

# Uklanjanje kationskog bojila malahitnog zelenila iz vode biosorpcijom na otpadnu inaktivnu biomasu gljive *Fomitopsis pinicola*

---

Kamenjaš, Mateja

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, FACULTY OF FOOD TECHNOLOGY / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:109:797932>

Rights / Prava: [Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International](#)/[Imenovanje-Nekomercijalno-Dijeli pod istim uvjetima 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-04-02**

REPOZITORIJ

PTFS

PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK

dabar  
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology Osijek](#)



**SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU**

**PREHRAMBENO-TEHNOLOŠKI FAKULTET OSIJEK**

Mateja Kamenjaš

**UKLANJANJE KATIONSKEG BOJILA MALAHITNOG ZELENILA IZ VODE  
BIOSORPCIJOM NA OTPADNU INAKTIVNU BIOMASU GLJIVE  
*Fomitopsis pinicola***

DIPLOMSKI RAD

Osijek, srpanj 2022.

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku  
Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek  
Zavod za procesno inženjerstvo  
Katedra za bioproceno inženjerstvo  
Franje Kuhača 20, 31000 Osijek, Hrvatska

**Diplomski sveučilišni studij Prehrambeno inženjerstvo**

**Znanstveno područje:** Biotehničke znanosti  
**Znanstveno polje:** Biotehnologija  
**Nastavni predmet:** Osnove biotehnologije  
**Tema rada** je prihvaćena na VIII. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2020./2021. održanoj 27. svibnja 2021. godine  
**Mentor:** izv. prof. dr. sc. *Natalija Velić*  
**Pomoć pri izradi:** dr. sc. *Indira Kosović*

**Uklanjanje kationskog bojila malahitnog zelenila iz vode biosorpcijom na otpadnu inaktivnu biomasu gljive*****Fomitopsis pinicola***

*Mateja Kamenjaš, 0113143233*

**Sažetak:** Cilj ovog rada bio je istražiti biosorpcijski potencijal inaktivne biomase ljekovite gljive *Fomitopsis pinicola* za uklanjanje sintetskog bojila malahitnog zelenila (MZ) iz vode. Šaržnim postupkom istraživani su različiti čimbenici koji utječu na proces biosorpcije: koncentracija biosorbensa (0.5 – 10 g/L), vrijeme kontakta (1 - 180 min), početna koncentracija bojila (10 – 200 mg/L) i pH (4 - 10). Postotak uklanjanja bojila se povećao s povećanjem koncentracije biosorbensa i vremena kontakta između biosorbensa i MZ. Povećanje početne koncentracije bojila od 10 do 200 mg/L dovelo je do smanjenja postotka uklanjanja bojila (od 96 do 42.67 %) i povećanja količine bojila adsorbirane po gramu biosorbensa (od 4.33 do 31.97 mg/g). Uklanjanje MZ iz sintetske otpadne vode s dodatkom bojila (koncentracija bojila od 10 do 100 mg/L) je bilo jednako učinkovito kao uklanjanje MZ iz modelnih otopina, pri čemu je postotak uklanjanja bojila također opadao s porastom koncentracije bojila od 96.75 do 62.6 %. Veći postotak uklanjanja bojila, odnosno učinkovitost biosorpcije postignuta je pri pH > 7. Eksperimentalno dobiveni podatci analizirani su pomoću ravnotežnih adsorpcijskih modela (Freundlich i Langmuir). Rezultati su pokazali kako Freundlichov model nešto bolje opisuje proces biosorpcije MZ na inaktivnu biomasu *Fomitopsis pinicola*. Kintetički model pseudo-drugog reda pokazuje bolje slaganje s eksperimentalnim podacima od modela pseudo-prvog reda. Rezultati ukazuju da ekstrahirana inaktivna biomasa ljekovite gljive *Fomitopsis pinicola* ima potencijal za upotrebu u remedijaciji otpadnih voda onečišćenih sintetskim bojilom malahitnim zelenilom.

**Ključne riječi:** biosorpcija, malahitno zelenilo, inaktivna biomasa gljive, *Fomitopsis pinicola*

**Rad sadrži:** 44 stranice  
16 slika  
3 tablice  
0 priloga  
57 literaturnih referenci

**Jezik izvornika:** hrvatski

**Sastav Povjerenstva za ocjenu i obranu diplomskog rada i diplomskog ispita:**

|   |               |
|---|---------------|
| 1. prof. dr. sc. <i>Lidija Jakobek Barron</i> | predsjednik   |
| 2. izv. prof. dr. sc. <i>Natalija Velić</i>   | član-mentor   |
| 3. doc. dr. sc. <i>Marija Stjepanović</i>     | član          |
| 4. doc. dr. sc. <i>Ivana Tomac</i>            | zamjena člana |

**Datum obrane:** 18. srpnja 2022.

**Rad je u tiskanom i elektroničkom (pdf format) obliku pohranjen u** Knjižnici Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

GRADUATE THESIS

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek  
Faculty of Food Technology Osijek  
Department of Process Engineering  
Subdepartment of Bioprocess Engineering  
Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

### Graduate program Food Engineering

**Scientific area:** Biotechnical sciences

**Scientific field:** Biotechnology

**Course title:** Basics of Biotechnology

**Thesis subject** was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. VIII held on May 27, 2021

**Mentor:** *Natalija Velić*, PhD, associate prof.

**Technical assistance:** *Indira Kosović*, PhD

### Removal of the cationic dye Malachite Green from water by biosorption on waste inactive biomass of the fungus *Fomitopsis pinicola*

*Mateja Kamenjaš*, 0113143233

**Summary:** The aim of this study was to investigate the biosorptive potential of the inactive biomass of the medicinal mushroom *Fomitopsis pinicola* to remove the synthetic dye malachite green (MG) from water. Various factors affecting the biosorption process were investigated in a batch procedure, namely the concentration of biosorbent (0.5 - 10 g/L), contact time (1 - 180 min), initial dye concentration (10 - 200 mg/L), and pH (4 - 10). The percentage of dye removal increased with increasing biosorbent concentration and contact time between biosorbent and MG. A decrease in the percentage of dye removal (from 96 to 42.67%) and an increase in the amount of dye adsorbed on biomass (from 4.33 to 31.97 mg/g) were observed when the concentration of MG was increased from 10 to 200 mg/L. The removal of MG from synthetic wastewater with the addition of MG (concentration 10-200 mg/L) was as efficient as the removal from MG model solutions, and the percentage of dye removal decreased (from 96.75 to 62.6 %) with the increase of initial dye concentration ranging from to. The pH > 7 favoured the efficiency of biosorption. The data from the model MG solution experiments were analysed using adsorption equilibrium models (Freundlich and Langmuir). The results showed that the Freundlich model described the process of MG biosorption on inactive *F. pinicola* biomass slightly better. Furthermore, of the two kinetic models used (pseudo-first and pseudo-second-order model) the kinetics of the biosorption process was better described by the pseudo-second-order model. The results suggest that the extracted inactive biomass of the medicinal mushroom *F. pinicola* has potential for remediation of wastewater contaminated with the synthetic dye malachite green.

**Key words:** biosorption, Malachite Green, inactive fungal biomass, *Fomitopsis pinicola*

**Thesis contains:** 44 pages  
16 figures  
3 tables  
0 supplements  
57 references

**Original in:** Croatian

### Defense committee:

- |   |              |
|---|--------------|
| 1. <i>Lidija Jakobek Barron</i> , PhD, prof.        | chair person |
| 2. <i>Natalija Velić</i> , PhD, associate prof.     | supervisor   |
| 3. <i>Marija Stjepanović</i> , PhD, assistant prof. | member       |
| 4. <i>Ivana Tomac</i> , PhD, assistant prof.        | stand-in     |

**Defense date:** July 18, 2022

**Printed and electronic (pdf format) version of thesis is deposited in** Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek

*Najljepše zahvaljujem svojoj mentorici izv. prof. dr. sc. Nataliji Velić na nesebičnoj pomoći, savjetima, pristupačnosti i ljubaznosti tijekom planiranja i izrade ovog diplomskog rada.*

*Veliko hvala dr. sc. Indiri Kosović i kolegici Ana-Mariji Drempetić na suradnji prilikom izvođenja eksperimenata i stvaranju ugodne radne atmosfere u laboratoriju.*

*Hvala svim djelatnicima fakulteta, kolegama i prijateljima.*

*Posebnu zahvalnost želim izraziti svojoj obitelji koja mi je bila glavni oslonac, podrška i motivacija tijekom ovih godina studiranja.*

## Sadržaj

|   |     |
|---|-----|
| 1. UVOD.....  | 1   |
| 2. TEORIJSKI DIO .....  | 3   |
| 2.1. Sintetska bojila i njihov utjecaj na okoliš i zdravlje čovjeka .....   | 4   |
| 2.1.1. Malahitno zelenilo .....   | 5   |
| 2.2. Uklanjanje sintetskih bojila iz otpadnih voda .....  | 6   |
| 2.2.1. Biosorpcija .....  | 7   |
| 2.2.1.1 Biosorbensi .....   | 9   |
| 2.3. Inaktivna biomasa gljiva kao biosorbens .....  | 10  |
| 2.3.1. <i>Fomitopsis pinicola</i> ili <i>crvenoruba guba</i> .....  | 12  |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO .....  | 14  |
| 3.1. Zadatak .....  | 15, |
| 3.2. Materijali.....  | 15  |
| 3.2.1. Kemikalije .....   | 15  |
| 3.2.2. Instrumenti .....  | 15  |
| 3.2.3. Biosorbens .....   | 16  |
| 3.3. Metode .....   | 17  |
| 3.3.1. Određivanje točke nul naboja.....  | 17  |
| 3.3.2. Priprema modelnih otopina bojila .....   | 17  |
| 3.3.3. Priprema sintetske otpadne vode s dodatkom bojila .....  | 17  |
| 3.3.4. Šaržni biosorpcijski eksperimenti .....  | 17  |
| 3.3.5. Adsorpcijski ravnotežni modeli i kinetika adsorpcije .....   | 20  |
| 3.3.6. Obrada rezultata .....   | 21  |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA .....   | 22  |
| 4.1. Određivanje točke nul naboja biosorbensa ( $pH_{pzc}$ ).....   | 23  |
| 4.2. Uklanjanje malahitnog zelenila iz vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive <i>F. pinicola</i> .....       | 24  |
| 4.2.1. Utjecaj koncentracije biosorbensa na proces biosorpcije .....  | 24  |
| 4.2.2. Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i bojila (adsorbata) na proces biosorpcije .....                 | 25  |
| 4.2.3. Utjecaj početne koncentracije bojila na proces biosorpcije .....   | 27  |
| 4.2.4. Utjecaj pH vrijednosti na proces biosorpcije.....  | 29  |
| 4.2.5. Utjecaj temperature na proces biosorpcije.....   | 30  |
| 4.2.6. Uklanjanje bojila iz sintetske otpadne vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive <i>F. pinicola</i> .... | 35  |
| 5. ZAKLJUČCI .....  | 37  |
| 6. LITERATURA.....  | 39  |

## **1. UVOD**

Sintetska su bojila zbog svoje široke primjene u velikom broju industrija, kao onečišćujuće tvari često prisutne u industrijskim otpadnim vodama te na taj način i dospijevaju u okoliš. U vodenim ekosustavima se uglavnom zadržavaju dugo, jer su zbog svoje kemijske strukture vrlo stabilna i teško se razgrađuju. Sintetska bojila narušavaju ekološku ravnotežu vodenih ekosustava i imaju negativan utjecaj na prisutnu floru i faunu, a indirektno mogu imati negativan utjecaj i na zdravlje čovjeka (Crini, 2006).

Zbog svega navedenog, važno je sintetska bojila ukloniti iz otpadnih voda prije ispuštanja u okoliš, pri čemu su se postupci obrade koji se uobičajeno primjenjuju na konvencionalnim biološkim uređajima za pročišćavanje otpadnih voda pokazali nedovoljno učinkovitim. Metode koje se koriste za uklanjanje sintetskih bojila iz otpadnih voda dijele se na fizikalno-kemijske i biološke metode te se i dalje intenzivno istražuju s ciljem razvoja novih ili unaprijeđenih metoda koje će biti što učinkovitije, ekonomičnije i jednostavnije za primjenu. Jedna od metoda koja se također intenzivno istražuje, ali i primjenjuje na realnim sustavima je adsorpcija. Kada se kao adsorbens koristi materijal biološkog podrijetla, govorimo o biosorpciji, a takve materijale nazivamo biosorbensi (Khalaf, 2008). Brojna istraživanja pokazala su kako su biološki materijali, dostupni u prirodi ili zaostali u obliku otpada u industriji, imaju potencijal za primjenu kao zamjena za (često) skupe komercijalno dostupne adsorbense.

U ovom radu kao biosorbens je korištena inaktivna biomasa makroskopske gljive *Fomitopsis pinicola*, koja u značajnim količinama zaostaje nakon ekstrakcije biološki aktivnih spojeva iz osušenog i samljevenog plodišta gljive.



