



Sveučilište u Zagrebu

FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I
TEHNOLOGIJE

Bruna Babić Visković

**PROCJENA KVALITETE VODA TIJEKOM I
NAKON NAPREDNIH PROCESA OBRAD
PRIMJENOM ANALITIČKO-
BIOANALITIČKIH ALATA**

DOKTORSKI RAD

Zagreb, 2025.



University of Zagreb
FACULTY OF CHEMICAL ENGINEERING AND
TECHNOLOGY

Bruna Babić Visković

**ASSESSMENT OF WATER QUALITY
DURING AND AFTER ADVANCED
TREATMENT PROCESSES USING
ANALYTICAL-BIOANALYTICAL TOOLS**

DOCTORAL THESIS

Zagreb, 2025



Sveučilište u Zagrebu
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I
TEHNOLOGIJE

Bruna Babić Visković

**PROCJENA KVALITETE VODA TIJEKOM I
NAKON NAPREDNIH PROCESA OBRAD
PRIMJENOM ANALITIČKO-
BIOANALITIČKIH ALATA**

DOKTORSKI RAD

Mentori:
prof. dr. sc. Danijela Ašperger
prof. dr. sc. Davor Dolar

Zagreb, 2025.



University of Zagreb
FACULTY OF CHEMICAL ENGINEERING AND
TECHNOLOGY

Bruna Babić Visković

**ASSESSMENT OF WATER QUALITY
DURING AND AFTER ADVANCED
TREATMENT PROCESSES USING
ANALYTICAL-BIOANALYTICAL TOOLS**

DOCTORAL THESIS

Supervisors:
prof. Danijela Ašperger
prof. Davor Dolar

Zagreb, 2025

SAŽETAK

Ksenobiotici, kao kemijski spojevi strani biološkim sustavima, predstavljaju značajan rizik za okoliš zbog sve intenzivnije i često nekontrolirane primjene u industriji, poljoprivredi, medicini i svakodnevnom životu. Njihova prisutnost u vodenim sustavima posebno zabrinjava zbog mogućnosti akumulacije u organizmima, ulaska u prehrambeni lanac te nastanka razgradnih i transformacijskih produkata s potencijalno povećanom toksičnošću. U okviru ovoga doktorskog rada istraživana je sudbina i mogućnost uklanjanja odabranih antiparazitika iz skupine anthelmintika (albendazol, febantel i mebendazol) te pesticida iz skupine neonikotinoida (acetamiprid, klotianidin i tiakloprid) primjenom različitih tehnologija obrade voda.

Cilj istraživanja bio je ispitati učinkovitost biološke obrade aktivnim muljem, membranskih separacijskih procesa (ultrafiltracija (UF), nanofiltracija (NF) i reverzna osmoza (RO)), fotolize te fotokemijskog procesa u kombinaciji sa simuliranim sunčevim zračenjem i vodikovim peroksidom (H_2O_2). Dodatni ciljevi uključivali su identifikaciju razgradnih i transformacijskih produkata te procjenu ekotoksičnosti prije i nakon primjene navedenih postupaka, s naglaskom na moguće štetne učinke novonastalih spojeva.

Dobiveni rezultati pokazali su da je tijekom biološke obrade aktivnim muljem dominantan proces uklanjanja anthelmintika adsorpcija na pahuljice mulja, dok je njihova stvarna biorazgradnja ograničena. Za razliku od njih, pesticidi pokazuju još niži stupanj uklanjanja, pri čemu je adsorpcija manje izražena, a ključnu prepreku predstavlja njihova izrazito slaba biorazgradivost. Sve analizirane komponente stoga se mogu svrstati u skupinu teško biorazgradivih spojeva, što naglašava ograničenu učinkovitost bioloških postupaka u njihovom uklanjanju iz otpadnih voda. Membranski separacijski procesi pokazali su jasan trend učinkovitosti u skladu s poroznošću membrana ($\text{UF} < \text{NF} < \text{RO}$). RO pokazala se najdjelotvornijim procesom, postižući više od 90 % uklanjanja pri gotovo svim ispitivanim uvjetima, osobito pomoću ESPA-4 membrane, dok je NF bila manje učinkovita. Optimalni parametri za RO proces su tlak od 12,5 bar i brzina strujanja 4 L/min, a za NF 10 bar i 4 L/min. FTIR analiza membrana potvrdila je adsorpciju albendazola i mebendazola na poliamidnom sloju. Napredni oksidacijski procesi pokazali su se iznimno učinkovitima za uklanjanje neonikotinoida i anthelmintika. Fotoliza u prisutnosti H_2O_2 dovela je do gotovo potpunog uklanjanja klotianidina i tiakloprida, dok je acetamiprid pokazao veću otpornost. Kod anthelmintika najbolju razgradnju pokazali su albendazol i mebendazol, dok se febantel

pokazao postojanijim. Rezultati su potvrdili da pH-vrijednost i koncentracija H₂O₂ značajno utječu na kinetiku razgradnje – najbrže uklanjanje neonikotinoida postignuto je pri kiselim uvjetima (pH=4), dok je za anthelmintike učinkovitost rasla s većim koncentracijama H₂O₂. Primjenom LC-MS/MS metode identificirani su brojni razgradni i transformacijski produkti, pri čemu je uočeno da novonastali spojevi mogu pridonijeti povećanoj toksičnosti. Testovi provedeni s bakterijom *Vibrio fischeri* potvrdili su porast ekotoksičnosti nakon obrade u pojedinim slučajevima, posebno kod acetamiprida, albendazola, klotianidina i tiakloprida, dok su febantel i mebendazol pokazali smanjenje ili potpun nestanak inhibicijskog učinka.

