

Biosorpcija diazo bojila kongo crvenila iz modelnih otopina na inaktivnu biomasu gljive *Fomitopsis pinicola*

Drempetić, Ana-Marija

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:109:493885>

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

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

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

Ana-Marija Drempetić

**Biosorpcija diazo bojila kongo crvenila iz modelnih otopina na
inaktivnu biomasu gljive *Fomitopsis pinicola***

Diplomski rad

Osijek, rujan 2022.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

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

Naslov

Ana-Marija Drempetić, 0113133875

Sažetak: Cilj ovog rada bio je istražiti biosorpcijski potencijal inaktivne biomase ljekovite gljive *Fomitopsis pinicola* za uklanjanje sintetskog bojila kongo crvenila (KC) iz vode. Različiti čimbenici koji utječu na proces biosorpcije istraživani su šaržnim postupkom, pri čemu su ispitani sljedeći čimbenici: koncentracija biosorbensa (0.5 – 10 g/L), vrijeme kontakta (1 - 240 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 bojila. Povećanje početne koncentracije bojila od 10 do 200 mg/L dovelo je do smanjenja postotka uklanjanja bojila (od 89,11% do 31,89%) i povećanja količine bojila adsorbirane po gramu biosorbensa (od 5,51 mg/g do 43,79 mg/g.). Uklanjanje KC iz sintetske otpadne vode s dodatkom bojila (koncentracija bojila od 10 mg/L do 100 mg/L) je bilo jednako učinkovito kao uklanjanje KC 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. Za analizu eksperimentalno dobivenih podataka korišteni su ravnotežni adsorpcijski modeli (Freundlich i Langmuir). Rezultati su pokazali kako Freundlich-ov model nešto bolje opisuje proces biosorpcije KC na inaktivnu biomasu *F. 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 *F. pinicola* ima potencijal za upotrebu u remedijaciji otpadnih voda onečišćenih sintetskim bojilom kongo crvenilom.

Ključne riječi: biosorpcija, *Fomitopsis pinicola*, kongo crvenilo, inaktivna biomasa

Rad sadrži: 39 stranica
14 slika
2 tablice
0 priloga
40 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

Sastav Povjerenstva za obranu:

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

Datum obrane:

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

University Josip Juraj Strossmayer in Osijek

Faculty of Food Technology Osijek

Department of Process Engineering

Subdepartment of Bioprocess Engineering

Franje Kuhača 20, HR-31000 Osijek, Croatia

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Biotechnology

Course title: Bioprocesses in environment protection

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

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

Technical assistance: *Indira Kosović, PhD*

Biosorption of diazo dye Congo Red on inactive biomass of the fungus *Fomitopsis pinicola*

Ana-Marija Drempetić, 0113133875

Summary: The objective of this work was to investigate the biosorption potential of the inactive biomass of the medicinal mushroom *Fomitopsis pinicola* for the removal of the synthetic dye Congo red (CR) from water. Various factors affecting the biosorption process were investigated in a batch procedure, testing the following factors: concentration of biosorbent (0.5 - 10 g/L), contact time (1 - 240 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 dye. Increasing the initial dye concentration from 10 to 200 mg/L resulted in a decrease in the percentage of dye removal (from 89.11% to 31.89%) and an increase in the amount of dye adsorbed per gram of biosorbent (from 5.51 mg/g to 43.79 mg/g). Removal of CR from synthetic wastewater with the addition of dye (dye concentration from 10 mg/L to 100 mg/L) was as effective as removal of CR from model solutions, although the percentage of dye removal also decreased (from 96.75 to 62.6%) with increasing dye concentration. A higher percentage of dye removal or biosorption efficiency was achieved at a pH < 7. Equilibrium adsorption models (Freundlich and Langmuir) were used to analyze the experimentally obtained data. The results showed that the Freundlich model somewhat better described the biosorption process of CR on the inactive biomass of *F. pinicola*. The pseudo-second order kinetic model showed better agreement with the experimental data than the pseudo-first order model. The results suggest that the extracted inactive biomass of the medicinal fungus *F. pinicola* has the potential to be used in the remediation of wastewater contaminated with the synthetic dye Congo red.

Key words: biosorption, Congo red, *Fomitopsis pinicola*, inactive biomass

Thesis contains: 39 pages

14 figures

2 tables

0 supplements

40 references

Original in: in Croatian

Defense

committee:

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

Defense date:

Thesis is printed and electronic (pdf format) version is deposited in Library of the Faculty of Food Technology Osijek, Franje Kuhača 20, Osijek.

Veliko hvala mentorici prof. dr. sc. Nataliji Velić koja mi je omogućila svu potrebnu opremu i pomogla svojim savjetima pri izradi ovog diplomskog rada i što je uvijek imala strpljenja i vremena za upite.

Veliko hvala dr. sc. Indiri Kosović i kolegici Mateji Kamenjaš na pomoći i suradnji pri izvođenju eksperimenata i na stvaranju lijepe i ugodne atmosfere u laboratoriju.

I jedno najveće hvala mojoj obitelji.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO	3
2.1. Biosorpcija	4
2.1.1. Adsorpcijske izoterme	5
2.2. Biosorbensi	7
2.3. Inaktivna mikrobna biomasa kao biosorbens	8
2.3.1. <i>Fomitopsis pinicola</i>	9
2.4. Primjena biosorpcije u obradi otpadnih voda	9
2.4.1. <i>Kongo crvenilo</i>	10
2.4.2. <i>Uklanjanje sintetskih bojila biosorpcijom</i>	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO	13
3.1. Zadatak	14
3.2. Materijali	14
3.2.1. <i>Biosorbens</i>	14
3.2.2. <i>Kemikalije</i>	15
3.2.3. <i>Instrumenti</i>	15
3.3. Metode	15
3.3.1. <i>Određivanje točke nul naboja</i>	15
3.3.2. <i>Priprava modelnih otopina bojila</i>	16
3.3.3. <i>Priprema sintetske otpadne vode s dodatkom bojila</i>	16
3.3.4. <i>Šaržni biosorpcijski eksperimenti</i>	16
3.3.5. <i>Adsorpcijski ravnotežni modeli i kinetika adsorpcije</i>	18
3.3.6. <i>Obrada rezultata</i>	18
4. REZULTATI I RASPRAVA	19
4.1. <i>Određivanje točke nul naboja biosorbensa (pH_{pzc})</i>	20
4.2. <i>Uklanjanje kongo crvenila iz vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive <i>F. pinicola</i></i>	21
4.2.1. <i>Utjecaj koncentracije biosorbensa na proces biosorpcije</i>	21
4.2.2. <i>Utjecaj vremena (kontakta između biosorbensa i adsorbata) na proces biosorpcije</i>	22
4.2.3. <i>Utjecaj početne koncentracije bojila na proces biosorpcije</i>	24
4.2.4. <i>Utjecaj pH vrijednosti na proces biosorpcije</i>	25
4.2.5. <i>Utjecaj temperature na proces biosorpcije</i>	26
4.2.7. <i>Uklanjanje bojila iz sintetske otpadne vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive <i>F. pinicola</i></i>	31
5. ZAKLJUČCI	33
6. LITERATURA	35

1. UVOD

Bojila su tvari prirodnog ili sintetskog podrijetla koja apsorbiraju svjetlost u vidljivom spektru (elektromagnetsko zračenje valne dužine između 380 i 760 nm) te stoga imaju sposobnost bojenja različitih materijala. Danas se gotovo u svim industrijama najčešće koriste sintetska bojila, a poznatih i komercijalno dostupnih je oko 10 000. Većina sintetskih bojila su spojevi koji pokazuju toksičan, mutagen i kancerogen učinak na vodene ekosustave u koje se ispuštaju. Zbog svoje složene strukture, ali i izrazite kemijske stabilnosti i otpornosti na razgradnju pomoću mikroorganizama važno je bojila ukloniti iz otpadnih voda, kako ne bi došlo do njihova nakupljanja u okolišu.

Učinkovitost uklanjanja sintetskih bojila konvencionalnim postupcima biološke obrade otpadnih voda najčešće je mala. Stoga je imperativ pronalaženje metoda uklanjanja bojila koje će istovremeno biti učinkovite, jednostavne u primjeni i ekonomski pristupačne. Jedna od takvih metoda je adsorpcija, odnosno biosorpcija, kako se naziva ako je adsorbens materijal biološkog podrijetla. Adsorpcija je nespecifična metoda, što znači da se velik broj različitih onečišćujućih tvari prisutnih u otpadnim vodama može uspješno ukloniti adsorpcijom. Kada se kao adsorbensi koriste različiti otpadni materijali, jeftini i široko dostupni govorimo o tzv. „*low-cost*„ adsorbensima. U ovom radu kao *low-cost* biosorbens je korištena inaktivna biomasa ljekovite gljive *Fomitopsis pinicola*, zaostala nakon ekstrakcije biološki aktivnih spojeva iz osušenog i smaljevenog plodišta gljive.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Biosorpcija

Biosorpcija je metoda uklanjanja onečišćujućih tvari iz vode, pomoću žive ili inaktivne biomase. Pojam se godinama koristi u različitim kontekstima, odnosno za različite procese i mehanizme. Sam izraz „sorpcija“ uključuje i apsorpciju i adsorpciju. Dok je apsorpcija fizikalno-kemijski mehanizam uklapanja atoma, molekula ili iona u trodimenzionalnu strukturu tvari, adsorpcija je proces gdje se isti vežu na površinu druge tvari (Gadd, 2009).

