

Uklanjanje kongo crvenila iz vodenih otopina biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *Ganoderma applanatum*

Župan, Dajana

Master's thesis / Diplomski rad

2023

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:109:561352>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-12**

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

Dajana Župan

**Uklanjanje kongo crvenila iz vodenih otopina biosorpcijom
na inaktivnu biomasu gljive *Ganoderma applanatum***

Diplomski rad

Osijek, veljača 2023.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

DIPLOMSKI RAD

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

Diplomski sveučilišni studij Procesno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Biotehnologija

Nastavni predmet: Bioprocеси u zaštiti okoliša

Tema rada je prihvaćena na X. redovitoj sjednici Fakultetskog vijeća Prehrambeno-tehnološkog fakulteta Osijek u akademskoj godini 2021./2022. održanoj 18. srpnja 2022. godine

Mentor: prof. dr. sc. Natalija Velić

Pomoć pri izradi: -

Uklanjanje kongo crvenila iz vodenih otopina biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *Ganoderma applanatum*

Dajana Župan, 0113145703

Sažetak: Cilj ovog rada bio je istražiti biosorpcijski potencijal ekstrahirane inaktivne biomase gljive *Ganoderma applanatum* za uklanjanje sintetskog bojila kongo crvenila (KC) iz modelnih otopina bojila i sintetske otpadne vode. Provedeni su šaržni adsorpcijski eksperimenti, kako bi se istražio utjecaj različitih čimbenika na proces biosorpcije: koncentracija biosorbensa ($1 - 5 \text{ g/dm}^3$), vrijeme kontakta ($1 - 300 \text{ min}$), početna koncentracija bojila ($10 - 100 \text{ mg/dm}^3$) i pH ($4 - 10$). Povećanjem koncentracije biosorbensa povećao se postotak uklanjanja KC, dok se količina adsorbiranog KC po jedinici mase biosorbensa smanjila. Proces biosorpcije bio je ovisan o koncentraciji KC. Povećanje početne koncentracije bojila od 10 do 100 mg/dm^3 dovelo je do povećanja količine bojila adsorbirane po gramu biosorbensa (od $1,78 \text{ mg/g}$ do $17,10 \text{ mg/g}$). pH vrijednosti manje od 7 pogoduju biosorpciji KC na inaktivnu biomasu *G. applanatum*, što se očituje većom količinom bojila adsorbiranog po jedinici mase biosorbensa, kao i većem postotku uklanjanja bojila. Langmuirov ravnotežni model bolje opisuje proces biosorpcije KC na inaktivnu biomasu *G. applanatum*, u odnosu na Freundlichov model, dok kinetiku biosorpcije pri primijenjenim eksperimentalnim uvjetima bolje opisuje kinetički model pseudo-drugog reda, u usporedbi s modelom pseudo-prvog reda. Rezultati ukazuju kako inaktivna biomasa gljive *G. applanatum* pokazuje dobar biosorpcijski potencijal za primjenu u remedijaciji otpadnih voda onečišćenih sintetskim bojilom KC.

Ključne riječi: biosorpcija, *Ganoderma applanatum*, inaktivna biomasa, kongo crvenilo

Rad sadrži: 42 stranice
14 slika
2 tablice
2 priloga
39 literaturnih referenci

Jezik izvornika: Hrvatski

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

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

Datum obrane: 14. veljače 2023.

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 Process engineering

Scientific area: Biotechnical sciences

Scientific field: Biotechnology

Course title: Bioprocesses in Environmental Protection

Thesis subject was approved by the Faculty of Food Technology Osijek Council at its session no. X I academic year 2021/2022 held on 13 July 2023

Mentor: *Natalija Velić, PhD, full professor*

Technical assistance: -

Removal of Congo Red from Aqueous Solutions by Biosorption on Inactive Biomass of the Fungus *Ganoderma applanatum*

Dajana Župan, 0113145703

Summary: The objective of this work was to investigate the biosorption potential of extracted inactive biomass of the fungus *Ganoderma applanatum* for the removal of the synthetic dye Congo red (CR) from model dye solutions and synthetic wastewater. Batch adsorption experiments were conducted to investigate the influence of various factors on the biosorption process: Biosorbent concentration (1-5 g/dm³), contact time (1-300 min), initial dye concentration (10-100 mg/dm³), and pH (4-10). As the biosorbent concentration increased, the percentage of CR removal increased, while the amount of adsorbed CR per unit mass of biosorbent decreased. The biosorption process was dependent on the CR concentration. Increasing the initial dye concentration from 10 to 100 mg/dm³ resulted in an increase in the amount of dye adsorbed per gram of biosorbent (from 1.78 mg/g to 17.10 mg/g). pH values below 7 favor biosorption of CR on the inactive biomass of *G. applanatum*, resulting in a greater amount of dye adsorbed per unit mass of biosorbent as well as a higher percentage of dye removal. The Langmuir equilibrium model better described the biosorption process of CR on the inactive biomass of *G. applanatum* than the Freundlich model, while the kinetics of biosorption under the applied experimental conditions is better described by the pseudo-second-order kinetic model than by the pseudo-first-order model. The results indicate that the inactive biomass of the fungus *G. applanatum* has good biosorption potential for application in the remediation of wastewater contaminated with the synthetic dye CR.

Key words: Biosorption, *Ganoderma applanatum*, inactive biomass, Congo red

Thesis contains: 42 pages
14 figures
2 tables
2 supplements
39 references

Original in: Croatian

Defense committee:

- | | |
|---|--------------|
| 1. Lidija Jakobek Barron, PhD, full professor | chair person |
| 2. Natalija Velić, PhD, full professor | supervisor |
| 3. Ivana Tomac, PhD, assistant professor | member |
| 4. Hrvoje Pavlović, PhD, full professor | stand-in |

Defense date: 14 February 2023

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

Zahvaljujem svojoj mentorici prof. dr. sc. Nataliji Velić na pomoći i vodstvu pri izradi ovog diplomskog rada. Hvala Vam na uloženom vremenu i trudu.

Veliko hvala mojim kolegama Jeleni V. i Vici T. za sve zajedničke trenutke koji su uvelike uljepšali i olakšali ovaj period studiranja te ga učinili zaista posebnim iskustvom.

Posebnu zahvalnost iskazujem Ivanu G. za bezuvjetnu ljubav, podršku, strpljenje i poticanje u ostvarivanju mog cilja.

Hvala mom starijem bratu što je uvijek vjerovao u mene, kao i ostatku moje obitelji.

I na kraju, najveću zaslugu za ono što sam postigla pripisujem svojim roditeljima koji su uvijek bili tu za mene i pružili mi sve što jedan student može poželjeti. Mama i tata, hvala vam, bez vas ovo ne bi bilo moguće.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. BOJILA	4
2.1.1. <i>Kongo crvenilo</i>	5
2.2. SINTETSKA BOJILA U OKOLIŠU.....	6
2.3. UKLANJANJE SINTETSKIH BOJILA IZ OTPADNIH VODA	9
2.3.1. <i>Biosorpcija</i>	10
2.3.2. <i>Biosorbensi</i>	11
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	14
3.1. ZADATAK.....	15
3.2. MATERIJALI I METODE.....	15
3.2.1. <i>Instrumenti</i>	15
3.2.2. <i>Kemikalije</i>	15
3.2.3. <i>Biosorbens</i>	16
3.2.4. <i>Modelna otopina (adsorbat)</i>	17
3.2.5. <i>Priprema sintetske otpadne vode s dodatkom bojila</i>	17
3.2.6. <i>Šaržni adsorpcijski eksperimenti</i>	17
3.2.7. <i>Ravnotežne adsorpcijske izoterme</i>	19
3.2.8. <i>Kinetički modeli</i>	20
3.2.9. <i>Obrada rezultata</i>	20
4. REZULTATI I RASPRAVA	21
4.1. UTJECAJ KONCENTRACIJE BIOSORBENSA NA BIOSORPCIJU KONGO CRVENILA NA INAKTIVNU BIOMASU <i>G. APPLANATUM</i> ..	22
4.2. UTJECAJ VREMENA KONTAKTA IZMEĐU BIOSORBENSA I ADSORBATA NA BIOSORPCIJU KONGO CRVENILA NA INAKTIVNU BIOMASU <i>G. APPLANATUM</i>	23
4.3. UTJECAJ POČETNE KONCENTRACIJE BOJILA NA BIOSORPCIJU KONGO CRVENILA NA INAKTIVNU BIOMASU <i>G. APPLANATUM</i> 25	
4.4. UTJECAJ PH VRIJEDNOSTI MODELNE OTOPINE BOJILA NA BIOSORPCIJU KONGO CRVENILA NA INAKTIVNU BIOMASU <i>G. APPLANATUM</i>	27
4.5. ADSORPCIJSKE IZOTERME I KINETIKA ADSORPCIJE	28
4.6. UKLANJANJE KONGO CRVENILA IZ SINTETSKE OTPADNE VODE BIOSORPCIJOM NA INAKTIVNU BIOMASU GLJIVE <i>G. APPLANATUM</i>	31
5. ZAKLJUČCI	34
6. LITERATURA	36
7. PRILOZI	41

1. UVOD

Tijekom posljednjih nekoliko desetljeća onečišćenje okoliša jedan je od najvećih problema s kojima se suočava suvremeni svijet. Ovo se može povezati s povećanjem industrijske aktivnosti, koja rezultira nastajanjem različitih otpadnih struja, poput otpadnih voda. Industrijske otpadne vode onečišćene bojilima koja se koriste tijekom proizvodnih procesa uzrokuju onečišćenja vodenih ekosustava u koje se industrijske otpadne vode ispuštaju, jer su često prilikom ispuštanja nedovoljno pročišćene ili nepročišćene. Kako se sintetska bojila ubrajaju u skupinu ksenobiotika, čije su karakteristike složena kemijska struktura (često aromatske prirode) i stabilnost te otpornost na mikrobnu i drugu razgradnju, dolazi do njihova nakupljanja i zadržavanja u okolišu. Prisutnost bojila u vodenim ekosustavima već pri vrlo malim koncentracijama (od nekoliko mg/dm^3) izaziva vidljivu obojenost, smanjuje prolazak sunčeve svjetlosti, izaziva probleme u provođenju fotosinteze, smanjuje koncentraciju kisika, povećava biokemijsku (BPK) i kemijsku (KPK) potrošnju kisika te općenito narušava ekološku ravnotežu (Ardila-Leal i sur., 2021). Nadalje, ulaskom u prehrambeni lanac mogu štetno djelovati na zdravlje ljudi. Azo bojila, koja se najviše koriste u industriji, najotpornija su prema različitim metodama obrade, kancerogena su i mutagena te mogu izazvati alergijske reakcije kod ljudi (Patel, 2016).

Metode uklanjanja bojila iz otpadnih voda sa sadržajem bojila uključuju fizikalne, kemijske i biološke procese. Učinkovitost fizikalnih i kemijskih procesa ovisi o bojilu/bojilima koja se uklanjaju te o odabranoj metodi, pri čemu je također važno voditi računa o ekološkoj prihvatljivosti i ekonomskoj isplativosti metode koja se primjenjuje (Kabbout i Taha, 2014). Biološki procesi podrazumijevaju upotrebu mikroorganizama i organizama, njihovih dijelova ili metabolita (enzimi) za uklanjanje bojila, pri čemu su mehanizmi uklanjanja biosorpcija, bioakumulacija i biorazgradnja (Kabbout i Taha, 2014).