## **2. TEORIJSKI DIO**

## 2.1. Sintetska bojila i njihov utjecaj na okoliš i zdravlje čovjeka

Sintetska bojila su tvari, najčešće organske prirode, koje se koriste za bojenje različitih materijala, pri čemu ulaze u materijali i s njim tvore kemijsku vezu, vežu se s komponentama materijala privlačnim silama (fizikalno) ili stvaraju netopljive spojeve unutar materijala. U svojoj građi sadrže kromofornu skupinu (etilenska  $-C=C-$ , karbonilna  $-C=O$ , nitrozo  $-N=O$ , azo  $-N=N-$ ) te auksokromnu skupinu ( $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-SO_3H$ ,  $-COOH$ ) (web 1). Kromoforna skupina je nositelj obojenosti i apsorbira zračenje u vidljivog dijelu elektromagnetskog spektra (Kiernan, 2001), a auksokromna skupina nadopunjuje kromofor i omogućuje vezivanje bojila na materijal (Gupta i Suhas, 2009).

Više od 10 000 komercijalno dostupnih sintetskih bojila (Gürses i sur., 2016) mogu se podijeliti na više načina, a najčešće korištene podjele su one po primjenskim svojstvima i po kemijskoj strukturi. Prema primjenskim svojstvima bojila se dijele na bojila topljiva u alkoholu, bojila koja se grade na vlaknu (oksidacijska bojila, acetatna bojila), bojila topljiva u vodi (bazna, kisela i kiselomoćilska, direktna, reaktivna) i bojila netopljiva u vodi (npr. disperzijska, pigmentna, topljiva u mastima i uljima). Prema strukturi bojila se dijele na azo-bojila koja čine najveću skupinu sintetskih bojila, zatim na nitrozo, nitro, stilbenska, tiazolna, tiazinska, oksazinska i azinksa, trifenilmetanska, ketonimidna, ksantenska, sumporna, indigoidna, akridinska, antrakinonska i druga (Gürses i sur., 2016). Većina sintetskih bojila su aromatske strukture, što ih čini teško biorazgradljivima te se ubrajaju u skupinu ksenobiotika (Yu i Wen, 2005).

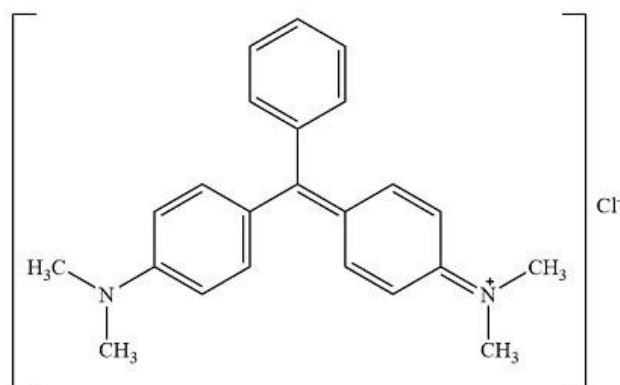
Sintetska bojila upotrebljavaju se u velikom broju industrijskih proizvodnih procesa od proizvodnje hrane i lijekova do proizvodnje papira, plastičnih masa, kože, tekstila i drugo. Ipak, vodeće u njihovoj upotrebi su tekstilna, papirna i kozmetička industrija (Grassi i sur., 2012). Velika količina sintetskih bojila koja se koristi u procesu bojenja tijekom proizvodnih procesa završava u industrijskim otpadnim vodama te predstavlja opterećenje za okoliš, ukoliko se obojene otpadne vode ispuštaju u prirodne prijemnike (različite vodene ekosustave) nepročišćene ili nedovoljno pročišćene. Zahtjevi koji se postavljaju za sintetska bojila, s obzirom na njihovu primjenu, su da budu vrlo stabilna i otporna na svjetlost, toplinu, oksidaciju i mikrobnu razgradnju. Navedena svojstva, kao i već spomenuta aromatska struktura većine sintetskih bojila dovode do problema s njihovom razgradnjom, odnosno uklanjanjem te se stoga dugo zadržavaju i akumuliraju u vodenim ekosustavima.

S obzirom da je obojenje vode vidljivo već pri vrlo malim koncentracijama sintetskih bojila od 1 mg/L (Cuoto, 2009), kada su prisutna u vodi smanjuju prodor svjetlosti i topljivost kisika, što nepovoljno utječe na biljni i životinjski svijet vodenih ekosustava, a neka od sintetskih bojila pokazuju i teratogeni, mutageni i karcinogeni učinak na organizme vodenih ekosustava (Mathur i Bhatnagar, 2007).

Sintetska bojila mogu imati štetan učinak i na zdravlje čovjeka, kako indirektno putem vodenih organizama koji su dio prehrambenog lanca, tako i direktno. Razlikujemo akutnu i kroničnu toksičnost za ljude, pri čemu su zabilježene manifestacije akutne toksičnosti uključivale iritacije kože i očiju, glavobolje, povraćanje i dijareju, astmatične napade, ubrzani puls dok se kronična toksičnost očituje kroz genotoksičnost, karcinogenost i mutagenost sintetskih bojila (Roy i sur., 2018; Abdallah i Taha, 2012).

### **2.1.1. Malahitno zelenilo**

Malahitno zelenilo je kationsko sintetsko bojilo kemijske formule  $C_{23}H_{24}ClN_2$  koje pripada skupini trifenilmetanskih bojila kod kojih su atomi vodika fenilnih skupina supstituirani hidroksilnim, sulfonskim ili amino skupinama (slika 1). Prvi put ga je sintetizirao Hermann Fischer 1877. godine.



**Slika 1.** Strukturna formula malahitnog zelenila

Dolazi u obliku kristalnog praha zelene boje i metalnog sjaja (slika 2) koji podsjeća na mineral malahit prema kojemu je dobilo ime, dok su vodene otopine plavo-zelene boje. Dobro je topljiv u vodi i etanolu.



**Slika 2.** Malahitno zelenilo

Iako se malahitno zelenilo izvorno koristilo za bojanje svile, vune i pamuka (Gupta i Suhas, 2009), njegova se upotreba proširila i na industriju papira i keramike. Zbog izraženih antimikrobnih svojstava, primjenjuje se u akvakulturi (kao antifungalno sredstvo) i medicini, a u medicini te mikrobiologiji primjenjuje se za bojenje histoloških i mikrobioloških preparata (Culp i Beland, 1996). Zbog promjene boje pri različitim pH vrijednostima vodenih otopina, koristi se i kao indikatorsko bojilo (web 2). Uzrokuje akutnu toksičnost ako se udahne (dijareja i bolovi u abdomenu), dođe u dodir s očima (dolazi do ozbiljne iritacije ili oštećenja oka) ili kožom (nagrizajuće djelovanje). Istraživanja na laboratorijskim životinjama pokazala su kako duže izlaganje malahitnom zelenilu može imati štetan učinak na imunološki i reproduktivni sustav te genotoksični i karcinogeni učinak (Srivastava i sur., 2004).

## **2.2. Uklanjanje sintetskih bojila iz otpadnih voda**

Kako bi se izbjegao štetan utjecaj sintetskih bojila na okoliš i ljudsko zdravlje, potrebno ih je ukloniti iz otpadnih voda prije ispuštanja vode u prirodne prijemnike, što uključuje primjenu odgovarajućih metoda obrade, odnosno pročišćavanja obojenih otpadnih voda (Drumm i sur., 2019). Konvencionalni uređaji za biološko pročišćavanje otpadnih voda uključuju mehaničke, fizikalno-kemijske i biološke postupke kojima se postiže učinkovito smanjenje

organskog opterećenja otpadne vode (izraženo kao kemijska potrošnja kisika, KPK), kao i uklanjanje hranjivih tvari (za uređaje s III. stupnjem pročišćavanja), ali se ovi postupci nisu pokazali dovoljno učinkovitim za uklanjanje sintetskih bojila. Zbog toga je potrebno takve otpadne vode još dodatno obraditi, radi uklanjanja bojila (Mondal i sur., 2018).

Metode za uklanjanje bojila iz otpadnih voda mogu se podijeliti na fizikalne-kemijske metode poput adsorpcije, membranske filtracije, ionske izmjene, koagulacije/flokulacije, oksidacije, ozoniranja, fotokemijske razgradnje i naprednih oksidacijskih procesa te biološke metode poput biorazgradnje i/ili biotransformacije te bioakumulacije, ali i biosorpcije na živu biomasu mikroorganizama. Biološke metode uključuju primjenu mikroorganizama, odnosno bakterija, gljiva i nekih algi (Kezerle, 2020).

Kada tijekom procesa obrade dolazi do razgradnje bojila kemijskim ili mikrobiološkim putem, važno je da nastali razgradni produkti ne budu toksičniji od polaznog spoja, tj. sintetskog bojila (Kabbout i Taha, 2014).

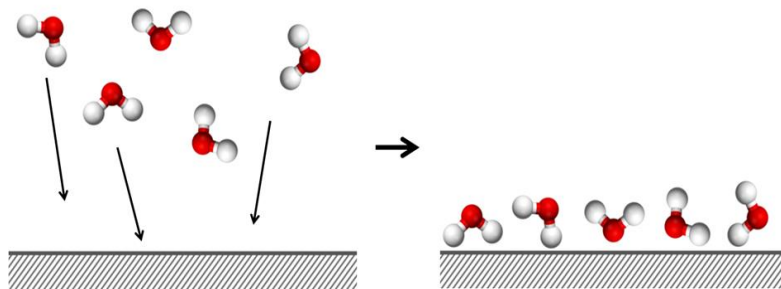
Od svih metoda za uklanjanje sintetskih bojila iz otpadnih voda, na realnim sustavima najčešće se primjenjuje adsorpcija, odnosno biosorpcija (Gupta i sur., 2009).

### **2.2.1. Biosorpcija**

Adsorpcija je pojava nakupljanja molekula plina ili otopljenih tvari na graničnoj površini između dviju faza, odnosno na površini čvrste tvari koja je okružena tekućinom ili plinom, na razdjelnoj površini između dviju tekućina koje se ne miješaju ili između tekućine i plina (web 3). Čvrsta tvar na čijoj se graničnoj površini odvija proces adsorpcije naziva se adsorbens, a tvar koja se veže na graničnu površinu adsorbensa naziva se adsorbat (slika 3.). Najčešće se kao adsorbensi u obradi otpadnih voda koriste aktivni ugljen, glina, silikagel, zeoliti, različiti oksidi metala. Ukoliko se kao adsorbens koristi biološki materijal, tada se govori o procesu biosorpcije (Gadd, 2008).

Adsorpcija može biti fizikalna ili kemijska, ovisno o vrsti veze koja nastaje između molekula adsorbensa i adsorbata. Tijekom fizikalne adsorpcije molekule se međusobno povezuju slabim van der Waalsovima silama, a tijekom kemijske adsorpcije se povezuju jačom ionskom ili kovalentnom vezom (Alaqrabeh, 2021). Uklanjanje adsorbata adsorpcijom je nespecifičan

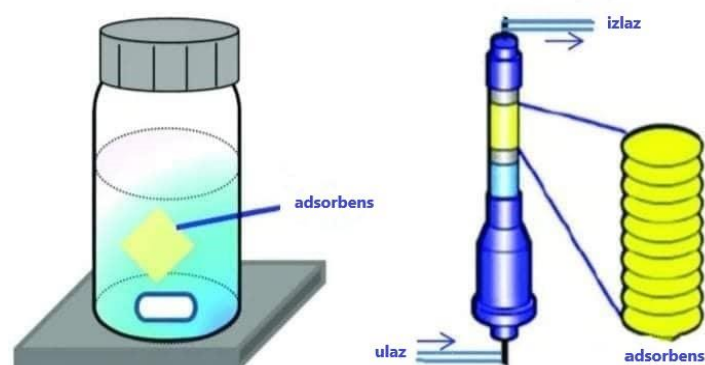
proces, što znači da je kao metoda prikladna za uklanjanje velikog broja strukturno različitih adsorbata.



**Slika 3.** Shematski prikaz nakupljanja molekula adsorbata na površini adsorbensa (web 4)

Čimbenici koji utječu na proces adsorpcije/biosorpcije su karakteristike adsorbata, morfološke i fizikalno-kemijske karakteristike površine adsorbensa, veličina čestica adsorbensa, površina i struktura pora adsorbensa, temperatura, pH otopine, utjecaj koncentracije adsorbata, i dr. Važne karakteristike dobrih adsorbensa su velika specifična površina i brzo uklanjanje adsorbata, odnosno brzo postizanje adsorpcijske ravnoteže.

Prema načinu provođenja procesa, razlikujemo šaržnu i kontinuiranu adsorpciju. Šaržna adsorpcija se odvija u zatvorenom sustavu gdje se definirana količina adsorbensa (koja je najčešće mala) dovodi u kontakt s definiranim volumenom otopine adsorbata, najčešće uz miješanje. Kontinuirana adsorpcija odvija se u otvorenom sustavu u kojem se otopina adsorbata kontinuirano propušta kroz kolonu napunjenu slojem adsorbensa (slika 4) (Kopsidas, 2016).