Biosorpcija uključuje i fizikalno-kemijske mehanizme ionske izmjene, površinskog kompleksiranja i taloženja. Mehanizam koji će biti prevladavajuć ovisi o vrsti i karakteristikama materijala koji se koristi, odnosno koji sudjeluje u reakcijama (Derco i Vrana, 2018).

Ipak, u tehnologijama koje za cilj imaju uklanjanje bojila iz vode najčešće se radi o adsorpciji i ionskoj izmjeni (Noroozi i sur., 2007). U ovom radu naglasak je stavljen na adsorpciju, jer je njena primjena raznolika i sve češća kao mehanizam za uklanjanje onečišćujućih tvari iz otpadnih voda, gdje se pokazala izuzetno učinkovitom.

Adsorpcija je u osnovi fizikalno-kemijski proces u kojem se čestice plina ili kapljevine (atomi, molekule i ioni) vežu na površinu krute tvari. Tvar na čijoj se čvrstoj površini događa adsorpcija zovemo adsorbens, a tvar koja se „taloži“ nazivamo adsorbat. Proces se odvija na granici dviju faza, mjesto definirano kao „granično područje“. Adsorpcija se provodi u smjesama tvari različitih agregatnih stanja, smjesi krutine i plina ili krutine i tekućine. Granično područje ne podrazumijeva samo geometrijsku površinu, ono uključuje i površinu u unutrašnjosti tvari, nastalu kao posljedica pripreme adsorbensa (Dabrowski, 2001).

Proces koncentriranja adsorbata na adsorbens odvija se do uspostave adsorpcijske ravnoteže, a da bi se ona postigla dvije različite komponente moraju biti u kontaktu, te jedna od faza mora biti prisutna u većoj koncentraciji (Habuda-Stanić, 2011).

Mjesto odvijanja procesa adsorpcije, odnosno granično područje faza nastaje djelovanjem sila koju su određene karakteristikama tvari koje su u kontaktu, a debljina graničnog područja je rijetko veća od veličine molekula adsorbata ili adsorbensa (Brdička, 1969).

Sile koje zadržavaju adsorbirane čestice na površini krute faze mogu biti fizikalne i kemijske ili ionske, te stoga razlikujemo fizikalnu adsorpciju, kemijsku adsorpciju i ionsku adsorpciju.

Da bi proces adsorpcije bio što učinkovitiji i ekonomičniji potrebno ga je što bolje razumjeti i predvidjeti tijek procesa, za što se u praksi često koriste različiti matematički modeli.

2.1.1. Adsorpcijske izoterme

Adsorpcijske izoterme opisuju odnos količine adsorbata vezanog na adsorbens (čvrsta tvar) i količine adsorbata u otopini kada je sustav u ravnotežnom stanju pri konstantnoj temperaturi (Hameed i Ahmad, 2009).

Ravnotežno stanje sustava opisano je funkcijom:

$$f(n_a, p, T) = 0$$

Gdje n_a predstavlja broj molova adsorbata po jedinici mase/površine adsorbensa, p tlak (u otopinama se zamjenjuje s koncentracijom c), a T je temperatura. U eksperimentima je uvijek jedna varijabla konstanta.

Najčešće korišteni modeli su empirijski dobivene jednadžbe, koje se grafički prikazuju Freundlichovom i Langmuirovom izotermom.

Freundlichova adsorpcijska izoterma

Freundlichova adsorpcijska izoterma opisuje adsorpciju na heterogene površine, odnosno na adsorbens čija adsorpcijska mjesta imaju različite afinitete za adsorbat (Gadd, 2009.) Ta krivulja nam prikazuje ovisnost količine adsorbirane tvari o koncentraciji otopine pri konstantnoj temperaturi i dana je jednadžbom:

$$q_e = K_F c_e^{1/n}$$

q_e - ravnotežni adsorpcijski kapacitet (mg g^{-1}),

K_F - Freundlichova konstanta (mg g^{-1}) (mg L^{-1})^{-1/n},

c_e - ravnotežna koncentracija adsorbata u otopini (mg L^{-1})

1/n - konstanta intenziteta adsorpcije (Babaeivelni i sur., 2013 ; Foo and Hameed, 2010; Marsal i sur., 2012; Soto i sur., 2011).

Langmuirova adsorpcijska izoterma

Langmuirova adsorpcijska izoterma je model koji se zasniva na pretpostavkama da sva adsorpcijska mjesta posjeduju jednak afinitet za adsorbat, adsorpcija je ograničena na stvaranje monosloja i broj adsorbiranih vrsta ne prelazi ukupni broj površinskih mjesta (Gadd, 2009). Langmuirov model opisan je jednadžbom:

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

Gdje su:

q_e – ravnotežni adsorpcijski kapacitet (mg g^{-1})

q_m – maksimalni adsorpcijski kapacitet (mg g^{-1})

K_L – Langmuirova konstanta ($\text{L}^{-1} \text{mg}^{-1}$)

c_e – ravnotežna koncentracija adsorbirane tvari (mg L^{-1})

Adsorpcijska kinetika

Adsorpcijska kinetika prikazuje ovisnost procesa adsorpcije o vremenu sve dok se u sustavu ne postigne ravnotežno stanje. Proces adsorpcije temelji se na dvije faze: difuzija i reakcija na površini adsorbensa. Stoga se i modeli adsorpcije dijele na dva tipa, difuzijski i reakcijski model. Difuzijski model opisuje prijelaz adsorbata iz otopine prema površini adsorbensa, a reakcijski modeli opisuju sam proces adsorpcije (Fang i sur., 2020).

Za obradu eksperimentalnih podataka najčešće se koriste modeli, odnosno kinetičke jednadžbe pseudo-prvog i pseudo-drugog reda.

Model pseudo-prvog reda dan je jednadžbom:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1 \cdot (q_{m_1} - q_t)$$

Gdje su:

q_{m_1} – ravnotežni adsorpcijski kapacitet (mg g^{-1})

q_t – adsorpcijski kapacitet u vremenu t (mg g^{-1})

t – vrijeme (min)

k_1 – koeficijent brzine adsorpcije pseudo-prvog reda (min^{-1})

Model pseudo-drugog reda dan je jednadžbom:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_{m_2} - q_t)^2$$

Gdje su:

q_{m_2} – ravnotežni adsorpcijski kapacitet (mg g^{-1})

q_t – adsorpcijski kapacitet u vremenu t (mg g^{-1})

t – vrijeme (min)

k_2 – konstanta brzine adsorpcije pseudo-drugog reda ($\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$)

2.2. Biosorbensi

Kada se kao adsorbens koristi biološki materijal, poput žive ili inaktivne mikrobne biomase ili različitih lignoceluloznih materijala, govorimo o biosorbensima, odnosno o biosorpciji. Korištenje inaktivne biomase mikroorganizama kao biosorbensa ima neke prednosti u odnosu na korištenje živih mikroorganizama: ne zahtjeva dostupnost supstrata, hranjivih tvari i kisika za rast stanica te mu toksičnost onečišćujućih tvari ne predstavlja problem. (Decro i Vrana, 2018)

Konvencionalni adsorbensi u obradi otpadnih voda su najčešće aktivni ugljen, aktivne gline, razni oksidi i zeoliti i dr. Njihove karakteristike su dobro poznate i istražene, što olakšava vođenje i povećava učinkovitost procesa obrade otpadnih voda, ali njihova cijena može predstavljati problem.

Najčešće korišteni adsorbensi u obradi otpadnih voda su učinkoviti i dobro karakterizirani konvencionalni adsorbensi, poput aktivnog ugljena, aktivne gline, silikagela, raznih oksida, alumosilikata, zeolita i dr. (Kezerle, 2020).

Visoka cijena konvencionalnih adsorbensa, kao i problemi s njihovom regeneracijom potakli su velik broj znanstvenih istraživanja koja imaju za cilj razvoj novih adsorbensa/biosorbensa pri čemu se intenzivno istražuju i živa i inaktivna biomasa različitih mikroorganizama poput bakterija, kvasaca, filamentoznih gljiva, algi...

Idelani adsorbens je materijal koji ne zahtijeva puno obrade koja bitno utječe na cijenu procesa adsorpcije te je dostupan u velikim količinama, najčešće su to nusproizvodi velikih industrija (Bailey i sur., 1999).

2.3. Inaktivna mikrobn biomasa kao biosorbens

Mikrobna biomasa koja se koristi u obradi otpadnih voda najčešće je zapravo biomasa koja zaostaje u fermentacijskoj proizvodnji antibiotika i enzima. Takva biomasa ima veliki potencijal za primjenu kao biosorbens zbog svojih fizikalno-kemijskih svojstava, odnosno raznolikosti u sastavu staničnih stijenki.

Mehanizam biosorpcije na primjerice bakterijsku biomasu započinje kontaktom stanične stijenke bakterije koja je izgrađena od peptidoglikana i onečišćujuće tvari, kao što su teški metali, bojila i dr. Prisutnost hidroksilnih, karboksilnih, amino i ostalih funkcijskih skupina u peptidoglikanskom sloju bakterijske stanične stijenke pomažu bakterijskoj biomasi da veže onečišćujuće tvari (Saha et al. 2013). Osim funkcijskih skupina u staničnoj stijenci veliku ulogu u biosorpciji imaju i ekstracelularni polisaharidi koje bakterije produciraju (Kotrba i sur., 2011).