Najjednostavnija definicija biosorpcije je da je to podvrsta adsorpcije u kojoj je adsorbens biološkog podrijetla, pa se stoga naziva biosorbensom. Biosorpcija primjenom inaktivne biomase mikroorganizama predstavlja obećavajuću tehnologiju za uklanjanje bojila (ali i ostalih onečišćujućih tvari) iz otpadnih voda zbog svoje jednostavnosti, ekološke i ekonomske prihvatljivosti (Gadd, 2008).

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Bojila

Bojila su tvari koje apsorbiraju svjetlost u vidljivom dijelu spektra te su stoga obojene, a imaju sposobnost da boje tekstilna vlakna ili druge materijale manje ili više trajno, ulazeći s bojenim materijalom u kemijsku vezu ili vežući se na njega fizikalnim silama (Tehnička enciklopedija, 2021). S obzirom na njihovu mogućnost ulaska u materijal odnosno sposobnost bojenja materijala, upotrebljavaju se za bojenje tekstila, papira, polimernih materijala, farmaceutskih preparata, itd. te je njihova primjena u različitim industrijama široka.

Osnovna podjela bojila je prema podrijetlu te se u tom smislu dijele na prirodna i sintetska (Gudelj i sur., 2011). Od sinteze prvih sintetskih bojila, upotreba prirodnih bojila je vrlo mala. Industrijske prednosti upotrebe sintetskih bojila temelje se na njihovim karakteristikama, a to su postojanost tijekom vremena, inertnost prema kemijskoj, fizikalnoj i biološkoj razgradnji, održavanje intenziteta boje, velik broj nijansi koje je moguće postići i prihvatljiva (niska) cijena (Ardila-Leal i sur., 2021). Danas postoji više od 100 000 komercijalno dostupnih bojila s proizvodnjom od preko 7×10^5 metričkih tona godišnje (Meyer, 1981; Zollinger, 1987).

Prema primjenskim svojstvima bojila se dijele na ona koja su topljiva u vodi (bazna, kisela i kiselomoćilska, direktna, reaktivna) i ona koja su netopljiva u vodi (npr. disperzijska, pigmentna, topljiva u mastima i uljima), bojila topljiva u alkoholu, bojila koja se grade na vlaknima (oksidacijska bojila, acetatna bojila) (Gürses i sur., 2016).

Jedinstvena karakteristika svih bojila je nezasićenost veza u molekuli bojila. U svojoj građi sadrže kromofornu skupinu koja je nositelj obojenosti (etilenska $-C=C-$, karbonilna $-C=O$, nitrozo $-N=O$, azo $-N=N-$) te auksokromnu skupinu ($-OH$, $-NH_2$, $-SO_3H$, $-COOH$) koja nadopunjuje kromofor i omogućuje vezanje bojila na materijal.

Podjela s obzirom na kemijska svojstva temelji se na strukturi, kromofornim skupinama, kemijskom karakteru bojila te svojstvima vezanim uz sam način bojenja. Ova klasifikacija uzima u obzir i postupak dobivanja bojila te se bojila dijele na nitrozo, nitro, azo, stilbena, difenilmetanska, pirazolonska, tiazolna, tiazinska, trifenilmetanska, ketonimidna, ksantenska, antrakinonska, akridinska i druga (Gürses i sur., 2016).

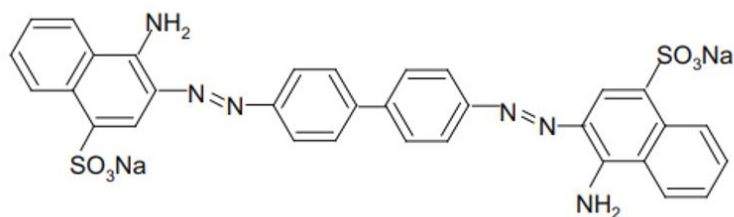
Jedna od najvažnijih skupina sintetskih bojila su azo bojila, koja se relativno jednostavno sintetiziraju. Azo bojila pokazuju veliku topljivost u vodi i proizvode svijetle boje visokog

intenziteta. Azo kromoforna skupina ima mogućnost stvaranja vodikovih veza, što otežava njihovo uklanjanje iz vode odnosno uzrokuje njihovo nakupljanje u okolišu (Lorena i sur., 2022).

2.1.1. Kongo crvenilo

Kongo crvenilo je trgovački naziv za azo-bojilo, kemijske formula je $C_{32}H_{22}O_6N_6S_2Na_2$ (molarne mase 696,66 g/mol) koja se dobiva iz benzidina i naftionske kiseline. Strukturna formula kongo crvenila prikazana je na slici 1. To je smeđecrveni prah (slika 2.) bez mirisa, koji se upotrebljava kao indikator, kao bojilo, te za bojenje preparata u medicini.

S obzirom da kongo crvenilo sadrži dvije kromoforne azo skupine (-N=N-) te kiselu auksokromnu sulfonsku skupinu (-SO₃H) povezanu s benzenskim prstenom, ovo bojilo pripada skupini kiselih diazo bojila (Šokčević, 2015).



Slika 1. Strukturna formula kongo crvenila



Slika 2. Kongo crvenilo u prahu (web 1)

Kongo crvenilo pokazuje akutnu toksičnost za okoliš, odnosno za žive organizme u vodenim ekosustavima u koje dopijeva putem industrijskih otpadnih voda. Također ima štetan učinak na zdravlje ljudi. Pokazuje citotoksičnost, genotoksičnost, neurotoksičnost, karcinogenost i mutagenost. Sposobnost kongo crvenila da stvara kancerogene amine, kao što je benzidin, cijepanjem jedne ili više azo skupina je razlog zašto se ubraja u kategoriju zabranjenih azo bojila (Yaneva i Georgieva, 2012).

2.2. Sintetska bojila u okolišu

Kako je ranije spomenuto godišnja svjetska proizvodnja umjetnih bojila iznosi oko milijun tona, a smatra se kako čak dva posto od godišnje proizvodnje završava direktno u industrijskim otpadnim vodama, što rezultira onečišćenjem vodenih ekosustava (Crini i sur., 2007.; Forgacs i sur., 2004).

Gotovo da ne postoji industrija u kojoj se ne koriste bojila. U kozmetičkoj industriji proizvodi kao što su ruževi za usne, rumenila, sjenila i olovke za oči i lakovi za nokte sadrže jedno ili više bojila u koncentraciji između 1% i 25% kako bi se dobile željene boje. Nadalje, 80% proizvodnje kozmetičkih proizvoda u Europi čini proizvodnja boja za kosu, koja se temelji na primjeni sintetskih bojila u značajnim količinama (Weisz i sur., 2017). Bojila u prehrambenoj industriji povećavaju privlačnost ili kompenziraju promjenu (često negativnu) boje hrane nakon obrade (Tkaczyk i sur., 2020). Koriste se u gaziranim, voćnim i energetske pićima, bombonima, žitaricama, desertima, grickalicama i drugim proizvodima (Stevens i sur., 2014). Iako su vrsta i koncentracija dopuštenih bojila u hrani regulirani u svakoj zemlji, različita istraživanja su ukazala na upotrebu bojila u koncentracijama koje se veće od maksimalno dopuštenih, što stvara rizik za potrošače. Općenito, bojila odobrena za primjenu u prehrambenoj industriji (za hranu, temeljeno na standardima *Codex Alimentarius*), također se mogu koristiti i u farmaceutskoj industriji (Ardila-Leal i sur., 2021). Ipak, procjenjuje se kako je najveći generator obojenih otpadnih voda tekstilna industrija. I do 20% od ukupne količine bojila koja se koristi tijekom proizvodnog procesa za bojanje tekstilnih vlakana može završiti u otpadnim vodama, što posljedično može rezultirati značajnim gubitkom kvalitete (onečišćenjem) prirodnih recipijenata u koje se ispuštaju se u otpadne vode. Međutim, šteta za okoliš ne ovisi samo o

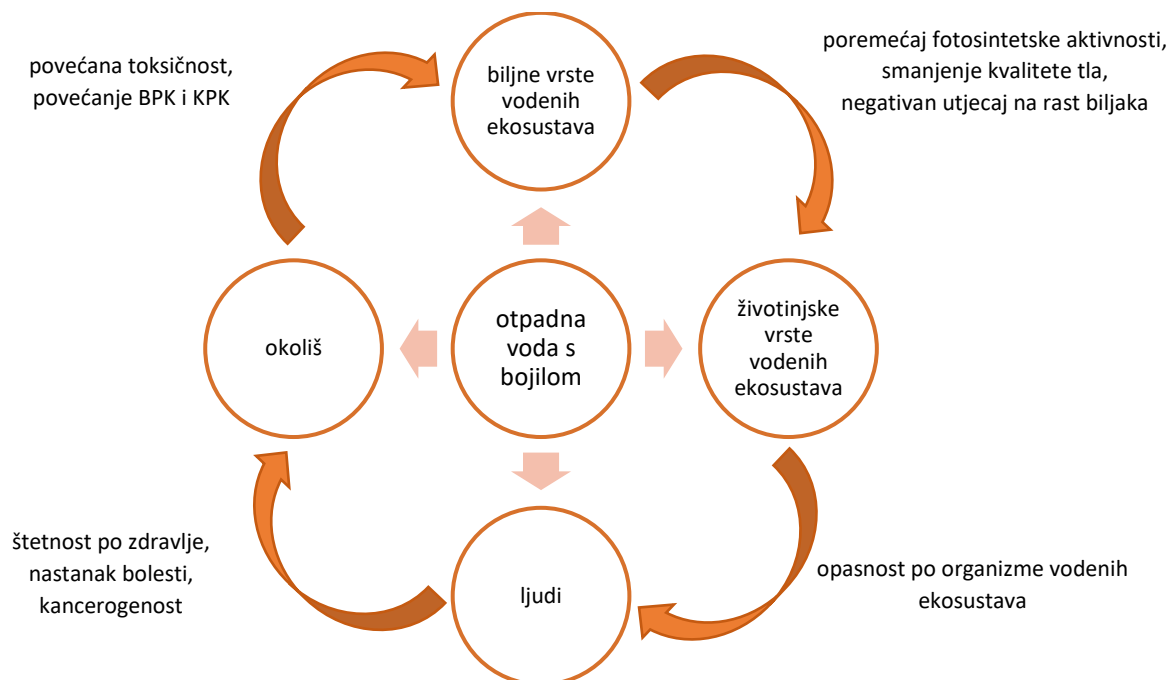
količini ispuštenog bojila nego ovisi i o mješavini bojila s drugim toksičnim tvarima koje se koriste tijekom proizvodnih procesa (Ardila-Leal i sur., 2021).

Prisutnost bojila u vodenim ekosustavima već pri vrlo malim koncentracijama (od nekoliko mg/dm^3) izaziva vidljivu obojenost. Nadalje, prisutnost bojila uzrokuje smanjenje koncentracije otopljenog kisika u vodi te povećanje vrijednosti fizikalno-kemijskih i bioloških parametara kao što su kemijska potrošnja kisika (KPK), biokemijska potrošnja kisika (BPK), ukupne otopljene tvari (TDS), ukupni dušik, ukupni fosfor i nerazgradive organske spojeve (Ardila-Leal i sur., 2021). Vrijednost pH obojenih otpadnih voda može fluktuirati, a mogu sadržavati i teške metale kao što su krom, arsen i cink (Berradi i sur., 2019). Međutim, toksičnost svakog bojila mora se procijeniti pojedinačno, jer šteta koju uzrokuju ovisi o strukturi, koncentraciji i vremenu izloženosti (Ferraz i sur., 2011). Postojanost bojila usko je povezana s njihovom kemijskom reaktivnošću, pa su nezasićeni spojevi manje postojani od zasićenih. Postojanost aromatskih spojeva raste kako se povećava broj kemijskih i halogenih supstitucija; isto se događa sa postojanosti bojila što pokazuje važnost procjene razgradnje bojila pojedinačno i u kombinaciji (Berradi i sur., 2019).