**Slika 4.** Shematski prikaz provedbe šaržne i kontinuirane adsorpcije (web 5)

### 2.2.1.1. Biosorbensi

U novije vrijeme znanstvenici ulažu velike napore u pronalazak i ispitivanje novih alternativnih bioloških materijala za obradu otpadnih voda, koji bi zamijenili upotrebu konvencionalnih materijala poput aktivnog ugljena i drugih komercijalno dostupnih adsorbensa. Komercijalno dostupni adsorbensi su učinkoviti, ali je često njihova primjena ekonomski nepovoljna, kako zbog njihove cijene, tako i zbog poteškoća s regeneracijom i ponovnim korištenjem u više uzastopnih ciklusa obrade. Istraživanja su usmjerena pronalasku i razvoju novih adsorbensa koji će istovremeno biti učinkoviti, ali i jeftini (Gadd, 2008). Adsorbens se može smatrati jeftinim ako je dostupan u velikim količinama, neovisno je li prisutan u prirodi ili je kao proizvodni ostatak iz različitih industrija dostupan tijekom cijele godine te ako ne zahtijeva veliku i skupu obradu (Rafatullah i sur., 2010). Biološki materijali koji su do sada istraživani kao jeftini adsorbensi, odnosno biosorbensi su različiti lignocelulozni materijali, poput otpada i nusproizvodi iz poljoprivredne i prehrambene proizvodnje, materijali životinjskog podrijetla poput kosti i perja, ali i živa i inaktivna biomasa mikroorganizama. U tablici 1. dan je prikaz različitih bioloških materijala koji su korišteni kao biosorbensi za uklanjanje sintetskih bojila.

**Tablica 1.** Biološki materijali korišteni kao biosorbensi za uklanjanje sintetskih bojila (prema Crini i Lichtfouse, 2018; Crini, 2006; Gupta i Suhas, 2009; Gupta i sur.,2009).

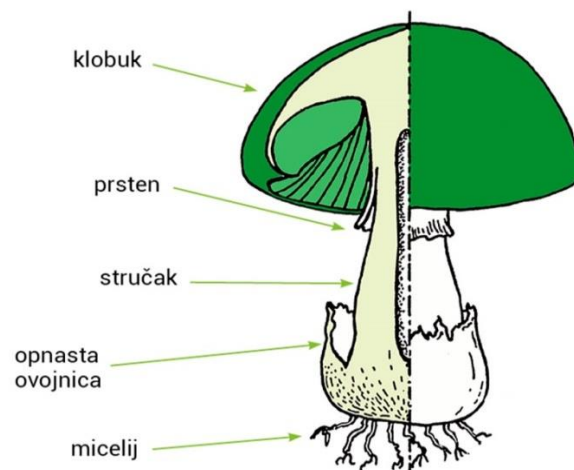
| <b>Biosorbens</b>                          | <b>Bojilo</b>       |
|--|---------------------|
| vlakna debla uljne palme                   | malahitno zelenilo  |
| kora banane                                | metiloranž          |
| cedrova piljevina                          | metilensko modriilo |
| vlakno kokosove ljuske                     | rodamin             |
| ljuska lješnjaka                           | metilensko modriilo |
| ljuska riže                                | malahitno zelenilo  |
| inaktivna biomasa <i>Aspergillus niger</i> | kongo crvenilo      |
| drvo                                       | astrazon plavo      |
| slama                                      | metilensko modriilo |
| kora bora                                  | malahitno zelenilo  |
| kora naranče                               | kongo crvenilo      |

Mikrobna biomasa (bakterija, gljiva i algi) pokazala se kao učinkovit biosorbens za uklanjanje metala i sintetskih bojila iz otpadnih voda (Vrana i Derco, 2018). Biomasa gljiva se češće upotrebljava u odnosu na biomasu ostalih mikroorganizama zbog jednostavnijeg uzgoja (Crini, 2006). Za uklanjanje različitih onečišćujućih tvari procesom biosorpcije koristi se biomasa mikroskopskih (kvasaca, plijesni) i makroskopskih (mesnatih) gljiva (Wang i Chen, 2009) koja može biti aktivna (živa) i inaktivna (neživa).

### 2.3. Inaktivna biomasa gljiva kao biosorbens

Gljive ili fungi čine zasebno carstvo u domeni eukariota, a obuhvaćaju kvasce, plijesni i makroskopske (više, mesnate) gljive. To su organizmi koji nemaju sposobnost obavljanja fotosinteze i stoga koriste organske supstrate kao jedini izvor ugljika i energije za rast i metaboličku aktivnost (Saž, 2001).

Vegetativno tijelo gljive, koje se naziva micelij, tvore gusto isprepletene razgranate niti hifa. Putem hifa gljive dobivaju hranjive tvari i vodu iz okoline i otpuštaju enzime kojima razgrađuju organsku tvar uginulih organizama do jednostavnijih spojeva i elemenata. Kod makroskopskih gljiva se iz micelija razvija plodište, vidljivi dio gljive koji nosi sporangije sa sporama za razmnožavanje (slika 5.) (web\_6).



**Slika 5.** Građa makroskopske gljive



Gljive imaju različite strategije preživljavanja. S obzirom na način na koji dolaze do organske tvari u prirodi dijele se na saprofite, parazite i simbiote. Saprofiti uzimaju gotovu organsku tvar od uginulih organizama i prevode je do elementarnih tvari koje biljne vrste koriste za rast i razvoj. Paraziti crpe hranjive tvari iz živog organizma i najčešće uzrokuju bolest ili uginuće organizma na kojem parazitiraju. Simbionti stupaju u odnos s nekom drugom vrstom u kojem oba organizma imaju korist ([web 7](#)).

Gljive imaju veoma važnu ulogu u svakom ekosustavu na Zemlji, jer razgrađujući ostatke uginulih organizama omogućavaju kruženje tvari u okolišu. Živeći u simbiozi s drvećem poboljšavaju vegetaciju i zdravlje biljaka, a parazitirajući na drugim organizmima pomažu u prirodnoj selekciji ([web 8](#)).

Mikroskopske gljive imaju široku primjenu u biotehnološkim procesima, pa se tako kvasci koriste u proizvodnji kruha, piva, vina te alkohola, dok se plijesni koriste u proizvodnji sireva, ali i za sintezu enzima i antibiotika. Više se gljive, s druge strane, zbog jestivog plodišta uzgajaju za hranu.

Plodište gljiva u najvećem postotku (90 %) čini voda, bogato je proteinima i ugljikohidratima, a oskudno mastima. U plodištu se mogu naći razni minerali, vitamini i organske kiseline. Osim toga, brojne vrste osim što su jestive imaju i ljekovita svojstva, pri čemu neki od primjera djelovanja uključuju imunomodulacijski, citostatički ili citotoksični učinak, kontrolu razine šećera u krvi i smanjenje tjelesne težine (Velić i sur., 2019).

Podvrgavanjem žive biomase mikroskopskih i makroskopskih gljiva različitim fizikalnim i kemijskim postupcima dobiva se inaktivna biomasa gljiva. Inaktivacija se može provoditi ciljano (najčešće toplinski), kako bi se dobila inaktivna biomasa za različite primjene, uključujući i onu kao biosorbensa, ali može nastajati i kao nusproizvod ili otpad u različitim proizvodnim procesima. Tako, na primjer, u proizvodnji piva zaostaje otpadna biomasa kvasca, a nakon ekstrakcije biološki aktivnih spojeva iz osušenog i samljevenog plodišta ljekovitih gljiva zaostaje velika količina inaktivne ekstrahirane biomase u obliku filtracijske pogače, koja ima veliki potencijal za primjenu kao biosorbens. Jestive gljive koje se prodaju kao svježe u trgovinama i kojima je prošao rok trajanja također bi nakon sušenja (inaktivacije toplinom) i mljevenja mogle biti iskorištene kao biosorbens.

Neke od mikroskopskih i makroskopskih gljiva čija je inaktivna biomasa korištena kao biosorbens u istraživanjima su kvasci *Saccharomyces cerevisiae* i *Saccharomyces carlsbergensis*, pijesni roda *Alternaria*, *Aspergillus*, *Penicillium* i *Rhizopus* (Gadd, 2008) te više gljive poput *Fomes fomentarius* (Maurya i sur., 2006) i *Fomitopsis pinicola* (Akata i sur., 2011).

Mehanizam uklanjanja bojila inaktivnom biomasom gljiva zasniva se na fizikalno-kemijskim procesima poput adsorpcije, taloženja, elektrostatskih interakcija i ionske izmjene te učinkovitost uklanjanja ne ovisi o aktivnosti enzima koje sintetizira živa biomasa i koji sudjeluju u razgradnji bojila (Patel, 2016; Ayele i sur., 2021). U slučaju primjene žive mikrobnе biomase prisutni i drugi mehanizmi poput bioakumulacije, biotransformacije i biorazgradnje (Vrana i Derco, 2018, Karthik i sur., 2016). Temelj biosorpcijskog uklanjanja onečišćujućih tvari inaktivnom biomasom su funkcijske skupine prisutne na njezinoj površini, koje predstavljaju aktivna mjesta za vezivanje adsorbata (Drumm i sur., 2019). Još neke od prednosti korištenja inaktivne biomasa gljiva u odnosu na živu biomasu, su da za njezino održavanje nije potrebna dostupnost supstrata, hranjiva i kisika za rast (kao u slučaju žive aerobne biomase) te da toksičnost samog adsorbata ne utječe štetno na biomasu te posljedično na proces biosorpcije (Vrana i Derco, 2018).

### **2.3.1. *Fomitopsis pinicola* ili crvenoruba guba**

*Fomitopsis pinicola* ili crvenoruba guba (slika 6.) je drvenasta gljiva rasprostranjena na stablima crnogorične šume.



**Slika 6.** *Fomitopsis pinicola* ili crvenoruba guba

To je gljiva smeđe truleži koja uglavnom parazitira na drveću i razgrađuje celulozu zaslužnu za čvrstoću drveća čineći ih krhkim i sklonim lomljenju. Može biti i saprofit na polegnutim i mrtvim stablima pri čemu pomaže u kruženju tvari u prirodi. Plodište ove gljive je lepezastog oblika i tvrde konzistencije, promjera do 40 cm (Bishop, 2020). Plodišta su višegodišnja, a novi slojevi rastu koncentrično tijekom godina. Stariji unutarnji dijelovi su crveno-smeđe boje, a noviji rubni dijelovi su bijelo-žućkasti. Crvenoruba guba nije jestiva ali je vrlo korisna. Istraživanjima su dokazana mnoga ljekovita svojstva crvenorube gube: antikarcinogeno (Ravikumar i sur., 2021), antidijabetičko (Lee i sur., 2008) te protuupalno (Yoshikawa i sur.,2005).

### **3. EKSPERIMENTALNI DIO**

### 3.1. Zadatak

Zadatak ovog rada bio je istražiti mogućnost uklanjanja kationskog bojila malahitnog zelenila iz modelnih otopina bojila i sintetske otpadne vode s dodatkom bojila biosorpcijom na otpadnu inaktivnu biomasu gljive *Fomitopsis pinicola*.

### 3.2. Materijali

#### 3.2.1. Kemikalije

U radu su korištene sljedeće kemikalije:

- $C_{48}H_{50}N_4 \cdot 2C_2HO_4 \cdot C_2H_2O_4$  (malahitno zelenilo oksalat), Merck, Njemačka
- NaOH (natrijev hidroksid), Kemika d.d., Hrvatska
- HCl (kloridna kiselina), Kemika d.d., Hrvatska
- NaCl (natrijev klorid), Kemika d.d., Hrvatska
- Pepton, Biolife, Italija
- Ekstrakt mesa, Merck, Njemačka
- $CO(NH_2)_2$  (urea), Kemika d.d., Hrvatska
- $K_2HPO_4$  (dikalijev hidrogenfosfat), Kemika d.d., Hrvatska
- $CaCl_2 \cdot 2H_2O$  (kalcijev klorid dihidrat), Merck, Njemačka
- $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  (magnezijev sulfat heptahidrat), Kemika d.d., Hrvatska
- $FeSO_4 \cdot 7H_2O$  (željezov (II) sulfat heptahidrat), Kemika d.d., Hrvatska
- $HgSO_4$  (živin(II) sulfat), Kemika d.d., Hrvatska

#### 3.2.2. Instrumenti

Tijekom rada korišteni su sljedeći instrumenti:

- Analitička vaga NBL 84i, Nimbus Analytical Balances, Adam Equipment, SAD
- Laboratorijska centrifuga mini G, IKA Labor Technik, Njemačka
- Laboratorijski pH metar FEP20 Basic FiveEasy Plus, Mettler Toledo, Švicarska
- Spektrofotometar S-220 UV/VIS, Boeco, Njemačka
- Standardni laboratorijski mlin, MF10 Basic, IKA Labor Technik, Njemačka

- Tresilica KS 260 basic, IKA Labortechnik, Njemačka
- Inkubator Aqualytic, Dortmund, Njemačka

### 3.2.3. Biosorbens

U ovom radu kao biosorbens korištena je inaktivna biomasa gljive *Fomitopsis pinicola* (slika 7) u obliku filtracijske pogače zaostale nakon ekstrakcije osušenog i samljevenog plodišta gljive.