Biomasa algi je također poznata kao visoko učinkovit biosorbens, zbog velike površine i prisutnosti različitih funkcijskih skupina (Pathak et al. 2015). Stanična stijenka mikroalgi ima negativan naboj zbog svoji funkcijskih skupina na površini stanične stijenke, što ih čini učinkovitim biosorbensom za uklanjanje različitih kationa metala (Monteiro i Castro, 2012.; Derco i Vrana, 2018.)

Osim bakterijske biomase, kao biosorbens se puno istražuje i biomasa gljiva. U svom živom obliku gljive sudjeluju u procesima bioakumulacije, biotransformacije i biorazgradnje onečišćujućih tvari. Gljive imaju složenu makromolekularnu strukturu stanične stijenke, koja sadrži hitin, manine, proteine, glukane, te lipide, polisaharide i pigmente poput melanina, što rezultira prisutnošću različitih funkcijskih skupina odgovornih za mehanizme biosorpcije (Crini i Badot, 2008).

2.3.1. *Fomitopsis pinicola*

Fomitopsis pinicola je gljiva koja se ubraja u skupinu truležnica (izaziva smeđe truljenje drveta), poznata je kao crvenoruba guba, a njezina najčešća staništa su crnogorične šume. Parazitira na drveću te svojim enzimima razgrađuje celulozu i hemicelulozu i za sobom ostavlja smeđu trulež. Njeno plodište je lepezastog oblika, a višegodišnjim rastom dostigne i 40 cm (Bishop, 2020).

Plodište gljive *F. pinicola* starenjem poprima sivu boju, dok su mladi dijelovi na rubovima narančasto crvene boje (slika 1).



Slika 1. Izgled gljive *F. pinicola* ili crvenorube gube (web 1)

Crvenoruba guba nije jestiva, ali ima ljekovita svojstva, zbog biološki aktivnih spojeva koje sintetizira, od kojih se neki dokazani kao snažni imunomodulatori. Biološki aktivni spojevi uz polisaharide uključuju i brojne druge sekundarne metabolite. Raznim istraživanjima potvrđena su joj i druga ljekovita svojstva, poput antikancerogenog (Ravikumar i sur., 2021), te protupalnog (Yoshikawa i sur.,2005).

2.4. Primjena biosorpcije u obradi otpadnih voda

Otpadne vode su sve potencijalno onečišćene industrijske, sanitarne, oborinske i druge vode. Prema podrijetlu dijelimo ih na komunalne (iz kućanstava) i industrijske otpadne vode.

Otpadne vode iz kućanstava sadrže puno organske tvari, koja se najčešće uklanja biološkom obradom pomoću različitih mikroorganizama. Industrijske otpadne vode osim organskog onečišćenja, nerijetko sadrže i značajne količine anorganskog onečišćenja.

Među različitim onečišćujućim tvarima prisutnim u vodenim ekosustavima vrlo važnu ulogu imaju i bojila, koja se koriste u brojnim industrijama, kao što su tekstilna, papirna, prehrambena, kozmetička i mnoge druge. Zapravo, teško je navesti industriju u kojoj se bojila ne koriste. Danas je poznato oko 10000 sintetskih bojila koja se svakodnevno koriste u različitim industrijama (Gürses i sur., 2016). Prema strukturalnoj građi bojila se dijele na azo-bojila, nitrozo, nitro, stilbenska, tiazolna, tiazinska, oksazinska i azinksa, trifenilmetanska, ketonimidna, ksantenska, sumporna, indigoidna, akridinska, antrakinonska i druga (Gürses i sur., 2016). Azo-bojila su veoma otporna na mikrobiološki i kemijski utjecaj, a najčešće se primjenjuju u obradi tekstilnih materijala (Patel, 2016). Azo-bojila čine 70% svih sintetskih bojila (Adedayo i sur, 2004), zbog njihove jednostavne sinteze i gotovo neograničenog broja suspsituenata (Kezerle, 2020).

Većina bojila ima složenu aromatsku strukturu, što otežava njihovu biorazgradnju i svrstava ih u skupinu ksenobiotika (Yu i Wen, 2005). Neke bojila pokazala su mutageni, karcenogeni i teratogeni učinak nakon dužeg izlaganja (Inthorn i sur, 2004; Sadhasivam i sur, 2007).

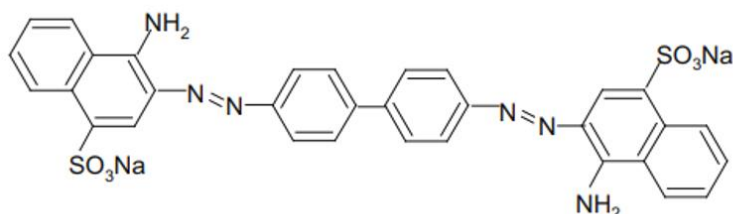
S obzirom na karakteristike sintetskih bojila koje ih čine vrlo stabilnima, otpornima na svjetlost, oksidaciju i mikrobnu razgradnju, njihovo uklanjanje konvencionalnim metodama je teško. Ukoliko se industrijske otpadne vode dodatno ne obrade, sintetska bojila se nakupljaju u vodenim ekosustavima i tako postaju dio hranidbenog lanca, te indirektno utječu na zdravlje ljudi i ostalih živih bića.

2.4.1. Kongo crvenilo

Kongo crvenilo je sintetsko bojilo koje pripada skupini anionskih diazo bojila, smeđe crveni prah, kemijske formule $C_{31}H_{22}O_6N_6S_2Na_2$, molarne mase 696, 665 g mol⁻¹ (slika 2).

Prvi put sintetizirano je 1883. godine u laboratoriju njemačkog kemičara Paula Bottingera (Linke, 2006). Upotreba kongo crvenila u tekstilnoj industriji opada zbog njegove neotpornosti na ispiranje u detergentima koji se danas koriste, ali i dalje ima veliku primjenu u industriji papira i plastike, a koristi se i kao pH indikator. Iako je upotreba rjeđa, još uvijek ovo bojilo

predstavlja opasnost za cijeli eko sustav. Izravna izloženost kod ljudi može izazvati alergijske reakcije (iritacije kože i očiju), a krajnji produkt razgradnje kongo crvenila benzidin je kancerogen (Chatterjee, 2009).



Slika 2. Strukturna formula kongo crvenila

2.4.2. Uklanjanje sintetskih bojila biosorpcijom

Kako bi se smanjio štetan utjecaj sintetskih bojila na eko-sustav i ljude, potrebno je otpadne vode sa sintetskim bojilima prije ispuštanja u prirodu pročistiti. Obrada obojenih otpadnih voda nije lak zadatak, jer su molekule bojila često teško razgradive (Drumm, 2019). Ispituju se različite metode za uklanjanje sintetskih bojila, neke od njih su fotokataliza, koagulacija, adsorpcija, biosorpcija, membranska filtracija, anaerobna i aerobna razgradnja, pri tome je izuzetno važno da mogući nastali produkti tijekom obrade nisu toksičniji od polaznog spoja (Kabbout i Taha, 2014).

Zbog svoje visoke učinkovitosti, ekonomičnosti i ekološke prihvatljivosti biosorpcija se smatra boljim izborom za pročišćavanje obojenih otpadnih voda, nego što to predstavljaju konvencionalne metode (Varghese i sur., 2018).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak

Zadatak ovog rada bio je istražiti mogućnost uklanjanja sintetskog diazo bojila kongo crvenila 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. Biosorbens

U ovom radu kao biosorbens korištena je samljevena filtracijska pogača zaostala nakon ekstrakcije osušenog i samljevenog plodišta gljive *F. pinicola* (čista kultura gljive iz privatne zbirke Institute for Applied Mycology and Biotechnology, Celje, Slovenija) (slika 3).

Dobivanje inaktivne biomase gljive - ekstrakcija biološki aktivnih tvari. Osušeno plodište gljive je samljeveno na mlinu (veličina čestice manja od 1,5 mm). 100 g samljevenog plodišta 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. Zatim je sadržaj homogeniziran i steriliziran pri 121 °C i 1 bar. Nakon sterilizacije filtriran je preko filter papira sa staklenim vlaknima (veličine pora 100 µm). Pogača koja je zaostala nakon filtracije ponovo je osušena te je za korištenje u ovom radu kao biosorbens samljevena na laboratorijskom mlinu.



Slika 3 . Inaktivna biomasa gljive *F. pinicola* nakon filtracije kao filtracijska pogača (A) i nakon mljevenja (B).