U ovome radu korišteno je diazo bojilo kongo crvenilo. Skupina azo bojila opširno je proučavana kako bi se utvrdile njihova moguće primjene, ali i negativni učinci na okoliš i zdravlje ljudi. Između 60% do 70% azo bojila su toksična, kancerogena i otporna na razgradnju/uklanjanje konvencionalnim fizikalno-kemijskim postupcima (Berradi i sur., 2019). Toksičnost azo bojila povezana je s njihovom redukcijom i naknadnim stvaranjem aromatskih amina, kao što su benzidin, dimetoksi-benzidin i dimetil-benzidin. Toksičnost aromatskih amina posljedica je metaboličke oksidacije, jer se produkti mogu kovalentno vezati na DNA, što dalje dovodi do mutagenosti i nastanka bolesti poput raka (Ardila-Leal i sur., 2021).

Kada azo bojila putem otpadnih voda dospiju u površinske vode, može doći do njihova vezanja na suspendirane organske tvari elektrostatskim interakcijama, do njihova vezanja/adsorpcije na sediment ili tijekom obrade otpadnih voda na aktivni mulj, što dodatno povećava njihovu postojanost. Osim toga, obojena voda, sediment ili aktivni mulj mogu doći u kontakt s organizmima vodenih ekosustava te na taj način unijeti bojila u hranidbeni lanac, čime dalje utječu na zdravlje ljudi (slika 3.). Simptomi akutne toksičnosti različitim bojilima uključuju hipertenziju, grčeve, mučninu, krvarenje, čirevi na koži ili membranama i sluznicama. Kronična

toksičnost, ovisno o intenzitetu izloženosti, može se manifestirati kroz oštećenja bubrega, reproduktivnog sustava, jetre, mozga i središnjeg živčanog sustava (Ardila-Leal i sur., 2021).



Slika 3. Utjecaj otpadne vode sa sadržajem bojila na okoliš (prema Srivastava i sur., 2022.)

Zakonska regulativa u Republici Hrvatskoj vezana za bojila u otpadnim vodama. Prema pravilniku o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda (NN 26/20; Granične vrijednosti emisija otpadnih voda iz objekata i postrojenja za proizvodnju i preradu tekstila) navodi se da u površinskim vodama i sustavu javne odvodnje ne smiju biti prisutna bojila, a također se provjeravaju i fizikalno kemijski, ekotoksikološki, organski i anorganski pokazatelji. Posebne mjere u svezi s ispuštanjem otpadnih voda iz objekata i postrojenja za proizvodnju i preradu tekstila uključuju i zamjenu bojila koje sadrže živu, kadmij, olovo, bakar, nikal i krom te druge teške kovine. Istim pravilnikom regulirane su i granične vrijednosti emisija otpadnih voda iz objekata i postrojenja za proizvodnju alkoholnih pića, alkohola i kvasca gdje posebne mjere nalažu uporabu naljepnica i natpisa na staklenkama i drugoj ambalaži na kojima boja ne sadrži teške kovine ili su u smanjenim količinama. Od rujna 2003. svi pravni i carinski propisi Europske unije zabranjuju proizvodnju i prodaju azo bojila na bazi benzidina (Yaneva i Georgieva, 2012).

2.3. Uklanjanje sintetskih bojila iz otpadnih voda

Smanjenje troškova obrade i uklanjanje najvećeg postotka onečišćujućih tvari prije ispuštanja otpadne vode u vodna tijela u središtu je pozornosti velikog broja istraživanja, pri čemu se razmatraju fizikalni, kemijski, biološki i hibridni procesi (Ardila-Leal i sur., 2021).

Fizikalni postupci uključuju različite metode poput membranske filtracije (nanofiltracija, reverzna osmoza, ultrafiltracija) i adsorpcijskih procesa. Veliki nedostatak membranskih procesa je ograničeni vijek trajanja membrana što zahtjeva periodične troškove zamjene. Proces adsorpcije ima brojne prednosti u smislu početnih troškova te jednostavnosti u provedbi (Crini i sur., 2007). Kao najčešći korišten i vrlo učinkovit adsorbens, pokazao se aktivni ugljen, ali zbog njegove cijene i problema s regeneracijom postoji sve veći interes za korištenjem jeftinih i lako dostupnih materijala kao nekonvencionalnih adsorbensa (Khalaf, 2008). Kada je adsorbens biološkog podrijetla govorimo o biosorpciji.

Kemijski postupci najčešće uključuju koagulaciju ili flokulaciju u kombinaciji s flotacijom, filtracijom i taloženjem, elektroflotaciju, konvencionalnu oksidaciju (ozon) te elektrokemijske procese. Navedeni kemijski postupci često su skupi te usprkos činjenici kako neki od njih vrlo učinkovito uklanjaju bojila, novi problem može predstavljati onečišćenje nastalo zbog pretjerane uporabe kemikalija, kao i kemijski muljevi koji nastaju u nekim od tih procesa (Crini i sur., 2007).

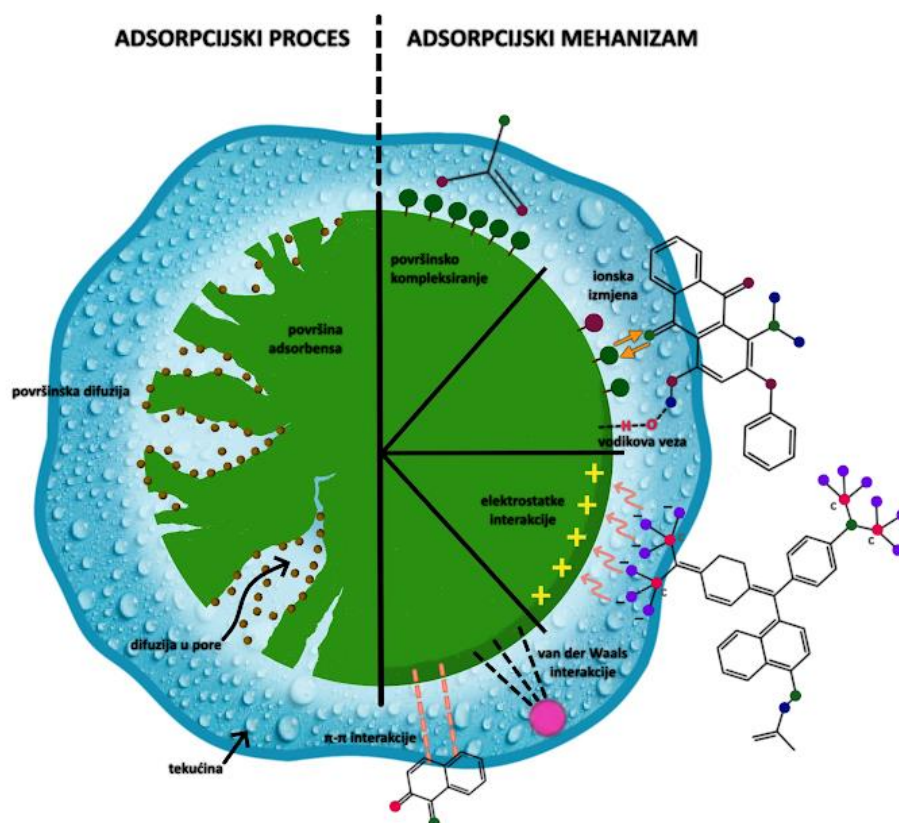
Biološke metode su okolišno prihvatljive te su prema troškovima provedbe obično značajno jeftinije od ostalih metoda (Patel, 2016). Međutim, istraživanja pokazuju da biološke metode zahtijevaju dugo vrijeme obrade, kontrola procesa nije uvijek zadovoljavajuća te da su određeni postupci biološkog uklanjanja neučinkoviti u slučaju uklanjanja visoko strukturiranih polimernih bojila, zbog njihove izrazito niske biorazgradivosti (Ardila-Leal i sur., 2021). Tako su na primjer konvencionalni biološki postupci za pročišćavanje otpadnih voda aktivnim muljem uglavnom neučinkoviti u pročišćavanju otpadnih voda sa sadržajem bojila (Khalaf, 2008). Mehanizmi biološkog uklanjanja bojila uključuju biorazgradnju, bioakumulaciju i biosorpciju (Patel, 2016).

Primjer upotrebe hibridnih procesa koji integriraju fizikalne i kemijske tretmane su fotokatalizatori u kombinaciji s membranskim sustavima koji se ne koriste često u praksi (Ardila-Leal i sur., 2021).

2.3.1. Biosorpcija

Adsorpcija je proces nakupljanja tvari na granici dviju faza (tekućina-krutina ili plin-krutina) pri čemu se tvar koja se nakuplja naziva adsorbat, a krutina na kojoj se adsorpcija odvija adsorbens (Yagub i sur., 2014). Adsorpcija se može klasificirati u dvije vrste: kemijska i fizikalna adsorpcija. Karakteristika kemijske adsorpcije ili kemisorpcije je stvaranje jakih kemijskih veza između molekula ili iona adsorbata na površini adsorbensa, što je općenito posljedica izmjene elektrona te je stoga kemisorpcija nepovratan proces. Fizikalnu adsorpciju ili fizisorpciju karakteriziraju slabe van der Waalove privlačne sile između adsorbata i adsorbensa te je stoga fizikalna adsorpcija uglavnom reverzibilan proces (Yagub i sur., 2014).

Čimbenici koji utječu na učinkovitost adsorpcije uključuju interakciju adsorbat-adsorbens, površinu adsorbensa, omjer adsorbensa i adsorbata, veličinu čestica adsorbensa, temperaturu, pH, vrijeme kontakta, itd. (Yagub i sur., 2014).



Slika 4. Mogući mehanizmi adsorpcije prilikom uklanjanja sintetskih bojila iz vode (prema Dutta i sur., 2021.)

Najjednostavnija definicija biosorpcije je da je to podvrsta adsorpcije gdje je adsorbens biološkog podrijetla (koji se stoga naziva biosorbens). Širi pojam biosorpcije definira je kao fizikalno-kemijski proces uklanjanja adsorbata koji uključuje mehanizme adsorpcije, adsorpcije, ionske izmjene i precipitacijskih procesa (slika 4.). Mehanizam uklanjanja ovisi o vrsti primijenjenog biosorbensa. Biološki materijali koji se mogu koristiti između ostalih uključuju i lignocelulozne materijale te živu ili inaktivnu biomasu mikroorganizama. Kada se kao biosorbens koriste žive stanice mikroorganizma, dodatni mehanizmi uklanjanja onečišćujućih tvari složenih kemijskih struktura poput sintetskih bojila uključuju bioakumulaciju i biodegradaciju. Bioakumulacija je adsorpcija onečišćujućih tvari od strane živih stanica ili organizama, dok je biodegradacija razgradnja onečišćujućih tvari (poželjno do spojeva koji su manje toksični od polaznog ili pak potpuna do CO₂ i H₂O) pomoću mikroorganizama. Proces adsorpcije, odnosno biosorpcije može se odvijati na površini i žive i inaktivne stanice (za razliku od procesa bioakumulacije i biodegradacije koji su svojstveni samo živim stanicama) (Gadd, 2008). Općenito, korištenje živih mikroorganizama nije prikladno za procese uklanjanja/pročišćavanja vrlo toksičnih onečišćujućih tvari, jer kada dođe do postizanja ravnotežnog stanja, odnosno zasićenja biosorbensa adsorbatom, može doći do poremećaja metabolizma i može nastupiti smrt stanice. Štoviše, ako je proces biosorpcije reverzibilan, spojevi se mogu desorbirati natrag u pročišćenu vodu, kada dođe do smanjenja njihove koncentracije u vodi. Kako bi se izbjegla desorpcija, mora se osigurati visok kapacitet adsorpcije što nije uvijek izvedivo u procesima koji koriste žive stanice, zbog raznih ograničenja kao što su zahtjevi za hranjivim tvarima, aeracija, potrošnja energije za stanični transport i metabolizam. Zbog svega navedenog, biosorpcija korištenjem inaktivne mikrobne biomase kao biosorbensa puno je jednostavniji proces i ima veći potencijal za primjenu na realnim sustavima (Derco i Vrana, 2018).