Osušeno plodište gljive (čista kultura gljive iz privatne zbirke Institute for Applied Mycology and Biotechnology, Celje, Slovenija) je samljeveno na mlinu, kako bi se osigurala veličina čestice manja od 1,5 mm. 100 g osušenog i samljevenog plodišta gljive macerirano je u 10 L etanola u trajanju od 12 h pri temperaturi od 20 °C. Sadržaj je nakon maceracije homogeniziran i filtriran preko vakuum nuč-filtra. Filtracijska pogača s nuč-filtra isprana je s 20 L etanola, osušena, izvagana i dodana u 10 L destilirane vode. Sadržaj je homogeniziran, steriliziran pri 121 °C i 1 bar, te po završetku sterilizacije filtriran preko filter papira sa staklenim vlaknima (veličine pora 100 µm). Pogača zaostala nakon filtracije je osušena te je za korištenje u ovom radu samljevena na laboratorijskom mlinu, kako bi se mogla koristiti kao biosorbens .



**A**

**B**

**Slika 7.** Inaktivna biomasa gljive *F. pinicola* korištena kao biosorbens: filtracijska pogača (A) i samljevena filtarska pogača (B)

### **3.3. Metode**

#### **3.3.1. Određivanje točke nul naboja**

Točka nul naboja određena je prema Fiol i Villaescusa (2009). Inertni elektrolit koji je korišten bila je otopina NaCl koncentracije 0,1 mol/L. U Erlenmeyerove tikvice dodano je 200 mg biosorbensa i 50 mL otopine NaCl te su pomoću NaOH (0,1 mol/L) i HCl (0,1 mol/L) podešene početne pH vrijednosti u rasponu od 2 do 12. Tikvice su zatim stavljene na tresilicu na 24 h pri 25 °C ( $v_{\text{miješanja}} = 250$  okr/min). Nakon toga sadržaj tikvica je profiltriran te je u filtratu određena konačna pH vrijednost. Za svaku pH vrijednost određena je promjena pH vrijednosti ( $\Delta\text{pH}$ ) koja predstavlja razliku između početne pH vrijednosti i konačne pH vrijednosti. Početna pH vrijednost pri kojoj je promjena pH vrijednosti ( $\Delta\text{pH}$ ) jednaka 0 predstavlja točku nul naboja ( $\text{pH}_{\text{pzc}}$ ) i određena je grafički.

#### **3.3.2. Priprema modelnih otopina bojila**

Standardna otopina bojila koncentracije 1 g/L pripremljena je otapanjem 1 g malahitnog zelenila u 1 L ultračiste vode, a daljnjim razrjeđivanjem s ultračistom vodom dobivene su modelne otopine bojila masenih koncentracija 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150 i 200 mg/L.

#### **3.3.3. Priprema sintetske otpadne vode s dodatkom bojila**

Sintetska otpadna voda (simulacija komunalne otpadne vode) pripremljena je otapanjem sljedećih sastojaka u demineraliziranoj vodi (prema smjernicama OECD 302B): pepton (160 mg/L), mesni ekstrakt (110 mg/L), urea (30 mg/L),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (28 mg/L), NaCl (7 mg/L),  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (4 mg/L) i  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (2 mg/L) u destiliranoj vodi.

Sintetska otpadna voda s dodatkom bojila (10, 20, 30, 40, 50, 75 i 100 mg/L) pripravljena je na način da je u sintetsku vodu dodana standardna otopina bojila.

#### **3.3.4. Šaržni biosorpcijski eksperimenti**

U seriju Erlenmeyerovih tikvica volumena 100 mL dodana je određena masa biosorbensa i 50 mL vodene otopine bojila poznate koncentracije. Tikvice su potom stavljene na tresilicu i pri

odabranoj temperaturi, vremenu biosorpcije i brzini miješanja (150 okr/min) provedeni su eksperimenti do postizanja ravnotežnog stanja (osim za istraživanje utjecaja vremena kontakta između biosorbensa i otopine bojila). Nakon završetka procesa biosorpcije, sadržaj Erlenmeyerovih tikvica profiltriran je kroz naborani filter papir te je filtrat centrifugiran na 6000 okretaja u minuti u trajanju od 5 minuta. U bistrom supernatantu određene su koncentracije malahitnog zelenila nakon procesa biosorpcije spektrofotometrijski, pri valnoj duljini od 623 nm.

Za izračun postotka uklanjanja bojila korištena je sljedeća jednadžba:

$$\% \text{ uklanjanja bojila} = \frac{(\gamma_0 - \gamma_t)}{\gamma_0} \cdot 100$$

gdje su  $\gamma_0$  i  $\gamma_t$  početna i konačna masena koncentracija bojila (mg/L).

Količina bojila adsorbirana po jedinici mase biosorbensa u vremenu  $t$  izračunata je kako slijedi:

$$q_t = \frac{(\gamma_0 - \gamma_t)}{m} \cdot V$$

gdje je  $q_t$  količina bojila adsorbirana po jedinici mase biosorbensa u vremenu  $t$  (mg/g),  $\gamma_0$  i  $\gamma_t$  su početna masena koncentracija bojila i koncentracija nakon vremena  $t$  (mg/L),  $m$  je masa biosorbensa (g), a  $V$  volumen otopine bojila (L).

Svi šaržni biosorpcijski eksperimenti provedeni su u najmanje dva ponavljanja te su rezultati su izraženi kao srednja vrijednost provedenih mjerenja.



**Utjecaj koncentracije biosorbensa na proces biosorpcije.** Utjecaj koncentracije biosorbensa na proces biosorpcije ispitan je pri različitim koncentracijama biosorbensa: 0,5; 1; 1,25; 1,5; 2; 3; 5; 7; 10 g/L uz ostale uvjete:  $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$ ,  $t = 24 \text{ h}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ .

**Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i otopine bojila (adsorbata) na proces biosorpcije.** Za ispitivanje utjecaja vremena kontakta između biosorbensa i bojila na proces biosorpcije, eksperimenti su provedeni pri koncentracijama bojila: 10, 50 i 100 mg/L i vremenskim intervalima: 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120 i 180 min. Ostali uvjeti bili su:  $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ .

**Utjecaj početne koncentracije bojila na proces biosorpcije.** Utjecaj početne koncentracije bojila na proces biosorpcije ispitan je pri početnim masenim koncentracijama bojila od 10 mg/L do 200 mg/L, pri čemu su ostali eksperimentalni uvjeti bili:  $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ .

**Utjecaj pH na proces biosorpcije.** Utjecaj pH vrijednosti modelne otopine bojila na proces biosorpcije ispitan je u rasponu vrijednosti pH od 4 do 10. pH vrijednost modelnih otopina bojila podešavana je pomoću 0,1 mol/L otopine NaOH i 0,1 mol/L otopine HCl. Svi ostali parametri procesa nisu mijenjani  $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ .

**Utjecaj temperature na proces biosorpcije.** Utjecaj temperature na proces biosorpcije provedeno je pri temperaturama 15, 25 i 35 °C, a ostali uvjeti bili su:  $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ .

**Usporedba procesa uklanjanja bojila biosorpcijom iz modelne otopine bojila i sintetske otpadne vode s dodatkom bojila.** Kako bi se usporedio proces uklanjanja bojila biosorpcijom iz modelne otopine bojila i sintetske otpadne vode s dodatkom bojila, primijenjeni su slijedeći uvjeti:  $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{bojila}} = 10 - 100 \text{ mg/L}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ .

### **3.3.5. Adsorpcijski ravnotežni modeli i kinetika adsorpcije**

Eksperimentalni podatci dobiveni provođenjem šaržnih biosorpcijskih eksperimenata analizirani su primjenom ravnotežnih adsorpcijskih modela (Freundlich i Langmuir) te kinetičkih modela pseudo-prvog i pseudo-drugog reda.

**Adsorpcijski ravnotežni modeli** pružaju uvid u adsorpcijski kapacitet korištenog adsorbensa te opisuju kako se u ravnotežnom stanju molekule adsorbata, u ovom slučaju molekule sintetskog bojila malahitnog zelenila, raspodijeljuju između čvrste i tekuće faze (Hameed i Ahmad, 2009). Adsorpcijska izoterma daje grafički prikaz ovisnosti ravnotežne količine adsorbata po jedinici mase adsorbensa o koncentraciji, pri konstantnoj temperaturi.

*Langmuirov ravnotežni adsorpcijski model* matematički je prikazan sljedećom jednadžbom

$$q_e = \frac{q_m \cdot K_L \cdot \gamma_e}{1 + K_L \cdot \gamma_e}$$

gdje su  $q_e$  i  $q_m$  adsorpcijski kapacitet u stanju ravnoteže i maksimalni adsorpcijski kapacitet (mg/g),  $\gamma_e$  je ravnotežna koncentracija adsorbirane tvari (mg/L), a  $K_L$  je Langmuirova konstanta ( $L^{-1} \text{ mg}^{-1}$ ).

*Freundlichov ravnotežni adsorpcijski model* matematički je prikazan sljedećom jednadžbom

$$q_e = K_f \gamma_e^{1/n}$$

gdje je  $q_e$  ravnotežni adsorpcijski kapacitet,  $\gamma_e$  je ravnotežna koncentracija adsorbirane tvari,  $K_f$  je Freundlichova konstanta  $(\text{mg/g})(\text{mg/L})^{-1/n}$ , a  $n$  parametar (konstanta) povezan s jačinom biosorpcije. Obje empirijske konstante karakteristične su za pojedini sustav adsorbens/adsorbat.

**Kinetika adsorpcije** opisuje proces adsorpcije u ovisnosti o vremenu do uspostave ravnotežnog stanja, pri čemu su najčešće korišteni kinetički modeli za analizu eksperimentalno dobivenih podataka model pseudo-prvog reda i model pseudo-drugog reda.

Model pseudo-prvog reda opisan je jednađbom:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_{m1} - q_t)$$

gdje su  $q_{m1}$  i  $q_t$  (mg/g) adsorpcijski kapacitet u stanju ravnoteže i adsorpcijski kapacitet u vremenu  $t$  (min), a  $k_1$  koeficijent brzine adsorpcije pseudo-prvog reda ( $\text{min}^{-1}$ ).

Model pseudo-drugog reda opisan je jednađbom:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_{m2} - q_t)^2$$

gdje su  $q_{m2}$  i  $q_t$  (mg/g) adsorpcijski kapacitet u stanju ravnoteže i adsorpcijski kapacitet u vremenu  $t$  (min), a  $k_2$  je konstanta brzine adsorpcije pseudo-drugog reda (g/mg min).

### **3.3.6. Obrada rezultata**

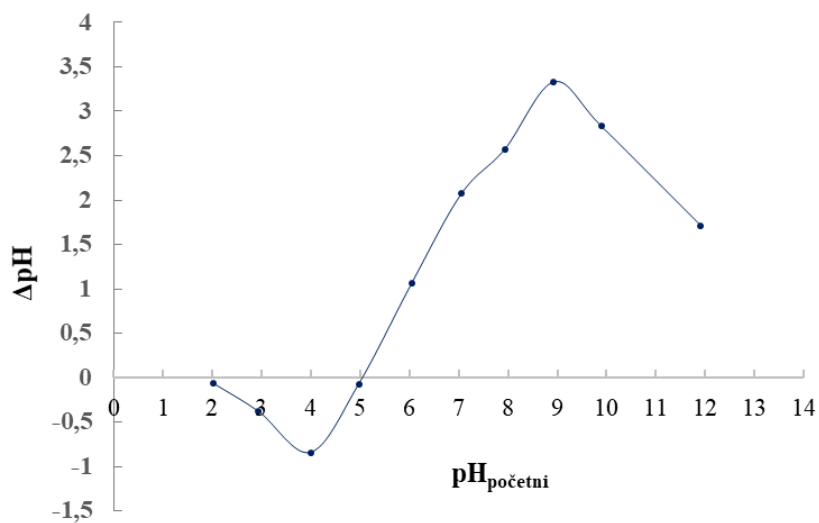
Ekperimentalno dobiveni podaci su analizirani i obrađivani u programu Microsoft Excel 2013 (Microsoft Excel 2013, Redmond, Washington, SAD).

## **4. REZULTATI I RASPRAVA**

#### 4.1. Određivanje točke nul naboja biosorbensa ( $\text{pH}_{\text{pzc}}$ )

pH vrijednost pri kojoj je površinska gustoća naboja jednaka nuli naziva se točka nul naboja adsorbensa ( $\text{pH}_{\text{pzc}}$ ). Slika 8. prikazuje rezultate dobivene određivanjem točke nul naboja inaktivne biomase gljive *F. pinicola*, pri čemu točka nul naboja odgovara pH vrijednosti 5,1.

Slična vrijednost točke nul naboja koja odgovara pH vrijednosti 5,4 određena je za inaktivna biomasa mikroskopske gljive *Diaporthe schini*, koja je korištena kao biosorbens za uklanjanje sintetskog bojila kristal violet iz vodenih otopina (Grassi i sur., 2019).



**Slika 8** Grafički prikaz točke nul naboja ( $\text{pH}_{\text{pzc}}$ ) u 0,1 mol/L otopini NaCl

Pri pH vrijednostima okoline manjima od  $\text{pH}_{\text{pzc}}$  površina adsorbensa pozitivno je nabijena, što pogoduje adsorpciji aniona, za razliku od slučaja kada je pH okoline veći od  $\text{pH}_{\text{pzc}}$ , kada je površina adsorbensa nabijena negativno, što pogoduje adsorpciji kationa (Fiol i Villaescusa, 2009). Malahitno zelenilo pripada skupini kationskih bojila, pa je za očekivati da će veća učinkovitost uklanjanja ovog bojila biti pri pH vrijednostima većim od  $\text{pH}_{\text{pzc}}$ , odnosno od 5,1.

