsoby. Například požitím kontaminované vody nebo přes kůži při kontaktu s ní [74], ale také prostřednictvím přijímané potravy, a to nejen v rámci kumulace trofickými úrovněmi ale dokonce i v mléce [75]. Byla již popsána řada potenciálních negativních účinků přítomnosti estrogenů v ŽP na savce, jako jsou poruchy reprodukce a snížení celkové kondice organismu [76]. Jednou z hrozeb je zvýšené riziko karcinogeneze u savců kteří jsou vystavováni zvýšeným koncentracím estrogenům [45], nejčastěji jde o rakovinu prsu, plic nebo prostaty [75, 77]. Estrogény mimo jiné ovlivňují i chuť k jídlu

a energetickou rovnováhu. Studie na zvířatech ukázaly, že narušení hladiny estrogenů může tuto rovnováhu narušit a vést k nadváze nebo až obezitě [78]. U myší se po podání dávky 17β -estradiolu objevily změny v produkci některých receptorů v kostní, mozkové i jaterní tkáni a současně byla negativně ovlivněna funkčnost jater [79]. Mezi nejzávažnější účinky estrogenů na samce savců patří poruchy vývoje, struktury a funkčnosti varlat již na úrovni genové exprese, kde estrogeny potlačují geny zodpovědné právě za samčí schopnost reprodukce. Tento účinek byl prokázán u E1, E2 i E3, přičemž jako nejsilnější se ukázal E2 [14]. Problémy s plodností v souvislosti s vystavením estrogenům byly pozorovány také u samic koní, ovcí a gepardů [80, 81].

Lidé

Hormonální systém člověka je zodpovědný za udržování homeostázy. Hormony, jako jsou estrogeny, mohou tedy ovlivňovat různé typy buněk a mohou mít specifické účinky, které ovlivňují nejen ženské pohlavní orgány. Ovlivňují také řadu patologických stavů, jako je rakovina prsu, varlat nebo prostaty, reprodukční dysfunkce a neplodnost [82]. Obzvláště neplodnost je v současnosti často diskutovaným tématem, právě v souvislosti s její rostoucí četností v populaci (postihuje přibližně 10-15 % párů ve věku 20-45 let a v 50 % případů postihuje ženy [83]). Nepříznivé důsledky účinků estrogenů na lidský organismus a potomstvo jsou shrnuty na obrázku 10.



Obr. 10: Negativní účinky estrogenů v životním prostředí na lidské zdraví [82]

Následující tabulka uvádí dostupné informace o přijatelném denním příjmu estrogenů v potravinách pro člověka. Je zde ovšem znát velký nepoměr mezi dostupnými daty pro 17β -E2 a jinými estrogeny [16].

Tabulka 6: Přípustný denní příjem estrogenů potravou pro člověka ($\mu \cdot \text{den}^{-1}$) [16]

	E1	17β -E2	EE2	Zdroj
Dospělý člověk (na 60 kg)	ÚND	3	ÚND	[84]
Dospělý člověk	0,1	0,1	ÚND	[85]
Dospělý člověk	ÚND	$8,2 \cdot 10^{-6}$	$5,6 \cdot 10^{-6}$	[86]
Kojenec	ÚND	$3,2 \cdot 10^{-6}$	$2,2 \cdot 10^{-6}$	[86]
Dítě (na 10 kg)	ÚND	0,5	ÚND	[84]
Muž	1	ÚND	ÚND	[87]
Žena	50	ÚND	ÚND	[87]

Údaje týkající se potenciálních rizik a úlohy jednotlivých estrogenů jsou shrnuty v tabulce 7.

Tabulka 7: Souhrn potenciálních rizik a úlohy jednotlivých estrogenů [45]

	Funkce	Účinek
E1	Řídí menstruační cyklus a má zásadní roli v endokrinním systému žen po menopauze. Hraje roli v osteoblastogenezi.	Gonadální abnormality, snížená plodnost, poruchy páření, zvýšená hladina tyreotropinu a vitellogeninu v krevní plazmě, zvýšená hladina kaspázy-3 a snížená aktivita cholinesterázy, může vyvolat proapoptotickou a anti-apoptotickou aktivitu, neurotoxicita.
E2	Řídí menstruační cyklus, reguluje správný vývoj ženských pohlavních orgánů, podílí se na regulaci neuroendokrinního, kosterního a imunitního systému u mužů a žen. Nejsilnější estrogen.	Gonadální abnormality, snížená plodnost, zvýšená hladina vitellogeninu v séru a tkáních, může vyvolat proapoptotickou a anti-apoptotickou aktivitu, neurotoxicita. Ovlivňuje chování zvířat při páření, potenciálně karcinogenní.
E3	Reguluje průtok krve v placentě.	Gonadální abnormality, snížená plodnost, zvýšená hladina vitellogeninu v séru a tkáních.
EE2	Syntetický estrogen, používaný zejména jako hormonální antikoncepce nebo při hormonální léčbě. Inhibuje ovulaci.	Gonadální abnormality, snížená plodnost, snížení tělesné hmotnosti, zásah do menstruačního cyklu, poruchy chování, zvýšená hladina vitellogeninu v séru a tkáních. Může vyvolat proapoptotickou anti-apoptotickou aktivitu.

1.3 Odstraňování estrogenů z odpadních vod

Účinnost odstraňování estrogenů na běžných ČOV se značně liší a to nejen v závislosti na použité technologii, konfiguraci čistírny a provozních parametrech. Dalšími důležitými faktory jsou vlastnosti samotné odpadní vody, související s lokalitou (množství obyvatel, zeměpisné podmínky, kultura, aj.). Například byla pozorována vyšší účinnost během léta (26,4 °C) než v zimě (16,4 °C) [88]. Podobný jev byl potvrzen u teplot 20 °C a 10 °C [89] a v dalších studiích [90].

Co se týče biologického odstraňování, delší kontaktní čas s aktivovaným kalem dle předpokladů hned v několika studiích vedl k vyšší účinnosti procesu [90, 91, 92]. Aby ovšem bylo odstranění přirozených estrogenů z odpadních vod (OV) úplné, uvádí Clara a kol. čas alespoň 10 dní [93].

V tabulce 8 je možné pozorovat účinnosti různých technologických procesů při eliminaci E1, E2 a E3. Je zřejmé, že aktivační proces poměrně nespolehlivý při dosahování uspokojivých výsledků u všech sledovaných látek, přičemž o něco lépe vychází hodnoty pro E1 než pro E2 a E3. Bohužel právě E2 například vykazuje vyšší karcinogenitu i estrogenitu [90]. Tyto výsledky vypovídají o tom, že nejrozšířenější čistírenský proces na městských ČOV není z pohledu moderního přístupu zaměřeného na eliminaci širokého spektra mikropolutantů dostačující.

Tabulka 8: Účinnosti odstranění přírodních estrogenů na městských ČOV; SBR (*sequencing batch reactor*) vsádkový reaktor; BF biologická filtrace; MBR membránový bioreaktor ^a uvedeno jako minimum-maximum (průměr); ^b na základě tří různých ČOV; ^c na základě osmi různých ČOV; ^d na základě dvou různých ČOV; ^e na základě pěti různých ČOV; ⁿ na základě čtrnácti různých ČOV [90]

	proces	země	přítok ^a (ng · l ⁻¹)	odtok ^a (ng · l ⁻¹)	účinnost (%)	zdroj
E1	aktivace	Německo	- (27)	ND-70 (8,6)	68	[26]
	aktivace	Německo	- (188)	- (12,6)	93,3	[94]
	aktivace ^b	Německo	ND-143,1 (62)	ND-91 (35)	43,5	[95]
	aktivace	Itálie	13-75 (44)	ND-0,5 (0,25)	99,4	[96]
			0,5-32 (11,2)	ND-0,5 (0,25)	97,8	
			3-71 (31,3)	ND-54 (28,3)	9,6	
			14-38 (28,3)	ND-19 (10)	64,7	
			13-32 (21)	ND-52 (24)	-14,3	
	aktivace	Itálie	15-60 (35)	5-30 (16)	54,3	[97]
	aktivace ^c	Kanada	8-25 (16)	1-54 (5)	68,8	[98]
SBR	Kanada	- (72,3)	- (4,9)	93,2	[99]	

	BF	Kanada	ND-19 (9)	ND-147 (41)	-355,6	[100]
	aktivace ^d	Kanada	13,1-104 (49,8)	11,2-205 (26,6)	46,6	[101]
	aktivace	UK	- (44,7)	- (1,2)	97,3	[102]
	aktivace ^d	Španělsko	11,6-493,9 (99)	7,7-196,8 (30)	69,7	[103]
	SBR	Austrálie	- (54,8)	- (8,1)	85,2	[104]
	aktivace	Austrálie	- (45)	- (5)	88,9	[105]
	aktivace	USA	- (50,7)	- (0,9)	98,2	[106]
	aktivace/BF/SBR ^b	USA	57,8-83,3 (66,7)	6,3-49,1 (22,3)	66,6	[107]
	aktivace/BF	USA	- (2,8)	ND-12,3 (10)	-257,1	[108]
	aktivace	USA	27-28 (27,5)	ND-24 (14,5)	43,7	[109]
	aktivace	USA	5-20 (12,5)	2-10 (6)	52	[110]
	aktivace ^e	Japonsko	ND-197 (20,7)	ND-110 (19,5)	5,8	[88]
	aktivace	Japonsko	- (18)	- (105)	-476,9	[111]
	aktivace	Japonsko	- (36,5)	- (45,5)	-27,9	[112]
	aktivace	Čína	30,2-62,5 (38,6)	24,1-60,5 (12,6)	67,4	[113]
	aktivace	Čína	- (56,2)	- (12)	78,6	[114]
	aktivace	Čína	29,5-36,3 (35,5)	1,5-8,7 (7,8)	78	[115]
	aktivace	Čína	10,2-34,9 (20,2)	8,3-14 (10,2)	49,5	[116]
	aktivace	Rakousko	- (34)	- (72)	-111,8	[93]
			- (60)	- (8)	86,7	
			- (670)	- (1)	99,9	
			29-81 (60,3)	ND-4 (2)	96,7	
	MBR		29-81 (60,3)	ND-21 (7,7)	87,2	
	aktivace/BF ⁿ	Francie	21,7-181 (78,8)	0,2-64,9 (8,2)	89,6	[89]
E2	aktivace	Německo	- (11,8)	(0,8)	93,2	[94]
	aktivace ^b	Německo	ND-89,6 (20)	ND-44,6 (17)	15	[95]
	aktivace	Itálie	7-10 (8,5)	ND-0,5 (0,25)	97,1	[96]
			0,5-20 (8,6)	ND-6 (0,25)	65,1	
			6-17 (13)	ND-7 (3,7)	71,5	
			4-10 (7,7)	ND-3 (1,7)	77,9	
			0,5-8 (4,2)	ND-4 (2,3)	45,2	
	aktivace	Itálie	10-31 (25)	3-8 (6)	76	[97]
	aktivace ^c	Kanada	3-22 (9)	1-2 (2)	77,8	[98]
	SBR	Kanada	- (26,5)	- (4,4)	83,4	[99]

	BF	Kanada	ND-11 (5)	ND-12 (5)	0	[100]
	aktivace ^d	Kanada	ND-66,9 (16,4)	ND-26,7 (8,8)	46,3	[101]
	aktivace	UK	- (22,9)	- (0,2)	99,1	[102]
	aktivace ^d	Španělsko	30,4-373,5 (138)	ND	100	[103]
	SBR	Austrálie	- (22)	- (0,95)	95,7	[104]
	aktivace	Austrálie	- (19)	- (5)	73,7	[105]
	aktivace	USA	- (10,3)	- (0,3)	98,1	[106]
	aktivace/BF/SBR ^b	USA	ND-161,6 (57,6)	ND-5,4 (2,3)	96	[107]
	aktivace/BF	USA	ND-72,6 (52)	ND-16,1 (6,4)	87,7	[108]
	aktivace	USA	1-10 (5)	- (0,5)	90	[110]
	aktivace ^e	Japonsko	ND-25,8 (4,9)	ND-16,7 (2,6)	46,9	[88]
	aktivace	Japonsko	- (17,2)	- (10,2)	40,7	[111]
	aktivace	Japonsko	- (84,9)	- (4,6)	94,6	[112]
	aktivace	Čína	9,4-41,3 (21,4)	8,5-35,8 (17,9)	16,4	[113]
	aktivace	Čína	- (15,7)	- (1)	93,6	[114]
	aktivace	Čína	12-23,9 (15,7)	4,1-4,8 (4,7)	79	[115]
	aktivace	Čína	46,6-93 (62,5)	8,7-32,4 (19,2)	69,3	[116]
	aktivace	Čína	- (64,8)	- (22,8)	64,8	[117]
	aktivace	Rakousko	- (54)	- (30)	44,4	[93]
			- (24,5)	- (5)	79,6	
			- (46)	- (5)	89,1	
			67-125 (91,3)	ND-8 (5,7)	93,8	
	MBR		67-125 (91,3)	ND-6 (3)	96,7	
	aktivace/BF ⁿ	Francie	3,5-49,9 (23,7)	1,1-11,3 (4,2)	82,3	[89]
E3	aktivace ^b	Německo	ND-510 (108)	ND-251 (62)	99,5	[95]
	aktivace	Itálie	27-103 (65)	ND-0,7 (0,35)	97,1	[96]
			2-120 (52,3)	ND-18 (6,2)	88,1	
			33-70 (13)	ND-5 (3)	94,5	
			43-102 (73,7)	ND-28 (13)	82,4	
			22-52 (43,7)	ND-20 (9)	79,4	
	aktivace	Itálie	23-48 (31)	0,5-1 (1)	96,8	[97]
	BF	Kanada	ND-22 (9)	ND-29 (15)	-66,7	[100]
	aktivace/BF/SBR ^b	USA	ND-259,2 (113)	ND-3,9 (2)	98,2	[107]
	aktivace/BF	USA	ND-26,9 (19,4)	ND-3,4 (3)	84,5	[108]

aktivace	USA	155-179 (167)	- (5)	97	[109]
aktivace	USA	10-100 (20)	- (2)	90	[110]
aktivace	Japonsko	- (2)	- (5,5)	-175	[111]
aktivace	Japonsko	- (65,6)	ND	100	[112]
aktivace	Čína	25,6-82,4 (53,9)	23,2-76,3 (47,5)	11,9	[113]
aktivace	Čína	- (26,2)	- (0,2)	99,2	[114]
aktivace	Čína	49,8-216,9 (112,4)	ND-15,8 (6,3)	94,4	[116]
aktivace	Rakousko	- (336)	- (275)	18,2	[93]
		- (23,5)	- (17)	27,7	
		- (146)	- (1)	99,3	
		326-660 (453)	ND-1 (1)	99,8	
MBR		326-660 (453)	ND-1 (1)	99,8	
aktivace/BF ⁿ	Francie	28,8-676 (313)	10,6-58,3 (33,5)	89,3	[89]

Tabulka 9: Účinnost biologického odstranění EE2 [131]

proces	účinnost (%) ^a	zdroj
aktivace	>90	[118]
aktivace	1,5-1,8	[119]
aktivace	>90	[120]
nitrifikace	>95	[121]
kultury získané z jezerní vody a sedimentů	0	[122]
bioreaktor	<65	[123]
MBR	80	[124]
aktivace	20	[125]
nitrifikace	<50	[126]
aktivace	3 (24 hod), 5,6 (7 dní)	[102]
bioreaktor (nitrifikace)	90	[127]
aktivace (anaerobní podmínky)	>97	[128]
MBR	65	[129]
aktivace (anaerobní podmínky)	<40	[130]

Kromě vysoké variability účinnosti biologického odstraňování estrogenů je také diskutabilní podíl skutečné biodegradace a sorpce na aktivovaný kal. V případě sorpce se problém přítomnosti estrogenů pouze "přesouvá" z odpadní vody do kalového hospodářství. Alternativou k (v tomto kontextu) relativně nespolehlivému procesu nitrifikace/denitrifikace je využití membránových technologií. Membránová filtrace, jako je mikrofiltrace (MF), ultrafiltrace (UF), nanofiltrace (NF) a reverzní osmóza (RO), se ukázala jako vhodná varianta eliminace mikropolutantů včetně steroidních hormonů z vody. Nicméně membránové technologie otevírají otázku, jak účinně nakládat se zakoncentrovaným odpadem.

Tabulka 10: Účinnost odstranění EE2 pomocí membránových technologií [131];^a za optimalizovaných podmínek; HFMF membrána s dutými vlákny

estrogen	zadržení (%)	typ membrány	zdroj
E1	99	RO	[132]
	98	HFMF	[133]
	99	NF/RO	[134]
	90	NF/RO	[135]
	>99	NF	[136]
	63	NF	[137]
	95	NF	[138]
	97	NF	[139]
	42	NF	[140]
	44	UF	[140]
	100	NF	[141]
	98	NF/RO	[142]
	100	MF	[143]
	95	NF	[144]
	E2	83	RO
90		NF/RO	[135]
>99		NF	[136]
>95		NF	[146]
>95		UF	[146]
77		NF	[137]
40		NF	[140]
8	UF	[140]	

	100	NF	[141]
	100	NF	[147]
	100	NF/RO	[142]
E3	>99	NF	[136]
	70	NF	[137]
	>95	NF/RO	[148]
	38	NF	[140]
	97	NF	[149]
	100	NF/RO	[142]
EE2	>99	NF	[136]
	90	NF	[137]
	60	NF	[140]
	34	UF	[140]
	99	NF/RO	[142]

1.4 Pokročilé oxidační procesy (*Advanced Oxidation Processes, AOP*)

Pokročilé oxidační procesy jsou technologické procesy založené na principu radikálových chemických reakcí. Objevením Fentonovy reakce koncem 19. století byly položeny základní kameny dnes propracovaným a stále se rozvíjejícím technologiím. První průmyslové aplikace byly provedeny již v polovině 20. století. Využívaly Fentonovu oxidaci k eliminaci fenolu a jeho derivátů z průmyslových odpadních vod. Za nedlouho potom našly své uplatnění také jako technologie pro sanaci podzemních vod a následně jako moderní vodárenské technologie [150, 151, 152]. Podstatou AOP je formace silně oxidačních radikálů, nejčastěji hydroxylových $\bullet\text{OH}$ nebo na bázi síry (např. sulfátový radikál $\bullet\text{SO}_4^{4-}$). Radikály reagují s organickými sloučeninami a potom následuje řada degradačních reakcí destabilizované molekuly [152, 153]. Reakcí hydroxylového radikálu s organickou látkou vzniká uhlíkový radikál $\text{R}\bullet$ nebo $\text{R}\bullet\text{-OH}$, který může za přítomnosti kyslíku přejít na peroxy radikál $\text{ROO}\bullet$. Všechna tato nestabilní uskupení podléhají degradaci až mineralizaci molekuly. Současně jsou tvořeny další velmi reaktivní molekuly, jako například peroxid vodíku H_2O_2 , případně superoxidový radikál $\text{O}_2\bullet^-$ [150, 153]. V důsledku své vysoké reaktivity mají radikály velmi krátkou životnost. Je proto nutná jejich tvorba in situ, a to celou řadou různých procesů. Principy těchto metod jsou popsány v dalších kapitolách.

1.4.1 Možnosti aplikace AOP

AOP mohou být aplikovány při úpravě pitných vod (eliminace mikroznečištění, zbarvení a dezinfekce), čištění městských a průmyslových odpadních vod nebo také procesních vod s vysokými požadavky na čistotu [154, 155]. Specifikem průmyslových odpadních vod je často požadavek na schopnost aplikované technologie odstranit bez omezení i toxické látky. Přítomnost toxických látek může silně omezit nebo znemožnit úspěšný chod tradiční biologické čistírny odpadních vod. Takové vody musí být náležitě předčištěny, pokud jsou vypouštěny do kanalizace za účelem dočištění na ČOV. Předúprava pomocí chemické oxidace běžnými oxidačními činidly typu KMnO_4 je velmi limitována faktem, že většina průmyslově využívaných toxických látek je tímto činidlem oxidovatelná jen částečně [151, 156].

Reakce radikálu s organickou látkou je neselektivní. AOP mají potenciál pro odstranění organických polutantů různých skupin, jakými jsou;

- léčiva,
- pesticidy,
- produkty osobní péče,

- barviva,
- syntetická sladidla,
- halogenované sloučeniny
- aj. [150, 153].

Přestože k tvorbě požadovaných radikálů může docházet různými cestami, mají AOP řadu společných znaků:

- reakce radikálu s organickou látkou je málo selektivní,
- reakce radikálu s organickou látkou je velmi rychlá,
- probíhají za normálního tlaku a za běžných teplot,
- nejsou omezeny toxicitou eliminovaných látek,
- jsou variabilní díky rozmanitosti možností tvorby radikálů [151].

1.4.2 Výhody a nevýhody AOP

Jako každá technologie, mají AOP nejen své výhody, ale také praktická omezení. Zásadní výhodou je již zmiňovaná nízká selektivita reakce radikálu s nežádoucími látkami a s tím spojené široké spektrum aplikací. Rychlost těchto procesů zajišťuje nízké nároky na dobu zdržení. Až na Fentonovu a Foto-Fentonovu oxidaci nevzniká v průběhu technologie odpad. To znamená, že látky jsou přímo ve vodě rozloženy, nikoliv odseparovány. Zároveň je vedlejším produktem AOP dezinfekce ošetřené vody, což je v některých případech vítanou přidanou hodnotou. Na druhou stranu pořizovací náklady mohou být pro některé subjekty až příliš ekonomicky náročné a v důsledku nutnosti spotřeby elektrické energie jsou poměrně vysoké i jejich náklady na provoz. Zásadní vliv na účinnost technologie má kvalita odpadní vody. Nejedná se pouze o zákal, který znemožňuje patřičný průnik UV záření, ale také její chemické složení a přítomnost takzvaných pohlcovačů radikálů (může jít o jiný radikál, přičemž se obě částice možnou reakcí deaktivují). Protože žádné dvě odpadní vody nejsou stejné, je možnost předpovědět účinnost určitého procesu značně omezená. V neposlední řadě je nutné zvážit vhodnost aplikace některého z pokročilých oxidačních procesů, a to s ohledem na možnost vzniku nežádoucích produktů. Tyto produkty je vzhledem k rozmanitému složení upravovaných a čištěných vod v podstatě nemožné předpovědět [150, 155].

1.4.3 AOP založené na hydroxylových radikálech

UV záření

Ultrafialovým (UV) zářením rozumíme vysokoenergetické záření, jehož vlnové délky jsou kratší než vlnové délky viditelného světla a zároveň delší než rentgenového záření ($400 \text{ nm} > \lambda > 1 \text{ nm}$) [157]. UV záření je dále možné dělit na čtyři energetické oblasti (tabulka 11).

Tabulka 11: Dělení UV záření podle vlnových délek [157, 158, 159]

Typ UV záření	Vlnová délka [nm]	Energie [$\text{kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$]
UV-A	315-400	380-299
UV-B	280-315	427-380
UV-C	200-280	629-427
VUV (<i>Vacuum Ultraviolet Light</i>)	< 200	> 629

Některé zdroje rozlišují ještě VUV (200-100 nm) a extrémní UV (100-1 nm) [158, 159]. Zdrojem UV záření jsou extrémně rozžhavená tělesa (hvězdy; jako typický příklad se uvádí Slunce). Zároveň také vzniká UV záření při průchodu elektrického proudu některými plyny, nejčastěji pak parami rtuti. Tohoto jevu je využíváno ve výbojkách, kde díky srážkám elektronů procházejícími mezi elektrodami dochází k excitaci a k následné deexcitaci atomů par při současném vyzáření UV, viditelného světla a infračerveného záření. Nejčastěji používanými UV emitujícími výbojkami jsou výbojky rtuťové, deuteriové nebo xenonové [160, 161]. Nízkotlaké a středotlaké výbojky nachází nejširší uplatnění v různých vodárenských aplikacích, ať už se jedná o prostou dezinfekci vody, nebo o jiné pokročilé kombinace technologií [162]. Na trochu odlišném principu než výbojky fungují tzv. excimerové lampy, jakožto zdroje emitující také v oblasti VUV. Jedná se o novější technologii, jejíž význam pro AOP aplikace stále roste. Název vychází ze slova excimer, což je složenina slov excited dimer neboli excitovaný dimer. Excitovaným dimerem se rozumí útvar tvořený dvěma atomy inertních plynů. Za běžných podmínek inertní plyny netvoří stabilní molekuly. Avšak po převedení do vybuzeného energetického stavu mohou tvořit dvouatomové molekuly o omezené stabilitě, při jejichž rozpadu je emitován foton o energii 5–15 eV. O excimer se jedná v případě, že molekula je tvořena dvěma atomy vzácného plynu. V případě molekuly tvořené atomem vzácného plynu a halogenu, mluvíme o tzv. exciplexu, neboli excitovaném komplexu (excited complex) [163, 164].

Tabulka 12: Excimery a korespondující maxima emitovaného spektra [163]

Excimer	He ₂ [*]	Ne ₂ [*]	Ar ₂ [*]	Kr ₂ [*]	Xe ₂ [*]
Emitované $\lambda_{m,ax}$ [nm]	74	83	126	146	175

Tabulka 13: Excimery a korespondující maxima emitovaného spektra [163]

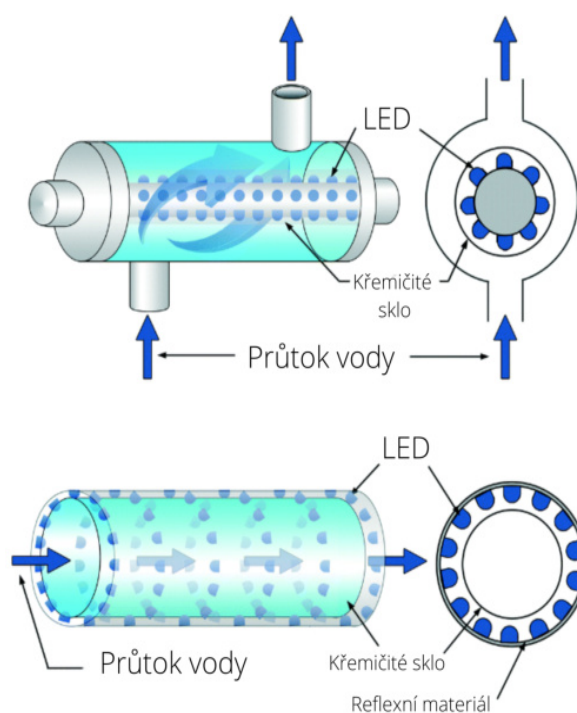
Excimer	ArCl [*]	ArF [*]	KrCl [*]	KrF [*]	XeI [*]	XBr [*]	XeCl [*]	XeF [*]
Emitované $\lambda_{m,ax}$ [nm]	175	193	222	248	253	282	308	354

V současnosti jsou nejrozšířenějším zdrojem UV záření pro AOP rtuťové výbojky. Nejběžnější nízkotlaké rtuťové výbojky mají parciální tlak rtuti asi 1 Pa. Tento tlak odpovídá tlaku par tekuté rtuti při 40° C na stěně lampy. Nízkotlaké rtuťové výbojky vykazují účinnost 25-45 % v rozsahu emitovaných vlnových délek. Emisní spektrum nízkotlakých rtuťových výbojek je soustředěno na omezeném počtu dobře definovaných linií. Proto tyto zdroje označujeme za monochromatické. Nejvýznamnější emitovaná maxima jsou na vlnových délkách 253,7 a 184,9 nm. Nejzávažnějším nedostatkem rtuťových výbojek je však obsah rtuti. Začátkem roku 2018 již 128 zemí podepsalo Minamatskou úmluvu o rtuti (*Minamata Convention on Mercury*, 2013), která zavazuje k postupnému ukončení užívání rtuti v řadě výrobků a procesů do roku 2020. V tomto ohledu jsou alternativní zdroje ultrafialového záření, tj. exciplexní a excimerové výbojky nebo světelné diody (LED – *Light-Emitting Diode*) aktuální a používané při výzkumu AOP [165, 166].

LED dioda představuje polovodičové zařízení, které převádí stejnosměrný proud na záření s vlnovou délkou, a to v závislosti na pásmu polovodičů. Materiály používané k výrobě UV LED jsou založeny na polovodičích; diamantu (235 nm) a III-nitridu, jako jsou InGaN (365-410 nm), BN (215 nm), AlN (210 nm), AlGaIn / GaN a AlInGaIn (do 210 nm) [165]. Obecně platí, že UV diody LED jsou děleny na blízké UV (NUV) a hluboké UV (DUV) LED, které emitují v rozmezí 300–400 a 200–300 nm [167, 168]. Pokud se však zaměřujeme na aplikaci UV LED v AOP, je vhodné dodržovat tradiční klasifikaci vlnových délek UV záření a používat označení LED UVA, UVB a UVC. Střední emitovaná vlnová délka GaN je 365 nm. Pro delší vlnové délky se využívá InGaIn. Diody založené na InGaIn emitují v UVA oblasti, zatímco diody na bázi AlGaIn a AlInGaIn primárně v UVB a UVC. Nicméně výsledné vlnové délky závisí na poměru Al, Ga a In. Použitím Al namísto In v nitridech lze dosáhnout kratších UV vlnových délek [165].

UV LED diody mají oproti tradičním rtuťovým výbojkám nezanedbatelné množství výhod. Kromě absence rtuti je to rychlé zapínání, nezahřívají se, umožňují flexibilitu návrhu reaktoru díky malé velikosti čipu ($\approx 1\text{mm}^2$), mají delší životnost, vyrábí se z odolnějšího obalového

materiálu (kov nebo keramika). Nízké požadavky na napětí (6–30 V) umožňují, aby UV LED diody byly poháněny akumulátorem nebo solárním článkem [165, 169]. Tato vlastnost umožňuje konstrukci přenosných zařízení, která mohou být použita k okamžité dezinfekci vody. Malé velikosti čipů poskytují jistou variabilitu uspořádání LED diod (lineární, rovinné, povrchové, trojrozměrné modely). Reaktory s UV LED diodami jsou navrhovány ve dvou základních koncepcích, tj. se zapouzdřeným (*encased*) nebo krytým (*covered*) LED polem. Zapouzdřený reaktor využívá řady UV LED umístěných v křemenné trubici, kolem které protéká voda. Krytý reaktor má vnější prstencové sestavy UV LED a voda proudí uvnitř trubice, viz obrázek 11 [169].



Obr. 11: Dva základní typy reaktorů s využitím UV LED diod jakožto zdroje záření [169]

Přímá fotolýza UV zářením

Za určitých podmínek je možné některé organické látky ve vodě degradovat pouze působením UV záření. K takovýmto jevům dochází v životním prostředí do jisté míry běžně. Látky v povrchových vodách jsou účinky UV záření degradovány. Tento proces však probíhá pouze do hloubky dosahu potřebných vlnových délek a je značně omezen nízkou intenzitou UV záření dopadající na zemský povrch.

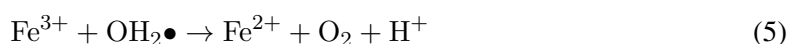
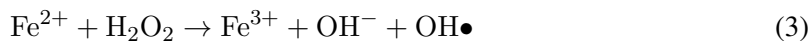
Organická látka může být absorpcí UV záření excitována a následně reagovat s kyslíkem. Vzniká tak superoxidový radikál. Nestabilní molekula následně podléhá degradaci [151].



Pro vodárenské a čistírenské aplikace je drtivá většina zdrojů záření nedostačující vzhledem k nízkým energiím emitovaného záření nebo vzhledem k velmi nízkým účinnostem použité technologie. Proto se v praxi využívají kombinace UV záření s dalšími činidly, jako jsou např. peroxid vodíku, ozon, ionty železa, aj. [151, 155].

Fentonova oxidace

Fentonova oxidace je historicky prvním z pokročilých oxidačních procesů a nese název po svém objeviteli Johnu Horstmanovi Fentonovi. Obecně se jedná o oxidaci látek pomocí H_2O_2 a železnatých iontů Fe^{2+} v kyselém prostředí [151, 155]. Požadované hydroxylové radikály vznikají reakcí Fe^{2+} s H_2O_2 . Zároveň jsou železnaté ionty oxidovány na ionty železité Fe^{3+} . Vzniklé železité ionty mohou také reagovat s peroxidem vodíku, přičemž jsou zpětně redukovány na Fe^{2+} a tvoří se hyperoxidové radikály $HO_2\bullet$, které v AOP plní stejnou funkci, jako radikály hydroxylové, tj. reakcí destabilizují nežádoucí organickou molekulu. Reakce vzniku hyperoxidových radikálů probíhá mnohem pomaleji. Samotné hyperoxidové radikály mohou zároveň redukovat Fe^{3+} zpět na železnaté Fe^{2+} . Podrobný mechanismus reakce je však nadále zkoumán [151].



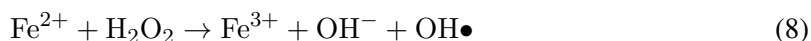
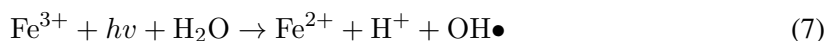
Pro optimální průběh reakce je nutné upravit pH vody na hodnotu co možná nejbližší pH 3. V případě pH pod 2,5 vznikají komplexy železa, zpomaluje se reakce s peroxidem vodíku a celková produkce hydroxylových radikálů klesá. Při vyšších hodnotách pH dochází k reakci železnatých i železitých iontů s hydroxylovými anionty a vznikají příslušné hydroxidy. Ty však už nereagují s peroxidem a tím pádem Fentonova oxidace nemůže probíhat [170]. Pro správný průběh reakce není důležitá jen hodnota pH. Zásadní vliv má také poměr množství Fe^{2+} a peroxidu vodíku. Nadbytek Fe^{2+} reaguje se vzniklými hydroxylovými radikály a tím je vyřadí z procesu [170].



Ideálním hmotnostním poměrem $Fe^{2+} : H_2O_2$ je 1 : 2. V praxi se však, a to s ohledem na náklady, doporučuje poměr 1 : 5 [171, 172].

Foto-Fentonova oxidace

Zařazením zdroje UV záření je možné Fentonovu oxidaci výrazně urychlit. V takovém případě mluvíme o Foto-Fentonově oxidaci. Působením UV-Vis ($\lambda < 410$ nm) záření podléhají Fe^{3+} komplexy fotolýze a vznikají hydroxylové radikály a Fe^{2+} . Železnaté ionty pak podléhají klasické Fentonově oxidaci. Zjednodušeně proces popisují rovnice 7, 8. [151, 173].



Souběžně probíhá fotolýza peroxidu vodíku, přičemž jsou produkovány další hydroxylové radikály. Kromě vyšší rychlosti se Foto-Fentonova oxidace, v porovnání s klasickou Fentonovou oxidací, vyznačuje nižšími spotřebami železa a poklesem množství vzniklého kalu [173]. Foto-Fentonova oxidace využívající jak slunečního záření, tak také UV zdroje, způsobuje ve významné míře inaktivaci mikroorganismů v ošetřené vodě. Z toho vyplývají možné aplikace pro udržitelné opakované využití vody pro zavlažování, v některých případech i k pití. Nicméně účinnost procesu závisí na přítomných mikroorganismech a na vlastnostech čištěné/upravované vody. Například bakterie rezistentní na klarithromycin (antibiotikum), byly v destilované a modelové odpadní vodě odstraněny úplně, kdežto v reálné odpadní vodě klesla účinnost na 77 % [174, 175].

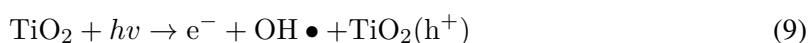
Foto-Fentonova oxidace byla prokázána jako účinná metoda pro odstranění mnoha skupin environmentálních kontaminantů, jako jsou pesticidy, barviva, farmaka, chlorfenoly a polychlorované bifenyly [176, 177, 178]. Tato technologie také představuje vhodný způsob nakládání s těžce zpracovatelnými odpadními vodami. Mezi takové patří výluhy ze skládek a odpadní vody z farmaceutických, agrochemických a ropných rafinérských závodů [174]. Ionty železa je možné nahradit i jinými kovy v nižších oxidačních stavech. Příkladem jsou Cu^{2+} nebo Co^{2+} . Potom mluvíme o reakcích typu Fenton. Takové procesy jsou pomalejší a podle dostupných informací i méně účinné [173, 174]. Mezi AOP měla Foto-Fentonova vždy své místo, a to hlavně díky možnosti využití zdroje obnovitelné energie (tj. sluneční energie), což pomáhá zlepšit jejich ekonomickou a environmentální udržitelnost, a nízké koncentrace katalyzátoru. Na druhou stranu je použití Foto-Fentonova procesu omezeno na kyselé pH ($\text{pH} < 4$). V průmyslovém měřítku je třeba také počítat s vysokými provozními náklady [176].

Aby byly nedostatky spojené s nízkými hodnotami pH překonány, mohou být Foto-Fentonovy procesy modifikovány přidáním vybraných chelatačních činidel a úspěšně prováděny při neutrálním pH. Právě takové možnosti jsou tématem současného výzkumu v oblasti Fentonových reakcí. Příkladem je studie zabývající se eliminací benzenu z vodného roztoku pomocí Foto-Fentonovy oxidace s přidavkem huminové kyseliny při pH 5,0 až 7,0. Bylo potvrzeno, že při koncentraci

humínové kyseliny $50\text{--}100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ je rychlost degradace benzenu katalytickou Fentonovou reakcí při pH 5 stejně rychlá jako při pH 3 bez přídavku humínové kyseliny [179].

Fotokatalytická oxidace

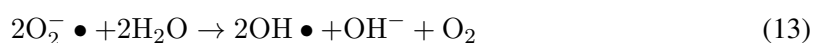
Obecným schématem fotokatalytické oxidace je spojení polovodičový katalyzátor/UV záření/ O_2 . Katalyzátorem je oxid kovu, například TiO_2 , ZnO , WO_3 , aj. Oxid titaničitý je využíván nejčastěji díky své stabilitě, nízké toxicitě a dobré dostupnosti. TiO_2 je ve vodě a ve zředěných kyselinách nerozpustný, má vysokou povrchovou aktivitu a dobře odolává korozi [180]. Působením UV záření dochází k vyrazení elektronu z katalyzátoru. Tyto elektrony následně reagují s kyslíkem rozpuštěným ve vodě za tvorby superoxidových radikálů $\bullet\text{O}_2^-$ [150, 151, 181].



Molekuly vody nebo OH^- ionty interagují s elektronovými dírami (h^+), které vznikly na povrchu katalyzátoru podle následujícího schématu:



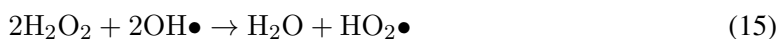
Současně také reagují superoxidové radikály s molekulami vody za vzniku dalších $\bullet\text{OH}$ [150, 151, 181].



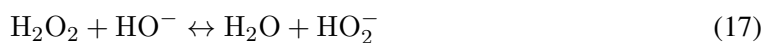
V případě, že je organická molekula sorbovaná na povrch katalyzátoru, může dojít k její přímé oxidaci aktivovaným katalyzátorem. Proces fotokatalytické degradace nežádoucích organických látek je ovlivněn závislostí účinnosti katalyzátoru na pH. Bod nulového náboje (pH, při kterém není povrch nabitý) TiO_2 je kolem pH 7. Pod a nad touto hranicí je povrch katalyzátoru nabit buďto kladně nebo záporně. Vhodná hodnota pH pak závisí na vlastnostech odstraňovaných látek [182, 183]. Účinnost systému je také ovlivněna přítomností některých anorganických iontů. Anorganické ionty se také mohou sorbovat na povrch katalyzátoru nebo reagovat se vzniklými $\bullet\text{OH}$ radikály. Ve vodách běžné anionty ovlivňují fotokatalytickou oxidaci s intenzitou odpovídající následujícímu pořadí [182]: $\text{HCO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{CO}_3^{2-} > \text{SO}_4^{2-} > \text{NO}_3^-$.

Fotolýza UV/peroxid vodíku

Kombinace UV a dávky peroxidu vodíku je jedním z nejčastěji sledovaných AOP procesů. Jedná se o konvenční postup, který po splnění několika základních podmínek představuje poměrně jednoduchou a účinnou metodu eliminace nežádoucích látek. Metoda má požadavky na UV záření, jehož vlnová délka musí mít $\lambda < 280$ nm a zároveň je zapotřebí, aby koncentrace peroxidu vodíku byla vyšší než 0,1 % [151]. Působením UV záření dochází ke štěpení molekuly H_2O_2 a vznikají dva $\bullet\text{OH}$. Při interakci hydroxylového radikálu s další molekulou peroxidu vodíku může dojít k tvorbě superoxidových radikálů $\text{HO}_2\bullet$. Dva superoxidové radikály spolu reagují za vzniku vody a molekuly kyslíku [151].



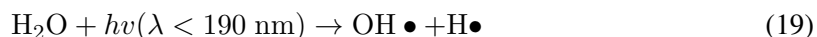
Za přítomnosti HO^- iontů reagují molekuly H_2O_2 podle rovnice 15 a tvoří se peroxidové ionty HO_2^- . Ty následně vlivem UV záření tvoří další $\bullet\text{OH}$ radikály [151].



Pro ovlivnění účinnosti je možné snížit pH systému přidáním malého množství kyseliny. Cílem je posunutí uhličitánové rovnováhy a s tím spojený pokles množství uhličitánů a hydrogenuhličitánů ve vodě. Tyto ionty totiž zachycují a inaktivují vzniklé hydroxylové radikály [181]. Účinnost na jednotlivé organické látky reagující za různých podmínek je však stále diskutována a zkoumána. Pro mnoho technologií je UV/ H_2O_2 investičně lákavým řešením, protože ve srovnání s instalací ozonizační stanice je třeba pouze jednoduchá dávkovací aparatura peroxidu vodíku [150]. Na druhou stranu je třeba zvážit náklady na potřebné množství peroxidu. Studie uvádí, že pouze 5–10 % dávkovaného peroxidu se nakonec podílí na AOP procesu [180].

VUV Fotolýza

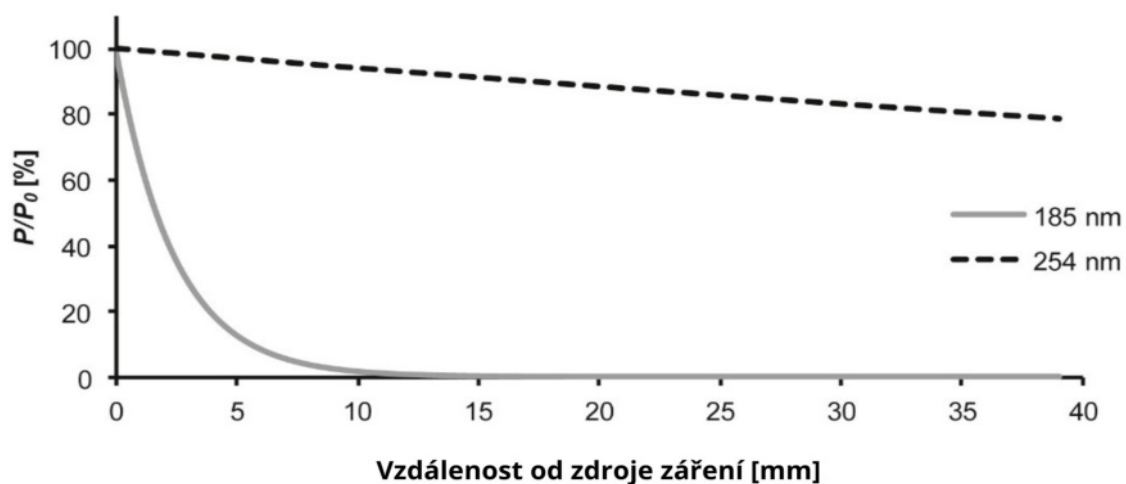
Pokročilé oxidační procesy na bázi UV záření vyžadují přídavek jiných činidel pro dosažení dostatečné účinnosti. Využití VUV záření představuje slibnou alternativu bez požadavků na další chemikálie. VUV záření s vlnovou délkou od 100 do 200 nm je silně absorbováno molekulami vody a způsobuje jejich hydrolýzu. Takto vznikají hydroxylové radikály a vodíkové radikály H• [184].



VUV fotolýza byla již úspěšně využita ke sterilizaci vzduchu a k eliminaci řady organických kontaminantů, jakými jsou pesticidy, chlorované látky, léčiva nebo toxiny řas [152, 154, 156]. Byly také provedeny úspěšné pokusy odstranění některých anorganických látek, jako jsou dusičnany a arsen. VUV tak představuje slibnou technologii odstranění mikropolutantů z vodné matrice [184].

Za zdroje VUV záření je možné považovat nízkotlaké rtuťové výbojky, které výrazně emitují kolem 254 nm a 185 nm a jsou používány k desinfekci vody. Je však třeba použít vysoce čisté křemenné sklo jako materiál vhodný na výrobu krytu lampy. Dalším zdrojem emitujícím v oblasti VUV jsou excimerové lampy, nejčastěji xenonové eximery (172 nm). Vývoj světelných zdrojů nadále otevírá nové možnosti generování hydroxylových radikálů pomocí VUV [158, 159].

VUV fotolýza prokázala vysoký potenciál k rychlé degradaci mikropolutantů a k postupnému rozkladu větších organických molekul. Navíc využití nízkotlakých rtuťových výbojek emitujících při 254 nm vede k současné dezinfekci vody. Díky možnosti kombinace VUV ozáření vody a tvorby ozónu v plynné fázi také pomocí VUV, nabízí technologie mnoho příležitostí pro budoucnost úpravy vody. Kombinace VUV a ozónu generované stejnou lampou zvyšuje oxidační a dezinfekční účinnost systému a minimalizuje tvorbu dusitanů, které jsou hlavním anorganickým vedlejším produktem. Hlavním technickým omezením je nízká propustnost záření vodním médiem. Voda silně absorbuje VUV záření. Absorpční koeficient při 185 nm je $\alpha = 1,8 \text{ cm}^{-1}$. Vrstva, ve které je absorbováno 90 % záření, je velmi tenká, $l = 5,5 \text{ mm}$. Srovnání absorpce UV a VUV záření vodou znázorňuje Obrázek 12 [159, 174].



Obr. 12: Závislost intenzity záření procházejícího vodou o transmittanci 94 % na vzdálenosti od zdroje záření (vypočteno z Lambert-Beerova zákona) [159].

VUV fotolýza není v současné době uvažována jako praktická možnost nahrazující konvenčně užívané technologie ve vodárenských a čistírenských procesech. Přesto nabízí nové možnosti pro speciální aplikace, jako je příprava ultra čisté vody nebo jako hlavní proces úpravy decentralizovaných systémů [159].

UV/Chlor

Kombinace UV záření a chloru je již několik let považována za vhodnou metodu dezinfekce vody a současného odstranění širokého spektra organických látek. Při procesu jsou generovány jak neselektivní $\bullet\text{OH}$ radikály, tak také reaktivní radikály obsahující chlor (např.: $\bullet\text{Cl}$, $\bullet\text{Cl}_2^-$ a $\bullet\text{ClO}$). Obecně tvorbu radikálů po aplikaci chloru ve vodném prostředí popisuje rovnice 21.



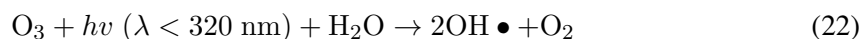
Přestože $\bullet\text{OH}$ jsou silnějšími oxidačními činidly, některé mikropolutanty jsou ve větší míře eliminovány právě vznikajícími radikály obsahujícími chlor. Příkladem tohoto jevu je trichlorethylen nebo také některá léčiva [153, 185, 186]. Ve srovnání se systémy UV/H₂O₂ kde je výtěžnost hydroxylových radikálů srovnatelná, představuje využití chloru místo peroxidu mírně ekonomicky výhodnější variantu. Účinnost procesu eliminace organických látek je však velmi ovlivněna hodnotou pH upravované vody. Ve vodném roztoku se ustanovuje rovnováha mezi formou HOCl nebo OCl⁻. V oblasti pH 6–9 účinnost s rostoucím pH klesá [153, 185, 186].



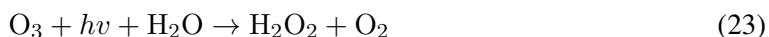
Dalším faktorem ovlivňujícím výtěžnost hydroxylových radikálů a tím i celkovou účinnost procesu je zdroj UV záření. Formy HOCl a OCl⁻ mají odlišná absorpční spektra, což hraje významnou roli při použití nízkotlaké rtuťové výbojky s výraznými emitovanými maximy. Za těchto okolností je výtěžnost OCl⁻ až o 30 % nižší než HOCl [186, 187]. Významným aspektem při hodnocení vhodnosti aplikace UV/Chlor systému je nutné brát v úvahu možnou tvorbu nežádoucích chlorovaných produktů. Přestože primárně probíhá oxidace organických látek, a ne adice chloru, je zde stále riziko vzniku N-nitrosoaminů a chlorkyanu. K tomuto dochází například při pokusu o eliminaci chloraminů a příbuzných látek [187].

AOP využívající ozon

Ozon je vysoce reaktivní plyn se silnými oxidačními účinky. Na rozdíl od hydroxylových radikálů jeho reakce s kontaminanty jsou selektivní, což znamená, že přednostně dochází k reakci s disociovanou nebo ionizovanou formou polutantu. Tento jev je pro aplikace úpravy a čištění odpadních vod převážně nežádoucí. Za určitých podmínek je však možné pomocí ozonu generovat hydroxylové radikály a eliminace polutantů je dále neselektivní. Příkladem je kombinace s UV zářením podle rovnice [150]:



Současně je vlivem UV záření část ozonu převedena na H₂O₂. Peroxid vodíku následně působením UV tvoří další hydroxylové radikály [150].

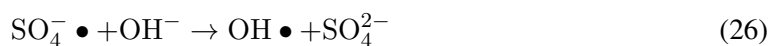


1.4.4 AOP na bázi síranových radikálů

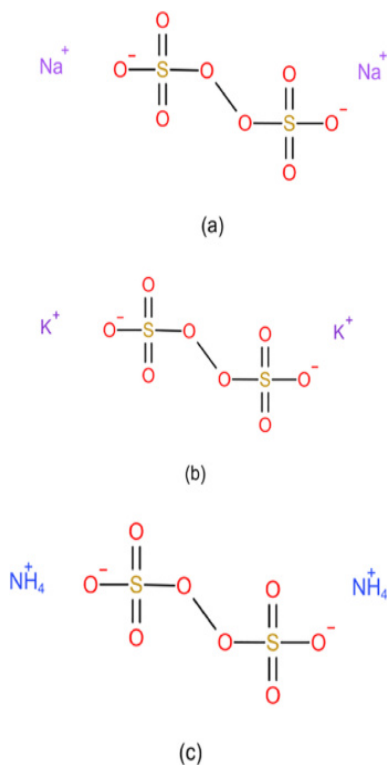
Na rozdíl od AOP založených na tvorbě •OH radikálů, kdy byl mechanismus vzniku a reakce zkoumány již přes 100 let, výzkum •SO₄⁻ má výrazně kratší historii. Využití síranových radikálů bylo intenzivně zkoumáno v posledním desetiletí, ale stále se v praxi běžně nerealizují [155].

Persulfát (PS) i peroxomonosulfát (PMS) mají silnou oxidační schopnost a dobrou rozpustnost ve vodě, kde mohou být stabilní po dobu několika měsíců. PS ve vodě ionizuje za vzniku stabilnějšího S₂O₈²⁻ s delším poločasem rozpadu. Jeho oxidační potenciál ($E^0 = 2,01 \text{ V}$) je blízký

ozonu ($E^0 = 2,07$ V), vyšší než u manganistanu ($E^0 = 1,7$ V) i peroxidu vodíku ($E^0 = 1,77$ V). Přestože má PS vysoký redoxní potenciál a obsahuje vazby -O-O-, má vysokou vazebnou energii ($140 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$) a neschopně reaguje s organickými látkami přímo. Obvykle je nutné jednoduchou vazbu -O-O- narušit aktivací, aby vznikl $\bullet\text{SO}_4^-$ s vyšším redoxním potenciálem ($E^0 = 2,6$ V) nebo nepřímo $\bullet\text{OH}$ ($E^0 = 2,8$ V), jak uvádí rovnice 25 a rovnice 26 [188, 155].



PS existuje ve formě tří solí, jako sloučenina sodíku, draslíku a amonná sůl (obrázek 13). Při 20 °C je rozpustnost persulfátu amonného $2,5 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$, persulfátu sodného $2,3 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ persulfátu draselného $0,17 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$. Jak je vidět, draselná sůl má nevýhodu nízké rozpustnosti. Současně persulfát amonný způsobuje sekundární znečištění v důsledku zbytkového amoniaku. Proto je $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ nejběžnější pro chemickou oxidaci in situ. Ve srovnání s jinými běžně používanými činidly - H_2O_2 nebo O_3 , má PS vyšší stabilitu, takže odpadá problém s přepravou a skladováním [188].



Obr. 13: Persulfátové soli [188]

V posledních letech přitahují AOP na bázi PS velkou pozornost. Redoxní potenciál $\bullet\text{SO}_4^-$ produkovaného PS je podobný jako u $\bullet\text{OH}$, přičemž poločas rozpadu $\bullet\text{SO}_4^-$ ($40 \mu\text{s}$) je mnohem delší než u $\bullet\text{OH}$ ($< 1 \mu\text{s}$) [188, 189]. Zároveň je $\bullet\text{SO}_4^-$ stabilnější než $\bullet\text{OH}$ a současně je mnohem účinnější při eliminaci amoniakálního dusíku z vod ($\bullet\text{OH}$ dosahují účinnosti $< 64 \%$ [190]). Právě proto představují AOP na bázi PS metodu, která může nahradit tradiční postupy založené především na tvorbě $\bullet\text{OH}$ [188].

Ve vodném roztoku reaguje $\bullet\text{SO}_4^-$ v následujícím pořadí [188]:

- i) nearomatické sloučeniny obsahující vazbu $-\text{C}=\text{C}-$,
- ii) látky obsahující π elektrony na aromatických kruzích,
- iii) látky obsahující $\alpha\text{-H}$,
- iv) látky bez $\alpha\text{-H}$.

Ve srovnání s $\bullet\text{OH}$ má $\bullet\text{SO}_4^-$ silnější interakci s π elektrony a nižší s $\alpha\text{-H}$. Hydroxylové radikály interagují s molekulou polutantu primárně adicí na $-\text{C}=\text{C}-$ vazbu. Kdežto elektrofilní $\bullet\text{SO}_4^-$ tvoří organické volné radikály reakcemi přenosu elektronu, neboli odebráním elektronu z cílové molekuly [188, 191].

Reakční rychlost se zrychluje, pokud se v aromatické molekule vyskytují skupiny jako potenciální donoři elektronů, např. [188]:

- aminoskupiny ($-\text{NH}_2$),
- hydroxylové skupiny ($-\text{OH}$),
- alkoxylové skupiny ($-\text{OR}$) [192].

Reakční rychlost se zpomaluje, pokud se v aromatické molekule vyskytují skupiny, které zase elektrony odebírají, např. [188]:

- nitroskupiny (jednoduchá $-\text{NO}_2$),
- karbonylové skupiny (aldehydy a ketony) [192].

Možnosti tvorby síranových radikálů

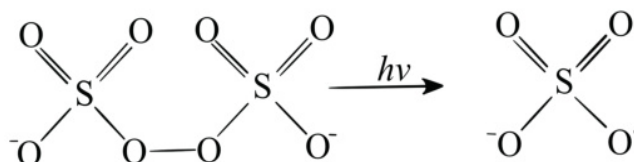
V publikované literatuře je popsána řada procesů vedoucích ke vzniku síranového radikálu. Ty mohou být homogenní či heterogenní, chemické a/nebo termické, fotochemické případně založené na fyzikálních procesech. Nejběžnější způsoby jsou založeny na aktivaci persulfátu [1]. Jak již bylo zmíněno, PS ($S_2O_8^{2-}$) je silným ($E^0 = 2,1$ eV) a relativně stabilním oxidantem, který může být tzv. aktivován, tedy tvořit $\bullet SO_4^-$ s ještě vyšším potenciálem (2,6 eV). V praxi je možné aktivace dosáhnout třemi hlavními metodami: přímou UV fotolýzou, tepelně nebo za přítomnosti kovů.

Aktivace teplotou

Zahřátím roztoku persulfátu na teplotu v rozsahu 30-90 °C je první účinnou metodou aktivace. Byly takto odstraněny různé organické kontaminanty z vod. Aktivační reakce probíhá již při 30 °C a se zvyšující se teplotou její rychlost roste. Proces je také možné podpořit alkalickým prostředím [155].

Fotochemická aktivace: fotolýza persulfátu a peroxosíranu

Sulfátové radikály jsou tvořeny homolytickým štěpením vazby O-O působením UV záření.



Obr. 14: Reakce štěpení persulfátu [155]

Tato reakce probíhá s vysokými a pH nezávislými kvantovými výtěžky. Díky podobným absorpčním spektrům persulfátu a peroxidu vodíku jsou molární absorpční koeficienty na vlnové délce 254 nm srovnatelné [155]. Tvorba radikálů na bázi síry se ve srovnání se systémem UV/H₂O₂ jeví být o něco málo účinnější [155].

Aktivace pomocí kavitace

Kavitací se rozumí vznik, růst a imploze dutin naplněných párou nebo plynem v krátkém časovém úseku (obvykle do 1 ms). Běžně se v souvislosti s kavitací mluví o ultrazvukové a hydrodynamické kavitaci [188].

Aktivace ultrazvukem (US)

Ultrazvukem aktivovaný PS (US/PS) využívá kavitačního efektu k tomu, aby se v kapalině lokálně vytvořila vysoká teplota a vysoký tlak a aby se vibracemi podpořilo míchání. Lokální vysoká teplota (5 000 K) a vysoký tlak generované při implozi kavitační bubliny vedou k homolýze vazby jednoduchá -O-O- v PS a k produkci dvou $\bullet\text{SO}_4^-$ [188].

Mezi faktory ovlivňující účinnost US/PS patří frekvence US, dávka PS, počáteční pH apod. Počet produkovaných volných radikálů se zvyšuje s rostoucí frekvencí US; zvýšením amplitudy ultrazvuku je možné zvýšit produkci $\bullet\text{SO}_4^-$. Je-li však amplituda ultrazvuku příliš vysoká, vede to ke kolapsu kavitačních bublin a rekombinaci $\bullet\text{SO}_4^-$, což snižuje schopnost systému oxidovat a rozkládat nežádoucí látky [188]. Zvyšování dávky PS také nemusí vést k lepším výsledkům. Příliš vysoká koncentrace PS může účinnost rozkladu spíše snížit než zvýšit a nadbytek PS vede k přeměně $\bullet\text{SO}_4^-$ na síranové ionty. Vhodné pH je neutrální nebo slabě kyselé. Pomocí US/PS byly s různou účinností odstraňovány následující látky [188].

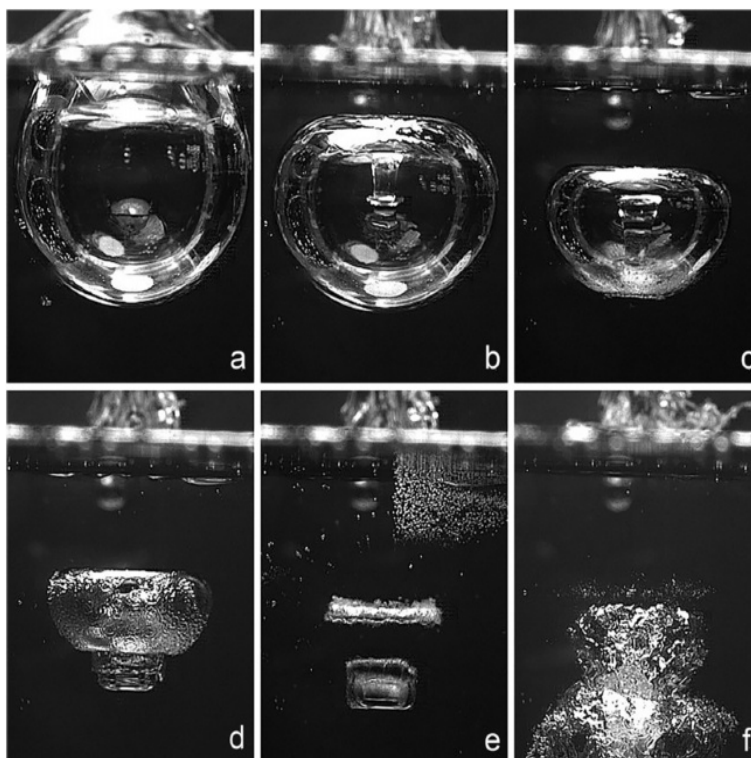
Tabulka 14: Odstranění polutantů pomocí US/PS systému [188]

polutant	c_{polutant}	c_{PS}	reakční podmínky	T [min]	účinnost [%]	zdroj
1,1,1-trichlorethan	$20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	1,5 mM	400 kHz; pH 7	300	100	[193]
1,1,1-trichlorethan	$50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	0,94 mM	400 kHz; pH 6.9	120	100	[193]
1,4-dioxan	$1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	1,5 mM	400 kHz; pH 7	300	80	[194]
1,4-dioxan	$13 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	7,4 mM	400 kHz; pH 7	600	100	[195]
Diklofenak	$5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	$120 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	-; pH 6	240	98	[196]
Furfural	$50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	0,3 mM	130 kHz; pH 7	90	95,3	[197]
Karbamazepin	0,025 mM	1 mM	50 kHz; pH 3	120	89,4	[198]
Kys. perfluoroktanová	$46,4 \mu\text{M}$	10 mM	20 kHz; pH 6	120	51,4	[199]
Naftolová čern modrá	$5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	$0,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$	585 kHz; pH 6	20	95	[200]
Trichlorethylen	$500 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	$61 \mu\text{M}$	24 kHz; 5.5 pH	20	100	[201]

Aktivace pomocí hydrodynamické kavitace (HC)

Hydrodynamická kavitace (HC) obecně vzniká in-situ v důsledku náhlé změny hydraulického tlaku přesahující tlak par kapaliny, což vede k vytvoření mikrobublin páry nebo dutin [202].