3.2.2. Kemikalije

U radu su korištene sljedeće kemikalije:

- Kongo crvenilo, Carlo Erba Reagents, 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
- $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (urea), Kemika d.d., Hrvatska
- K_2HPO_4 (dikalijev hidrogenfosfat), Kemika d.d., Hrvatska
- $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (kalcijev klorid dihidrat), Merck, Njemačka
- $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (magnezijev sulfat heptahidrat), Kemika d.d., Hrvatska
- $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (željezov (II) sulfat heptahidrat), Kemika d.d., Hrvatska
- HgSO_4 (živin(II) sulfat), Kemika d.d., Hrvatska

3.2.3. Instrumenti

U radu su korišteni sljedeći instrumenti:

- Analitička vaga NBL 84i, Nimbus Analytical Balances, Adam Equipment, SAD
- Laboratorijska centrifuga mini G, IKA Labortechnik, Njemačka
- Laboratorijski pH metar FEP20 Basic FiveEasy Plus, Mettler Toledo, Švicarska
- Spektrofotometar S-220 UV/VIS, Boeco, Njemačka
- Standardni laboratorijski mlin, MF10 Basic, IKA Labortechnik, Njemačka
- Tresilica KS 260 basic, IKA Labortechnik, Njemačka
- Inkubator Aqualytic, Dortmund, Njemačka

3.3. Metode

3.3.1. Određivanje točke nul naboja

Točka nul naboja određena je prema Fiol i Villaescusa (2009).

U Erlenmeyerove tikvice odvagano je 200 mg biosorbensa i 50 mL otopine inertnog elektrolita 0,1 mol/L otopina NaCl te su pomoću lužine (NaOH (0,1 mol/L)) i kiseline (HCl (0,1 mol/L)) podešene 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 miješanja, sadržaj tikvica je profiltriran, te je filtratima izmjerena konačna pH vrijednost. Za svaku pH vrijednost određena je promjena pH vrijednosti (ΔpH) koja predstavlja razliku između početne pH vrijednosti i konačne pH vrijednosti. Početna pH vrijednost pri kojoj je promjena pH vrijednosti (ΔpH) jednaka 0 predstavlja točnu nul naboja (pHpzc) i određena je grafički.

3.3.2. Priprava modelnih otopina bojila

Pripremljena je standardna otopina bojila koncentracije 1 g/L. Modelne otopine bojila masenih koncentracija 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150 i 200 mg/L pripremljene su razrjeđivanjem standardne otopine ultračistom vodom.

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), K_2HPO_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 Erlenmeyerove tikvice od 100 mL dodana je određena masa inaktivne biomase gljive (biosorbensa) i 50 mL vodene otopine sintetskog bojila poznate koncentracije. Eksperimenti su zatim provedeni do uspostavljanja ravnotežnog stanja (osim za istraživanje utjecaja vremena kontakta između biosorbensa i otopine bojila) na način da su tikvice postavljene na tresilicu, pri odabranoj temperaturi, vremenu biosorpcije i brzini miješanja (160 okr/min). Nakon toga sadržaj Erlenmeyerovih tikvica profiltriran je kroz naborani filter papir. Filtrat je centrifugiran pri 6000 okretaja u minuti u vremenskom intervalu od 5 minuta. U dobivenom

supernatantu spektrofotometrijski (pri valnoj duljini od 498 nm) su određene koncentracije bojila nakon završenog procesa biosorpcije .

Postotak uklanjanja bojila izračunat je korištenjem sljedeće jednadžbe:

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

gdje su γ_0 i γ početna i konačna masena koncentracija bojila (mg/L).

Količina bojila koja je adsorbirana po jedinici mase biosorbensa u jedinici vremena izračunata je korištenjem sljedeće jednadžbe:

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

gdje je q_t količina bojila adsorbirana po jedinici mase biosorbensa u vremenu t (mg/g), γ_0 i γ_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 rezultati su izraženi kao srednja vrijednost najmanje dva ponavljanja.

Utjecaj koncentracije biosorbensa na proces biosorpcije. Utjecaj koncentracije biosorbensa na postotak uklanjanja bojila ispitan je za koncentracije: 0,5; 1; 1,25; 1,5; 2; 3; 5; 7; 10 g/L uz ostale eksperimentalne uvjete: $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $t = 24 \text{ h}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$.

Utjecaj vremena biosorpcije (kontakta između biosorbensa i adsorbata). Eksperimenti su provedeni pri koncentracijama bojila: 10, 50 i 100 mg/L i vremenskim intervalima: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, 120, 180, 240 minuta. Uz ostale eksperimentalne uvjete: $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1,5 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$.

Utjecaj početne koncentracije bojila. Utjecaj početne koncentracije bojila na proces adsorpcije ispitan je pri početnim koncentracijama bojila od 10 mg/L do 200 mg/L, pri čemu su ostali eksperimentalni uvjeti bili: $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$.

Utjecaj pH modelne otopine bojila. Utjecaj pH vrijednosti modelne otopine bojila na proces biosorpcije ispitan je za pH vrijednosti 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. pH vrijednosti modelnih otopina bojila podešavana su sa 0,01 mol/L otopinom NaOH i 0,01 mol/L otopinom HCl. Ostali eksperimentalni uvjeti bili su: $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $V_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$.

Utjecaj temperature na proces biosorpcije. Ispitan je utjecaj temperatura 15°C, 25°C i 35 °C na proces biosorpcije, pri čemu su ostali eksperimentalni uvjeti bili: $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100, 150, 200 \text{ mg/L}$, $V_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$.

Usporedba procesa uklanjanja bojila biosorpcijom iz modelne otopine bojila i sintetske otpadne vode s dodatkom bojila. Za usporedbu procesa uklanjanja bojila biosorpcijom iz modelne otopine bojila i sintetske otpadne vode s dodatkom bojila, primijenjeni su slijedeći uvjeti: $\gamma_{\text{bojila}} = 10, 20, 30, 40, 50, 75, 100 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $V_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$.

3.3.5. Adsorpcijski ravnotežni modeli i kinetika adsorpcije

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

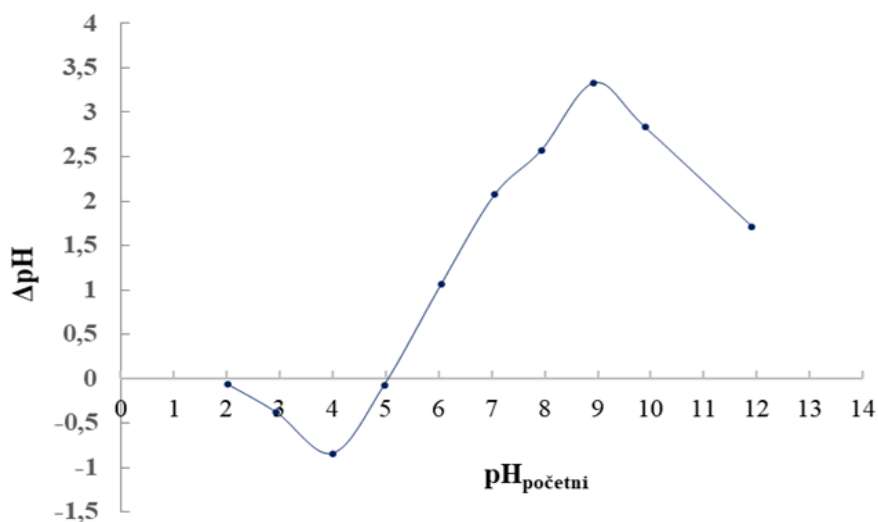
3.3.6. Obrada rezultata

Za statističku obradu eksperimentalno dobivenih vrijednosti korišten je program Microsoft Excel 2013 (Microsoft Excel 2013, Redmond, Washington, SAD).

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Određivanje točke nul naboja biosorbensa (pH_{pzc})

U radu je određena točka nul naboja inaktivne biomase *F. pinicola* korištene kao biosorbens te su rezultati prikazani na slici 4.



Slika 4. Grafički prikaz točke nul naboja (pH_{pzc}) u 0,1 mol/L otopini NaCl

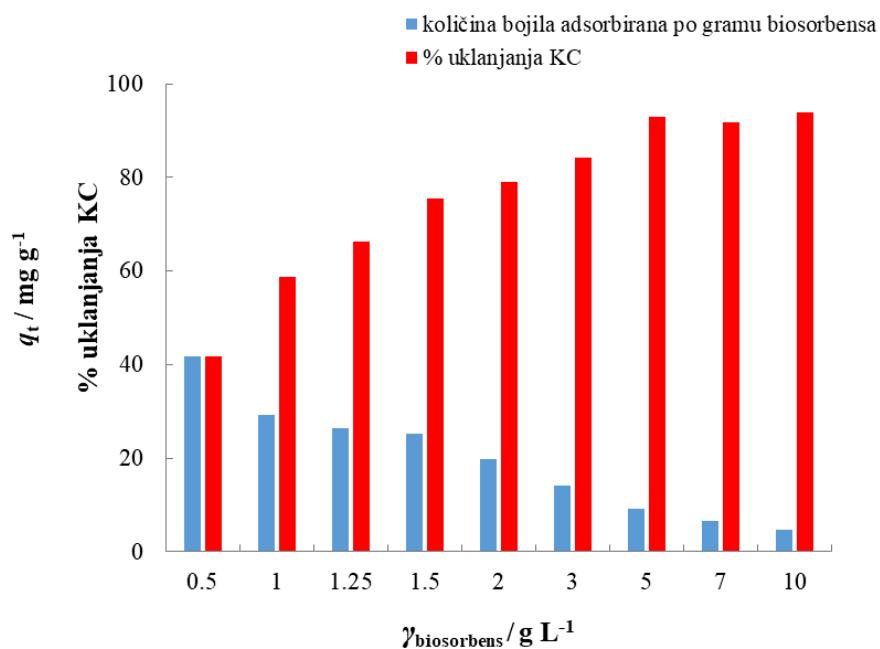
Točka nul naboja adsorbensa (pH_{pzc}) je pH vrijednost pri kojoj je površinska gustoća naboja jednaka nuli, a za inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* ona odgovara pH vrijednosti 5,1.