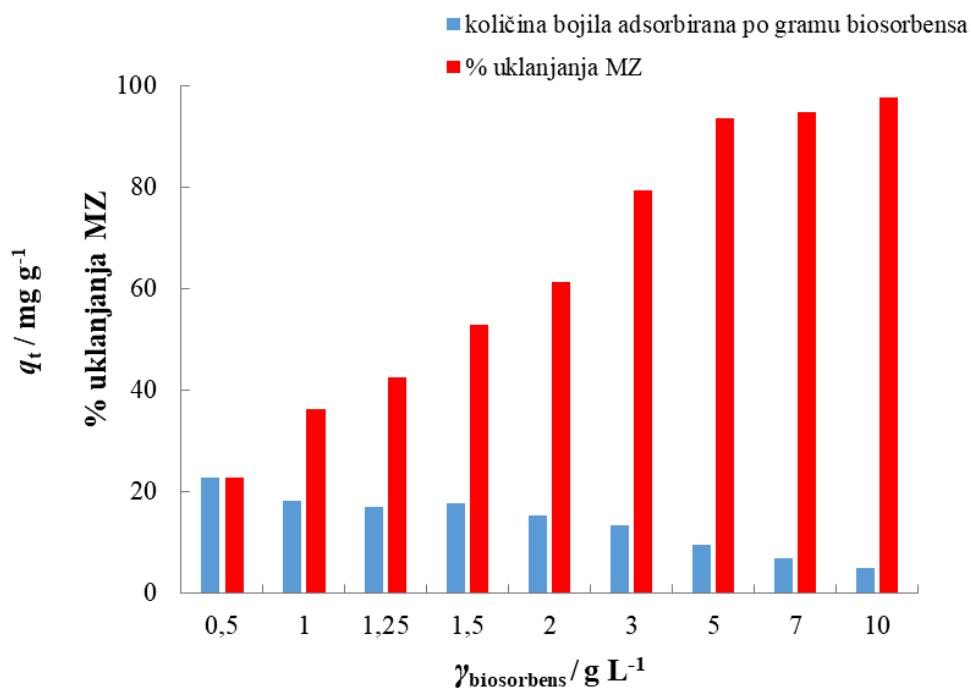
## 4.2. Uklanjanje malahitnog zelenila iz vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola*

### 4.2.1. Utjecaj koncentracije biosorbensa na proces biosorpcije

U cilju određivanja optimalne koncentracije biosorbensa koja će se koristiti u daljnjim eksperimentima, provedeni su šaržni adsorpcijski eksperimenti pri različitim koncentracijama biosorbensa (0,5; 1; 1,25; 1,5; 2; 3; 5; 7; 10 g/L) uz ostale eksperimentalne uvjete kako slijedi:

$V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$ ,  $t = 24 \text{ h}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ .

Dobiveni rezultati prikazani su na slici 9.



**Slika 9.** Utjecaj koncentracije biosorbensa na postotak uklanjanja bojila i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa ( $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$ ,  $t = 24 \text{ h}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ ).

Iz slike 9. vidljivo je kako je povećanje koncentracije biosorbensa od 0,5 g/L do 10 g/L dovelo do povećanja postotka uklanjanja bojila od 22,77 % do 97,6 %, uz istovremeno smanjenje količine bojila adsorbirane po gramu biosorbensa od 22,77 mg/g do 4,88 mg/g.

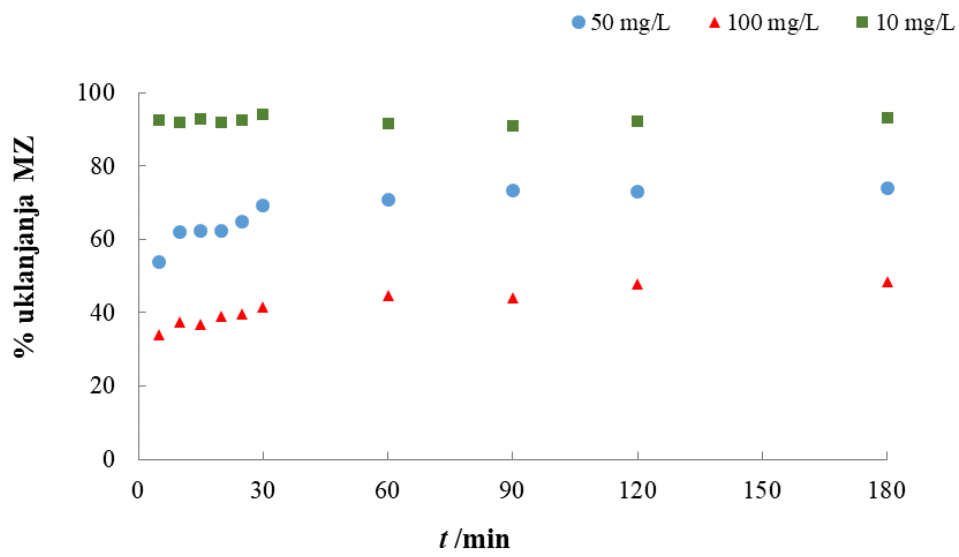
Koncentracija biosorbensa ima važan utjecaj na proces biosorpcije, jer se njezinim povećanjem povećava dostupna površina biosorbensa, odnosno broj dostupnih aktivnih mjesta za vezanje adsorbata (Parvathi i sur., 2011). Veći broj dostupnih aktivnih mjesta za vezanje bojila (adsorbata), znači i veći postotak uklanjanja bojila. S druge strane, količina adsorbata dostupna za vezivanje ostaje ista (koncentracija adsorbata je konstantna), što za posljedicu ima smanjenje količine adsorbata adsorbirane po gramu adsorbensa, jer velik broj dostupnih mjesta za vezivanje adsorbata (koji se povećava povećanjem koncentracije adsorbata) ostaje „neiskorišten“.

Ovi rezultati u skladu su s istraživanjima drugih autora koji su koristili inaktivnu biomasu više gljive *Lentinula edodes* (shiitake) za uklanjanje anionskog bojila kongo crvenila (Yang i sur., 2020), inaktivnu biomasu mikroskopske fitopatogene gljive *Diaporthe schini* za uklanjanje kristal violeta (Grassi i sur., 2019) te inaktivnu biomasu plijesni *Aspergillus niger* za uklanjanje reaktivnog bojila Synazol (Khalaf, 2008).

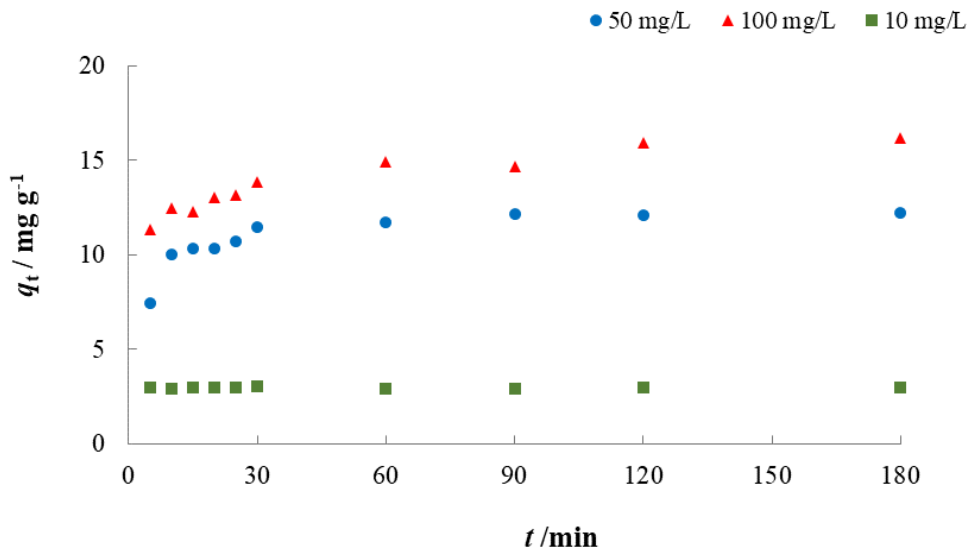
Uzimajući u obzir postotak uklanjanja bojila i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa, kao optimalna vrijednost koncentracije biosorbensa za nastavak istraživanja odabrana je koncentracija 3 g/L.

#### **4.2.2. Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i bojila (adsorbata) na proces biosorpcije**

Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i bojila na proces biosorpcije ispitan je za koncentracije bojila 10, 50 i 100 mg/L u vremenskim intervalima 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120 i 180 min. Ostali eksperimentalni uvjeti bili su kako slijedi:  $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ . Dobiveni rezultati prikazani su na slici 10.



A



B

**Slika 10.** Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i bojila (adsorbata) na postotak uklonjanja bojila (A) i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa (B) ( $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{bojila}} = 10 - 100 \text{ mg/L}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $\nu_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ )



Kako je već navedeno, jedna od karakteristika dobrog adsorbensa je sposobnost brze adsorpcije adsorbata iz tekuće faze, odnosno brzo uspostavljanje adsorpcijske ravnoteže.

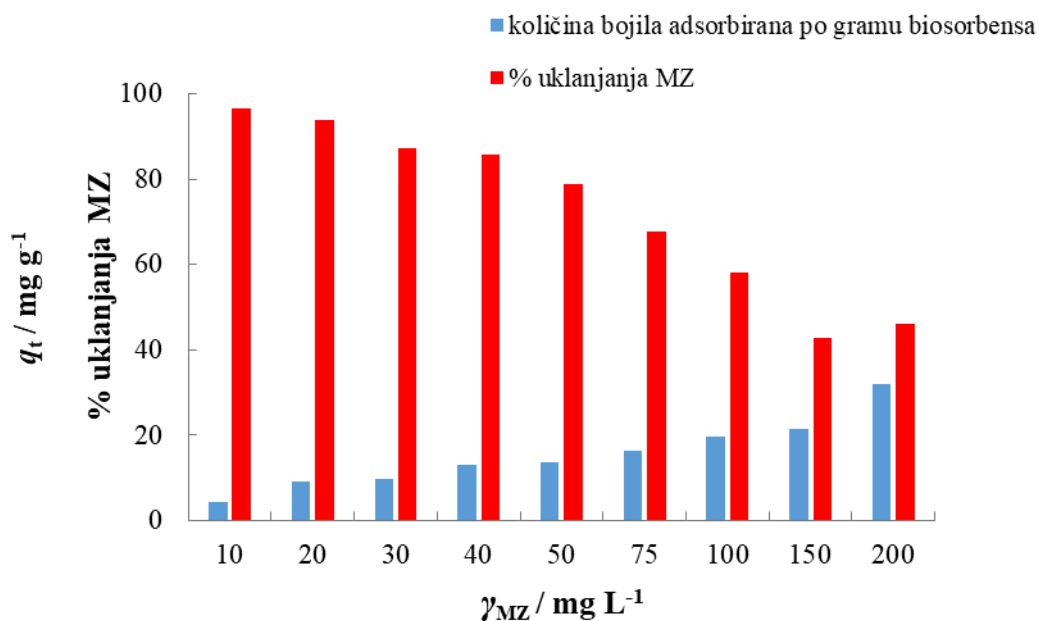
Iz slike 10. vidljivo je kako je do postizanja ravnotežnog stanja prilikom uklanjanja malahitnog zelenila iz modelnih otopina bojila pri koncentracijama 50 mg/L i 100 mg/L došlo nakon 90 min, pri čemu je uklanjanje tijekom prvih 30 min procesa bilo brzo, da bi u kasnijim fazama eksperimenta uklanjanje postalo sporije do postizanja ravnoteže. Brzo uklanjanje bojila tijekom prvih 30 min procesa, vjerojatno se može objasniti većim brojem slobodnih adsorpcijskih mjesta dostupnih za vezanje bojila, dok je u kasnijim fazama eksperimenta tih mjesta manje (jer ih je dio već zauzet) te se stoga brzina uklanjanja bojila smanjuje (Wanyonyi i sur., 2014). Ovo je u skladu s istraživanjem Bouras i suradnika (2021) koji su koristili inaktivnu biomasu plijesni *Aspergillus parasiticus* CBS 100926(T) za uklanjanje različitih kationskih i anionskih bojila, uključujući i malahitno zelenilo. Pri najmanjoj koncentraciji bojila od 10 mg/L te pri istoj koncentraciji biosorbensa ravnotežno stanje postignuto je gotovo trenutno. U istraživanju koje su proveli Argumedo-Delira i suradnici (2021) koji su koristili inaktivnu biomasu gljiva *Trichoderma virens* i *T. viride* za uklanjanje malahitnog zelenila iz vodenih otopina također je došlo do uspostavljanja ravnotežnog stanja već nakon 90 min, kao i u istraživanju Abdullah i Taha (2012) koji su koristili inaktivnu biomasu *Aspergillus fumigatus* za uklanjanje kationskog bojila metilenskog modrila.