2.3.2. Biosorbensi

Neke od karakteristika dobrog biosorbensa za uklanjanje bojila su velika površina, velik adsorpcijski kapacitet, velika poroznost, laka dostupnost, stabilnost, kompatibilnost, ekološka prihvatljivost, jednostavna regeneracija i velika selektivnost za uklanjanje bojila (Nasar i

Mashkoor, 2019). Volumen pora biosorbensa i funkcijske skupine na njegovoj površini važni su čimbenici za uspješan proces biosorpcije (Hassan i Carr, 2021; Moosavi i sur., 2020).

Budući da gotovo sav biološki materijal posjeduje određeni afinitet prema onečišćujućim tvarima, vrste biomase potencijalno dostupne i istraživane kao biosorbensi su brojne - mikrobna, biljna i životinjska biomasa (Volesky, 1990). Istraživanja su usmjerena pronalaženju učinkovitih, ali isplativih (odnosno jeftinih) prirodnih materijala. Biosorbens se može smatrati jeftinim ako zahtijeva malo obrade, ima ga u izobilju u prirodi ili je nusproizvod ili otpadni materijal iz druge industrije (Rafatullah i sur., 2010). Materijali koji zadovoljavaju ove kriterije, odnosno mogu se koristiti kao jeftini nekonvencionalni adsorbensi su otpadni lignocelulozni materijali (sjemenke, slama, kora voće i povrća, lišće, piljevina, itd.), pepeo, višak aktivnog mulja s uređaja za pročišćavanje otpadnih voda i drugi lako dostupni biomaterijali (Aragaw i sur., 2021). Mikroorganizmi koji su najčešće korišteni kao biosorbensi su bakterije (neke vrste), alge i gljive (Gadd, 2008).

Bakterijske vrste su vrlo učinkovite u pročišćavanju otpadnih voda sa sadržajem reaktivnih bojila adsorpcijom u optimiziranim uvjetima okoline. Učinkovitost uklanjanja varira ovisno o vrsti bakterije, reaktivnosti bojila i procesnim uvjetima (Aragaw i sur., 2021). Učinkovito uklanjanje bojila može se postići i primjenom ekstremofila, tako je primjerice postignuto 87% uklanjanje reaktivne crne i 85% uklanjanje reaktivne crvene boje uklonile su holofilne bakterije izolirane iz tekstilne otpadne vode (Seyedi i sur., 2020).

Alge kao biosorbensi lako su dostupne u velikim količinama. Biosorpcija ovisi o sastavu i građi stanične stijenske alge koju čine više polisaharida: ksilan, manan, alginska kiselina, hitin. Ove komponente zajedno s prisutnim proteinima osiguravaju mjesta za vezanje amino, aminske, hidroksilne, imidazolne, fosfatne i sulfatne skupine (Singh i sur., 2018). Predtretman koji uključuje inkapsulaciju i modifikaciju površine može poboljšati adsorpcijski potencijal algi. Vrste iz rodova *Spirulina* i *Chlorella* su najviše proučavane mikroalge koje postižu učinkovitost uklanjanja onečišćujućih tvari i do 99% (Aragaw i sur., 2021).

Kemijski sastav gljiva uključuje šećere, proteine i lipide, čije funkcijske skupine koje su odgovorne za vezivanje adsorbata, odnosno bojila u slučaju njihove primjene u obradi otpadnih voda sa sadržajem bojila. Od gljiva su u te svrhe najviše istraživane filamentozne gljive (poput onih iz rodova *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Penicillium*), kvasci (npr.

otpadna biomasa kvasca iz proizvodnje piva, vina i alkohola) te makroskopske gljive truležnice, koje imaju sposobnost razgradnje polimernih sastavnica drveta - celuloze, hemiceluloze i lignina). Biosorpcija pomoću inaktivne biomase gljiva je lako primjenjiv, isplativ i ekološki prihvatljiv tretman bez potrebe za hranjivim tvarima (Aragaw i sur., 2021).

Ganoderma applanatum, Hrastova baršunica, također poznata i kao umjetnikova gljiva je vrlo česta, višegodišnja drvenasta gljiva široko rasprostranjena diljem svijeta, koja se uglavnom nalazi u umjerenim i tropskim zonama. Obično se pojavljuje pojedinačno ili u skupinama oko različitih vrsta bjelogoričnog drveća. Rastući na trupcima, panjevima te mrtvim stablima ima vrlo važnu ulogu u razgradnji drvnog materijala pridonoseći mineralizaciji organskog otpada (Klaus i sur., 2016). Osim po upotrebi u slikarstvu također je poznata po svojoj farmaceutskoj vrijednosti, odnosno ljekovitim svojstvima. Koristi se u tradicionalnoj medicini Dalekog istoka za liječenje raznih poremećaja u organizmu. Suvremena znanstvena istraživanja, koja se vrlo intenzivno provode posljednjih desetljeća, potvrđuju niz pozitivnih učinaka ove gljive na ljudsko zdravlje. Razni bioaktivni spojevi kao što su polisaharidi, polifenoli, triterpenoidi, aminokiseline i polipeptidi prisutni su u plodnim tijelima (slika 5.) i miceliju *G. applanatum*. Ovi aktivni sastojci doprinose njezinim antitumorskim, imunomodulirajućim i antivirusnim svojstvima. Ova vrlo vrijedna gljiva također sadrži antioksidativne spojeve koji imaju važnu sposobnost hvatanja slobodnih radikala i na taj način inhibiraju oksidativne mehanizme koji dovode do degenerativnih bolesti (Klaus i sur., 2016).



Slika 5. Plodno tijelo gljive *Ganoderma applanatum* (web 2)

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak

Zadatak rada bio je istražiti biosorpcijski potencijal ekstrahirane inaktivne biomase gljive *Ganoderma applanatum* za uklanjanje sintetskog bojila kongo crvenila iz modelnih vodenih otopina bojila i sintetske otpadne vode. Istražena je učinkovitost uklanjanja kongo crvenila u ovisnosti o koncentraciji biosorbensa, vremenu biosorpcije, početnoj koncentraciji bojila te pH vrijednosti modelnih otopina bojila.

3.2. Materijali i metode

3.2.1. Instrumenti

U radu su korišteni sljedeći instrumenti:

- Analitička vaga NBL 84i, Nimbus Analytical Balances, Adam Equipment, SAD
- Laboratorijska centrifuga mini G , IKA Labortechnik, Njemačka
- Standardni laboratorijski mlin, MF10 Basic, IKA Labortechnik, Njemačka
- Tresilica, RS-LS20, Phoenix instrument, SAD
- Spektrofotometar, LLG-uniSPEC 2, LLG-Labware, Njemačka
- Laboratorijski pH metar Seven Easy, MettlerToledo, SAD
- Magnetska termostatska miješalica, MR 3001, Heidolph, Njemačka

3.2.2. Kemikalije

U radu su korištene sljedeće kemikalije:

- Kongo crvenilo
- 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(NH₂)₂ (urea), Kemika d.d., Hrvatska
- K₂HPO₄ (dikalijev hidrogenfosfat), Kemika d.d., Hrvatska
- CaCl₂ · 2H₂O (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. Biosorbens

Kao biosorbens u ovom radu korištena je inaktivna biomasa gljive *G. applanatum* dobivena ekstrakcijom biološki aktivnih spojeva iz osušenog i samljevenog plodišta gljive (slika 6.). Plodište gljive (iz privatne zbirke Institute for Applied Mycology and Biotechnology, Celje, Slovenija) osušeno je i samljeveno na veličinu čestica manju od 1,5 mm. 100 g samljevenog plodišta macerirano je u etanolu pri 20 °C u trajanju od 12 h. Sadržaj je nakon toga homogeniziran i profiltriran preko vakuum nuč-filtra. Zaostala filtracijska pogača isprana je s 20 dm³ etanola, osušena, izvagana i stavljena u 10 dm³ destilirane vode. Nakon toga sadržaj je homogeniziran i autoklaviran (121 °C, 1 bar). Nakon autoklaviranja, provedena je filtracija korištenjem filter papira sa staklenim vlaknima (veličine pora 100 μm). Zaostala filtracijska pogača osušena je i ponovo samljevena na laboratorijskom mlinu za korištenje u ovom istraživanju.



Slika 6. Inaktivna biomasa gljive *G. applanatum* u obliku filtracijske pogače prije mljevenja (velika Petrijeva zdjelica) te nakon mljevenja (mala Petrijeva zdjelica).

3.2.4. Modelna otopina (adsorbat)

Standardna otopina bojila koncentracije 1 g/dm^3 pripravljena je otapanjem 1 g kongo crvenila u 1 dm^3 destilirane vode, a daljnjim razrjeđivanjem s destiliranom vodom dobivene su modelne otopine bojila masenih koncentracija 10, 20, 30, 40, 50, 75 i 100 mg/dm^3 .

3.2.5. Priprema sintetske otpadne vode s dodatkom bojila

Sintetska otpadna voda (simulacija komunalne otpadne vode) pripravljena je otapanjem sljedećih sastojaka u demineraliziranoj vodi (prema smjernicama OECD 302B): pepton (160 mg/dm^3), mesni ekstrakt (110 mg/dm^3), urea (30 mg/dm^3), K_2HPO_4 (28 mg/dm^3), NaCl (7 mg/dm^3), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (4 mg/dm^3) i $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (2 mg/dm^3) u destiliranoj vodi.

Sintetska otpadna voda s dodatkom bojila (10, 20, 30, 40, 50, 75 i 100 mg/dm^3) pripravljena je na način da je u sintetsku otpadnu vodu dodana standardna otopina bojila

3.2.6. Šaržni adsorpcijski eksperimenti

Šaržni postupak adsorpcije korišten je za istraživanje adsorpcijskih svojstava inaktivne biomase gljive *G. applanatum*. Priređene mase inaktivne biomase gljive prebačene su u Erlenmeyerove tikvice od 100 cm^3 u koje je dodano po 50 cm^3 otopine bojila poznatih početnih masenih koncentracija (slika 7.). Tikvice su stavljene na tresilicu pri temperaturi od $25 \text{ }^\circ\text{C}$ i brzini miješanja od 150 okr/min te vremenu od 300 min, kako bi se osiguralo postizanje ravnotežnog stanja (osim za istraživanje utjecaja početne koncentracije biosorbensa te utjecaja vremena biosorpcije). Po završetku procesa biosorpcije, tikvice su izvađene iz tresilice te je sadržaj tikvica filtriran. Filtrat je zatim centrifugiran na 6000 okr/min tijekom 5 minuta. Nakon centrifugiranja mjerene su apsorbancije filtrata na valnoj duljini od 498 nm. Koncentracija kongo crvenila nakon biosorpcije određena je korištenjem kalibracijske krivulje ($y = 0,051 \cdot x - 0,0075$).