Kada je $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}}$ površina biosorbensa je pozitivno nabijena, a to su uvjeti koji pogoduju adsorpciji aniona. Analogno tome, kada je $\text{pH} > \text{pH}_{\text{pzc}}$ površina biosorbensa je negativno nabijena i na nju se adsorbiraju kationi (Fiol i Villaescusa, 2009). Inaktivna biomasa gljive *Diaporthe schini*, korištena za adsorpciju sintetskog bojila kristal violet karakterizirana je vrlo sličnom točkom nul naboja kod pH vrijednosti 5,4 (Grassi i sur., 2019). Kongo crvenilo je anionsko bojilo i za očekivati je da će veća učinkovitost uklanjanja biti postignuta pri pH vrijednostima manjim od pH_{pzc} .

4.2. Uklanjanje kongo crvenila iz vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola*

4.2.1. Utjecaj koncentracije biosorbensa na proces biosorpcije

Kako bi odredili optimalnu koncentraciju biosorbensa za daljnje istraživanje, provedeni su šaržni biosorpcijski eksperimenti s različitim koncentracijama biosorbensa čije vrijednosti su bile: 0,5; 1; 1,25; 1,5; 2; 3; 5; 7; 10 g/L uz ostale uvjete: $V_{\text{otopina bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $t = 24 \text{ h}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$, a dobiveni rezultati prikazani su na slici 5.



Slika 5. Utjecaj koncentracije biosorbensa na postotak uklanjanja kongo crvenila i količinu bojila adsorbiranog po gramu biosorbensa ($V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $t = 24 \text{ h}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$).

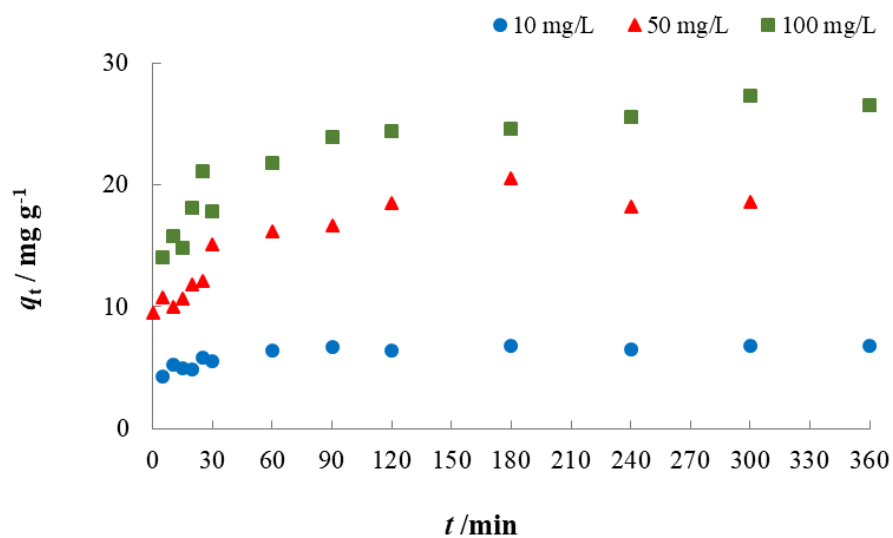
Povećanje masene koncentracije biosorbensa od početne vrijednosti 0,5 g/L do 10 g/L rezultiralo je povećanjem vrijednosti postotka uklonjenog bojila sa 41,64% na 93,98%, ali količina adsorbiranog bojila po gramu biosorbensa se smanjuje (od 41,64 mg/g do 4,70 mg/g). Povećanjem koncentracije biosorbensa povećava se broj dostupnih aktivnih mjesta za vezanje adsorbata (bojila), pa je postotak uklonjenog bojila proporcionalno veći, a iskoristivost biosorbensa manja, zbog manje količine adsorbiranog bojila po jedinici mase. Rezultati dobiveni ovim istraživanjem u skladu su s istraživanjima provedenima s inaktivnom biomasom gljive *Lentinula edodes* (shiitake) korištene za uklanjanje kongo crvenila (Yang i sur., 2020), te inaktivnom biomasom plijesni *Aspergillus niger* za uklanjanje reaktivnog bojila Synazol (Khalaf, 2008).

Za nastavak istraživanja kao optimalna koncentracija biosorbensa odabrana je vrijednost od 1,5 g/L.

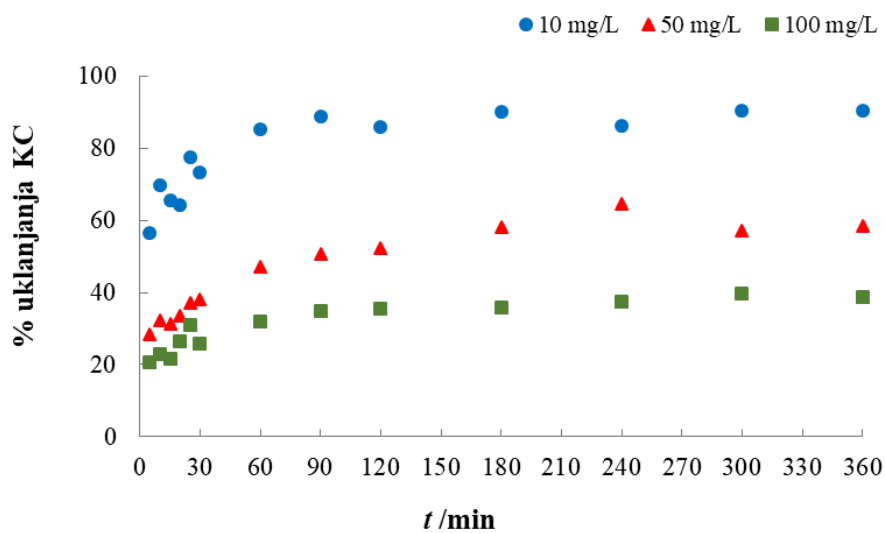
4.2.2. Utjecaj vremena (kontakta između biosorbensa i adsorbata) na proces biosorpcije

Utjecaj vremena ispitan je za vremenske intervale od 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120, 180, 240 min i za koncentracije bojila 10, 50, 100 mg/L. Ostali parametri su: $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $V_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$, a dobiveni rezultati prikazani su na slikama 6 i 7.

Dobar adsorbens (biosorbens) odlikuje se brзом adsorpcijom bojila iz tekuće faze te bržog uspostavljanja ravnotežnog stanja. Kako je vidljivo iz rezultata prikazanih na slikama 6. i 7. do postizanja ravnotežnog stanja za uklanjanje kongo crvenila iz modelnih otopina bilo je potrebno 120 min, za sve ispitane koncentracije bojila. U prvih 30 min adsorpcija se odvija puno većom brzinom, nakon čega slijedi postepeno usporavanje do uspostavljanja ravnoteže. Dobiveni rezultati u skladu su s podacima prikazanim u istraživanju koje su proveli Drumm i suradnici (2019), a koji su kao biosorbens koristili inaktivnu biomasu gljive *Phoma sp.* U istraživanju koje su proveli Abdullah i Taha (2012) s inaktivnom biomasom *Aspergillus fumigatus* za uklanjanje metilneskog modrila (kationskog bojila) također je ravnotežno stanje postignuto za 90 minuta.



Slika 6. Utjecaj vremena kontakta biosorbensa i bojila na količinu adsorbiranog bojila po jedinici mase biosorbensa. ($V_{\text{otopina bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 10, 50 \text{ i } 100 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1,5 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$)



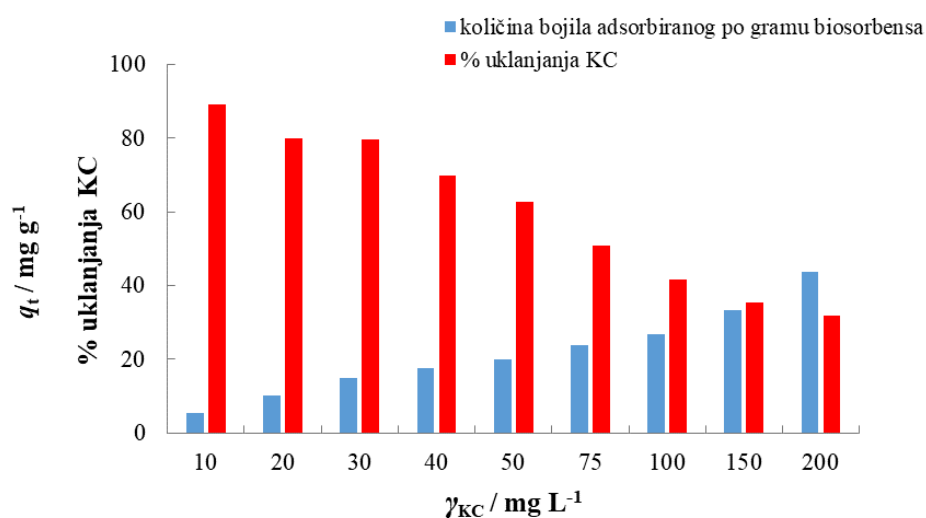
Slika 7. Utjecaj vremena kontakta biosorbensa i bojila na postotak uklanjanja bojila ($V_{\text{otopina bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 10, 50 \text{ i } 100 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1,5 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$)

Kako bi se u svim daljnjim eksperimentima osiguralo postizanje ravnotežnog stanja, za nastavak istraživanja odabrano je vrijeme kontakta biosorbensa i adsorbata (bojila) u trajanju od 240 min.