Daljnijim provođenjem procesa biosorpcije do vremena od 1440 min (odnosno 24 h) pri koncentraciji 50 mg/L nije došlo do značajne promjene u postotku uklanjanja malahitnog zelenila niti u količini bojila adsorbirane po gramu biosorbensa. Na osnovu dobivenih rezultata za nastavak istraživanja odabrano je vrijeme biosorpcije od 180 min, kako bi se u svim daljnjim eksperimentima osiguralo postizanje ravnotežnog stanja.

#### **4.2.3. Utjecaj početne koncentracije bojila na proces biosorpcije**

Utjecaj početne koncentracije bojila na proces biosorpcije ispitan je pri početnim masenim koncentracijama bojila od 10 mg/L do 200 mg/L, pri čemu su ostali eksperimentalni uvjeti bili:  $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ .

Dobiveni rezultati prikazani su na slici 11.



**Slika 11.** Utjecaj početne koncentracije bojila na postotak uklanjanja bojila i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa ( $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ )

Iz slike je vidljivo kako se povećanjem početne koncentracije bojila od 10 mg/L do 200 mg/L postotak uklanjanja bojila smanjuje od 96,44 % do 45,97 %. S druge strane, količina bojila adsorbiranog po gramu biosorbensa kontinuirano se povećava (od 4,33 mg/g do 31,97 mg/g) s povećanjem koncentracije bojila.

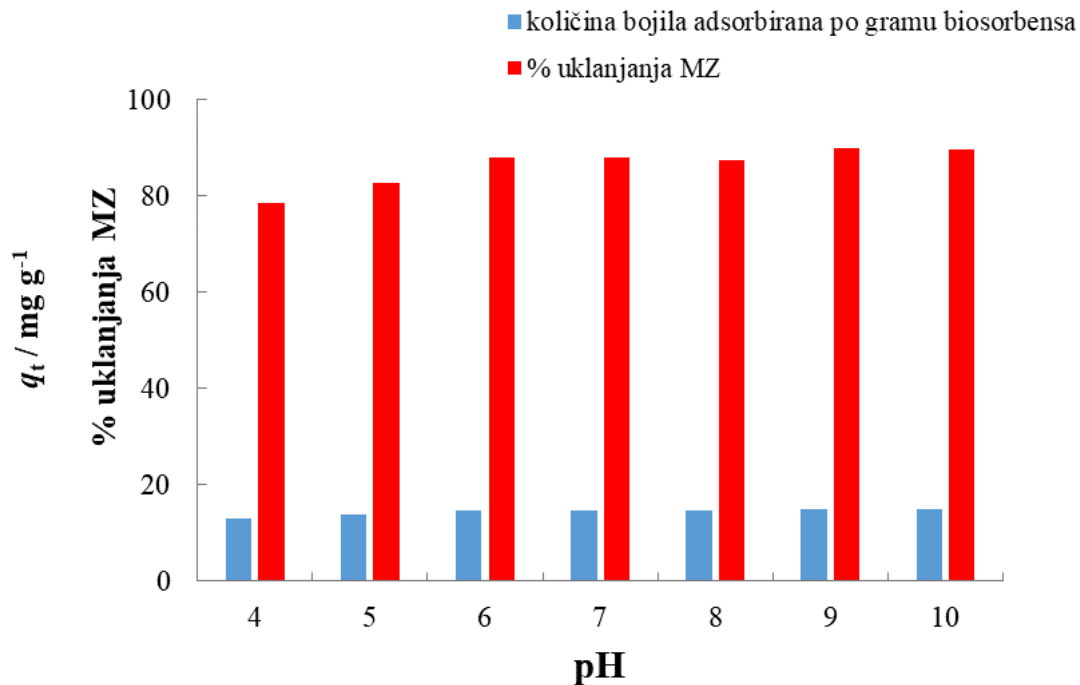
Pri većim koncentracijama bojila, veći je broj zauzetih adsorpcijskih mjesta, pa se adsorpcijski kapacitet povećava, ali se smanjuje učinkovitost procesa uklanjanja (Kukić, 2016).

Ovi rezultati upućuju na zaključak kako je uklanjanje malahitnog zelenila biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* proces ovisan o koncentraciji bojila, što je slučaj i za uklanjanje drugih sintetskih bojila biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljiva poput kristal violeta (Grassi i sur., 2019), metilenskog modrila (Abdallah i Taha, 2012) i kongo crvenila (Yang i sur., 2019).

#### 4.2.4. Utjecaj pH vrijednosti na proces biosorpcije

Početa pH vrijednost modelne otopine bojila značajno utječe na proces biosorpcije, jer može dovesti do promjene aktivnog mjesta biosorbensa, kao i do promjene naboja samog bojila (Sartape i sur., 2017), što utječe na proces biosorpcije.

Utjecaj pH vrijednosti na proces biosorpcije ispitan je za pH područje od 4 do 10, dok su ostali eksperimentalni uvjeti bili:  $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ . Utjecaj pH otopine bojila na postotak uklanjanja bojila te količinu bojila adsorbiranu na po gramu biosorbensa prikazan je na slici 12.



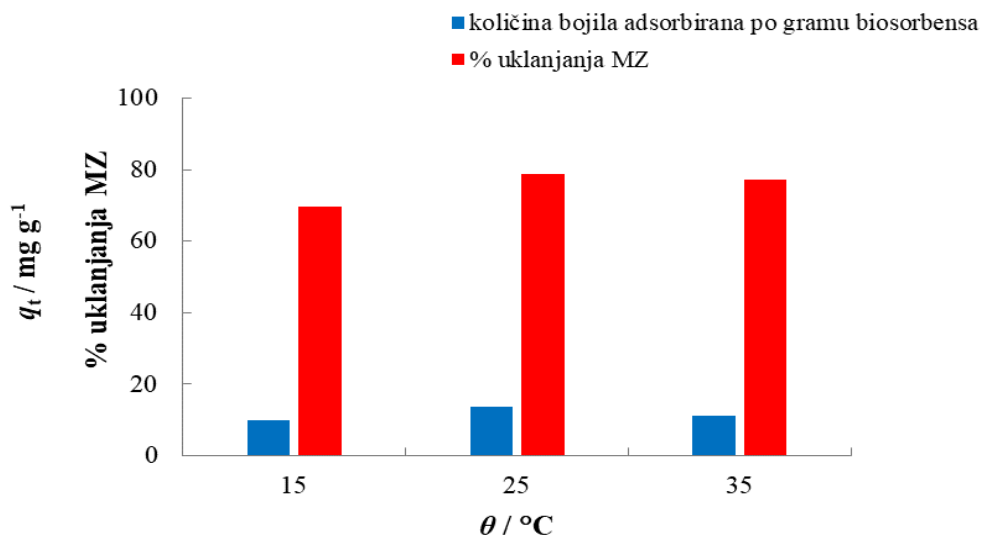
**Slika 12.** Utjecaj pH vrijednosti na postotak uklanjanja bojila i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa ( $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ ).

Najveća vrijednost postotka uklanjanja bojila od 89,84 % i količine bojila adsorbirane po gramu biosorbensa od 14,97 mg/g postignuta je pri pH 10, dok je najmanja vrijednost (78,52 % i 13,02 mg/g) postignuta je pri pH 4. Pri vrijednostima pH većim od 5,1, odnosno većim od  $pH_{pzc}$  postignut je veći postotak uklanjanja bojila i veća je količina bojila adsorbirana po gramu biosorbensa, što je u skladu s očekivanjima. Naime, kako je već navedeno, površina biosorbensa nabijena je negativno kada je pH okoline veći od  $pH_{pzc}$ , što pogoduje adsorpciji kationskih bojila, poput malahitnog zelenila. Ipak, razlike u postotku uklanjanja, kao i u količini bojila adsorbiranoj po gramu biosorbensa u pH području od 6 do 10 bile su neznatne.

#### 4.2.5. Utjecaj temperature na proces biosorpcije

Povećanje temperature može dovesti do povećanja ili smanjenja učinkovitosti adsorpcije, ali također ne mora utjecati na učinkovitost (Loganathan i sur., 2013).

Utjecaj temperature na proces biosorpcije ispitan je za temperature 15 °C, 25 °C i 35 °C pri čemu su ostali eksperimentalni uvjeti bili kako slijedi:  $V_{otopine\ bojila} = 50\text{ mL}$ ,  $\gamma_{bojila} = 50\text{ mg/L}$ ,  $\gamma_{biosorbens} = 3\text{ g/L}$  i  $t = 180\text{ min}$ . Utjecaj temperature na postotak uklanjanja bojila te količinu bojila adsorbiranu na po gramu biosorbensa prikazan je na slici 13.



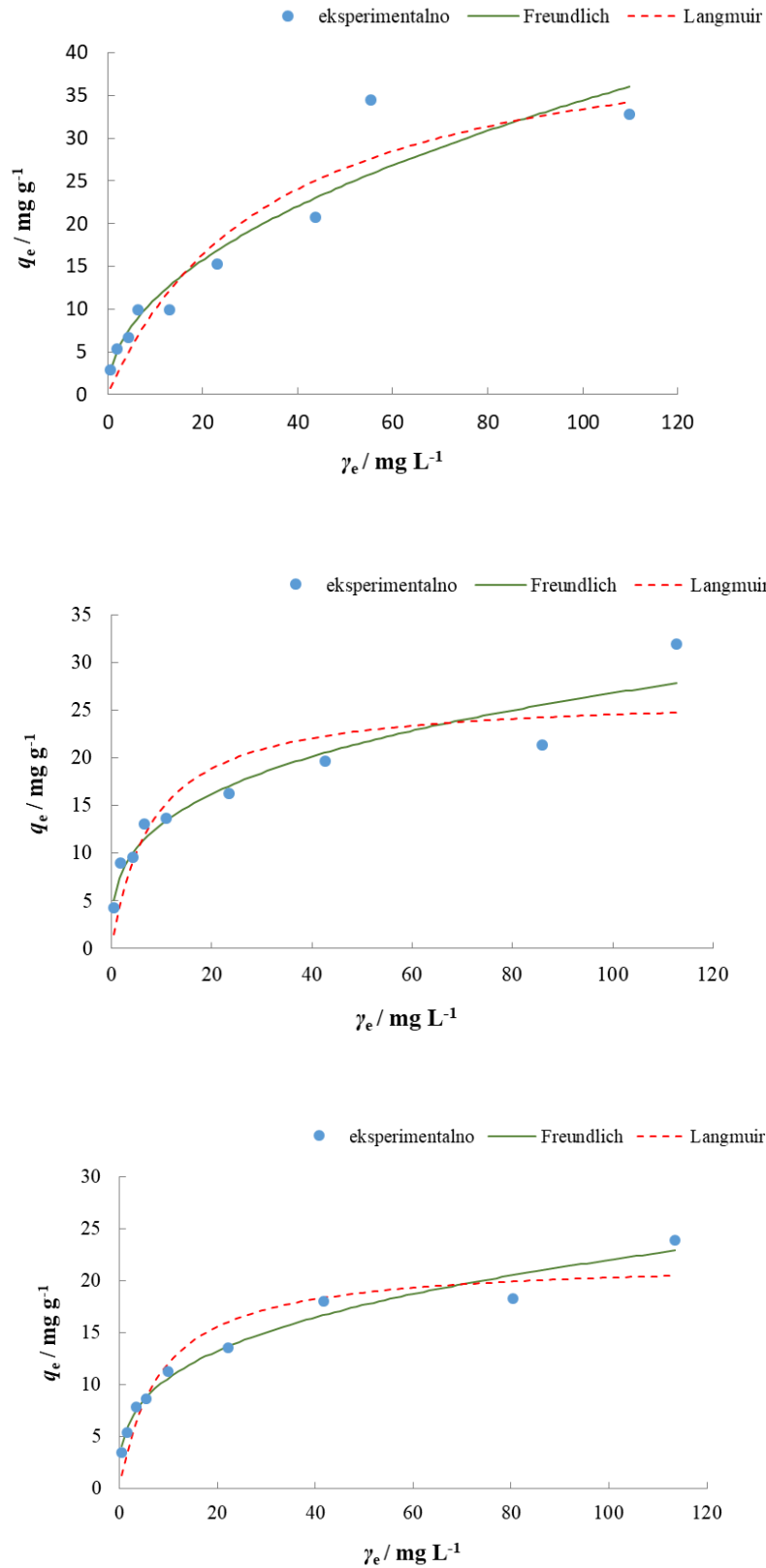
**Slika 13.** Utjecaj temperature na postotak uklanjanja bojila i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa ( $V_{otopine\ bojila} = 50\text{ mL}$ ,  $\gamma_{bojila} = 50\text{ mg/L}$ ,  $\gamma_{biosorbens} = 3\text{ g/L}$ ,  $t = 180\text{ min}$ ,  $v_{miješanja} = 150\text{ okr/min}$ ).

Povećanjem temperature vodene otopine malahitnog zelenila od 15 °C do 25 °C dolazi do povećanja postotka uklanjanja bojila od 69,82 % do 78,93 % te povećanja količine bojila adsorbirane po gramu biosorbensa od 9,96 mg/g do 13,69 mg/g. Daljnjim povećanjem temperature od 25 °C do 35 °C nije došlo do značajne promjene postotka uklanjanja bojila te količine bojila adsorbirane po gramu biosorbensa.