Postotak uklanjanja bojila izračunat je korištenjem izraza 1:

$$\% \text{ uklanjanja bojila} = \frac{(Y_0 - Y)}{Y_0} \cdot 100 \quad (1)$$

gdje su γ_0 i γ početna i konačna masena koncentracija bojila (mg/dm^3).

Količina bojila adsorbirana po jedinici mase biosorbensa u vremenu t izračunata je korištenjem izraza 2:

$$q_t = \frac{(\gamma_0 - \gamma_t)}{m} \cdot V \quad (2)$$

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/dm^3), m je masa biosorbensa (g), a V volumen otopine bojila (dm^3).

Šaržni adsorpcijski eksperimenti provedeni su u dva ponavljanja te su rezultati izraženi kao srednja vrijednost.

Utjecaj masene koncentracije biosorbensa na uklanjanje bojila ispitan je za koncentraciju biosorbensa u rasponu od $1 \text{ g}/\text{dm}^3$ do $5 \text{ g}/\text{dm}^3$ tijekom 24 h. Ostali eksperimentalni uvjeti bili su kako slijedi: $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg}/\text{dm}^3$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, brzina miješanja $150 \text{ okr}/\text{min}$.

Utjecaj vremena biosorpcije (kontakta između biosorbensa i adsorbata) ispitan je u vremenskim intervalima od $t = 1, 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300$ minuta pri $\gamma_{\text{bojila}} = 10 \text{ mg}/\text{dm}^3, 50 \text{ mg}/\text{dm}^3$ i $100 \text{ mg}/\text{dm}^3$. Ostali eksperimentalni uvjeti bili su kako slijedi: $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 5 \text{ g}/\text{dm}^3$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, brzina miješanja $150 \text{ okr}/\text{min}$.

Utjecaj početne koncentracije bojila ispitan je pri početnim masenim koncentracijama bojila od $10 \text{ mg}/\text{dm}^3$ do $100 \text{ mg}/\text{dm}^3$, pri čemu su ostali eksperimentalni uvjeti bili: $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 5 \text{ g}/\text{dm}^3$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 300 \text{ min}$, brzina miješanja $150 \text{ okr}/\text{min}$.



Slika 7. Biosorbens i otopine bojila za ispitivanje utjecaja početne koncentracije bojila.

Utjecaj pH modelne otopine bojila. Ispitane su pH vrijednosti modelne otopine 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10. pH vrijednosti modelnih otopina bojila podešavane su s 0,01 mol/dm³ otopinom NaOH i 0,01 mol/dm³ otopinom HCl-a. Ostali eksperimentalni uvjeti bili su: $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/dm}^3$, $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 5 \text{ g/dm}^3$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 300 \text{ min}$, brzina miješanja 150 okr/min.

Adsorpcija bojila na biosorbens iz sintetske otpadne vode. Adsorpcija je ispitana pri masenim koncentracijama bojila $\gamma_{\text{bojila}}=10, 20, 30, 40, 50, 75$ i 100 mg/dm^3 , $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 5 \text{ g/dm}^3$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 300 \text{ min}$, brzina miješanja 150 okr/min.

3.2.7. Ravnotežne adsorpcijske izoterme

Adsorpcijski ravnotežni modeli igraju važnu ulogu u razumijevanju mehanizma adsorpcije, jer pružaju uvid u adsorpcijski kapacitet korištenog adsorbensa te opisuju kako se u ravnotežnom stanju molekule adsorbata, u ovom slučaju molekule sintetskog bojila kongo crvenila, raspodjeljuju između čvrste i tekuće faze (Yagub i sur., 2014). Adsorpcijska izoterma daje grafički prikaz ovisnosti ravnotežne količine adsorbata po jedinici mase adsorbensa o koncentraciji, pri konstantnoj temperaturi.

Langmuirov ravnotežni adsorpcijski model pretpostavlja da se adsorpcija odvija na specifičnim homogenim mjestima unutar adsorbensa. Matematički je prikazan jednačbom 3:

$$q_e = \frac{q_m \cdot K_L \cdot \gamma_e}{1 + K_L \cdot \gamma_e} \quad (3)$$

gdje su q_e i q_m adsorpcijski kapacitet u stanju ravnoteže i maksimalni adsorpcijski kapacitet (mg/g), γ_e je ravnotežna koncentracija adsorbirane tvari (mg/dm³), a K_L je Langmuirova konstanta (L mg⁻¹) (Yagub i sur., 2014).

Freundlichov ravnotežni adsorpcijski model razmatra heterogenu adsorpcijsku površinu koja ima nejednako dostupna mjesta s različitim energijama adsorpcije. Matematički je prikazan jednačbom 4:

$$q_e = K_f \gamma_e^{1/n} \quad (4)$$

gdje je q_e ravnotežni adsorpcijski kapacitet, γ_e je ravnotežna koncentracija adsorbirane tvari, K_f je Freundlichova konstanta $(\text{mg/g})(\text{mg/dm}^3)^{-1/n}$, a n parametar (konstanta) povezan s jačinom biosorpcije. Obje empirijske konstante karakteristične su za pojedini sustav adsorbens/adsorbat (Yagub i sur., 2014).

3.2.8. Kinetički modeli

Adsorpcijska kinetika opisuje odvijanje adsorpcije u ovisnosti o vremenu sve do uspostave ravnotežnog stanja, pri čemu su najčešće korišteni modeli model pseudo-prvog reda i model pseudo-drugog reda.

Model pseudo-prvog reda opisan je jednadžbom 5:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1(q_{m1} - q_t) \quad (5)$$

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 (min^{-1}).

Model pseudo-drugog reda opisan je jednadžbom 6:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2(q_{m2} - q_t)^2 \quad (6)$$

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).

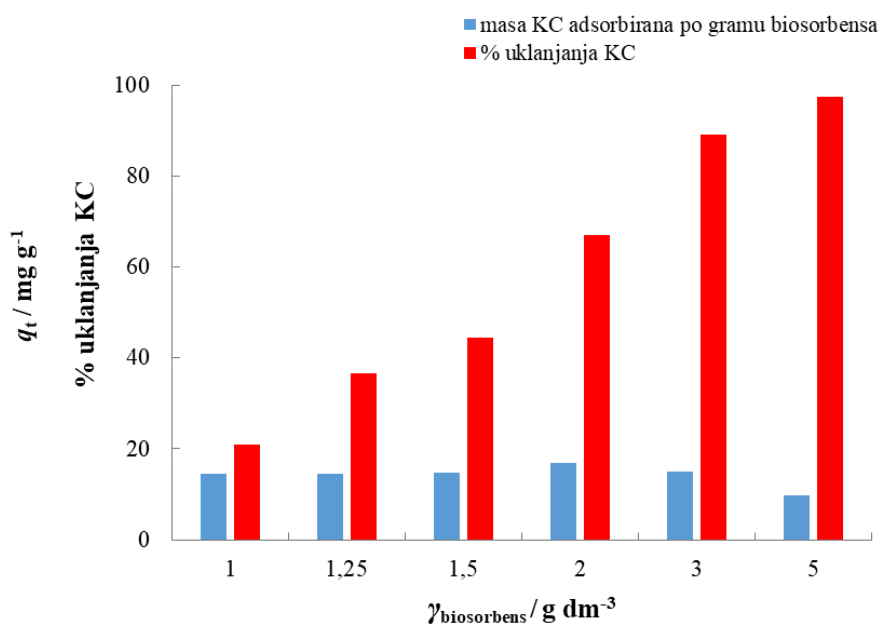
3.2.9. Obrada rezultata

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

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. Utjecaj koncentracije biosorbensa na biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*

Pri istraživanju adsorpcijskih karakteristika nekog adsorbensa važno je odrediti koncentraciju adsorbensa koja će biti korištena u daljnjim eksperimentima. S tim ciljem provedeni su šaržni adsorpcijski eksperimenti pri čemu su ispitane masene koncentracije biosorbensa iznosile od 1 g/dm^3 do 5 g/dm^3 , uz ostale eksperimentalne uvjete kako slijedi: $\gamma_{\text{bojilo}} = 50 \text{ mg/dm}^3$, $t = 24 \text{ h}$, $\Theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$. Dobiveni rezultati prikazani su na slici 8.



Slika 8. Utjecaj koncentracije inaktivne biomase *G. applanatum* (biosorbensa) na količinu adsorbiranog bojila po gramu biosorbensa i postotak uklonjenog bojila ($\gamma_{\text{bojilo}} = 50 \text{ mg/dm}^3$; $t = 24 \text{ h}$; $\Theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

Iz slike 8. je vidljivo kako je povećanje koncentracije biosorbensa od 1 g/dm^3 do 5 g/dm^3 dovelo do smanjenja količine bojila adsorbirane po masi biosorbensa od $14,47 \text{ mg/g}$ do $9,74 \text{ mg/g}$ te do povećanja postotka uklanjanja bojila od $20,94\%$ do $97,37\%$. Koncentracija adsorbensa značajno utječe na proces adsorpcije. Povećanjem koncentracije adsorbensa povećava se kontaktna površina, odnosno broj adsorpcijskih mjesta dostupnih za vezanje adsorbata.

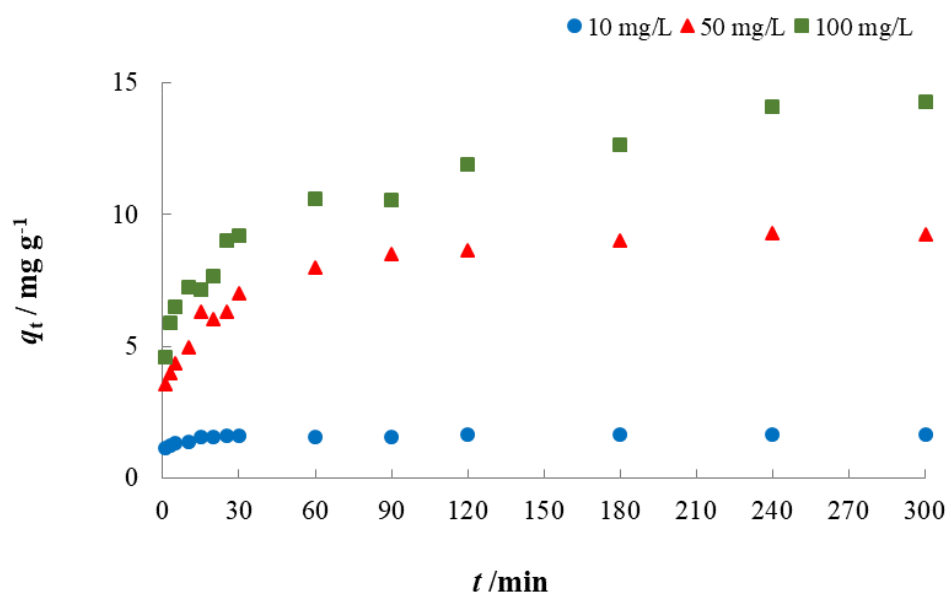
Istraživanja koja su proveli Yang i suradnici (2020) s inaktivnom biomasom gljive *Lentinula edodes* (shiitake) kao biosorbensom za uklanjanje kongo crvenila iz vode, kao i istraživanja koja je proveo Khalaf (2008) u kojima je koristio inaktivnu biomasu plijesni *Aspergillus niger* za uklanjanje reaktivnog bojila Synazol, u skladu su s rezultatima dobivenim ovim istraživanjem.