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:

($V_{\text{otopina bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1,5 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$)

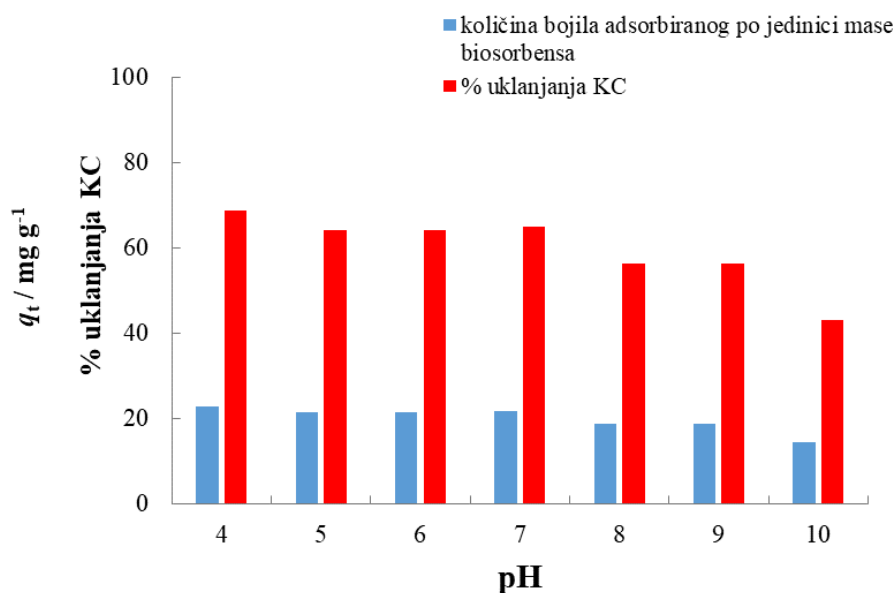


Slika 8. Utjecaj početne koncentracije bojila na postotak uklanjanja i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa ($V_{\text{otopina bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1,5 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^{\circ}\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$)

Povećanjem početne koncentracije bojila od 10 mg/L do 200 mg/L postotak uklanjanja bojila se smanjuje od 89,11% do 31,89%, dok se količina adsorbiranog bojila po jedinici mase biosorbensa povećava od 5,51 mg/g do 43,79 mg/g. Proces uklanjanja kongo crvenila biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* ovisan je o koncentraciji bojila. Slične rezultate pokazala su i istraživanja drugih autora koji su koristili inaktivnu biomasu različitih gljiva za uklanjanje kongo crvenila (Yang i sur., 2019), kristal violeta (Grassi i sur., 2019) ili metilenskog modrila (Abdallah i Taha, 2012).

4.2.4. Utjecaj pH vrijednosti na proces biosorpcije

Utjecaj pH vrijednosti na proces biosorpcije ispitan je za pH područje od 4 do 10, dok su ostali eksperimentalni uvjeti bili: $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$. Utjecaj pH otopine bojila na postotak uklanjanja bojila te količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa prikazan je na slici 9.

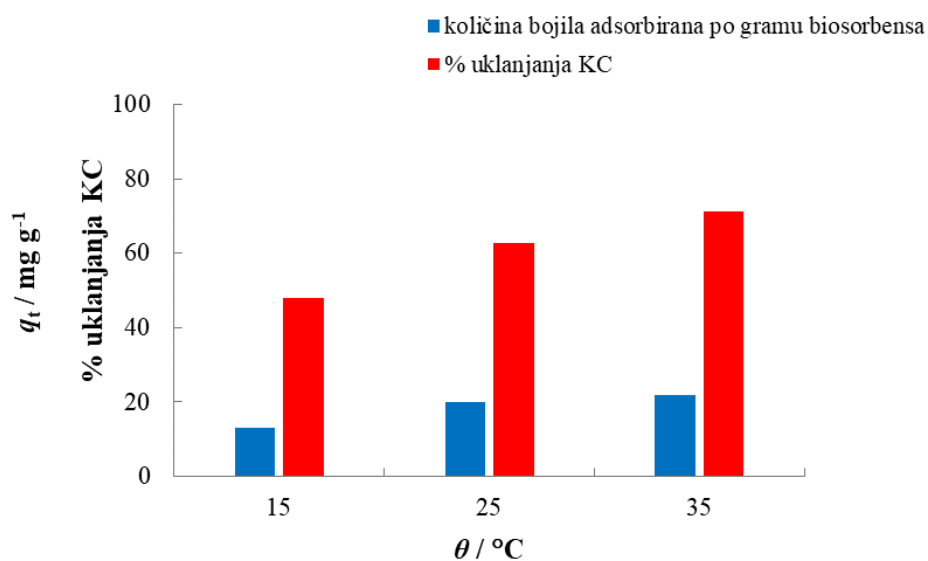


Slika 9. Utjecaj pH vrijednosti na postotak uklanjanja bojila i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa ($V_{\text{otopina bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1,5 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$)

Najveći postotak uklanjanja bojila postignut je pri pH vrijednosti 4 (68,74%), a najmanji pri pH vrijednosti 10 (43,22)%. Ovakav rezultat je očekivan, jer pH vrijednosti vodenog okoliša manja od pH_{pzc} (odnosno $\text{pH}=5,1$) pogoduje adsorpciji anionskih vrsta (poput anionskog bojila kongo crvenila) zbog pozitivno nabijene površine. Količina adsobiranog bojila po jedinica mase bisorbensa neznatno se smanjuje povećanjem pH vrijednosti sustava. Dobiveni rezultati su u skladu s rezultatima Yang i suradnika (2019) koji su istraživali utjecaj pH na biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljiva shiitake.

4.2.5. Utjecaj temperature na proces biosorpcije

Utjecaj temperature na proces biosorpcije ispitan je za temperature 15 °C, 25 °C i 35 °C pri čemu su ostali eksperimentalni uvjeti bili: $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$. Dobiveni rezultati grafički su prikazani na slici 10.



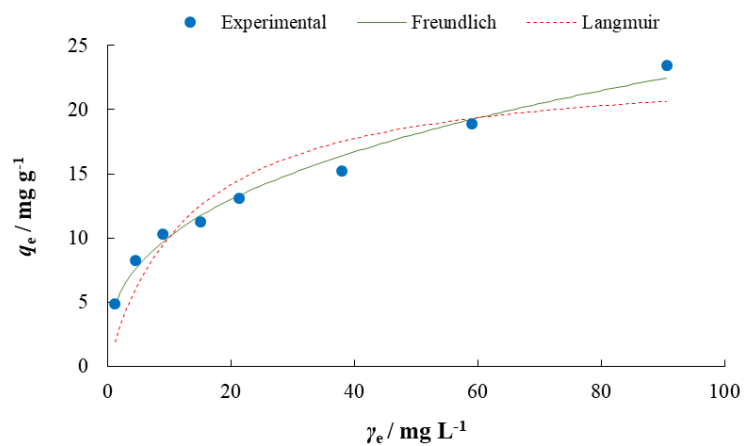
Slika 10. Utjecaj temperature na postotak uklanjanja bojila i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa ($V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ °C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$).

Povećanje temperature može imati pozitivan ili negativan utjecaj na učinkovitosti adsorpcije, ali također ne mora utjecati na učinkovitost (Loganathan i sur., 2013). Povećanjem temperature sustava vodene otopine bojila i biosorbensa povećava se postotak uklanjanja bojila, kao i količine uklonjenog bojila po jedinici mase biosorbensa. Postotak uklonjenog bojila raste sa 47,96% pri 15°C na 71,36% pri 35 °C, dok količina adsorbiranog bojila po jedinici mase s 13,07 mg/g raste na 21,91 mg/g.

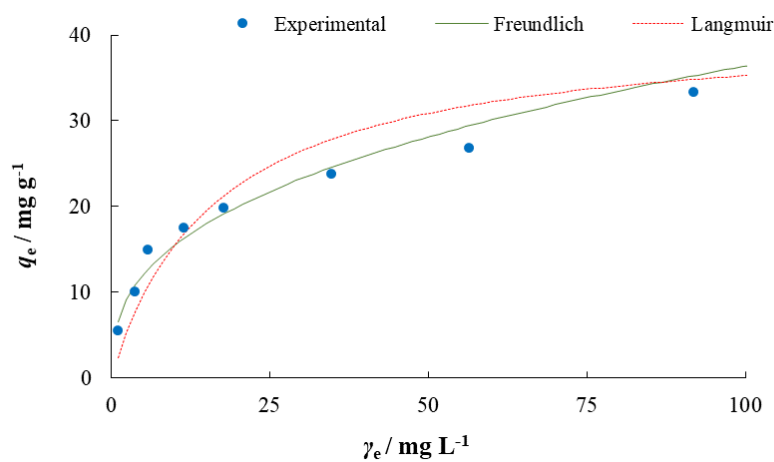
4.2.6. Adsorpcijske izoterme i kinetika adsorpcije

Langmuirov i Freundlichov adsorpcijski ravnotežni modeli korišteni su za analizu eksperimentalno dobivenih rezultata nakon provođenja šaržnih adsorpcijskih eksperimenata, te su također izračunate vrijednosti parametara adsorpcijskih izotermi za biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola*. Rezultati su prikazani u tablici 2. i na slici 11 (A-C) i daju prikaz eksperimentalno dobivenih podataka i računski dobivenih krivulji adsorpcijskih izotermi pri različitim temperaturama.