#### **4.2.6. Adsorpcijske izoterme i kinetika adsorpcije**

Rezultati dobiveni provođenjem šaržnih adsorpcijskih eksperimenata analizirani su primjenom Langmuirova i Freundlichova adsorpcijskog ravnotežnog modela te su izračunate vrijednosti parametara adsorpcijskih izotermi za biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* i prikazane u tablici 2., dok slika 14. daje prikaz eksperimentalno dobivenih podataka i računski dobivenih krivulji adsorpcijskih izotermi pri različitim temperaturama.

Usporedbom vrijednosti koeficijenata korelacije iz tablice 2., kao i slike 14. vidljivo je kako je proces biosorpcije malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* za koncentracijsko područje od 10 mg/L do 200 mg/L i za primijenjene temperature od 15 °C do 35 °C malo bolje opisan Freundlichovim modelom (koeficijenti korelacije od 0,907 do 0,975) u usporedbi s Langmuirovim modelom (koeficijent korelacije od 0,906 do 0,912). Ipak, bezdimenzionalni separacijski faktor  $R_L$ , karakterističan za Langmuirov model, je za sve provedne eksperimente bio manji od 1 (0,147 i 0,039) što ukazuje da je proces biosorpcije povoljan. Nadalje, vrijednosti parametra  $n$  Freundlichova modela koji govori o jakosti adsorpcije je za sve eksperimente bio veći od 2 što ukazuje na vrlo učinkovit proces adsorpcije (Treybal, 1981). Iz navedenog se može zaključiti kako oba modela dobro opisuju proces biosorpcije malahitnog zelenila. Argumedo-Delira i suradnici (2021) navode kako proces uklanjanja malahitnog zelenila inaktivnom biomasom gljiva *Trichoderma vires* i *T. viride* nešto bolje opisuje Langmuirov model, u odnosu na Freundlichov model, ali je ta razlika vrlo mala.



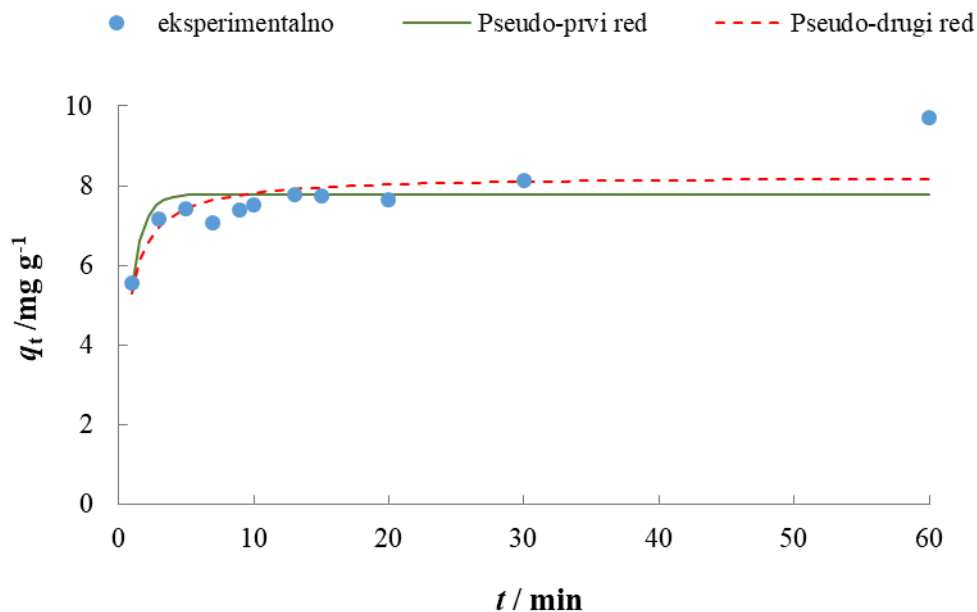
**Slika 14.** Langmuirove i Freundlichove adsorpcijske izoterme za biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* pri različitim temperaturama: A) 15 °C, B) 25 °C i C) 35 °C

**Tablica 2.** Parametri adsorpcijskih izoterma za biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* ( $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ ).

| <b>Model</b>                                   | <b>15 °C</b> | <b>25 °C</b> | <b>35 °C</b> |
|--|--------------|--------------|--------------|
| $q_{m \text{ exp.}} / \text{mg g}^{-1}$        | 32.86        | 31.97        | 23.84        |
| <b>Langmuir</b>                                |              |              |              |
| $q_{m \text{ cal.}} / \text{mg g}^{-1}$        | 45.142       | 26.510       | 21.912       |
| $K_L / \text{L mg}^{-1}$                       | 0.029        | 0.124        | 0.122        |
| $R_L$  | 0.147        | 0.039        | 0.039        |
| $R^2$  | 0.906        | 0.794        | 0.912        |
| <b>Freundlich</b>                              |              |              |              |
| $K_F / (\text{mg g}^{-1} (\text{L/mg})^{1/n})$ | 3.658        | 6.386        | 5.127        |
| $n$  | 2.054        | 3.213        | 3.166        |
| $R^2$  | 0.907        | 0.922        | 0.975        |

Kinetika adsorpcije opisuje kako se adsorpcija odvija u ovisnosti o vremenu, do uspostave adsorpcijske ravnoteže. Kinetički modeli pseudo-prvog reda i pseudo-drugog reda su najčešće korišteni modeli za analizu eksperimentalno dobivenih podataka. Rezultati analize eksperimentalno dobivenih podataka prikazani su na slici 15. i u tablici 3. Iz grafički prikazanih rezultata na slici 15. vidljivo je kako kinetički model pseudo-drugog reda pokazuje bolje slaganje s eksperimentalno dobivenim podacima, od modela pseudo-prvog reda. Isto potvrđuje i usporedba eksperimentalno dobivene vrijednosti  $q_{m \text{ exp}}$  i vrijednosti  $q_{m 1}$  i  $q_{m 2}$  dobivenih modelima, gdje  $q_{m 2}$  vrijednost pokazuje bolje slaganje s  $q_{m \text{ exp}}$ . Nadalje, usporedbom

koeficijenta korelacije za oba modela prikazanih u tablici 3., vidljivo je kako model pseudo-drugog reda ima veći koeficijent korelacije (0,66) u odnosu na koeficijent korelacije modela pseudo-prvog reda (0,49). Argumedo-Delira i suradnici (2021) i Bouras i suradnici (2021) također navode kako je kinetika procesa uklanjanja malahitnog zelenila inaktivnom biomasom *Trichoderma vires* i *T. viride* te *Aspergillus parasiticus* CBS 100926(T) bolje opisana modelom pseudo-drugog reda.



**Slika 15.** Eksperimentalni podatci i modeli pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* ( $\gamma_{\text{bojila}} = 50$  mg/L,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3$  g/L,  $t = 1-60$  min,  $\theta = 25$  °C,  $v_{\text{miješanja}} = 150$  okr/min).

**Tablica 3.** Parametri kinetičkih modela pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* ( $\gamma_{\text{bojila}} = 50$  mg/L,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3$  g/L,  $t = 1-60$  min,  $\theta = 25$  °C,  $v_{\text{miješanja}} = 150$  okr/min).

|   |       |
|---|-------|
| <b>Model</b>                              |       |
| $q_{m \text{ exp.}} / \text{mg g}^{-1}$   | 9.71  |
| <b>Pseudo-prvi red</b>                    |       |
| $q_{m 1} / \text{mg g}^{-1}$              | 7.790 |
| $k_1 / \text{min}^{-1}$                   | 1.187 |
| $R^2$                                     | 0.489 |
| <b>Pseudo-drugi red</b>                   |       |
| $q_{m 2} / \text{mg g}^{-1}$              | 8.248 |
| $k_2 / \text{g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$ | 0.218 |
| $R^2$                                     | 0.661 |

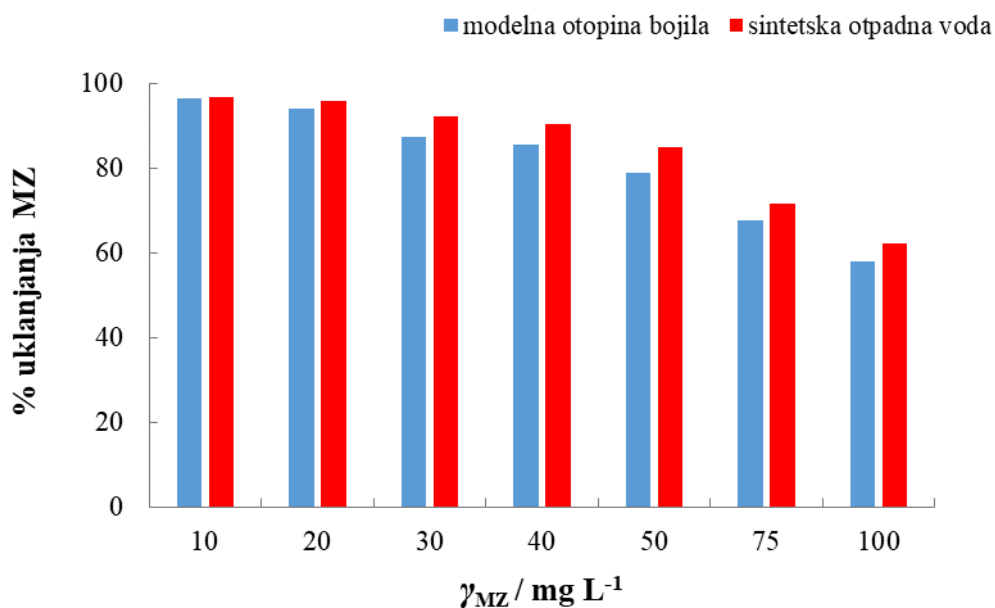


#### 4.2.6. Uklanjanje bojila iz sintetske otpadne vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola*

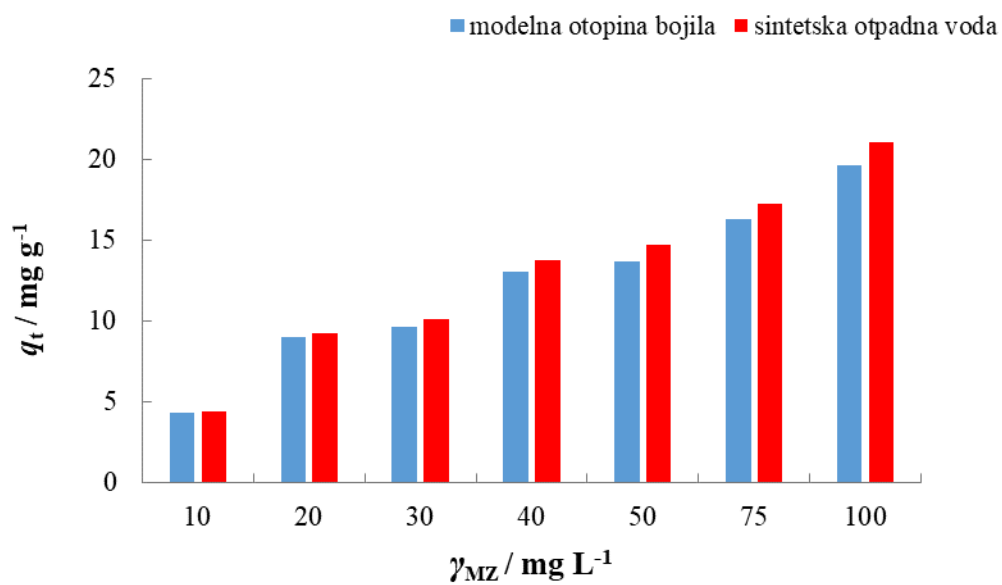
Kako bi se simulirali realni uvjeti, odnosno uklanjanje bojila iz komunalne otpadne vode, provedeni su šaržni adsorpcijski eksperimenti u sintetskoj otpadnoj vodi s dodatkom bojila.

Eksperimenti su provedeni u sintetskoj otpadnoj vodi s dodatkom bojila u koncentraciji od 10 mg/L do 100 mg/L pri čemu su ostali uvjeti bili:  $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ . Dobiveni rezultati prikazani su na slici 16.

Iz slike 16. je vidljivo kako su i postotak uklanjanja bojila i količina bojila adsorbirana po gramu biosorbensa, neovisno o početnoj koncentraciji bojila, nešto veći u sintetskoj otpadnoj vodi s dodatkom bojila u odnosu na modelnu otopinu bojila. Ovo se vjerojatno može objasniti činjenicom da je pH sintetske otapadne vode oko 8 te se radi o sustavu koji je zbog kompleksnog sastava (velikog broja otopljenih tvari) bolje puferiran od modelnih otopina bojila. Vrijednosti  $\text{pH} > \text{pH}_{\text{pzc}}$ , odnosno u slučaju inaktivne biomase gljive *F. pinicola* veće od 5,1 pogoduju uklanjanju kationskih bojila, odnosno učinkovitost uklanjanja je veća nego pri  $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}}$ .



A



**B**

**Slika 16.** Utjecaj početne koncentracije bojila na postotak uklanjanja bojila (A) i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa (B) za uklanjanje iz modelnih otopina bojila te sintetske otpadne vode s dodatkom bojila ( $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$ ,  $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$ ,  $t = 180 \text{ min}$ ,  $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ ,  $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$ ).