Uzimajući u obzir postotak uklanjanja bojila i masu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa, za nastavak istraživanja odabrana je koncentracija biosorbensa od 5 g/dm³.

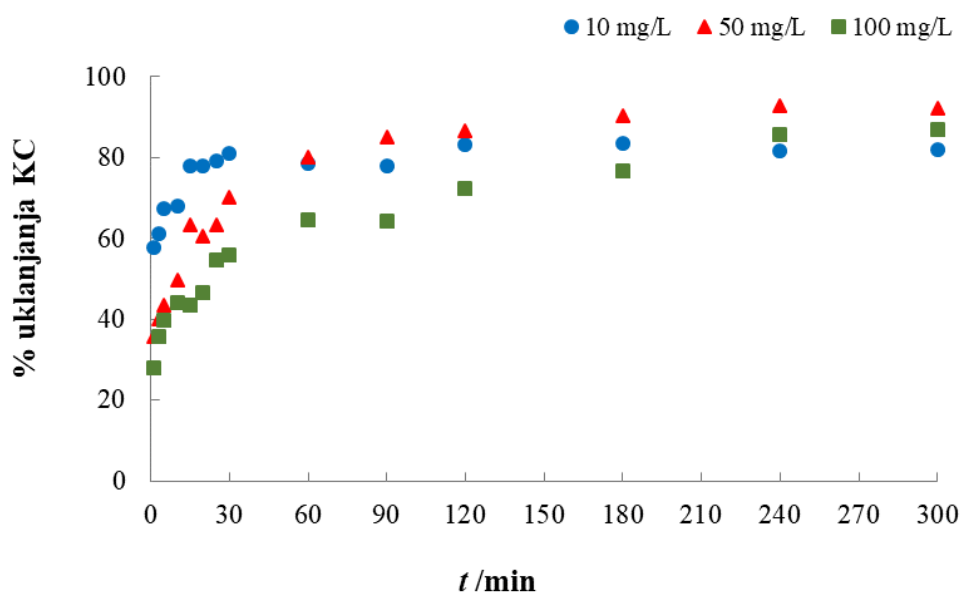
4.2. Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i adsorbata na biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*

Proces adsorpcije ovisan je o vremenu kontakta između adsorbensa i adsorbata te je važno odrediti optimalno vrijeme trajanja adsorpcije. Važno primjensko svojstvo adsorbensa su brza adsorpcija adsorbata iz tekuće faze te brzo uspostavljanje ravnotežnog stanja. Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i adsorbata na proces biosorpcije, odnosno na uklanjanje kongo crvenila iz modelnih otopina ispitan je u vremenskim intervalima od 1 min do 300 min pri ostalim eksperimentalnim uvjetima kako slijedi: $\gamma_{\text{bojilo}} = 10, 50 \text{ i } 100 \text{ mg/dm}^3$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 5 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$. Dobiveni rezultati prikazani su na slici 9.

Iz slike 9. vidljivo je kako je do uspostavljanja ravnotežnog stanja najbrže došlo pri ispitivanoj koncentraciji bojila od 10 mg/dm³ i to u vremenu od 30 min. Pri ispitivanoj koncentraciji bojila od 50 mg/dm³ ravnotežno stanje uspostavljeno je 120 min, dok je pri ispitivanoj koncentraciji bojila od 100 mg/dm³ do uspostavljanja ravnotežnog stanja došlo tek nakon 240 min. U sva tri slučaja uklanjanje bojila u prvih 30 min procesa bilo je brzo, a u kasnijim fazama eksperimenta uklanjanje je bilo sve sporije do postizanja ravnoteže. Ovo se vjerojatno može objasniti činjenicom kako je na početku procesa broj slobodnih adsorpcijskih mjesta dostupnih za vezanje bojila velik, dok je u kasnijim fazama eksperimenta slobodnih mjesta za vezanje adsorbata sve manje (većina je zauzeta u prvim fazama eksperimenta) te se stoga brzina uklanjanja bojila smanjuje (Wanyonyi i sur., 2014). Na osnovu dobivenih rezultata za nastavak istraživanja odabrano je vrijeme biosorpcije od 300 min, kako bi se u svim daljnjim eksperimentima osiguralo postizanje ravnotežnog stanja.



A



B

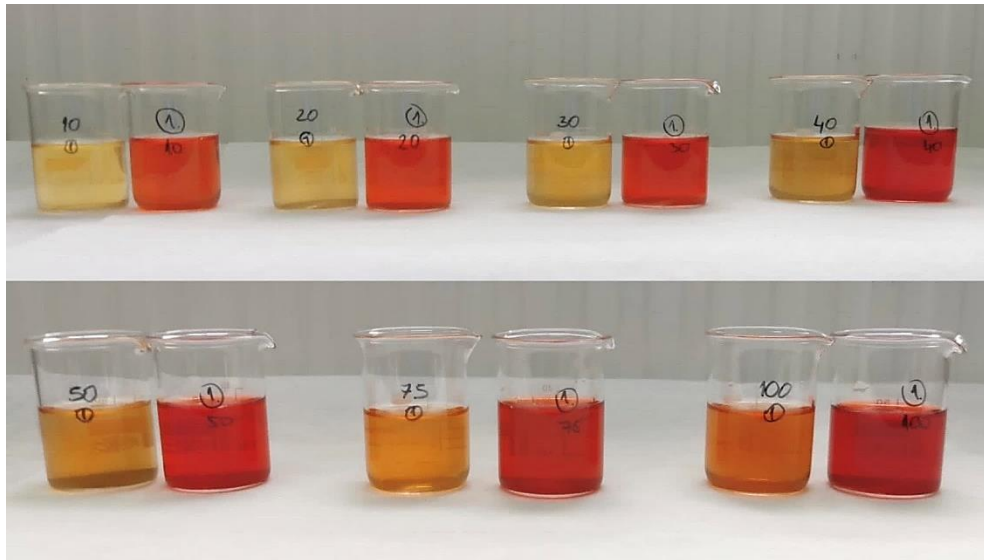
Slika 9. Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i bojila (adsorbata) na postotak uklanjanja bojila (A) i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa (B) ($\gamma_{\text{bojilo}} = 10 - 100 \text{ mg/dm}^3$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 5 \text{ g/dm}^3$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $V_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$)

4.3. Utjecaj početne koncentracije bojila na biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*

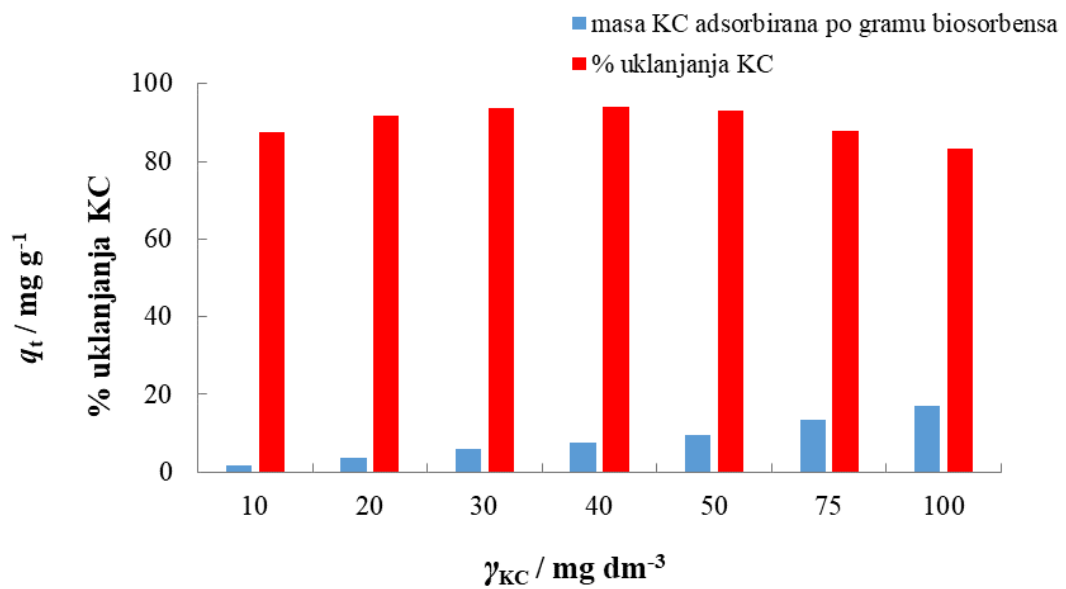
Utjecaj početne koncentracije bojila na proces biosorpcije ispitan je za koncentracijski raspon od 10 mg/dm^3 do 100 mg/dm^3 te pri ostalim eksperimentalnim uvjetima kako slijedi: $\rho_{\text{biosorbens}} = 5 \text{ g/dm}^3$, $t = 300 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$. Dobiveni rezultati prikazani su na slici 10.

Iz slike 10. je vidljivo kako se povećanjem početne koncentracije bojila od 10 mg/dm^3 do 100 mg/dm^3 količina bojila adsorbiranog po gramu biosorbensa kontinuirano povećava od $1,78 \text{ mg/g}$ do $17,10 \text{ mg/g}$. Ovi rezultati ukazuju na činjenicu kako je proces uklanjanja kongo crvenila biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* ovisan o koncentraciji bojila, što potvrđuju i rezultati istraživanja drugih autora koji su za uklanjanje kongo crvenila, ali i drugih bojila, poput kristal violeta ili metilenskog modrila koristili inaktivnu biomasu različitih gljiva (Yang i sur., 2019; Grassi i sur., 2019; Abdallah i Taha, 2012).

S druge strane postotak uklanjanja bojila za koncentracijski raspon od 10 mg/dm^3 do 40 mg/dm^3 pokazuje vrlo blagi porast i kreće se u rasponu od $87,66\%$ do $93,98\%$, dok daljnjim povećanjem početne koncentracije bojila dolazi do smanjenja postotka uklanjanja bojila, koje pri početnoj koncentraciji bojila od 100 mg/dm^3 iznosi $83,34\%$. Sličan trend vidljiv je u istraživanju u kojem je korišten pivski trop kao biosorbens za uklanjanje kongo crvenila iz vode (Kezerle, 2020).



A

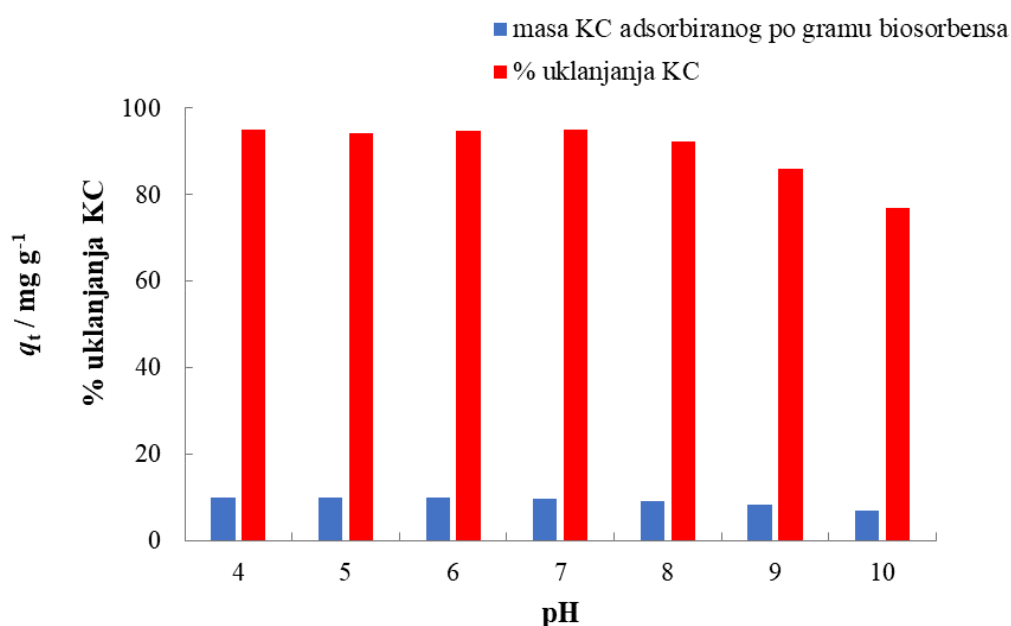


B

Slika 10. Izgled otopina bojila nakon završene biosorpcije (A) i utjecaj početne koncentracije bojila na postotak uklanjanja bojila i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa (B) ($\gamma_{\text{biosorbens}} = 5 \text{ g/dm}^3$, $t = 300 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$)

4.4. Utjecaj pH vrijednosti modelne otopine bojila na biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*

Na uklanjanje onečišćujućih tvari iz otpadnih voda često vrlo značajno utječe pH vrijednost vodenog okoliša (Baek i sur., 2010). Utjecaj pH vrijednosti na proces biosorpcije ispitan je za pH područje od 4 do 10, dok su ostali eksperimentalni uvjeti bili: $\gamma_{\text{biosorbens}} = 5 \text{ g/dm}^3$, $t = 300 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$. Slika 11. prikazuje dobivene rezultate.