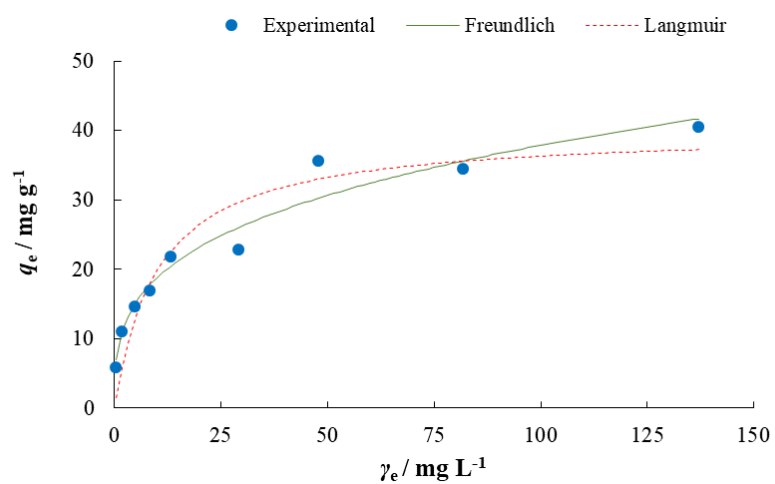
Usporedbom vrijednosti koeficijenta korelacije iz tablice 1 i slike 11. evidentno je kako je proces biosorpcije kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* za koncentracijsko područje od 10 mg/L do 200 mg/L i za primijenjene temperature od 15 °C do 35 °C nešto bolje opisan Freundlichovim modelom (koeficijenti korelacije od 0,960 do 0,986) u usporedbi s Langmuirovim modelom (koeficijent korelacije od 0,870 do 0,895). Za sve provedne eksperimente bezdimenzionalni separacijski faktor R_L (karakterističan za Langmuirov model) bio je manji od 1 (najmanji 0,007; najveći 0,082) što ukazuje da je proces biosorpcije povoljan. Nadalje, vrijednost parametra n Freundlichova modela koji govori o jakosti adsorpcije za sve eksperimente je bio veći od 2 što ukazuje na vrlo učinkovit proces adsorpcije (Treybal, 1981). Oba modela dobro opisuju proces biosorpcije kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola*.



A



B



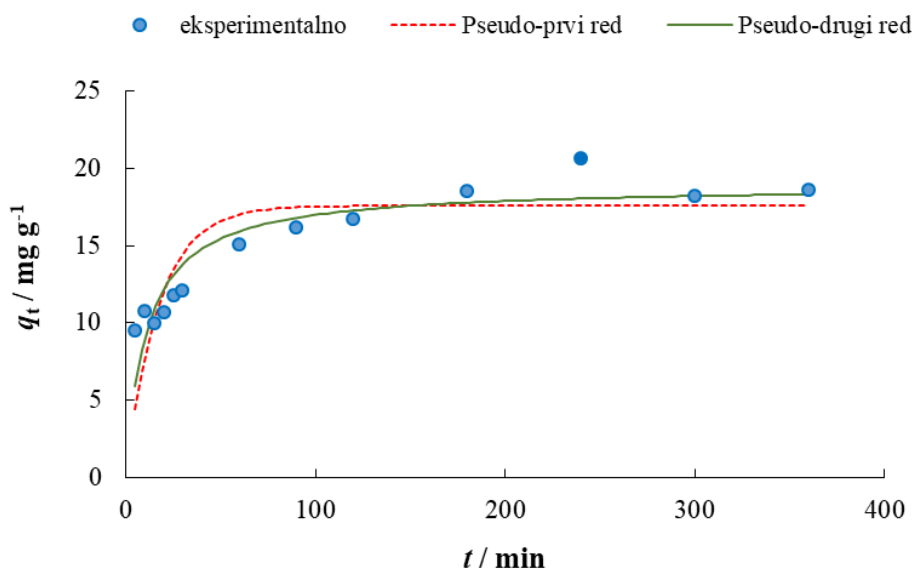
C

Slika 11. Langmuirove i Freundlichove adsorpcijske izoterme za biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* pri različitim temperaturama: A) 15 °C, B) 25 °C i C) 35 °C

Tablica 1. Parametri adsorpcijskih izoterma za biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* ($\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$).

Model	15 °C	25 °C	35 °C
$q_{m \text{ exp.}} / \text{mg g}^{-1}$	23,47	43,79	40,55
Langmuir			
$q_{m \text{ cal.}} / \text{mg g}^{-1}$	23,723	41,114	40,027
$K_L / \text{L mg}^{-1}$	0,074	0,060	0,098
R_L	0,082	0,064	0,007
R^2	0,870	0,884	0,895
Freundlich			
$K_F / (\text{mg g}^{-1} (\text{L/mg})^{1/n})$	4,393	6,580	9,326
n	2,760	2,693	3,287
R^2	0,986	0,976	0,960

Najčešće korišteni modeli za analizu eksperimentalno dobivenih podataka su kinetički modeli pseudo-prvog reda i pseudo-drugog reda. Kinetika adsorpcije opisuje kako se adsorpcija odvija u ovisnosti o vremenu, do uspostave adsorpcijske ravnoteže. Slika 12. i tablica 2 prikazuju rezultate analize eksperimentalno dobivenih podataka korištenjem navedenih kinetičkih modela. Usporedbom eksperimentalno dobivene vrijednosti $q_{m \text{ exp}}$ i vrijednosti $q_{m 1}$ i $q_{m 2}$ dobivenih modelima, vidljivo je kako model pseudo-drugog reda pokazuje bolje slaganje s eksperimentalnom vrijednosti. Nadalje, model pseudo-drugog reda ima veći koeficijent korelacije (0,821) u odnosu na koeficijent korelacije modela pseudo-prvog reda (0,651). Argumedo-Delira i suradnici (2021) također navode kako je kinetika procesa uklanjanja kongo crvenila inaktivnom biomasom *Trichoderma vires* i *T. viride* CBS 100926(T) bolje opisana modelom pseudo-drugog reda.



Slika 12. Eksperimentalni podatci i modeli pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* ($\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 1-240 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$).

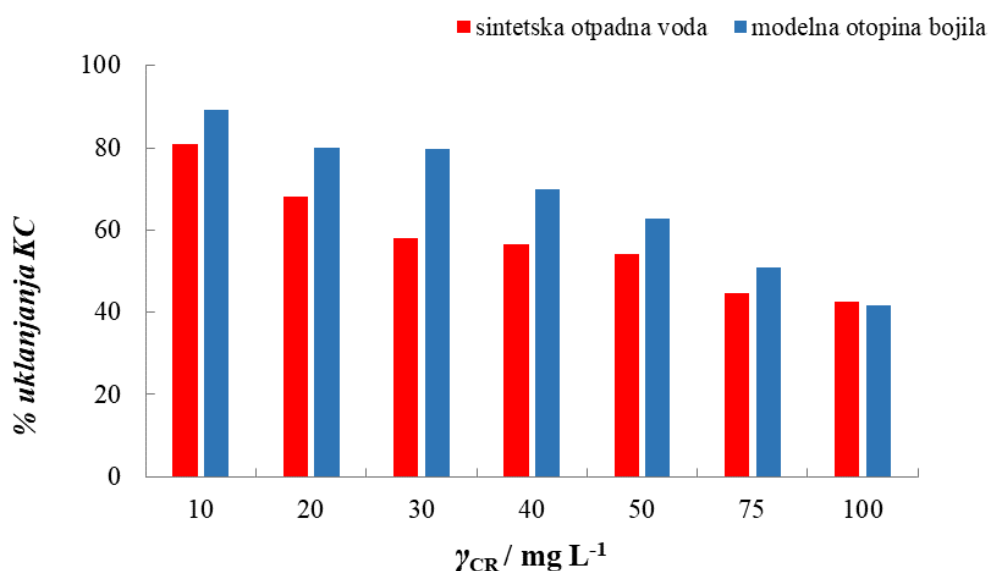
Tablica 2. Parametri kinetičkih modela pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* ($\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 1-240 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$).