Prochází-li proudění zúženými částmi nebo nepravidelnými geometrickými tvary, jako jsou otvory nebo ostré hrany, dochází ke snížení tlaku. Ke kavitaci dochází, jakmile tlak klesne pod lokální tlak nasycených par [203]. Hydrodynamickou kavitaci lze vytvořit pomocí zúžení proudění, jako je clona, Venturiho trubice nebo škrticí ventil. Podle Bernoulliho rovnice se při proudění kapaliny přes zúžení zvyšuje kinetická energie kapaliny na úkor energie tlakové. Pokud je pokles tlaku dostatečný, vznikají dutiny. Tyto dutiny se v navazujícím úseku rozšiřují a nakonec se při obnovení tlaku zhroutí [204]. Když kavitační bublina ve vodě praskne, může vytvořit oblast horkého bodu s teplotou 4 000-6 000 K a místní vysokotlakou oblast s tlakem vyšším než 50 MPa a vytvořit silnou rázovou vlnu a mikrotrysku s rychlostí vyšší než $100 \text{ m} \cdot \text{s}^{-1}$ [188].



Obr. 15: Kolaps kavitační bubliny v blízkosti volného povrchu [205, 206]

Řízením geometrických a provozních podmínek reaktoru tak lze s maximální energetickou účinností generovat požadovanou intenzitu kavitace pro požadovanou fyzikální nebo chemickou změnu. Kolapsový tlak generovaný kavitací může být řádově několik stovek barů, což je dostatečně vysoká hodnota na to, aby roztrhla biologické složky vody včetně mikrobiálních buněk a způsobila jejich smrt. Asymetrický kolaps dutin má rovněž za následek vysokorychlostní proud kapaliny rovněž způsobující rozpad buněk. Lokální smykové rychlosti kapaliny v okolí takových trysek jsou dostatečné k tomu, aby zničily přítomné mikroorganismy [204, 207].

Hlavní účinky HC lze klasifikovat jako fyzikální a chemické. Mezi fyzikální účinky patří vznik

rázových vln, efekt vodního kladiva a radiální pohyb bublin. Kromě toho se v okamžiku prasknutí kavitační bubliny okolní částice kapaliny pohybují vysokou rychlostí do místa prasknutí, což může vyvolat velmi výrazné mechanické narušení a smykové napětí [204]. Toto silné smykové napětí může přerušit jednoduché vazby na uhlíkovém řetězci znečišťujících organických látek a tím pádem vést k jejich rozpadu. Chemické účinky kavitace jsou při rozrušování buněk a molekul způsobeny vznikem volných radikálů [188] (tedy základním principem AOP). Jejich rozsah závisí na intenzitě kavitace, kterou lze měnit manipulací s provozními parametry, jako je kavitační číslo, geometrie kavitačního prvku, počet průchodů kavitační zónou, teplota, viskozita a obsah rozpuštěného plynu v kapalině [204].

Při vysoké teplotě a vysokém tlaku, které vznikají v okamžiku, kdy praskne kavitační bublina, mohou být narušeny i některé relativně silné chemické vazby. Je tak možné rozbít chemické vazby molekul vody za vzniku $\bullet\text{OH}$, $\bullet\text{H}$, $\bullet\text{HO}_2$ nebo $\bullet\text{O}_2^-$ nebo účinně aktivovat PS [188].

Účinnost odstranění organických polutantů pomocí HC aktivovaného PS je ovlivněna hlavně: vstupním tlakem, pH, koncentrací PS a počáteční koncentrací znečišťujících látek. Počáteční hodnota pH je dle dostupné literatury významným faktorem při použití HC/PS k čištění odpadních vod. Kyselé pH roztoku podporuje vznik $\bullet\text{OH}$ a umožňuje také vyšší oxidační potenciál. Při snížení pH z 10 na 2 bylo pozorováno zrychlení degradace KSCN téměř pětkrát [208]. Stejně tak byla sledovaná nejlepší účinnost eliminace methyloranže právě při pH 2 [209]. Autoři tento jev vysvětlují jako důsledek toho, že v kyselém prostředí je nepříznivě ovlivněna rekombinace generovaných radikálů, je tedy k dispozici více radikálů pro degradaci polutantu [188]. Kyselé pH ovšem není příznivé ve všech případech. Vliv pH souvisí i s vlastnostmi odstraňovaných látek. Na rozdíl od methyloranže, dekolizace rhodaminu 6G byla nejúčinnější při pH 10 a nejméně účinná při pH 2 [210]. Zda jsou pro rozklad výhodné kyselé nebo zásadité podmínky, je třeba určit podle povahy molekul polutantu a možných cest rozkladu. Současně je ale potřeba vzít na vědomí, že extrémní hodnoty pH nejsou z pohledu uvedení do praxe žádoucí z ekonomických i ekologických důvodů.

Z tabulky 15 vyplývá, že HC/PS má poměrně dobrý degradační účinek na řadu různých znečišťujících látek. Díky svému širokému uplatnění, jednoduchosti zařízení a vysoké energetické účinnosti má technologie HC velký potenciál pro praktické využití při odstraňování polutantů z vod.

Tabulka 15: Odstranění polutantů pomocí HC/PS systému [188] (TCH = Tetracyklin hydrochlorid, PAHs = polyaromatické uhlovodíky)

polutant	C_{polutant}	CPS	reakční podmínky	T [min]	účinnost [%]	zdroj
Benzen	50 ppm	PS:B 5:1	0,8 MPa; pH 6,5; $20 \pm 2,5 \text{ } ^\circ \text{C}$	240	91,51	[211]
Bisfenol A	$44 \text{ } \mu\text{M}$	0,7 mM	0,5 MPa; pH 6; 50°C	120	81,28	[212]
Brilantní modř (R250)	$20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	$541,1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	0,71 MPa; 30°C + $676,1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$	60	92	[213]
Ethylbenzen	50 ppm	PS:E 5:1	0,8 MPa; pH 6,5; $20 \pm 2,5 \text{ } ^\circ \text{C}$	240	94,64	[211]
o-Xylen	50 ppm	PS:X 5:1	0,8 MPa; pH 6,5; $20 \pm 2,5 \text{ } ^\circ \text{C}$	240	94,95	[211]
PAHs	$20 \text{ } \mu\text{M}$	2 mM	0,05 MPa; pH 8; 30°C	60	79	[202]
TCH	$10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	$0,1 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	0,2 MPa; pH 2; $30 \pm 2 \text{ } ^\circ \text{C}$	60	79	[202]

Lokální vysoká teplota a změny tlaku po prasknutí kavitační bubliny však způsobují, že zařízení časem rychle stárne a opotřebovává se [188]. Tím se mohou zvyšovat provozní náklady, což představuje potenciální hlavní nevýhodu přenosu do praxe.

Aktivace pomocí plazmového výboje

Schopnost plazmy vytvářet in situ vysoce reaktivní molekuly je dobře známá. Jejich vznik je iniciován především srážkami energetických elektronů vznikajících ve výboji s přítomnými atomy nebo molekulami [214]. Plazmový výboj (PV) je tedy velmi účinnou metodou pro tvorbu oxidačních látek ve vodě. Mezi běžně používané zdroje patří tzv. dielektrický bariérový výboj (DBD) a pulzní výboj. Při použití PV dochází nejen k produkci H_2O_2 , O_3 a $\bullet\text{OH}$, ale také přímé degradaci organických látek. Současně při výboji vzniká UV záření, lokálně vysoké teploty a vibrační vlny, které mohou aktivovat PS.

Pomocí plasmou aktivovaného PS (PaPS) byl relativně úspěšně odstraněn atrazin - jeden z nejrozšířenějších herbicidů v zemědělství, potenciální karcinogen a endokrinní disruptor. Při koncentraci PS 1 mM bylo během 75 minut odstraněno 89 % původního množství atrazinu ($5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$), přičemž byl pozorován negativní efekt přítomnosti SO_4^{2-} , Cl^- , CO_3^{2-} a HCO_3^- a pozitivní efekt přítomnosti huminových kyselin [215].

Účinnost technologie PaPS je často testována na antibioticích. Například tetracyklin byl takto

odstraněn z 87,5 % již během 15 minut a to až do úplné mineralizace ($c_0 = 40 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, PS:tetracyklin = 20, 7kV, DBD) [216]. Ještě rychlejší se ukázala eliminace norfloxacinu, a to 86 % během 6 minut ($c_0 = 0,2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$, PS:norfloxacin = 40, 10 kV) [217]. O něco méně účinný z hlediska časové náročnosti je PaPS na trimethoprim. Za 50 minut byl sice pozorován pokles 94,6 %, ale napětí i dávka PS musely být relativně vysoké ($c_0 = 50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, PS:trimethoprim = 110, 30 kV) [218].

Faktory ovlivňující účinnost aktivace PS

Hodnota pH

Hodnota pH je důležitým parametrem téměř u všech široce zkoumaných metod aktivace PS. V první řadě, oxidační činidla použité pro reakci mají při různých hodnotách pH různé formy. Při reakci PS za kyselých podmínek je hlavní oxidačně aktivní látkou $\bullet\text{SO}_4^-$, za slabě alkalických podmínek $\bullet\text{OH}$ a za silně alkalických podmínek $\bullet\text{O}_2^-$ [188]. Současně některé z mnoha aktivizačních metod mají určitá omezení týkající se pH nebo je třeba udržovat pH v určitém rozmezí. Například alkalická aktivace vyžaduje úpravu pH systému tak, aby bylo vyšší než 7, zatímco za použití kavitace, UV záření nebo aktivace plasmou jsou reakční podmínky obecně neutrální nebo kyselé. Někdy je ale požadovaná optimální hodnota pH příliš nízká, což pro aplikaci do praxe není úplně příznivé. Kovové součásti AOP zařízení podléhají v silně kyselých podmínkách korozi, což zvyšuje provozní náklady a představuje potenciální bezpečnostní rizika. U dalších metody, jako je aktivace viditelným světlem a elektrochemická aktivace, hraje pH ještě významnější roli. Obě je obvykle nutné doplnit dalšími kovovými katalyzátory nebo katalyzátory na bázi uhlíku. V takovém případě je třeba při volbě rozsahu pH zohlednit vlastnosti katalyzátoru a to, zda nedochází k jeho inaktivaci a vysrážení [188].

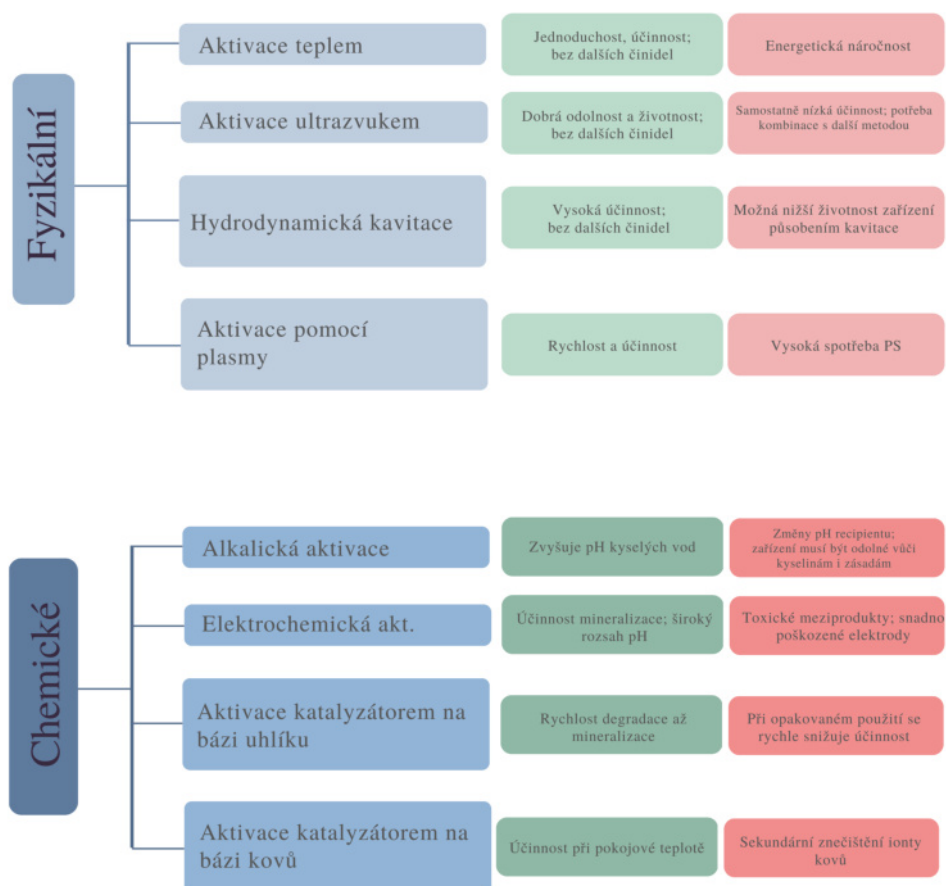
Vliv matrice

V reálné odpadní vodě je mnoho aniontů a přírodních organických látek, z nichž některé mohou mít vliv na aktivaci PS a účinnost celého systému. To, zda ionty podporují nebo inhibují rozklad polutantů, záleží na látce samotné, jejich specifických reakcích a také na koncentraci daných iontů ve vodě. V některých případech mohou Cl^- , CO_3^{2-} , HCO_3^- , SO_4^{2-} a další běžné anionty inhibovat aktivaci PS a rozklad znečišťujících látek, protože zhasí $\bullet\text{SO}_4^-$ a $\bullet\text{OH}$. Anionty Cl^- nemají žádný zřejmý vliv na degradaci beta blokátoru atenololu [219], ale v různé míře podporují degradaci barviva brilantní červeně [220], ibuprofenu [221], pesticidu lindanu [222] nebo insekticidu thiamethoxamu [223]. Ve vysokých koncentracích ($50 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) ale svůj pozitivní vliv ztrácejí a účinnost naopak snižují [188]. HCO_3^- může inhibovat odstranění atenololu [219], ibuprofenu

[221], lindanu [222], nesteroidního protizánětlivého léčiva piroxikam [224], thiamethoxamu [223] nebo valsartanu, léku na léčbu vysokého krevního tlaku [225]. Tento účinek byl pozorován zejména u lindanu a piroxikamu [188]. Obdobně také přítomnost SO_4^{2-} vedla ke snížení účinnosti degradace ibuprofenu [221], lindanu [222] a dalších látek [188]. U přírodních organických látek mohou pak huminové kyseliny inhibovat rozklad ibuprofenu [221], lindanu [222], thiamethoxamu [223] a valsartanu [225]. Mechanismy účinku mohou být různé. Například při aktivaci pomocí UV záření HA absorbuje část záření a tím snižuje jeho aktivační účinnost [188].

Výhody a nevýhody jednotlivých metod aktivace PS

Protože je pro účinné použití PS nutná jeho aktivace, různé možnosti tohoto procesu jsou stále předmětem výzkumu. Každá z nich má své vlastní silné a slabé stránky. Kromě zanášení dalších (potenciálně) toxických látek do systému je to často energetická náročnost nebo nízká životnost zařízení vlivem extrémních podmínek provozu. Výhody a nevýhody různých metod aktivace jsou uvedeny na obrázku 16.



Obr. 16: Výhody a nevýhody jednotlivých metod aktivace PS (převzato a upraveno z [188])

Celkově AOP na bázi PS přitahují pozornost právě kvůli vysoké účinnosti a kombinovatelnosti s jinými technologiemi. Při zvážení reálných koncentrací a specifických vlastností dané odpadní vody, je možné vhodným nastavením reakčních podmínek úspěšně odstraňovat i velmi perzistentní organické látky. Výzkum této oblasti v současnosti směřuje ke kombinaci vysoké účinnosti, energetické úspory a environmentálně zodpovědným přístupem. Cílem je tedy účinná aktivace PS s minimální energetikou spotřebou a co nejmenšími dopady na životní prostředí [188]. I přes neustálé pokroky, má tato technologie stále mnoho omezení, která je třeba postupně zlepšovat:

- Nejběžnějším postupem při výzkumu je úprava vody s jednosložkových znečištěním v laboratoři. Složení organických odpadních vod v reálném prostředí je však složité a proměnlivé. Kromě toho se často věnuje mnohem větší pozornost rychlosti rozkladu polutantu a menší pozornost ostatním parametrům.
- Jak již bylo uvedeno, každá z aktivačních metod má své nedostatky. Například tepelná aktivace vede k vyšší spotřebě energie, alkalická aktivace ovlivňuje pH systému, elektrochemická aktivace produkuje tzv. anodový kal, aktivace katalyzátoru na bázi uhlíku má vysoké nároky na jeho regeneraci, homogenní aktivace přechodných kovů zavádí do vody ionty kovů, což způsobuje sekundární znečištění aj. V dalším kroku je nutné překonat nedostatky jednotlivých aktivačních metod a vyvinout různé kombinace tak, aby se maximalizovaly silné stránky a předešlo se těm slabým.
- Během procesu rozkladu některých látek mohou vznikat i vysoce toxické meziprodukty, které mají nepříznivější dopad na životní prostředí. Proto je nutné kombinovat AOP (celkově, nejen na bázi persulfátu) s vhodnou technologií předúpravy. Cílem je úplně potlačit produkci toxických a škodlivých látek.
- Přejít z laboratorního měřítka do (polo)provozu je pro velkou část technologií velmi náročným krokem. Mnohdy se technologie projeví jako neaplikovatelná do praxe a to z různých důvodů, nejčastěji hrají hlavní roli energetické náklady nebo časová náročnost procesu. Při navrhování experimentu je vhodné myslet na případný budoucí scale-up proces a jeho realizovatelnost [188].

1.4.5 Faktory ovlivňující účinnost AOPs

Pokročilé oxidační procesy jsou primárně závislé na úspěšné tvorbě radikálů, tím pádem na rychlosti jejich tvorby a jejich dostupnosti pro reakci s polutanty. Faktory, které mohou ovlivnit účinnost AOP jsou následující [1].

Počáteční koncentrace kontaminantu

Přestože se o AOP mluví jako o neselektivní metodě odstraňování znečištění z vod, byl pozorován významný vliv vstupní koncentrace těchto látek [1]. Obecně bylo zjištěno, že s rostoucí koncentrací kontaminantu klesá účinnost procesu. Tento jev zmiňují studie zaměřené na odstraňování antibiotik pomocí γ záření [226], mikrocystinu LR pomocí UVC/H₂O₂ [227], azobarviva AR14 fotokatalýzou [228] nebo karbamazepinu s využitím UV/TiO₂ [229].

V případě karbamazepinu s navyšováním koncentrace z 5 mg · l⁻¹ na 10, 15 a 20 mg · l⁻¹ klesala účinnost odstranění po 30 minutách z 92,8 % na 68,4 %, 54,0 % a 41,2 % [1, 229]. Podobné výsledky přinesla studie degradace ibuprofenu s využitím nízkoteplotního plazmatu. Navýšením koncentrace z 10 mg · l⁻¹ na 60 mg · l⁻¹ klesla účinnost z 46 % na 14,2 % [230]. Stejně tak UVC degradace sulfomethoxazolu navýšením koncentrace tohoto antibiotika z 1,5 mg · l⁻¹ na 24 mg · l⁻¹ došlo ke snížení rychlostní konstanty na přibližně 20 % původní hodnoty [231].

Vliv pH

Hodnota pH roztoku ovlivňuje nejen chování cílových molekul, ale také povrchový náboj katalyzátoru a tím pádem lze předpokládat významný vliv na efektivitu celého procesu [1]. Vliv pH posuzovala studie zabývající se odstraňováním ibuprofenu s využitím γ záření. Změnu hodnoty pH z 1,45 na 11,05 se za stejných podmínek snížila účinnost z 92,05 % na 80,25 % [232]. Eliminace antibiotika ciprofloxacinu (CIP) s využitím síranových radikálů získaných aktivací pomocí katalyzátoru (Mn) byla negativně ovlivněna úpravou pH z 2 na 11. Účinnost se tak snížila z 95 % během 80 minut na pouhých 27 %. Protože CIP je negativně nabitý při pH > 8,1 a pozitivně nabitý při pH < 6,0, negativně nabitý •SO₄⁻ účinněji reaguje s CIP při pH < 6,0 [233]. Nižší hodnota pH (pH = 3) se ukázala jako účinnější také při využití UV/PS pro odstranění brilantní zeleně [234]. Naopak fotokatalytická (MoS₂) degradace insekticidu bendiokarbu byla účinnější při pH 6 než při pH 3 [235].

Jak je vidět na uvedených příkladech, vliv pH není jednotný a závisí na systému jako celku: zvolené technologii a odstraňovaném polutantu.

Počáteční koncentrace peroxidu

U AOP založených na tvorbě hydroxylových radikálů z peroxidu vodíku je jeho počáteční koncentrace důležitá z několika důvodů. Kromě množství dostupných radikálů ovlivňuje významně i náklady technologie. Přidáváním dalších látek do systému se s vysokými požadavky na její koncentraci může proces významným způsobem prodražít. Účinnost odstraňování polutantů se zvyšující se koncentrací peroxidu roste jen do doby, než začne působit tzv. *scavenging effect*, kdy jsou

radikály vycytávány molekulami H_2O_2 nebo sebou navzájem [1]. Během studie zaměřené na odbourávání antibiotik pomocí UVC/ TiO_2 s přidavkem H_2O_2 byly pozorována optimální hodnota koncentrace peroxidu $100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ z hodnoceného rozsahu $50\text{-}300 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ [236]. K podobným závěrům vedla studie rozkladu azobarviva (AR14), kde byla jako optimální stanovena koncentrace H_2O_2 10 mM [237]. V sadě experimentů zaměřené na jiné azobarvivo (AO) a vliv různých koncentrací PS ($\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$), PMS (HSO_5^-) a H_2O_2 autoři pozorovali zvýšení účinnosti s rostoucí dávkou oxidantu [238].

Intenzita záření

Intenzita záření je velmi významným faktorem u AOP založených na UV a gamma záření. Obecně řečeno, s rostoucí intenzitou roste rychlost tvorby radikálů a tím i odstraňování nežádoucích látek. Například během fotokatalytického odstraňování paracetamolu (UVC/ TiO_2) se s navýšením intenzity záření (z $1,2 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ na $12,6 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$) zvýšila rychlostní konstanta pětáctkrát (z $0,3 \cdot 10^{-3}$ na $10,5 \cdot 10^{-3}$) [1, 239]. Obdobně při degradaci vybraných léčiv v systému UV-254 nm/ TiO_2 se zvýšením intenzity (z $12,2 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$ na $47,2 \text{ mW} \cdot \text{cm}^{-2}$) narostla účinnost procesu o 10 až 40 % [240]. Naopak poklesem intenzity (z $0,1919 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$ na $0,1048 \mu\text{W} \cdot \text{cm}^{-2}$) za použití ZnO katalyzátoru se snížila účinnost odstranění barviva (Eosin Y) z 93 % na 82 % [241].

Množství katalyzátoru

U AOP závislých na přítomnosti katalyzátoru není vliv jeho množství překvapující. Pozitivní vliv na účinnost zvýšením dávky katalyzátoru byl pozorován u odstraňování antibiotik [242] a jiných léčiv (TiO_2) [236, 238]. Při navýšení množství TiO_2 z $0,25 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ na $3,0 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ se rychlostní konstanta zvýšila o přibližně 22 %. Jisté zvýšení účinnosti tedy bylo několikrát potvrzeno, avšak ne tak výrazné, aby vynahradilo zvýšené náklady spojené s navyšováním dávky katalyzátoru.

Vliv iontů a necílových organických sloučenin

V praxi povrchové i odpadní vody kromě rozmanitých organických látek obsahují různé anorganické anionty a kationty. Tyto ionty a organické látky mohou rychle reagovat s vytvořenými radikály a tím pádem konkurovat cílovým kontaminantům [233]. Navíc se při fotokatalýze mohou hromadit na povrchu katalyzátoru a tím bránit v účinné tvorbě radikálů [1]. Inhibice procesu byla pozorovaná při foto-katalytickém odstraňování ciprofloxacinu [226] nebo norfloxacinu [243]. Konkrétně anorganické ionty snižovaly účinnost degradace cílových látek v pořadí: $\text{NO}_2^- > \text{CO}_3^- > \text{HCO}_3^- > \text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-}$ [243]. Vysoký inhibiční potenciál NO_2^- , CO_3^- a HCO_3^- může být vysvětlen jejich relativně vysokou rychlostní konstantou reakce (2. řádu) s $\bullet\text{OH}$ a $\bullet\text{SO}_4^-$

[1]. Podobné výsledky prezentuje i studie zaměřující se na antibiotikum enoxacin a k iontům významně ovlivňujících rychlost procesu přidává i Fe^{3+} [244]. Nicméně současně uvádí, že přidáním Cl^- nebyl pozorován žádný významný vliv a to z důvodu tvorby sekundárních radikálů ($\cdot\text{ClOH}^-$, $\cdot\text{Cl}_2^-$ a $\cdot\text{Cl}$) reakcí Cl^- s $\cdot\text{OH}$ [244].

1.5 AOP a odstraňování estrogenů z vod

Pokročilé oxidační procesy byly během posledních dvaceti let intenzivně zkoumány a pozorovány účinnosti jednotlivých technologií na rozmanité skupiny látek. Mezi nimi mimo jiné i na estrogenu. Následující tabulka shrnuje významné poznatky v oblasti eliminace estrogenů z vod pomocí různých AOP [131].

Tabulka 16: Odstranění estrogenů z vod pomocí různých AOP [131]

estrogen	AOP	matrice/ experimentální podmínky	výsledky	délka experimentu	zdroj
E1, E2	fotolýza	vodný roztok pH = 2-8	E2 degradovalo pod vysokotlakou UV lampou s účinností pod 65 %, E1 s účinností přes 90 %, s rostoucí koncentrací estrogenů klesala účinnost procesu	60 min	[245]
E2, EE2	fotolýza	vodný roztok, pH = 5,5-6,0 $c_0 = 0,5 \mu\text{M}$	E2 a EE2 úspěšně odstraněny při 254 nm během 60 min, při $\lambda > 254$ nm účinnost 70 % během 400 min	60 a 400 min	[246]
E1, E2	fotolýza	říční voda, pH = 7, $c_0 = 0,27 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$	E2 degradovalo slunečním světlem s účinností pod 30 %, a s účinností přes 70 %, za přítomnosti organických látek	6 hod	[247]
EE2	fotolýza	vodný roztok, pH = 7	EE2 pod UVC nedegradovalo (účinnost 0,4 %)	-	[248]
E1	fotolýza	vodný roztok	poločas eliminace E1 působením slunečního záření byl 52,50 min a účinnost procesu se zvýšila za přítomnosti huminových kyselin a neutrálního pH	360 min	[249]
E1, E22	fotolýza	povrchová voda	E1 degradovalo (30 %) pod UVB , účinnost byla, nižší za přítomnosti organického uhlíku, EE2 nedegradovalo téměř	8 hodin	[250]
E2	fotolýza	vodný roztok	vůbec, účinnost procesu zvýšilo provzdušňování (z 60 na 80 %), příznivě působila také přítomnost dusičnanů, železitých iontů a huminových kyselin, hydrogenuhličitanů účinnost snížily	10 hodin	[251]
E2	UV/TiO ₂	vodný roztok	odstraněno 98 % E2 během 3,5 hodiny	210 min	[252]
E1, E2, EE2	UVA a UVA/TiO ₂	vodný roztok, $c_0 = 10 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$	fotokatalytickou reakcí byla snížena estrogení aktivita	120 a 500+ min	[253]

E2, EE2	UV a UV/H ₂ O ₂	vodný roztok, pH = 6,8	na 50 % během 10 minut dávkováním peroxidu vodíku se. zvýšila účinnost z 20 % na více než 90 %	-	[254]
E1, E2	UV/TiO ₂	odpadní voda, využití slunečního záření	povedlo se úspěšně eliminovat E1 a E2, degradace probíhala podle kinetiky pseudo-prvního řádu (0,01 h ⁻¹)	700 min	[255]
E2	O ₃ UV/O ₃	vodný roztok, c ₀ = 0,4 mmol · l ⁻¹	Přidání UV záření k O ₃ zvýšilo účinnost procesu a snížilo množství potřebného O ₃ o 22,5 %	90 min	[256]
E1, E2, E3, EE2	ultrazvuk	vodný roztok c ₀ = 10 μg · l ⁻¹	80-90 % estrogenů bylo eliminováno během 40-60 minut	60 min	[257]
E2, EE2	CI/UVC	vodný roztok, c ₀ = 100 μg · l ⁻¹ c _{CI} = 2 mg · l ⁻¹	Snížení estrogenity (YES test) během 10 minut, odstranění 90 % estrogenů během 120 minut	120 min	[258]
E1,E2, EE2	UV/O ₃ UV/H ₂ O ₂	vodný roztok,	estrogeny byly degradovány během 25 minut, byla sledována snížená estrogenita vzorku, UV/O ₃ bylo účinnější než UV/H ₂ O ₂	25 min	[259]
EE2	Fentonova oxidace	vodný roztok c ₀ = 200 μg · l ⁻¹	bylo dosaženo úplné mineralizace během 10 minut	15 min	[260]
E1	foto Fentonova oxidace	vodný roztok c ₀ = 18,5 μg · l ⁻¹	bylo dosaženo eliminace 98,4 % během 160 minut	160 min	[261]
E2	foto Fentonova oxidace	vodný roztok c ₀ = 272 μg · l ⁻¹	bylo dosaženo eliminace 86,4 % během 8 hodin	8 hodin	[262]

Tabulka 16 uvádí pouze příklady studií zabývajících se různými metodami AOP se zaměřením na estrogeny. Výzkum v oblasti AOP se často zaměřuje na velmi úzkou skupinu polutantů, případně využití sledované technologie pouze na jednu látku. Společným jmenovatelem se zdá být relativně dlouhý kontaktní čas. Experimenty jsou často designovány na desítky až stovky minut, což by při případném převádění do praxe způsobovalo značné technologické problémy. V další části této práce jsou navrženy a testovány metody odstranění skupiny estrogenů z vody s vysokou účinností v krátkém čase expozice - v rádech sekund.

2 Výzkumná část

Výzkumná část dizertační práce se zaměřuje na využití hydrodynamické kavitace s H_2O_2 , O_3 , perkarbonátem a persulfátem, kde vystupuje jako alternativní způsob jejich aktivace. Cílovými polutanty byly zvoleny tři přírodní (E1, E2, E3) a jeden syntetický estrogen (EE2). Cílem je najít časově efektivní AOP metodu, která dokáže s vysokou účinností eliminovat příslušné nežádoucí látky ve vodě.

Peroxid vodíku je v rámci AOP běžně používaným činidlem. Nejčastěji je spojován s kombinací $\text{H}_2\text{O}_2/\text{UV}$. V takovém případě funguje UV záření jako iniciátor vzniku hydroxylových radikálů. Předložené experimenty zkoumají, zda hydrodynamická kavitace může efektivně iniciovat vznik $\bullet\text{OH}$ a tím pádem účinně odstraňovat sledované estrogény.

Ozon vedle H_2O_2 představuje další oxidační činidlo, které bývá mezi AOP často využíváno. V posledních letech také roste jeho popularita, a to mimo jiné díky klesajícím nákladům na jeho výrobu spojenou s technologickým pokrokem [263]. Současně se ukázal být účinnou alternativou pro odstraňování organokovových sloučenin [264], pesticidů, fenolů, barviv nebo léčiv z vod [263]. Ozon je nestabilní plyn, proto jeho výroba probíhá *in situ*. Komerčně dostupné technologie generování ozonu jsou založeny na procesu korónového výboje v plynné fázi obsahující kyslík (vzduch). Ozon se kombinuje s H_2O_2 , UV světlem, katalyzátorem nebo ultrazvukem, aby se zvýšila účinnost procesu. Kombinace ozonu a hydrodynamické kavitace byla již testována na odstraňování organických látek z pitné vody. Sledovaný pokles organického uhlíku (TOC) ale nebyl výrazný - méně než 9 % za 20 minut a méně než 12 % po 60 minutách cirkulace v systému [265]. Obdobně při degradaci pesticidů bylo dosaženo účinnosti přibližně 26 % po 2 hodinách [266]. Cílem této části experimentů bylo zjistit potenciál HC/O_3 pro odstraňování estrogenů při nízkém kontaktním čase.

Perkarbonát sodný (SPC, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 1,5\text{H}_2\text{O}_2$) jakožto pevný nosič H_2O_2 má oproti kapalnému peroxidu hned několik výhod. Těmi nejvýznamnějšími jsou stabilita a bezpečnost při manipulaci, účinnost v širokém rozsahu pH a relativně nízká cena [267]. Kromě toho uhličitanové a hydrogenuhličitanové ionty vznikající během rozkladu perkarbonátu mohou působit jako pufr při nežádoucím snížení pH. Účinnost použití SPC může být zvýšena použitím katalyzátoru nebo aktivací dodáním energie. Vznikají tak hydroxylové, superoxidové a uhličitanové radikály. Pro aktivaci byly publikovány již různé postupy jako jsou ionty přechodných kovů, ozon a FeOCl [268, 269, 270], plazmový výboj [242], UV záření [271] nebo mikrovlny [272]. Prozatím nikdo nezkoumal možnost aktivace SPC pomocí hydrodynamické kavitace.

Sulfátové radikály jsou obvykle generovány z persíranu neboli persulfátu (PS), dodávaného jako

$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$, nebo méně často z peroxymonosulfátu (PMS) ve formě $2 \text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ [3]. Varianta s PS je cenově výhodnější a v praxi i uživatelsky přívětivější než PMS [273]. Persíran sodný je bílá krystalická sloučenina, která je vysoce rozpustná ve vodě (73 na 100 g vody při 25 °C), což umožňuje snadnou manipulaci [3]. V této práci je zkoumána možnost aktivace PS pomocí HC s vysokou účinností a nízkým kontaktním časem.

2.1 Stanovení vybraných estrogenů pomocí LC-MS/MS

2.1.1 Chemikálie

Analyty

Standardy estronu (E1; 3-Hydroxyestra-1,3,5(10)-trien-17-on; 99 %); estradiolu (E2; estra-1,3,5(10)-trien-3,17 β -diol; 98 %), estriolu (E3; estra-1,3,5(10)-trien-3,16 α ,17 β -triol; 98 %) a ethinylestradiolu (EE2; 17 α -ethinylestra-1,3,5(10)-triene-3,17 β -diol; 98 %) byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Jako vnitřní standardy pro kvantifikaci estrogenů byly použity deuterovaný estradiol (E2D; 17 β -estradiol-2,4,16,16-d4) pro kvantifikaci estronu, estradiolu a estriolu, a deuterovaný ethinylestradiol (EE2D; 17 α -ethinylestradiol-2,4,16,16-d4) pro kvantifikaci ethinylestradiolu, oba zakoupeny od společnosti C/D/N Isotopes Inc. (Pointe-Claire, Quebec, Kanada).

Rozpouštědla

Methanol a acetonitril čistoty pro LC-MS a aceton (pro HPLC) byly zakoupeny od firmy Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Ultra čištěná destilovaná voda byla vyrobena přímo v laboratoři pomocí zařízení Millipore system (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

Ostatní

Kyselina mravenčí byla použita jako mobilní fáze (0,7 mM), kyselina chlorovodíková pro úpravu pH vzorků, dansylchlorid (1 mg/ml v acetonu) pro derivatizaci estrogenů za účelem zvýšení citlivosti metody a hydrogenuhličitan sodný (100 mM; pH = 10,5) jakožto pufr pro derivatizaci.

2.1.2 Příprava vzorků

Během odběru byla změřena vodivost z alikvotu (HI 98129, Hanna Instruments Czech s.r.o.). Po odebrání se vzorky nechaly 3 a 24 hodin stát při laboratorní teplotě před dalším zpracováním. Po tomto čase byl upraven objem na 50 ml. Po zaznamenání hodnoty pH (HQ430D HACH, Loveland, CO; elektroda IntelliCAL pH PHC101) byly vzorky okyseleny 10% HCl na pH = 3 \pm 0,2 a byla přidána směs vnitřních standardů (20 μl , 25 ng \cdot ml⁻¹).

Extrakce estrogenů

Extrakce estrogenů z analyzovaných vzorků byla provedena metodou extrakce na pevné fázi (SPE) na kolonkách Oasis® HLB (500 mg, 6 ml) od firmy Waters (Waters Corporation, Massachusetts, USA). SPE kolonky byly kondicionovány 5 ml methanolu a následně propláchnuty 5 ml destilované vody. Poté bylo na kolonky pomocí podtlaku aplikováno 50 ml vzorku při průtoku maximálně $5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Poté byly SPE kolonky propláchnuty 5 ml destilované vody a sušeny po dobu 20 min. Analyty byly eluovány do vialek 8 ml methanolu. Následně byly vzorky vysušeny pod mírným proudem dusíku při $40 \text{ }^\circ\text{C}$.

Derivatizace estrogenů

Vysušený extrakt byl rekonstituován ve $20 \text{ } \mu\text{l}$ acetonu, poté bylo přidáno $50 \text{ } \mu\text{l}$ pufru - hydrogenuhličitanu sodného (100 mM, pH = 10,5) a $50 \text{ } \mu\text{l}$ dansylchloridu ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$, v acetonu). Reakční směs byla 1 minutu intenzivně protřepávána a 5 minut temperována při $60 \text{ }^\circ\text{C}$. Po ochlazení na laboratorní teplotu se směs nechala vysušit pod mírným proudem dusíku při $55 \text{ }^\circ\text{C}$. Vzorky byly následně rekonstituovány v 1 ml směsi methanol:voda (40:60; v/v) a před analýzou přefiltrovány přes stříkačkové filtry (nylon; $0,45 \text{ } \mu\text{m}$) do chromatografické vialky.

2.1.3 Analýza LC-MS/MS

Pro stanovení koncentrace dansylovaných estrogenů byla využita vysokoúčinná kapalinová chromatografie HPLC Agilent 1260 Infinity v kombinaci s hmotnostním spektrometrem Agilent 6460 TripleQuad (obojí Agilent Technologies, CA, USA) s ionizací elektrosprejem (ESI). Separace proběhla na koloně Poroshell 120 EC-C18 ($2,1 \times 100 \text{ mm}$; $2,7 \text{ } \mu\text{m}$) chráněné předkolonou Poroshell 120 EC-C18 ($2,1 \times 5 \text{ mm}$; $2,7 \text{ } \mu\text{m}$) od společnosti Agilent Technologies, CA, USA. Jako mobilní fáze A a B byly zvoleny kyselina mravenčí (7 mM) a acetonitril. K separaci byla využita gradientová eluce (tabulka 17) při průtoku mobilní fáze $0,35 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Délka analýzy byla 15 minut včetně 5 minut ekvilibrace.

Tabulka 17: Gradient HPLC separace

čas (min)	obj. % mobilní fáze A	obj. % mobilní fáze B	průtok (ml · min ⁻¹)
0,0	50	50	0,35
10,0	0	100	0,35
11,0	0	100	0,35
11,1	50	50	0,35
15,0	50	50	0,35

Dávkovaný objem byl 10 μ l. Měření pomocí hmotností spektrometrie probíhala v MRM (*Multiple reaction monitoring*) pozitivním režimu s využitím softwaru MassHunter Workstation (Agilent Technologies, CA, USA). Nastavení MS detektoru uvádí tabulka 18.

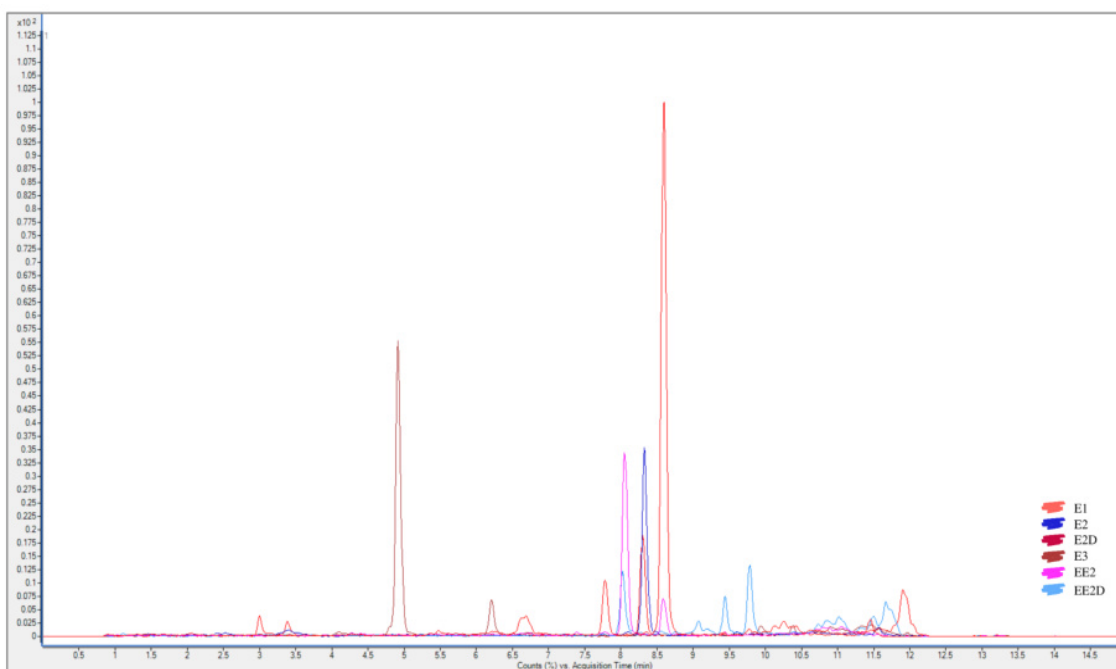
Tabulka 18: Nastavení detektoru

napětí na kapiláře	3 500 V
napětí na vstupu	2 000 V,
teplota nosného plynu (N ₂)	200 °C
průtok nosného plynu (N ₂)	10 ml · min ⁻¹
nebulizer	50 psi
teplota sušícího plynu (N ₂)	350 °C,
průtok sušícího plynu (N ₂)	10 ml · min ⁻¹

Identifikačními parametry pro jednotlivé estrogény byly retenční čas píků a 2 iontové přechody (kvantifikační a identifikační). Retenční čas, iontové přechody, kolizní energie a napětí fragmentoru použité pro MRM jsou uvedeny v tabulce 19.

Tabulka 19: Retenční čas jednotlivých estrogenů a jejich MRM přechody

analyt	t _r (min)	prekurzor (m/z)	kvantifikační/identifikační ion (m/z)	kolizní energie (V)	napětí fragmentoru (V)
E1	8,4	504	171/156	140	38
E2	7,8	506	171/156	140	42
EE2	8,1	530	171/156	140	40
E3	4,7	522	171/156	140	42



Obr. 17: Chromatogram LC-MS/MS analýzy (kalibrační bod, $c = 300 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$)

2.1.4 Validace metody

Identifikace estrogenů ve vzorcích byla provedena na základě jednotlivých MRM přechodů a porovnáním retenčního času každého píku estrogenu s odpovídajícím standardem. Koncentrace estrogenů ve vzorcích byla stanovena metodou kalibrační křivky v odpovídající matrici (5 bodů v rozmezí od 5 do $600 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$) se standardy estrogenů s korelačním koeficientem nejméně 0,99 pro všechny analyty. Hodnoty validovaných parametrů jsou uvedeny v tabulce 20.

Tabulka 20: Validované parametry analytické metody; *k vyhodnocení byly použity vzorky obsahující $100 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ jednotlivých estrogenů v kohoutkové vodě, počet měření $n = 6$

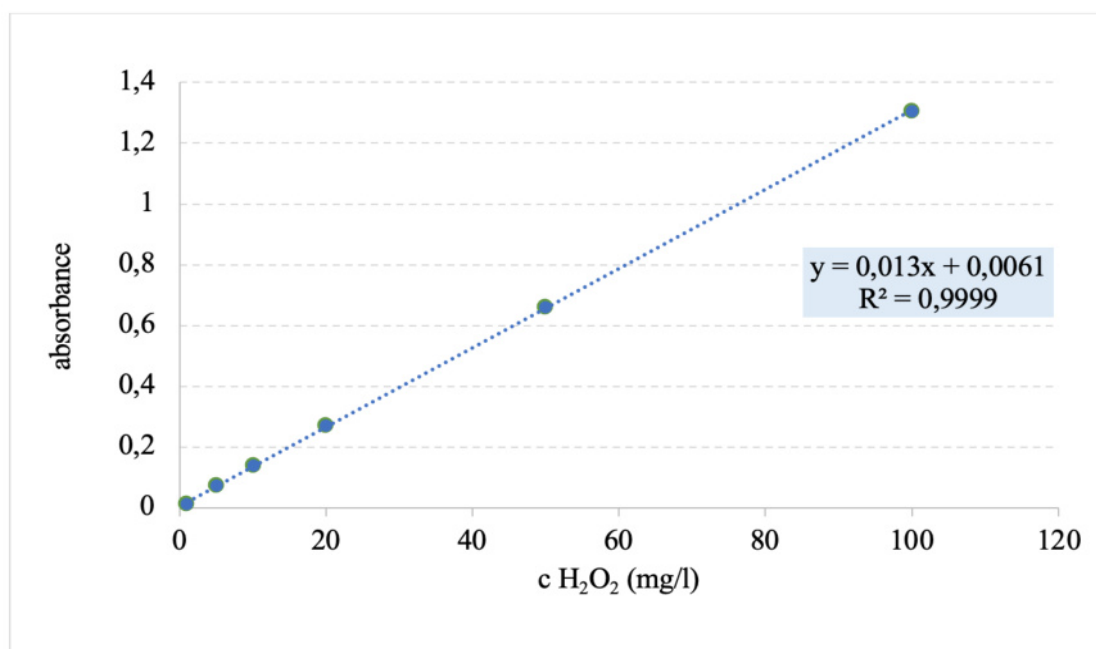
	E1	E2	EE2	E3
limit detekce metody MLD ($\text{nl} \cdot \text{l}^{-1}$)	0,92	2,49	2,84	4,51
limit kvantifikace metody MLQ ($\text{nl} \cdot \text{l}^{-1}$)	2,78	7,55	8,60	13,66
kovariance inter-day (%)*	7,54	4,47	3,69	6,43
kovariance intra-day (%)*	10,41	7,33	7,65	3,84
matricový efekt (%)*	87,13	99,39	78,82	124,87

Tabulka 21: Výtěžnost (%) estrogenů na jednotlivých koncentračních úrovních a matricích (^a deionizovaná voda, ^b kohoutková voda)

koncentrace	E1	E2	EE2	E3
100 ng · l ^{-1a}	97,06	100,35	99,03	123,84
300 ng · l ^{-1a}	73,15	83,34	88,52	94,11
300 ng · l ^{-1b}	88,47	92,43	92,91	95,17
500 ng · l ^{-1a}	114,33	104,61	111,48	83,62
500 ng · l ^{-1b}	96,80	107,75	103,07	113,09

2.1.5 Stanovení peroxidu vodíku ve vzorcích

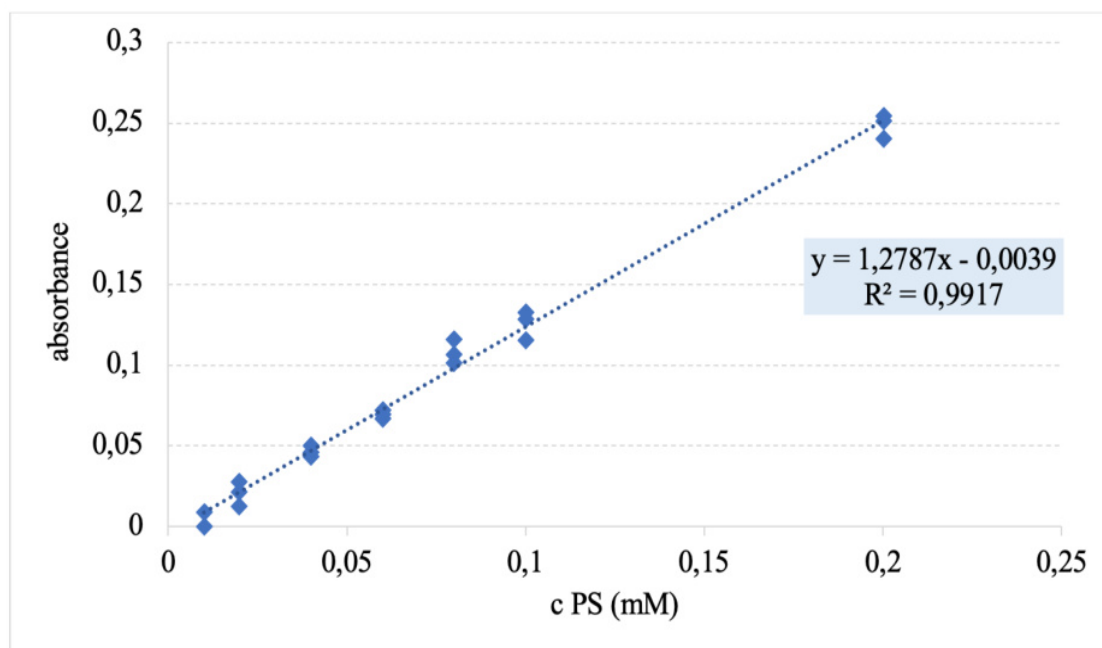
Značná část experimentů je založena na využití peroxidu vodíku jakožto zdroje •OH radikálů. Množství H₂O₂ ve vzorcích v daných časech je tedy vedle samotné koncentrace odstraňovaných estrogenů dalším validním sledovaným parametrem. Pro stanovení obsahu peroxidu vodíku byla použita již dříve v literatuře popsána kolorimetrická metoda [274]. Tato metoda je založena na specifické reakci mezi peroxidem vodíku a ionty titanu, při níž vzniká žlutě zbarvený komplex kyseliny pertitanové s absorpčním maximem při 407 nm. Vzorek byl smíchán s titanalovým činidlem v poměru 2:1 (vzorek:činidlo, v/v) a absorbance byla měřena pomocí spektrofotometru SparkTM multimode microplate reader (Tecan, Rakousko).



Graf 1: Kalibrační křivka pro stanovení H₂O₂ ve vzorcích, absorbance měřena při 407 nm

2.1.6 Stanovení persíranu sodného ve vzorcích

Ke stanovení koncentrace persíranu byla rovněž použita spektrofotometrie. K 200 μl vzorku byl přidán 1 ml činidla KI/NaHCO₃. Činidlo bylo připraveno rozpuštěním 100 g KI a 5 g NaHCO₃ (aby se zabránilo oxidaci jodidu kyslíkem) v 1 litru vody. Vzorek s dávkovaným KI/NaHCO₃ byl promíchán a ponechán 20 minut reagovat ve tmě [275]. Reakční produkt byl analyzován při vlnové délce 394 nm v 96jamkové destičce pomocí spektrofotometru SparkTM multimode microplate reader (Tecan, Rakousko).



Graf 2: Kalibrační křivka pro stanovení PS ve vzorcích, absorbance měřena při 394 nm

2.2 Adsorpce a desorpce estrogenů na materiálech běžně používaných při manipulaci a odběru vzorků ve vodní matrici

Na základě fyzikálně-chemických vlastností estrogenů je možné předpokládat jejich sorpci na různé materiály. Tato vlastnost může být zdrojem řady problémů nejen v životním prostředí ale také v laboratoři při jejich stanovení nebo nakládání se vzorky. Vzhledem k převážně hydrofobní povaze estrogenů jsou očekávány slabé interakce s polymerními materiály. A právě plastové a pryžové materiály se v současné době používají v široké škále aplikací - různé laboratorní vybavení nebo testovací a poloprovodní jednotky (například právě AOP).

S výjimkou jednorázových předmětů (špičky pipet, lahvičky, nádoby, rukavice atd.) je mnoho těchto předmětů určeno k opakovanému použití, například spojovací materiál v AOP jednotkách. Konkrétním příkladem jsou hadice laboratorních a polo/provozních zařízení, kde je žádoucí, aby byly inertní a odolné vůči mechanickému a chemickému poškození. Nicméně jejich polymerní povaha představuje riziko kontaminace a při volbě vhodného materiálu je nutné vzít v potaz i vlastnosti analytů. Nežádoucí adsorpce a desorpce stopových množství organických polutantů může způsobit vážné nesrovnalosti při manipulaci se vzorky a jejich analýzách, zejména pokud se jedná o nízká, pro životní prostředí relevantní množství.

Cílem této části studie bylo vyhodnotit míru adsorpce a desorpce tří přírodních estrogenů (E1, E2 a E3) a syntetického estrogenu (EE2) na povrchu šesti různých materiálů, které se běžně používají pro konstrukci laboratorních jednotek a přístrojů.

Charakteristiky materiálů a navrhované aplikace jsou uvedeny v následující tabulce [22](#).

Tabulka 22: Vlastnosti materiálů testovaných na sorpci/desorpci estrogenů

materiál	charakteristika	aplikace
Tygon S3™ E-3603	PVC bez DEHP, netoxický, inertní s hladkým vnitřním povrchem	analytické přístroje; laboratorní, peristaltické a vakuové pumpy; biofarmaceutika; inkubátory; exsikátory; plynové rozvody; potraviny a nápoje
Polyvinylchlorid (PVC)	odolný proti povětrnostním vlivům, hnilobě, korozi, nárazům a oděru, samo-zhášecí	voda, plyn, odpadní vody, průmyslové procesy, zavlažování, lékařská zařízení, vaky na skladování krve
Teflon (PTFE)	inertní, vysoce odolný proti stárnutí a vyšším teplotám	kapaliny pod tlakem a za zvýšených teplot; korozivní kapaliny
Kynar® (PVDF)	vynikající odolnost UV záření, chemická odolnost široké škále agresivních chemikálií	kontaktní plocha pro výrobu, skladování a přenos korozivních kapalin; v nádržích, čerpadlech, ventilech, filtrech, výměnicích tepla a potrubních systémech
Ethylen propylen dien monomer (EPDM)	odolný ozónu a povětrnostním vlivům, oteruvzdorný, elektricky vodivý	vhodná pro použití jako výtlačná hadice v chemickém průmyslu a při těžbě surovin
Styren butadienový kaučuk (SBR)	dobrá odolnost a pevnost v tahu, vynikající odolnost proti oděru, odolnost působení vody, organickým kyselinám, ketonům, chemikáliím, alkoholu a aldehydům, nízká odolnost vůči ozónu	průmyslové aplikace, lepidla, pryžové/mechanické zboží, pneumatiky pro automobily

2.2.1 Design experimentu

Studie byla rozdělena na dvě části a v obou se testovala nejprve sorpce estrogenů na vybrané materiály a následně pak možná desorpce do deionizované vody. V první fázi studie byly provedeny sorpční experimenty se všemi šesti materiály: styren-butadien (SBR), ethylen-propylen-dien-monomer (EPDM), polytetrafluoretylen (PTFE), Tygon S3™, KYNAR® (polyvinylidenfluorid, PVDF) a polyvinylchlorid (PVC). Každý materiál o ploše 1 000 cm² byl jednotlivě ponořen do lázně (2 litry) s deionizovanou vodou obsahující směs estrogenů o koncentraci 100 ng · l⁻¹. Obsah byl kontinuálně míchán magnetickým míchadlem při 400 otáčkách za minutu při 21 °C po

dobu 30 minut. Poté byl v roztoku stanoven obsah estrogenů pomocí LC-MS/MS a pro analýzu estrogenů bylo odebráno 50 ml vzorku.

V desorpčních pokusech byl roztok nad testovaným materiálem nahrazen čistou deionizovanou vodou a znovu promícháván. Vzorky byly odebrány po 30, 60 a 90 minutách.

Pro další fázi studie byl zvolen EPDM a doba sorpce byla prodloužena na 1, 3, 5 a 12 hodin. Koncentrace estrogenů byly navýšeny na 300 a 500 ng · l⁻¹. experimenty probíhaly v deionizované vodě a v kohoutkové vodě. Po 12hodinové expozici byla testována desorpce po 30, 60 a 90 minutách do deionizované vody.

2.2.2 Statistické vyhodnocení dat

Statistické analýzy byly provedeny pomocí softwaru GraphPad Prism. Pro stanovení rozdílů mezi kontrolou (počáteční koncentrace) a vzorky (koncentrace estrogenů v roztoku po dané době) byla použita neparametrická jednofaktorová ANOVA s následným Dunnovým testem. Rozdíly mezi jednotlivými průměry byly hodnoceny Man-Whitneyho testem. Za statisticky významnou byla považována hladina pravděpodobnosti $p < 0,05$. Všechny údaje jsou uvedeny jako průměr ± směrodatná odchylka relativních koncentrací (vztaženo k počáteční koncentraci). Relativní adsorbovaná nebo desorbovaná koncentrace byla vypočtena následujícím způsobem:

$$\text{Adsorpce} = (1 - (\text{koncentrace v čase} / \text{počáteční koncentrace})) * 100 \%$$

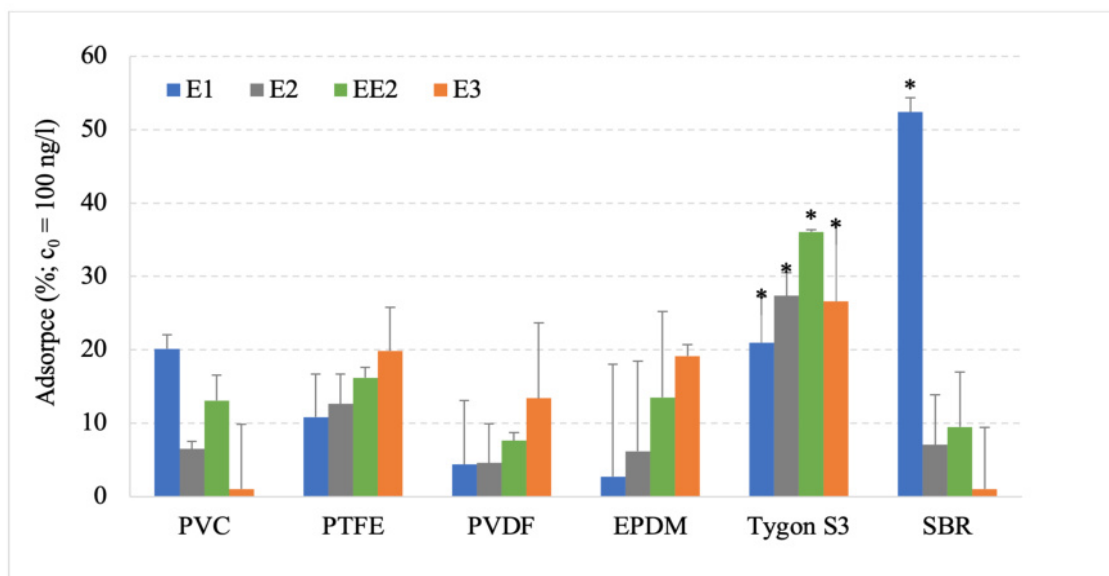
$$\text{Desorpce} = (\text{koncentrace v čase} / \text{počáteční koncentrace}) * 100 \%$$

2.2.3 Výsledky: Krátkodobá expozice

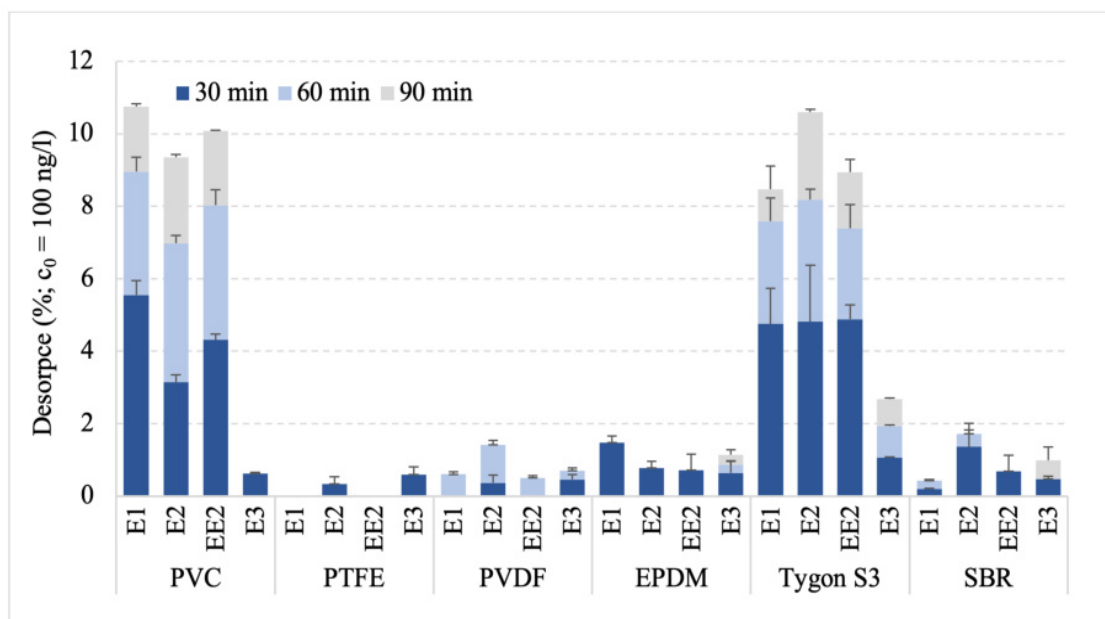
Pro první screening adsorpce a desorpce estrogenů bylo hodnoceno šest materiálů obecně doporučovaných pro manipulaci s chemickými látkami. Po 30minutové expozici v roztoku estrogenů ($c = 100 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$) bylo pozorováno snížení koncentrace estrogenů v roztoku, zejména v případě SBR, kdy se jednalo o téměř 50 % původní koncentrace, a v případě PVC a Tygonu S3TM o více než 20 %. Tygon S3TM (PVC bez DEHP) absorboval i další estrogény, především E2 (27 %) a EE2 (37 %). U E3 nebyl pozorován významný úbytek koncentrace naznačující sorpci na sledované materiály. Hodnoty sorpce estrogenů na ostatních materiálech byly relativně nízké (méně než 20 %).

Vhodnost materiálů jako PVC a PTFE již byly testovány i jinými autory [276], byly shledány jako vhodné pro manipulaci s estrogény a naše výsledky tomu také odpovídají. Naopak Tygon S3TM z důvodu poměrně vysokého stupně sorpce estrogenů (cca 30 %) vhodný není, protože v takovém případě může dojít ke značnému podhodnocení skutečné koncentrace estrogenů ve vzorku (graf 3).

Použití kontaminovaného vybavení může způsobit závažné nepřesnosti při zpracování vzorků. Proto bylo také zjišťováno, zda se estrogeny desorbují z povrchu materiálu zpět do deionizované vody. V případě materiálu SBR byla desorbována pouze 2 % počáteční koncentrace E1 (graf 4). Na druhou stranu PVC a zejména Tygon S3™ v deionizované vodě uvolňovaly estrogeny z povrchu kontinuálně po celou dobu experimentu, nejvýznamněji během prvních 30 minut. Po 90 minutách dosáhla hodnota desorpce všech sorbovaných estrogenů téměř 10 % jejich počáteční koncentrace (graf 4).