Slika 11. Utjecaj pH vrijednosti na količinu uklonjenog bojila i postotak uklanjanja biosorpcijom na inaktivnu biomasu *G. applanatum* ($\gamma_{\text{biosorbens}} = 5 \text{ g/dm}^3$, $t = 300 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$)

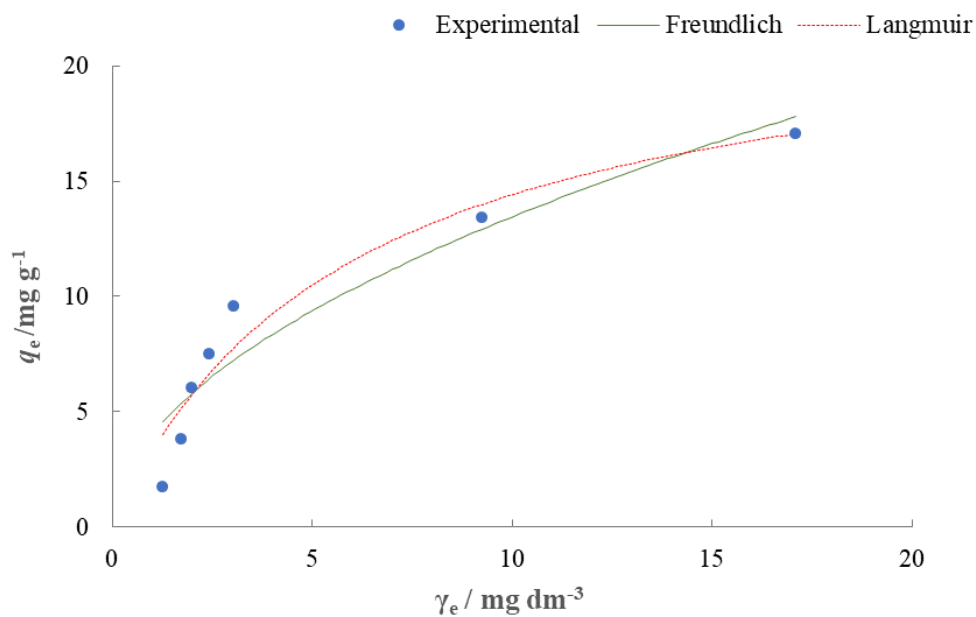
Iz slike 11. vidljivo je kako u pH području od 4 do 7 promjena pH nije imala značajan utjecaj na masu kongo crvenila adsorbiranog po gramu biosorbensa, kao ni na postotak uklanjanja kongo crvenila. S druge strane, povećanje pH od 7 do 10 dovelo je do smanjenja kako mase kongo crvenila adsorbirane po gramu biosorbensa (od 9,77 mg/g do 6,97 mg/g), tako i do smanjenja postotka uklanjanja kongo crvenila (od 95,07% do 76,97%). Ovo je u skladu s rezultatima Yang i suradnika (2019) koji su istraživali utjecaj pH na biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu

biomasu shiitake gljive. Nadalje, u istraživanju u kojem je kao biosorbens korištena inaktivna biomasa gljive *F. pinicola* (Velić i sur., 2022) za uklanjanje kongo crvenila iz vode, autori navode kako je točka nul naboja biosorbensa $pH_{pzc} = 5,1$ te kako pH vrijednosti vodenog okoliša manje od pH_{pzc} pogoduju adsorpciji anionskih vrsta. Nadalje, navode kako je u pH području većem od pH_{pzc} došlo do smanjenja mase kongo crvenila adsorbirane po gramu biosorbensa, kao i do smanjenja postotka uklanjanja kongo crvenila. Iako u ovom radu nije određivana točka nul naboja biosorbensa, s obzirom na dobivene rezultate koje su u skladu s navedenim istraživanjem, negativan naboj na površini inaktivne biomase *G. applanatum* pri pH vrijednostima vodenog okoliša većima od 7 mogao bi biti razlog smanjenja postotka uklanjanja kongo crvenila (koje je anionsko bojilo).

4.5. Adsorpcijske izoterme i kinetika adsorpcije

Eksperimentalno dobiveni rezultata provođenjem šaržnih adsorpcijskih eksperimenata analizirani su primjenom Langmuirovog i Freundlichovog adsorpcijskog ravnotežnog modela te su izračunate vrijednosti parametara adsorpcijskih izotermi kako bi se utvrdilo koji od primijenjenih modela bolje opisuje proces biosorpcije kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum*. Slika 12. prikazuje eksperimentalno dobivene podatke te računski dobivene krivulje adsorpcijskih izotermi pri temperaturi 25 °C, dok tablica 1. daje prikaz parametara adsorpcijskih izotermi.

Usporedbom vrijednosti koeficijenta korelacije iz tablice 1. i iz slike 12. vidljivo je kako je proces biosorpcije kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* za ispitano koncentracijsko područje od 10 mg/dm³ do 100 mg/dm³ i za primijenjenu temperaturu 25 °C nešto bolje opisan Langmuirovim modelom (koeficijent korelacije 0,934) u odnosu na Freundlichov model (koeficijent korelacije 0,896). Bezdimenzionalni separacijski faktor R_L , koji je karakterističan za Langmuirov model iznosi 0,056, odnosno manji je od 1 što ukazuje da je proces biosorpcije povoljan. S druge strane, vrijednost parametra n Freundlichova modela koji govori o jakosti adsorpcije, veći je od 1 (1,917) što ukazuje kako se radi o povoljnom fizikalnom procesu (Sadaf i sur., 2014).

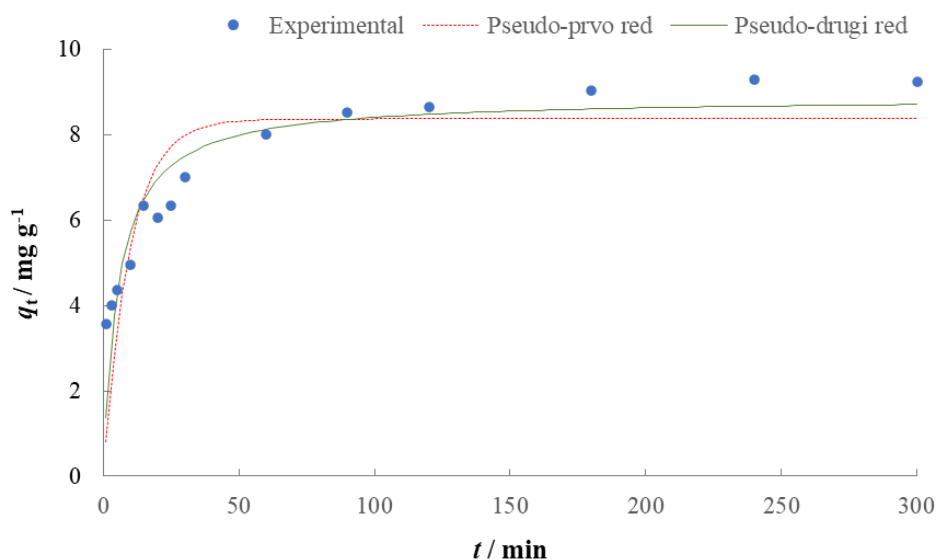


Slika 12. Langmuirove i Freundlichove adsorpcijske izoterme za biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* pri temperaturi 25 °C.

Tablica 1. Parametri adsorpcijskih izotermi za biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* ($\gamma_{\text{bojila}} = 10 - 100 \text{ mg/dm}^3$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 5 \text{ g/dm}^3$, $t = 300 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

Model	25 °C
$q_{m \text{ exp.}} / \text{mg g}^{-1}$	17,10
Langmuir	
$q_{m \text{ cal.}} / \text{mg g}^{-1}$	23,02
$K_L / \text{L mg}^{-1}$	0,167
R_L	0,056
R^2	0,934
Freundlich	
$K_F / (\text{mg g}^{-1} (\text{L/mg})^{1/n})$	4,046
n	1,917
R^2	0,896

Kinetika adsorpcije opisuje kako se adsorpcija odvija u ovisnosti o vremenu, do uspostave adsorpcijske ravnoteže. Eksperimentalni podatci analizirani su pomoću dva odabrana kinetička modela - modelom pseudo-prvog i modelom pseudo-drugog reda. Slika 13. i tablica 2. prikazuju rezultate analize eksperimentalno dobivenih podataka korištenjem navedenih kinetičkih modela. Usporedbom vrijednosti q_{m1} i q_{m2} dobivenih modelima s eksperimentalno dobivenom vrijednosti $q_{m\text{exp}}$, može se vidjeti kako model pseudo-drugog reda pokazuje bolje slaganje s eksperimentalnom vrijednosti. Pretpostavka modela pseudo-drugog reda je da se na površini adsorbensa odvijaju i adsorpcija i ionska izmjena, pri čemu je kemijsko vezanje za aktivna mjesta na površini adsorbensa ograničavajući čimbenik brzine adsorpcije (Kukić, 2016). Model pseudo-drugog reda ima i veći koeficijent korelacije (0,830) u odnosu na koeficijent korelacije modela pseudo-prvog reda (0,651), što također potvrđuje zaključak kako model pseudo-drugog reda bolje opisuje kinetiku procesa biosorpcije kongo crvenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*. Ovo je u skladu s rezultatima drugih autora, kao što su Argumedo-Delira i suradnici (2021) koji su analizirali kinetiku procesa uklanjanja kongo crvenila inaktivnom biomasom *Trichoderma virens* i *T. viride* CBS 100926(T) kao biosorbensima te Velić i suradnici (2022) koji su analizirali kinetiku uklanjanja kongo crvenila korištenjem inaktivne biomase *F. pinicola* kao biosorbensa.