Model	
$q_{m \text{ exp.}} / \text{mg g}^{-1}$	18,60
Pseudo-prvi red	
$q_{m1} / \text{mg g}^{-1}$	17,577
k_1 / min^{-1}	0,0576
R^2	0,651
Pseudo-drugi red	
$q_{m2} / \text{mg g}^{-1}$	18,879
$k_2 / \text{g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$	0,005
R^2	0,821

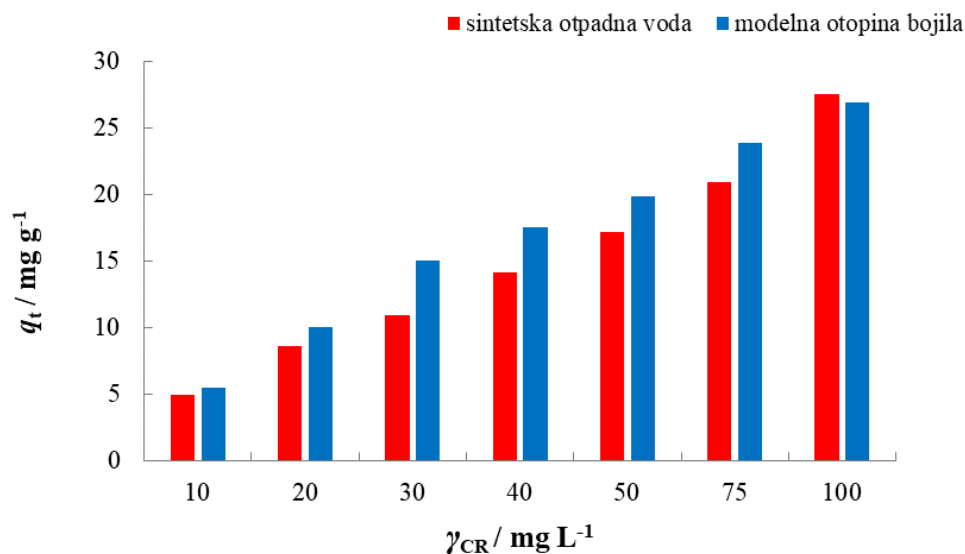
4.2.7. Uklanjanje bojila iz sintetske otpadne vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola*

Kako što je već navedeno ranije, kako bi se postigla što veća učinkovitost i ekonomičnost nekog procesa u industrijskom mjerilu, važno ga je što bolje istražiti u laboratorijskim uvjetima. U tu svrhu provedeni su eksperimenti u kojima je korištena sintetska otpadna voda, kako bi se simulirali uvjeti uklanjanja bojila iz realne otpadne vode s bojilima.

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: $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$. Rezultati su prikazani na slikama 13. i 14.



Slika 13. Utjecaj početne koncentracije bojila na postotak uklanjanja bojila za uklanjanje iz modelnih otopina i sintetske otpadne vode s dodatkom bojila ($V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $v_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$)



Slika 14. Utjecaj početne koncentracije bojila na količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa za uklanjanje iz modelnih otopina i sintetske otpadne vode s dodatkom bojila ($V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/L}$, $t = 240 \text{ min}$, $V_{\text{miješanja}} = 160 \text{ okr/min}$).

Usporedbom postotka uklanjanja bojila iz sintetske otpadne vode i modelne otopine bojila pri svim ispitanim koncentracijama (slika 13) vidljivo je kako je učinkovitost uklanjanja bolja u modelnim otopina bojila, odnosno postotak uklanjanja je veći. Pri tome se postotak uklanjanja bojila i u modelnim otopinama i u sintetskoj otpadnoj vodi smanjuje s povećanjem koncentracije bojila. Ovo se može objasniti činjenicom kako sustav modelna otopina bojila/biosorbens ima manju pH vrijednost ($\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}}$) od sustava sintetska otpadna voda/biosorbens, što su (kako je već navedeno) uvjeti koji pogoduju uklanjanju anionskog bojila kongo crvenila. Količina bojila adsorbirana po gramu biosorbensa također je veća u uzorcima modelne otopine bojila u odnosu na sintetsku otpadnu vodu s dodatkom bojila, pri čemu se količina povećava s povećanjem koncentracije bojila.

5. ZÁVĚRY

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

- Povećanjem koncentracije biosorbensa, odnosno inaktivne biomase gljive *F. pinicola*, povećava se postotak uklanjanja kongo crvenila, dok se količina adsorbiranog kongo crvenila po jedinici mase biosorbensa smanjuje.
- Proces biosorpcije kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *F. pinicola* odvija se brzo u prvih 30 minuta, dok u kasnijim fazama usporava do postizanja ravnotežnog stanja nakon 120min. Postotak uklanjanja bojila povećavao se s produljenjem vremena kontakta između biosorbensa i modelne otopine bojila.
- Uklanjanje kongo crvenila 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 5,51 mg/g do 43,79 mg/g.
- Pri pH vrijednostima modelnih otopina bojila od 4 do 5, odnosno $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}}$ (pH_{pzc} inaktivne biomase gljive *F. pinicola* iznosio je 5,1) postignut je veći postotak uklanjanja bojila i veća količina bojila adsorbirana je po gramu biosorbensa.
- Povećanjem temperature sa početnih 15 °C na 35 °C došlo je do povećanja postotka uklanjanja bojila za 23,4 %.
- Freundlichovim ravnotežni model nešto bolje opisuje proces biosorpcije kongo crvenila na inaktivnu biomasu *F. pinicola*, u odnosu na Langmuirov model. Kinetički model pseudo-drugog reda bolje opisuje kinetiku biosorpcije pri primijenjenim eksperimentalnim uvjetima, u usporedbi s modelom pseudo-prvog reda.
- Postotak uklonjenog bojila iz sintetske otpadne vode s dodatkom bojila, kao i količina bojila adsorbirana po jedinici mase biosorbensa, manji su nego kod biosorpcije bojila iz modelnih otopina.

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.

Babaeiveli, K, Khodadoust, AP: Adsorption of fluoride onto crystalline titanium dioxide: effect of pH, ionic strength, and co-existing ions, *Journal of Colloid Interface Science* 394: 419- 427, 2013.

Bailey SE, Olin TJ, Bricka RM, Adrian DD: A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. *Water Research*, 33:2469–2479, 1999.

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

Brdička R: *Osnove fizikalne kemije*. Školska knjiga, Zagreb, 1969

Chatterjee S, Lee MW, Lee DS, Woo SH: Congo Red Adsorption from Aqueous Solutions by Using Chitosan Hydrogel Beads Impregnated with Nonionic or Anionic Surfactant. *Bioresource Technology* 100:3862-3868, 2009

Crini G, Badot PM: Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: a review of recent literature, *Progress in Polymer Science* 33:399–447, 2008.

Inthorn D, Singhtho S, Thiravetyan P, Khan E: Decolorization of basic, direct and reactive dyes by pre-treated narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia* Linn.), *Bioresource Technology* 94: 299–306, 2004.

Dabrowski A: Adsorption – from theory to practice. *Advances in Colloid and Interface Science* 93:135-224, 2001.

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

Fang D, Zhuang X, Huang L, Zhang Q, Shen Q, Jiang L, Xu X i Ji F: Developing the new kinetics model based on the adsorption process: From fitting to comparison and prediction. *Science of the Total Environment* 725:1-11, 2020.

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.

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

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

Habuda-Stanić M: Uklanjanje aniona arsena iz podzemne vode na funkcionaliziranim adsorbensima. *Doktorska disertacija*. Prehrambeno-tehnološki fakultet Osijek, 2011.

Hameed BH, Ahmad AA: Batch adsorption of methylene blue from aqueous solution by garlic peel, an agricultural waste biomass. *Journal of Hazardous Material* 164:870-875, 2009.

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

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.

Kotrba P, Mackova M, Macek T: *Microbial Biosorption of Metals*, Springer Dordrecht, 2011.

Linke B: Kinetic study of thermophilic anaerobic digestion of solid wastes from potato processing. *Biomass and Bioenergy* 30:892896, 2006.

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

Monteiro CM, Castro PML: Metal Uptake by Microalgae: Underlying Mechanisms and Practical Applications. *Biotechnology Progress*, 28(2):299-311, 2012.

Noroozi B, Sorial GA, Bahrami H, Arami M: Equilibrium and kinetic adsorption study of a cationic dye by a natural adsorbent—Silkworm pupa. *Journal of Hazardous Materials* 139(1):167-74, 2007.

Patel SJ: Review on Biosorption of Dyes by Fungi. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 5:1115-1118, 2016.

Pathak VV, Kothari R, Chopra AK, Singh DP : Experimental and kinetic studies for phycoremediation and dye removal by *Chlorella pyrenoidosa* from textile wastewater. *Journal of Environmental Management* 163:270–277, 2015.

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

S. Sadhasivam, S. Savitha, K. Swaminathan, Exploitation of *Trichoderma harzianum* mycelial waste for the removal of rhodamine 6G from aqueous solution. *Journal of Environmental Management* 85:155–161, 2007.

Saha PD, Bhattacharya P, Sinha K, Chowdhury S (2013) Biosorption of Congo red and Indigo carmine by nonviable biomass of a new *Dietzia* strain isolated from the effluent of a textile industry. *Desalination and Water Treatment* 51:5840-5847, 2013.

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

Varghese AG, Paul SA: Cellulose Based Green Adsorbents for Pollutant Removal from Wastewater. *Environmental Chemistry for a Sustainable World* 19:127-157, 2018.

Web 1: <http://nuta-ljekovite-gljive.hr/blog-crvenoruba-guba.html>

Web 2: <http://nuta-ljekovite-gljive.hr/blog-crvenoruba-guba.html>

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.