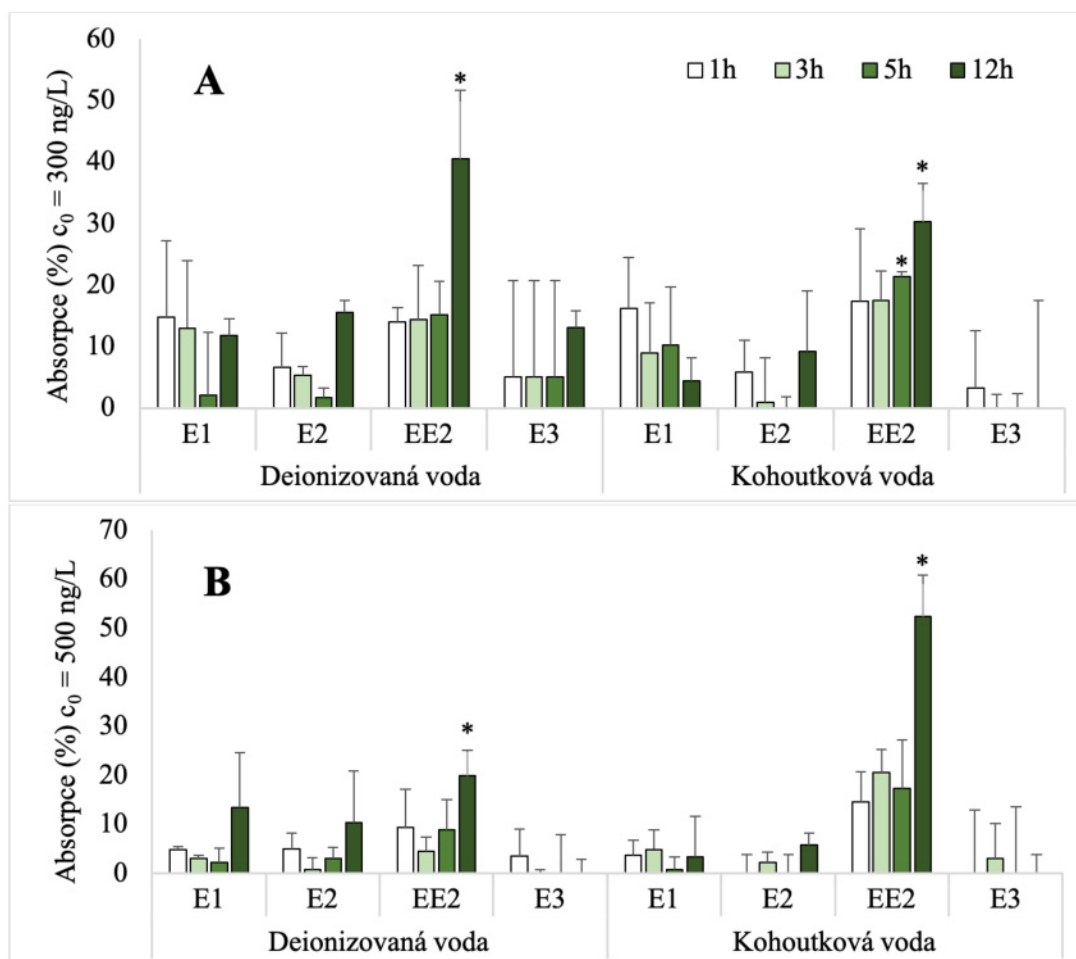
Graf 3: Screening relativní adsorpce po 30 minutách inkubace šesti polymerních materiálů v deionizované vodě se sledovanými estrogény. Hvězdičky označují významné rozdíly zjištěné pomocí ANOVA a Dunnova testu při $p < 0,05$.



Graf 4: Screening relativní kumulativní desorpce po 30, 60 a 90 minutách inkubace materiálů v čisté deionizované vodě.

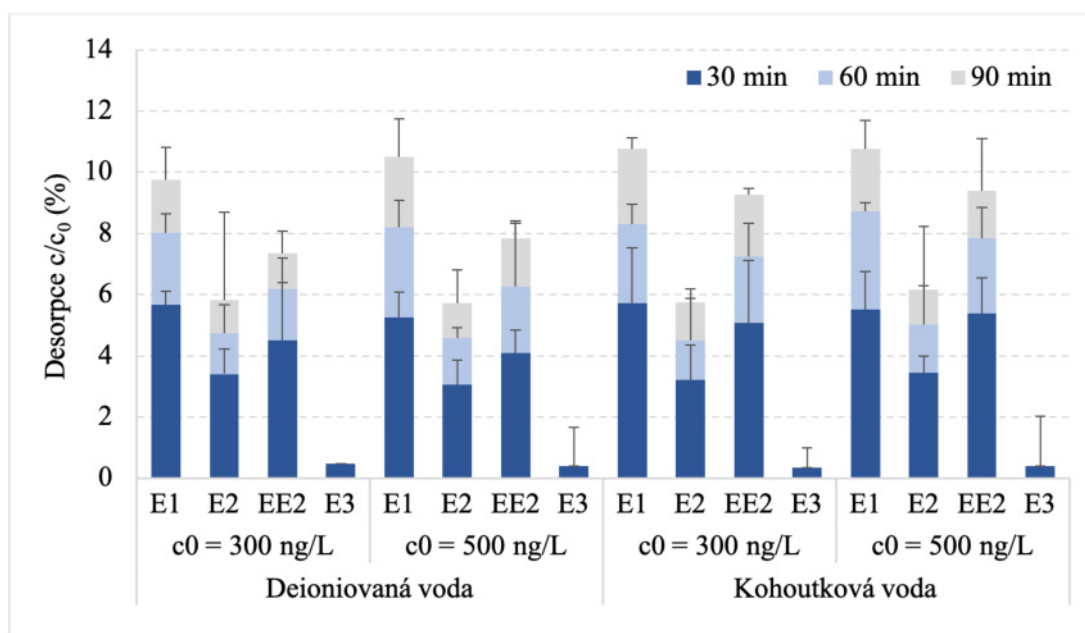
2.2.4 Výsledky: Prodloužená expozice

S ohledem na výsledky screeningového testu a na skutečnost, že jiní autoři se již zabývali sorpcí estrogenů na PVC, PTFE a PVDF, byl pro podrobnější hodnocení zvolen materiál EPDM. Ten má mimo jiné i dobré konstrukční vlastnosti, např. lépe se ohýbá než PTFE nebo PVDF. V další fázi studie byla testována sorpce při vyšší koncentraci estrogenů (300 a $500 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$) ve dvou různých matricích (deionizovaná a kohoutková voda) a po dobu expozice prodloužené na 1-12 hodin. Jak je vidět na grafu 5 A a B, významný pokles koncentrace estrogenů byl pozorován pouze u EE2 po 12 hodinách v obou koncentračních hladinách a vodních matricích. Sorbováno bylo až 40 % EE2 po 12 hodinách. Druhou nejvýznamnější byla sorpce E1, která dosahovala hodnot až 20 % počáteční koncentrace a následně E2 a E3, u které byly pozorované hodnoty ve srovnání s EE2 významně nižší.



Graf 5: Relativní adsorpce po 1, 3, 5 a 12 hodinách inkubace EPDM v deionizované nebo kohoutkové vodě s přidavkem estrogenů (počáteční koncentrace 300 a 500 $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) Hvězdičky označují významné rozdíly zjištěné pomocí ANOVA a Dunnova testu při $p < 0,05$.

Další fáze experimentu zaměřená na možnou desorpci estrogenů zpět do vody byla provedena pro EPDM v deionizované vodě. Během 90 minut bylo desorbováno téměř 10 % E1, 6 % E2 a 8 % EE2, a to u obou počátečních koncentrací a v obou matricích. Kumulativní koncentrace estrogenů desorbovaných z povrchu EPDM jsou uvedeny v grafu 6.



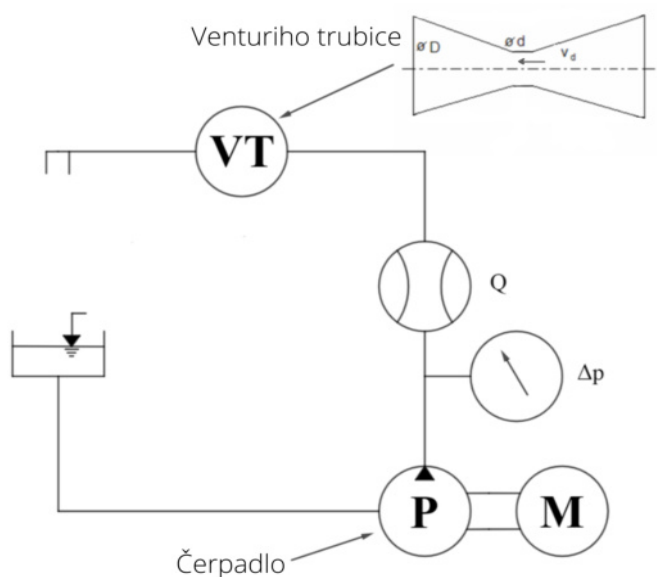
Graf 6: Relativní kumulativní desorpce po 30, 60 a 90 min inkubace v deionizované nebo kohoutkové vodě. Hvězdičky označují významné rozdíly zjištěné pomocí ANOVA a Dunnova testu při $p < 0,05$.

Kavitační jednotka byla v dalších experimentech osazena hadicemi z EPDM, který má také ve srovnání s dalšími sledovanými materiály vhodné konstrukční vlastnosti. Mezi ně patří například poddajnost umožňující hadice dobře ohýbat a tím pádem snížit množství potřebné ke konstrukci zařízení. To současně vede ke snížení mrtvého objemu a lepší manipulaci. Potenciální sorpce/desorpce estrogenů v systému byla i nadále v pravidelných intervalech mezi experimenty monitorována.

2.3 Odstranění estrogenů pomocí AOP využívajících hydrodynamickou kavitaci

Hydrodynamická kavitace má potenciál přispívat ke tvorbě radikálů v rámci rozmanitého uspořádání AOP systémů. Mimo jiné má také schopnost účinně aktivovat persulfát tj. podpořit vznik hydroxylových nebo síranových radikálů. V následujících kapitolách je sledována účinnost její aplikace v kombinacích právě s perkarbonátem, persulfátem, peroxidem vodíku a ozonem.

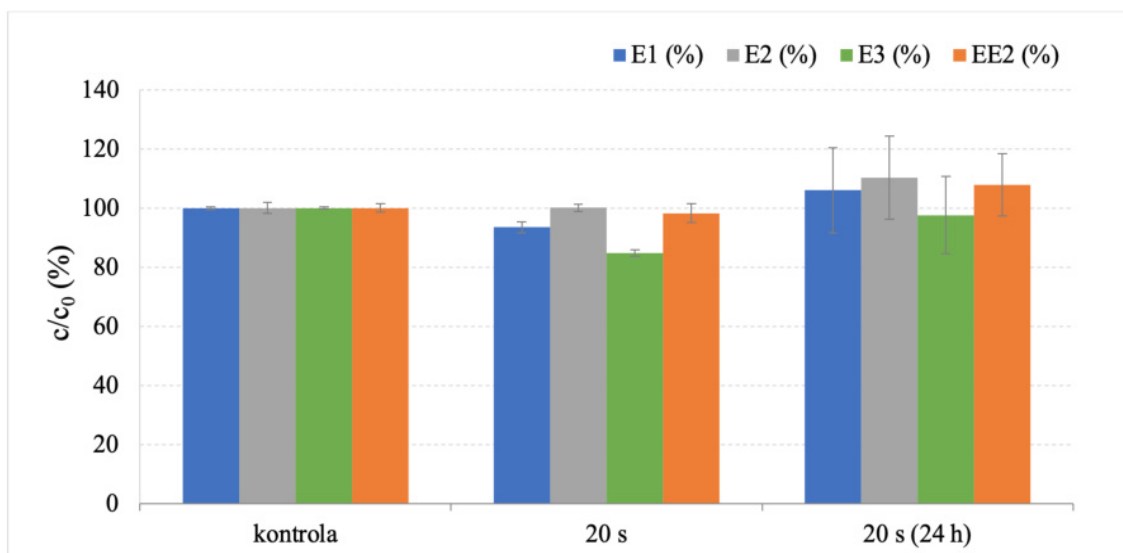
Abychom vyloučili vliv HC samotné na degradaci estrogenů, byl proveden set pokusů využívajících pouze hydrodynamické kavitace. Experimenty byly provedeny na kavitační jednotce (obrázek 18) sestávající se z nádrže, čerpadla, Venturiho trubice a regulačních ventilů. Jednotka operuje v cirkulačním režimu při rychlosti proudění $0,45 \text{ l} \cdot \text{s}^{-1}$. Jeden cyklus kavitační jednotkou odpovídá 4 sekundám.



Obr. 18: Schematické znázornění kavitační jednotky

Experimenty byly provedeny v režimu 5 cyklů kavitační jednotkou, tedy po 20 sekundách. Vzorky byly analyzovány výše popsanou LC-MS/MS metodou po 3 a 24 hodinách stání při laboratorní teplotě.

Z grafu 7 je patrné, že samotná HC není schopna účinně odstraňovat sledované látky. V následujících experimentech tedy vystupuje pouze jako aktivační prvek.



Graf 7: Relativní koncentrace estrogenů po 5 cyklech kavitační jednotkou (20 sekund); vzorky byly analyzovány po 3 a 24 hodinách stání za laboratorní teploty.

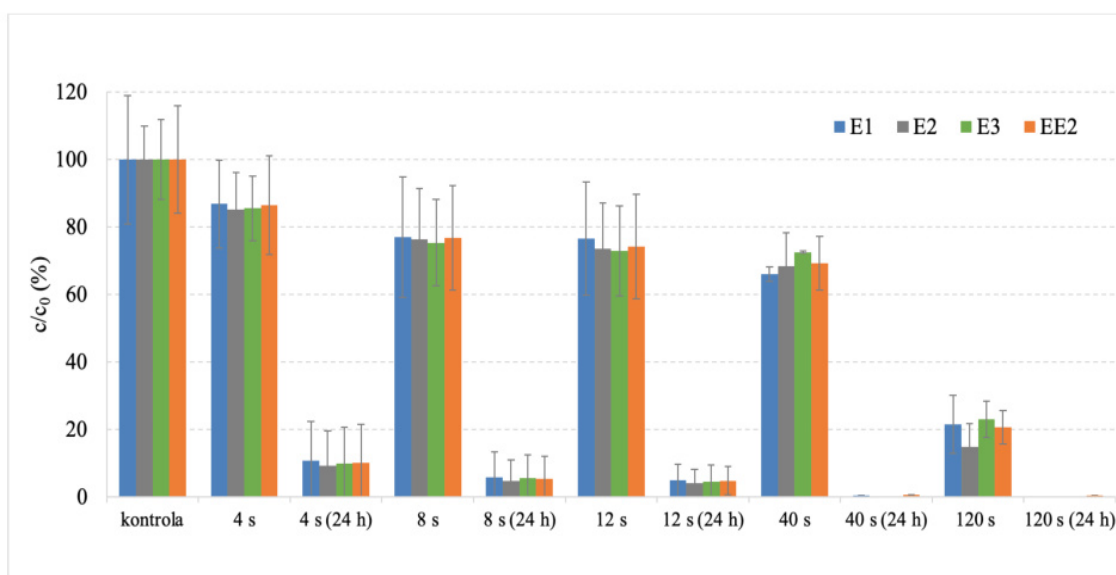
2.3.1 Hydrodynamická kavitace a peroxid vodíku

2.3.1.1 Design experimentu

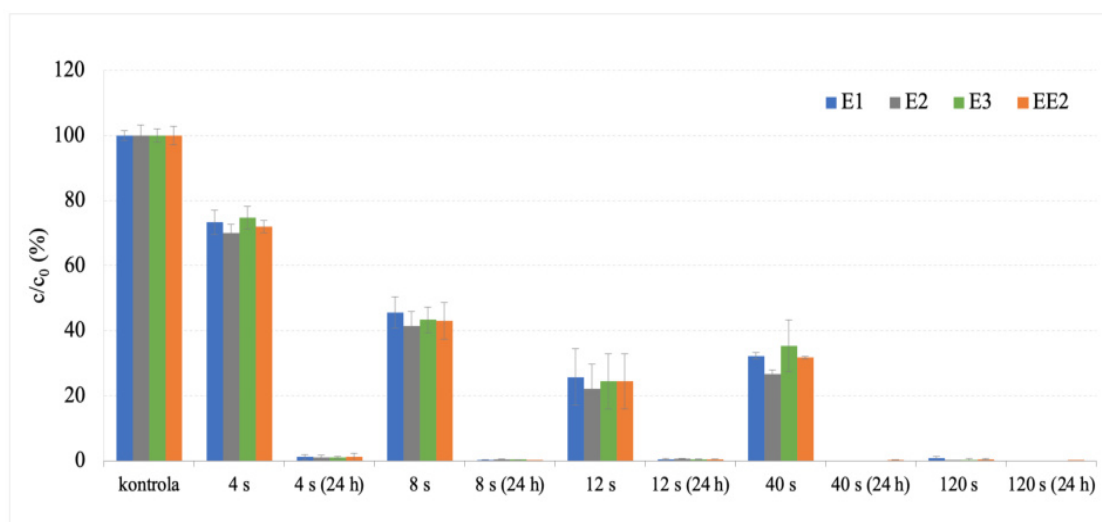
Nádrž kavitační jednotky (obrázek 18) byla naplněna 2 l vodného roztoku obsahujícího $300 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ každého sledovaného estrogenu. Experimenty byly provedeny v kohoutkové vodě ($\kappa = 582 \text{ } \mu\text{S/cm}$; $\text{pH} = 7,62$). Do systému byl dávkován H_2O_2 tak, aby bylo dosaženo koncentrace 20 a $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Vzorby byly odebrány po 1, 2, 3, 10 a 30 cyklech kavitační jednotkou, což odpovídá 4, 8, 12, 40 a 120 sekundám. Iontová síla ani pH roztoků nebyly nijak upravovány, aby se minimalizovaly provozní kroky, postup byl co nejekonomičtější a potenciálně vhodný pro praktické provedení. Hodnota pH, teplota a vodivost byly měřeny pomocí Combo pH/EC metru (Hanna, HI 98129). Po odběru byly vzorky před (výše popsanou) LC-MS/MS analýzou ponechány stát 3 a 24 hodin aby byl zajištěn dostatečný čas pro zreagování vzniklých nestabilních meziproductů.

2.3.1.2 Výsledky: Vliv koncentrace peroxidu vodíku

Výsledky experimentů pro $\text{H}_2\text{O}_2 = 20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a $\text{H}_2\text{O}_2 = 50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ jsou shrnuty formou relativních koncentrací estrogenů v grafech 8 a 9.



Graf 8: Relativní koncentrace sledovaných estrogenů po 1, 2, 3, 10 a 30 cyklech kavitační jednotkou (4, 8, 12, 40 a 120 sekund); dávka $\text{H}_2\text{O}_2 = 20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$.



Graf 9: Relativní koncentrace sledovaných estrogenů po 1, 2, 3, 10 a 30 cyklech kavitační jednotkou (4, 8, 12, 40 a 120 sekund); dávka $\text{H}_2\text{O}_2 = 50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

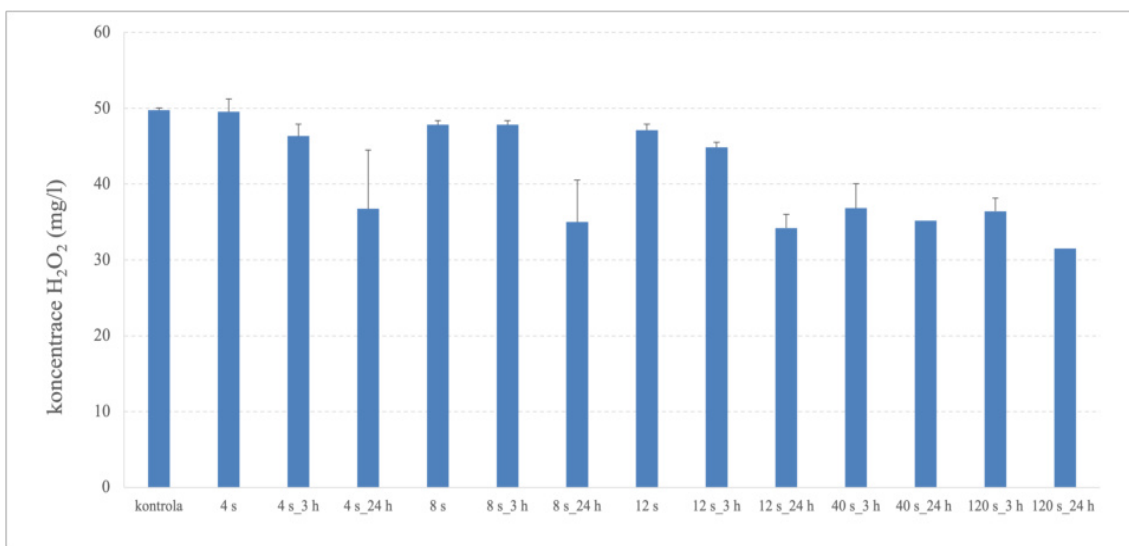
Ve vzorcích odebraných po 40 a 120 sekundách analyzovaných po 24 hodinách byly hodnoty množství estrogenů pod MLQ (v případě E3 pod MLD). Současně je možné pozorovat, že se rozdíl v účinnosti po prodloužení expozice u vyšší dávky peroxidu ($\text{H}_2\text{O}_2 = 50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) po 24 hodinách stání stírají.

Z grafů je zjevné, že navýšení koncentrace H_2O_2 vedlo ke zvýšení rychlosti degradace estrogenů. Grafické znázornění je podpořeno výpočtem rychlostní konstanty v tabulce 23. Výpočet rychlostních konstant (k) eliminace estrogenů byl proveden za použití kinetického modelu pseudo-prvního řádu $-\ln(c_t/c_0) = k \cdot t$ [259, 277], kde c_0 a c_t představují počáteční koncentraci a koncentraci v čase t . Zvýšení koncentrace H_2O_2 vedlo i ke zvýšení hodnoty příslušné rychlostní konstanty a to až na trojnásobek.

Tabulka 23: Rychlostní konstanty degradace estrogenů pomocí HC/ H_2O_2 ; $r > 0,97$

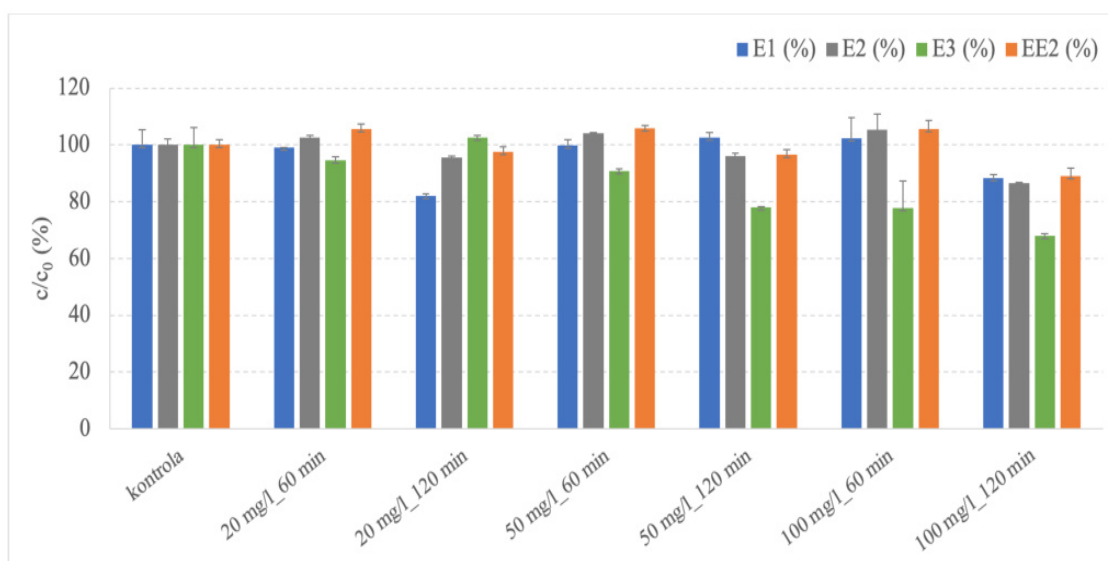
	$k_{E1}(\text{min}^{-1})$	$k_{E2}(\text{min}^{-1})$	$k_{EE2}(\text{min}^{-1})$	$k_{E3}(\text{min}^{-1})$
$20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{HC}$	0,7649	0,9269	0,7233	0,7786
$50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \text{H}_2\text{O}_2 + \text{HC}$	2,4236	3,4014	2,8023	2,5893

Během experimentu byla sledována i koncentrace H_2O_2 v systému. Na grafu 12 je vidět jeho postupná spotřeba.



Graf 10: Koncentrace H₂O₂ po 1, 2, 3, 10 a 30 cyklech kavitační jednotkou (4, 8, 12, 40 a 120 sekund).

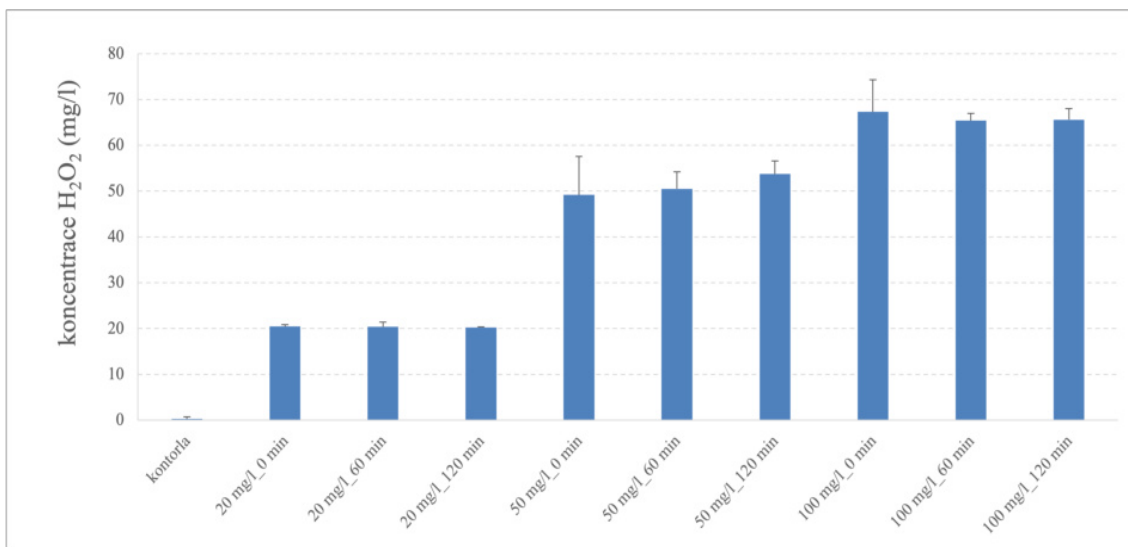
Protože samotný H₂O₂ je oxidačním činidlem, byla provedena série experimentů zaměřující se na účinnost odstranění sledovaných estrogenů jen působením H₂O₂. Testovány byly tři koncentrace, a to 20, 50 a 100 mg · l⁻¹ H₂O₂ (graf 11). Pro provedení pokusu bylo zvoleno vsádkové uspořádání, tedy v laboratorním skle odpovídajícího objemu za laboratorní teploty. Systém byl po celou dobu promícháván magnetickým míchadlem. Vzorky byly odebrány v časech 60 a 120 minut a zpracovány výše popsaným způsobem.



Graf 11: Vsádkový experiment odstranění sledovaných estrogenů jen působením H₂O₂.

Výraznější pokles koncentrace estrogenů byl pozorován až po 120 minutách, v případě $\text{H}_2\text{O}_2 = 100 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ po 60 minutách (E3). V kontextu předešlých experimentů je tedy vliv samotného H_2O_2 zanedbatelný.

Výsledky byly podpořeny i sledováním koncentrace H_2O_2 , kdy nebyla jeho spotřeba během experimentu pozorována.



Graf 12: Koncentrace H_2O_2 během vsádkového experimentu.

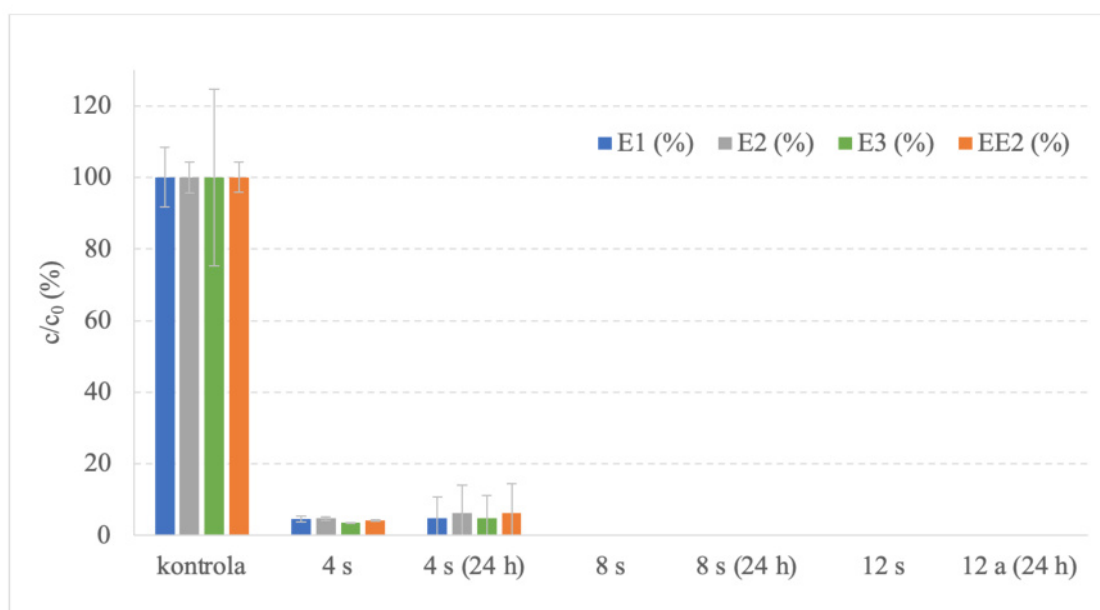
2.3.2 Hydrodynamická kavitace a ozon

2.3.2.1 Design experimentu

Pokusy byly provedeny na dříve popsané kavitační jednotce (obrázek 18). Nádrž byla naplněna 2 l vodného roztoku obsahujícího $300 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ každého sledovaného estrogenu. Do systému byl přiváděn ozon ze zařízení generujícího tento plyn v množství $400 \text{ mg} \cdot \text{hod}^{-1}$ (model GL-3210; 9 W; 220 V; 50 Hz). Vzorky byly odebrány po 1, 2 a 3 cyklech kavitační jednotkou, což odpovídá 4, 8 a 12 sekundám působení HC/ O_3 . Vzorky byly analyzovány po 3 a 24 hodinách.

2.3.2.2 Výsledky

Při současném působení HC a ozonu klesla koncentrace všech estrogenů již po 1 cyklu na hodnotu nižší než 5 % z původních $300 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$. Ve vzorcích odebraných po 2 a 3 cyklech (8 a 12 sekund) analyzovaných po 24 hodinách bylo stanovené množství estrogenů pod hodnotou MLD. Oproti výše uvedeným příkladům bylo dosaženo výrazně vyšší účinnosti za významného snížení časového intervalu.



Graf 13: Relativní koncentrace sledovaných estrogenů po 1, 2 a 3 cyklech kavitační jednotkou (4, 8 a 12 sekund); ozon byl generován na místě v množství $400 \text{ mg} \cdot \text{hod}^{-1}$

Významnou nevýhodou ozonu je fakt, že se jedná o zdraví škodlivý plyn a expozice může způsobit podráždění očí, nosu a krku, zatímco vysoké hladiny ozonu (až $95 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) mohou mít fatální účinky. Z tohoto důvodu jsou požadovány účinné systémy detekce a destrukce nadbytečného ozonu, aby byla zabezpečena bezpečnost personálu a obsluhy zařízení [263, 278]. To zvyšuje celkové náklady a náročnost provozu, což je jeden z faktorů, který je v současné době snaha snižovat.

2.3.3 Aktivace perkarbonátu sodného hydrodynamickou kavitací

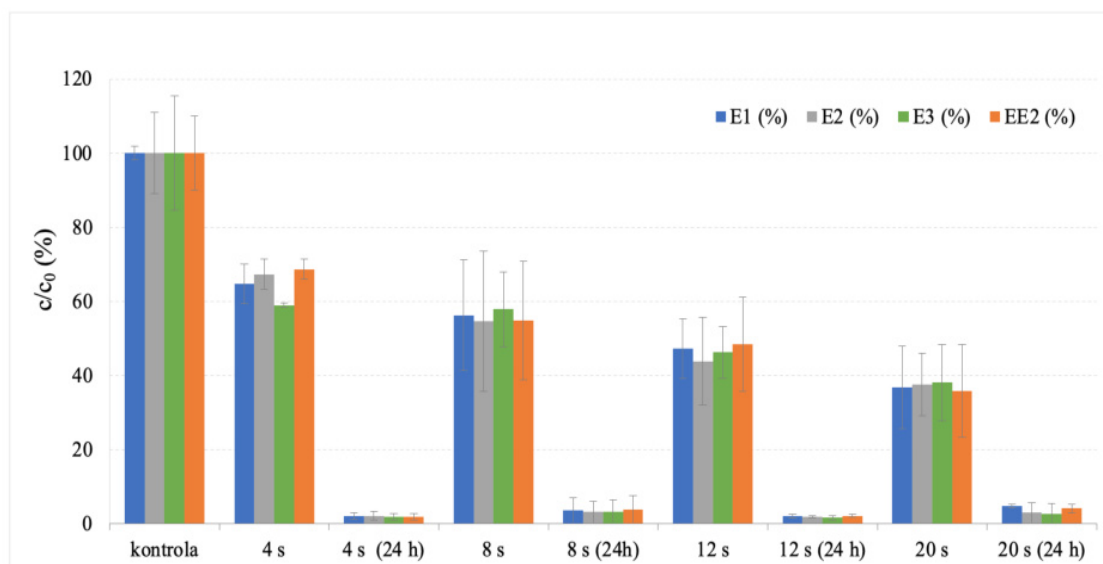
V této kapitole jsme se zabývali rozkladem estrogenů využitím SPC aktivovaného pomocí hydrodynamické kavitace. Předpokládali jsme, že hydrodynamická kavitace může rozpouštět a aktivovat SPC bez dalšího zahřívání nebo přidání chemických látek. Takový proces by měl být ekonomicky výhodnější a ekologicky šetrnější než využívání umělého zvyšování teploty. Zkoumány byly následující parametry: koncentrace SPC, počet kavitačních cyklů (kontaktní čas) a vliv zvýšení teploty dávkovaného roztoku SPC.

2.3.3.1 Design experimentu

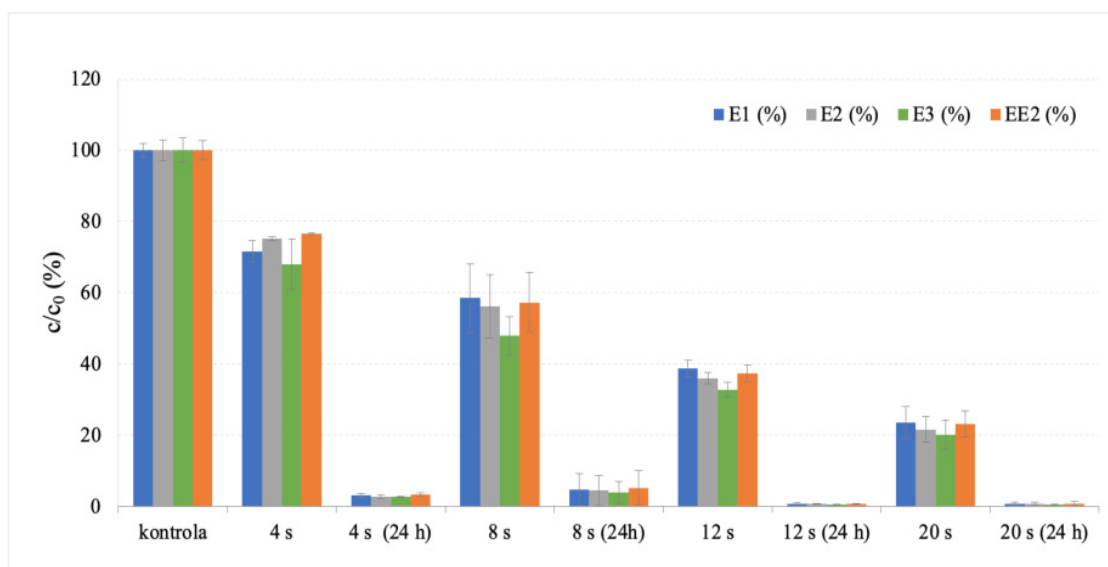
Experimenty byly provedeny na výše popsané kavitační jednotce (obrázek 18). Nádrž byla naplněna 2 l vodného roztoku obsahujícího $300 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ každého sledovaného estrogenu. Do systému byl přidán roztok SPC aby byla dosažena jeho koncentrace 80 a $200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Experimenty s oběma koncentracemi byly provedeny jak za laboratorní teploty, tak po zahřátí dávkovaného roztoku SPC na $60 \text{ }^\circ\text{C}$. Iontová síla ani pH roztoků nebyly nijak upravovány, aby se minimalizovaly provozní kroky, postup byl co nejekonomičtější a potenciálně vhodný pro praktické provedení. Hodnota pH, teplota a vodivost byly měřeny pomocí Combo pH/EC metru (Hanna, HI 98129). Vzorky byly analyzovány po 3 a 24 hodinách. Účinnost procesu degradace byla hodnocena na základě výpočtu rychlostních konstant (k) eliminace estrogenů. Tyto rychlostní konstanty byly stanoveny za použití kinetického modelu pseudo-prvního řádu $-\ln(c_t/c_0) = k \cdot t$ [259, 277], kde c_0 a c_t představují počáteční koncentraci a koncentraci v čase t.

2.3.3.2 Výsledky: Vliv dávky SPC

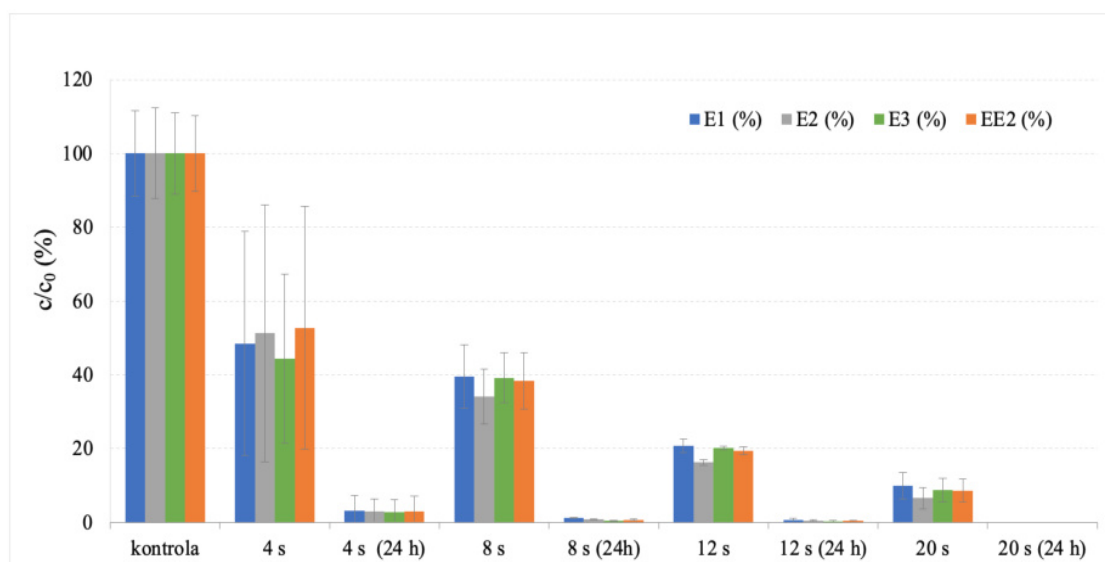
Pro experimenty byly zvoleny dávky SPC 80 a $200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, což odpovídá obsahu 20 a $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \text{ H}_2\text{O}_2$. Zjištěný vliv dávky pro varianty s i bez tepelné aktivace SPC znázorňují grafy 14, 15, 16 a 17.



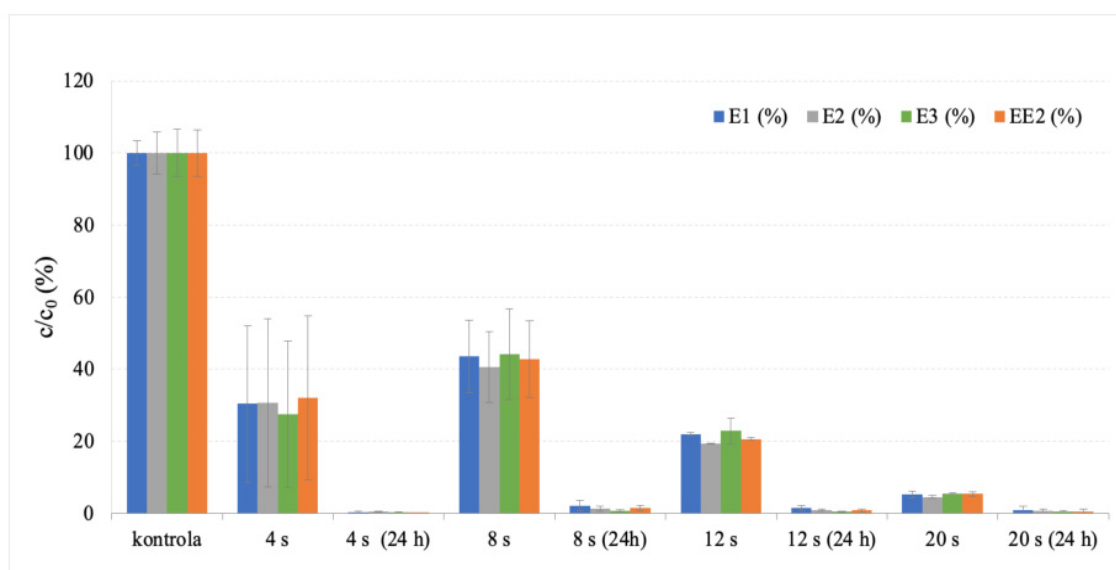
Graf 14: Relativní koncentrace sledovaných estrogenů po 1, 2, 3 a 5 cyklech kavitační jednotkou (4, 8, 12 a 20 sekund); dávka SPC = $80 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$.



Graf 15: Relativní koncentrace sledovaných estrogenů po 1, 2, 3 a 5 cyklech kavitační jednotkou (4, 8, 12 a 20 sekund); dávka SPC = $80 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$; $t = 60 \text{ }^\circ\text{C}$.



Graf 16: Relativní koncentrace sledovaných estrogenů po 1, 2, 3 a 5 cyklech kavitační jednotkou (4, 8, 12 a 20 sekund); dávka SPC = $200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$.



Graf 17: Relativní koncentrace sledovaných estrogenů po 1, 2, 3 a 5 cyklech kavitační jednotkou (4, 8, 12 a 20 sekund); dávka SPC = $200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$; $t = 60 \text{ }^\circ\text{C}$.

Vyšší koncentrace SPC pozitivně ovlivnila rychlost degradace estrogenů, zejména při delší době v kavitační jednotce. Prodloužením doby procesu ze 4 s (1 cyklus) na 20 s (5 cyklů) se množství odstraněných estrogenů také zvýšilo. Konkrétně z 31 % na 62 % při přidání $80 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ SPC a 47 % na 90 % při použití $200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ SPC. Grafické hodnocení je podpořeno výpočtem rychlostních konstant v tabulce 24.

Tabulka 24: Rychlostní konstanty degradace estrogenů pomocí HC/SPC; $r > 0,97$

	$k_{E1}(\text{min}^{-1})$	$k_{E2}(\text{min}^{-1})$	$k_{EE2}(\text{min}^{-1})$	$k_{E3}(\text{min}^{-1})$
SPC 80 mg · l ⁻¹ + HC	3,41	3,46	3,38	3,42
SPC 80 mg · l ⁻¹ (60 °C) + HC	4,42	4,69	5,10	4,49
SPC 200 mg · l ⁻¹ + HC	7,27	8,44	7,58	7,59
SPC 200 mg · l ⁻¹ (60 °C) + HC	8,41	8,89	8,26	8,43

Výpočet rychlostních konstant (k) eliminace estrogenů byl proveden stejným způsobem, jako u kombinace hydrodynamické kavitace s H₂O₂ tedy s použitím kinetického modelu pseudo-prvního řádu. Obdobně jako u experimentů s HC/H₂O₂ navýšením koncentrace SPC vedlo i ke zvýšení hodnoty příslušné rychlostní konstanty, avšak ne v takové míře. U HC/H₂O₂ byl pozorován nárůst rychlostní konstanty na dvojnásobek, u PSC až na přibližně trojnásobek. Nicméně v porovnání s HC/H₂O₂ byla vypočtená hodnota rychlostních konstant pro odpovídající koncentrace průměrně 4 krát vyšší.

Vzhledem k tomu, že SPC byl v této studii použit k odstranění estrogenů poprvé, výsledky byly porovnány s jinými autory, kteří použili obdobnou koncentraci H₂O₂. Například Perondi et al. [277] použili k odstranění E2 z povrchových vod kombinaci H₂O₂ (15 mg · l⁻¹) a UV záření. Výsledné rychlostní konstanty byly ve srovnání s našimi výsledky 100krát nižší, koncentrace E2 klesla o 89 % až po 60 minutách. V jiné studii Sun a spol. [259] kombinovali H₂O₂ (0,7 mg · l⁻¹) s přídatkem 2,5 mg ozonu za účelem odstranění E1, E2 a E3. Byli tak schopni odstranit 84,5-90,5 % sledovaných látek a to během 10 minut. Rychlostní konstanty eliminace estrogenů se tedy pohybovaly mezi hodnotami 0,18-0,24. V rychlosti a účinnosti HC/SPC výrazně převyšuje běžně publikované studie využívající pokročilé oxidační procesy k odstranění estrogenů z vodní matrice.

2.3.3.3 Výsledky: Vliv teploty

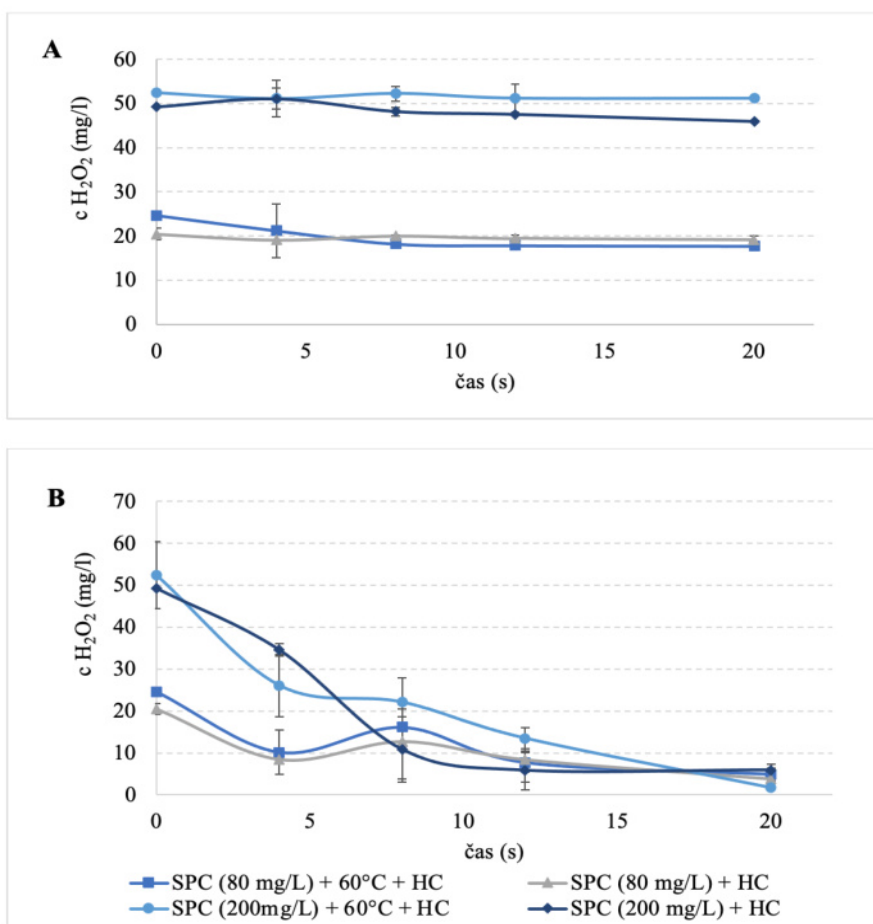
Liu et al. ve své publikaci [279] uvádí, že teplota je klíčovým parametrem ovlivňujícím účinnost aktivovaného systému SPC. Proto byl mimo jiné sledován i vliv teploty na aktivaci SPC. Výsledky ukazují, že zahřátí roztoku SPC na 60 °C v kombinaci s HC nemělo žádný významný vliv na účinnost odstranění estrogenů (grafy 14, 15, 16 a 17).

Obdobně se chovaly i hodnoty rychlostních konstant, které se s teplotou jen mírně zvyšovaly. Rozdíly mezi jednotlivými rychlostními konstantami se však pohybovaly v rozmezí od 0,45 do 1,72. Rozdíl mezi teplem aktivovaným SPC a bez tepelné aktivace je v kontextu vysokých teplot vznikajících během kavitace (až 5 000 K) zanedbatelný [280].

2.3.3.4 Výsledky: Vliv reakční doby po HC/SPC

Dalším sledovaným parametrem byl vliv následných degradačních reakcí po SPC/HC, kdy byl obsah estrogenů hodnocen po 24hodinovém stání v laboratorních podmínkách. Jak je vidět na grafech 14, 15, 16 a 17 proces degradace pokračoval ještě dalších 24 hodin po ošetření SPC/HC. Koncentrace estrogenů tak klesla až na 5 % nebo méně z původních $300 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$. V souladu s tím byl pozorován prudký pokles obsahu peroxidu vodíku (graf 18).

Po 24 hodinách bylo ve vzorcích stanoveno jen stopové množství estrogenů, případně pod hranicí detekce. Tyto výsledky zdůrazňují význam procesů probíhajících po samotném ošetření vody. V současné literatuře se primárně mluví o zvyšování energie nebo přidávání dalších látek k podpoření degradace mikropolutantů, což je ekonomicky i ekologicky nevýhodné. Uvedené výsledky naznačují, že je potřeba brát v úvahu i dostatečnou post-procesní dobu, která může účinnost procesu významně zvýšit.



Graf 18: Koncentrace peroxidu vodíku měřená (A) za 3 hodiny po kavitaci a (B) za 24 hodin po kavitaci.

2.3.4 Hydrodynamická kavitace jako aktivace persulfátu

2.3.4.1 Design experimentu

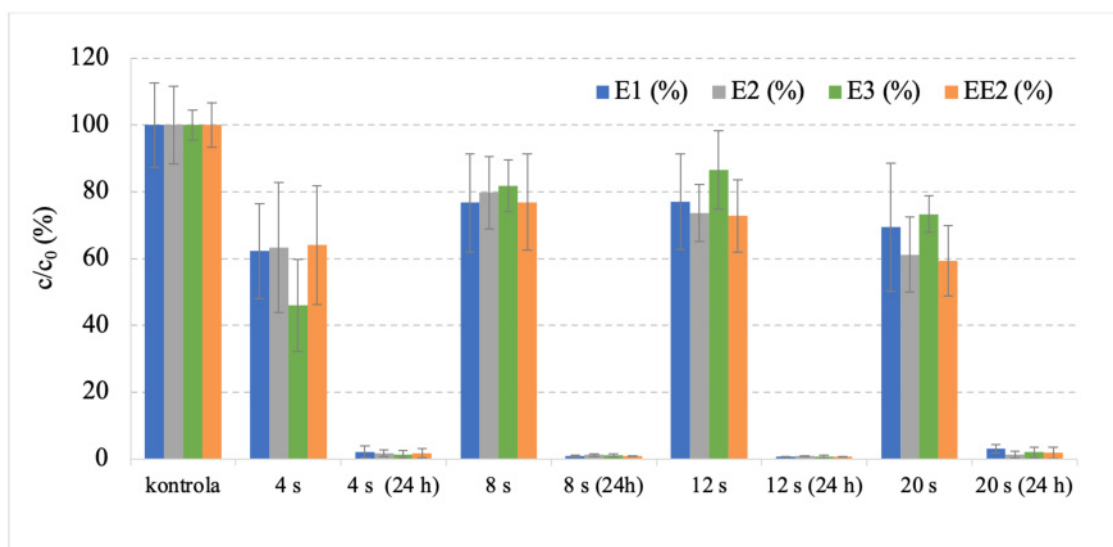
Dva litry vody obsahující směs estrogenů o koncentraci $300 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ byly dávkovány do výše popsané kavitační jednotky (obrázek 18). Dávka PS byla zvolena $0,1 \text{ mM}$ v souladu s dostupnou literaturou zabývající se podobným tématem [188, 198, 201, 202] a současně se snahou udržet dávku na co relativně nízké úrovni. Experiment byl proveden ve dvou variantách:

- PS aktivován pouze pomocí HC,
- PS tepelně aktivován ($60 \text{ }^\circ\text{C}$) v kombinaci s HC.

Vzorky byly odebírány po 4, 8, 12 a 20 sekundách experimentu, což odpovídá 1, 2, 3 a 5 cyklům v jednotce. Mezi sledované parametry patřily pH, vodivost a koncentrace PS a estrogenů. Po odběru byly vzorky 3 hodiny a 24 hodin ponechány stát, a následně analyzovány pomocí dříve popsaných analytických metod.

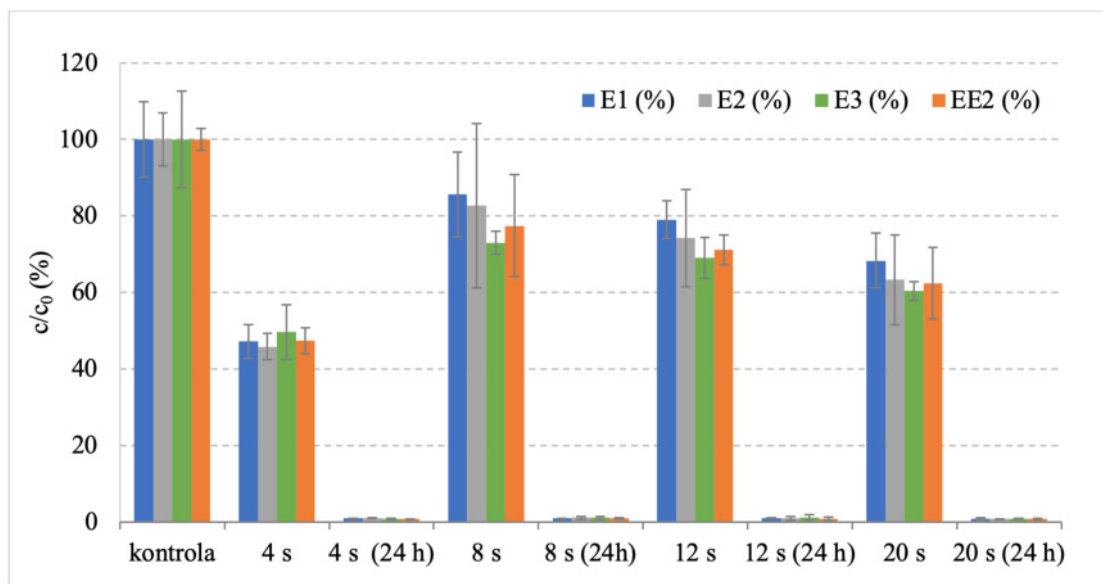
2.3.4.2 Výsledky

V první sadě experimentů byl PS aktivován pouze hydrodynamickou kavitací (bez ohřevu). Výrazný pokles množství estrogenů byl pozorován už u vzorků odebraných po 4 sekundách a analyzovaných po třech hodinách stání. V tomto experimentu kleslo po 24 hodinách množství estrogenů ve vzorcích pod 2 % původní koncentrace $300 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ (graf 19).



Graf 19: Relativní koncentrace sledovaných estrogenů po 1, 2, 3 a 5 cyklech kavitační jednotkou (4, 8, 12 a 20 sekund); dávka PS = $0,1 \text{ mM}$ bez tepelné aktivace.

Obdobné výsledky byly pozorovány při aktivaci PS ohřevem na 60 °C. Po 24 hodinách bylo ve všech vzorcích stanoveno méně než 1 % původní koncentrace sledovaných estrogenů.



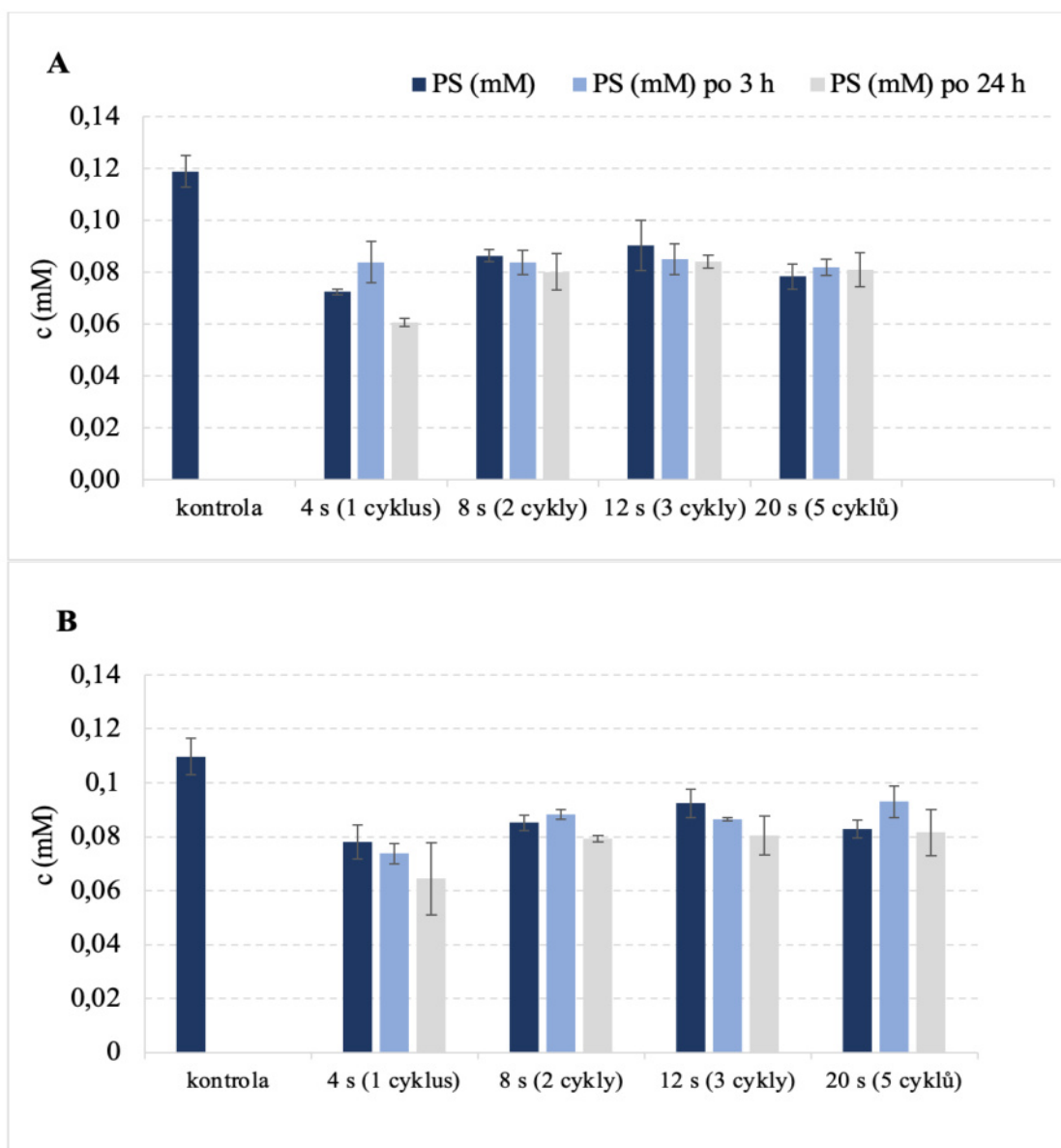
Graf 20: Relativní koncentrace sledovaných estrogenů po 1, 2, 3 a 5 cyklech kavitační jednotkou (4, 8, 12 a 20 sekund); dávka PS = 0,1 mM s tepelnou aktivací 60 °C.

Současně byly na základě měření vypočteny rychlostní konstanty eliminace estrogenů (k), a to s použitím kinetického modelu pseudo-prvního řádu. Vypočtené hodnoty uvádí tabulka 25.