## **5.ZAKLJUČCI**

Na osnovu rezultata istraživanja provedenih u ovom radu, mogu se izvesti sljedeći zaključci:

- Ispitivanje utjecaja koncentracije biosorbensa na uklanjanje malahitnog zelenila biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* pokazalo je kako se postotak uklanjanja bojila povećava s povećanjem koncentracije biosorbensa, ali istovremeno dolazi do smanjenja količine bojila adsorbirane po gramu biosorbensa.
- Ispitivanje utjecaja vremena kontakta između biosorbensa i adsorbata pokazalo je kako je taj proces karakteriziran brzim uklanjanjem malahitnog zelenila tijekom prvih 30 min. Postotak uklanjanja malahitnog zelenila povećavao se s produljenjem vremena kontakta, do postizanja ravnotežnog stanja nakon 90 min.
- Uklanjanje malahitnog zelenila biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* proces je ovisan o početnoj koncentraciji bojila, pri čemu povećanjem početne koncentracije bojila od 10 mg/L do 200 mg/L dolazi do povećanja količine bojila adsorbirane po gramu biosorbensa od 4,33 mg/g do 31,97 mg/g.
- Veći postotak uklanjanja bojila i veća količina bojila adsorbirana po gramu biosorbensa postignuti su pri pH vrijednostima vodenih otopina bojila od 6 do 10, odnosno  $\text{pH} > \text{pH}_{\text{pzc}}$ , čija vrijednost za inaktivnu biomasu *F. pinicola* iznosi 5,1.
- Povećanjem temperature od 15 °C do 25 °C došlo je do povećanja postotka uklanjanja bojila i povećanja količine bojila adsorbirane po gramu biosorbensa. Daljnjim povećanjem temperature do 35 °C, nije došlo do značajne promjene ovih vrijednosti.
- Iako oba primijenjena ravnotežna modela dobro opisuju proces biosorpcije malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu *F. pinicola*, rezultati su nešto bolje opisani Freundlichovim ravnotežnim adsorpcijskim modelom, u odnosu na Langmuirov model.
- Kinetički model pseudo-drugog reda bolje opisuje kinetiku adsorpcije malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* pri primijenjenim eksperimentalnim uvjetima, u usporedbi s modelom pseudo-prvog reda.
- Postotak uklanjanja malahitnog zelenila iz sintetske otpadne vode s dodatkom bojila, kao i količina bojila adsorbirana po gramu biosorbensa, veći su nego u modelnoj otopini bojila.

## **6. LITERATURA**

Abdallah R, Taha S: Biosorption of methylene blue from aqueous solution by nonviable *Aspergillus fumigatus*. *Chemical Engineering Journal* 195-196:69-76, 2012.

Akata I, Sinağ A, İşlek C: Dye Biosorption from Aqueous Solutions by *Fomitopsis Pinicola* (Sw.) P. Karst. *Gazi University Journal of Science* 24:209, 2011.

Alaqrbeh M: Adsorption Phenomena: Definition, Mechanisms, and Adsorption Types: Short Review. *RHAZES: Green and Applied Chemistry* 13:43-51, 2021.

Argumedo-Delira R, Gómez-Martínez MJ, Uribe-Kaffure R: Trichoderma Biomass as an Alternative for Removal of Congo Red and Malachite Green Industrial Dyes. *Applied Sciences* 11:448, 2021.

Ayele A, Haile S, Alemu D, Kamaraj M: Comparative Utilization of Dead and Live Fungal Biomass for the Removal of Heavy Metal: A Concise Review. *The Scientific World Journal*, 2021.

Bishop KS: Characterisation of Extracts and Anti-Cancer Activities of *Fomitopsis pinicola*. *Nutrients* 12:609, 2020.

Bouras HD, Rédayeddou A, Bouras N, Chergui A, Favier L, Amrane A, Dizge N: Biosorption of cationic and anionic dyes using the biomass of *Aspergillus parasiticus* CBS 100926(T). *Water Science and Technology* 83:622-630, 2021.

Couto SR: Dye removal by immobilised fungi. *Biotechnology Advances* 27:227-235, 2009.

Crini G: Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: A review. *Bioresource Technology* 97:1061-1085, 2006.

Crini G, Lichtfouse E: *Green Adsorbents for Pollutant Removal: Innovative materials*. Springer, Cham, 2018.

Culp SJ, Beland FA: Malachite Green: A Toxicological Review. *Journal of the American College of Toxicology* 15:219-238, 1996.

Drumm FC, Grassi P, Georgin J, Tonato D, Franco DSP, Neto JRC, Mazutti MA, Jahn SL, Dotto GL: Potentiality of the *Phoma* sp. inactive fungal biomass, a waste from the bioherbicide production, for the treatment of colored effluents. *Chemosphere* 235:596-605, 2019.

Fiol N, Villaescusa I: Determination of sorbent point zero charge: usefulness in sorption studies. *Environmental Chemistry letters* 7:79-84, 2009.

Gadd GM: Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 84:13-28, 2008.

Grassi M, Kaykioglu G, Belgiorno V, Lofrano G: Removal of Emerging Contaminants from Water and Wastewater by Adsorption Process. U *Emerging Compounds Removal from Wastewater: Natural and Solar Based Treatments*, Springer, Dordrecht, 2012.

Grassi P, Reis C, Drumm FC, Georgin J, Tonato D, Escudero LB, Kuhn R, Jahn SL, Dotto GL: Biosorption of crystal violet dye using inactive biomass of the fungus *Diaporthe schini*. *Water Science & Technology* 79:709-717, 2019.

Gupta VK, Carrot PJM, Ribeiro Carrot MML, Suhas: Low-Cost Adsorbents: Growing Approach to Wastewater Treatment—a Review. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 39:783-842, 2009.

Gupta VK, Suhas: Application of low-cost adsorbents for dye removal – A review. *Journal of Environmental Management* 90:2313-2342, 2009.

Gürses A, Açıkyıldız M, Güneş K, Gürses MS: *Dyes and Pigments*. Springer International Publishing, Švicarska, 2016.

Hameed BH, Ahmad AA: Batch adsorption of methylene blue from aqueous solution by garlic peel, an agricultural waste biomass. *Journal of Hazardous Material* 115:234, 2009.

Kabbout R, Taha S: Biodecolorization of Textile Dye Effluent by Biosorption on Fungal Biomass Materials. *Physics Procedia* 55:437-444, 2014.

Karthik V, Saravanan K, Sivarajasekar N, Suriyanarayanan N: Bioremediation of dye bearing effluents using microbial biomass. *Ecology, Environment and Conservation Paper* 22:421–432, 2016.

Kezerle A: Uklanjanje sintetskih bojila metilenskog modrila i kongo crvenila iz vodenih otopina adsorpcijom na pivski trop. *Doktorska disertacija*. Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i Institut Ruđer Bošković, Zagreb, Osijek, 2020.

Khalaf MA: Biosorption of reactive dye from textile wastewater by non-viable biomass of *Aspergillus niger* and *Spirogyra* sp. *Bioresource Technology* 99:6631-6634, 2008.

Kiernan JA: Classification and naming of dyes, stains and fluorochromes. *Biotechnic & Histochemistry* 76:261-278, 2001.

Kopsidas O: Scale-up of adsorption in fixed-bed column systems. University of Piraeus, Piraeus, 2016.

Kukić D: Biosorpcija jona teških metala iz vode izluženim rezancima šećerne repe. *Doktorska disertacija*. Tehnološki fakultet Novi Sad, Univerzitet u Novom Sadu, Novi Sad, 2016.

Lee SI, Kim JS, Oh SH, Park KY, Lee HG, Kim SD. Antihyperglycemic Effect of *Fomitopsis pinicola* Extracts in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of Medicinal Food* 11: 518-524, 2008.

Loganathan P, Vigneswaran S, Kandasamy J, Naidu R: Defluoridation of drinking water using adsorption processes. *Journal of Hazardous Materials* 248:1-19, 2013.

Mathur N, Bhatnagar P: Mutagenicity assessment of textile dyes from Sanganer (Rajasthan). *Journal of environmental biology* 28:123-126, 2007.

Maurya NS, Mittal AK, Cornel P, Rother E: Biosorption of dyes using dead macro fungi: effect of dye structure, ionic strength and pH. *Bioresource Technology* 97:512-521, 2006.

Mondal NK, Kar S: Potentiality of banana peel for removal of Congo red dye from aqueous solution: isotherm, kinetics and thermodynamics studies. *Applied Water Science* 8:157, 2018.

OECD 302 B: *Guideline for testing of chemicals*, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, 1992.

Parvathi C, Maruthavanan T, Sivamani S, Prakash C: Biosorption Studies for the Removal of Malachite Green from its Aqueous Solution by Activated Carbon Prepared from Cassava Peel. *Journal of Chemistry* 8:61-66, 2011.

Patel SJ: Review on Biosorption of Dyes by Fungi. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology* 5:2319-8753, 2016.

Rafatullah M, Sulaiman O, Hashim R, Ahmad A: Adsorption of methylene blue on low-cost adsorbents: a review. *Journal of Hazardous Materials* 177:70-80, 2010.

Ravikumar KS, Ramya H, Ajith TA, Shah MA, Janardhanan KK: Bioactive extract of *Fomitopsis pinicola* rich in 11- $\alpha$ -acetoxykivorin mediates anticancer activity by cytotoxicity, induction of apoptosis, inhibition of tumor growth, angiogenesis and cell cycle progression. *Journal of Functional Foods* 78, 2021.

Roy U, Manna S, Senputa S, Bhowal A, Das P, Datta S, Mukopadhyay A: Dye Removal Using Microbial Biosorbents. U *Green Adsorbents for Pollutant Removal*, Springer, 2018.



Sađ Y: Biosorption of heavy metals by fungal biomass and modeling of fungal biosorption: A Review. *Separation and Purification Methods* 30:1-48, 2001.

Sartape AS, Mandhare AM, Jadhav VV, Raut PD, Anuse MA, Kolekar SS: Removal of malachite green dye from aqueous solution with adsorption technique using *Limonia acidissima* (wood apple) shell as low cost adsorbent. *Arabian Journal of Chemistry* 10:3229-3238, 2017.

Srivastava S, Sinha R, Roy D: Toxicological effects of malachite green. *Aquatic Toxicology* 66:319–329, 2004.

Treybal RE: *Mass Transfer Operations*. McGraw-Hill, New York USA, 1981.

Velić N, Gorenšek J, Petravić Tominac V, Pavlović H; Velić D, Despotović S, Iskhuemhen, Omoanghe S: Lignocelulozni otpad prehrambene industrije - vrijedni supstrat za uzgoj jestivih i ljekovitih gljiva. U *Neke mogućnosti iskorištenja nusproizvoda prehrambene industrije*, Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, Osijek, 2019.

Vrana B, Derco J: Introductory Chapter: Biosorption. U *Biosorption*. IntechOpen, 2018.

Wang J, Chen C: Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances* 27:195-226, 2009.

Web 1: <http://enciklopedija.lzmk.hr/clanak.aspx?id=44848>

Web 2: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Malachite-green#section=Chemical-Vendors>

Web 3: <https://tehnika.lzmk.hr/tehnickaenciklopedija/adsorpcija.pdf>

Web 4: <https://chembam.com/definitions/adsorption-vs-absorption/>

Web 5: [https://www.researchgate.net/figure/Batch-and-column-mode-adsorptions\\_fig1\\_326229162](https://www.researchgate.net/figure/Batch-and-column-mode-adsorptions_fig1_326229162)

Web 6: <https://edutorij.e-skole.hr/share/proxy/alfresco-noauth/edutorij/api/proxy-guest/5e7d944d-1bcf-4564-8ac8-1b0c0c6e1f32/biologija-2/m04/j01/index.html>

Web 7:

<file:///C:/Users/Mateja/Documents/Fakultet/DIPLOMSKI/APSOLVENTSKA%20GODINA/Diplomski%20rad/Literatura/Literatura%20s%20interneta/Jestive%20i%20ljekovite%20gljive/%C4%8Cudesni%20svi%20gljiva%20Branka%20Bartoli%C4%87a%20%C2%AB%20HMGS.html>

Web 8: <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?id=22411>

Wanyonyi WC, Onyari JM, Shiundu PM: Adsorption of Congo Red Dye from Aqueous Solutions Using Roots of Eichhornia Crassipes: Kinetic and Equilibrium Studies. *Energy Procedia* 50:862, 2014.

Yang K, Li Y, Zheng H, Luan X, Li H, Wang Y, Du Q, Sui K, Li H, Xia Y: Adsorption of Congo red with hydrothermal treated shiitake mushroom. *Materials Research Express* 7,2019.

Yoshikawa K, Inoue M, Matsumoto Y, Sakakibara C, Miyataka H, Matsumoto H, Arihara S: Lanostane Triterpenoids and Triterpene Glycosides from the Fruit Body of Fomitopsis pinicola and Their Inhibitory Activity against COX-1 and COX-2. *Journal of Natural Products* 68:69-73, 2005.

Yu Z, Wen X: Screening and identification of yeasts for decolorizing synthetic dyes in industrial wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation* 56:109-114, 2005.