Rezultati istraživanja jasno upućuju na to da kombinacija membranskih i naprednih oksidacijskih procesa, u sinergiji s biološkom obradom, omogućuje učinkovito uklanjanje odabranih ksenobiotika iz voda. Međutim, istodobno se naglašava nužnost identifikacije razgradnih produkata i procjene njihove ekotoksičnosti, budući da uklanjanje matičnih spojeva ne jamči smanjenje ukupnog ekotoksičnog učinka. Doprinos ovoga doktorskog rada očituje se u boljem razumijevanju sudbine anthelmintika i neonikotinoida u procesima obrade otpadnih voda, u demonstraciji primjenjivosti membranskih i fotokemijskih tehnologija te u naglašavanju važnosti integriranog pristupa koji obuhvaća i analitičku i ekotoksikološku evaluaciju. Dobiveni rezultati predstavljaju temelj za daljnji razvoj učinkovitih i održivih metoda obrade voda te mogu poslužiti kao znanstvena podloga za unapređenje zakonodavnih okvira u zaštiti okoliša.

Ključne riječi: *ksenobiotici, anthelmintici, neonikotinoidi, membranski separacijski procesi, biološka obrada, napredni oksidacijski procesi, razgradni produkti, ekotoksičnost*

ABSTRACT

Xenobiotics, chemical compounds that are foreign to biological systems, pose a considerable risk to the environment due to their increasingly intensive and often uncontrolled use in industry, agriculture, medicine and everyday life. Their presence in aquatic systems is of particular concern as they can accumulate in organisms, enter the food chain and the form degradation and transformation products with potentially increased toxicity. In this doctoral thesis, the fate and removal of selected antiparasitics from the anthelmintic group (albendazole, febantel and mebendazole) and pesticides from the neonicotinoid group (acetamiprid, clothianidin and thiacloprid) were investigated using different water treatment technologies.

The aim of the research was to evaluate the effectiveness of biological treatment with activated sludge, membrane separation processes (ultrafiltration (UF), nanofiltration (NF) and reverse osmosis (RO)), photolysis and photochemical processes in combination with simulated solar radiation and hydrogen peroxide (H_2O_2). Further objectives were the identification of degradation and transformation products and the assessment of ecotoxicity before and after the application of the mentioned processes, focusing on the potentially harmful effects of the newly formed compounds.

The results showed that in biological treatment with activated sludge, adsorption on the sludge flocs is the most important process for the removal of anthelmintics, while their actual biodegradation is limited. Pesticides, on the other hand show an even lower degree of removal, with less pronounced adsorption, and the main obstacle is their extremely poor biodegradability. All analyzed components can therefore be classified as poorly biodegradable compounds, which underlines the limited efficiency of biological processes in their removal from wastewater. The membrane separation processes showed a clear trend in efficiency depending on the porosity of the membranes ($\text{UF} < \text{NF} < \text{RO}$). Reverse osmosis proved to be the most effective process, achieving more than 90% removal under almost all conditions tested, especially when using the ESPA-4 membrane, while NF was less efficient. The optimal parameters for the RO process are a pressure of 12.5 bar and a flow rate of 4 L/min, for the NF 10 bar and 4 L/min. FTIR analysis of the membranes confirmed the adsorption of albendazole and mebendazole on the polyamide layer. The advanced oxidation processes were very effective in removing neonicotinoids and anthelmintics. Photolysis in the presence of H_2O_2 resulted in almost complete removal of clothianidin and thiacloprid, while

acetamiprid showed greater resistance. Among the anthelmintics, albendazole and mebendazole showed the best degradation, while febantel proved to be more stable. The results confirmed that pH-value and H₂O₂ concentration significantly influence the degradation kinetics – the fastest removal of neonicotinoids was achieved under acidic conditions (pH=4), while for anthelmintics the efficiency increased with higher H₂O₂ concentrations. Numerous degradation and transformation products were identified using the LC-MS/MS method, and it was found that newly formed compounds may contribute to increased toxicity. Tests with the bacterium *Vibrio fischeri* confirmed an increase in ecotoxicity in some cases, particularly with acetamiprid, albendazole, clothianidin and thiacloprid, while febantel and mebendazole showed a reduction or complete disappearance of the inhibitory effect.

The research results clearly show that the combination of membrane and advanced oxidation processes in synergy with biological treatment enables the effective removal of selected xenobiotics from water. At the same time, however, the need to identify the degradation products and assess their ecotoxicity is emphasized, as the removal of parent compounds does not guarantee a reduction in overall ecotoxicity. The contribution of this doctoral work is to better understand the fate of anthelmintics and neonicotinoids in wastewater treatment processes, to demonstrate the applicability of membrane and photochemical technologies and to emphasize the importance of an integrated approach that includes both analytical and ecotoxicological assessment. The results obtained provide the basis for the further development of efficient and sustainable methods of water treatment and can serve as a scientific basis for improving the legal framework for environmental protection.

Keywords: *xenobiotics, anthelmintics, neonicotinoids, membrane separation processes, biological treatment, advanced oxidation processes, degradation products, ecotoxicity*