Tabulka 25: Rychlostní konstanty degradace estrogenů pomocí PS aktivovaného pomocí HC a HC + 60°C; $r > 0,97$

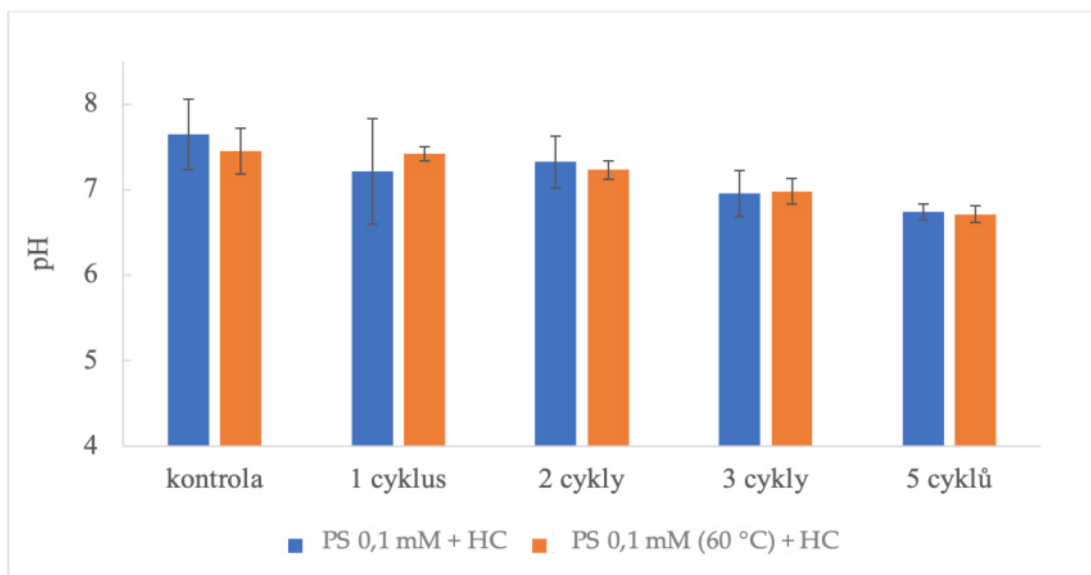
	$k_{E1}(\text{min}^{-1})$	$k_{E2}(\text{min}^{-1})$	$k_{EE2}(\text{min}^{-1})$	$k_{E3}(\text{min}^{-1})$
PS 0,1 mM + HC	1,24	1,51	0,94	1,62
PS 0,1 mM (60°C) + HC	1,15	1,40	1,68	1,54

Během experimentů byla také sledována koncentrace PS. Z výsledků vyplývá, že byla spotřebována pouze přibližně polovina dávkovaného PS a je zde prostor pro případné snižování dávky. Nebyl pozorován významný rozdíl v koncentracích PS mezi sadou s a bez tepelné aktivace.



Graf 21: Koncentrace PS ve vzorcích bez tepelné aktivace (A) a s využitím tepelné aktivace (60 °C) (B).

Mimo jiné byla u všech vzorků sledována hodnota pH. Je vidět, že hodnota pH mírně klesá s rostoucím počtem cyklů (a tím pádem delší reakční dobou), což je pravděpodobně způsobeno tvorbou síranů ve vodném roztoku [281]. Tento trend byl pozorován jak u experimentů s aktivací pouze HC, tak u kombinace HC a zahřívání. Ani v tomto případě však nebyl mezi oběma variantami pozorován významný rozdíl.



Graf 22: Hodnota pH u odebraných vzorků po 1, 2, 3 a 5 cyklech kavitační jednotkou (4, 8, 12 a 20 sekund).

Provedené experimenty ukázaly, že HC je účinným způsobem aktivace PS, vedle zahřátí a/nebo použití UV záření, případně přidání dalších chemikálií. Tyto techniky mají vyšší investiční a provozní náklady, ať už v podobě rostoucích cen energií nebo vstupních chemikálií. Mimo jiné HC ve spojení s tepelnou aktivací nevykazuje synergický efekt, čímž odpadá význam umělého zahřívání systému.

2.3.5 Porovnání energetické náročnosti AOP procesů založených na hydrodynamické kavitaci

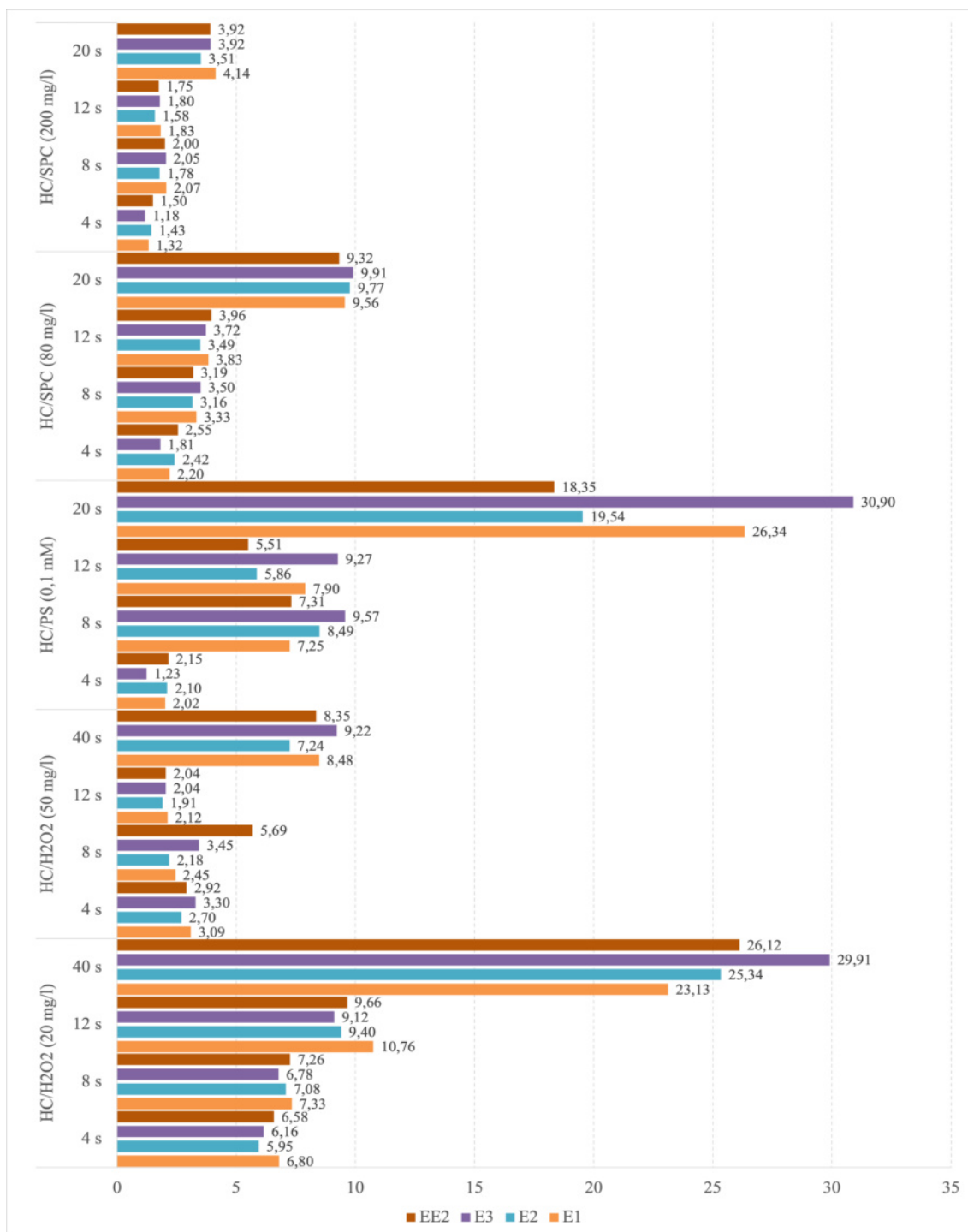
Pro účely srovnávání nákladů některých pokročilých oxidačních procesů lze využít sledování spotřeby elektrické energie [282]. V literatuře se používají tzv. *Electric energy per mass* (EEM) nebo *Electric energy per order* (EEO) jako nástroje k porovnání nákladů na různé varianty technologických uspořádání [283, 202]. V případě, že jsou koncentrace polutantů vyšší než $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, měly by být použita hodnota EEM, zatímco EEO jsou aplikovány při koncentracích pod $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$.

Pro srovnání námi sledovaných uspořádání při koncentracích estrogenů $300 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ byly vypočteny hodnoty EEO dle vzorce [283]:

$$E_{EO} = \frac{P_{HC} \cdot t \cdot 1000}{\log \frac{c_i}{c_f} \cdot V},$$

kde P_{HC} je výkon čerpadla (kWh) v systému, t je doba působení (h), c_i a c_f jsou počáteční a konečné koncentrace ($\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$) každého estrogenu a V je objem systému (l).

Hodnoty jsou následně uvedeny v jednotkách $\text{kWh} \cdot \text{m}^{-3} \cdot \text{jednotka}^{-1}$ v grafu 23. Porovnávají jsou ty varianty experimentu, které nevyužívají další energeticky náročná zařízení (ozonizátor, zahřívání).



Graf 23: Vypočtené hodnoty EEO pro relevantní varianty.

Diskuze

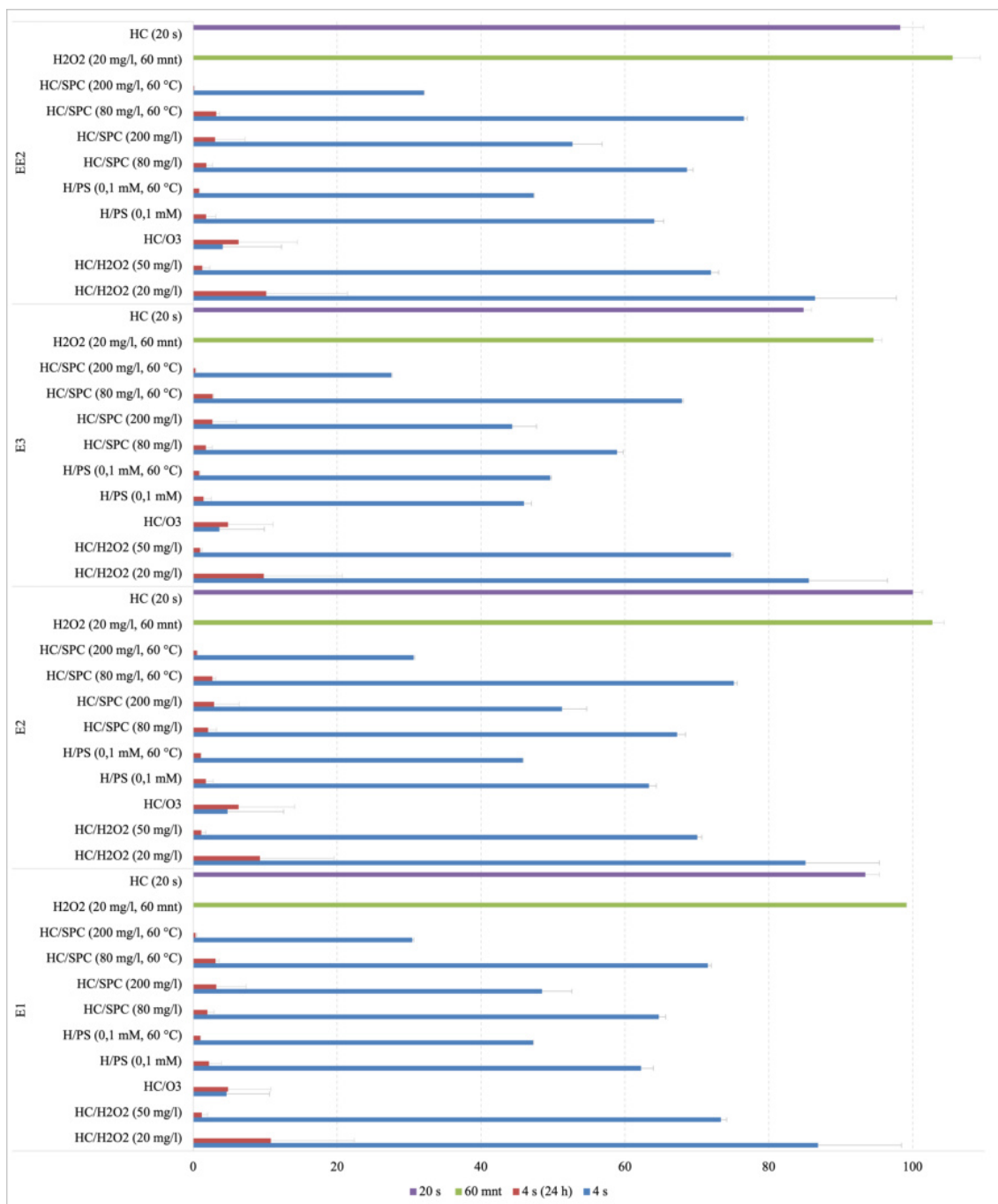
Experimenty provedené v rámci dizertační práce se zaměřují na nechemický způsob aktivace (tvorby radikálů) pomocí hydrodynamické kavitace. Nejvyšších účinností bylo dosaženo při kombinaci HC s ozonem, kdy koncentrace všech sledovaných estrogenů klesla pod 5 % již po jednom cyklu kavitační jednotkou (4 s, bez post-treatmentu). Nevýhodou tohoto uspořádání je nutnost zařízení na generování ozonu a jeho relativně vysoké dávky (v našem případě bylo použito zařízení generující $400 \text{ mg} \cdot \text{hod}^{-1}$). V tomto (jediném) případě také nebyl pozorován významný rozdíl mezi vzorky analyzovanými po 3 a po 24 hodinách.

Ostatní uspořádání produkovala u vzorků analyzovaných po 24 hodinách srovnatelné výsledky, přičemž nejlépe účinkovala kombinace HC/SPC ($200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) s přídatnou tepelnou aktivací SPC roztoku. Množství estrogenů ve vzorcích bylo pod/blízko MQL, případně MDL. Takové uspořádání ale vyžaduje poměrně vysoké dávky činidla a další krok zahřívání systému. Tato zátěž je neproporcionální rozdílu v účinnosti oproti námi testovaným jednodušším uspořádáním.

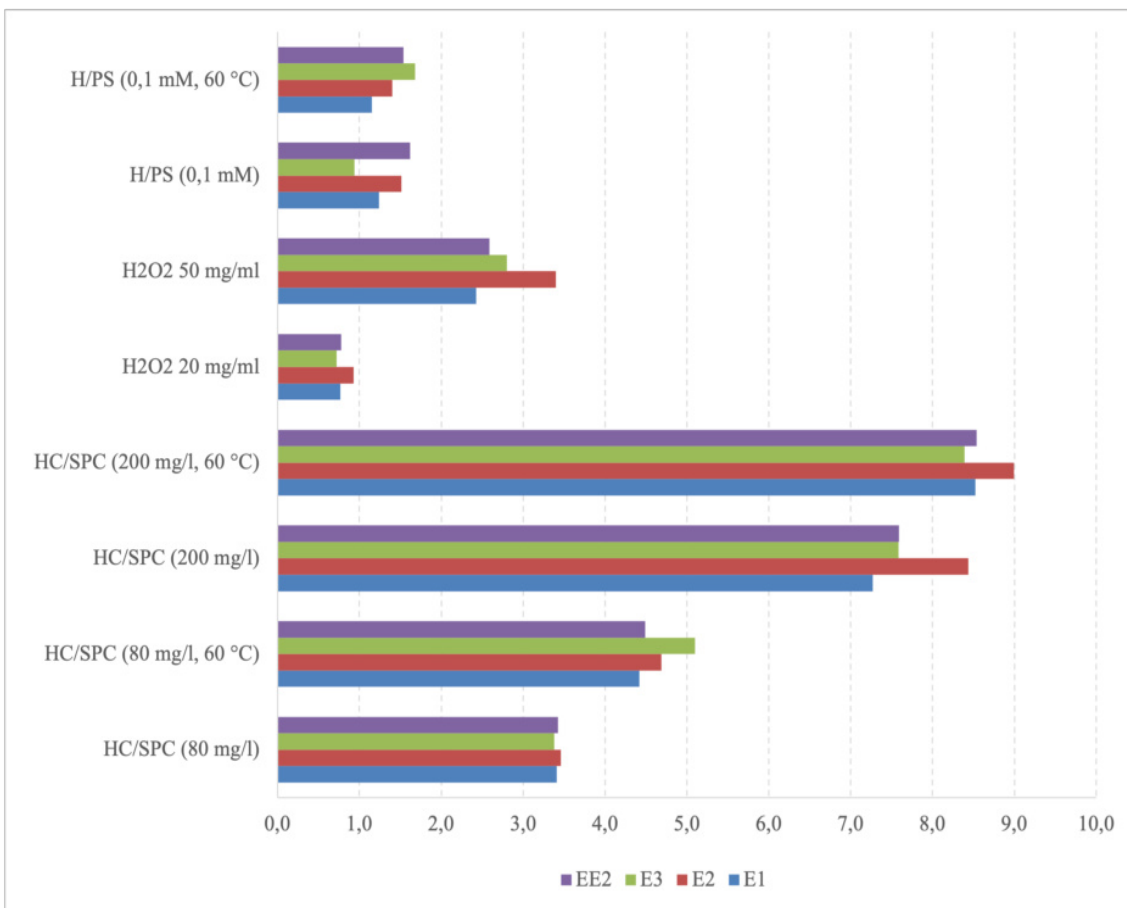
Jako nejméně účinná se ukázala být kombinace HC/ H_2O_2 ($c = 20 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$). Přestože ve vzorcích ošetřených jedním cyklem v jednotce bylo po 3 hodinách stání kolem 90 % původního množství estrogenů, po 24 hodinách tato koncentrace klesla pod 10 % u všech sledovaných látek.

Prokázali jsme, že sledované estrogény lze účinně eliminovat z vody během krátké doby působení AOP a to během několika sekund. Výrazné úbytky byly pozorovány již po 1 cyklu jednotkou. Po 24 hodinách stání bylo ve všech případech méně než 10 % počáteční koncentrace všech sledovaných estrogenů. Relativně krátké časy působení technologie nejsou v kontextu AOP běžné. Velmi často jsou experimenty prováděny po dobu desítek až stovek minut. Běžné jsou také relativně malá množství ošetřované vody a vysoké koncentrace sledovaných polutantů. Na druhou stranu výrazný rozdíl mezi vzorky analyzovanými po 3 a 24 hodinách vypovídá o probíhajících degračních pokusech i *post-treatment*. V praxi by tak bylo nutné zvážit vhodnou dobu zdržení po technologii/před vypuštěním do recipientu.

Nicméně instalace Venturiho trubice je ve srovnání s jinými známými alternativami AOP relativně snadná, snadno použitelná, ekonomicky a ekologicky šetrná. Přestože byla hydrodynamická kavitace významným prvkem všech sledovaných uspořádání, sama o sobě se neukázala být účinným způsobem, jak eliminovat estrogény z vody.



Graf 24: Porovnání relativních koncentrací jednotlivých estrogenů po 4 s působení sledovaných kombinací HC a oxidačních činidel po 3 a 24 hodinách stání.



Graf 25: Porovnání vypočtených rychlostních konstant odbourávání sledovaných estrogenů.

Kromě vybraných AOP procesů byla hodnocena i vhodnost materiálu používaného při nakládání se vzorky estrogenů. Všechny testované plastové materiály se běžně používají v laboratořích, chemickém průmyslu nebo potravinářské výrobě včetně nebo také kontrole kvality vody. Adsorpce estrogenů na ně může způsobit potenciální ztráty, a tím podcenění skutečné koncentrace estrogenů v analyzovaném vzorku. Naopak desorpce do vzorku může zvýšit přinejmenším hladinu pozadí a způsobit nesrovnalosti při analýzách, zejména u vzorků s koncentracemi blízkými mezím detekce/kvantifikace. Sorpční experimenty byly provedeny pro šest materiálů: SBR, EPDM, PTFE, Tygon S3™, PVDF a PVC. V našem případě se primárně jednalo o výběr spojovacího materiálu na kavitační jednotce typu hadice a těsnění. Cílem bylo zabránit sorpci a případně časem desorpci analytů, což by vedlo ke zkreslení výsledků. Na základě výsledků screeningových testů byl pro následující experimenty zvolen EPDM, který byl i nakonec reálně použit při dalších experimentech s odstraňováním estrogenů z vody. Materiál EPDM má ve srovnání s obdobně vycházejícími PTFE a PVDF přívětivější materiálové vlastnosti, jako je poddajnost, která umožňuje menší úhel ohybu a tím pádem úsporu materiálu vedoucí k snížení celkového objemu systému.

Závěr

Cílem předložené dizertační práce bylo popsat současný stav výskytu estrogenů v životním prostředí a jejich vlivu na necílové organismy, klasifikovat a popsat AOP technologie a posoudit účinnost vybraných AOP procesů při odstraňování estrogenů z vodní matrice. Klíčovou roli hrála hydrodynamická kavitace jakožto technologicky jednoduchý a účinný způsob produkce hydroxylových a síranových radikálů z různých oxidačních činidel.

Prvním krokem bylo posouzení vhodnosti spojovacích materiálů použitých při konstrukci laboratorní AOP jednotky. Prioritou bylo minimalizovat případný vliv sorpce na povrchy uvnitř systému a během manipulace se vzorky. Na základě výsledků byla jednotka konstruována s využitím EPDM jakožto materiálu hadic spojujících jednotlivé části systému.

V další části, kde jsme sledovali účinnost spojení hydrodynamické kavitace a běžně používaných oxidačních činidel, jsme prokázali významný pokles již po 4 s, tedy po jednom cyklu. Reálně je tak možné uvažovat o tomto experimentu jako o průtočném uspořádání, což představuje nemalou výhodu pro potenciální aplikaci do reálného provozu, stejně jako jednoduchost a ve srovnání například s využitím UV záření energetická nenáročnost. Na druhou stranu je i v malém měřítku kavitace relativně hlučný proces. To by mohlo být důležitým faktorem pro rozhodování, zda bude potenciální subjekt chtít technologii využívat. Předložená práce otevírá prostor pro další výzkum zaměřený na reálné odpadní vody a hledání technologicky přijatelného způsobu začlenění do čistírenského provozu.

Seznam použité literatury

- [1] Arturo Hernandez-Maldonado a Lee Blaney. *Contaminants of Emerging Concern in Water and Wastewater. Advanced Treatment Processes*. 1st Edition. Butterworth-Heinemann, 2019. ISBN: 978-0-12-813561-7.
- [2] Artemis Efstratiou, Jerry E. Ongerth a Panagiotis Karanis. “Waterborne transmission of protozoan parasites. Review of worldwide outbreaks - An update 2011–2016”. In: *Water Research* 114 (2017), s. 14–22. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2017.01.036](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.01.036). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004313541730043X>.
- [3] Ikechukwu A. Ike et al. “Critical review of the science and sustainability of persulphate advanced oxidation processes”. In: *Chemical Engineering Journal* 338 (2018), s. 651–669. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2018.01.034](https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.01.034). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894718300354>.
- [4] C. Stamm et al. “Unravelling the Impacts of Micropollutants in Aquatic Ecosystems”. In: *Large-Scale Ecology: Model Systems to Global Perspectives*. Elsevier, 2016, s. 183–223. ISBN: 9780081009352. DOI: [10.1016/bs.aecr.2016.07.002](https://doi.org/10.1016/bs.aecr.2016.07.002). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065250416300150>.
- [5] Andrea I. Schäfer, Ime Akanyeti a Andrea J.C. Semião. “Micropollutant sorption to membrane polymers. A review of mechanisms for estrogens”. In: *Advances in Colloid and Interface Science* 164.1-2 (2011), s. 100–117. ISSN: 00018686. DOI: [10.1016/j.cis.2010.09.006](https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.09.006). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001868610001739>.
- [6] Linda G Kahn et al. “Endocrine-disrupting chemicals. implications for human health”. In: *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 8.8 (2020), s. 703–718. ISSN: 22138587. DOI: [10.1016/S2213-8587\(20\)30129-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30129-7). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213858720301297>.
- [7] Christopher D Kassotis et al. “Endocrine-disrupting chemicals. economic, regulatory, and policy implications”. In: *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 8.8 (2020), s. 719–730. ISSN: 22138587. DOI: [10.1016/S2213-8587\(20\)30128-5](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30128-5). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213858720301285>.
- [8] Jean-François Viel et al. “Pyrethroid insecticide exposure and cognitive developmental disabilities in children. The PELAGIE mother–child cohort”. In: *Environment Internati-*

- onal 82 (2015), s. 69–75. ISSN: 01604120. DOI: [10.1016/j.envint.2015.05.009](https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.05.009). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412015001245>.
- [9] *Cost of Environmental-Related Health Effects*. Washington, D.C: National Academies Press, 1981-01-01. ISBN: 978-0-309-07776-7. DOI: [10.17226/812](https://doi.org/10.17226/812).
- [10] Scott D Grosse et al. “Economic gains resulting from the reduction in children’s exposure to lead in the United States”. In: *Environmental Health Perspectives* 110.6 (2002), s. 563–569. ISSN: 0091-6765. DOI: [10.1289/ehp.02110563](https://doi.org/10.1289/ehp.02110563). URL: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.02110563>.
- [11] Peter L. Tsai a Thomas H. Hatfield. *Global Benefits From the Phaseout of Leaded Fuel*. URL: https://www.researchgate.net/publication/288371618_Global_Benefits_From_the_Phaseout_of_Leaded_Fuel.
- [12] Martine Bellanger et al. “Neurobehavioral Deficits, Diseases, and Associated Costs of Exposure to Endocrine-Disrupting Chemicals in the European Union”. In: *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 100.4 (2015), s. 1256–1266. ISSN: 0021-972X. DOI: [10.1210/jc.2014-4323](https://doi.org/10.1210/jc.2014-4323). URL: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2014-4323>.
- [13] Teresa M Attina et al. “Exposure to endocrine-disrupting chemicals in the USA. a population-based disease burden and cost analysis”. In: *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 4.12 (2016), s. 996–1003. ISSN: 22138587. DOI: [10.1016/S2213-8587\(16\)30275-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(16)30275-3). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213858716302753>.
- [14] Sze Yee Wee a Ahmad Zaharin Aris. “Endocrine disrupting compounds in drinking water supply system and human health risk implication”. In: *Environment International* 106 (2017), s. 207–233. ISSN: 01604120. DOI: [10.1016/j.envint.2017.05.004](https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.05.004). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412016310182>.
- [15] Hanna Hamid a Cigdem Eskicioglu. “Fate of estrogenic hormones in wastewater and sludge treatment. A review of properties and analytical detection techniques in sludge matrix”. In: *Water Research* 46.18 (2012), s. 5813–5833. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2012.08.002](https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.08.002). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004313542012005581> (cit. 09.06.2022).

- [16] Muhammad Adeel et al. “Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life. A critical review”. In: *Environment International* 99 (2017), s. 107–119. ISSN: 01604120. DOI: [10.1016/j.envint.2016.12.010](https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.12.010). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412016304494>.
- [17] Leroy C Folmar et al. “A comparison of the estrogenic potencies of estradiol, ethynylestradiol, diethylstilbestrol, nonylphenol and methoxychlor in vivo and in vitro”. In: *Aquatic Toxicology* 60.1-2 (2002), s. 101–110. ISSN: 0166445X. DOI: [10.1016/S0166-445X\(01\)00276-4](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(01)00276-4). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166445X01002764>.
- [18] Barbara V. Rutishauser et al. “COMPARATIVE ANALYSIS OF ESTROGENIC ACTIVITY IN SEWAGE TREATMENT PLANT EFFLUENTS INVOLVING THREE IN VITRO ASSAYS AND CHEMICAL ANALYSIS OF STEROIDS”. In: *Environmental Toxicology and Chemistry* 23.4 (2004), s. 03–286. ISSN: 0730-7268. DOI: [10.1897/03-286](https://doi.org/10.1897/03-286). URL: <http://doi.wiley.com/10.1897/03-286>.
- [19] T. L. Jones-Lepp a Rick Stevens. “Pharmaceuticals and personal care products in biosolids/sewage sludge. the interface between analytical chemistry and regulation”. In: *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 387.4 (2007), s. 1173–1183. ISSN: 1618-2642. DOI: [10.1007/s00216-006-0942-z](https://doi.org/10.1007/s00216-006-0942-z). URL: <https://link.springer.com/10.1007/s00216-006-0942-z>.
- [20] H. Adlercreutz a F. Martin. “Biliary excretion and intestinal metabolism of progesterone and estrogens in man”. In: *Journal of Steroid Biochemistry* 13.2 (1980), s. 231–244. ISSN: 00224731. DOI: [10.1016/0022-4731\(80\)90196-X](https://doi.org/10.1016/0022-4731(80)90196-X). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/002247318090196X>.
- [21] Eric Amenyogbe et al. “A Review on Sex Steroid Hormone Estrogen Receptors in Mammals and Fish”. In: *International Journal of Endocrinology* 2020 (2020-02-07), s. 1–9. ISSN: 1687-8337. DOI: [10.1155/2020/5386193](https://doi.org/10.1155/2020/5386193). URL: <https://www.hindawi.com/journals/ije/2020/5386193/>.
- [22] Brian E. Henderson a Heather Spencer Feigelson. “Hormonal carcinogenesis”. In: *Carcinogenesis* 21.3 (2000-3-01), s. 427–433. ISSN: 1460-2180. DOI: [10.1093/carcin/21.3.427](https://doi.org/10.1093/carcin/21.3.427). URL: <https://academic.oup.com/carcin/article-lookup/doi/10.1093/carcin/21.3.427>.
- [23] Ankita Bohra Sumit Bhateja. “Carcinogenesis and Sex Hormones. A Review”. In: 04.01 (2015). ISSN: 21611017. DOI: [10.4172/2161-1017.1000156](https://doi.org/10.4172/2161-1017.1000156). URL: <https://doi.org/10.4172/2161-1017.1000156>.

[//www.omicsonline.org/open-access/carcinogenesis-and-sex-hormones-a-review-2161-1017.1000156.php?aid=38167](http://www.omicsonline.org/open-access/carcinogenesis-and-sex-hormones-a-review-2161-1017.1000156.php?aid=38167).

- [24] S. Biswas et al. “Current knowledge on the environmental fate, potential impact, and management of growth-promoting steroids used in the US beef cattle industry”. In: *Journal of Soil and Water Conservation* 68.4 (2013-06-24), s. 325–336. ISSN: 0022-4561. DOI: [10.2489/jswc.68.4.325](https://doi.org/10.2489/jswc.68.4.325). URL: <http://www.jswconline.org/cgi/doi/10.2489/jswc.68.4.325>.
- [25] P. Ray, Z. Zhao a K. F. Knowlton. “Emerging contaminants in livestock manure. hormones, antibiotics and antibiotic resistance genes”. In: *Sustainable animal agriculture* (2013), s. 268–283. DOI: [10.1079/9781780640426.0268](https://doi.org/10.1079/9781780640426.0268). URL: <http://www.cabi.org/cabebooks/ebook/20133419238>.
- [26] Zhang Fengsong. “Excretion of estrogens in the livestock and poultry production and their environmental behaviors”. In: *Acta Ecologica Sinica* (2010).
- [27] Shannon L. Bartelt-Hunt et al. “Effect of Growth Promotants on the Occurrence of Endogenous and Synthetic Steroid Hormones on Feedlot Soils and in Runoff from Beef Cattle Feeding Operations”. In: 46.3 (2012-02-07), s. 1352–1360. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es202680q](https://doi.org/10.1021/es202680q). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es202680q>.
- [28] Gangadhar Andaluri, Rominder P. S. Suri a Kuldip Kumar. “Occurrence of estrogen hormones in biosolids, animal manure and mushroom compost”. In: *Environmental Monitoring and Assessment* 184.2 (2012), s. 1197–1205. ISSN: 0167-6369. DOI: [10.1007/s10661-011-2032-8](https://doi.org/10.1007/s10661-011-2032-8). URL: <http://link.springer.com/10.1007/s10661-011-2032-8>.
- [29] Miha Avberšek, Jernej Šömen a Ester Heath. “Dynamics of steroid estrogen daily concentrations in hospital effluent and connected waste water treatment plant”. In: *Journal of Environmental Monitoring* 13.8 (2011). ISSN: 1464-0325. DOI: [10.1039/c1em10147a](https://doi.org/10.1039/c1em10147a). URL: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c1em10147a>.
- [30] Tomohiko Isobe et al. “Determination of estrogens and their conjugates in water using solid-phase extraction followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry”. In: *Journal of Chromatography A* 984.2 (2003), s. 195–202. ISSN: 00219673. DOI: [10.1016/S0021-9673\(02\)01851-4](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)01851-4). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967302018514>.

- [31] Atsushi Yamamoto et al. “Steroid Hormone Profiles of Urban and Tidal Rivers Using LC/MS/MS Equipped with Electrospray Ionization and Atmospheric Pressure Photoionization Sources”. In: *Environmental Science & Technology* 40.13 (2006-07-01), s. 4132–4137. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es052593p](https://doi.org/10.1021/es052593p). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es052593p>.
- [32] Marina Gorga et al. “Occurrence and spatial distribution of EDCs and related compounds in waters and sediments of Iberian rivers”. In: *Science of The Total Environment* 503-504 (2015), s. 69–86. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2014.06.037](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.037). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969714008924>.
- [33] Li Ma, Scott R. Yates a Daniel Ashworth. “Parent and conjugated estrogens and progestagens in surface water of the Santa Ana River. Determination, occurrence, and risk assessment”. In: *Environmental Toxicology and Chemistry* 35.11 (2016), s. 2657–2664. ISSN: 07307268. DOI: [10.1002/etc.3447](https://doi.org/10.1002/etc.3447). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/etc.3447>.
- [34] Xiaowei Liu et al. “Distributions and ecological risk assessment of estrogens and bisphenol A in an arid and semiarid area in northwest China”. In: *Environmental Science and Pollution Research* 24.8 (2017), s. 7216–7225. ISSN: 0944-1344. DOI: [10.1007/s11356-017-8434-6](https://doi.org/10.1007/s11356-017-8434-6). URL: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-017-8434-6>.
- [35] Kalu Ibe Ekpeghere et al. “Occurrence and distribution of carbamazepine, nicotine, estrogenic compounds, and their transformation products in wastewater from various treatment plants and the aquatic environment”. In: *Science of The Total Environment* 640-641 (2018), s. 1015–1023. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2018.05.218](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.218). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969718318692>.
- [36] Bo Yao et al. “Occurrence and estrogenic activity of steroid hormones in Chinese streams. A nationwide study based on a combination of chemical and biological tools”. In: *Environment International* 118 (2018), s. 1–8. ISSN: 01604120. DOI: [10.1016/j.envint.2018.05.026](https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.05.026). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0160412018303143>.
- [37] David R. Griffith et al. “Steroidal estrogen sources in a sewage-impacted coastal ocean”. In: *Environmental Science: Processes & Impacts* 18.8 (2016), s. 981–991. ISSN: 2050-

7887. DOI: [10.1039/C6EM00127K](https://doi.org/10.1039/C6EM00127K). URL: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6EM00127K>.
- [38] Jerry Tso et al. “Simultaneous Analysis of Free and Conjugated Estrogens, Sulfonamides, and Tetracyclines in Runoff Water and Soils Using Solid-Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry”. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59.6 (2011-03-23), s. 2213–2222. ISSN: 0021-8561. DOI: [10.1021/jf104355x](https://doi.org/10.1021/jf104355x). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf104355x>.
- [39] G DASCENZO et al. “Fate of natural estrogen conjugates in municipal sewage transport and treatment facilities”. In: *The Science of The Total Environment* 302.1-3 (2003-01-20), s. 199–209. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/S0048-9697\(02\)00342-X](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(02)00342-X). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004896970200342X>.
- [40] Bing Zhu et al. “Simultaneous detection of endocrine disrupting chemicals including conjugates in municipal wastewater and sludge with enhanced sample pretreatment and UPLC-MS/MS”. In: *Environmental Science: Processes & Impacts* 17.8 (2015), s. 1377–1385. ISSN: 2050-7887. DOI: [10.1039/C5EM00139K](https://doi.org/10.1039/C5EM00139K). URL: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5EM00139K>.
- [41] A. C. Naldi et al. “Analysis of steroid hormones and their conjugated forms in water and urine by on-line solid-phase extraction coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry”. In: *Chemistry Central Journal* 10.1 (2016). ISSN: 1752-153X. DOI: [10.1186/s13065-016-0174-z](https://doi.org/10.1186/s13065-016-0174-z). URL: <https://bmcchem.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13065-016-0174-z>.
- [42] Weiwei Ben et al. “Transformation and fate of natural estrogens and their conjugates in wastewater treatment plants. Influence of operational parameters and removal pathways”. In: *Water Research* 124 (2017), s. 244–250. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2017.07.065](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.07.065). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135417306383>.
- [43] Weiwei Ben et al. “Occurrence, removal and risk of organic micropollutants in wastewater treatment plants across China. Comparison of wastewater treatment processes”. In: *Water Research* 130 (2018), s. 38–46. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2017.11.057](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.11.057). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135417309855>.

- [44] Weiwei Yu et al. "Occurrence, sorption, and transformation of free and conjugated natural steroid estrogens in the environment". In: *Environmental Science and Pollution Research* 26.10 (2019), s. 9443–9468. ISSN: 0944-1344. DOI: [10.1007/s11356-019-04402-z](https://doi.org/10.1007/s11356-019-04402-z). URL: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-019-04402-z>.
- [45] Konrad Wojnarowski et al. "Impact of Estrogens Present in Environment on Health and Welfare of Animals". In: *Animals* 11.7 (2021). ISSN: 2076-2615. DOI: [10.3390/ani11072152](https://doi.org/10.3390/ani11072152). URL: <https://www.mdpi.com/2076-2615/11/7/2152>.
- [46] Muhammad Bilal a Hafiz M.N. Iqbal. "Persistence and impact of steroidal estrogens on the environment and their laccase-assisted removal". In: *Science of The Total Environment* 690 (2019), s. 447–459. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2019.07.025](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.025). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969719331389>.
- [47] Alex T. Ford a Gerald A. LeBlanc. "Endocrine Disruption in Invertebrates. A Survey of Research Progress". In: 54.21 (2020-11-03), s. 13365–13369. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/acs.est.0c04226](https://doi.org/10.1021/acs.est.0c04226). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.0c04226>.
- [48] L. Filipe C. Castro a Miguel M. Santos. "To Bind or Not To Bind. The Taxonomic Scope of Nuclear Receptor Mediated Endocrine Disruption in Invertebrate Phyla". In: 48.10 (2014-05-20), s. 5361–5363. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es501697b](https://doi.org/10.1021/es501697b). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es501697b>.
- [49] Tiziana Francesca Bovier et al. "Effects of the synthetic estrogen 17- α -ethinylestradiol on *Drosophila melanogaster*. Dose and gender dependence". In: *Ecotoxicology and Environmental Safety* 162 (2018), s. 625–632. ISSN: 01476513. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2018.07.020](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.07.020). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014765131830616X>.
- [50] H Segner et al. "Identification of endocrine-disrupting effects in aquatic vertebrates and invertebrates. report from the European IDEA project". In: *Ecotoxicology and Environmental Safety* 54.3 (2003), s. 302–314. ISSN: 01476513. DOI: [10.1016/S0147-6513\(02\)00039-8](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(02)00039-8). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651302000398>.
- [51] Rafiquel Islam et al. "Parental exposure to the synthetic estrogen 17 α -ethinylestradiol (EE2) affects offspring development in the Sydney rock oyster, *Saccostrea glomerata*". In: *Environmental Pollution* 266 (2020). ISSN: 02697491. DOI: [10.1016/j.envpol.2020.11.001](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.11.001).

- 2020.114994. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749120302888>.
- [52] Corina M. Ciocan et al. “Effects of estrogen exposure in mussels, *Mytilus edulis*, at different stages of gametogenesis”. In: *Environmental Pollution* 158.9 (2010), s. 2977–2984. ISSN: 02697491. DOI: [10.1016/j.envpol.2010.05.025](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.05.025). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749110002162>.
- [53] Rebekah L. Clubbs a Bryan W. Brooks. “Daphnia magna responses to a vertebrate estrogen receptor agonist and an antagonist. A multigenerational study”. In: *Ecotoxicology and Environmental Safety* 67.3 (2007), s. 385–398. ISSN: 01476513. DOI: [10.1016/j.ecoenv.2007.01.009](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.01.009). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0147651307000115>.
- [54] Anne-Katrin Müller et al. “Bioavailability and impacts of estrogenic compounds from suspended sediment on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”. In: *Aquatic Toxicology* 231 (2021). ISSN: 0166445X. DOI: [10.1016/j.aquatox.2020.105719](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105719). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166445X20304689>.
- [55] Lucía Zubizarreta, Ana C. Silva a Laura Quintana. “The estrogenic pathway modulates non-breeding female aggression in a teleost fish”. In: 220 (2020). ISSN: 00319384. DOI: [10.1016/j.physbeh.2020.112883](https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112883). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0031938420302006>.
- [56] Isabel Cabas et al. “Role of estrogens in fish immunity with special emphasis on GPER1”. In: 89 (2018), s. 102–110. ISSN: 0145305X. DOI: [10.1016/j.dci.2018.08.001](https://doi.org/10.1016/j.dci.2018.08.001). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0145305X18302945>.
- [57] Latonya Jackson a Paul Klerks. “Effects of the synthetic estrogen 17 β -ethinylestradiol on Heterandria formosa populations. Does matrotrophy circumvent population collapse?” In: *Aquatic Toxicology* 229 (2020). ISSN: 0166445X. DOI: [10.1016/j.aquatox.2020.105659](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2020.105659). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166445X20304094>.
- [58] Neeta Parajulee Karki et al. “Exposure to 17 β estradiol causes erosion of sexual dimorphism in Bluegill (*Lepomis macrochirus*)”. In: *Environmental Science and Pollution Research* 28.6 (2021), s. 6450–6458. ISSN: 0944-1344. DOI: [10.1007/s11356-020-10935-5](https://doi.org/10.1007/s11356-020-10935-5). URL: <https://link.springer.com/10.1007/s11356-020-10935-5>.

- [59] A. Martinez-Bengochea et al. “Effects of 17 β -estradiol on early gonadal development and expression of genes implicated in sexual differentiation of a South American teleost, *Astyanax altiparanae*”. In: *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 248-249 (2020). ISSN: 10964959. DOI: [10.1016/j.cbpb.2020.110467](https://doi.org/10.1016/j.cbpb.2020.110467). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1096495920300610>.
- [60] Robert L. Hill a David M. Janz. “Developmental estrogenic exposure in zebrafish (*Danio rerio*). I. Effects on sex ratio and breeding success”. In: *Aquatic Toxicology* 63.4 (2003), s. 417–429. ISSN: 0166445X. DOI: [10.1016/S0166-445X\(02\)00207-2](https://doi.org/10.1016/S0166-445X(02)00207-2). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166445X02002072>.
- [61] Karen L. Thorpe et al. “Estrogenic Wastewater Treatment Works Effluents Reduce Egg Production in Fish”. In: 43.8 (2009-04-15), s. 2976–2982. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es803103c](https://doi.org/10.1021/es803103c). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es803103c>.
- [62] Paul J. Blanchfield et al. In: *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104.21 (2007-05-22). ISSN: 0027-8424. DOI: [10.1073/pnas.0609568104](https://doi.org/10.1073/pnas.0609568104).
- [63] Susan Jobling et al. “Predicted Exposures to Steroid Estrogens in U.K. Rivers Correlate with Widespread Sexual Disruption in Wild Fish Populations”. In: *Environmental Health Perspectives* 114.Suppl 1 (2006), s. 32–39. ISSN: 0091-6765. DOI: [10.1289/ehp.8050](https://doi.org/10.1289/ehp.8050). URL: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.8050>.
- [64] Steffen S Madsen et al. “17- β Estradiol and 4-nonylphenol delay smolt development and downstream migration in Atlantic salmon, *Salmo salar*”. In: *Aquatic Toxicology* 68.2 (2004), s. 109–120. ISSN: 0166445X. DOI: [10.1016/j.aquatox.2004.03.008](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2004.03.008). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166445X04000931>.
- [65] Arimune Munakata et al. “Involvement of sex steroids and thyroid hormones in upstream and downstream behaviors in masu salmon, *Oncorhynchus masou*”. In: *Aquaculture* 362-363 (2012), s. 158–166. ISSN: 00448486. DOI: [10.1016/j.aquaculture.2010.11.027](https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2010.11.027). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0044848610008008>.
- [66] Chia-Chen Wu et al. “The phenotypic and transcriptomic effects of developmental exposure to nanomolar levels of estrone and bisphenol A in zebrafish”. In: *Science of The Total Environment* 757 (2021). ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv).

- 2020.143736. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969720372673>.
- [67] Karina Petersen a Knut Erik Tollefsen. “Assessing combined toxicity of estrogen receptor agonists in a primary culture of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes”. In: *Aquatic Toxicology* 101.1 (2011-01-17), s. 186–195. ISSN: 0166445X. DOI: [10.1016/j.aquatox.2010.09.018](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2010.09.018). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166445X10004017>.
- [68] Keegan A. Hicks et al. “Reduction of Intersex in a Wild Fish Population in Response to Major Municipal Wastewater Treatment Plant Upgrades”. In: 51.3 (2017-02-07), s. 1811–1819. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/acs.est.6b05370](https://doi.org/10.1021/acs.est.6b05370). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.6b05370>.
- [69] Tyrone B. Hayes et al. “Pesticide Mixtures, Endocrine Disruption, and Amphibian Declines. Are We Underestimating the Impact?” In: *Environmental Health Perspectives* 114.Suppl 1 (2006), s. 40–50. ISSN: 0091-6765. DOI: [10.1289/ehp.8051](https://doi.org/10.1289/ehp.8051). URL: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.8051>.
- [70] Walter Wilczynski a Kathleen S. Lynch. “Female sexual arousal in amphibians”. In: *Hormones and Behavior* 59.5 (2011), s. 630–636. ISSN: 0018506X. DOI: [10.1016/j.yhbeh.2010.08.015](https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2010.08.015). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0018506X10002369>.
- [71] Sakaé Kikuyama et al. “Peptide and protein pheromones in amphibians”. In: *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 132.1 (2002), s. 69–74. ISSN: 10964959. DOI: [10.1016/S1096-4959\(01\)00534-6](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00534-6). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1096495901005346>.
- [72] L J Guillette et al. “Developmental abnormalities of the gonad and abnormal sex hormone concentrations in juvenile alligators from contaminated and control lakes in Florida”. In: *Environmental Health Perspectives* 102.8 (1994), s. 680–688. ISSN: 0091-6765. DOI: [10.1289/ehp.94102680](https://doi.org/10.1289/ehp.94102680). URL: <https://ehp.niehs.nih.gov/doi/10.1289/ehp.94102680>.
- [73] M.A. Ottinger et al. “Consequences of endocrine disrupting chemicals on reproductive endocrine function in birds. Establishing reliable end points of exposure”. In: *Domestic Animal Endocrinology* 29.2 (2005), s. 411–419. ISSN: 07397240. DOI: [10.1016/j.domaniend.2005.02.038](https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.02.038). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0739724005000585>.

- [74] Bayram Yilmaz et al. “Endocrine disrupting chemicals. exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention”. In: *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders* 21.1 (2020), s. 127–147. ISSN: 1389-9155. DOI: [10.1007/s11154-019-09521-z](https://doi.org/10.1007/s11154-019-09521-z). URL: <http://link.springer.com/10.1007/s11154-019-09521-z>.
- [75] Tomaž Snoj a Gregor Majdič. “MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY. Estrogens in consumer milk”. In: *European Journal of Endocrinology* 179.6 (2018), R275–R286. ISSN: 0804-4643. DOI: [10.1530/EJE-18-0591](https://doi.org/10.1530/EJE-18-0591). URL: <https://ejebioscientifica.com/view/journals/eje/179/6/EJE-18-0591.xml>.
- [76] Teddy Kabeya Kasonga et al. “Endocrine-disruptive chemicals as contaminants of emerging concern in wastewater and surface water. A review”. In: *Journal of Environmental Management* 277 (2021). ISSN: 03014797. DOI: [10.1016/j.jenvman.2020.111485](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111485). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0301479720314109>.
- [77] Bartosz Kazimierz Slowikowski, Margarita Lianeri a Pawel Piotr Jagodziński. “Exploring estrogenic activity in lung cancer”. In: *Molecular Biology Reports* 44.1 (2017), s. 35–50. ISSN: 0301-4851. DOI: [10.1007/s11033-016-4086-8](https://doi.org/10.1007/s11033-016-4086-8). URL: <http://link.springer.com/10.1007/s11033-016-4086-8>.
- [78] Kenji Saito et al. “Progress in the molecular understanding of central regulation of body weight by estrogens”. In: *Obesity* 23.5 (2015), s. 919–926. ISSN: 19307381. DOI: [10.1002/oby.21099](https://doi.org/10.1002/oby.21099). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/oby.21099>.
- [79] Sara Della Torre et al. “Sexual Dimorphism and Estrogen Action in Mouse Liver”. In: *Sex and Gender Factors Affecting Metabolic Homeostasis, Diabetes and Obesity*. Cham: Springer International Publishing, 2017, s. 141–151. ISBN: 978-3-319-70177-6. DOI: [10.1007/978-3-319-70178-3_8](https://doi.org/10.1007/978-3-319-70178-3_8). URL: http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-70178-3_8.
- [80] M Shemesh, LS Shore et al. “Effects of environmental estrogens on reproductive parameters in domestic animals”. In: *Isr. J. Vet. Med* 67 (2012), s. 6–10. URL: http://www.ijvm.org.il/sites/default/files/effects_of_environmental_estrogens.pdf.
- [81] K.D.R. Setchell et al. “Dietary estrogens—A probable cause of infertility and liver disease in captive cheetahs”. In: *Gastroenterology* 93.2 (1987), s. 225–233. ISSN: 00165085.

- DOI: 10.1016/0016-5085(87)91006-7. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0016508587910067>.
- [82] Caren Leite Spindola Vilela, João Paulo Bassin a Raquel Silva Peixoto. “Water contamination by endocrine disruptors. Impacts, microbiological aspects and trends for environmental protection”. In: *Environmental Pollution* 235 (2018), s. 546–559. ISSN: 02697491. DOI: 10.1016/j.envpol.2017.12.098. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749117304955>.
- [83] Rita Canipari, Lucia De Santis a Sandra Cecconi. “Female Fertility and Environmental Pollution”. In: *International Journal of Environmental Research and Public Health* 17.23 (2020). ISSN: 1660-4601. DOI: 10.3390/ijerph17238802. URL: <https://www.mdpi.com/1660-4601/17/23/8802>.
- [84] Jian Lu et al. “Analysis of Bisphenol A, Nonylphenol, and Natural Estrogens in Vegetables and Fruits Using Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry”. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61.1 (2013-01-09), s. 84–89. ISSN: 0021-8561. DOI: 10.1021/jf304971k. URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/jf304971k>.
- [85] Monika Plotan et al. “Estrogenic endocrine disruptors present in sports supplements. A risk assessment for human health”. In: *Food Chemistry* 159 (2014), s. 157–165. ISSN: 03088146. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.02.153. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814614003562>.
- [86] Andrea Wenzel. *STUDY ON ENDOCRINE DISRUPTERS IN DRINKING WATER. Final report*. Germany. URL: https://www.researchgate.net/profile/Andrea-Wenzel-3/publication/229005028_Study_on_endocrine_disrupters_in_drinking_water/links/02e7e525d25243aef7000000/Study-on-endocrine-disrupters-in-drinking-water.pdf.
- [87] Dorit Shargil et al. “Impact of biosolids and wastewater effluent application to agricultural land on steroidal hormone content in lettuce plants”. In: *Science of The Total Environment* 505 (2015), s. 357–366. ISSN: 00489697. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.09.100. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969714014223>.
- [88] N. Nakada et al. “Fate of oestrogenic compounds and identification of oestrogenicity in a wastewater treatment process”. In: *Water Science and Technology* 53.11 (2006-05-

- 01), s. 51–63. ISSN: 0273-1223. DOI: [10.2166/wst.2006.337](https://doi.org/10.2166/wst.2006.337). URL: <https://iwaponline.com/wst/article/53/11/51/13854/Fate-of-estrogenic-compounds-and-identification>.
- [89] V. Gabet-Giraud et al. “Occurrence and removal of estrogens and beta blockers by various processes in wastewater treatment plants”. In: *Science of The Total Environment* 408.19 (2010-09-01), s. 4257–4269. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2010.05.023](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.05.023). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969710004961>.
- [90] Ze-hua Liu et al. “Removal of Natural Estrogens and Their Conjugates in Municipal Wastewater Treatment Plants. A Critical Review”. In: *Environmental Science & Technology* 49.9 (2015-05-05), s. 5288–5300. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/acs.est.5b00399](https://doi.org/10.1021/acs.est.5b00399). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.5b00399>.
- [91] Ewan J. McAdam et al. “Removal of steroid estrogens in carbonaceous and nitrifying activated sludge processes”. In: *Chemosphere* 81.1 (2010), s. 1–6. ISSN: 00456535. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2010.07.057](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.07.057). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653510008519>.
- [92] Bruce Petrie et al. “Diagnostic investigation of steroid estrogen removal by activated sludge at varying solids retention time”. In: *Chemosphere* 113 (2014), s. 101–108. ISSN: 00456535. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2014.04.051](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.04.051). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653514005396>.
- [93] M. Clara et al. “The solids retention time—a suitable design parameter to evaluate the capacity of wastewater treatment plants to remove micropollutants”. In: *Water Research* 39.1 (2005), s. 97–106. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2004.08.036](https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.08.036). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135404004439>.
- [94] Sebastian Zuehlke, Uwe Duennbier a Thomas Heberer. “Determination of estrogenic steroids in surface water and wastewater by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry”. In: *Journal of Separation Science* 28.1 (2005), s. 52–58. ISSN: 1615-9306. DOI: [10.1002/jssc.200301727](https://doi.org/10.1002/jssc.200301727). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jssc.200301727>.
- [95] Michael P. Schlüsener a Kai Bester. “Behavior of Steroid Hormones and Conjugates During Wastewater Treatment – A Comparison of Three Sewage Treatment Plants”. In: *CLEAN – Soil, Air, Water* 36.1 (2008), s. 25–33. ISSN: 18630650. DOI: [10.1002/clen](https://doi.org/10.1002/clen).

200700096. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/clen.200700096>.

- [96] A.C Johnson, A Belfroid a A Di Corcia. “Estimating steroid oestrogen inputs into activated sludge treatment works and observations on their removal from the effluent”. In: *Science of The Total Environment* 256.2-3 (2000), s. 163–173. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/S0048-9697\(00\)00481-2](https://doi.org/10.1016/S0048-9697(00)00481-2). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969700004812>.
- [97] Aldo Laganà et al. “Analytical methodologies for determining the occurrence of endocrine disrupting chemicals in sewage treatment plants and natural waters”. In: *Analytica Chimica Acta* 501.1 (2004), s. 79–88. ISSN: 00032670. DOI: [10.1016/j.aca.2003.09.020](https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.09.020). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267003012273>.
- [98] Hing-Biu Lee, Thomas E. Peart a M. Lewina Svoboda. “Determination of endocrine-disrupting phenols, acidic pharmaceuticals, and personal-care products in sewage by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry”. In: *Journal of Chromatography A* 1094.1-2 (2005), s. 122–129. ISSN: 00219673. DOI: [10.1016/j.chroma.2005.07.070](https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.07.070). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021967305015724>.
- [99] Nazim Cicek et al. “Removal of Selected Natural and Synthetic Estrogenic Compounds in a Canadian Full-Scale Municipal Wastewater Treatment Plant”. In: *Water Environment Research* 79.7 (2007), s. 795–800. ISSN: 10614303. DOI: [10.2175/106143007X175744](https://doi.org/10.2175/106143007X175744). URL: <http://doi.wiley.com/10.2175/106143007X175744>.
- [100] Marc P. Fernandez, Michael G. Ikonomou a Ian Buchanan. “An assessment of estrogenic organic contaminants in Canadian wastewaters”. In: *Science of The Total Environment* 373.1 (2007), s. 250–269. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2006.11.018](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.11.018). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969706008928>.
- [101] Susanna K. Atkinson et al. “The occurrence of steroidal estrogens in south-eastern Ontario wastewater treatment plants”. In: *Science of The Total Environment* 430 (2012), s. 119–125. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2012.04.069](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.069). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969712006407>.
- [102] R. Kanda a J. Churchley. “REMOVAL OF ENDOCRINE DISRUPTING COMPOUNDS DURING CONVENTIONAL WASTEWATER TREATMENT”. In: *Envi-*

- ronmental Technology* 29.3 (2008), s. 315–323. ISSN: 0959-3330. DOI: [10.1080/09593330802099874](https://doi.org/10.1080/09593330802099874). URL: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09593330802099874>.
- [103] Marta Pedrouzo et al. “Presence of Pharmaceuticals and Hormones in Waters from Sewage Treatment Plants”. In: *Water, Air, & Soil Pollution* 217.1-4 (2011), s. 267–281. ISSN: 0049-6979. DOI: [10.1007/s11270-010-0585-8](https://doi.org/10.1007/s11270-010-0585-8). URL: <http://link.springer.com/10.1007/s11270-010-0585-8>.
- [104] O. Braga et al. “Steroid estrogens in primary and tertiary wastewater treatment plants”. In: *Water Science and Technology* 52.8 (2005-10-01), s. 273–278. ISSN: 0273-1223. DOI: [10.2166/wst.2005.0273](https://doi.org/10.2166/wst.2005.0273). URL: <https://iwaponline.com/wst/article/52/8/273/11072/Steroid-estrogens-in-primary-and-tertiary>.
- [105] Frédéric D. L. Leusch et al. “Efficacy of an Advanced Sewage Treatment Plant in Southeast Queensland, Australia, to Remove Estrogenic Chemicals”. In: *Environmental Science & Technology* 39.15 (2005-08-01), s. 5781–5786. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es0484303](https://doi.org/10.1021/es0484303). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es0484303>.
- [106] Sharanya Reddy, Charles R. Iden a Bruce J. Brownawell. “Analysis of Steroid Conjugates in Sewage Influent and Effluent by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry”. In: *Analytical Chemistry* 77.21 (2005-11-01), s. 7032–7038. ISSN: 0003-2700. DOI: [10.1021/ac050699x](https://doi.org/10.1021/ac050699x). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac050699x>.
- [107] Robert F. Chimchirian, Rominder P.S. Suri a Hongxiang Fu. “Free Synthetic and Natural Estrogen Hormones in Influent and Effluent of Three Municipal Wastewater Treatment Plants”. In: *Water Environment Research* 79.9 (2007), s. 969–974. ISSN: 10614303. DOI: [10.2175/106143007X175843](https://doi.org/10.2175/106143007X175843). URL: <http://doi.wiley.com/10.2175/106143007X175843>.
- [108] Youssef Filali-Meknassi et al. “Quantification of Steroid Sex Hormones Using Solid-Phase Extraction Followed by Liquid Chromatography-Mass Spectrometry”. In: *Water Environment Research* 79.6 (2007), s. 687–696. ISSN: 10614303. DOI: [10.2175/106143007X156781](https://doi.org/10.2175/106143007X156781). URL: <http://doi.wiley.com/10.2175/106143007X156781>.
- [109] Yelena Sapozhnikova et al. “Analysis of selected natural and synthetic hormones by LC-MS-MS using the US EPA method 1694”. In: *Analytical Methods* 3.5 (2011). ISSN: 1759-

9660. DOI: [10.1039/c0ay00748j](https://doi.org/10.1039/c0ay00748j). URL: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c0ay00748j>.
- [110] P. J. Phillips et al. “Combined Sewer Overflows. An Environmental Source of Hormones and Wastewater Micropollutants”. In: *Environmental Science & Technology* 46.10 (2012-05-15), s. 5336–5343. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es3001294](https://doi.org/10.1021/es3001294). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es3001294>.
- [111] N. Nakada et al. “Fate of oestrogenic compounds and identification of oestrogenicity in a wastewater treatment process”. In: *Water Science and Technology* 53.11 (2006-05-01), s. 51–63. ISSN: 0273-1223. DOI: [10.2166/wst.2006.337](https://doi.org/10.2166/wst.2006.337). URL: <https://iwaponline.com/wst/article/53/11/51/13854/Fate-of-oestrogenic-compounds-and-identification>.
- [112] Vimal Kumar et al. “Rapid determination of free and conjugated estrogen in different water matrices by liquid chromatography–tandem mass spectrometry”. In: *Chemosphere* 77.10 (2009), s. 1440–1446. ISSN: 00456535. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2009.08.052](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.08.052). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653509010388>.
- [113] Shiwei Jin et al. “SEASONAL VARIATIONS OF ESTROGENIC COMPOUNDS AND THEIR ESTROGENICITIES IN INFLUENT AND EFFLUENT FROM A MUNICIPAL SEWAGE TREATMENT PLANT IN CHINA”. In: *Environmental Toxicology and Chemistry* 27.1 (2008), s. 07–072. ISSN: 0730-7268. DOI: [10.1897/07-072.1](https://doi.org/10.1897/07-072.1). URL: <http://doi.wiley.com/10.1897/07-072.1>.
- [114] Zhanlan Fan et al. “Behaviors of Glucocorticoids, Androgens and Progestogens in a Municipal Sewage Treatment Plant. Comparison to Estrogens”. In: *Environmental Science & Technology* 45.7 (2011-04-01), s. 2725–2733. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es103429c](https://doi.org/10.1021/es103429c). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es103429c>.
- [115] Shan Liu et al. “Steroids in a typical swine farm and their release into the environment”. In: *Water Research* 46.12 (2012), s. 3754–3768. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2012.04.006](https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.04.006). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135412002485>.
- [116] Zhaohan Zhang et al. “Occurrence and removal efficiencies of eight EDCs and estrogenicity in a STP”. In: *Journal of Environmental Monitoring* 13.5 (2011). ISSN: 1464-0325. DOI: [10.1039/c0em00597e](https://doi.org/10.1039/c0em00597e). URL: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c0em00597e>.

- [117] Haidong Zhou et al. "Fate and removal of selected endocrine-disrupting compounds in sewage using activated sludge treatment". In: *Water and Environment Journal* 26.4 (2012), s. 435–444. ISSN: 17476585. DOI: [10.1111/j.1747-6593.2011.00302.x](https://doi.org/10.1111/j.1747-6593.2011.00302.x). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1747-6593.2011.00302.x>.
- [118] Henrik Andersen et al. "Fate of Estrogens in a Municipal Sewage Treatment Plant". In: *Environmental Science & Technology* 37.18 (2003-09-01), s. 4021–4026. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es026192a](https://doi.org/10.1021/es026192a). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es026192a>.
- [119] Henrik Rasmus Andersen et al. "Assessment of the importance of sorption for steroid estrogens removal during activated sludge treatment". In: *Chemosphere* 61.1 (2005), s. 139–146. ISSN: 00456535. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2005.02.088](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.088). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653505003826>.
- [120] Adriano Joss et al. "Removal of Estrogens in Municipal Wastewater Treatment under Aerobic and Anaerobic Conditions. Consequences for Plant Optimization". In: *Environmental Science & Technology* 38.11 (2004-06-01), s. 3047–3055. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es0351488](https://doi.org/10.1021/es0351488). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es0351488>.
- [121] Jianghong Shi et al. "Biodegradation of natural and synthetic estrogens by nitrifying activated sludge and ammonia-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*". In: *Water Research* 38.9 (2004), s. 2323–2330. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2004.02.022](https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.02.022). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135404000855>.
- [122] Cynthia P. Czajka a Kathleen L. Londry. "Anaerobic biotransformation of estrogens". In: *Science of The Total Environment* 367.2-3 (2006), s. 932–941. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2006.01.021](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.021). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969706000994>.
- [123] Taewoo Yi et al. "Role of particle size and ammonium oxidation in removal of 17 α -ethinyl estradiol in bioreactors". In: *Journal of Environmental Engineering* 132.11 (2006), s. 1527–1529.
- [124] Magdalena Cirja et al. "Behavior of two differently radiolabelled 17 α -ethinylestradiols continuously applied to a laboratory-scale membrane bioreactor with adapted industrial activated sludge". In: *Water Research* 41.19 (2007), s. 4403–4412. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2007.08.011](https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.08.011).

- 1016/j.watres.2007.06.022. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135407003983>.
- [125] M. A. Dytczak, K. L. Londry a J. A. Oleszkiewicz. “Biotransformation of Estrogens in Nitrifying Activated Sludge Under Aerobic and Alternating Anoxic/Aerobic Conditions”. In: *Water Environment Research* 80.1 (2008), s. 47–52. ISSN: 10614303. DOI: [10.1002/j.1554-7531.2008.tb00348.x](https://doi.org/10.1002/j.1554-7531.2008.tb00348.x). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/j.1554-7531.2008.tb00348.x>.
- [126] Linda S. Gaulke et al. “17 α -ethinylestradiol Transformation via Abiotic Nitration in the Presence of Ammonia Oxidizing Bacteria”. In: *Environmental Science & Technology* 42.20 (2008-10-15), s. 7622–7627. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es801503u](https://doi.org/10.1021/es801503u). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es801503u>.
- [127] Ilse Forrez et al. “Biological removal of 17 α -ethinylestradiol (EE2) in an aerated nitrifying fixed bed reactor during ammonium starvation”. In: *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 84.1 (2009), s. 119–125. ISSN: 02682575. DOI: [10.1002/jctb.2016](https://doi.org/10.1002/jctb.2016). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jctb.2016>.
- [128] Qingling Zeng, Yongmei Li a Guowei Gu. “Nitrate-dependent degradation of 17 α -ethinylestradiol by acclimated activated sludge under anaerobic conditions”. In: *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 84.12 (2009), s. 1841–1847. ISSN: 02682575. DOI: [10.1002/jctb.2255](https://doi.org/10.1002/jctb.2255). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jctb.2255>.
- [129] L. Clouzot et al. “Membrane bioreactors for 17 α -ethinylestradiol removal”. In: *Journal of Membrane Science* 362.1-2 (2010), s. 81–85. ISSN: 03767388. DOI: [10.1016/j.memsci.2010.06.020](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2010.06.020). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738810004734>.
- [130] Mathieu Muller et al. “Occurrence of estrogens in sewage sludge and their fate during plant-scale anaerobic digestion”. In: *Chemosphere* 81.1 (2010), s. 65–71. ISSN: 00456535. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2010.06.062](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.06.062). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653510007368>.
- [131] Carla Patrícia Silva, Marta Otero a Valdemar Esteves. “Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones from water. A review”. In: *Environmental Pollution* 165 (2012), s. 38–58. ISSN: 02697491. DOI: [10.1016/j.envpol.2012.02.002](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2012.02.002). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749112000668>.

- [132] L.D. Nghiem, A.I. Schäfer a T.D. Waite. “Adsorptive interactions between membranes and trace contaminants”. In: *Desalination* 147.1-3 (2002), s. 269–274. ISSN: 00119164. DOI: [10.1016/S0011-9164\(02\)00550-7](https://doi.org/10.1016/S0011-9164(02)00550-7). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916402005507>.
- [133] Sheng Chang et al. “Adsorption of the Endocrine-Active Compound Estrone on Microfiltration Hollow Fiber Membranes”. In: *Environmental Science & Technology* 37.14 (2003-07-01), s. 3158–3163. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es0261574](https://doi.org/10.1021/es0261574). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es0261574>.
- [134] A. I. Schäfer, L. D. Nghiem a T. D. Waite. “Removal of the Natural Hormone Estrone from Aqueous Solutions Using Nanofiltration and Reverse Osmosis”. In: *Environmental Science & Technology* 37.1 (2003-01-01), s. 182–188. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es0102336](https://doi.org/10.1021/es0102336). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es0102336>.
- [135] L.D. Nghiem et al. “Estrogenic hormone removal from wastewater using NF/RO membranes”. In: *Journal of Membrane Science* 242.1-2 (2004), s. 37–45. ISSN: 03767388. DOI: [10.1016/j.memsci.2003.12.034](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2003.12.034). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738804003333>.
- [136] S. Weber et al. “Efficiency of nanofiltration for the elimination of steroids from water”. In: *Water Science and Technology* 50.5 (2004-09-01), s. 9–14. ISSN: 0273-1223. DOI: [10.2166/wst.2004.0302](https://doi.org/10.2166/wst.2004.0302). URL: <https://iwaponline.com/wst/article/50/5/9/11428/Efficiency-of-nanofiltration-for-the-elimination>.
- [137] Michal Bodzek a Mariusz Dudziak. “Elimination of steroidal sex hormones by conventional water treatment and membrane processes”. In: *Desalination* 198.1-3 (2006), s. 24–32. ISSN: 00119164. DOI: [10.1016/j.desal.2006.09.005](https://doi.org/10.1016/j.desal.2006.09.005). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916406011064>.
- [138] J HU, X JIN a S ONG. “Rejection of estrone by nanofiltration. Influence of solution chemistry”. In: *Journal of Membrane Science* 302.1-2 (2007-09-15), s. 188–196. ISSN: 03767388. DOI: [10.1016/j.memsci.2007.06.043](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2007.06.043). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738807004395>.
- [139] Xue Jin, Jiangyong Hu a Say Leong Ong. “Influence of dissolved organic matter on estrone removal by NF membranes and the role of their structures”. In: *Water Research* 41.14 (2007), s. 3077–3088. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2007](https://doi.org/10.1016/j.watres.2007).

- 04.025. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135407002849>.
- [140] Yeomin Yoon et al. “Removal of endocrine disrupting compounds and pharmaceuticals by nanofiltration and ultrafiltration membranes”. In: *Desalination* 202.1-3 (2007), s. 16–23. ISSN: 00119164. DOI: [10.1016/j.desal.2005.12.033](https://doi.org/10.1016/j.desal.2005.12.033). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916406011908>.
- [141] Ismail Koyuncu et al. “Removal of hormones and antibiotics by nanofiltration membranes”. In: *Journal of Membrane Science* 309.1-2 (2008), s. 94–101. ISSN: 03767388. DOI: [10.1016/j.memsci.2007.10.010](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2007.10.010). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S037673880700734X>.
- [142] Abdulhakeem Ali Alturki et al. “Combining MBR and NF/RO membrane filtration for the removal of trace organics in indirect potable water reuse applications”. In: *Journal of Membrane Science* 365.1-2 (2010), s. 206–215. ISSN: 03767388. DOI: [10.1016/j.memsci.2010.09.008](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2010.09.008). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738810007052>.
- [143] Jie Han, Wei Qiu a Wei Gao. “Adsorption of estrone in microfiltration membrane filters”. In: *Chemical Engineering Journal* 165.3 (2010), s. 819–826. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2010.10.024](https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.10.024). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894710009447>.
- [144] Andrea I. Schäfer et al. “Impact of organic matrix compounds on the retention of steroid hormone estrone by a ‘loose’ nanofiltration membrane”. In: *Separation and Purification Technology* 73.2 (2010-06-18), s. 179–187. ISSN: 13835866. DOI: [10.1016/j.seppur.2010.03.023](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2010.03.023). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383586610001358>.
- [145] Katsuki Kimura et al. “Rejection of neutral endocrine disrupting compounds (EDCs) and pharmaceutical active compounds (PhACs) by RO membranes”. In: *Journal of Membrane Science* 245.1-2 (2004), s. 71–78. ISSN: 03767388. DOI: [10.1016/j.memsci.2004.07.018](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2004.07.018). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738804005320>.
- [146] Yeomin Yoon et al. “Removal of 17 β Estradiol and Fluoranthene by Nanofiltration and Ultrafiltration”. In: *Journal of Environmental Engineering* 130.12 (2004), s. 1460–1467. ISSN: 0733-9372. DOI: [10.1061/\(ASCE\)0733-9372\(2004\)130:12\(1460\)](https://doi.org/10.1061/(ASCE)0733-9372(2004)130:12(1460)). URL:

<https://ascelibrary.org/doi/10.1061/%5C%28ASCE%5C%290733-9372%5C%282004%5C%29130%5C%3A12%5C%281460%5C%29>.

- [147] E MCCALLUM et al. “Adsorption, desorption, and steady-state removal of 17 β -estradiol by nanofiltration membranes”. In: *Journal of Membrane Science* 319.1-2 (2008-07-01), s. 38–43. ISSN: 03767388. DOI: [10.1016/j.memsci.2008.03.014](https://doi.org/10.1016/j.memsci.2008.03.014). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0376738808002287>.
- [148] Sang D. Kim et al. “Occurrence and removal of pharmaceuticals and endocrine disruptors in South Korean surface, drinking, and waste waters”. In: *Water Research* 41.5 (2007), s. 1013–1021. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2006.06.034](https://doi.org/10.1016/j.watres.2006.06.034). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135406003794>.
- [149] Mariusz Dudziak a Michal Bodzek. “Selected factors affecting the elimination of hormones from water using nanofiltration”. In: *Desalination* 240.1-3 (2009), s. 236–243. ISSN: 00119164. DOI: [10.1016/j.desal.2007.11.075](https://doi.org/10.1016/j.desal.2007.11.075). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916409000903>.
- [150] Yang Deng a Renzun Zhao. “Advanced Oxidation Processes (AOPs) in Wastewater Treatment”. In: *Current Pollution Reports* 1.3 (2015), s. 167–176. ISSN: 2198-6592. DOI: [10.1007/s40726-015-0015-z](https://doi.org/10.1007/s40726-015-0015-z). URL: <http://link.springer.com/10.1007/s40726-015-0015-z>.
- [151] Libor Dušek. “ČIŠTĚNÍ ODPADNÍCH VOD CHEMICKOU OXIDACÍ HYDROXYLOVÝMI RADIKÁLY”. In: *Chemické listy* 104.9 (2010), s. 846–854. URL: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_09_846-854.pdf.
- [152] Kamilla M. S. Hansen a Henrik R. Andersen. “Energy Effectiveness of Direct UV and UV/H₂O₂ Treatment of Estrogenic Chemicals in Biologically Treated Sewage”. In: *International Journal of Photoenergy* 2012 (2012), s. 1–9. ISSN: 1110-662X. DOI: [10.1155/2012/270320](https://doi.org/10.1155/2012/270320). URL: <http://www.hindawi.com/journals/ijp/2012/270320/>.
- [153] Wen-Long Wang et al. “Light-emitting diodes as an emerging UV source for UV/chlorine oxidation. Carbamazepine degradation and toxicity changes”. In: *Chemical Engineering Journal* 310 (2017), s. 148–156. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2016.10.097](https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.10.097). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894716315078>.

- [154] Torsten C. Schmidt a Holger Lutze. *POTENTIAL AND LIMITATIONS OF (ADVANCED) OXIDATION PROCESSES IN WATER AND WASTEWATER TREATMENT*. Essen, 2013. URL: <http://www.suswatec.de/download/presentations/Schmidt.pdf>.
- [155] Michaela I. Stefan. *Advanced Oxidation Processes for Water Treatment. Fundamentals and Applications*. 1. vyd. London UK: IWA Publishing, 2018. ISBN: 978-1-78040-718-0.
- [156] Pavel Pitter. *Hydrochemie*. 4., aktualiz. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT Praha, 2009. ISBN: 978-80-7080-701-9.
- [157] Marta I. Litter. “Introduction to Photochemical Advanced Oxidation Processes for Water Treatment”. In: *Environmental Photochemistry Part II* (2005), s. 325–366. DOI: [10.1007/b138188](https://doi.org/10.1007/b138188). URL: <http://link.springer.com/10.1007/b138188>.
- [158] Wenya Han et al. “Photocatalysis of p-chlorobenzoic acid in aqueous solution under irradiation of 254nm and 185nm UV light”. In: *Water Research* 38.19 (2004), s. 4197–4203. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2004.07.019](https://doi.org/10.1016/j.watres.2004.07.019). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135404003859>.
- [159] Kristin Zoschke, Hilmar Börnick a Eckhard Worch. “Vacuum-UV radiation at 185 nm in water treatment – A review”. In: *Water Research* 52 (2014), s. 131–145. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2013.12.034](https://doi.org/10.1016/j.watres.2013.12.034). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135413010336>.
- [160] Brian L. Diffey. “Sources and measurement of ultraviolet radiation”. In: *Methods* 28.1 (2002), s. 4–13. ISSN: 10462023. DOI: [10.1016/S1046-2023\(02\)00204-9](https://doi.org/10.1016/S1046-2023(02)00204-9). URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1046202302002049>.
- [161] Jana Gottwaldová. *Katedra laboratorních metod LF MU. Optické metody*. URL: <http://slideplayer.cz/slide/4082378/>.
- [162] Ondřej Unčovský. *Všechno co jste kdy chtěli vědět o ozonu a UV (ale báli jste se zeptat)*. Brno, 2011. URL: <http://www.asio.cz/cz/161.vsechno-co-jste-kdy-chteli-vedet-o-ozonu-a-uv-ale-bali-jste-se-zeptat>.
- [163] U Kogelschatz et al. “High-intensity sources of incoherent UV and VUV excimer radiation for low-temperature materials processing”. In: *Applied Surface Science* 168.1-4 (2000), s. 29–36. ISSN: 01694332. DOI: [10.1016/S0169-4332\(00\)00571-7](https://doi.org/10.1016/S0169-4332(00)00571-7). URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169433200005717>.

- [164] *Laserová analytická spektroskopie*. Praha. URL: <http://www.jh-inst.cas.cz/~ftirlab/lasery.ppt>.
- [165] Galina Matafonova a Valeriy Batoev. “Recent advances in application of UV light-emitting diodes for degrading organic pollutants in water through advanced oxidation processes. A review”. In: *Water Research* 132 (2018), s. 177–189. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2017.12.079](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.079). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135417310941>.
- [166] Wan-Kuen Jo a Rajesh J. Tayade. “New Generation Energy-Efficient Light Source for Photocatalysis. LEDs for Environmental Applications”. In: *Industrial & Engineering Chemistry Research* 53.6 (2014-02-12), s. 2073–2084. ISSN: 0888-5885. DOI: [10.1021/ie404176g](https://doi.org/10.1021/ie404176g). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ie404176g>.
- [167] Hideki Hirayama et al. “222-282 nm AlGaIn and InAlGaIn-based deep-UV LEDs fabricated on high-quality AlN on sapphire”. In: *Physica status solidi (a)* 206.6 (2009), s. 1176–1182. ISSN: 18626300. DOI: [10.1002/pssa.200880961](https://doi.org/10.1002/pssa.200880961). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pssa.200880961>.
- [168] Yoshihiko Muramoto, Masahiro Kimura a Suguru Nouda. “Development and future of ultraviolet light-emitting diodes. UV-LED will replace the UV lamp”. In: *Semiconductor Science and Technology* 29.8 (2014-08-01). ISSN: 0268-1242. DOI: [10.1088/0268-1242/29/8/084004](https://doi.org/10.1088/0268-1242/29/8/084004). URL: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/0268-1242/29/8/084004>.
- [169] Jian Chen, Stephanie Loeb a Jae-Hong Kim. “LED revolution. fundamentals and prospects for UV disinfection applications”. In: *Environmental Science: Water Research & Technology* 3.2 (2017), s. 188–202. ISSN: 2053-1400. DOI: [10.1039/C6EW00241B](https://doi.org/10.1039/C6EW00241B). URL: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C6EW00241B>.
- [170] E. Neyens a J. Baeyens. “A review of classic Fenton’s peroxidation as an advanced oxidation technique”. In: *Journal of Hazardous Materials* 98.1-3 (2003), s. 33–50. ISSN: 03043894. DOI: [10.1016/S0304-3894\(02\)00282-0](https://doi.org/10.1016/S0304-3894(02)00282-0). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389402002820>.
- [171] Anabela M.F.M. Guedes et al. “Fenton oxidation of cork cooking wastewater—overall kinetic analysis”. In: *Water Research* 37.13 (2003), s. 3061–3069. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/S0043-1354\(03\)00178-7](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00178-7). URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0043135403001787>.

- [172] K. Barbusiński a K. Filipek. “Use of Fenton’s Reagent for Removal of Pesticides from Industrial Wastewater”. In: *Polish Journal of Environmental Studies* 10.4 (2001), s. 207–212. URL: <http://www.pjoes.com/pdf/10.4/207-212.pdf>.
- [173] Daphne Hermosilla, Manuel Cortijo a Chin Pao Huang. “Optimizing the treatment of landfill leachate by conventional Fenton and photo-Fenton processes”. In: *Science of The Total Environment* 407.11 (2009), s. 3473–3481. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2009.02.009](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.02.009). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969709001569>.
- [174] Shima Rahim Pouran, A.R. Abdul Aziz a Wan Mohd Ashri Wan Daud. “Review on the main advances in photo-Fenton oxidation system for recalcitrant wastewaters”. In: *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 21 (2015), s. 53–69. ISSN: 1226086X. DOI: [10.1016/j.jiec.2014.05.005](https://doi.org/10.1016/j.jiec.2014.05.005). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1226086X14002548>.
- [175] Popi Karaolia et al. “Reduction of clarithromycin and sulfamethoxazole-resistant Enterococcus by pilot-scale solar-driven Fenton oxidation”. In: *Science of The Total Environment* 468-469 (2014), s. 19–27. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2013.08.027](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.08.027). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969713009418>.
- [176] L. Clarizia et al. “Homogeneous photo-Fenton processes at near neutral pH. A review”. In: *Applied Catalysis B: Environmental* 209 (2017), s. 358–371. ISSN: 09263373. DOI: [10.1016/j.apcatb.2017.03.011](https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.03.011). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926337317302084>.
- [177] Takuya Maezono et al. “Hydroxyl radical concentration profile in photo-Fenton oxidation process. Generation and consumption of hydroxyl radicals during the discoloration of azo-dye Orange II”. In: *Chemosphere* 82.10 (2011), s. 1422–1430. ISSN: 00456535. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2010.11.052](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.11.052). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653510013597>.
- [178] Mohamed Gar Alalm, Ahmed Tawfik a Shinichi Ookawara. “Degradation of four pharmaceuticals by solar photo-Fenton process. Kinetics and costs estimation”. In: *Journal of Environmental Chemical Engineering* 3.1 (2015), s. 46–51. ISSN: 22133437. DOI: [10.1016/j.jece.2014.12.009](https://doi.org/10.1016/j.jece.2014.12.009). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213343714002772>.

- [179] A. Georgi et al. "Humic acid modified Fenton reagent for enhancement of the working pH range". In: *Applied Catalysis B: Environmental* 72.1-2 (2007-03-08), s. 26–36. ISSN: 09263373. DOI: [10.1016/j.apcatb.2006.10.009](https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2006.10.009). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926337306004358>.
- [180] Thomas Oppenländer. *Photochemical purification of water and air*. Weinheim: Wiley-VCH, 2003. ISBN: 35-273-0563-7.
- [181] R Bauer. "The photo-fenton reaction and the TiO₂/UV process for waste water treatment novel developments". In: *Catalysis Today* 53.1 (1999), s. 131–144. ISSN: 09205861. DOI: [10.1016/S0920-5861\(99\)00108-X](https://doi.org/10.1016/S0920-5861(99)00108-X). URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092058619900108X>.
- [182] D Bhatkhande. "Photocatalytic and photochemical degradation of nitrobenzene using artificial ultraviolet light". In: *Chemical Engineering Journal* 102.3 (2004), s. 283–290. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2004.05.009](https://doi.org/10.1016/j.cej.2004.05.009). URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894704002050>.
- [183] Rein Munter. "Advanced Oxidation Processes. Current Status and Prospects". In: *Proc. Estonian Acad. Sci. Chem.* 50.2 (2001), s. 59–80. ISSN: 09317597. DOI: [10.1002/chin.200141291](https://doi.org/10.1002/chin.200141291). URL: http://www.kirj.ee/public/va_ke/k50-2-1.pdf.
- [184] Pengchao Xie et al. "Degradation of organic pollutants by Vacuum-Ultraviolet (VUV). Kinetic model and efficiency". In: *Water Research* 133 (2018), s. 69–78. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2018.01.019](https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.01.019). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004313541830023X>.
- [185] C. Sichel, C. Garcia a K. Andre. "Feasibility studies. UV/chlorine advanced oxidation treatment for the removal of emerging contaminants". In: *Water Research* 45.19 (2011), s. 6371–6380. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2011.09.025](https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.09.025). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135411005446>.
- [186] Xiujuan Kong et al. "Degradation of atrazine by UV/chlorine. Efficiency, influencing factors, and products". In: *Water Research* 90 (2016), s. 15–23. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2015.11.068](https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.11.068). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135415303948>.
- [187] Jingyun Fang, Yun Fu a Chii Shang. "The Roles of Reactive Species in Micropollutant Degradation in the UV/Free Chlorine System". In: *Environmental Science & Technology* 48.3 (2014-02-04), s. 1859–1868. ISSN: 0013-936X. DOI: [10.1021/es4036094](https://doi.org/10.1021/es4036094). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es4036094>.

- [188] Baowei Wang a Yu Wang. “A comprehensive review on persulfate activation treatment of wastewater”. In: *Science of The Total Environment* 831 (2022). ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2022.154906](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154906). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969722019994>.
- [189] Wolfgang F. Hoelderich a Felix Kollmer. “Oxidation reactions in the synthesis of fine and intermediate chemicals using environmentally benign oxidants and the right reactor system”. In: *Pure and Applied Chemistry* 72.7 (2000-01-01), s. 1273–1287. ISSN: 1365-3075. DOI: [10.1351/pac200072071273](https://doi.org/10.1351/pac200072071273). URL: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1351/pac200072071273/html>.
- [190] Emrah Ozturk a Nazire Bal. “Evaluation of ammonia–nitrogen removal efficiency from aqueous solutions by ultrasonic irradiation in short sonication periods”. In: *Ultrasonics Sonochemistry* 26 (2015), s. 422–427. ISSN: 13504177. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2015.02.012](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.02.012). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417715000449>.
- [191] María L. Dell’Arciprete et al. “Reactions of Sulphate Radicals with Substituted Pyridines. A Structure–Reactivity Correlation Analysis”. In: *ChemPhysChem* 8.17 (2007-12-03), s. 2498–2505. ISSN: 14394235. DOI: [10.1002/cphc.200700456](https://doi.org/10.1002/cphc.200700456). URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/cphc.200700456>.
- [192] AIKATERINI TSITONAKI et al. “In Situ Chemical Oxidation of Contaminated Soil and Groundwater Using Persulfate. A Review”. In: *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 40.1 (2010-01-04), s. 55–91. ISSN: 1064-3389. DOI: [10.1080/10643380802039303](https://doi.org/10.1080/10643380802039303). URL: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643380802039303>.
- [193] Bingzhi Li et al. “Removal of 1,1,1-trichloroethane from aqueous solution by a sono-activated persulfate process”. In: *Ultrasonics Sonochemistry* 20.3 (2013), s. 855–863. ISSN: 13504177. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2012.11.014](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.11.014). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417712002702>.
- [194] Bingzhi Li a Jiang Zhu. “Simultaneous degradation of 1,1,1-trichloroethane and solvent stabilizer 1,4-dioxane by a sono-activated persulfate process”. In: *Chemical Engineering Journal* 284 (2016), s. 750–763. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2015.08.153](https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.08.153). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138589471501253X>.

- [195] Jiang Zhu a Bingzhi Li. “Degradation Kinetic and Remediation Effectiveness of 1,4-Dioxane-Contaminated Groundwater by a Sono-Activated Persulfate Process”. In: *Journal of Environmental Engineering* 144.10 (2018). ISSN: 0733-9372. DOI: [10.1061/\(ASCE\)EE.1943-7870.0001445](https://doi.org/10.1061/(ASCE)EE.1943-7870.0001445). URL: <https://ascelibrary.org/doi/10.1061/%5C%28ASCE%5C%29EE.1943-7870.0001445>.
- [196] J.M. Monteagudo et al. “Sono-activated persulfate oxidation of diclofenac. Degradation, kinetics, pathway and contribution of the different radicals involved”. In: *Journal of Hazardous Materials* 357 (2018), s. 457–465. ISSN: 03043894. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2018.06.031](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.06.031). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389418304710>.
- [197] Majid Kermani et al. “Degradation of furfural in aqueous solution using activated persulfate and peroxymonosulfate by ultrasound irradiation”. In: *Journal of Environmental Management* 266 (2020). ISSN: 03014797. DOI: [10.1016/j.jenvman.2020.110616](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.110616). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030147972030548X>.
- [198] Songlin Wang a Ning Zhou. “Removal of carbamazepine from aqueous solution using sono-activated persulfate process”. In: *Ultrasonics Sonochemistry* 29 (2016), s. 156–162. ISSN: 13504177. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2015.09.008](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.09.008). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417715300304>.
- [199] Feifei Hao et al. “Intensification of sonochemical degradation of ammonium perfluorooctanoate by persulfate oxidant”. In: *Ultrasonics Sonochemistry* 21.2 (2014), s. 554–558. ISSN: 13504177. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2013.09.016](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2013.09.016). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417713002277>.
- [200] Hamza Ferkous et al. “Persulfate-enhanced sonochemical degradation of naphthol blue black in water. Evidence of sulfate radical formation”. In: *Ultrasonics Sonochemistry* 34 (2017), s. 580–587. ISSN: 13504177. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2016.06.027](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.027). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417716302243>.
- [201] Hamideh Bahrami et al. “Degradation of trichloroethylene by sonophotolytic-activated persulfate processes. Optimization using response surface methodology”. In: *Journal of Cleaner Production* 198 (2018), s. 1210–1218. ISSN: 09596526. DOI: [10.1016/j.jclepro.2018.07.100](https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.07.100). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959652618320730>.

- [202] Chang-Mao Hung et al. “Hydrodynamic cavitation activation of persulfate for the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments”. In: *Environmental Pollution* 286 (2021). ISSN: 02697491. DOI: [10.1016/j.envpol.2021.117245](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117245). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749121008277>.
- [203] Xun Sun et al. “A review on hydrodynamic cavitation disinfection. The current state of knowledge”. In: *Science of The Total Environment* 737 (2020). ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2020.139606](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139606). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969720331260>.
- [204] Sarjerao B. Doltade et al. “Hydrodynamic cavitation as an imperative technology for the treatment of petroleum refinery effluent”. In: *Journal of Water Process Engineering* 29 (2019). ISSN: 22147144. DOI: [10.1016/j.jwpe.2019.02.008](https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.02.008). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214714418307529>.
- [205] Outi Supponen, Philippe Kobel a Mohamed Farhat. “Video. The inner world of a collapsing bubble”. In: *67th Annual Meeting of the APS Division of Fluid Dynamics - Gallery of Fluid Motion*. American Physical Society, 2014, s. -. DOI: [10.1103/APS.DFD.2014.GFM.V0084](https://doi.org/10.1103/APS.DFD.2014.GFM.V0084). URL: <https://gfm.aps.org/meetings/dfd-2014/5417591d69702d585c660300>.
- [206] Outi Supponen et al. “The inner world of a collapsing bubble”. In: *Physics of Fluids* 27.9 (2015). ISSN: 1070-6631. DOI: [10.1063/1.4931098](https://doi.org/10.1063/1.4931098). URL: <http://aip.scitation.org/doi/10.1063/1.4931098>.
- [207] Mandar P. Badve, Mihir N. Bhagat a Aniruddha B. Pandit. “Microbial disinfection of seawater using hydrodynamic cavitation”. In: *Separation and Purification Technology* 151 (2015), s. 31–38. ISSN: 13835866. DOI: [10.1016/j.seppur.2015.07.020](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2015.07.020). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383586615300885>.
- [208] Rajashree H. Jawale a Parag R. Gogate. “Novel approaches based on hydrodynamic cavitation for treatment of wastewater containing potassium thiocyanate”. In: *Ultrasonics Sonochemistry* 52 (2019), s. 214–223. ISSN: 13504177. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2018.11.019](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.11.019). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417718305248>.
- [209] V. Innocenzi et al. “Optimization of hydrodynamic cavitation process of azo dye reduction in the presence of metal ions”. In: *Journal of Environmental Chemical Engineering* 6.6 (2018), s. 6787–6796. ISSN: 22133437. DOI: [10.1016/j.jece.2018](https://doi.org/10.1016/j.jece.2018).

- 10.046. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213343718306572>.
- [210] Sunil Rajoriya, Swapnil Bargole a Virendra Kumar Saharan. “Degradation of a cationic dye (Rhodamine 6G) using hydrodynamic cavitation coupled with other oxidative agents. Reaction mechanism and pathway”. In: *Ultrasonics Sonochemistry* 34 (2017), s. 183–194. ISSN: 13504177. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.05.028. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417716301705>.
- [211] Kirill Fedorov, Xun Sun a Grzegorz Boczkaj. “Combination of hydrodynamic cavitation and SR-AOPs for simultaneous degradation of BTEX in water”. In: *Chemical Engineering Journal* 417 (2021). ISSN: 13858947. DOI: 10.1016/j.cej.2020.128081. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894720341978>.
- [212] Jongbok Choi et al. “Hydrodynamic cavitation and activated persulfate oxidation for degradation of bisphenol A. Kinetics and mechanism”. In: *Chemical Engineering Journal* 338 (2018), s. 323–332. ISSN: 13858947. DOI: 10.1016/j.cej.2018.01.018. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894718300184>.
- [213] Soroush Baradaran a Mohammad Taghi Sadeghi. “Coomassie Brilliant Blue (CBB) degradation using hydrodynamic cavitation, hydrogen peroxide and activated persulfate (HC-H₂O₂-KPS) combined process”. In: *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification* 145 (2019). ISSN: 02552701. DOI: 10.1016/j.cep.2019.107674. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0255270119307032>.
- [214] M Magureanu, C Bradu a V I Parvulescu. “Plasma processes for the treatment of water contaminated with harmful organic compounds”. In: *Journal of Physics D: Applied Physics* 51.31 (2018-08-08). ISSN: 0022-3727. DOI: 10.1088/1361-6463/aacd9c. URL: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1361-6463/aacd9c>.
- [215] Qiancheng Wang et al. “Degradation of aqueous atrazine using persulfate activated by electrochemical plasma coupling with microbubbles. removal mechanisms and potential applications”. In: *Journal of Hazardous Materials* 403 (2021). ISSN: 03043894. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.124087. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030438942032077X>.

- [216] Shoufeng Tang et al. "Persulfate activation in gas phase surface discharge plasma for synergetic removal of antibiotic in water". In: *Chemical Engineering Journal* 337 (2018), s. 446–454. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2017.12.117](https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.12.117). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894717322398>.
- [217] Cao Fang a Qing Huang. "Dielectric Barrier Discharge Plasma Activates Persulfate to Degrade Norfloxacin. Mechanism and Degradation Pathways". In: *Plasma Medicine* 8.4 (2018), s. 321–333. ISSN: 1947-5764. DOI: [10.1615/PlasmaMed.2018028857](https://doi.org/10.1615/PlasmaMed.2018028857). URL: <http://www.dl.begellhouse.com/journals/5a5b4a3d419387fb,1a3e35964d363a91,1b5917e3013585e9.html>.
- [218] Jian-Ping Liang et al. "Degradation of trimethoprim in aqueous by persulfate activated with nanosecond pulsed gas-liquid discharge plasma". In: *Journal of Environmental Management* 278 (2021). ISSN: 03014797. DOI: [10.1016/j.jenvman.2020.111539](https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2020.111539). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030147972031464X>.
- [219] Dong Miao et al. "Oxidative degradation of atenolol by heat-activated persulfate. Kinetics, degradation pathways and distribution of transformation intermediates". In: *Chemosphere* 207 (2018), s. 174–182. ISSN: 00456535. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2018.05.068](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.05.068). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653518309172>.
- [220] Yan Cui et al. "In Situ Preparation of Copper-Loaded Carbon-Based Catalyst with Chelate Resin and Its Application on Persulfate Activation for X-3B Degradation". In: *Catalysts* 10.11 (2020). ISSN: 2073-4344. DOI: [10.3390/catal10111333](https://doi.org/10.3390/catal10111333). URL: <https://www.mdpi.com/2073-4344/10/11/1333>.
- [221] Han Ding a Jiangyong Hu. "Degradation of ibuprofen by UVA-LED/TiO₂/persulfate process. Kinetics, mechanism, water matrix effects, intermediates and energy consumption". In: *Chemical Engineering Journal* 397 (2020). ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2020.125462](https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.125462). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894720314546>.
- [222] Sanaullah Khan et al. "Degradation of highly chlorinated pesticide, lindane, in water using UV/persulfate. kinetics and mechanism, toxicity evaluation, and synergism by H₂O₂". In: *Journal of Hazardous Materials* 402 (2021). ISSN: 03043894. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2020.123558](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123558). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389420315442>.

- [223] Hafida Lebig-Elhadi et al. “Degradation of pesticide thiamethoxam by heat – activated and ultrasound – activated persulfate. Effect of key operating parameters and the water matrix”. In: *Process Safety and Environmental Protection* 134 (2020), s. 197–207. ISSN: 09575820. DOI: [10.1016/j.psep.2019.11.041](https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.11.041). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0957582019318282>.
- [224] Zacharias Frontistis. “Degradation of the nonsteroidal anti-inflammatory drug piroxicam from environmental matrices with UV-activated persulfate”. In: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 378 (2019), s. 17–23. ISSN: 10106030. DOI: [10.1016/j.jphotochem.2019.04.016](https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2019.04.016). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603018313145>.
- [225] Olga S. Arvaniti et al. “Degradation of antihypertensive drug valsartan in water matrices by heat and heat/ultrasound activated persulfate. Kinetics, synergy effect and transformation products”. In: *Chemical Engineering Journal Advances* 4 (2020). ISSN: 26668211. DOI: [10.1016/j.cej.2020.100062](https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.100062). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666821120300624>.
- [226] Murtaza Sayed et al. “Degradation of quinolone antibiotic, norfloxacin, in aqueous solution using gamma-ray irradiation”. In: *Environmental Science and Pollution Research* 23.13 (2016), s. 13155–13168. ISSN: 0944-1344. DOI: [10.1007/s11356-016-6475-x](https://doi.org/10.1007/s11356-016-6475-x). URL: <http://link.springer.com/10.1007/s11356-016-6475-x>.
- [227] Xuexiang He et al. “Efficient removal of microcystin-LR by UV-C/H₂O₂ in synthetic and natural water samples”. In: *Water Research* 46.5 (2012), s. 1501–1510. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2011.11.009](https://doi.org/10.1016/j.watres.2011.11.009). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135411006816>.
- [228] N. Daneshvar, D. Salari a A.R. Khataee. “Photocatalytic degradation of azo dye acid red 14 in water. investigation of the effect of operational parameters”. In: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 157.1 (2003), s. 111–116. ISSN: 10106030. DOI: [10.1016/S1010-6030\(03\)00015-7](https://doi.org/10.1016/S1010-6030(03)00015-7). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603003000157>.
- [229] Anne Carabin, Patrick Drogui a Didier Robert. “Photo-degradation of carbamazepine using TiO₂ suspended photocatalysts”. In: *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 54 (2015), s. 109–117. ISSN: 18761070. DOI: [10.1016/j.jtice.2015.03.006](https://doi.org/10.1016/j.jtice.2015.03.006). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1876107015000978>.

- [230] Jinhui Zeng et al. “Degradation of pharmaceutical contaminant ibuprofen in aqueous solution by cylindrical wetted-wall corona discharge”. In: *Chemical Engineering Journal* 267 (2015), s. 282–288. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2015.01.030](https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.01.030). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894715000595>.
- [231] Deniz Nasuhoglu, Viviane Yargeau a Dimitrios Berk. “Photo-removal of sulfamethoxazole (SMX) by photolytic and photocatalytic processes in a batch reactor under UV-C radiation ($\lambda_{\max}=254\text{nm}$)”. In: *Journal of Hazardous Materials* 186.1 (2011), s. 67–75. ISSN: 03043894. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2010.10.080](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.10.080). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389410013683>.
- [232] B.G. Zheng et al. “Degradation of the emerging contaminant ibuprofen in aqueous solution by gamma irradiation”. In: *Desalination* 276.1-3 (2011), s. 379–385. ISSN: 00119164. DOI: [10.1016/j.desal.2011.03.078](https://doi.org/10.1016/j.desal.2011.03.078). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916411003079>.
- [233] Noor S. Shah et al. “Hydroxyl and sulfate radical mediated degradation of ciprofloxacin using nano zerovalent manganese catalyzed $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ ”. In: *Chemical Engineering Journal* 356 (2019), s. 199–209. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2018.09.009](https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.09.009). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894718317170>.
- [234] Faiza Rehman et al. “Oxidative removal of brilliant green by UV/ $\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$, UV/ HSO_5^- and UV/ H_2O_2 processes in aqueous media. A comparative study”. In: *Journal of Hazardous Materials* 357 (2018), s. 506–514. ISSN: 03043894. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2018.06.012](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.06.012). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389418304527>.
- [235] Shiyun Huang et al. “Photocatalytic degradation of thiobencarb by a visible light-driven MoS_2 photocatalyst”. In: *Separation and Purification Technology* 197 (2018), s. 147–155. ISSN: 13835866. DOI: [10.1016/j.seppur.2018.01.009](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2018.01.009). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383586617329337>.
- [236] Emad S. Elmolla a Malay Chaudhuri. “Photocatalytic degradation of amoxicillin, ampicillin and cloxacillin antibiotics in aqueous solution using UV/ TiO_2 and UV/ $\text{H}_2\text{O}_2/\text{TiO}_2$ photocatalysis”. In: *Desalination* 252.1-3 (2010), s. 46–52. ISSN: 00119164. DOI: [10.1016/j.desal.2009.11.003](https://doi.org/10.1016/j.desal.2009.11.003). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0011916409012788>.

- [237] N Daneshvar, D Salari a A.R Khataee. “Photocatalytic degradation of azo dye acid red 14 in water on ZnO as an alternative catalyst to TiO₂”. In: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 162.2-3 (2004), s. 317–322. ISSN: 10106030. DOI: [10.1016/S1010-6030\(03\)00378-2](https://doi.org/10.1016/S1010-6030(03)00378-2). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603003003782>.
- [238] Shiyang Yang et al. “Degradation efficiencies of azo dye Acid Orange 7 by the interaction of heat, UV and anions with common oxidants. Persulfate, peroxymonosulfate and hydrogen peroxide”. In: *Journal of Hazardous Materials* 179.1-3 (2010), s. 552–558. ISSN: 03043894. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2010.03.039](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.03.039). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389410003456>.
- [239] Liming Yang, Liya E. Yu a Madhumita B. Ray. “Degradation of paracetamol in aqueous solutions by TiO₂ photocatalysis”. In: *Water Research* 42.13 (2008), s. 3480–3488. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2008.04.023](https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.04.023). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135408001784>.
- [240] A.R. Khataee, M. Fathinia a S.W. Joo. “Simultaneous monitoring of photocatalysis of three pharmaceuticals by immobilized TiO₂ nanoparticles. Chemometric assessment, intermediates identification and ecotoxicological evaluation”. In: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 112 (2013), s. 33–45. ISSN: 13861425. DOI: [10.1016/j.saa.2013.04.028](https://doi.org/10.1016/j.saa.2013.04.028). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142513003521>.
- [241] S CHAKRABARTI a B DUTTA. “Photocatalytic degradation of model textile dyes in wastewater using ZnO as semiconductor catalyst”. In: *Journal of Hazardous Materials* 112.3 (2004-08-30), s. 269–278. ISSN: 03043894. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2004.05.013](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2004.05.013). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389404002584>.
- [242] Tiecheng Wang et al. “Evaluation of the potential of dimethyl phthalate degradation in aqueous using sodium percarbonate activated by discharge plasma”. In: *Chemical Engineering Journal* 346 (2018), s. 65–76. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2018.04.024](https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.04.024). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894718305916>.
- [243] Noor S. Shah et al. “Solar light driven degradation of norfloxacin using as-synthesized Bi³⁺ and Fe²⁺ co-doped ZnO with the addition of H₂O₂. Toxicities and degradation pathways investigation”. In: *Chemical Engineering Journal* 351 (2018), s. 841–855. ISSN:

13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2018.06.111](https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.06.111). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894718311495>.
- [244] Murtaza Sayed et al. “Narrowing the band gap of TiO₂ by co-doping with Mn²⁺ and Co²⁺ for efficient photocatalytic degradation of enoxacin and its additional peroxidase like activity. A mechanistic approach”. In: *Journal of Molecular Liquids* 272 (2018), s. 403–412. ISSN: 01677322. DOI: [10.1016/j.molliq.2018.09.102](https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.09.102). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167732218340741>.
- [245] Bin Liu a Xianli Liu. “Direct photolysis of estrogens in aqueous solutions”. In: *Science of The Total Environment* 320.2-3 (2004), s. 269–274. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2003.08.005](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2003.08.005). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969703004807>.
- [246] Patrick Mazellier, Ladji Méité a Joseph De Laat. “Photodegradation of the steroid hormones 17 β -estradiol (E2) and 17 α -ethinylestradiol (EE2) in dilute aqueous solution”. In: *Chemosphere* 73.8 (2008), s. 1216–1223. ISSN: 00456535. DOI: [10.1016/j.chemosphere.2008.07.046](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.07.046). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653508009557>.
- [247] Dina M. Leech, Matthew T. Snyder a Robert G. Wetzel. “Natural organic matter and sunlight accelerate the degradation of 17 β -estradiol in water”. In: *Science of The Total Environment* 407.6 (2009), s. 2087–2092. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2008.11.018](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.018). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969708011339>.
- [248] Silvio Canonica, Laurence Meunier a Urs von Gunten. “Phototransformation of selected pharmaceuticals during UV treatment of drinking water”. In: *Water Research* 42.1-2 (2008), s. 121–128. ISSN: 00431354. DOI: [10.1016/j.watres.2007.07.026](https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.07.026). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135407005015>.
- [249] Rajib Roy Chowdhury, Paul Charpentier a Madhumita B. Ray. “Photodegradation of Estrone in Solar Irradiation”. In: *Industrial & Engineering Chemistry Research* 49.15 (2010-08-04), s. 6923–6930. ISSN: 0888-5885. DOI: [10.1021/ie901796x](https://doi.org/10.1021/ie901796x). URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ie901796x>.
- [250] Susanna K. Atkinson et al. “Environmental Factors Affecting Ultraviolet Photodegradation Rates and Estrogenicity of Estrone and Ethinylestradiol in Natural Waters”. In: *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 60.1 (2011), s. 1–7. ISSN: 0090-4341. DOI:

10.1007/s00244-010-9515-4. URL: <http://link.springer.com/10.1007/s00244-010-9515-4>.

- [251] Rajib Roy Chowdhury, Paul A. Charpentier a Madhumita B. Ray. “Photodegradation of 17 β -estradiol in aquatic solution under solar irradiation. Kinetics and influencing water parameters”. In: *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 219.1 (2011), s. 67–75. ISSN: 10106030. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2011.01.019. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1010603011000323>.
- [252] Heather M Coleman et al. “Photocatalytic degradation of 17- β -oestradiol on immobilised TiO₂”. In: *Applied Catalysis B: Environmental* 24.1 (2000), s. L1–L5. ISSN: 09263373. DOI: 10.1016/S0926-3373(99)00091-0. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926337399000910>.
- [253] H.M. Coleman et al. “Rapid loss of estrogenicity of steroid estrogens by UVA photolysis and photocatalysis over an immobilised titanium dioxide catalyst”. In: *Water Research* 38.14-15 (2004), s. 3233–3240. ISSN: 00431354. DOI: 10.1016/j.watres.2004.04.021. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135404002258>.
- [254] Erik J. Rosenfeldt a Karl G. Linden. “Degradation of Endocrine Disrupting Chemicals Bisphenol A, Ethinyl Estradiol, and Estradiol during UV Photolysis and Advanced Oxidation Processes”. In: *Environmental Science & Technology* 38.20 (2004-10-01), s. 5476–5483. ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es035413p. URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es035413p>.
- [255] Yanping Zhang a John L. Zhou. “Occurrence and removal of endocrine disrupting chemicals in wastewater”. In: *Chemosphere* 73.5 (2008), s. 848–853. ISSN: 00456535. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2008.06.001. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653508007546>.
- [256] Sibel Irmak, Oktay Erbatur a Aydin Akgerman. “Degradation of 17 β -estradiol and bisphenol A in aqueous medium by using ozone and ozone/UV techniques”. In: *Journal of Hazardous Materials* 126.1-3 (2005), s. 54–62. ISSN: 03043894. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2005.05.045. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389405003134>.
- [257] Rominder P.S. Suri et al. “Ultrasound assisted destruction of estrogen hormones in aqueous solution. Effect of power density, power intensity and reactor configuration”. In: *Journal*

- of Hazardous Materials* 146.3 (2007), s. 472–478. ISSN: 03043894. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2007.04.072](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.04.072). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389407005675>.
- [258] Enrico M. Saggiaro et al. “Endocrine Disruptor Degradation by UV/Chlorine and the Impact of Their Removal on Estrogenic Activity and Toxicity”. In: *International Journal of Photoenergy* 2019 (2019-05-08), s. 1–9. ISSN: 1110-662X. DOI: [10.1155/2019/7408763](https://doi.org/10.1155/2019/7408763). URL: <https://www.hindawi.com/journals/ijp/2019/7408763/>.
- [259] Qi Sun et al. “Removal Characteristics of Steroid Estrogen in the Mixed System through an Ozone-Based Advanced Oxidation Process”. In: *Water, Air, & Soil Pollution* 230.9 (2019). ISSN: 0049-6979. DOI: [10.1007/s11270-019-4275-x](https://doi.org/10.1007/s11270-019-4275-x). URL: <http://link.springer.com/10.1007/s11270-019-4275-x>.
- [260] Zacharias Frontistis et al. “Fast degradation of estrogen hormones in environmental matrices by photo-Fenton oxidation under simulated solar radiation”. In: *Chemical Engineering Journal* 178 (2011), s. 175–182. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2011.10.041](https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.10.041). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894711012800>.
- [261] Xianghua Feng et al. “Degradation of estrone in aqueous solution by photo-Fenton system”. In: *Science of The Total Environment* 345.1-3 (2005), s. 229–237. ISSN: 00489697. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2004.11.008](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.11.008). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969704007478>.
- [262] V. Maroga Mboula et al. “Photocatalytic degradation of estradiol under simulated solar light and assessment of estrogenic activity”. In: *Applied Catalysis B: Environmental* 162 (2015), s. 437–444. ISSN: 09263373. DOI: [10.1016/j.apcatb.2014.05.026](https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2014.05.026). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0926337314003026>.
- [263] Chhaya V. Rekhate a J.K. Srivastava. “Recent advances in ozone-based advanced oxidation processes for treatment of wastewater- A review”. In: *Chemical Engineering Journal Advances* 3 (2020). ISSN: 26668211. DOI: [10.1016/j.cej.2020.100031](https://doi.org/10.1016/j.cej.2020.100031). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2666821120300314>.
- [264] Xianfeng Huang et al. “Coupled Cu(II)-EDTA degradation and Cu(II) removal from acidic wastewater by ozonation. Performance, products and pathways”. In: *Chemical Enginee-*

- ring Journal* 299 (2016), s. 23–29. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2016.04.044](https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.04.044). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894716304831>.
- [265] Matej Čehovin et al. “Hydrodynamic cavitation in combination with the ozone, hydrogen peroxide and the UV-based advanced oxidation processes for the removal of natural organic matter from drinking water”. In: *Ultrasonics Sonochemistry* 37 (2017), s. 394–404. ISSN: 13504177. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2017.01.036](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.01.036). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417717300457>.
- [266] Sunita Raut-Jadhav et al. “Treatment of the pesticide industry effluent using hydrodynamic cavitation and its combination with process intensifying additives (H₂O₂ and ozone)”. In: *Chemical Engineering Journal* 295 (2016), s. 326–335. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2016.03.019](https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.03.019). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894716302492>.
- [267] Bo-Tao Zhang et al. “Application of percarbonate and peroxymonocarbonate in decontamination technologies”. In: *Journal of Environmental Sciences* 105 (2021), s. 100–115. ISSN: 10010742. DOI: [10.1016/j.jes.2020.12.031](https://doi.org/10.1016/j.jes.2020.12.031). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1001074220305271>.
- [268] Zhouwei Miao et al. “Enhancement effects of chelating agents on the degradation of tetrachloroethene in Fe(III) catalyzed percarbonate system”. In: *Chemical Engineering Journal* 281 (2015), s. 286–294. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2015.06.076](https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.06.076). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S138589471500916X>.
- [269] Xiaori Fu et al. “Enhanced degradation of benzene in aqueous solution by sodium percarbonate activated with chelated-Fe(II)”. In: *Chemical Engineering Journal* 285 (2016), s. 180–188. ISSN: 13858947. DOI: [10.1016/j.cej.2015.09.112](https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.09.112). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894715014047>.
- [270] Jingwen Huang, Chendong Puyang a He Guo. “Sodium Percarbonate Activation by Plasma-Generated Ozone for Catalytic Degradation of Dye Wastewater. Role of Active Species and Degradation Process”. In: *Catalysts* 12.7 (2022). ISSN: 2073-4344. DOI: [10.3390/catal12070681](https://doi.org/10.3390/catal12070681). URL: <https://www.mdpi.com/2073-4344/12/7/681>.
- [271] Hugo R. Sindelar, Mark T. Brown a Treavor H. Boyer. “Evaluating UV/H₂O₂, UV/percarbonate, and UV/perborate for natural organic matter reduction from alternative water sources”. In: *Chemosphere* 105 (2014), s. 112–118. ISSN: 00456535. DOI:

- 10.1016/j.chemosphere.2013.12.040. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653513017050>.
- [272] Shiyu Zuo et al. “An integrated microwave-ultraviolet catalysis process of four peroxides for wastewater treatment. Free radical generation rate and mechanism”. In: *Chemical Engineering Journal* 380 (2020). ISSN: 13858947. DOI: 10.1016/j.cej.2019.122434. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894719318376>.
- [273] Tao Zhang et al. “Efficient Peroxydisulfate Activation Process Not Relying on Sulfate Radical Generation for Water Pollutant Degradation”. In: *Environmental Science & Technology* 48.10 (2014-05-20), s. 5868–5875. ISSN: 0013-936X. DOI: 10.1021/es501218f. URL: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/es501218f>.
- [274] George Eisenberg. “Colorimetric Determination of Hydrogen Peroxide”. In: *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition* 15.5 (1943-05-18), s. 327–328. ISSN: 0096-4484. DOI: 10.1021/i560117a011. URL: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/i560117a011>.
- [275] S. Waclawek, K. Grübel a M. Černík. “Simple spectrophotometric determination of monoperoxysulfate”. In: *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 149 (2015), s. 928–933. ISSN: 13861425. DOI: 10.1016/j.saa.2015.05.029. URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1386142515006174>.
- [276] Charles W. Walker a John E. Watson. “Adsorption of Estrogens on Laboratory Materials and Filters during Sample Preparation”. In: *Journal of Environmental Quality* 39.2 (2010), s. 744–748. ISSN: 00472425. DOI: 10.2134/jeq2009.0017. URL: <http://doi.wiley.com/10.2134/jeq2009.0017>.
- [277] T. Perondi et al. “Degradation of estriol (E3) and transformation pathways after applying photochemical removal processes in natural surface water”. In: *Water Science and Technology* 82.7 (2020-10-01), s. 1445–1453. ISSN: 0273-1223. DOI: 10.2166/wst.2020.411. URL: <https://iwaponline.com/wst/article/82/7/1445/76330/Degradation-of-estriol-E3-and-transformation>.
- [278] László Varga a Jenő Szigeti. “Use of ozone in the dairy industry. A review”. In: *International Journal of Dairy Technology* 69.2 (2016), s. 157–168. ISSN: 1364727X. DOI: 10.1111/1471-0307.12302. URL: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1471-0307.12302>.

- [279] Xin Liu et al. “A review on percarbonate-based advanced oxidation processes for remediation of organic compounds in water”. In: *Environmental Research* 200 (2021). ISSN: 00139351. DOI: [10.1016/j.envres.2021.111371](https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111371). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0013935121006654>.
- [280] Mojca Zupanc et al. “Removal of pharmaceuticals from wastewater by biological processes, hydrodynamic cavitation and UV treatment”. In: *Ultrasonics Sonochemistry* 20.4 (2013), s. 1104–1112. ISSN: 13504177. DOI: [10.1016/j.ultsonch.2012.12.003](https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.12.003). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1350417712002775>.
- [281] Xinhui Xia et al. “A Review Study on Sulfate-Radical-Based Advanced Oxidation Processes for Domestic/Industrial Wastewater Treatment. Degradation, Efficiency, and Mechanism”. In: *Frontiers in Chemistry* 8 (2020-11-27). ISSN: 2296-2646. DOI: [10.3389/fchem.2020.592056](https://doi.org/10.3389/fchem.2020.592056). URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fchem.2020.592056/full>.
- [282] Ludong Yi et al. “Degradation of norfloxacin in aqueous solution using hydrodynamic cavitation. Optimization of geometric and operation parameters and investigations on mechanism”. In: *Separation and Purification Technology* 259 (2021). ISSN: 13835866. DOI: [10.1016/j.seppur.2020.118166](https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.118166). URL: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383586620326393>.
- [283] James R. Bolton et al. “Figures-of-merit for the technical development and application of advanced oxidation technologies for both electric- and solar-driven systems (IUPAC Technical Report)”. In: *Pure and Applied Chemistry* 73.4 (2001-04-01), s. 627–637. ISSN: 1365-3075. DOI: [10.1351/pac200173040627](https://doi.org/10.1351/pac200173040627). URL: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1351/pac200173040627/html>.

Seznam zkratek

AOP	pokročilé oxidační procesy (<i>Advanced Oxidation Processes</i>)
BF	biologická filtrace
BPA	bisfenol A
CECs	<i>Contaminants of Emerging Concern</i>
ČOV	čistírna odpadních vod
DBP	dibutyl-ftalát
DDT	1,1,1-trichlor-2,2-bisethan
DEET	diethyltoluamid
E1	estron
E2	17 β -estradiol
E3	estriol
ED	endokrinní disruptory
EE2	17 α -ethinylestradiol
EEM	<i>Electric Energy per Mass</i>
EEO	<i>Electric Energy per Order</i>
EPDM	ethylen-propylen-dien-monomer
ESI	ionizace elektrosprejem
HC	hydrodynamická kavitace
HFMF	membrána s dutými vlákny
LC	kapalinová chromatografie (<i>Liquid Chromatography</i>)
LED	<i>Light-Emitting Diode</i>
MBR	membránový bioreaktor
MF	membránová foltrace
MLD	limit detekce metody
MLQ	limit kvantifikace metody
MP	mikropolutanty
MRM	<i>Multiple Reaction Monitoring</i>
MS	hmotnostní spektrometrie (<i>Mass Spectrometry</i>)
NF	nanofiltrace
ND	není/nebylo detekováno
OV	odpadní voda
PBDE	polybromované difenylethery

PCB	polychlorované bifenyly
PMS	peroxomonosulfát
PS	persulfát
PTFE	polytetrafluoretylen
PVC	polyvinylchlorid
RF	reverzní osmóza
SBR	styren-butadien
SPE	extrakce na pevné fázi
UF	ultrafiltrace
US	ultrazvuk (<i>Ultrasound</i>)
UV	ultrafialové záření
ÚND	údaje nejsou k dispozici
VUV	<i>Vacuum Ultraviolet Light</i>
WHO	světová zdravotnická organizace
ŽP	životní prostředí

Seznam obrázků

1	Zařazení estrogenů do skupiny endokrinních disruptorů [14]	8
2	Pozorované koncentrace ($\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) jednotlivých skupin endokrinních disruptorů ve světě [14]	9
3	Struktury estrogenů E1, E2, E3 a EE2	10
4	Celosvětová distribuce estrogenů v říčních a povrchových vodách. Každý koláčový graf obsahuje přirozené estrogeny: E1, E2, E3 a syntetický EE2 jako procenta z celkového množství estrogenů detekovaném v dané lokalitě. (Na základě dat z obrázku 5 a 6) [16].	16
5	Vstupní údaje pro obrázek 4 (1/2): Hladiny estrogenu v povrchových vodách ($\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) na různých lokalitách [16].	17
6	Vstupní údaje pro obrázek 4 (2/2): Hladiny estrogenu v povrchových vodách ($\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) na různých lokalitách [16].	18
7	Celosvětová distribuce estrogenů na ČOV. Každý koláčový graf obsahuje přirozené estrogeny: E1, E2, E3 a syntetický EE2 jako procenta z celkového množství estrogenů detekovaném v dané lokalitě. (Na základě dat z obrázku 8) [16].	19
8	Vstupní údaje pro obrázek 7: Hladiny estrogenu na ČOV ($\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) na různých lokalitách [16].	20
9	Působení estrogenů v životním prostředí [46]	21
10	Negativní účinky estrogenů v životním prostředí na lidské zdraví [82]	25
11	Dva základní typy rektorů s využitím UV LED diod jakožto zdroje záření [169]	38
12	Závislost intenzity záření procházejícího vodou o transmitanci 94 % na vzdálenosti od zdroje záření (vypočteno z Lambert-Beerova zákona) [159].	44
13	Persulfátové soli [188]	46
14	Reakce štěpení persulfátu [155]	48
15	Kolaps kavitační bubliny v blízkosti volného povrchu [205, 206]	50
16	Výhody a nevýhody jednotlivých metod aktivace PS (převzato a upraveno z [188])	54
17	Chromatogram LC-MS/MS analýzy (kalibrační bod, $c = 300 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$)	65
18	Schematické znázornění kavitační jednotky	75

Seznam tabulek

1	Významní zástupci skupiny endokrinních disruptorů a jejich použití [7]	6
2	Fyzikálně chemické vlastnosti estrogenů [15]	11
3	Vybrané koncentrace estrogenů v zemědělství. ÚND = údaje nejsou k dispozici. [16]	12
4	Průměrné vylučování steroidních estrogenů člověkem (na osobu) $\mu\text{g} \cdot \text{den}^{-1}$. ÚND, údaje nejsou k dispozici. [16]	13
5	Výskyt přírodních estrogenů v ŽP v $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ [44]	14
6	Přípustný denní příjem estrogenů potravou pro člověka ($\mu \cdot \text{den}^{-1}$) [16]	26
7	Souhrn potenciálních rizik a úlohy jednotlivých estrogenů [45]	27
8	Účinnosti odstranění přírodních estrogenů na městských ČOV; SBR (<i>sequencing batch reactor</i>) vsádkový reaktor; BF biologická filtrace; MBR membránový bioreaktor ^a uvedeno jako minimum-maximum (průměr); ^b na základě tří různých ČOV; ^c na základě osmi různých ČOV; ^d na základě dvou různých ČOV; ^e na základě pěti různých ČOV; ⁿ na základě čtrnácti různých ČOV [90]	28
9	Účinnost biologického odstranění EE2 [131]	31
10	Účinnost odstranění EE2 pomocí membránových technologií [131]; ^a za optimalizovaných podmínek; HFMF membrána s dutými vlákny	32
11	Dělení UV záření podle vlnových délek [157, 158, 159]	36
12	Excimery a korespondující maxima emitovaného spektra [163]	37
13	Excimery a korespondující maxima emitovaného spektra [163]	37
14	Odstranění polutantů pomocí US/PS systému [188]	49
15	Odstranění polutantů pomocí HC/PS systému [188] (TCH = Tetracyklin hydrochlorid, PAHs = polyaromatické uhlovodíky)	52
16	Odstranění estrogenů z vod pomocí různých AOP [131]	59
17	Gradient HPLC separace	64
18	Nastavení detektoru	64
19	Retenční čas jednotlivých estrogenů a jejich MRM přechody	64
20	Validované parametry analytické metody; *k vyhodnocení byly použity vzorky obsahují $100 \text{ ng} \cdot \text{l}^{-1}$ jednotlivých estrogenů v kohoutkové vodě, počet měření $n = 6$	65
21	Výtěžnost (%) estrogenů na jednotlivých koncentračních úrovních a maticích (^a deionizovaná voda, ^b kohoutková voda)	66
22	Vlastnosti materiálů testovaných na sorpci/desorpci estrogenů	69
23	Rychlostní konstanty degradace estrogenů pomocí HC/H ₂ O ₂ ; $r > 0,97$	78

24	Rychlostní konstanty degradace estrogenů pomocí HC/SPC; $r > 0,97$	85
25	Rychlostní konstanty degradace estrogenů pomocí PS aktivovaného pomocí HC a HC + 60°C; $r > 0,97$	88

Seznam příloh

- Příloha 1 Rapid AOP method for estrogens removal via persulfate activated by hydrodynamic cavitation
- Příloha 2 New, fast and green approach of percarbonate activation using hydrodynamic cavitation and its application in estrogens removal
- Příloha 3 Adsorption and desorption of selected estrogens on materials commonly used in water sampling and sample handling
- Příloha 4 Anxiety in Duckweed–Metabolism and Effect of Diazepam on Lemna minor

Rapid AOP method for estrogens removal via persulfate activated by hydrodynamic cavitation

Petra Přibilová ^{1,2}, Klára Odehnalová ², Pavel Rudolf ³, František Pochylý ³, Štěpán Zezulka ², Eliška Maršáková ², Radka Opařilová ⁴, Blahoslav Maršálek ^{2,*}

- ¹ Institute of Chemistry and Technology of Environmental Protection, Faculty of Chemistry, Brno University of Technology, Purkynova 118, 612 00 Brno, Czech Republic; petra.pribilova@ibot.cas.cz
- ² Institute of Botany, Czech Academy of Sciences, Lidická 25/27, 602 00 Brno, Czech Republic; klara.odehnalova@ibot.cas.cz (K.O.); stepan.zezulka@ibot.cas.cz (Š.Z.); eliska.marsalkova@ibot.cas.cz (E.M.)
- ³ Brno University of Technology, Faculty of Mechanical Engineering, V. Kaplan Department of Fluid Engineering, Technická 2896/2, 61669 Brno, Czech Republic; rudolf@fme.vutbr.cz (P.R.); pochly@fme.vutbr.cz (F.P.)
- ⁴ Faculty of Pharmacy, Masaryk University, Žerotínovo nám. 1, 602 00 Brno, Czech Republic; opatri-lovar@pharm.muni.cz (R.O.)
- * Correspondence: marsalek@sinice.cz

Abstract: The production and use of manufactured chemicals have risen significantly in the last few decades. With interest in preserving and improving the state of the environment, there is also growing interest in new technologies for water purification and wastewater treatment. One frequently discussed technological group is advanced oxidation processes (AOPs). AOPs using sulphur-based radicals appear to reduce the volume of organic contaminants in wastewater significantly. The use of persulfate has excellent potential to successfully eliminate the number of emerging contaminants released into the environment. The main disadvantage of sulphur-based AOPs is the need for activation. We investigated an economically and environmentally friendly solution based on hydrodynamic cavitation, which does not require heating or additional activation of chemical substances. The method was evaluated for emerging contaminant removal research, specifically for the group of steroid estrogens. The mixture of estrone (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3) and 17 α -ethinylestradiol (EE2) was effectively eliminated and completely removed during a treatment which lasted just a few seconds. This novel method can be used in a broad spectrum of water treatment processes or as the intensification of reactions in chemical engineering technologies.

Citation: To be added by editorial staff during production.

Academic Editor: Firstname Last-name

Received: date

Accepted: date

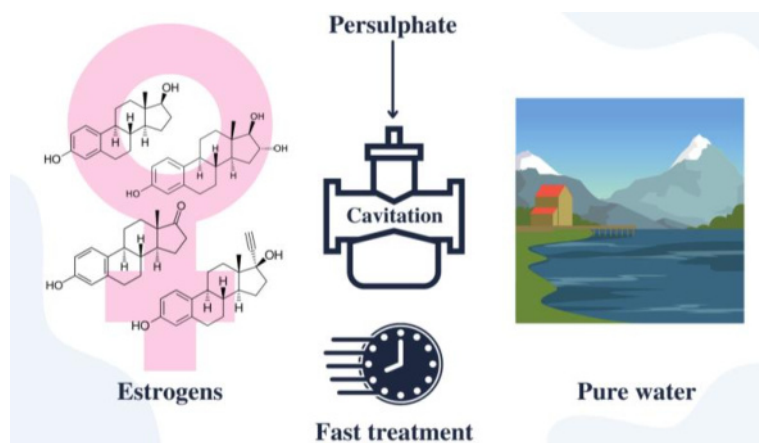
Published: date

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Graphical abstract:



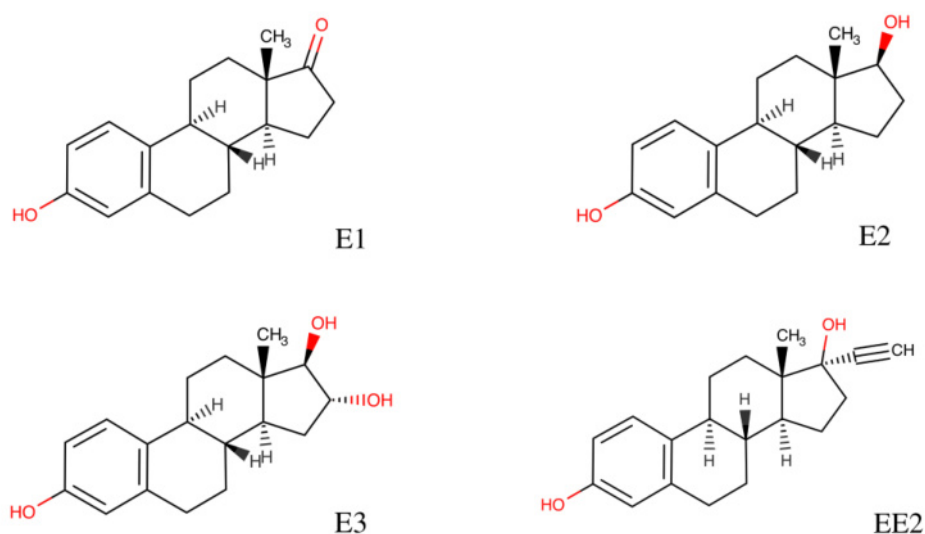
Keywords: Hydrodynamic cavitation, Advanced Oxidation Processes, Estrogens removal, Water Treatment, Persulfate activation

35

1. Introduction

36

Steroid estrogens are representatives of a group of pollutants called endocrine disruptors. Their increased environmental presence poses a potential risk to wildlife and human health, even at low concentrations. Estrogens are suspected of developing defects or diseases, such as reproduction dysfunction, metabolic diseases, cancer, and many others. The suggested link to increased numbers of patients with breast cancer – the most diagnosed cancer in women – is alarming [1]. Besides harming humans and animals, steroid estrogens also affect plant growth [2].

37
38
39
40
41
42
43

44

Figure 1: chemical structure of selected estrogens

45

The physical-chemical properties of these compounds play an essential role in predicting their fate in the environment. Estrogens are poorly soluble in water. The values of the octanol/water coefficient (K_{ow}) - defined as the ratio of the concentration of a compound in n-octanol and water under equilibrium conditions at a specific temperature - indicate a slightly hydrophobic behavior and thus a tendency to sorb to the solid phase and thus be retained in the environment. [3, 4].

46

47

48

49

50

51

Most estrogens are excreted from the body in the urine in conjugated form. These polar conjugates are biologically inactive and more soluble in water. Nevertheless, at the influent of the wastewater treatment plant, they are found primarily unconjugated estrogens indicating hydrolysis of the conjugates prior to entering the treatment plant caused by bacteria like *E.coli* [4].

52

53

54

55

56

The crucial factor in polluting the environment with these substances is inadequate wastewater treatment. Although there already are methods that can satisfactorily reduce concentrations of various pollutants entering the environment, their application in practice demands both technologically and economically. On the other hand, wastewater treatment research has been actively producing new technologies based on various mechanisms with various efficiency levels. Traditional Fenton and Fenton-like processes, ozonization, UV-based methods or other heterogenous photocatalyzed processes have been

57

58

59

60

61

62

63

studied, modified, and intensified for over two decades [5]. Significant development has been achieved in advanced oxidation processes (AOPs) based on highly reactive radicals.

Sulphate radical ($\text{SO}_4^{\bullet-}$) based AOPs play a significant role in advanced wastewater treatment development. Sulphate radicals are usually generated from persulfate (PS), supplied as $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$, or less commonly from peroxymonosulphate (PMS) in the form of $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$ [6]. It should be noted that the PS method is more cost-effective and, in practice, more user-friendly than PMS [7]. Sodium persulfate is a white crystalline compound highly soluble in water (73 g/100 g H_2O at 25°C [6,8], providing easy manipulation. Although PS is a powerful oxidant, some form of activation is needed to be used for pollutant degradation at a reasonable rate [7]. Many papers have already been published on PS activation; some introduce potentially environmentally responsible technologies, such as thermolysis or photolysis.

Heat- or UV-activated persulfate has a significant advantage as it does not require additional chemicals, thus being a potentially environmentally responsible technology. However, it is necessary to consider the cost and impact of using the electric energy needed for UV lamps or other additional energy to heat the system. Also, it must be recognized that heating is not economical since thermal heating has been classified as pollution, nor is it ecological [6] in recent literature. Table 1 lists some examples of PS activation methods.

Table 1: Examples of PS activation methods

Method	Pollutant	Efficiency	Commentary	Reference
UV and/or transition metals: Fe(II), Fe(III), Co(II), Ag(I)	2,4-dichlorophenol	99.9% within 4 hours	The high scavenging effect, possible inhibition by dissolved oxygen, secondhand water contamination with high concentrations of metal ions, prolonged reaction time	[9]
Iron-based nanoparticles (bimetallic zero valent nanoparticles) Fe/PS process	trichloroethylene	>99% in 20 s reaction time	High cost and potential environmental risk caused by nanoparticles	[10]
PS and PMS activation by electrophilic transition metal cations (Ag^+ and Co^{2+}), UV ($300 < \lambda < 400 \text{ nm}$) and/or heat ($T = 30^\circ\text{C}$)	microcystin-LR	~77% in 10 minutes	Best results achieved at lower pH (pH=3) and higher PS concentrations [PMS]/[MC-LR] molar ratio = 100	[11]
Magnetite nanoparticles/PS	norfloxacin	90% within 60 min	The concentration of PS 1 mM; dose of nanoparticles: 0.3 g L^{-1} ; adjusted pH = 4.0	[12]
TiO_2 /light/PS	acetaminophen	up to 100% in 9 hours, pH 9	High costs and complicated in practice (high dose of PS, pH adjustment, prolonged reaction time)	[13]
Phenols/PS	nitrobenzene	over 60% in 8 hours, pH 11.5	Addition of hazardous chemicals and the need for significant pH adjustment, prolonged reaction time	[14]
PS activated by quinones	PCBs	over 60% in 1 hour, over 80% in 2 hours	The mechanism of persulfate activation was primarily elucidated	[15]
PS activated by Fe^{2+}	diuron, ibuprofen and caffeine	>90% in 240 minutes	pH adjustment needed; kinetics model primarily evaluated	[16]

PS activated by nitrogen-modified carbon nanotubes	phenol	>90% under 30 minutes	Phenol concentration = 20 ppm; catalyst dose 0.2 g/L	[17]
PS/activated carbon	Azo dye (orange 7)	80% degradation and 50% mineralization in 5 h	The activation effectiveness decreased by adsorption of the pollutant on the catalyst	[18]
Thermally activated PS	59 volatile organic compounds	>90% in 72 hours	The best results were achieved in combination with 5 g l ⁻¹ of Na ₂ S ₂ O ₈ at 40 °C for 72 h	[19]
Thermally activated PS	antipyrine	80% removal within 2 h	Anaerobic conditions favoured degradation (20%)	[20]
UV/PS	sulfamethazine	>95% in 45 minutes	Photolysis (22.0%), persulfate oxidation (15.10%), UV/H ₂ O ₂ (87.5%) efficiencies were also investigated	[21]
UV/PS	cylindrospermopsin	>99% in 20 minutes	UV (less than 5%) and UV/H ₂ O ₂ (~20%) efficiencies were also investigated	[22]
UV/PS	2,4,6-trichloroanisole	>80% in 30 minutes	Mechanism and kinetics were primarily investigated	[23]
PS/sonolysis	carbamazepine	89.4% in 120 minutes, pH 3.0	PS and ultrasound efficiencies were also investigated; PS alone with less than 50% and ultrasound with less than 5%	[24]
PS/sonolysis	bisphenol A	>90% under 60 minutes	High temperatures enhanced sulfate radical formation but impeded sonochemical activity. By-products were also investigated	[25]

84

Both environmentally and economically sustainable methods are still needed in optimal wastewater treatment technology. The methods mentioned above are only effective to a certain extent and are associated with high time requirements. Experiments are usually performed within tens of minutes, sometimes up to two or three hours, once for days [9–30]. Such a time delay is difficult to achieve in actual life water treatment. Therefore, we present results with a time allowance of a few seconds and an efficiency comparable to or higher than previously published alternatives.

85
86
87
88
89
90
91

We studied hydrodynamic cavitation (HC) as a persulfate activation process, which is presented as an essential step in persulfate-based advanced oxidation processes (AOP). Hydrodynamic cavitation is based on lowering the pressure in the system, causing the formation of imploding bubbles and a local increase in temperature. The imploding process generates a shock wave with enough energy to produce radicals that are the basis of AOP [31, 32]. The main advantage is that there is no need for other added substances, no pH adjustment, significantly shorter treatment time (seconds) and saving energy (the system does not need to be heated, and cavitation can be provided just with the gravitation-based flow).

92
93
94
95
96
97
98
99
100

2. Materials and Methods

101

2.1 Chemicals and reagents

102

Estrone standards (E1; 99%); 17 β -estradiol (E2; 98%), estriol (E3; 98%) and 17 α -ethynylestradiol (EE2; 98%) were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). As internal standards for the quantification of estrogens, deuterated 17 β -estradiol (E2D) was used for the quantification of estrone, estradiol and estriol, and deuterated 17 α -ethynylestradiol (EE2D) for the quantification of ethynylestradiol cations, both purchased from

103
104
105
106
107

C/D/N Isotopes Inc. (Pointe-Claire, Quebec, Canada). Solvents methanol and acetonitrile for LC-MS and acetone for HPLC were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Ultra-purified distilled water was produced directly in the laboratory using a Millipore system (Merck KGaA, Darmstadt, Germany).

Formic acid was used as the mobile phase (0.7 mM), hydrochloric acid to adjust the pH of the samples before analysis, dansyl chloride (1 mg/ml in acetone) in the derivatization of estrogens to increase the sensitivity of the method, and sodium bicarbonate (100 mM; pH = 10.5) as a derivatization buffer.

In experiments, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ was purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA); KI and NaHCO_3 which was used in spectrophotometric determination of PS by Penta, s.r.o., (Czech Republic).

2.2 Experiment design

The experiments were performed on two litres of spiked water with an estrogen concentration of $300 \text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$ in the cavitation unit consisting of a tank, a pump, Venturi tube and control valves (Fig. 2). The unit operates in circulation mode at speed flow $0.45 \text{ L}\cdot\text{s}^{-1}$, inlet pressure 450 kPa and power of the pump 0.75 kW. The experiment was performed in three variants: (i) PS activation by HC, (ii) with thermal activation of persulfate (60°C) combined with HC and (iii) HC only.

The PS dose was chosen to be 0.1 mM in accordance with the available literature dealing with a similar topic with a low time requirement and a task to keep the dose at a reasonable level [12, 19-25, 31].

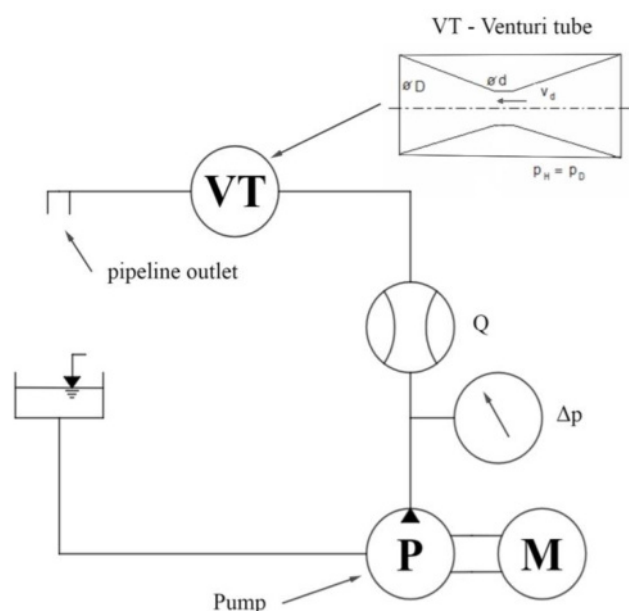


Figure 2: Design of laboratory cavitation equipment

Treated water was circulated through the system and sampled after 4, 8, 12 and 20 seconds of treatment (1, 2, 3 and 5 cycles through the system). The monitored parameters include pH, conductivity, persulfate and estrogen concentrations. With regard to future research, neither the ionic strength nor the pH of the solutions was adjusted in any way to minimize the operational steps, so the procedure was as economical as possible and potentially suitable for practical implementation. The pH, temperature and conductivity were measured

using a Combo pH/EC meter (Hanna, HI 98129). Since the sulfate radical is more stable and, therefore, it has a longer lifetime than the hydroxyl radical and its reaction rate is slower [33], after collection, the samples were untouched for 3 hours and 24 hours, so the degradation of destabilized molecules had sufficient time to take place.

2.3 Analytical method

The analytical method of estrogen analysis has already been published and described [34]. The sample was analyzed using the HPLC/MS (QQQ) system by Agilent Technologies, CA, USA. The column used for analysis was Poroshell 120 EC-C18 (2.1 x 100 mm, 2.7 μm); the mobile phase was a mixture of 7mM HCOOH and acetonitrile with a flow of 0.35 mL min⁻¹. In short, the pH of 50 mL of the sample was adjusted to pH = 3 ($\pm 0,2$), extracted with an SPE cartridge (Waters Oasis hydrophilic-lipophilic balance (HLB) cartridges) to 8 mL of methanol, dried, reconstituted in 20 μL of acetone, derivatized with dansyl chloride, dried again and dissolved in 1 mL of 40% methanol.

Spectrophotometric analysis was used to determine the persulfate concentration. 1 mL of reagent (KI/NaHCO₃) was added to 200 μL of the sample [35], and the sample was mixed well and allowed to react for 20 minutes in the dark. The reaction product was analyzed at 394 nm in a 96-well plate using a Spark™ multimode microplate reader (Tecan, Austria).

3. Results

All the experiments were performed using a persulfate concentration of 0.1 mM. In the first set, the system was activated by hydrodynamic cavitation only (without heating). As can be seen in Fig. 3, after only one cycle through the cavitation unit ($t = 4\text{s}$), the concentration of the estrogen mixture drops to approximately 60% of the initial concentration. After 24 hours, the concentration lowered to a fraction of the initial amount. Simultaneously, a decrease in persulfate content in the mixture was observed, confirming its consumption in estrogens removal (see Fig. 3B).

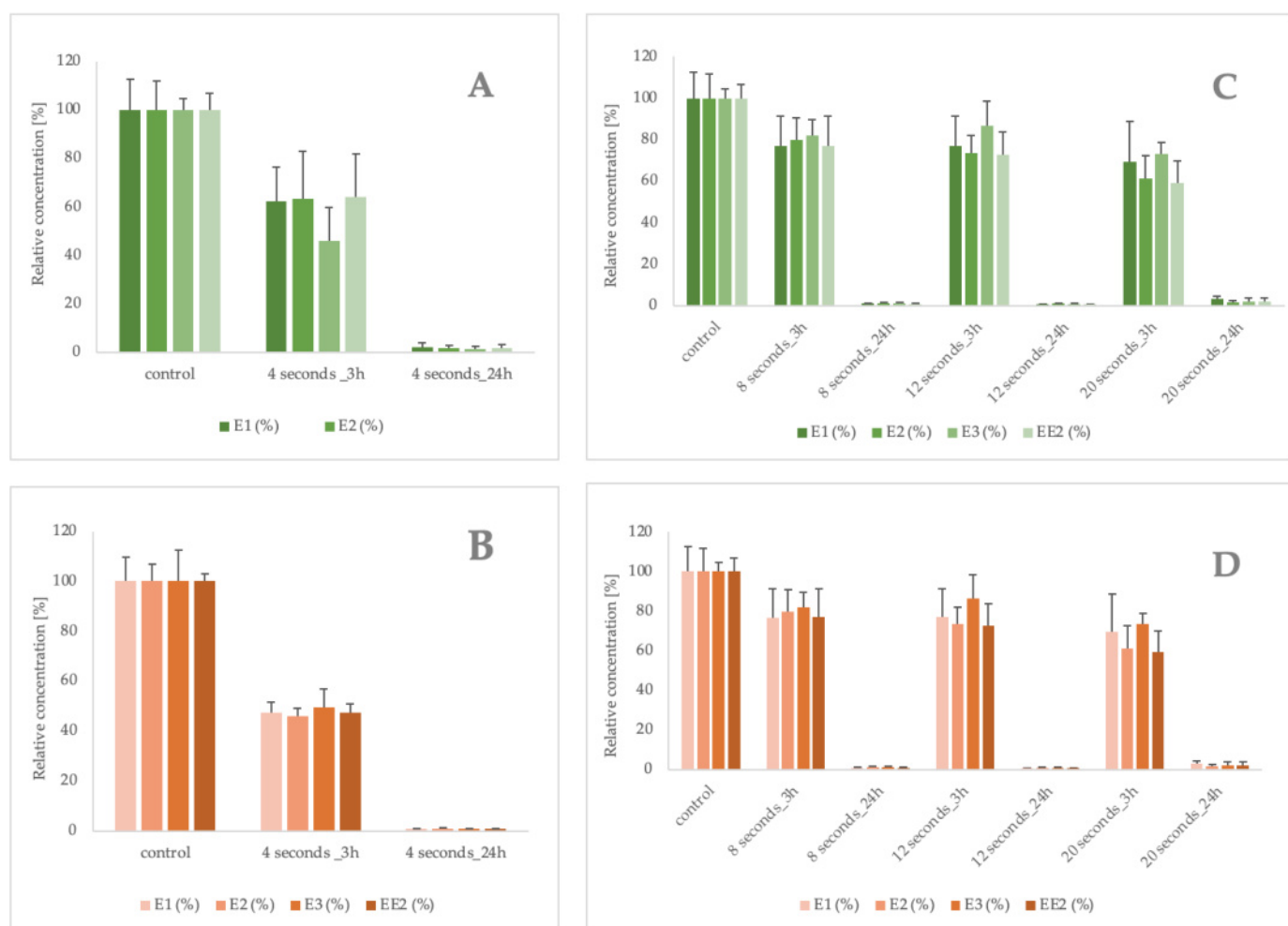


Figure 3: **3A.:** Relative concentration of estrogens after treatment with persulfate (0.1 mM) activated by HC; **3B.:** Relative concentration of estrogens after treatment with persulfate (0.1 mM) activated by HC combined with heat (60°C); **3C.:** Relative concentrations of estrogens treated with persulfate (0.1 mM) activated by HC (8, 12 and 20 s treatment) analyzed 3 and 24 hours after reaction; **3D.:** Relative concentrations of estrogens treated with persulfate (0.1 mM) activated by the combination of HC (8, 12 and 20 s treatment) and heat (60°C) analyzed 3 and 24 hours after the reaction

The second set of experiments was performed by combining heat and HC activation. The combined activation showed slightly less pronounced results three hours after treatment, but no significant difference was observed after 24 hours (Fig. 3B).

Although the most significant data obtained are related to a single flow through the cavitation device, degradation after 2, 3, and 5 cycles (8, 12, and 20 seconds) were also observed. Within 3 hours, post-reaction processes occurred, and more intensive estrogen removal was observed. However, after 24 hours, these differences disappeared, and PS activated by hydrodynamic cavitation destroyed 95–99% of selected estrogenic compounds, similar to the PS activated by HC and 60°C heating (compare Fig. 3C and Fig. 3D).

The graphical results are supported by the calculation of the rate constants in Table 2. Based on the kinetic model of pseudo-first order, degradation constants (k) of estrogens were calculated according to Formula 1:

$$-\ln\left(\frac{C_t}{C_0}\right) = k \times t, \quad (1)$$

163

164

165

166

167

168

169

170

171

172

173

174

175

176

177

178

179

180

181

where c_0 and c_t represent the initial concentration and concentration at time t (min), respectively [32, 36].

Table 2: The pseudo-first-rate constants of estrogens degradation; $r > 0.97$.

Conditions	k_{E1} (min ⁻¹)	k_{E2} (min ⁻¹)	k_{E3} (min ⁻¹)	k_{EE2} (min ⁻¹)
PS 0.1 mM + HC	1,24	1,51	0,94	1,62
PS 0.1 mM (heat activated 60°C) + HC	1,15	1,40	1,68	1,54

PS concentration was also monitored during the experiments. The results show that only about half of the dosed PS was needed, and there is room for possible dose reduction. Also, no significant difference in PS concentrations was observed between the set with and without thermal activation.

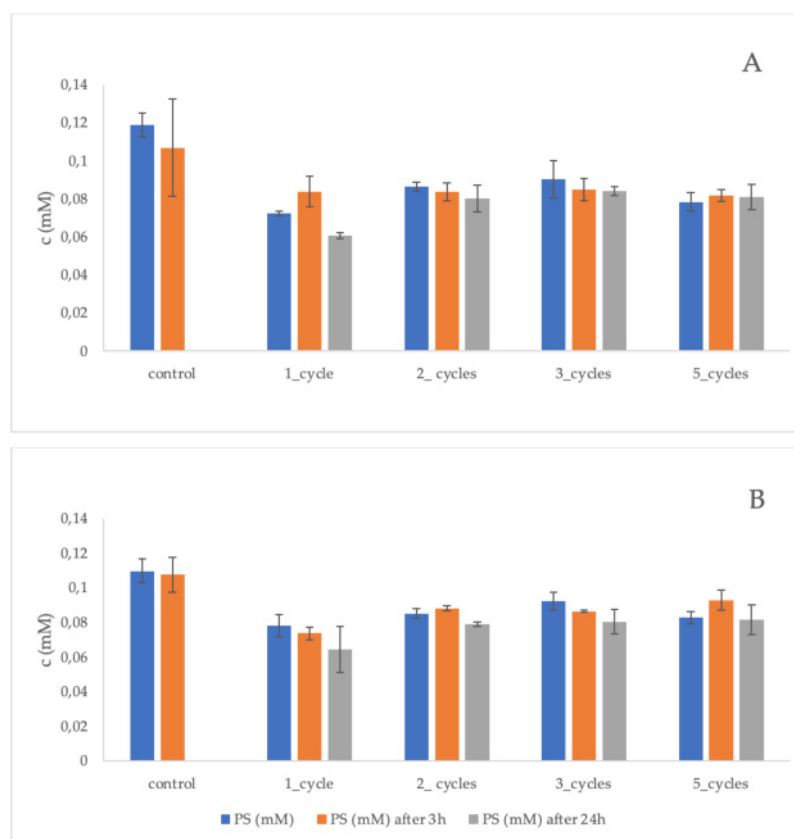
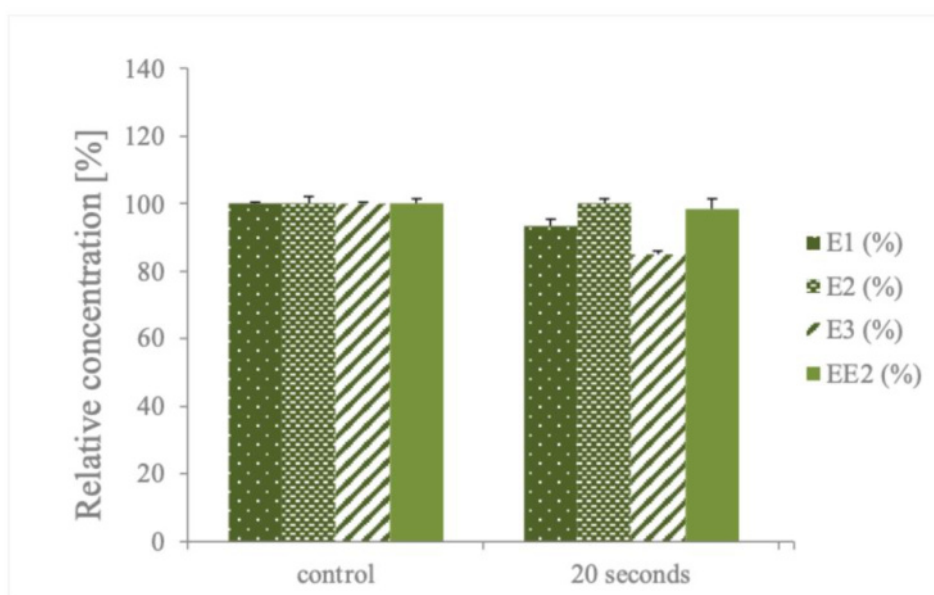


Figure 4: 4A.: Concentration of PS after treatment with PS (0.1 mM) activated by HC; 1, 2, 3 and 5 cycles through the unit corresponding with 4, 8, 12 and 20 seconds of treatment 4B.: Concentration of PS after treatment with PS (0.1 mM) activated by HC combined with heat (60°C); 1, 2, 3 and 5 cycles through the unit corresponding with 4, 8, 12 and 20 seconds of treatment

To evaluate the effect of HC alone, a set of experiments was performed without added PS. Figure 5 shows that HC alone does not eliminate estrogens and only acts as a tool to activate PS.



199

Figure 5: Relative concentration of estrogens after treatment with HC only.

200

Simultaneously, the pH value was monitored for all samples. It can be seen that the pH value decreases slightly with an increasing number of cycles (longer reaction time). This phenomenon is possibly caused by the formation of sulphates in the aqueous solution [37]. This trend was observed for both the HC-only and HC-heat-activated sets. However, even in this case, no difference was observed between the two variants.

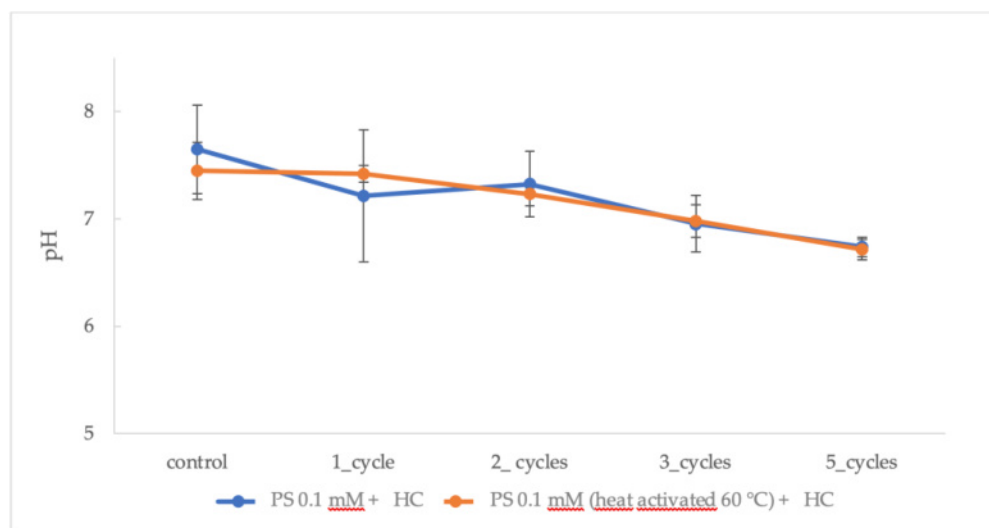
201

202

203

204

205



206

Figure 6: pH levels of samples after treatment with PS (0.1 mM) activated by HC; 1, 2, 3 and 5 cycles through the unit corresponding with 4, 8, 12 and 20 seconds of treatment; and after treatment with PS (0.1 mM) activated by HC combined with heat (60°C); 1, 2, 3 and 5 cycles through the unit corresponding with 4, 8, 12 and 20 seconds of treatment

207

208

209

210

For the purpose of cost comparison of some advanced oxidation processes, electricity consumption can be used [33]. Electric energy per mass (E_{EM}) and Electric energy per order (E_{EO}) were reported to be useful for calculating of different types of treatment [38, 39]. When contaminant concentrations are greater than $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, the E_{EM} should be applied, while

211

212

213

214

the E_{EO} should be applied when contamination concentrations are less than $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. To calculate treatment costs for the estrogen's concentrations ($300 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$) E_{EO} was selected. E_{EO} values ($\text{kWh}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{order}^{-1}$) were calculated using the following Formula 2 [38].

$$E_{EO} = \frac{P_{HC} \times t \times 1000}{\log\left(\frac{c_i}{c_f}\right) \times V}, \quad (2)$$

where P_{HC} is the rated power of the pump (kW) in the HC system, t is the treatment time (h), c_i and c_f are the initial and final concentrations ($\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) of each estrogen and V is the reaction volume (L).

Calculated values in $\text{kWh}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{order}^{-1}$ for PS 0.1 mM activated by HC, 4 s long treatment are $E_{EO}(\text{E1}) = 2.02$; $E_{EO}(\text{E2}) = 2.10$ $E_{EO}(\text{E3}) = 1.12$ and $E_{EO}(\text{EE2}) = 2.15$. In the case of PS 0.1 mM activated by the combination of HC and heat, the energy of external heating depending on the heating source must be considered, so the formula cannot be applied. Obviously, the energy consumption is much higher in heat combined activation than in the case of HC activation.

4. Discussion

Our experiment setup is unique in the short time needed for the actual treatment and proves no need for additional system heating. For comparison, the study performed on wastewater to eliminate frequently occurring pharmaceuticals using PS was accomplished at increased temperatures of 55, 64 and 75°C . To achieve at least a 50% decrease in the concentration of the monitored drugs, the wastewater had to be heated up to 75°C and allowed to react for 50 minutes (PS concentration $\leq 500 \text{ }\mu\text{M}$) [30].

Other studies focusing on eliminating estrogens by AOP produced results in reducing concentration, summarised in Table 3 [26].

Table 3: Estrogen removal based on AOP with focus on PS-based AOP

Method	Estrogen	Efficiency	Reference
Fenton oxidation	EE2 ($200 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	100% in 10 minutes	[27]
Photo-Fenton	E2 ($272 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	86.4% in 8 hours	[28]
Photo-Fenton	E2 ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	98% in 60 minutes	[29]
PS/modified Fenton-like process	E2 ($6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	100% in 90 minutes	[30]
PS/UV	E1, E2 and EE2 ($5 \text{ }\mu\text{M}$)	over 95% in 5 minutes	[31]
UVC/PS/ TiO_2 (on ceramic membrane)	E2 and EE2 ($100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	uder 45% (radiation time 4.6 s)	[40]
PS activated on nanoscale zero-valent iron loaded porous graphitized biochar	E2 ($3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	100% in 45 minutes	[41]
PS/visible light/ $\text{Bi}_2\text{WO}_6/\text{Fe}_3\text{O}_4$	E2 ($5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	~70% in 60 minutes	[42]
PS activated by reduced graphene oxide–elemental silver/magnetite nanohybrids	EE2 ($10 \text{ }\mu\text{M}$)	~90% in 15 minutes	[43]
PS/ultrasound	E2 ($5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	over 90% in 90 minutes	[44]

PS/ultrasound	E1, E2, E3 and EE2 (17-239 ng·L ⁻¹), real wastewater sample	over 95% in 10 minutes	[45]
PS/HC	E1, E2, E3 and EE2 (300 µg·L ⁻¹)	99% in 4 seconds treatment	This study

238

Although these methods show promising efficiencies and some even in a relatively short time, Fenton-like oxidations are specific for the relatively high amount of waste and the demand for added chemicals and/or energy; for example, to eliminate EE2 200 µg·L⁻¹ within 10 minutes, 5 mg·L⁻¹ of Fe²⁺ and 8.6 mg·L⁻¹ of H₂O₂ is needed [26].

239

240

241

242

Promising results were observed in literature; using UV-activated PS ($c = 40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 50% of the E2 concentration was removed in deionized water within 5 minutes. However, in natural wastewater, it was necessary to increase the concentration of PS to 200 mg·L⁻¹ to achieve similar results [47]. Similar results were observed in a study degrading E1, E2 and EE2 (5 µM) in 5 minutes (PS dose 5 mM, pH = 6, UV-B) [31]. UV-based activation of PS has shown to be fast and effective. The main disadvantage in comparison to PS/HC system is the need of a UV source, which represents extra operation costs.

243

244

245

246

247

248

249

Also, heating activation was performed to eliminate the common pharmaceutical drug ibuprofen –the temperature required to achieve the half-life of 3.6 minutes (initial concentration 20.36 µM) was 70°C [48]. When using a PS concentration of 2 mM and 50°C temperature conditions, more than 360 minutes were required to remove at least 50% of the sulfamethoxazole. For other sulfonamides, at least six minutes were required to halve the initial concentration [9].

250

251

252

253

254

255

Another drug, the antibiotic chloramphenicol, was degraded by combining PS/UV. The experiments were performed under natural conditions, and complete elimination was achieved within 1 hour [50]. Similarly time-consuming is the successful degradation of the beta-blocker bisoprolol, which requires thermal activation of PS for at least 60°C and a contact time of 1 hour [51]. A study combining thermal and UV activation on municipal wastewater, achieved E2 removal of over 90% within an hour [52].

256

257

258

259

260

261

Based on the available literature, it is assumed that SO₄^{•-} and HO[•] radicals are involved in removing estrogens by HC-activated PS [45,52]. HC-based treatment has also been reported to promote the generation of HO₂[•] and O₂^{•-} radicals [53, 54]. Nevertheless SO₄^{•-} and HO[•] are significantly stronger oxidants than HO₂[•] and O₂^{•-} [53].

262

263

264

265

The positive synergy of PS and HC has already been proven on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments removing PAH by 79% in 60 min [39], our set-up proves the ability of HC-activated PS effectively eliminate estrogens in a short time, even on a flow-through-like system.

266

267

268

269

Since AOPs represent a large number of various processes they are difficult to compare with each other from different points of view. Based on E_{EO} values, AOP can be classified into three groups:

270

271

272

- < 1 kWh·m⁻³·order⁻¹ for representing a realistic range for full-scale application,
- 1–100 kWh·m⁻³·order⁻¹ for, a group that is possibly too energy intensive for most practical applications but still can be recommended for further full-scale-application investigation,

273

274

275

276

- $> 100 \text{ kWh}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{order}^{-1}$, that is considered as not (yet) energy efficient [55].

Our results show that the PS activated by HC should be classified in group 2. Nevertheless, the financial complexity of AOP processes is highly dependent on operating costs. Here, it is necessary to think about the equipment's lifespan. For comparison, this can be a limiting factor in PS activation in frequently used UV lamps (with a lifespan of around 12000 h) and other UV-based AOPs. Also, compared to similarly operating ultrasonic activation, HC has been reported to be 10 times more efficient in the means of electricity consumption [56].

The above examples show that heating, adding additional chemicals, and/or UV radiation is required to eliminate estrogens or other drugs using PS-based AOPs successfully. Compared to using hydrodynamic cavitation as PS activation, all these processes require higher initial costs and high operating costs, whether in the form of rising energy prices or input chemicals. With the increasing demand for environmental responsibility, there is a growing need for functional "green" technologies, and cavitation activation has the potential to become an example of such technology.

5. Conclusions

We demonstrated that selected estrogens could be effectively eliminated from water during a short treatment time - within seconds. Venturi tube cavitation is an easy-to-install and easy-to-use economically and environmentally friendly technique compared to other known AOP (PS/AOP) alternatives. Based on the presented results, it can be assumed that cavitation acts as persulfate activation. Its main advantage is that it requires neither adding/dosing other substances into the treated water nor heating it, as opposed to methods described in earlier papers. This method can be used in a broad spectrum of water treatment processes or to intensify reactions in chemical engineering technologies. Calculated values of E_{EO} can be used for further comparison with other similar techniques and scale-up.

A lab-scale experiment, which proved the efficiency of PS activation, was conducted in this study. Pilot or other scale-up experiments are required to assess the different processes' efficacy on real wastewater fully. Still, the short treatment time (4 seconds), estrogens removal rate 99% and flow rate of this lab-scale equipment $4.5 \text{ m}^3\cdot\text{h}^{-1}$ proved that this novel technology for removing estrogenic compounds is promising.

Author Contributions: Conceptualization, B.M. and P.P.; methodology, P.P., K.O., E.M. and B.M.; validation, K.O. and B.M.; formal analysis, P.P. and K.O.; investigation, P.P. and K.O.; resources, B.M. and R.O.; data curation, P.P., K.O. and Š.Z.; writing—original draft preparation, P.P.; writing—review and editing, P.P., K.O., E.M., Š.Z. and B.M.; visualization, P.P.; supervision, B.M. and R.O.; project administration, B.M., P.R. and F.P.; funding acquisition, B.M. and R.O. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Czech Science Foundation through Project No. 19-10660S "Removal of estrogens from waste water using hydrodynamic cavitation in combination with advanced oxidation processes".

Data Availability Statement: Not applicable

Acknowledgments: This work was supported by project FCH-S-22-8001 of Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Lecomte, S. Emerging Estrogenic Pollutants in the Aquatic Environment and Breast Cancer. *Genes*, **2017**, *8*(9). Available at: <https://doi.org/10.3390/genes8090229>
2. Adeel, M. Uptake and transformation of steroid estrogens as emerging contaminants influence plant development. *Environmental pollution*, **2018**, *243*, pp.1487-1497. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.09.016>
3. Hamid, H.; Eskicioglu, C. Fate of estrogenic hormones in wastewater and sludge treatment. A review of properties and analytical detection techniques in sludge matrix. *Water Research*, **2012**, pp. 5813–5833. Available at: [10.1016/j.watres.2012.08.002](https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.08.002).
4. Jones-Lepp, T. L.; Stevens, R.. Pharmaceuticals and personal care products in biosolids/sewage sludge. the interface between analytical chemistry and regulation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2007**, pp. 1173–1183. I Available at: [10.1007/s00216-006-0942-z](https://doi.org/10.1007/s00216-006-0942-z).
5. R. Munter, Advanced oxidation processes - current status and prospects, in: Proceedings of the Estonian Academy of Science. *Chemistry*, **2001**, *50*, pp.59–80.
6. Ike, I.A. Critical review of the science and sustainability of persulphate advanced oxidation processes. *Chemical Engineering Journal*, **2018**, *338*, pp.651-669. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.01.034>
7. Zhang, T. Efficient Peroxydisulfate Activation Process Not Relying on Sulfate Radical Generation for Water Pollutant Degradation, **2014**, *48*(10), pp.5868-5875. Available at: <https://doi.org/10.1021/es501218f>
8. FMC, Persulfates technical information, in, FMC Corporation, Available online: http://www.peroxychem.com/media/90826/aod_brochure_persulfate.pdf 2001 (accessed on 3. 3. 2022)
9. Anipsitakis, G.P.; Dionysiou, D.D. Transition metal/UV-based advanced oxidation technologies for water decontamination. *Applied Catalysis B: Environmental*, **2004**, *54*(3), pp.155-163. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2004.05.025>
10. Al-Shamsi, M.A., Thomson, N.R. & Forsey, S.P. Iron based bimetallic nanoparticles to activate peroxygens. *Chemical Engineering Journal*, **2013**, *232*, pp.555-563. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2013.07.109>
11. Antoniou, M.G., de la Cruz, A.A. & Dionysiou, D.D. Degradation of microcystin-LR using sulfate radicals generated through photolysis, thermolysis and e⁻ transfer mechanisms. *Applied Catalysis B: Environmental*, **2010**, *96*(3-4), pp.290-298. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2010.02.013>
12. Ding, D. et al.. Mechanism insight of degradation of norfloxacin by magnetite nanoparticles activated persulfate: Identification of radicals and degradation pathway. *Chemical Engineering Journal*, **2017**, *308*, pp.330-339. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.09.077>
13. Lin, J.C.-T. et al. Degradations of acetaminophen via a K₂S₂O₈ -doped TiO₂ photocatalyst under visible light irradiation. *Chemosphere*, **2016**, *155*, pp.388-394. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.059>
14. Ahmad, M., Teel, A.L. & Watts, R.J. Mechanism of Persulfate Activation by Phenols, **2013**, *47*(11), pp.5864-5871. Available at: <https://doi.org/10.1021/es400728c>
15. Fang, G. et al. Activation of Persulfate by Quinones: Free Radical Reactions and Implication for the Degradation of PCBs. *Environmental Science & Technology*, **2013**, *47*(9), pp.4605-4611. Available at: <https://doi.org/10.1021/es400262n>
16. Rodriguez, S., Santos, A. & Romero, A. Oxidation of priority and emerging pollutants with persulfate activated by iron: Effect of iron valence and particle size. *Chemical Engineering Journal*, **2017**, *318*, pp.197-205. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.06.057>
17. Sun, H. et al. Catalytic oxidation of organic pollutants on pristine and surface nitrogen-modified carbon nanotubes with sulfate radicals. *Applied Catalysis B: Environmental*, **2014**, *154-155*, pp.134-141. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2014.02.012>
18. Yang, S. et al. Activated carbon catalyzed persulfate oxidation of Azo dye acid orange 7 at ambient temperature. *Journal of Hazardous Materials*, **2011**, *186*(1), pp.659-666. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.11.057>
19. Huang, K.-C. et al. Degradation of volatile organic compounds with thermally activated persulfate oxidation. *Chemosphere*, **2005**, *61*(4), pp.551-560. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.02.032>
20. Tan, C. et al.. Degradation of antipyrine by heat activated persulfate. *Separation and Purification Technology*, **2013**, *109*, pp.122-128. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.03.003>
21. Gao, Y.-qiong et al. Ultraviolet (UV) light-activated persulfate oxidation of sulfamethazine in water. *Chemical Engineering Journal*, **2012**, *195-196*, pp.248-253. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.04.084>
22. He, X., de la Cruz, A.A. & Dionysiou, D.D. Destruction of cyanobacterial toxin cylindrospermopsin by hydroxyl radicals and sulfate radicals using UV-254nm activation of hydrogen peroxide, persulfate and peroxymonosulfate. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, **2013**, *251*, pp.160-166. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2012.09.017>
23. Luo, C. et al. Oxidation of the odorous compound 2,4,6-trichloroanisole by UV activated persulfate: Kinetics, products, and pathways. *Water Research*, **2016**, *96*, pp.12-21. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.03.039>
24. Wang, S. & Zhou, N. Removal of carbamazepine from aqueous solution using sono-activated persulfate process. *Ultrasonics Sonochemistry*, **2016**, *29*, pp.156-162. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2015.09.008>
25. Darsinou, B. et al. Sono-activated persulfate oxidation of bisphenol A: Kinetics, pathways and the controversial role of temperature. *Chemical Engineering Journal*, **2015**, *280*, pp.623-633. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.06.061>
26. Frontistis, Z. Fast degradation of estrogen hormones in environmental matrices by photo-Fenton oxidation under simulated solar radiation. *Chemical Engineering Journal*, **2011**, *178*, pp.175-182. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.10.041>

323
324
325
326
327
328
329
330
331
332
333
334
335
336
337
338
339
340
341
342
343
344
345
346
347
348
349
350
351
352
353
354
355
356
357
358
359
360
361
362
363
364
365
366
367
368
369
370
371
372
373
374
375
376
377
378
379
380
381

27. Feng, X. Degradation of estrone in aqueous solution by photo-Fenton system. *Science of The Total Environment*, **2005**, 345(1-3), pp.229-237. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.11.008>
28. Mboula, V.M. Photocatalytic degradation of estradiol under simulated solar light and assessment of estrogenic activity. *Applied Catalysis B: Environmental*, **2015**, 162, pp.437-444. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2014.05.026>
29. Yaping, Z.; Jiangyong, H. Photo-Fenton degradation of 17 β -estradiol in presence of α -FeOOHR and H₂O₂. *Applied Catalysis B: Environmental*, **2008**, 78(3-4), pp.250-258. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2007.09.026>
30. Zhang, P. Catalytic degradation of estrogen by persulfate activated with iron-doped graphitic biochar: Process variables effects and matrix effects. *Chemical Engineering Journal*, **2019**, 378. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.122141>
31. Gabet, A. et al. Hydrogen peroxide and persulfate activation using UVA-UVB radiation: Degradation of estrogenic compounds and application in sewage treatment plant waters. *Journal of Hazardous Materials*, **2021**, 405. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124693>
32. Gagol, M.; Przyjazny, A.; Boczkaj, G. Wastewater treatment by means of advanced oxidation processes based on cavitation – A review. *Chemical Engineering Journal*, **2018**, 338, pp.599-627. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2018.01.049>
33. Yi, L. et al. Degradation of norfloxacin in aqueous solution using hydrodynamic cavitation: Optimization of geometric and operation parameters and investigations on mechanism. *Separation and Purification Technology*, **2021**, 259. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.118166>
34. Sadílek, J. Comparison of extraction techniques for isolation of steroid oestrogens in environmentally relevant concentrations from sediment. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **2016**, 96(11), pp.1022-1037. Available at: <https://doi.org/10.1080/03067319.2016.1232718>
35. Waclawek, S.; Grübel, K.; Černík, M. Simple spectrophotometric determination of monopersulfate. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, **2015**, 149, pp.928-933. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.05.029>
36. Perondi, T. et al. Advanced oxidative processes in the degradation of 17 β -estradiol present on surface waters: kinetics, byproducts and ecotoxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, **2020**, 27(17), pp.21032-21039. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08618-2>
37. Xia, X. et al. A Review Study on Sulfate-Radical-Based Advanced Oxidation Processes for Domestic/Industrial Wastewater Treatment: Degradation, Efficiency, and Mechanism. *Frontiers in Chemistry*, **2020**, 8. Available at: <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.592056>
38. Bolton, J.R. et al. Figures-of-merit for the technical development and application of advanced oxidation technologies for both electric- and solar-driven systems (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, **2001**, 73(4), pp.627-637. Available at: <https://doi.org/10.1351/pac200173040627>
39. Hung, C.-M. et al. Hydrodynamic cavitation activation of persulfate for the degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments. *Environmental Pollution*, **2021**, 286. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.117245>
40. Castellanos, R.M. et al. Ultrafiltration ceramic membrane as oxidant-catalyst/water contactor to promote sulfate radical AOPs: a case study on 17 β -estradiol and 17 α -ethinylestradiol removal. *Environmental Science and Pollution Research*, **2022**, 29(28), pp.42157-42167. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11356-021-14806-5>
41. Ding, J. et al. Activation of persulfate by nanoscale zero-valent iron loaded porous graphitized biochar for the removal of 17 β -estradiol: Synthesis, performance and mechanism. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2021**, 588, pp.776-786. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.11.111>
42. Liu, Y. et al. Feasible oxidation of 17 β -estradiol using persulfate activated by Bi₂WO₆/Fe₃O₄ under visible light irradiation. *RSC Advances*, **2016**, 6(83), pp.79910-79919. Available at: <https://doi.org/10.1039/C6RA18391C>
43. Park, C.M. et al. Heterogeneous activation of persulfate by reduced graphene oxide–elemental silver/magnetite nanohybrids for the oxidative degradation of pharmaceuticals and endocrine disrupting compounds in water. *Applied Catalysis B: Environmental*, **2018**, 225, pp.91-99. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.11.058>
44. Alvarez Corena, J.R. & Bergendahl, J.A. Effect of pH, temperature, and use of synergistic oxidative agents on the ultrasonic degradation of tris-2-chloroethyl phosphate, gemfibrozil, and 17 β estradiol in water. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **2021**, 9(1). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.105005>
45. Choi, J. et al. Hybrid reactor based on hydrodynamic cavitation, ozonation, and persulfate oxidation for oxalic acid decomposition during rare-earth extraction processes. *Ultrasonics Sonochemistry*, **2019**, 52, pp.326-335. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.12.004>
46. Domingues, E. et al. Sulfate radical based advanced oxidation processes for agro-industrial effluents treatment: A comparative review with Fenton's peroxidation. *Science of The Total Environment*, **2022**, 832. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155029>
47. Angkaew, A. UV-activated persulfate oxidation of 17 β -estradiol: Implications for discharge water remediation. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, **2019**, 7(2). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.102858>
48. Ghauch, A.; Tuqan, A.M.; Kibbi, N. Ibuprofen removal by heated persulfate in aqueous solution: A kinetics study. *Chemical Engineering Journal*, **2012**, 197, pp.483-492. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.05.051>
49. Ji, Y., Thermo activated persulfate oxidation of antibiotic sulfamethoxazole and structurally related compounds. *Water Research*, **2016**, 87, pp.1-9. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2015.09.005>
50. Ghauch, A., Contribution of persulfate in UV-254 nm activated systems for complete degradation of chloramphenicol antibiotic in water. *Chemical Engineering Journal*, **2017**, 317, pp.1012-1025. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.02.133>

-
51. Ghauch, A.; Tuqan, A.M. Oxidation of bisoprolol in heated persulfate/H₂O systems: Kinetics and products. *Chemical Engineering Journal*, **2012**, *183*, pp.162-171. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2011.12.048> 442
443
 52. Sakulthaew, C. Removal of 17 β -Estradiol Using Persulfate Synergistically Activated Using Heat and Ultraviolet Light. *Water Air and Soil Pollution*, **2020**, *231*(5). Available at: <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04571-5> 444
445
 53. Joshi, S.M. & Gogate, P.R. Intensification of industrial wastewater treatment using hydrodynamic cavitation combined with advanced oxidation at operating capacity of 70 L. *Ultrasonics Sonochemistry*, **2019**, *52*, pp.375-381. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2018.12.016> 446
447
448
 54. Zhang, Q. et al. A novel ternary MQDs/NCDs/TiO₂ nanocomposite that collaborates with activated persulfate for efficient RhB degradation under visible light irradiation. *New Journal of Chemistry*, **2021**, *45*(3), pp.1327-1338. Available at: <https://doi.org/10.1039/D0NJ05640E> 449
450
451
 55. Miklos, D.B. et al. Evaluation of advanced oxidation processes for water and wastewater treatment – A critical review. *Water Research*, **2018**, *139*, pp.118-131. Available at <https://doi.org/10.1016/j.watres.2018.03.042> 452
453
 56. Gogate, P.R. Cavitation reactors for process intensification of chemical processing applications: A critical review. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, **2008**, *47*(4), pp.515-527. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2007.09.014> 454
455
456

Environmental Pollution

New, fast and green approach to percarbonate activation using hydrodynamic cavitation and its application in estrogens removal

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	ENVPOL-D-22-06977
Article Type:	Research Paper
Section/Category:	Soil, water, sediment, plant, biochar
Keywords:	: hydrodynamic cavitation, estrogen, sodium percarbonate activation, water treatment, organic pollutants
Corresponding Author:	Blahoslav Marsalek Institute of Botany Czech Academy of Sciences Brno, CZECH REPUBLIC
First Author:	Klára Odehnalová
Order of Authors:	Klára Odehnalová Petra Přibilová Eliška Maršálková Štěpán Zezulka, Dr. František Pochylý Pavel Rudolf Blahoslav Marsalek
Abstract:	<p>The paper introduces a novel approach to sodium percarbonate (SPC) activation using hydrodynamic cavitation (HC). The method's efficiency was demonstrated by removing estrogens, pollutants with adverse impact on human health and the health of aquatic ecosystems. The effects of the concentration of the oxidant (SPC), the temperature of the solution, and cavitation time were evaluated. After SPC/HC treatment, the removal of estrogens was monitored by LC-MS/MS. The results proved that after 4s of HC treatment, the removal of selected estrogenic compounds reached 97% at the SPC of 80 mg/L (corresponding to 20 mg/L of H_2O_2). The effect of temperature and the SPC dosage was negligible in all cases. The results were confirmed by evaluating estrogens degradation rate constants which fitted pseudo-first-order. In conclusion, the combination of SPC and HC appears to be a promising approach for the rapid degradation of micropollutants like estrogenic compounds without the need for any additional sample handling, such as pH or temperature adjustment.</p>
Suggested Reviewers:	<p>Treavor Boyer, Prof.Dr. thboyer@asu.edu His research is broadly focused on water sustainability, and spans drinking water and wastewater treatment,</p> <p>Mojca Zupanic mojca.zupanc@fs.uni-lj.si Working with cavitation: the fate of various contaminants Combining hydrodynamic cavitation with other AOPs: plasma, ozonation, catalysis, photocatalysis for treatment of wastewaters and waste sludge</p> <p>Guo He heguo@njfu.edu.cn Activation of AOP processes</p> <p>Matevž Dular matevz.dular@fs.uni-lj.si Cavitation, Erosion, Computational Fluid Dynamics</p> <p>Yuxian Wang yuxian.wang@cup.edu.cn</p>

Highlights:

- A novel method of sodium percarbonate activation by hydrodynamic cavitation
- Fast, effective, and environmentally-friendly removal of estrogens
- Practical technology capable of treating tens of m³ per hour
- The method is applicable to a broad spectrum of organic pollutants

1 **New, fast and green approach to percarbonate activation using hydrodynamic**
2 **cavitation and its application in estrogens removal**

3
4 **Authors:** Klára Odehnalová^a, Petra Přibilová^{a,c}, Eliška Maršálová^a, Štěpán Zezulka^a,
5 František Pochylý^b, Pavel Rudolf^b, Blahoslav Maršálek^{a,*}

6
7 **Authors' affiliation addresses:** klara.odehnalova@ibot.cas.cz; petra.pribilova@ibot.cas.cz;
8 eliska.marsalkova@ibot.cas.cz; stepan.zezulka@ibot.cas.cz; pochyly@fme.vutbr.cz;
9 rudolf@fme.vutbr.cz; blahoslav.marsalek@ibot.cas.cz

10

11 **Affiliations:**

12 ^a Institute of Botany, Czech Academy of Sciences, Lidická 25/27, 60200 Brno, Czech
13 Republic

14 ^b Brno University of Technology, Faculty of Mechanical Engineering, V. Kaplan Department
15 of Fluid Engineering, Technická 2896/2, 61669 Brno, Czech Republic

16 ^c Institute of Chemistry and Technology of Environmental Protection, Faculty of Chemistry, Brno
17 University of Technology, Purkyňova 118, 612 00 Brno, Czech Republic

18 * Corresponding author. Institute of Botany, Czech Academy of Sciences, Lidická 25/27,
19 60200 Brno, Czech Republic. *Email address:* sinice@sinice.cz

20

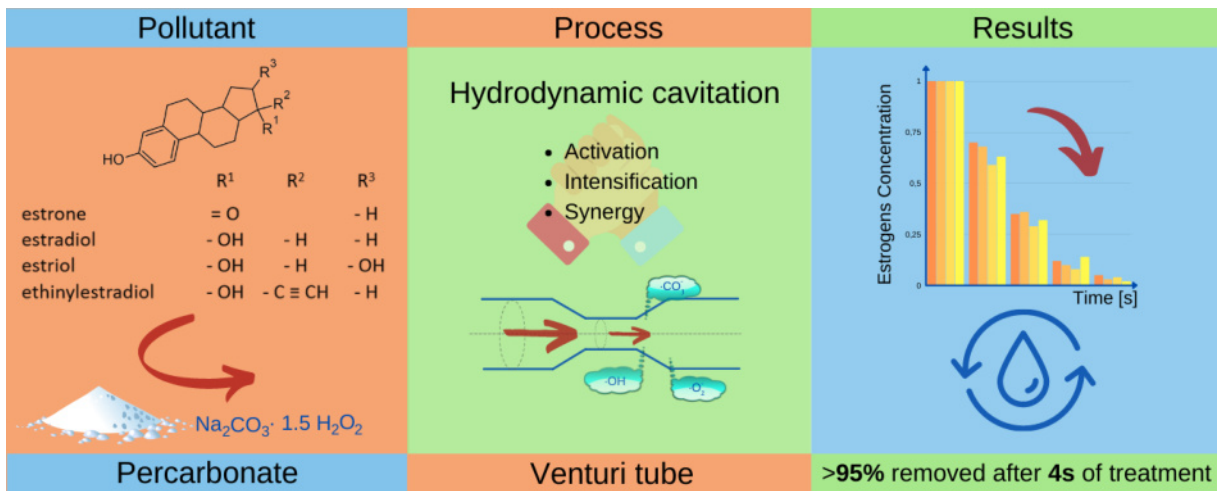
21 **Highlights:**

- 22
- A novel method of sodium percarbonate activation by hydrodynamic cavitation
 - Fast, effective, and environmentally-friendly removal of estrogens
 - Practical technology capable of treating tens of m³ per hour
 - The method is applicable to a broad spectrum of organic pollutants
- 23
24
25

26 **Keywords:** hydrodynamic cavitation, estrogen, sodium percarbonate activation, water
27 treatment, organic pollutants

28

29 **Graphical Abstract**



30

31 **Abstract**

32 The paper introduces a novel approach to sodium percarbonate (SPC) activation using
33 hydrodynamic cavitation (HC). The method's efficiency was demonstrated by removing
34 estrogens, pollutants with adverse impact on human health and the health of aquatic ecosystems.
35 The effects of the concentration of the oxidant (SPC), the temperature of the solution, and
36 cavitation time were evaluated. After SPC/HC treatment, the removal of estrogens was
37 monitored by LC-MS/MS. The results proved that after 4s of HC treatment, the removal of
38 selected estrogenic compounds reached 97% at the SPC of 80 mg/L (corresponding to 20 mg/L
39 of H_2O_2). The effect of temperature and the SPC dosage was negligible in all cases. The results
40 were confirmed by evaluating estrogens degradation rate constants which fitted pseudo-first-
41 order. In conclusion, the combination of SPC and HC appears to be a promising approach for
42 the rapid degradation of micropollutants like estrogenic compounds without the need for any
43 additional sample handling, such as pH or temperature adjustment.

44 **1. Introduction**

45 Estrogens such as naturally occurring estrone (E1), 17 β -estradiol (E2), and estriol (E3), as
46 well as the synthetic 17 α -ethinylestradiol (EE2), belong among contaminants that are of
47 particular environmental concern (Barreiros et al. 2016, Kuster et al. 2004, Kuster et al. 2008,
48 Meffe and de Bustamante 2014). They represent one group of so-called endocrine-disrupting
49 chemicals (EDCs), compounds altering the function of the endocrine system, and consequently
50 have adverse health effects on intact organisms even at ng/L levels (Vilela, Bassin and Peixoto
51 2018, Lafont and Mathieu 2007, Adeel et al. 2017, Pessoa et al. 2014). Therefore, the European
52 Decision E.U. 2015/495 included E1, E2, and EE2 in the "watch-list" of the Water Framework
53 Directive (E.U.). Estrogens enter the environment through incomplete sewage discharge and
54 animal waste disposal (Tiedeken et al. 2017, Atkinson et al. 2012, Sarmah et al. 2006). As the
55 conventional methods of estrogens removal fail, other processes, including sorption, membrane
56 filtration, biodegradation, photolysis, and advanced oxidation processes (AOPs), have been
57 investigated (Silva, Otero and Esteves 2012, Pereira et al. 2012, Rosenfeldt et al. 2007).

58 Recently, the AOPs have been used in advanced water treatment processes as an efficient,
59 rapid, and simple technology. During AOPs, oxygen radicals such as hydroxyl radicals (\cdot OH)
60 are formed, as highly reactive and unselective species, in a quantity sufficient to oxidize the
61 majority of organic pollution present (Miklos et al. 2018). These technologies involve different
62 methods of activation and can potentially utilize several diverse mechanisms. The AOPs could
63 be broadly classified into chemical (e.g. O₃, H₂O₂, persulfate), photolytic (e.g. UV/oxidant or
64 UV/photocatalyst), electrochemical (e.g. TiO₂ electrodes), catalytic (e.g. Fenton process), and
65 physical (e.g. ultrasound, plasma discharge, microwave). Each of these particular techniques
66 has its benefits and drawbacks, like the formation of toxic by-products or micropollutants,
67 which can have similar or increased toxicity relative to the parent compounds (Tufail et al.
68 2021). Thus, to overcome the drawbacks or increase the efficiency of pollution degradation, the

69 use of combinations of different mechanisms is advantageous (Silva et al. 2012, Tufail, Price
70 and Hai 2020). In addition to effectiveness, the operational costs, sustainability, and general
71 feasibility are definitely of great importance.

72 Sodium percarbonate (SPC, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 1.5 \text{H}_2\text{O}_2$), as a solid carrier of H_2O_2 , acts similarly but
73 has several advantages compared to the liquid phase. Its main benefits are that it is stable and
74 safe to handle, environmentally acceptable – without toxic residues, effective in a wide pH
75 range, and relatively low cost (Ma et al. 2020, Zhang et al. 2021). In addition, SPC
76 decomposition products (CO_3^{2-} and HCO_3^-) can act as a buffer for an undesired pH decrease.
77 Although SPC can directly decompose various pollutants, catalyst or energy activation
78 enhances the degradation efficiency. In an activated SPC system, hydroxyl, superoxide and
79 carbonate radicals are generated (Zhang et al. 2021). For SPC activation, various chemicals like
80 transition metal ions, ozone, and FeOCl (Miao et al. 2015, Fu et al. 2016, Guo et al. 2021) and
81 physical approaches such as discharge plasma (Wang et al. 2018, Tang et al. 2019), UV light
82 (Sindelar, Brown and Boyer 2014), microwaves (Wang et al. 2018, Tang et al. 2019, Sindelar
83 et al. 2014, Zuo et al. 2020) were tried. To date, nobody investigated the possibility of
84 hydrodynamic cavitation (HC) to activate SPC. HC belongs to the up-and-coming physical
85 methods of AOPs (Panda, Saharan and Manickam 2020, Dular et al. 2016, Zupanc et al. 2013,
86 Marsalek et al. 2020). Combining HC with other AOPs is a novel approach and offers several
87 advantages, such as higher degradation efficiencies, cost-effectiveness, and a reduction in
88 chemicals utilized which means lower environmental impact.

89 This paper studies the degradation of estrogens using SPC activated by HC. We hypothesised
90 that hydrodynamic cavitation can dissolve and activate the SPC without any further activation
91 by heating or adding chemicals. Such a process should be more economically convenient and
92 environmentally acceptable. The work focuses on optimising the new treatment technology for

93 removing organic micropollutants in treated wastewater, especially on the effects of SPC
94 dosage, the number of cavitation cycles (time), and the temperature.

95 **2. Materials and methods**

96 *2.1. Chemicals and Materials*

97 Standard compounds of estrone ($\geq 99\%$), 17β -estradiol ($\geq 98\%$), estriol ($\geq 98\%$) and 17α -
98 ethinylestradiol ($\geq 98\%$), as well as all solvents and reagents, were purchased from Sigma-
99 Aldrich (St. Louis, MO, USA). Internal standard 17β -estradiol- d_4 and 17α -ethinylestradiol- d_4
100 were acquired from C/D/N Isotopes Inc. (Pointe-Claire, Quebec, Canada). All standards were
101 prepared in HPLC grade methanol. Methanol, acetonitrile and acetone (HPLC grade), formic
102 acid, hydrochloric acid, sodium percarbonate (sesquihydrate, avail. H_2O_2 20-30%), titanium
103 (IV) oxysulfate – sulfuric acid solution, dansyl chloride and sodium bicarbonate were used.

104 *2.2. Degradation experiments*

105 The experiments were carried out on an HC reactor (Fig. 1) which consisted of a holding tank,
106 a pump, a venturi tube, and control valves, operated in circular mode at a flow velocity of
107 0.45 L/s. The tank was filled with 2 L of the aqueous solution containing 300 ng/L of each
108 estrogen. The SPC in concentrations of 80 and 200 mg/L was added. Neither the ionic strength
109 nor the pH of the solutions were adjusted to minimize operating steps so that the procedure
110 remained economical and suitable for practical implementation. The pH value, temperature and
111 conductivity were measured by the Combo pH/EC meter (Hanna, HI 98129). After collection,
112 the samples were left to stand for 3 and 24 hours before the LC-MS/MS analysis.

113 The degradation constants (k) of estrogens were obtained by fitting the data to the kinetic
114 model of pseudo-first-order $-\ln(C_t/C_0) = k.t$ (Sun et al. 2019, Perondi et al. 2020). C_0 and C_t
115 represent here the initial and actual concentrations at time t min, respectively, and k is the
116 constant rate of pseudo-first-order.

117 *2.3. Solid Phase Extraction and Derivatization*

118 The estrogens were extracted from water samples using SPE Oasis® HLB (500 mg, 6 mL)
119 cartridges (Waters, Milford, MA) according to Sadilek et al. (Sadilek et al. 2016) with slight
120 changes. The cartridges were conditioned using 5 mL of methanol followed by 5 mL of Milli-
121 Q water. A portion of 50 mL of acidified samples ($\text{pH} = 3.0 \pm 0.2$) was fortified with a mixture
122 of internal standards (50 μL , 100 ng/L) and extracted under vacuum at a flow rate of
123 approximately 5 mL/min. Afterwards, the sample holders were rinsed with 5 mL of distilled
124 water and dried under vacuum suction for 20 min. Once extraction was completed, analytes
125 were eluted with 8 mL of methanol and dried under a gentle nitrogen stream at 40°C. The dried
126 extract was reconstituted in 20 μL of acetone, and then 50 μL of sodium bicarbonate buffer
127 (100 mM, $\text{pH} = 10.5$) and 50 μL of dansyl chloride (1 mg/mL, in acetone) was added. The
128 reaction mixture was vortexed and tempered at 60°C for 5 min. After cooling to the laboratory
129 temperature, the mixture was dried under a gentle nitrogen stream at 55°C. The samples were
130 then reconstituted in 1 mL of methanol:water mixture (40:60; v/v) and filtered through syringe
131 filters (nylon; 0.45 μm) before analysis.

132 *2.4. LC-MS/MS Analysis*

133 In this study, the Agilent 1260 Infinity high-performance liquid chromatography system
134 (Agilent Technologies, CA, USA) combined with the Agilent 6460 TripleQuad mass
135 spectrometer (Agilent Technologies, CA, USA) equipped with electrospray ionization interface
136 (ESI) were used for estrogens quantification. The separation was achieved using Poroshell 120
137 EC-C18 (2.1 x 100 mm; 2.7 μm) fitted with a security guard column of the same packing
138 material (Agilent Technologies, CA, USA). The mobile phase A and B consisted of formic acid
139 (7 mM) and acetonitrile, respectively. A gradient raising the acetonitrile from 50% to 100% in
140 10 minutes, then held for 1 min, was used. The flow rate was 350 $\mu\text{L}/\text{min}$, and the injection
141 volume was 10 μL . Mass data were acquired using MassHunter Workstation software (Agilent
142 Technologies, CA, USA) multiple reaction monitoring (MRM) in the positive mode. The

143 detector settings were: capillary voltage 3500 V, nozzle voltage 2000 V, gas temperature (N₂)
144 200°C, gas flow 10 mL/min, nebulizer 50 psi, sheath gas temperature (N₂) 350°C, sheath gas
145 flow 10 ml/min. For the quantification and qualification of the estrogen, MRM transitions of
146 protonated dansyl-derivatives to 171 and 156 were used.

147 *2.5. Content of hydrogen peroxide*

148 The colorimetric method previously described was used to determine the content of hydrogen
149 peroxide (Eisenberg 1943). This method is based on a specific reaction between hydrogen
150 peroxide and titanyl ions, giving a yellow complex of pertitanic acid with absorption maxima
151 at 407 nm. The sample was mixed with the titanium reagent in a ratio of 2:1 (sample:reagent,
152 v/v), and the absorbance was measured using a SparkTM multimode microplate reader (Tecan,
153 Austria).

154 *2.6. Statistical analysis*

155 Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 7.04 (GraphPad Software Inc., CA,
156 USA). A t-test was used to determine the differences between individual groups of samples. A
157 probability level of $p < 0.05$ was considered statistically significant. All data are represented as
158 mean \pm SD of relative concentrations (related to the initial concentration).

159

160 **3. Results and discussion**

161 *3.1. Effect of SPC dosage*

162 We assessed the estrogen removal using two concentrations of SPC, at 80 and 200 mg/L,
163 which correspond to 20 and 50 mg/L of H₂O₂. The effect of the SPC dosage on estrogen
164 degradation is graphically illustrated in Fig. 2. It is evident from Fig. 2 that a higher
165 concentration of SPC increased the rate of estrogen degradation, especially with prolonged
166 cavitation time. With increasing cavitation time from 4s to 20s, the estrogen degradation went
167 from 31% to 62% once 80 mg/L of SPC was added. Furthermore, the degradation increased

168 from 47% to 90% when 200 mg/L of SPC was used. The observation was supported by
169 comparing degradation constants (see Table 1). The increase of the amount of SPC more than
170 doubled the corresponding kinetic constants. As SPC was used for estrogen removal for the
171 first time in this study, we compared our results with a similar concentration of liquid H₂O₂
172 used by other authors. For example, Perondi et al. (Perondi et al. 2020) employed a combination
173 of H₂O₂ (15 mg/L) and UV to remove E2 from surface water, and they obtained constants that
174 were 100 times lower than those reached in our experiments. They removed 89% of E2 during
175 a 60 min treatment. In another study, Sun et al. (Sun et al. 2019) combined H₂O₂ (0.7 mg/L)
176 with 2.5 mg of O₃ to remove E1, E2 and E3. They generated ozone from high-purity oxygen
177 and reached estrogen removal efficiency of 89.7%, 84.5%, and 90.5% for E1, E2, and E3 after
178 10 min treatment with reaction rate constants of 0.18, 0.22, and 0.24, respectively. Our
179 experiments achieved 90% removal using 200 mg/L of SPC (equal to 50 mg/L of H₂O₂)
180 in 20 s treatment without any ozone needed.

181 *3.2.Effect of temperature*

182 Liu et al. stated in their review (Liu et al. 2021) that temperature is a key parameter affecting
183 the efficiency of the SPC-activated system. Therefore, we examined the effect of temperature
184 on SPC activation. Our results showed no significant impact on estrogen removal when the
185 solution of SPC was heated to 60°C and combined with HC (Fig. 2). Similarly, the observation
186 was confirmed by the values of the rate constants, which increased moderately with increased
187 temperature. However, the differences between the individual rate constants ranged from 0.45
188 to 1.72. In contrast, Ma et al. (Ma et al. 2018) found that sole SPC is highly affected by
189 increased temperature. They observed that as the temperature increased from 4°C to 30°C, the
190 peroxide rate constants increased by two orders of magnitude (from $8.26 \cdot 10^{-3}$ to $7.69 \cdot 10^{-1} \text{ h}^{-1}$).
191 The difference we observed can be most probably explained by the fact that during the process
192 of hydrodynamic cavitation, high local temperatures (up to 5000 K) occur; thus, the difference

193 in solution temperature is negligible (Zupanc et al. 2013). Moreover, the duration of our whole
194 process is so short, as it took place in units of tens of seconds, and thus, it was not affected by
195 the temperature of the solution.

196 *3.3.Effect of reaction time after SPC/HC treatment*

197 Our study examined the effect of subsequent degradation reactions after SPC/HC, where the
198 estrogen content was evaluated after standing for 24 hours in laboratory conditions. As shown
199 in Fig. 2, the process of estrogens degradation continued over time, and their concentration was
200 subsequently reduced to 5% or less of the initial one. Correspondingly, we observed a sharp
201 decrease in peroxide content (Fig. 3) which dropped dramatically after 24h. Moreover, after
202 24h of post-treatment time using 80 mg/L of SPC and 4s of cavitation, we detected only trace
203 estrogen concentrations (near the limit of quantification) or even no estrogens using LC-
204 MS/MS. These results highlighted the importance of post-treatment processes. It is rarely
205 discussed that molecules like pharmaceuticals, or estrogenic compounds, as in this case, do not
206 need any further treatment or energy, which is problematic for economic or ecological reasons,
207 but need the post-reaction time to degrade substances successfully.

208 *3.4.SPC activation*

209 Sodium percarbonate, calcium percarbonate, or peroxymonocarbonate are per-oxo
210 substances, which are used in chemical engineering, or water treatment as oxidizing substances.
211 Most commonly, the SPC is used as a solid carrier of hydrogen peroxide because it is considered
212 safer to transport and store, has lower explosive potential than liquid hydrogen peroxide, is
213 suitable for longer storage, and is an environmentally friendly oxidant. It is particularly
214 important for one practical reason: SPC can react in a wide range of pH compared to a broad
215 spectrum of different Fenton-like reactions. The practical use of SPC is supported by the fact
216 that carbonate radicals boost a multi-ROS process, where reactions can generate superoxide
217 radicals, singlet oxide, or hydroxyl radicals (Li et al. 2021).

218 Even SPC can react with pollutants directly, dominantly due to hydrogen peroxide, to reach the
219 maximum effect of SPC oxidation potential, activated SPC enhance decomposing potential,
220 which is why appropriate SPC activation is recommended. Two types of SPC activation can be
221 differentiated: i) homogenous and ii) heterogeneous. Homogenous activation is based on direct
222 contact with reactants, typically activated by increased temperature, UV, ozone, microwave,
223 ultrasound, or discharge plasma activation (Liu et al. 2021). Heterogenous activation requires
224 the addition of other chemicals, dominantly based on transition metal ions, especially iron. The
225 forms of iron ions depend on the technology used and vary from ferrate (Fe^{6+}), through $\text{Fe}^{2+/3+}$
226 used in modified Fenton reactions up to NZVI (nano zero-valent iron), see (Liu et al. 2021).
227 Recently, the degradation of sulfamethazine via the activation of 157 mg/l SPC by 500 mg/l
228 chalcopyrite (CuFeS_2) was published (Li et al. 2021). The concentration of SPC used in their
229 study was two times higher than the concentration used in our study. Moreover, the chalcopyrite
230 used in the concentration of 500 mg/l can contaminate water with copper. Hydrodynamic
231 cavitation (HC) is a novel way of homogenous activation of SPC, which does not need any
232 chemicals or expensive activation like ozone, UV, or heating. HC provides the opportunity to
233 treat realistic volumes of water (the outlet of wastewater treatment plants in tens m^3/h). HC, in
234 combination with hydrogen peroxide, provides synergic effects (Marsalek et al. 2020) and
235 represents a promising tool for the intensification of AOP reactions, particularly for the cheap
236 and environmentally friendly activation of SPC for organic pollutants removal.

237

238 **4. Conclusions**

239 We proposed a new approach to SPC activation via hydrodynamic cavitation and
240 demonstrated its usefulness for the simultaneous degradation of four estrogens: E1, E2, E3 and
241 EE2 in an aqueous solution. By the synergistic action of these two AOP methods, more than
242 95% of the investigated pollutants were removed within the 20s HC treatment using 200 mg/L

243 of SPC. The experimental results indicated that the proposed treatment method was independent
244 of the solution temperature. All tested estrogens compete to react with the generated radicals
245 because the individual reaction constants were similar. The proposed process is a promising
246 technique for the effective removal of estrogens from an aqueous solution. The advantage of
247 our proposed activation is its low operating costs compared to other combinations such as the
248 heating of the solution. In addition, this method does not require any additional chemicals, e.g.
249 to adjust pH or increase efficiency, so it does not pose an additional burden on the environment.
250 Hydrodynamic cavitation can treat large volumes of water, which is important for any practical
251 applications thus we expect that this practical and environmentally safe technology can help
252 clean waters, for example, as the tertial treatment.

253

254 **Declaration of competing interest**

255 The authors declare that they have no known competing financial interests or personal
256 relationships that could have influenced the work reported in this paper.

257

258 **Acknowledgement**

259 This work was supported by the Czech Science Foundation [Project No. 19-10660S].

260

261 **References**

- 262 Adeel, M., X. M. Song, Y. Y. Wang, D. Francis & Y. S. Yang (2017) Environmental impact of estrogens on
263 human, animal and plant life: A critical review. *Environment International*, 99, 107-119.
- 264 Atkinson, S. K., V. L. Marlatt, L. E. Kimpe, D. R. S. Lean, V. L. Trudeau & J. M. Blais (2012) The occurrence
265 of steroidal estrogens in south-eastern Ontario wastewater treatment plants. *Science of the Total
266 Environment*, 430, 119-125.
- 267 Barreiros, L., J. F. Queiroz, L. M. Magalhaes, A. M. T. Silva & M. A. Segundo (2016) Analysis of 17-beta-
268 estradiol and 17-alpha-ethinylestradiol in biological and environmental matrices - A review.
269 *Microchemical Journal*, 126, 243-262.
- 270 Dular, M., T. Griessler-Bulc, I. Gutierrez-Aguirre, E. Heath, T. Kosjek, A. K. Klemencic, M. Oder, M.
271 Petkovsek, N. Racki, M. Ravnkar, A. Sarc, B. Sirok, M. Zupanc, M. Zitnik & B. Kompare (2016) Use of
272 hydrodynamic cavitation in (waste)water treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 29, 577-588.
- 273 E.U., E. c. Commission implementing decision (EU) 2015/495 of 20 March 2015 establishing a watch
274 list of substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive
275 2008/105/EC of the European Parliament and of the Council.
- 276 Eisenberg, G. (1943) Colorimetric Determination of Hydrogen Peroxide. *Industrial & Engineering
277 Chemistry Analytical Edition*, 15, 327-328.
- 278 Fu, X. R., X. G. Gu, S. G. Lu, M. H. Xu, Z. W. Miao, X. Zhang, Y. C. Zhang, Y. F. Xue, Z. F. Qiu & Q. Sui
279 (2016) Enhanced degradation of benzene in aqueous solution by sodium percarbonate activated with
280 chelated-Fe(II). *Chemical Engineering Journal*, 285, 180-188.
- 281 Guo, H., D. S. Li, Z. Li, S. Y. Lin, Y. W. Wang, S. J. Pan & J. G. Han (2021) Promoted elimination of antibiotic
282 sulfamethoxazole in water using sodium percarbonate activated by ozone: Mechanism, degradation
283 pathway and toxicity assessment. *Separation and Purification Technology*, 266, 12.
- 284 Kuster, M., M. J. de Alda, M. D. Hernando, M. Petrovic, J. Martin-Alonso & D. Barcelo (2008) Analysis
285 and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment

286 plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain). *Journal*
287 *of Hydrology*, 358, 112-123.

288 Kuster, M., M. J. Lopez, M. J. L. de Alda & D. Barcelo (2004) Analysis and distribution of estrogens and
289 progestogens in sewage sludge, soils and sediments. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 23, 790-798.

290 Lafont, R. & M. Mathieu (2007) Steroids in aquatic invertebrates. *Ecotoxicology*, 16, 109-130.

291 Li, Y. J., H. R. Dong, L. Li, J. Y. Xiao, S. J. Xiao & Z. L. Jin (2021) Efficient degradation of sulfamethazine
292 via activation of percarbonate by chalcopyrite. *Water Research*, 202, 11.

293 Liu, X., S. He, Y. Yang, B. Yao, Y. F. Tang, L. Luo, D. Zhi, Z. H. Wan, L. Wang & Y. Y. Zhou (2021) A review
294 on percarbonate-based advanced oxidation processes for remediation of organic compounds in water.
295 *Environmental Research*, 200, 11.

296 Ma, J., X. C. Xia, Y. Ma, Y. J. Luo & Y. J. Zhong (2018) Stability of dissolved percarbonate and its
297 implications for groundwater remediation. *Chemosphere*, 205, 41-44.

298 Ma, J., X. Yang, X. C. H. Jiang, J. Wen, J. Q. Li, Y. J. Zhong, L. P. Chi & Y. X. Wang (2020) Percarbonate
299 persistence under different water chemistry conditions. *Chemical Engineering Journal*, 389, 5.

300 Marsalek, B., S. Zezulka, E. Marsalkova, F. Pochyly & P. Rudolf (2020) Synergistic effects of trace
301 concentrations of hydrogen peroxide used in a novel hydrodynamic cavitation device allows for
302 selective removal of cyanobacteria. *Chemical Engineering Journal*, 382, 5.

303 Meffe, R. & I. de Bustamante (2014) Emerging organic contaminants in surface water and groundwater:
304 A first overview of the situation in Italy. *Science of the Total Environment*, 481, 280-295.

305 Miao, Z. W., X. G. Gu, S. G. Lu, M. L. Brusseau, X. Zhang, X. R. Fu, M. Danish, Z. F. Qiu & Q. Sui (2015)
306 Enhancement effects of chelating agents on the degradation of tetrachloroethene in Fe(III) catalyzed
307 percarbonate system. *Chemical Engineering Journal*, 281, 286-294.

308 Panda, D., V. K. Saharan & S. Manickam (2020) Controlled Hydrodynamic Cavitation: A Review of
309 Recent Advances and Perspectives for Greener Processing. *Processes*, 8, 31.

310 Pereira, V. J., J. Galinha, M. T. B. Crespo, C. T. Matos & J. G. Crespo (2012) Integration of nanofiltration,
311 UV photolysis, and advanced oxidation processes for the removal of hormones from surface water
312 sources. *Separation and Purification Technology*, 95, 89-96.

313 Perondi, T., W. Michelon, P. R. Junior, P. M. Knoblauch, M. Chiareloto, R. Moreira, R. A. Peralta, E.
314 Dusman & T. S. Pokrywiecki (2020) Advanced oxidative processes in the degradation of 17 beta-
315 estradiol present on surface waters: kinetics, byproducts and ecotoxicity. *Environmental Science and*
316 *Pollution Research*, 27, 21032-21039.

317 Pessoa, G. P., N. C. de Souza, C. B. Vidal, J. A. C. Alves, P. I. M. Firmino, R. F. Nascimento & A. B. dos
318 Santos (2014) Occurrence and removal of estrogens in Brazilian wastewater treatment plants. *Science*
319 *of the Total Environment*, 490, 288-295.

320 Rosenfeldt, E. J., P. J. Chen, S. Kullman & K. G. Linden (2007) Destruction of estrogenic activity in water
321 using UV advanced oxidation. *Science of the Total Environment*, 377, 105-113.

322 Sadilek, J., P. Spalovska, B. Vrana, M. Vavrova, B. Marsalek & Z. Simek (2016) Comparison of extraction
323 techniques for isolation of steroid oestrogens in environmentally relevant concentrations from
324 sediment. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 96, 1022-1037.

325 Sarmah, A. K., G. L. Northcott, F. D. L. Leusch & L. A. Tremblay (2006) A survey of endocrine disrupting
326 chemicals (EDCs) in municipal sewage and animal waste effluents in the Waikato region of New
327 Zealand. *Science of the Total Environment*, 355, 135-144.

328 Silva, C. P., M. Otero & V. Esteves (2012) Processes for the elimination of estrogenic steroid hormones
329 from water: A review. *Environmental Pollution*, 165, 38-58.

330 Sindelar, H. R., M. T. Brown & T. H. Boyer (2014) Evaluating UV/H₂O₂, UV/percarbonate, and
331 UV/perborate for natural organic matter reduction from alternative water sources. *Chemosphere*, 105,
332 112-118.

333 Sun, Q., G. C. Zhu, C. Y. Wang, Z. L. Yang & Q. Xue (2019) Removal Characteristics of Steroid Estrogen
334 in the Mixed System through an Ozone-Based Advanced Oxidation Process. *Water Air and Soil*
335 *Pollution*, 230, 14.

336 Tang, S. F., D. L. Yuan, Y. D. Rao, M. H. Li, G. M. Shi, J. M. Gu & T. H. Zhang (2019) Percarbonate
337 promoted antibiotic decomposition in dielectric barrier discharge plasma. *Journal of Hazardous*
338 *Materials*, 366, 669-676.

339 Tiedeken, E. J., A. Tahar, B. McHugh & N. J. Rowan (2017) Monitoring, sources, receptors, and control
340 measures for three European Union watch list substances of emerging concern in receiving waters - A
341 20 year systematic review. *Science of the Total Environment*, 574, 1140-1163.

342 Tufail, A., W. E. Price & F. I. Hai (2020) A critical review on advanced oxidation processes for the removal
343 of trace organic contaminants: A voyage from individual to integrated processes. *Chemosphere*, 260.

344 Tufail, A., W. E. Price, M. Mohseni, B. K. Pramanik & F. S. I. Hai (2021) A critical review of advanced
345 oxidation processes for emerging trace organic contaminant degradation: Mechanisms, factors,
346 degradation products, and effluent toxicity. *Journal of Water Process Engineering*, 40, 22.

347 Vilela, C. L. S., J. P. Bassin & R. S. Peixoto (2018) Water contamination by endocrine disruptors: Impacts,
348 microbiological aspects and trends for environmental protection. *Environmental Pollution*, 235, 546-
349 559.

350 Wang, T. C., H. Z. Jia, X. T. Guo, T. J. Xia, G. Z. Qu, Q. H. Sun & X. Q. Yin (2018) Evaluation of the potential
351 of dimethyl phthalate degradation in aqueous using sodium percarbonate activated by discharge
352 plasma. *Chemical Engineering Journal*, 346, 65-76.

353 Zhang, B. T., L. L. Kuang, Y. G. Teng, M. H. Fan & Y. Ma (2021) Application of percarbonate and
354 peroxymonocarbonate in decontamination technologies. *Journal of Environmental Sciences*, 105, 100-
355 115.

356 Zuo, S. Y., D. Y. Li, H. M. Xu & D. S. Xia (2020) An integrated microwave-ultraviolet catalysis process of
357 four peroxides for wastewater treatment: Free radical generation rate and mechanism. *Chemical*
358 *Engineering Journal*, 380, 12.

359 Zupanc, M., T. Kosjek, M. Petkovsek, M. Dular, B. Kompare, B. Sirok, Z. Blazeka & E. Heath (2013)
360 Removal of pharmaceuticals from wastewater by biological processes, hydrodynamic cavitation and
361 UV treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 1104-1112.

365 **Fig. 1.** (1-column fitting image) Scheme of hydrodynamic cavitation reactor

366

367

368

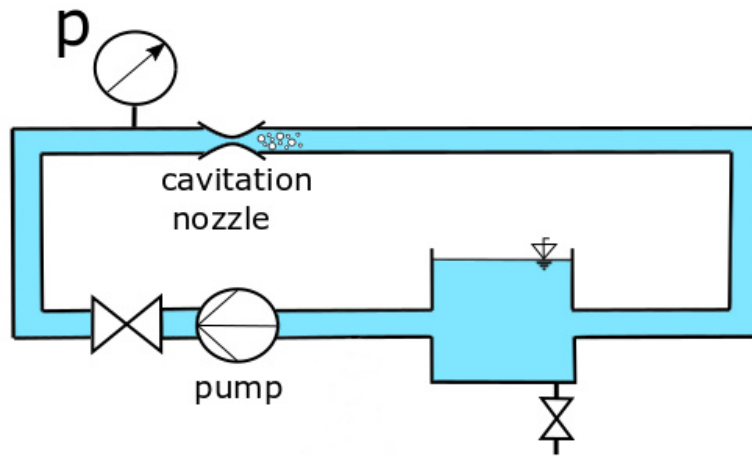
369

370

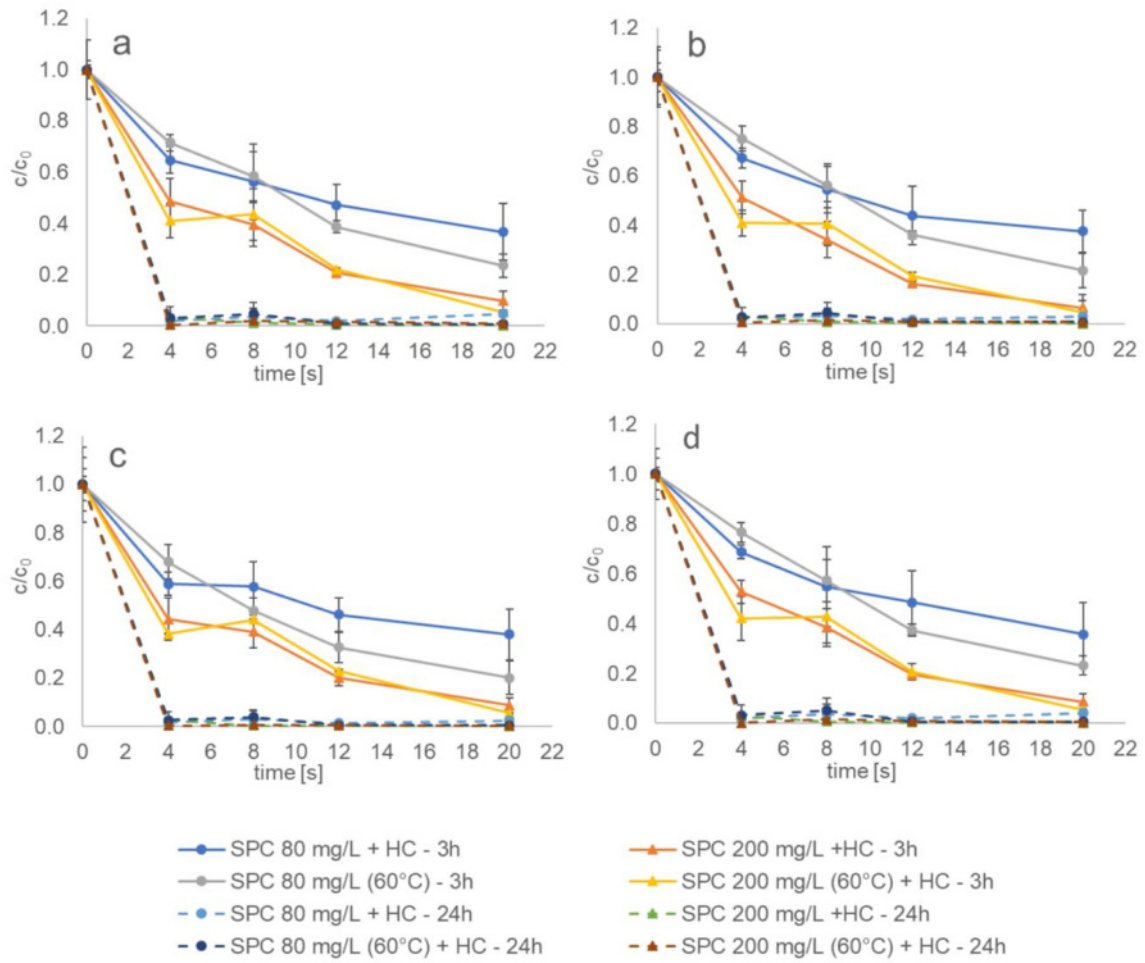
371

372

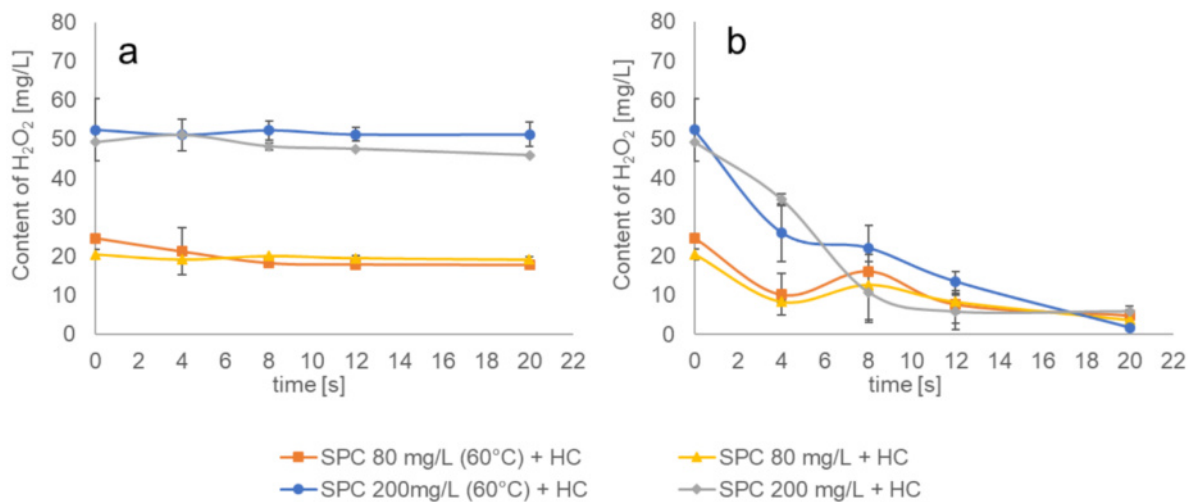
373



374 **Fig. 2.** (2-column fitting image) Decrease of estrone (a), 17 β -estradiol (b), estriol (c) and 17 α -
 375 ethinylestradiol (d) concentration during the treatment time. All experiments were conducted
 376 without pH adjustment. Data represent mean over 3 repetitions, standard deviations are
 377 indicated by whiskers. The initial concentration of estrogens was 300 ng/L. The measurement
 378 was realised 3 and 24 hours after the HC treatment.



380 **Fig. 3.** (2-column fitting image) Content of hydrogen peroxide (in mg/L) measured (a) 3 hours
381 after cavitation and (b) 24 hours after cavitation. Data represent mean over 3 repetitions,
382 standard deviations are indicated by whiskers.



383

384 **Table 1.** The pseudo-first-rate constants of estrogens degradation; $r > 0.97$.

Conditions	k_{E1} (min^{-1})	k_{E2} (min^{-1})	k_{E3} (min^{-1})	k_{EE2} (min^{-1})
SPC 80 mg/L + HC	3.41	3.46	3.38	3.42
SPC 80 mg/L (60°C) + HC	4.42	4.69	5.10	4.49
SPC 200 mg/L + HC	7.27	8.44	7.58	7.59
SPC 200 mg/L (60°C) + HC	8.41	8.89	8.26	8.43

385

386

Journal of Environmental Chemical Engineering

Adsorption and desorption of selected estrogens on materials commonly used in water sampling and sample handling

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	JECE-D-22-07000
Article Type:	Research Paper
Keywords:	estrogenic hormones; Environmentally relevant concentrations; tubing materials; sampling materials
Corresponding Author:	Štěpán Zezulka, Ph.D. Masaryk University Faculty of Science Brno, CZECH REPUBLIC
First Author:	Klára Odehnalová
Order of Authors:	Klára Odehnalová Štěpán Zezulka, Ph.D. Petra Přibilová Blahoslav Maršálek
Abstract:	<p>Advanced oxidation processes (AOPs) represent a promising way to remove estrogens from water. With respect to their hydrophobic nature, the suitability of plastic materials for AOP unit construction must also be considered, as undesired adsorption/desorption events may occur instead of removal. Possible interactions of four estrogens - estrone (E1), 17β-estradiol (E2), estriol (E3), and 17α-ethinylestradiol (EE2) - with six different polymeric materials commonly used for laboratory equipment were investigated at environmentally relevant concentrations (100 – 500 ng/L). After 30 min soaking in deionised water spiked with estrogens, PVC, PTFE, Kynar® and EPDM materials adsorbed only negligible amounts (less than 20% of initial concentration). Significant amounts of E1, E2 and EE2, reaching up to 40%, were adsorbed onto Tygon S3™ material. When assessing the estrogens desorption, PVC and Tygon desorbed approx. 5% of initial concentration within 30 min and 10% within 90 min. The desorption from other materials was negligible. Detailed test of ethylene propylene diene monomer (EPDM) at higher estrogen concentrations (300 and 500 ng/L) and prolonged soaking time (up to 12 h) showed significant sorption of EE2 (up to 50% of initial concentration) after soaking in both deionised and tap water matrices. The adsorption of other estrogens reached less than 17%. The overall desorption of estrogens during 90 min reached up to 10% for E1, E2 and EE2; the desorption of E3 was negligible. Careful selection of plastic materials getting in contact with the contaminated water should be considered, mainly when low concentrations are present.</p>
Suggested Reviewers:	Giovanni Cagnetta Tsinghua University gcagnetta@mail.tsinghua.edu.cn Hai Nguyen Tran DuyTan University Institute of Fundamental Science and Application trannguyenhai@duytan.edu.vn Camila Costa de Amorim Federal University of Minas Gerais camila@desa.ufmg.br André Bezerra dos Santos Federal University of Ceara andre23@ufc.br Hafiz Muhammad Nasir Iqbal Monterrey Institute of Technology and Higher Education hafiz.iqbal@tec.mx Yanxia Li

Highlights

Estrogens interact with the hydrophobic surface of materials used for water sampling.

PVC-based materials can adsorb and desorb high amounts of estrogens.

Both adsorption and desorption events occur already in 30 min period.

Interaction during sample processing can affect the analysis of estrogens in water.

Analysis of environmentally relevant concentrations can be under- or overestimated.



1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

1 **Title**

2 Adsorption and desorption of selected estrogens on materials commonly used in water sampling and
3 sample handling

4
5 **Authors**

6 Klára Odehnalová¹, Štěpán Zezulka^{1,*}, Petra Přibilová^{1,2}, Blahoslav Maršálek¹

7
8 ¹ Institute of Botany, Czech Academy of Sciences, Lidická 25/27, 60200 Brno, Czech Republic

9 ² Institute of Chemistry and Technology of Environmental Protection, Faculty of Chemistry, Brno
10 University of Technology, Purkyňova 118, 612 00 Brno, Czech Republic

11
12 *** Corresponding Author:**

13 RNDr. Štěpán Zezulka, Ph.D.,

14 stepan.zezulka@ibot.cas.cz

15 Dep. of Experimental Phycology and Ecotoxicology

16 Institute of Botany

17 Czech Academy of Sciences

18 Lidická 25/27

19 60200 Brno

20 Czech Republic

21 Phone: +420 530 506 740

22

23

24

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

25 **Abstract**

26 Advanced oxidation processes (AOPs) represent a promising way to remove estrogens from water. With
27 respect to their hydrophobic nature, the suitability of plastic materials for AOP unit construction must
28 also be considered, as undesired adsorption/desorption events may occur instead of removal. Possible
29 interactions of four estrogens - estrone (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3), and 17 α -ethinylestradiol (EE2)
30 - with six different polymeric materials commonly used for laboratory equipment were investigated at
31 environmentally relevant concentrations (100 – 500 ng/L). After 30 min soaking in deionised water spiked
32 with estrogens, PVC, PTFE, Kynar[®] and EPDM materials adsorbed only negligible amounts (less than 20%
33 of initial concentration). Significant amounts of E1, E2 and EE2, reaching up to 40%, were adsorbed onto
34 Tygon S3™ material. When assessing the estrogens desorption, PVC and Tygon desorbed approx. 5% of
35 initial concentration within 30 min and 10% within 90 min. The desorption from other materials was
36 negligible. Detailed test of ethylene propylene diene monomer (EPDM) at higher estrogen concentrations
37 (300 and 500 ng/L) and prolonged soaking time (up to 12 h) showed significant sorption of EE2 (up to 50%
38 of initial concentration) after soaking in both deionised and tap water matrices. The adsorption of other
39 estrogens reached less than 17%. The overall desorption of estrogens during 90 min reached up to 10%
40 for E1, E2 and EE2; the desorption of E3 was negligible. Careful selection of plastic materials getting in
41 contact with the contaminated water should be considered, mainly when low concentrations are present.

42

43 **Keywords**

44 estrogenic hormones; environmentally relevant concentrations; tubing materials; sampling materials.

45

46

47

48

1
2
3
4 **49 1 Introduction**

5
6 50 Natural estrogenic hormones such as estrone (E1), 17 β -estradiol (E2), estriol (E3), and synthetic
7
8 51 contraceptive 17 α -ethinylestradiol (EE2) are emerging micro-pollutants established in the Watch List of
9
10 52 Substances for European Union-wide monitoring reported in the Decision 2015/495/EU of 20 March 2015
11
12
13 53 [1] and US EPA [2]. They are released into the environment via wastewater-treated effluents, as they are
14
15
16 54 poorly removed with conventional wastewater treatment plant (WWTP) processes [3-6]. Various studies
17
18 55 have reported their occurrence in aqueous and solid environmental matrices and tap water [7-11].
19
20
21 56 Although their concentrations in the environment were found in the ng/L range, they have high estrogenic
22
23 57 potency. The presence and persistence of estrogens in the environment raise concerns regarding the
24
25 58 potential adverse effects on the sexual and reproductive systems of wild animals, fish and humans [12-
26
27
28 59 16]. Therefore, improvement of WWTP processes is needed as they are a major cause of estrogens
29
30 60 discharge in the environment.

31
32
33 61 Currently, many physical, chemical and biological methods or their combinations have been developed
34
35 62 and more or less successfully tested [17-25] to be included in WWTP. One of the methods used for
36
37 63 estrogens removal (and many other artificial organic pollutants such as drugs, pesticides, industrial by-
38
39
40 64 products, etc.) exploits their ability to adsorb to various materials [26-30]. On the other hand, the
41
42 65 adsorption and following desorption of such chemicals can be a source of problems. For example, due to
43
44 66 organic carbon as an absorbent (e.g. humic acids), they can reach deeper layers of soil (possessing
45
46
47 67 divergent conditions), where they can be desorbed and thus contaminate groundwater [16, 31]. Similarly,
48
49 68 plastic waste [32], especially microplastics [33, 34] as an important part of current environmental
50
51
52 69 pollution, can serve as a source and vector for various chemicals in aquatic and terrestrial environments.
53
54 70 Because of the predominantly hydrophobic nature of many organic pollutants, polymeric materials are
55
56 71 expected to interact with them by weak hydrophobic interactions or Van der Waals forces [35, 36]. Plastic
57
58
59 72 and rubber materials are currently used in various applications, including laboratory or technological

1
2
3
4 73 equipment. Except for disposable items (pipette tips, vials, containers, gloves etc.), many of these
5
6 74 materials are designed for repeated use, like instrument hoses. Tubing materials are desired to be durable,
7
8
9 75 inert and resistant to mechanical and chemical irritation, especially in applications like advanced oxidation
10
11 76 processes (AOP), where specific oxidative and irritating conditions can occur. Nevertheless, their
12
13
14 77 polymeric nature poses a risk of contamination by hydrophobic compounds, and only a little is known
15
16 78 about these materials' adsorption and desorption capabilities. Unwanted adsorption and desorption
17
18
19 79 events of trace amounts of organic pollutants can cause severe discrepancies during sample handling and
20
21 80 analyses [35, 37], especially when only trace and environmentally relevant quantities are present.

22
23 81 The main hypothesis of this study was that the adsorption/desorption events in materials commonly used
24
25
26 82 for sample handling or tubing in laboratory instruments can cause inaccuracies in analyses of estrogenic
27
28 83 compounds content in water samples, especially when present in low, environmentally relevant
29
30 84 concentrations. The extent of adsorption and desorption of three natural estrogens (E1, E2 and E3) and a
31
32
33 85 synthetic one (EE2) to and from six different polymeric materials was monitored by LC-MS/MS technique.

34 35 86 36 37 87 **2 Material and Methods**

38 39 88 *2.1 Chemicals and materials*

40
41
42 89 Standard compounds of estrone (E1; ≥99%), 17β-estradiol (E2; ≥98%), estriol (E3; ≥98%) and 17α-
43
44 90 ethinylestradiol (EE2; ≥98%; for an overview of physicochemical properties see Table S1 in Supplementary
45
46 91 Materials), as well as all solvents and reagents, were purchased from Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA).
47
48
49 92 Internal standard 17β-estradiol-d₄ and 17α-ethinylestradiol-d₄ were purchased from C/D/N Isotopes Inc.
50
51 93 (Pointe-Claire, Quebec, Canada). All standards were prepared in HPLC grade methanol. Methanol,
52
53
54 94 acetonitrile and acetone (HPLC grade), formic acid, hydrochloric acid, dansylchloride and sodium
55
56 95 bicarbonate were used. All tested materials/tubes were purchased from Gumex, spol. s r.o. (Brno, Czech
57
58
59 96 Republic). Material characteristics and suggested applications are given in Table 1 and Table S2.

97

98 **Table 1** Tested materials for estrogen adsorption/desorption

Material	Characteristics *	Applications
Tygon S3™ E-3603	non-DEHP PVC, non-toxic, non-contaminating, glassy-smooth inner bore	analytical instruments, general laboratory, peristaltic and vacuum pumps, biopharmaceutical, incubators, desiccators, gas lines, and food and beverage
Polyvinyl chloride (PVC)	resistant to weathering, chemical rotting, corrosion, shock and abrasion, self-extinguishing	water, gas, sewage, industrial process, irrigation, medical devices, blood storage bags
Teflon (PTFE)	chemical inertness, high resistance to ageing, temperature resistance	conveying impurities and temperatures; fluids, corrosive fluids, steam; push-pull cables
Kynar® (PVDF)	outstanding resistance to UV exposure, tremendous chemical resistance to a wide range of aggressive chemicals, resistance to chemical products	contact surface for the production, storage and transfer of corrosive fluids, used in mechanical components, fabricated vessels, tanks, pumps, valves, filters, heat exchangers, tower packing, piping systems
Ethylene propylene diene monomer (EPDM)	resistant to ozone and weather, abrasion resistant, electrically conductive, cloth impression	suitable for use as a discharge hose in the chemical industry and raw materials extraction
Styrene butadiene rubber (SBR)	good resilience and tensile strength, outstanding resistance to abrasion and fatigue, water, organic acid, ketone, chemical, alcohol, and aldehyde resistance, low resistance to ozone	industrial applications, adhesives, rubber/mechanical goods, car tires

99 * Selected physical characteristics are summarised in Table S2.

100

101 *2.2 Short-term material exposure*

102 In the first phase of the study, the sorption experiments were carried out with all six materials: styrene

103 butadiene rubber (SBR), ethylene propylene diene monomer (EPDM), polytetrafluoroethylene (PTFE),

104 Tygon S3™ E-3603, KYNAR® (polyvinylidene fluoride, PVDF) and polyvinyl chloride (PVC). A piece of each

105 material with a surface area of 1000 cm² was individually immersed in a bath (2 L) with deionised water

106 containing a mixture of estrogens with a concentration of 100 ng/L each. The content was continuously

107 stirred with a magnetic stirrer at 400 rpm at 21°C. After 30 min of incubation, the solution was sampled

1
2
3
4 108 (50 mL) for analysis of estrogens content. For desorption assessment, the estrogen solution was replaced
5
6 109 with clean deionised water and stirred again under the same conditions. Samples (50 mL) for desorbed
7
8
9 110 estrogens analyses were taken out after 30, 60 and 90 min.

10
11 111
12
13
14 112 *2.3 Long-term EPDM exposure*
15
16 113 For further testing, EPDM was chosen, and the sorption period was expanded to 1, 3, 5, and 12 hours
17
18 114 using estrogens concentrations of 300 and 500 ng/L. Soaking with estrogens was carried out in deionised
19
20
21 115 water (pH = 5.8 ± 0.1, $\kappa < 0.05 \mu\text{S/cm}$) as well as in tap water (pH = 7.1 ± 0.1; $\kappa = 417 \pm 2.0 \mu\text{S/cm}$) matrix.
22
23 116 After 12 h exposure, the estrogens desorption after 30, 60 and 90 min into deionised water was tested
24
25 117 again.

26
27
28 118
29
30 119 *2.4 LC-MS/MS analyses*

31
32
33 120 *2.4.1 Solid Phase Extraction and Derivatisation*

34
35 121 Extraction of the estrogen samples was performed using SPE Oasis[®] HLB (500 mg, 6 mL) cartridges
36
37 122 (Waters, Milford, MA) according to Sadilek et al. [38] with minor modifications. The cartridges were pre-
38
39
40 123 conditioned using 5 mL of methanol followed by 5 mL of Milli-Q water. Acidified samples (pH = 3 ± 0.2)
41
42 124 were loaded onto the cartridges and extracted under vacuum at a flow rate of approximately 5 mL/min.
43
44 125 Afterwards, the sample holders were rinsed with 5 mL of distilled water and dried under vacuum suction
45
46 126 for 20 min. Once the extraction was completed, analytes were eluted with 8 mL of methanol, and a
47
48
49 127 mixture of internal standards (20 μL , 25 ng/mL) was added and dried under a gentle nitrogen stream at
50
51 128 40°C.

52
53
54 129 The dried extract was reconstituted in 20 μl of acetone, and then 50 μl sodium bicarbonate buffer (100
55
56 130 mM, pH = 10.5) and 50 μl dansylchloride (1 mg/mL, in acetone) was added. The reaction mixture was
57
58
59 131 vigorously shaken for 1 min and tempered at 60°C for 5 min. After cooling to the laboratory temperature,
60
61
62
63
64
65

1
2
3
4 132 the mixture was allowed to dry under a gentle nitrogen stream at 55°C. Samples were then reconstituted
5
6 133 in 1 mL of methanol:water mixture (40:60; v/v) and filtered through a syringe filter (nylon; 0.45 µm) before
7
8
9 134 analysis.

10
11 135

12 13 14 136 *2.4.2 Instrumental analysis*

15
16 137 An Agilent 1260 Infinity HPLC system combined with an Agilent 6460 TripleQuad mass spectrometer (both
17
18 138 Agilent Technologies, CA, USA) equipped with electrospray ionisation interface (ESI) were used for
19
20
21 139 quantification of estrogens. Separation was achieved using Poroshell 120 EC-C18 (2.1 x 100 mm; 2.7 µm)
22
23 140 fitted with a security guard column of the same packing material (Agilent Technologies, CA, USA). Mobile
24
25 141 phases A and B consisted of formic acid (7 mM) and acetonitrile, respectively. The solvent gradient
26
27 142 program concerning mobile phase B was as follows: 0 min 50%; 0 – 10 min 100%; 10 – 11 min 100%;
28
29 143 11 – 11.1 min 50%, followed by equilibration for 5 min. The flow rate was 350 µL/min, and the injection
30
31
32 144 volume was 10 µL. Mass data were acquired using MassHunter Workstation software (Agilent
33
34
35 145 Technologies, CA, USA) and multiple reaction monitoring (MRM) in the positive mode. The detector
36
37 146 settings were: capillary voltage 3500 V, nozzle voltage 2000 V, gas temperature (N₂) 200°C, gas flow 10
38
39 147 mL/min, nebuliser 50 psi, sheath gas temperature (N₂) 350°C, sheath gas flow 10 ml/min. The precursor
40
41
42 148 and product ions, collision energy and fragmentor voltage used for MRM are summarized in Table S3.

43
44 149

45 46 47 150 *2.4.3 Data analysis and quality control*

48
49 151 All sorption/desorption experiments were performed in duplicate. Confirmation of estrogens in samples
50
51 152 was based on the MRM ion transitions and comparing the retention time of each peak to the
52
53
54 153 corresponding standard. The method's performance was evaluated by considering both water matrices'
55
56 154 response linearity, method detection and quantification limits, recovery (Tab. S4), and repeatability (intra-
57
58
59 155 and inter-day variations). Matrix matched calibration curves (5 points, ranging from 5 to 600 ng/L) with

1
2
3
4 156 standards of estrogens were used for quantification with the r^2 of at least 0.99 for all analytes each day.
5
6 157 Limits of detection (MDL) and quantification (MQL) were calculated based on a signal-to-noise ratio of 3.3
7
8
9 158 and 10, respectively, and their values are given in Table S5.

10
11 159

12 13 14 160 *2.5 Statistical evaluation*

15
16 161 Statistical analyses were performed using GraphPad Prism software. A one-way ANOVA on ranks followed
17
18 162 by a Dunn's Test was used to determine differences between the control (initial concentration) and the
19
20
21 163 treated samples (concentration of estrogens in solution after incubation period). The differences between
22
23 164 individual means were indicated by Mann-Whitney's test. A probability level of $p < 0.05$ was considered
24
25 165 statistically significant. All data are represented as mean \pm standard deviation of relative concentrations
26
27 166 (related to initial concentration). Relative adsorbed or desorbed concentration was calculated as follows:

28
29
30 167 $Adsorption = (1 - (Concentration\ at\ Time/Initial\ Concentration)) * 100\%$

31
32
33 168 $Desorption = (Concentration\ at\ Time/Initial\ Concentration) * 100\%$

34
35 169

36 37 170 **3 Results and discussion**

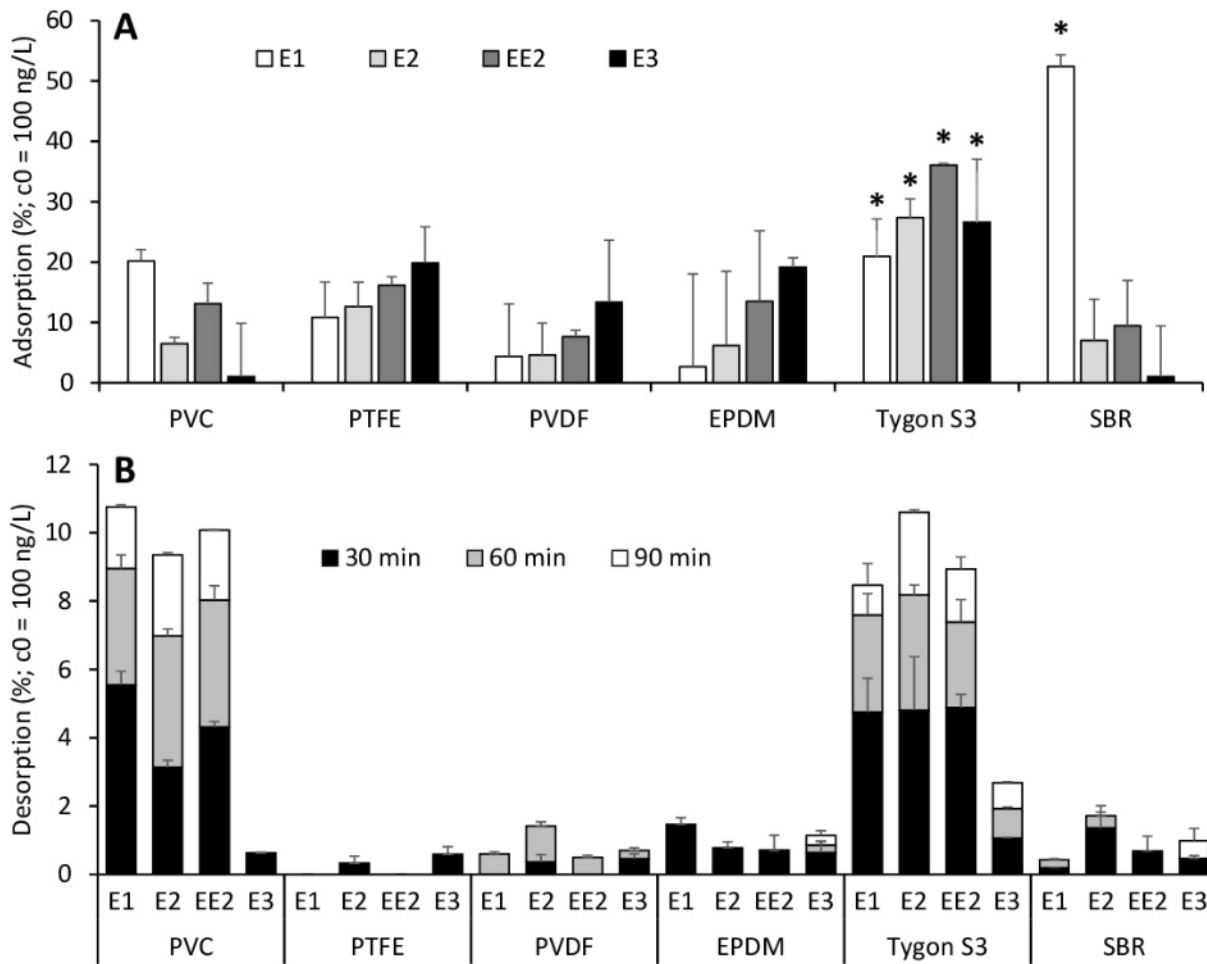
38 39 40 171 *3.1 Short-term material exposure*

41
42 172 For the first screening of estrogen adsorption and desorption, six materials generally recommended for
43
44 173 handling with chemicals were evaluated after 30 min soaking in a solution consisting of deionised water
45
46
47 174 and 100 ng/L of each estrogen. As can be seen in Fig. 1A, significant changes in concentrations were
48
49 175 observed in the case of estrone (E1), especially when adsorbed on SBR (nearly 50% of the initial
50
51 176 concentration in solution), or PVC and Tygon S3™ (more than 20%). The Tygon S3™ (non-DEHP PVC)
52
53
54 177 absorbed even other estrogens, mainly E2 (27%) and EE2 (37%). The sorption of E3 was not observed or
55
56 178 was negligible on all tested materials in the first phase experiments. The extent of estrogens sorption on
57
58
59 179 the other materials was found to be similarly low (less than 20%). Materials such as PVC and PTFE have

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

180 been tested even by other authors [35] and found suitable for estrogen handling. Conversely, Tygon S3™
181 was seen as unsuitable because of a relatively high degree of estrogen adsorption (approx. 30%), which
182 can lead to a considerable underestimation of actual estrogen concentration in the sample.
183 The usage of contaminated equipment can cause severe inaccuracies in the processing of samples.
184 Therefore, we tested whether the estrogens were desorbed back from the material surface into the
185 deionised water. In the case of SBR, only 2% of E1 initial concentration was desorbed (Fig. 1B). On the
186 other hand, PVC and especially Tygon S3™ in deionised water released the estrogens continuously from
187 the surface throughout the time frame with maximal concentration (approx. 5% of initial concentration)
188 during the first 30 min. After 90 min, the desorption of E1, E2, and EE2 from PVC and Tygon reached nearly
189 10% of their initial concentration (Fig. 1B). The overall desorption of estrogens from other tested materials
190 was lower than 2% of initial concentration even after 90 min soaking in clean deionised water.

191



192
193 Fig. 1 Screening of the relative estrogen adsorption (A) after 30 min of incubation of six polymeric
194 materials in the deionised water with estrogens (E1, E2, EE2, and E3) and the relative cumulative estrogen
195 desorption (B) after 30, 60, and 90 min incubation of the contaminated materials in clean deionised water.
196 The initial concentration of all estrogens was 100 ng/L. Data represent the mean \pm standard deviation of
197 relative concentrations (related to initial concentration). Asterisks mark significant differences detected
198 by ANOVA and Dunn's test at $p < 0.05$.

200 3.2 Long-term EPDM exposure

201 Concerning our preliminary results and the fact that other authors already proved PVC, PTFE and PVDF
202 for estrogen sorption, we chose EPDM material for more detailed evaluation. In the next phase of the

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

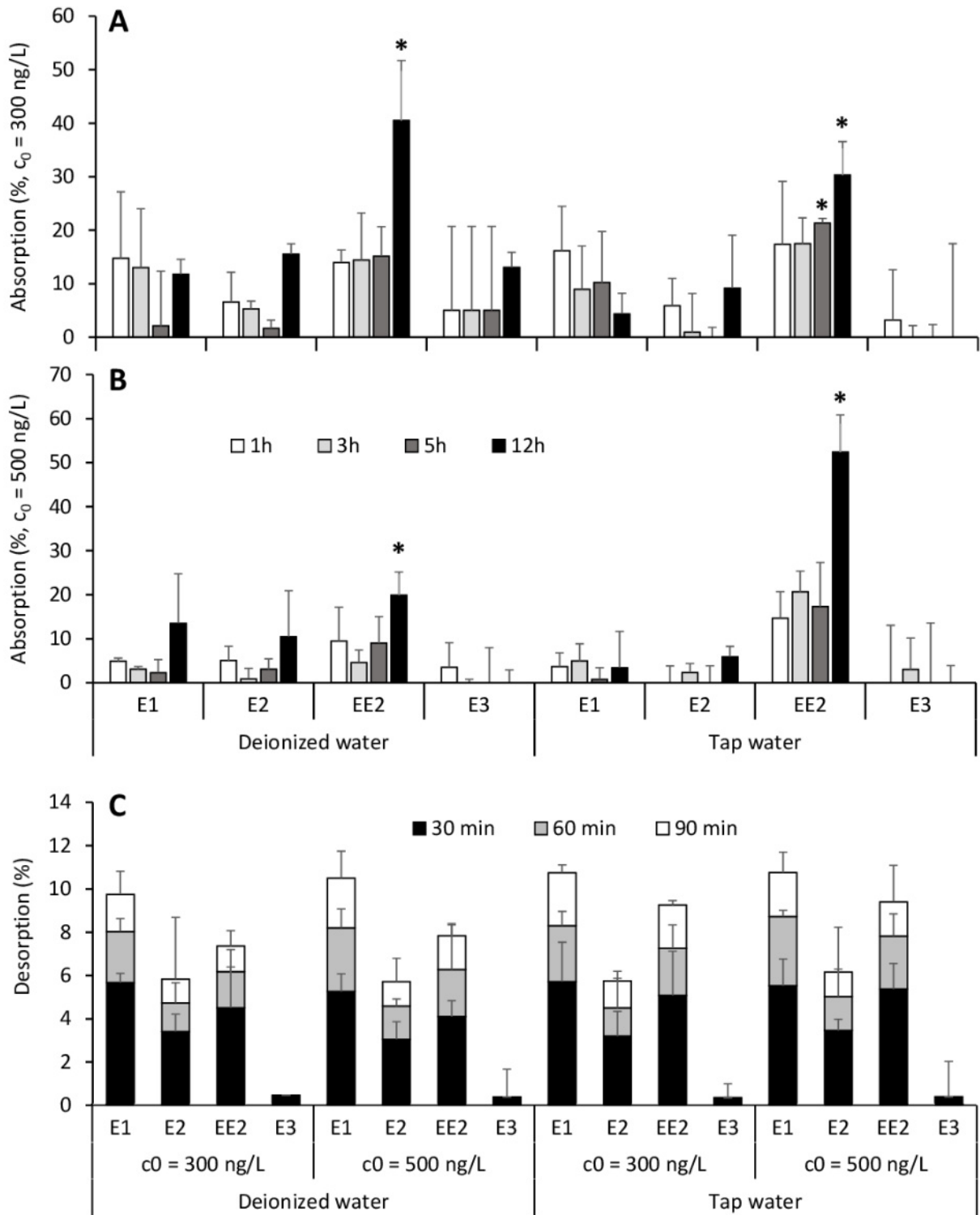
203 study, sorption at higher estrogens concentrations (300 and 500 ng/L) in two different matrices (deionised
204 water and tap water) and prolonged exposure period (1-12 h) on EPDM was tested. As can be seen in Figs.
205 2A and B, the only significant adsorption (up to 40%) was observed for EE2 after 12 h in both concentration
206 levels and water matrices. The sorption of E1 and E2 reached up to 20% of the initial concentration, and
207 the sorption of E3 was negligible in all experiments.

208 In the desorption experiment, which was subsequently conducted with the 12 h estrogens-treated EPDM
209 in deionised water for 90 min, the amount of desorbed estrogens, namely E1, E2 and EE2, reached nearly
210 10%, 6% and 8%, respectively, in both initial concentration levels 300 and 500 ng/L and both water
211 matrices. Estrogen cumulative concentrations desorbed from the EPDM surface are shown in Fig. 2C.

212 All tested plastic materials are commonly used in laboratories, the chemical industry or food production,
213 including, e.g. water quality control processes. Adsorption of estrogens to them can cause potential losses
214 and thus underestimate real estrogen concentration in the analysed sample [35]. On the other hand, the
215 desorption into the sample can elevate at least the background level and cause discrepancies during
216 analyses, especially in samples with concentrations close to limits of detection/quantification.

217 Concerning log K_{ow} values (Tab. S1) of selected estrogens, which are supposed to have moderate (E2, E3
218 and EE2) to high (E1) sorption potential, they are expected to interact with polymeric materials by weak
219 hydrophobic interactions or Van der Waals forces [39]. Although the highest log K_{ow} value has estrone,
220 higher EE2 adsorption was found in both matrices on EPDM. Han et al. [26] described a successful
221 reduction of estrone adsorption to PTFE and PP membrane filters when organic solvent (ethanol) was
222 added to the filtered estrogen solution.

223



224
225 Fig. 2 Relative adsorption (A, B) after 1, 3, 5 and 12h of incubation of ethylene propylene diene monomer
226 (EPDM) in the deionised or tap water added with estrogens (initials concentrations of 300 and 500 ng/L)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

227 and the relative cumulative desorption (C) after 30, 60, and 90 min incubation in clean deionised or tap
228 water. Statistical evaluation as given in Fig. 1.

229
230 Dissociation constants (pK_a) of selected estrogens have values around 10.3 (Tab. S1), indicating that in
231 both matrices (pH of 5.8 and 7.1 for deionised water and tap water, respectively), they stay uncharged.
232 Another property that may affect interaction with polymers is a proton donor and acceptor
233 characteristics, in particular, the ability to form hydrogen bonds, which has been attributed to play a
234 predominant factor in the transport of estrogens in biological systems [26, 40]. On the other hand, a highly
235 alkaline pH level (around 10) can restrict the hydrogen bonds formation [26] and thus limit estrogen
236 adsorption.

237
238 **4 Conclusions**
239 The present study confirmed that plastic materials differ in their ability to adsorb and desorb estrogenic
240 compounds. After short-term exposure to low estrogen concentrations (100 – 500 ng/L), reflecting the
241 actual situation in environmental samples, materials like PVDF, PTFE and EPDM exhibited only low
242 absorption and desorption capability to E1, E2, EE2, and E3 estrogens. SBR material absorbed a
243 considerable amount of E1 but without significant desorption. EPDM was proven as material appropriate
244 for manipulation with this group of estrogens. On the other hand, materials like PVC, especially Tygon
245 S3™ E-3603, absorbed and desorbed substantial amounts of estrogens in short periods (up to 30 min) and
246 are therefore inappropriate for handling samples contaminated with trace amounts of estrogens. The
247 sorption of estriol (E3) was negligible on all the tested materials and all tested concentration levels.

248
249 **Acknowledgements**

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

250 The participation of PhD student (P. Přibilová) was supported by project FCH-S-22-8001 of the Ministry of
251 Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

252

253 **Funding**

254 This research was supported by the Czech Science Foundation (GAČR) project No. 19-10660S.

255

256 **References**

257 [1] EU Commission implementing decision (EU) 2015/495 of 20 March 2015 establishing a watch list of
258 substances for Union-wide monitoring in the field of water policy pursuant to Directive 2008/105/EC of
259 the European Parliament and of the Council.

260 [2] US Environmental Protection Agency (EPA), Analytical Methods: Contaminants of Emerging Concern
261 Pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs): [http://www.epa.gov/cwa-methods/cwa-analytical-](http://www.epa.gov/cwa-methods/cwa-analytical-methods-contaminants-emerging-concern)
262 [methods-contaminants-emerging-concern](http://www.epa.gov/cwa-methods/cwa-analytical-methods-contaminants-emerging-concern). Accessed 07 June 2019.

263 [3] M. Auriol, Y. Filali-Meknassi, R.D. Tyagi, C.D. Adams, R.Y. Surampalli, Endocrine disrupting compounds
264 removal from wastewater, a new challenge, *Process Biochem.* 41(3) (2006) 525-539.
265 <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.09.017>.

266 [4] Y.P. Zhang, J.L. Zhou, Removal of estrone and 17 beta-estradiol from water by adsorption, *Water*
267 *Research* 39(16) (2005) 3991-4003. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2005.07.019>.

268 [5] S.K. Atkinson, V.L. Marlatt, L.E. Kimpe, D.R.S. Lean, V.L. Trudeau, J.M. Blais, The occurrence of steroidal
269 estrogens in south-eastern Ontario wastewater treatment plants, *Sci. Total Environ.* 430 (2012) 119-125.
270 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.04.069>.

271 [6] G.P. Pessoa, N.C. de Souza, C.B. Vidal, J.A.C. Alves, P.I.M. Firmino, R.F. Nascimento, A.B. dos Santos,
272 Occurrence and removal of estrogens in Brazilian wastewater treatment plants, *Sci. Total Environ.* 490
273 (2014) 288-295. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.008>.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

[7] M. Kuster, M.J. Lopez, M.J.L. de Alda, D. Barcelo, Analysis and distribution of estrogens and progestogens in sewage sludge, soils and sediments, *Trac-Trends Anal. Chem.* 23(10-11) (2004) 790-798. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.08.007>.

[8] M. Kuster, M.J. de Alda, M.D. Hernando, M. Petrovic, J. Martin-Alonso, D. Barcelo, Analysis and occurrence of pharmaceuticals, estrogens, progestogens and polar pesticides in sewage treatment plant effluents, river water and drinking water in the Llobregat river basin (Barcelona, Spain), *Journal of Hydrology* 358(1-2) (2008) 112-123. <https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2008.05.030>.

[9] K. Lei, C.Y. Lin, Y. Zhu, W. Chen, H.Y. Pan, Z. Sun, A. Sweetman, Q.H. Zhang, M.C. He, Estrogens in municipal wastewater and receiving waters in the Beijing-Tianjin-Hebei region, China: Occurrence and risk assessment of mixtures, *J. Hazard. Mater.* 389 (2020) 10. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121891>.

[10] B.L. Lei, S.B. Huang, Y.Q. Zhou, D.H. Wang, Z.J. Wang, Levels of six estrogens in water and sediment from three rivers in Tianjin area, China, *Chemosphere* 76(1) (2009) 36-42. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.02.035>.

[11] M. Gorga, S. Insa, M. Petrovic, D. Barcelo, Occurrence and spatial distribution of EDCs and related compounds in waters and sediments of Iberian rivers, *Sci. Total Environ.* 503 (2015) 69-86. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.06.037>.

[12] P. Matthiessen, Y. Allen, S. Bamber, J. Craft, M. Hurst, T. Hutchinson, S. Feist, I. Katsiadaki, M. Kirby, C. Robinson, S. Scott, J. Thain, K. Thomas, The impact of oestrogenic and androgenic contamination on marine organisms in the United Kingdom - summary of the EDMAR programme, *Mar. Environ. Res.* 54(3-5) (2002) 645-649. [https://doi.org/10.1016/s0141-1136\(02\)00135-6](https://doi.org/10.1016/s0141-1136(02)00135-6).

[13] J.P. Sumpter, S. Jobling, The occurrence, causes, and consequences of estrogens in the aquatic environment, *Environ. Toxicol. Chem.* 32(2) (2013) 249-251. <https://doi.org/10.1002/etc.2084>.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

[14] V. Gabet-Giraud, C. Miege, R. Jacquet, M. Coquery, Impact of wastewater treatment plants on receiving surface waters and a tentative risk evaluation: the case of estrogens and beta blockers, *Environ. Sci. Pollut. Res.* 21(3) (2014) 1708-1722. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-2037-7>.

[15] R.E. Gutjahr-Gobell, G.E. Zarogian, D.J.B. Horowitz, T.R. Gleason, L.J. Mills, Individual effects of estrogens on a marine fish, Cunner (*Tautogolabrus adspersus*), extrapolated to the population level, *Ecotox. Environ. Safe.* 63(2) (2006) 244-252. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2005.05.017>.

[16] M. Adeel, X.M. Song, Y.Y. Wang, D. Francis, Y.S. Yang, Environmental impact of estrogens on human, animal and plant life: A critical review, *Environ. Int.* 99 (2017) 107-119. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.12.010>.

[17] V.J. Pereira, J. Galinha, M.T.B. Crespo, C.T. Matos, J.G. Crespo, Integration of nanofiltration, UV photolysis, and advanced oxidation processes for the removal of hormones from surface water sources, *Sep. Purif. Technol.* 95 (2012) 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2012.04.013>.

[18] R.D. Pereira, M.L. de Alda, J. Joglar, L.A. Daniel, D. Barcelo, Identification of new ozonation disinfection byproducts of 17 beta-estradiol and estrone in water, *Chemosphere* 84(11) (2011) 1535-1541. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.05.058>.

[19] R.O. Pereira, C. Postigo, M.L. de Alda, L.A. Daniel, D. Barcelo, Removal, of estrogens through water disinfection processes and formation of by-products, *Chemosphere* 82(6) (2011) 789-799. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.10.082>.

[20] E.M. Saggiaro, F.P. Chaves, L.C. Felix, G. Gomes, D.M. Bila, Endocrine Disruptor Degradation by UV/Chlorine and the Impact of Their Removal on Estrogenic Activity and Toxicity, *Int. J. Photoenergy* (2019) 9. <https://doi.org/10.1155/2019/7408763>.

[21] M. Bilal, H.M.N. Iqbal, Persistence and impact of steroidal estrogens on the environment and their laccase-assisted removal, *Sci. Total Environ.* 690 (2019) 447-459. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.025>.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

[22] E.J. Rosenfeldt, P.J. Chen, S. Kullman, K.G. Linden, Destruction of estrogenic activity in water using UV advanced oxidation, *Sci. Total Environ.* 377(1) (2007) 105-113. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.096>.

[23] K.M.S. Hansen, H.R. Andersen, Energy Effectiveness of Direct UV and UV/H₂O₂ Treatment of Estrogenic Chemicals in Biologically Treated Sewage, *Int. J. Photoenergy* (2012) 9. <https://doi.org/10.1155/2012/270320>.

[24] B. Cedat, C. de Brauer, H. Metivier, N. Dumont, R. Tutundjan, Are UV photolysis and UV/H₂O₂ process efficient to treat estrogens in waters? Chemical and biological assessment at pilot scale, *Water Research* 100 (2016) 357-366. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2016.05.040>.

[25] L.G.R. Silva, E.P. Costa, M. Starling, T.D. Azevedo, S.E.C. Bottrel, R.O. Pereira, A.L. Sanson, R. Afonso, C.C. Amorim, LED irradiated photo-Fenton for the removal of estrogenic activity and endocrine disruptors from wastewater treatment plant effluent, *Environmental Science and Pollution Research* 28(19) (2021) 24067-24078. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12359-1>.

[26] J. Han, W. Qiu, W. Gao, Adsorption of estrone in microfiltration membrane filters, *Chem. Eng. J.* 165(3) (2010) 819-826. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.10.024>.

[27] A.I. Schafer, L.D. Nghiem, T.D. Waite, Removal of the natural hormone estrone from aqueous solutions using nanofiltration and reverse osmosis, *Environmental Science & Technology* 37(1) (2003) 182-188. <https://doi.org/10.1021/es0102336>.

[28] S. Chang, T.D. Waite, A.I. Schafer, A.G. Fane, Adsorption of the endocrine-active compound estrone on microfiltration hollow fiber membranes, *Environmental Science & Technology* 37(14) (2003) 3158-3163. <https://doi.org/10.1021/es0261574>.

[29] X. Tong, L.S. Jiang, Y.X. Li, X.C. Chen, Y. Zhao, B.Y. Hu, F.S. Zhang, Function of agricultural waste montmorillonite-biochars for sorptive removal of 17 beta-estradiol, *Bioresour. Technol.* 296 (2020) 8. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.122368>.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

[30] P. Zhang, S.B. Liu, X.F. Tan, Y.G. Liu, G.M. Zeng, Z.H. Yin, S.J. Ye, Z.W. Zeng, Microwave-assisted chemical modification method for surface regulation of biochar and its application for estrogen removal, *Process Saf. Environ. Protect.* 128 (2019) 329-341. <https://doi.org/10.1016/j.psep.2019.06.009>.

[31] A. Kuczynska, Presence of pharmaceutical compounds in groundwater with respect to land use in the vicinity of sampling sites, *Geologos* 25(3) (2019) 231-240. <https://doi.org/10.2478/logos-2019-0025>.

[32] K. Jedruchniewicz, Y.S. Ok, P. Oleszczuk, COVID-19 discarded disposable gloves as a source and a vector of pollutants in the environment, *Journal of Hazardous Materials* 417 (2021). <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125938>.

[33] X.M. Liu, J. Xu, Y.P. Zhao, H.H. Shi, C.H. Huang, Hydrophobic sorption behaviors of 17 beta-Estradiol on environmental microplastics, *Chemosphere* 226 (2019) 726-735. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.03.162>.

[34] B.Y. Hu, Y.X. Li, L.S. Jiang, X.C. Chen, L. Wang, S.Y. An, F.S. Zhang, Influence of microplastics occurrence on the adsorption of 17 beta-estradiol in soil, *Journal of Hazardous Materials* 400 (2020). <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123325>.

[35] C.W. Walker, J.E. Watson, Adsorption of Estrogens on Laboratory Materials and Filters during Sample Preparation, *Journal of Environmental Quality* 39(2) (2010) 744-748. <https://doi.org/10.2134/jeq2009.0017>.

[36] A.I. Schafer, I. Akanyeti, A.J.C. Semiao, Micropollutant sorption to membrane polymers: A review of mechanisms for estrogens, *Advances in Colloid and Interface Science* 164(1-2) (2011) 100-117. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2010.09.006>.

[37] Y.F. Chai, H.P. Chen, G.W. Gao, X. Liu, C.Y. Lu, Identification of new interferences leached from plastic microcentrifuge tubes in electrospray ionization mass spectrometry, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 33(10) (2019) 969-977. <https://doi.org/10.1002/rcm.8431>.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

367 [38] J. Sadilek, P. Spalovska, B. Vrana, M. Vavrova, B. Marsalek, Z. Simek, Comparison of extraction
368 techniques for isolation of steroid oestrogens in environmentally relevant concentrations from sediment,
369 Int. J. Environ. Anal. Chem. 96(11) (2016) 1022-1037. <https://doi.org/10.1080/03067319.2016.1232718>.
370 [39] H.R. Rogers, Sources, behaviour and fate of organic contaminants during sewage treatment and in
371 sewage sludges, Science of the Total Environment 185(1-3) (1996) 3-26. [https://doi.org/10.1016/0048-](https://doi.org/10.1016/0048-9697(96)05039-5)
372 9697(96)05039-5.
373 [40] C.G. Campbell, S.E. Borglin, F.B. Green, A. Grayson, E. Wozei, W.T. Stringfellow, Biologically directed
374 environmental monitoring, fate, and transport of estrogenic endocrine disrupting compounds in water: A
375 review, Chemosphere 65(8) (2006) 1265-1280. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.08.003>.

376

Article

Anxiety in Duckweed–Metabolism and Effect of Diazepam on *Lemna minor*

Adéla Lamaczová ^{1,2} , Tomáš Malina ², Eliška Maršálková ², Klára Odehnalová ², Radka Opatřilová ¹, Petra Přibilová ², Štěpán Zezulka ² and Blahoslav Maršálek ^{2,*}

¹ Faculty of Pharmacy, Masaryk University, Žerotínovo nám. 1, 602 00 Brno, Czech Republic; lamaczovaa@pharm.muni.cz (A.L.); opatrilovar@pharm.muni.cz (R.O.)

² Institute of Botany, Czech Academy of Sciences, Lidická 25/27, 602 00 Brno, Czech Republic; tomas.malina@ibot.cas.cz (T.M.); eliska.marsalkova@ibot.cas.cz (E.M.); klara.odehnalova@ibot.cas.cz (K.O.); petra.pribilova@ibot.cas.cz (P.P.); stepan.zezulka@ibot.cas.cz (Š.Z.)

* Correspondence: marsalek@sinice.cz

Abstract: The fate of pharmaceuticals in the human body, from their absorption to excretion is well studied. However, medication often leaves the patient's body in an unchanged or metabolised, yet still active, form. Diazepam and its metabolites, ranging up to 100 µg/L, have been detected in surface waters worldwide; therefore, the question of its influence on model aquatic plants, such as duckweed (*Lemna minor*), needs to be addressed. *Lemna* was cultivated in a Steinberg medium containing diazepam in three concentrations—0.2, 20, and 2000 µg/L. The activity of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT), leaf count, mass, and the fluorescence quantum yield of photosynthesis were assessed. The medium was also analysed by LC-MS/MS to determine the concentration of diazepam metabolites. Our results show no negative impact of diazepam on *Lemna minor*, even in concentrations significantly higher than those that are ecotoxicologically relevant. On the contrary, the influence of diazepam on *Lemna* suggests growth stimulation and a similarity to the effect diazepam has on the human body. The comparison to the human body may be accurate because γ-Aminobutyric acid-like (GABA-like) receptors responsible for the effect in humans have also been recently described in plants. Therefore, our results can open an interesting scientific area, indicating that GABA receptors and interference with benzodiazepines are evolutionarily much older than previously anticipated. This could help to answer more questions related to the reaction of aquatic organisms to micropollutants such as psychopharmaceuticals.

Keywords: *Lemna minor*; benzodiazepines; diazepam; oxazepam; temazepam; nordazepam; ecotoxicology; surface water; aquatic plants; phytoremediation



Citation: Lamaczová, A.; Malina, T.; Maršálková, E.; Odehnalová, K.; Opatřilová, R.; Přibilová, P.; Zezulka, Š.; Maršálek, B. Anxiety in Duckweed–Metabolism and Effect of Diazepam on *Lemna minor*. *Water* **2022**, *14*, 1484. <https://doi.org/10.3390/w14091484>

Academic Editor:
Grzegorz Nałęcz-Jawecki

Received: 5 April 2022

Accepted: 3 May 2022

Published: 5 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

The fate of different pharmaceuticals in the human body has been well studied [1]. However, only a small portion of the attention focuses on the fact that medication often leaves the patient's body in unchanged or metabolised, yet still active, form, and if not properly removed at wastewater treatment plants, it enters the aquatic environment [2].

Worldwide, future water availability causes concern. According to the 2019 OECD Survey on the Implementation of the OECD Council Recommendation on Water, 22 out of 26 countries responded that their national water management plan consider uncertainties about future water availability and demand [3].

In 2000, the EU Water Framework Directive laid the foundations for Directive 2013/39/EU regarding priority substances in the field of water policy. According to the Directive, acute toxicity effects of chemical and pharmaceutical pollution of surface water and the chronic exposure and accumulation of chemicals in the environment pose a serious threat, not only to human health, but also to biodiversity and cause the loss of natural habitats [4].

The EU Member States reported that an average 48.6% of their population was using prescribed medicines in 2014, ranging from 22.8% in Romania to 60.2% in Belgium. This

average clearly depends on age, ranging from 2.4% in the age group of 15 to 24 years in Romania to 96.3% in the age group of 75 years and over in the Czech Republic [5,6].

When it comes to non-prescription medicines, the average is 34.6% across the EU Member States, ranging from 15.2% in Romania to 84.4% in Iceland. The age dependency has, however, shifted when compared to prescription medicines, ranging from 9.8% in the age group from 15 to 24 years in Romania to 87.0% in the age group of 65 to 74 years in Iceland [6].

A range of different pharmaceuticals including diazepam has been reported in surface water [7], WWTP effluents [8,9], underground water [10,11], drinking water [12], fish tissue, and in the tissue of other aquatic organisms [13–15]. The most commonly detected pharmaceuticals are antibiotics (erythromycin, ofloxacin), antiinflammatory drugs/analgesics (diclofenac, ibuprofen), lipid regulators (benzafibrate, gemfibrozil), beta-blockers (metoprolol, propranolol), cancer therapeutics (cyclophosphamide, ifosfamide), diuretics (furosemide), antiepileptics (carbamazepine), antidepressants (mianserin), steroids and hormones (17 β -estradiol, estrone), and tranquilisers (diazepam) [2].

Most of these groups of pharmaceuticals have been thoroughly studied in relation to the aquatic environment; however, the evidence on benzodiazepines, namely diazepam and its metabolites, is limited.

In humans, diazepam (DIA) binds to a specific benzodiazepine binding site on GABA receptors to mediate its sedative and anxiolytic effect by opening Cl⁻ channels and hyperpolarizing the membrane of neuronal cells [16]. It is metabolised by the P450 cytochrome. Diazepam is demethylated into nordazepam (NOR, desmethyl diazepam) and further hydroxylated into an even more active form—oxazepam (OXA) (Figure 1) [17]. The hydroxylation of the diazepam molecule itself results in a second intermediate metabolite—temazepam (TEM), which is hydroxylated into oxazepam. Oxazepam is then glucuronised and leaves the human body in urine [18,19]. Diazepam and its metabolites ranging up to 100 μ g/L have been detected in both fresh and saline surface waters worldwide [12,14,20–22] and have been marked as highly persistent in the sediment [23]. Diazepam has been shown to reduce motile response to light in *Daphnia magna* [24], decrease heart rate and delay hatching time of *Danio rerio* embryos, increase locomotion activity and reduce thigmotaxis of *Danio rerio* larvae [25], and reduce serotonin levels in *Elliptio complanate* [26]. The influence of the diazepam metabolite oxazepam on different aquatic organisms has also been studied, showing adverse effects connected to activity, sociality, boldness, and feeding rates [13,27,28].

Lemna minor, L., commonly called duckweed, is a globally cosmopolitan species of monocotyledons, which is reflected by the OECD by defining Test No. 221: *Lemna* sp. Growth Inhibition Test in the OECD Guidelines for the Testing of Chemicals [29]. It has been used as a model plant for many ecotoxicological tests, including tests of the toxicity of pharmaceuticals such as estrogens, ibuprofen, caffeine, and others [30]. Because *Lemna* is an aquatic organism, it is possible to precisely analyse the concentration of tested pharmaceuticals in the medium, including their eventual metabolites.

Moreover, *Lemna* is often a source of protein for ducks, fish, and other animals, which would allow the pharmaceuticals to enter the food chain in cases where they have been absorbed by the plant. *Lemna* is also used for phytoremediation and has been studied for its capacity to remove heavy metals [31,32]. This is why understanding the influence of pharmaceuticals is crucial.

The aim of the study is to investigate the subchronic effect of three different concentrations of diazepam (0.2, 20, and 2000 μ g/L) on *Lemna minor* over a seven-day exposure and to assess the products of diazepam metabolism both qualitatively and quantitatively.

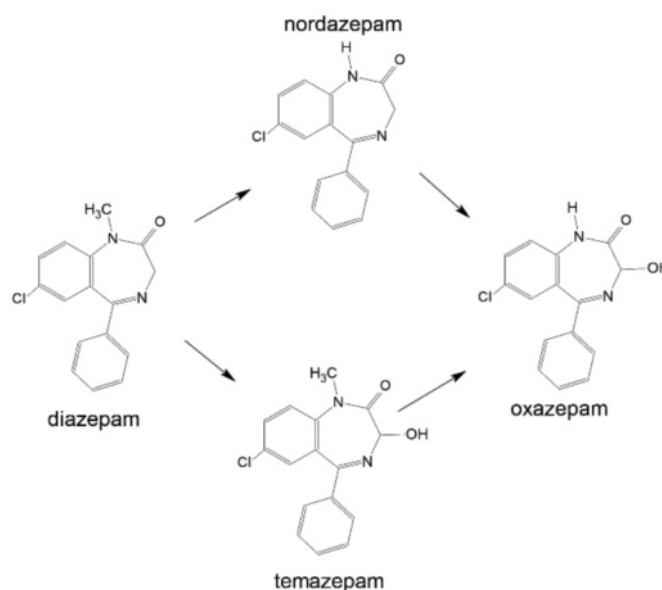


Figure 1. Diazepam metabolism. In the first phase, diazepam is metabolised into nordazepam by N-demethylation and into temazepam by hydroxylation. Further on, these are metabolised into oxazepam by hydroxylation or N-demethylation, respectively. Figure modified from [17].

2. Materials and Methods

2.1. Chemicals

Non-labelled diazepam was purchased from Fagron (Rotterdam, Netherlands). Labeled diazepam-*d5* and analytical standards of diazepam metabolites (oxazepam, temazepam and nordazepam) were purchased from Fisher Scientific (Waltham, MA, USA), diluted by methanol, and stored in the refrigerator at 8 °C. Dimethyl sulfoxide ($\geq 99.9\%$), dichloromethane, ether, hexane, methanol, formic acid, and chemicals for the Steinberg medium (potassium nitrate, calcium nitrate tetrahydrate, potassium phosphate monobasic, potassium phosphate dibasic, magnesium sulphate heptahydrate, boric acid, zinc sulphate heptahydrate, sodium molybdate dihydrate, manganese(II) chloride tetrahydrate, iron(III) chloride hexahydrate, EDTA disodium-dihydrate, sodium hydroxide, hydrochloric acid) were purchased from Sigma–Aldrich (Waltham, MA, USA). Reactive oxygen species (ROS) kits (catalase and superoxide dismutase) were purchased from Invitrogen (Waltham, MA, USA).

2.2. Lemna Cultivation

Diazepam was dissolved in $\geq 99.9\%$ dimethyl sulfoxide (DMSO) and further diluted in a Steinberg medium to achieve the selected concentrations of 0.2 $\mu\text{g/L}$, 20 $\mu\text{g/L}$, and 2000 $\mu\text{g/L}$, with a maximum of 1% DMSO. Three sets of black opaque plastic cups were cut to the height of 5 cm and filled with 40 mL of diazepam solution of the given concentration. Pure Steinberg medium-filled cups served as a control. One more set was used to control the natural photodegradability and sorption of diazepam without the presence of the plants.

Lemna minor was cultivated in Steinberg medium under laboratory conditions (12 h light-darkness cycle, white light 100 $\mu\text{mol/m}^2\cdot\text{s}$, provided by fluorescent lamps, at 22 ± 2 °C). Ten to twelve healthy leaves were selected, counted, documented, and transplanted into the prepared plastic cups containing the medium with or without the diazepam solution, beside the photodegradability and sorption control set.

The experiment was carried out over 7 days. At each timepoint of $t = 0, 24, 72, 120,$ and 168 h, one cup from each set was removed, the leaves were counted and documented, and their photosynthetic activity was measured. The plants were then removed, dried carefully with a paper towel, weighed on analytical scales, and frozen in 2 mL Eppendorf tubes at -80 °C for no more than 3 months prior to the biochemical analysis. The remaining medium was collected into sterile 50 mL plastic tubes and stored at -80 °C for up to 8 months prior to the LC-MS/MS analysis.

2.3. Chlorophyll Fluorescence Measurement

Before the measurements, all cups containing *Lemna* were dark-adapted for 5 min and then scanned by the chlorophyll fluorescence imaging camera FluorCam MF 700 (Photon Systems Instruments, Drasov, Czech Republic). Slow Kautsky kinetics supplemented with saturation pulses was applied. During the procedure, the leaves were illuminated by short weak pulses of red-measuring light ($0.5 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$) to record the basal chlorophyll fluorescence level (F_0) followed by a strong pulse of white saturating light (0.8 ms, $2000 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$) to reach the maximum fluorescence level (F_M). After a 30 s relaxation in the darkness, red actinic light ($120 \mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$) was turned on for 3 min. After this light-adaptation period, a steady-state fluorescence level (F_t , F_{t_Lss}) was recorded and another saturation pulse was applied to reach F_M' in the light-adapted state. The chlorophyll fluorescence values recorded were then used for calculating a set of chlorophyll fluorescence characteristics, including the leaf surface area, which was assessed by pixel count performed directly by FluorCam software (PSI, Drasov, Czech Republic).

2.4. ROS Analysis

Frozen plant samples with 1 mL of ultrapure water were sonicated by impulse ultrasound on ice. The samples were centrifuged, and supernatant protein was quantified. Standard catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) assays were performed and assessed as instructed by the manufacturer using a Tecan Spark[®] reader (Tecan Trading AG, Mannedorf, Switzerland).

2.5. Medium Extraction

One millilitre of the medium was extracted by 1 mL of dichloromethane-ether-hexane (30:50:20), spiked by 10 ng diazepam-d5, dried under nitrogen gas, and reconstituted by 1 mL of 50% methanol. All samples were immediately measured by liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometer (LC-MS/MS).

2.6. LC-MS/MS Analysis

The concentrations of the target molecules in the samples were determined using LC-MS/MS. Benzodiazepines were detected and quantified by the Agilent 1260 Infinity high-performance liquid chromatography system (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) combined with the Agilent 6460 TripleQuad mass spectrometer (Agilent Technologies, CA, USA) equipped with the electrospray ionization interface (ESI). Separation was achieved using Poroshell 120 EC-C18 ($2.1 \times 50 \text{ mm}$; $2.7 \mu\text{m}$) fitted with a security guard column of the same packing material (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). The mobile phase A and B consisted of 0.2% formic acid and methanol, respectively. The gradient used was: 0–10 min, linear gradient from 50% to 100% B; 10–13 min, held at 100% B followed by 4 min of re-equilibration before the next injection. The flow rate was $200 \mu\text{L}/\text{min}$, and the injection volume was $2 \mu\text{L}$. Mass data were acquired using MassHunter Workstation software (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) multiple reaction monitoring (MRM) in the positive mode. The detector settings were: capillary voltage 3000 V, nozzle voltage 300 V, gas temperature (N_2) $200 \text{ }^\circ\text{C}$, gas flow $6 \text{ mL}/\text{min}$, nebulizer 40 psi, sheath gas temperature (N_2) $250 \text{ }^\circ\text{C}$, sheath gas flow $10 \text{ mL}/\text{min}$. For the quantification and qualification of benzodiazepines, MRM transitions of protonated ions were used (see Table A1 of Appendix A).

To ensure quality, the instrument was calibrated daily with multi-level calibration curves. The detection limits were determined as a 3:1 signal-to-noise ratio (S/N) and were $0.02 \mu\text{g}/\text{L}$ for oxazepam and temazepam, and $0.01 \mu\text{g}/\text{L}$ for diazepam and nordazepam. Process efficiency (PE) and spiked recoveries (RE) determined according to the previously published method [33] differed for each metabolite and each concentration, and can be found in Table 1. The coefficients of variation ranged from 8.2 to 11.9% for oxazepam, from 5.8 to 10.3% for temazepam, from 4.6 to 9.5% for nordazepam, and from 3.3 to 7.5% for diazepam at three different target levels (0.20, 20, and $2000 \mu\text{g}/\text{L}$).

Table 1. Sensitivity of detection, process efficiency and spiked recoveries of diazepam and its metabolites temazepam, nordazepam, and oxazepam in three different concentrations.

Concentration [$\mu\text{g/L}$]	Oxazepam			Temazepam			Nordazepam			Diazepam		
	0.2	20	2000	0.2	20	2000	0.2	20	2000	0.2	20	2000
Process efficiency *	102.99 \pm 5.96	77.89 \pm 10.00	103.59 \pm 19.06	111.15 \pm 6.14	86.00 \pm 5.75	104.56 \pm 15.65	104.74 \pm 2.81	85.10 \pm 7.67	104.10 \pm 15.80	134.76 \pm 9.38	82.90 \pm 3.61	102.05 \pm 14.51
Spiked recoveries *	113.58 \pm 4.71	102.76 \pm 9.99	124.23 \pm 18.37	115.76 \pm 5.86	109.05 \pm 5.62	122.98 \pm 14.93	113.50 \pm 5.50	110.00 \pm 7.57	121.29 \pm 15.08	110.14 \pm 8.32	105.15 \pm 3.30	119.57 \pm 13.91

* data represent mean (%) \pm standard deviation over 6 repetitions.

2.7. Statistical Analysis

Data were evaluated using IBM SPSS Statistics software. Normal distribution in the samples was assessed using the Shapiro–Wilk normality test, and significance was assessed by Student's *t*-test, comparing sample values against the control.

3. Results

From all three concentration levels, most of the effects were observed in plants treated by 2000 $\mu\text{g/L}$ of diazepam, which is high above the ecotoxicologically relevant levels. However, some of the effects were detected even at lower concentrations, which correspond to diazepam levels already reported in surface waters worldwide.

The influence of diazepam in the form of oxidative stress was observed at the molecular level already on day 1. SOD synthesis was 16.36% higher in diazepam-treated samples on day 1 as compared to the control, and 9.39% lower than the control on day 2; however, differences were not statistically significant. On day 3, the changes were visible also physiologically—the leaf count increased by 8.18% in samples treated with the lowest concentration of 0.2 $\mu\text{g/L}$ diazepam; however, a statistically significant change was observed only on day 7 in the highest concentration of 2000 $\mu\text{g/L}$. The maximum quantum yield of photosynthesis was significantly higher in the lowest diazepam-treated samples (0.2 $\mu\text{g/L}$) on day 7; however, the trend was observed in all concentrations. This suggests that the ecologically relevant concentrations of diazepam stimulate photosynthesis slightly and it proves that high concentrations of diazepam do not inhibit photosynthesis in *Lemna minor*. The first metabolites of diazepam (temazepam and nordazepam) were detected in the medium already on day 2, and their concentration increased over time. The specific mechanism of the metabolic degradation of the mother molecule is yet to be discovered, and the eventual bacterial degradation should also be considered.

3.1. Biochemistry

Superoxide dismutase levels were elevated on the first day after exposure and dropped below the control level on day 3, where they stayed for next 2 days before returning to the control level (Figure 2A).

The Photosynthesis yield was affected on day 7 of the experiment and was statistically significant only in the samples treated with the lowest diazepam concentration (0.2 $\mu\text{g/L}$). No negative effect was observed, even at the highest diazepam concentration (2000 $\mu\text{g/L}$).

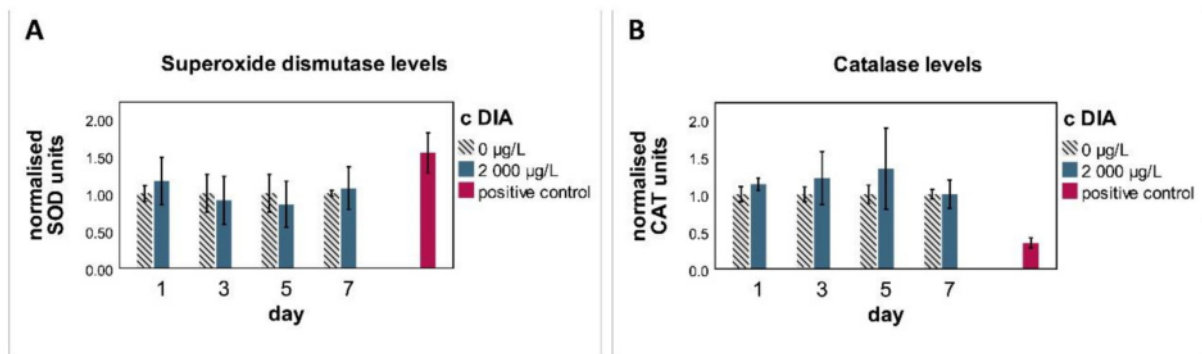


Figure 2. Biochemistry parameters of *Lemna minor*. Superoxide dismutase synthesis (A) increased immediately after 24 h, and it dropped below the control levels on days 3 and 5. The catalase level (B) remained elevated for the first five days after exposure before decreasing back to the control levels. The positive control was treated by 500 mg/L of potassium dichromate(VII) for 12 h. Data represent mean over 3 repetitions; standard deviations are indicated by whiskers.

Catalase synthesis was above the control levels starting on day 1, continued to grow between days 3 and 5, and returned to the control levels on day 7 (Figure 2B).

3.2. QY_{max}

The levels of QY_{max} ranged from 0.71 to 0.81 throughout the experiment (Figure 3A).

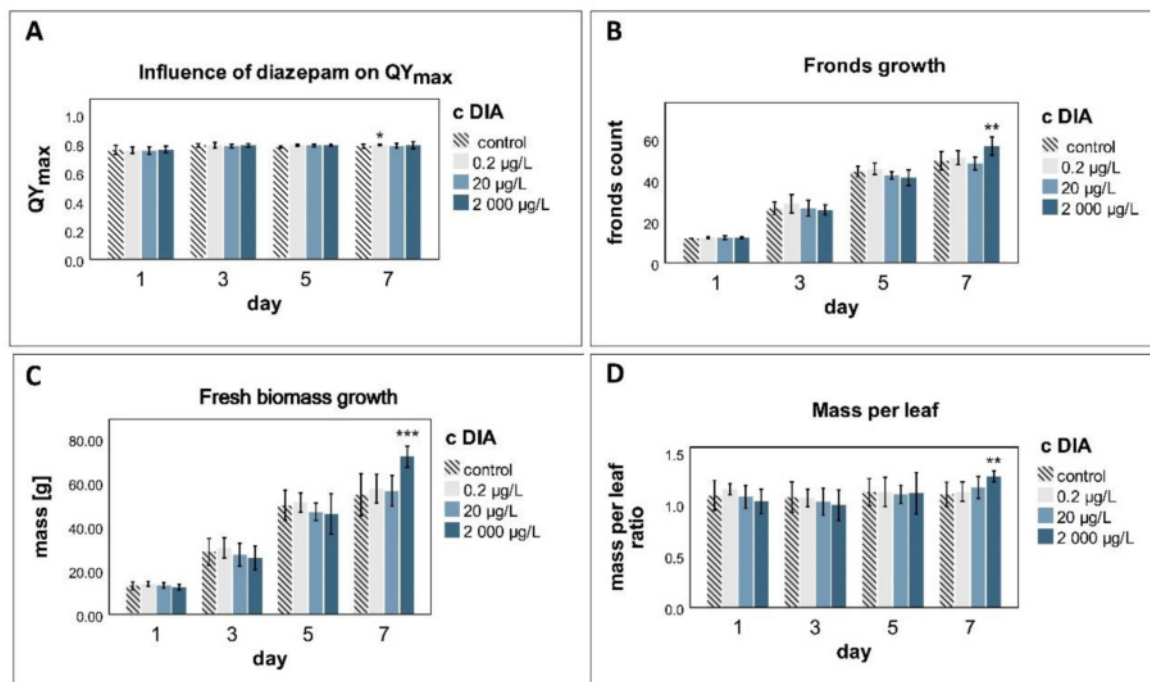


Figure 3. A stimulating effect on photosynthesis (A) was observed on the last day at the lowest concentration level of 0.2 µg/L of diazepam, while no negative effects were observed. A significant increase in fronds growth (B) was observed on the last day in plants treated with the highest diazepam concentration (2000 µg/L). The biomass of treated plants (C) increased by 470.4% by day 7, while the control group's biomass only increased by 350%. Mass per leaf (D) was higher in the plants treated with 2000 µg/L of diazepam on the last day of the experiment, as compared to the control; lower concentrations were not statistically different from the control. Data represent the mean over 3 repetitions; standard deviations are indicated by whiskers. Statistical significance is marked according to the *t*-test *p*-values: * for $p < 0.05$, ** for $p < 0.01$, and *** for $p < 0.001$.

3.3. Fronds Growth

On day 7, the number of fronds significantly increased at $c = 2000 \mu\text{g/L}$ (Figure 3B). For other days and concentrations, no significant effect was observed. In the control group, the average increase was 334.7%, while in samples treated with $2000 \mu\text{g/L}$ of diazepam, it was 372.2%.

3.4. Mass Growth

After seven days, the fronds biomass increased by 350% in the control and by 470.4% in the sample treated with $2000 \mu\text{g/L}$ diazepam. The mass per leaf ratio increased by 21.2% for the highest concentration of diazepam (Figure 3C,D). The plant leaf area was measured by PSI FluorCam FC 800-C and re-calculated per leaf. No statistical difference between the control and the treated samples was detected.

3.5. Metabolism

In the $0.2 \mu\text{g/L}$ diazepam-treated samples, the only metabolite detected was oxazepam, which appeared already on day 1 (Figure 4A). After 24 h, the amount of oxazepam started to decrease and was below LOD on day 5.

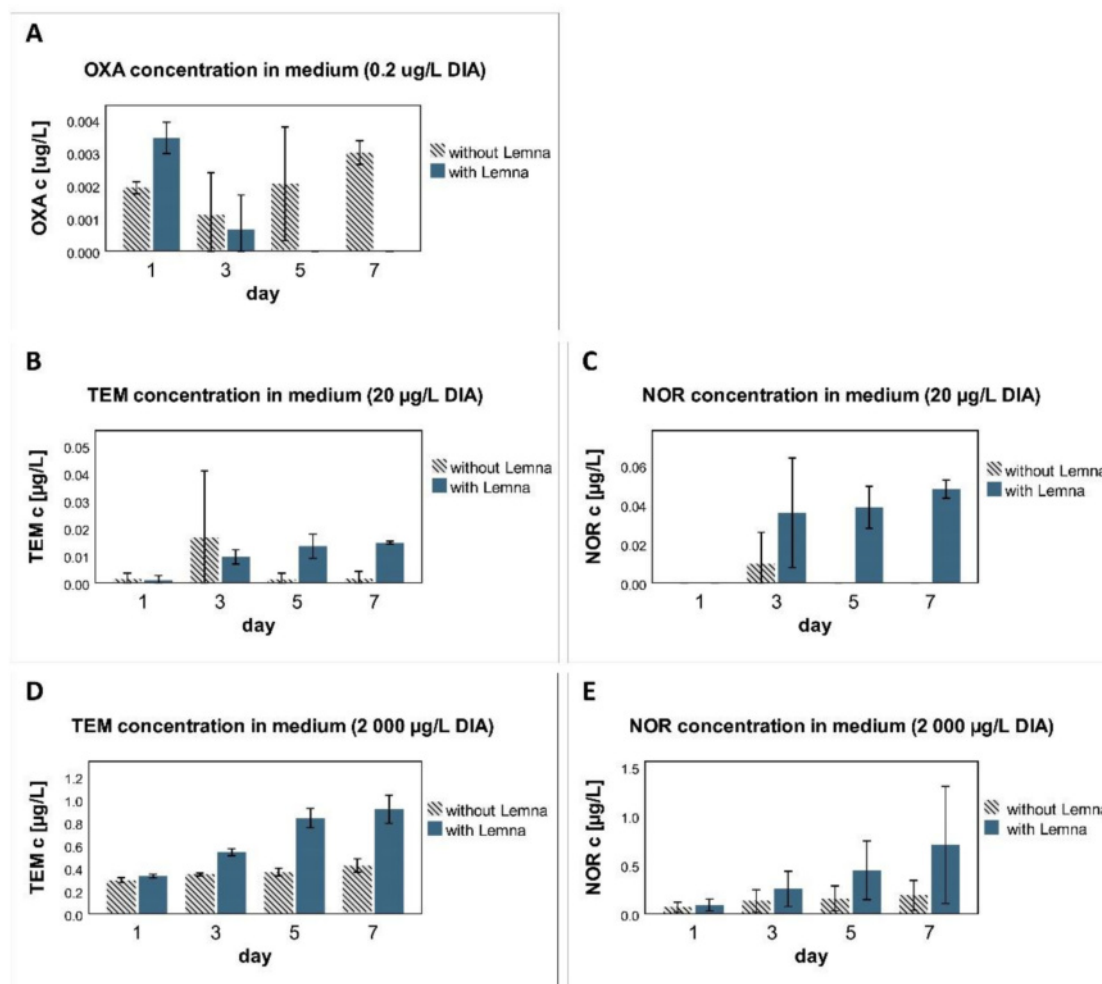


Figure 4. Quantification of diazepam metabolites in the medium after 7 days of cultivation of *Lemna* and in the medium without *Lemna*. The highest concentration of oxazepam (OXA) in the medium of the plants treated with $0.2 \mu\text{g/L}$ of diazepam (A) was detected on day 1 and decreased below LOD by day 5. The concentration of oxazepam in the control cups without the plants kept growing until the last day of the experiment. No other metabolites were detected at this diazepam concentration level.

For the medium of plants treated with 20 µg/L of diazepam, temazepam (TEM) (B) was detected on day 3 and was slowly increasing, as opposed to the control group without any plants. Nordazepam (C) followed the same trend. In the plants treated with the highest concentration of diazepam (2000 µg/L), the first metabolites were detected already on day 1, and their concentrations kept increasing rapidly (D,E).

For the diazepam concentration of 20 µg/L, the first detected metabolite was temazepam on day 1 (Figure 4B), followed by nordazepam on day 3 (Figure 4C). The concentration of both metabolites kept growing throughout the test, as opposed to the control samples without the plants, where the metabolites were only detected on day 3 and kept decreasing. Oxazepam was not detected in the samples at all.

The concentration of 2000 µg/L exhibited a steady growth in both temazepam and nordazepam concentrations (Figure 4D,E). The detected levels of metabolites increased with a tendency which was steeper than in the control samples without the plants. No oxazepam was detected in the medium.

4. Discussion

4.1. Diazepam Concentration Levels

Currently, most studies are concerned with the benzodiazepine levels detected in surface waters worldwide. However, it is important to know where the effect threshold lies. This is why three diazepam levels were evaluated—the ecotoxicologically relevant concentration of 20 µg/L and 100× lower (0.2 µg/L) and 100× higher (2000 µg/L) concentrations. During the 7-day exposure, the synthesis of new leaves occurred and, therefore, semi-chronic effects could be observed in several life cycle phases of *Lemna*.

4.2. Biochemistry

The superoxide dismutase levels rose immediately on the first day after exposure and dropped below the control levels on day 3. Superoxide dismutase levels followed this trend for two more days before rising back to the control level on day 7. We hypothesize that diazepam interferes with oxidative stress and initially induces a superoxide dismutase synthesis and reduces the stress answer.

Catalase levels rose over the first five days, leaving more catalase available for oxidative stress reactions. The results suggest that diazepam reduces the stress answer in *Lemna* for the first five days before it decreases back to the control levels.

4.3. Photosynthesis

A statistically significant difference ($p \leq 0.05$) in photosynthesis was observed only in the plants treated with the lowest concentrations of diazepam (0.2 µg/L) (Figure 3A). Because the standardized mean difference was not high, the effect seems to be minimal. Therefore, diazepam possibly does not interact with the response of plant photosystem II.

4.4. Physiological Changes

After seven days, samples treated with the highest concentration of diazepam exhibited a significantly higher fronds count, resulting in higher total biomass and area. When recalculated to mass per leaf ratio, the samples treated with the highest diazepam concentration also increased in mass, supporting the hypothesis that diazepam not only stimulates growth and frond division, but also increases the mass of each leaf. According to our observations, the area of individual fronds did not grow, meaning the fronds are thicker, but do not have a larger surface area as compared to the control.

Because the results show that diazepam in plants does not have a toxic effect at higher concentrations, and even exhibits stimulation, the underlying molecular mechanisms of action of diazepam and its metabolic pathways ought to be investigated. Previous studies reported GABA-like receptors in plants [34–36], and therefore the idea of a benzodiazepine-specific binding site in plant cells could be one of the answers.

In the past, several studies reported the effect of oxazepam on aquatic organisms, suggesting an effect on activity, sociality, boldness, and feeding rate (see Table 2.). Bouriou et al. reported no effect of oxazepam on *Lemna* plants in terms of frond number, fresh biomass, or frond area; however, the studied concentrations ranged from 0.5 to 50 µg/L and were administered in a mix containing other psychoactive compounds [37].

Table 2. Effects of oxazepam on selected aquatic organisms.

Organism	Compound	Dose	Exposure	Effect	Reference
<i>Lemna minor</i>	mixture of psychoactive drugs incl. oxazepam	0.5 µg/L	7days	No effect on frond number, fresh biomass or frond area	[37]
		5 µg/L	7days		
		50 µg/L	7days		
<i>Corbicula fluminea</i>	mixture of psychoactive drugs including oxazepam	50 µg/L	3 days	Elevated EROD, GST, CAT, otherwise no effect	
<i>Perca fluviatilis</i>	oxazepam	1.8 µg/L	7 days	Increased activity, reduced sociality	[27]
		910 µg/L	7 days	Increased activity, reduced sociality, increased boldness, higher feeding rate	
<i>Rutilus rutilus</i>	oxazepam	280 µg/L	-	Increased boldness	[28]
		0.84 µg/L	-	Increased boldness and activity	
<i>Perca fluviatilis</i>	benzodiazepine mix (OXA, BRO, TEM, CLO)	9.1, 6.9, 5.7, 8.1 µg/L	7 days	Increased boldness and activity	[13]
		0.5, 0.5, 0.3, 0.4 µg/L	7 days	Increased boldness and activity	

4.5. Metabolism

Quite recent studies suggest that plant metabolic pathways decompose diazepam in the same manner that the human body does. [38,39]. All three metabolites were detected in the medium (Figure 4). While the concentration of oxazepam in the medium without plants has increased steadily, this was not the case for the samples with *Lemna* biomass. The outcome suggests that oxazepam in the medium without *Lemna* is a result of photodegradation. As expected, the formation of oxazepam was only observed in the lowest concentration of diazepam, because the second phase of metabolism only follows the first phase. For any of the higher concentrations, no oxazepam levels were detected during the seven-day test, though the intermediate metabolites temazepam and nordazepam were detected, increasing every day. Arguably, when the metabolic pathways are busy with the first stage of metabolism, it takes longer than 7 days to degrade temazepam and nordazepam into oxazepam.

The precise metabolic pathways of diazepam in plants have not yet been described. In humans, the main effect is caused by the benzodiazepine-specific binding site in GABA receptors. Recently, GABA-like receptors have been found in plants; however, their precise structure remains unknown and so does the eventual presence of a benzodiazepine-binding site. Confirmation of an in-plant benzodiazepine-specific binding site in GABA-like receptors would be extremely scientifically interesting and could reveal the fact that, on a molecular level, psychopharmaceuticals such as diazepam can act similarly in animals as in plants.

5. Conclusions

Our research brings two important conclusions. Firstly, the influence of diazepam on *Lemna minor* suggests similarity to the human body—a reduction in oxidative stress

markers, growth propagation, and identical metabolites. A comparison to the human body may be accurate because a similar form of GABA receptors responsible for the effect in humans has recently also been described in plants [40–42].

Secondly, fundamental findings relevant for freshwater phytoremediation technologies are presented, proving that even in high concentrations, diazepam does not exhibit acute nor subchronic adverse effects on *Lemna minor*'s growth, propagation, nor photosynthesis, but on the contrary, can slightly increase the biomass of *Lemna*.

Author Contributions: Conceptualization, B.M. and A.L.; methodology, A.L., E.M. and T.M.; validation, all authors; formal analysis, A.L., B.M., E.M. and T.M.; investigation, K.O., Š.Z., A.L., T.M. and P.P.; resources, B.M. and R.O.; data curation, A.L. and T.M.; writing—original draft preparation, A.L.; writing—review and editing, A.L., B.M. and T.M.; visualization, A.L.; supervision, B.M. and R.O.; project administration, B.M.; funding acquisition, B.M. and R.O. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by Technology Agency of the Czech Republic, grant number SS01020006.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: The authors wish to thank to the Faculty of Pharmacy, Masaryk University, and the Institute of Botany, Czech Academy of Science, for support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

Appendix A

Table A1. LC-MS/MS parameters specific to each benzodiazepine.

	Parent ion(<i>m/z</i>)	Quantifier/Qualifier	Fragmentor	Collision Energy (V)
diazepam	285	154/193	150	30/30
diazepam-D ₅	290	154/198	150	30/30
nordiazepam	271	140/165	150	30/30
oxazepam	287	241/104	100	30/40
temazepam	301	255/177	100	25/45

References

- Barreto, E.F.; Larson, T.R.; Koubek, E.J. Drug Excretion. In *Reference Module in Biomedical Sciences*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, 2021.
- Nikolaou, A.; Meric, S.; Fatta, D. Occurrence patterns of pharmaceuticals in water and wastewater environments. *Anal. Bioanal. Chem.* **2007**, *387*, 1225–1234. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- OECD. *Toolkit for Water Policies and Governance*; OECD Council Recommendation on Water; OECD Publishing: Paris, France, 2021.
- Council of the European Union. Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy. Text with EEA relevance. *Off. J. Eur. Union* **2013**, *56*, 1–17. [[CrossRef](#)]
- Eurostat. Medicine Use Statistics. Available online: https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Medicine_use_statistics#Prescribed_medicines (accessed on 26 December 2021).
- Eurostat. Self-Reported Use of Prescribed Medicines by Sex, Age and Educational Attainment Level. Available online: https://ec.europa.eu/eurostat/databrowser/view/HLTH_EHIS_MD1E_custom_1718334/default/table?lang=en (accessed on 26 December 2021).
- Sengar, A.; Vijayanandan, A. Human health and ecological risk assessment of 98 pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) detected in Indian surface and wastewaters. *Sci. Total Environ.* **2022**, *807*, 18. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Kay, P.; Hughes, S.R.; Ault, J.R.; Ashcroft, A.E.; Brown, L.E. Widespread, routine occurrence of pharmaceuticals in sewage effluent, combined sewer overflows and receiving waters. *Environ. Pollut.* **2017**, *220*, 1447–1455. [[CrossRef](#)]
- Wahlberg, C.; Bjorlenius, B.; Paxeus, N. Fluxes of 13 selected pharmaceuticals in the water cycle of Stockholm, Sweden. *Water Sci. Technol.* **2011**, *63*, 1772–1780. [[CrossRef](#)]
- Reberski, J.L.; Terzic, J.; Maurice, L.D.; Lapworth, D.J. Emerging organic contaminants in karst groundwater: A global level assessment. *J. Hydrol.* **2022**, *604*, 15. [[CrossRef](#)]
- Fram, M.S.; Belitz, K. Occurrence and concentrations of pharmaceutical compounds in groundwater used for public drinking-water supply in California. *Sci. Total Environ.* **2011**, *409*, 3409–3417. [[CrossRef](#)]

12. Wu, M.; Xiang, J.; Que, C.; Chen, F.; Xu, G. Occurrence and fate of psychiatric pharmaceuticals in the urban water system of Shanghai, China. *Chemosphere* **2015**, *138*, 486–493. [CrossRef]
13. Cervený, D.; Brodin, T.; Cisar, P.; McCallum, E.S.; Fick, J. Bioconcentration and behavioral effects of four benzodiazepines and their environmentally relevant mixture in wild fish. *Sci. Total Environ.* **2020**, *702*, 134780. [CrossRef]
14. David, A.; Lange, A.; Tyler, C.R.; Hill, E.M. Concentrating mixtures of neuroactive pharmaceuticals and altered neurotransmitter levels in the brain of fish exposed to a wastewater effluent. *Sci. Total Environ.* **2018**, *621*, 782–790. [CrossRef]
15. Gomez, E.; Bachelot, M.; Boillot, C.; Munaron, D.; Chiron, S.; Casellas, C.; Fenet, H. Bioconcentration of two pharmaceuticals (benzodiazepines) and two personal care products (UV filters) in marine mussels (*Mytilus galloprovincialis*) under controlled laboratory conditions. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2012**, *19*, 2561–2569. [CrossRef] [PubMed]
16. Rudolph, U.; Mohler, H. GABA-based therapeutic approaches: GABA(A) receptor subtype functions. *Curr. Opin. Pharmacol.* **2006**, *6*, 18–23. [CrossRef] [PubMed]
17. Pang, K.S.; Morris, M.E.; Sun, H.D. Formed and preformed metabolites: Facts and comparisons. *J. Pharm. Pharmacol.* **2008**, *60*, 1247–1275. [CrossRef] [PubMed]
18. Andersson, T.; Miners, J.O.; Veronese, M.E.; Birkett, D.J. Diazepam Metabolism by Human Liver-Microsomes Is Mediated by both S-Mephenytoin Hydroxylase and CYP3A Isoforms. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **1994**, *38*, 131–137. [CrossRef] [PubMed]
19. Calcaterra, N.E.; Barrow, J.C. Classics in Chemical Neuroscience: Diazepam (Valium). *ACS Chem. Neurosci.* **2014**, *5*, 253–260. [CrossRef] [PubMed]
20. López-García, E.; Mastroianni, N.; Postigo, C.; Barceló, D.; López de Alda, M. A fully automated approach for the analysis of 37 psychoactive substances in raw wastewater based on on-line solid phase extraction-liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2018**, *1576*, 80–89. [CrossRef]
21. Fernández-Rubio, J.; Rodríguez-Gil, J.L.; Postigo, C.; Mastroianni, N.; López de Alda, M.; Barceló, D.; Valcárcel, Y. Psychoactive pharmaceuticals and illicit drugs in coastal waters of North-Western Spain: Environmental exposure and risk assessment. *Chemosphere* **2019**, *224*, 379–389. [CrossRef]
22. Huerta-Fontela, M.; Galceran, M.T.; Ventura, F. Fast liquid chromatography–quadrupole-linear ion trap mass spectrometry for the analysis of pharmaceuticals and hormones in water resources. *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 4212–4222. [CrossRef]
23. Löffler, D.; Rombke, J.; Meller, M.; Ternes, T.A. Environmental fate of pharmaceuticals in water/sediment systems. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 5209–5218. [CrossRef]
24. Bellot, M.; Barata, C.; Gomez-Canela, C. Aqueous stability and degradation of psychiatric and neuroactive compounds and its biological activity in *Daphnia magna*. *Sci. Total Environ.* **2021**, *798*, 8. [CrossRef]
25. Chen, C.; Li, L.X.; Li, M.; Wu, M.; Liang, W.H.; Takai, Y.K.; Qiu, X.C.; Shimasaki, Y.; Oshima, Y.J. Impacts of Diazepam on the Survival, Development, and Response to Light Stimulation in Early-life stages of Zebrafish (*Danio rerio*). *J. Fac. Agric. Kyushu Univ.* **2021**, *66*, 205–210. [CrossRef]
26. Gagne, F.; Andre, C.; Gelinat, M. Neurochemical effects of benzodiazepine and morphine on freshwater mussels. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* **2010**, *152*, 207–214. [CrossRef]
27. Brodin, T.; Fick, J.; Jonsson, M.; Klaminder, J. Dilute Concentrations of a Psychiatric Drug Alter Behavior of Fish from Natural Populations. *Science* **2013**, *339*, 814–815. [CrossRef] [PubMed]
28. Brodin, T.; Nordling, J.; Lagesson, A.; Klaminder, J.; Hellstrom, G.; Christensen, B.; Fick, J. Environmental relevant levels of a benzodiazepine (oxazepam) alters important behavioral traits in a common planktivorous fish, (*Rutilus rutilus*). *J. Toxicol. Environ. Health Part A Curr. Issues* **2017**, *80*, 963–970. [CrossRef] [PubMed]
29. OECD. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2: Effects on Biotic Systems, Test No. 221: Lemna sp. Growth Inhibition Test. 2006. Available online: https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-221-lemna-sp-growth-inhibition-test_9789264016194-en#page1 (accessed on 17 August 2020).
30. Markovic, M.; Neale, P.A.; Nidumolu, B.; Kumar, A. Combined toxicity of therapeutic pharmaceuticals to duckweed, *Lemna minor*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **2021**, *208*, 8. [CrossRef] [PubMed]
31. Seifi, A.; Dehghani, M. Influence of nano-titanium dioxide particles (TiO₂ NPs) on improving phytoremediation efficiency of As/Cu/Cd from copper mine wastewaters using *Lemna minor*. *Arab. J. Geosci.* **2021**, *14*, 14. [CrossRef]
32. Ali, S.; Abbas, Z.; Rizwan, M.; Zaheer, I.E.; Yava, I.; Unay, A.; Abdel-Daim, M.M.; Bin-Jumah, M.; Hasanuzzaman, M.; Kalderis, D. Application of Floating Aquatic Plants in Phytoremediation of Heavy Metals Polluted Water: A Review. *Sustainability* **2020**, *12*, 1927. [CrossRef]
33. Matuszewski, B.K.; Constanzer, M.L.; Chavez-Eng, C.M. Strategies for the assessment of matrix effect in quantitative bioanalytical methods based on HPLC-MS/MS. *Anal. Chem.* **2003**, *75*, 3019–3030. [CrossRef]
34. Bergmann, R.; Kongsbak, K.; Sorensen, P.L.; Sander, T.; Balle, T. A Unified Model of the GABA(A) Receptor Comprising Agonist and Benzodiazepine Binding Sites. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e52323. [CrossRef]
35. Ramesh, S.A.; Tyerman, S.D.; Xu, B.; Bose, J.; Kaur, S.; Conn, V.; Domingos, P.; Ullah, S.; Wege, S.; Shabala, S.; et al. GABA signalling modulates plant growth by directly regulating the activity of plant-specific anion transporters. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 7879. [CrossRef]
36. Žárský, V. Signal transduction: GABA receptor found in plants. *Nat. Plants* **2015**, *1*, 15115. [CrossRef] [PubMed]

37. Bouriou, M.; Mazzitelli, J.Y.; Marty, P.; Budzinski, H.; Aleya, L.; Bonnafe, E.; Geret, F. Assessment of *Lemna minor* (duckweed) and *Corbicula fluminea* (freshwater clam) as potential indicators of contaminated aquatic ecosystems: Responses to presence of psychoactive drug mixtures. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2018**, *25*, 11192–11204. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Carter, L.J.; Williams, M.; Martin, S.; Kamaludeen, S.P.B.; Kookana, R.S. Sorption, plant uptake and metabolism of benzodiazepines. *Sci. Total Environ.* **2018**, *628–629*, 18–25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Dudley, S.; Sun, C.L.; McGinnis, M.; Trumble, J.; Gan, J. Formation of biologically active benzodiazepine metabolites in *Arabidopsis thaliana* cell cultures and vegetable plants under hydroponic conditions. *Sci. Total Environ.* **2019**, *662*, 622–630. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Lindemann, P.; Koch, A.; Degenhardt, B.; Hause, G.; Grimm, B.; Papadopoulos, V. A Novel *Arabidopsis thaliana* Protein is a Functional Peripheral-Type Benzodiazepine Receptor. *Plant Cell Physiol.* **2004**, *45*, 723–733. [[CrossRef](#)]
41. Frank, W.; Baar, K.-M.; Qudeimat, E.; Woriedh, M.; Alawady, A.; Ratnadewi, D.; Gremillon, L.; Grimm, B.; Reski, R. A mitochondrial protein homologous to the mammalian peripheral-type benzodiazepine receptor is essential for stress adaptation in plants. *Plant J.* **2007**, *51*, 1004–1018. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Corsi, L. Peripheral benzodiazepine receptors in potatoes (*Solanum tuberosum*). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *313*, 62–66. [[CrossRef](#)]