Slika 13. Eksperimentalni podatci i modeli pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* ($\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/dm}^3$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/dm}^3$, $t = 1\text{-}240 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

Tablica 2. Parametri kinetičkih modela pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za biosorpciju kongo crvenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* ($\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/dm}^3$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1,5 \text{ g/dm}^3$, $t = 1-240 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

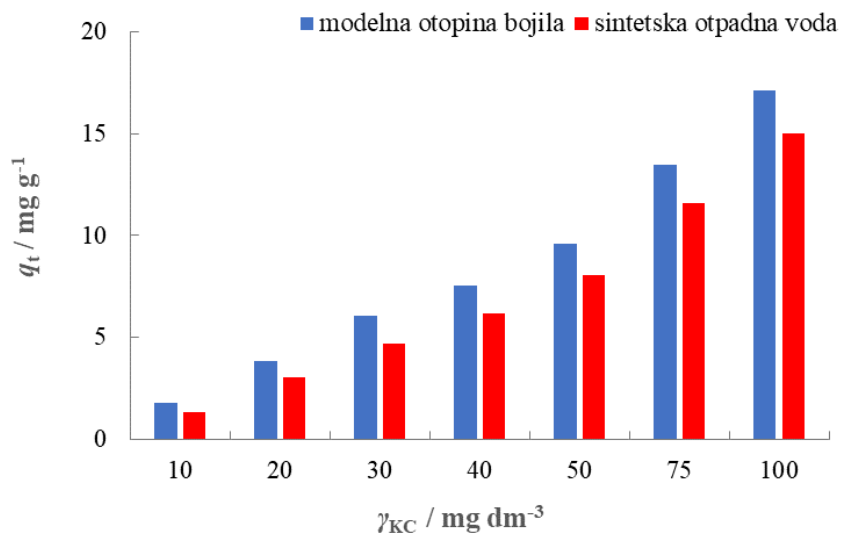
Model	
$q_{m \text{ exp.}} / \text{mg g}^{-1}$	9,229
Pseudo-prvi red	
$q_{m 1} / \text{mg g}^{-1}$	8,361
k_1 / min^{-1}	0,103
R^2	0,651
Pseudo-drugi red	
$q_{m 2} / \text{mg g}^{-1}$	8,856
$k_2 / \text{g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$	0,021
R^2	0,830

4.6. Uklanjanje kongo crvenila iz sintetske otpadne vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum*

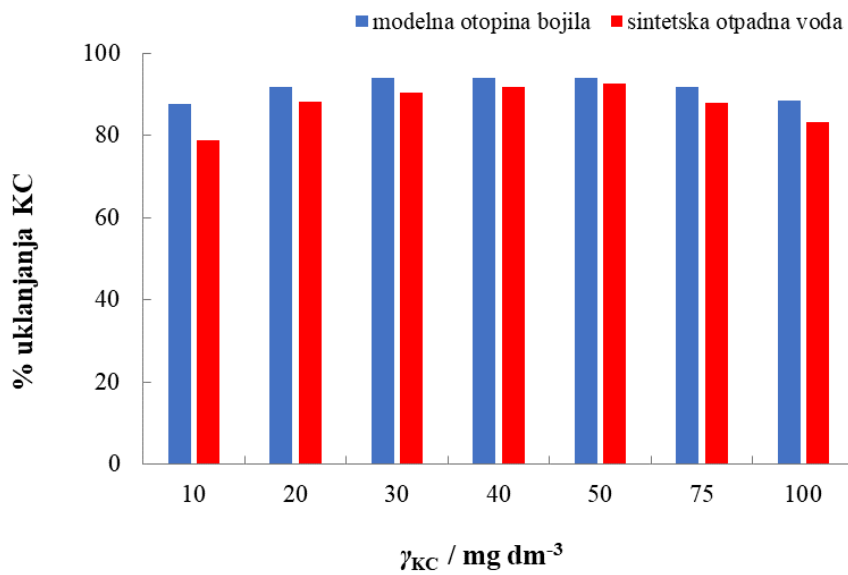
Kako bi se simulirali realni uvjeti, odnosno uklanjanje bojila iz realne otpadne vode, provedeni su šaržni adsorpcijski eksperimenti u sintetskoj otpadnoj vodi (koja sastavom simulira komunalnu otpadnu vodu) s dodatkom bojila. Eksperimenti su provedeni u sintetskoj otpadnoj vodi s dodatkom bojila u koncentraciji od 10 mg/dm^3 do 100 mg/dm^3 pri čemu su ostali eksperimentalni uvjeti bili kako slijedi: $\gamma_{\text{biosorbens}} = 5 \text{ g/L}$, $t = 300 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$. Dobiveni rezultati prikazani su na slici 14.

Usporedbom rezultata dobivenih provođenjem eksperimenata u modelnoj otopini bojila i sintetskoj otpadnoj vodi s dodatkom bojila, može se vidjeti kako količina bojila adsorbirana po gramu biosorbensa kontinuirano raste s povećanjem koncentracije bojila u oba medija, iako je ta količina veća u modelnoj otopini nego u sintetskoj otpadnoj vodi (slika 14. A)

Nadalje, postotak uklanjanja bojila (slika 14. B) u modelnoj otpadnoj vodi je malo veći od onog u sintetskoj otpadnoj vodi pri svim ispitanim koncentracijama bojila, odnosno učinkovitost uklanjanja u modelnoj otpadnoj vodi je malo veća.



A



B

Slika 14. Utjecaj početne koncentracije bojila na količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa (A) te postotak uklanjanja bojila (B) za uklanjanje iz modelnih otopina bojila te sintetske otpadne vode s dodatkom bojila ($\gamma_{\text{biosorbens}} = 5 \text{ g/dm}^3$, $t = 300 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

Sustav sintetska otpadna voda/biosorbens imao je pH oko 8, dok je pH sustava modelna otopina bojila/biosorbens bio oko 6,5, što može biti razlog zašto je učinkovitost uklanjanja veća u modelnoj otopini bojila (manje pH vrijednosti više pogoduju biosorpciji anionskog bojila kongo crvenila). Nadalje, otpadna voda je puno kompleksnijeg sastava od modelne otopine bojila, pa se može pretpostaviti da se za ista adsorpcijska mjesta natječu i drugi vrste, a ne samo molekule bojila, što također može dovesti do smanjenja učinkovitosti biosorpcije.

5. ZAKLJUČCI

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

- Povećanjem koncentracije inaktivne biomase gljive *G. applanatum* (biosorbensa), povećao se postotak uklanjanja kongo crvenila, dok se količina adsorbiranog kongo crvenila po jedinici mase biosorbensa smanjila.
- Proces biosorpcije kongo crvenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum* odvijao se brzo u prvih 30 minuta, dok je u kasnijim fazama usporavao do postizanja ravnotežnog stanja. Postotak uklanjanja bojila, kao i količina bojila adsorbirana po jedinici mase biosorbensa povećavali su se s produljenjem vremena kontakta između biosorbensa i modelne otopine bojila.
- Povećanjem početne koncentracije bojila od 10 mg/dm³ do 100 mg/dm³ količina bojila adsorbiranog po jedinici mase biosorbensa kontinuirano se povećavala od 1,78 mg/g do 17,10 mg/g. Ovi rezultati ukazuju na činjenicu kako je proces uklanjanja kongo crvenila biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* ovisan o koncentraciji bojila.
- pH vrijednosti manje od 7 pogoduju biosorpciji kongo crvenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*, što se očituje većom količinom bojila adsorbiranog je po jedinici mase biosorbensa, kao i većem postotku uklanjanja bojila.
- Langmuirov ravnotežni model bolje opisuje proces biosorpcije kongo crvenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*, u odnosu na Freundlichov model, dok kinetiku biosorpcije pri primijenjenim eksperimentalnim uvjetima bolje opisuje kinetički model pseudo-drugog reda, u usporedbi s modelom pseudo-prvog reda.
- Učinkovitost uklanjanja kongo crvenila biosorpcijom na inaktivnu biomasu *G. applanatum* nešto je veća u modelnoj otopini bojila u odnosu na sintetsku otpadnu vodu, koja simulira sastav realnih otpadnih voda.

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.
- Aragaw TA, Bogale FM: Biomass-Based Adsorbents for Removal of Dyes From Wastewater: A Review. *Frontiers in Environmental Science* 9: 764958, 2021.
- Ardila-Leal LD, Poutou-Piñales RA, Pedroza-Rodríguez AM, Quevedo-Hidalgo BE: A Brief History of Colour, the Environmental Impact of Synthetic Dyes and Removal by Using Laccases. *Molecules* 26: 3813, 2021.
- Berradi M, Hsissou R, Khudhair M, Assouag M, Cherkaoui O, Bachiri A, Harfi A: Textile finishing dyes and their impact on aquatic environs. *Heliyon* 5: e02711, 2019.
- Christie R: Colour Chemistry. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2001.
- Crini G: Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review. *Bioresource Technology* 97(9): 1061–1085, 2006.
- Derco J, Vrana B: Introductory Chapter: Biosorption. Intech Open, 2018.
- Ferraz ERA, Grando MD, Oliveira DP: The azo dye disperse orange 1 induces DNA damage and cytotoxic effects but does not cause ecotoxic effects in *Daphnia similis* and *Vibrio fischeri*. *Journal of Hazardous Materials* 192, 628–633, 2011.
- Forgacs E, Cserhádi T, Oros G: Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environment International* 30(7): 953–971, 2004.
- 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.
- Gudelj I, Hrenović J, Landeka Dragičević T, Delaš F, Šoljan V, Gudelj H: Azo boje, njihov utjecaj na okoliš i potencijal biotehnoške strategije za njihovu biorazgradnju i detoksifikaciju. *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 62: 91–100, 2011.
- Gürses A, Açıkyıldız M, Güneş K, Gürses MS: Dyes and Pigments. *Springer International Publishing*, Švicarska, 2016.

Hassan MM, Carr CM: Biomass-derived Porous Carbonaceous Materials and Their Composites as Adsorbents for Cationic and Anionic Dyes: A Review. *Chemosphere* 265: 129087–7, 2021.

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, 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.

Klaus AS, Kozarski MS, Vunduk JĐ, Petrović PM, Nikšić MP: Antibacterial and Antifungal Potential of Wild Basidiomycete Mushroom *Ganoderma Applanatum*. *Lekovite Sirovine* 36: 37–46, 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.

Meyer U: Biodegradation of synthetic organic colorants. U: Microbial Degradation of Xenobiotic and Recalcitrant Compounds (FEMS Symposium 12), str. 371-385. *Academic Press*, London, UK, 1981.

Moosavi S, Lai CW, Gan S, Zamiri G, Akbarzadeh Pivezhzani O, Johan MR: Application of Efficient Magnetic Particles and Activated Carbon for Dye Removal from Wastewater. *ACS Omega* 5: 20684–20697, 2020.

Nasar A, Mashkoo F: Application of Polyaniline-Based Adsorbents for Dye Removal from Water and Wastewater – A Review. *Environmental Science and Pollution Research* 26: 5333–5356, 2019.

OECD 302 B Guideline for testing of chemicals. 1992.

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

Sadaf S, Bhatti HN, Nausheen S, Amin M.: Application of a novel lignocellulosic biomaterial for the removal of Direct Yellow 50 dye from aqueous solution: Batch and column study. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers* 47:160., 2015.

Seyedi ZS, Zahraei Z, Jookar Kashi F: Decolorization of Reactive Black 5 and Reactive Red 152 Azo Dyes by New Haloalkaliphilic Bacteria Isolated from the Textile Wastewater. *Current Microbiology* 77: 2084–2092, 2020.

Singh Maurya N, Mittal AK, Cornel P, Rother E: Biosorption of dyes using dead macro fungi: Effect of dye structure, ionic strength and pH. *Bioresource Technology* 97(3): 512–521, 2006.

Singh NB, Nagpal G, Agrawal S, Rachna: Water Purification by Using Adsorbents: A Review. *Environmental Technology and Innovation* 11: 187–240, 2018.

Stevens LJ, Burgess JR, Stochelski MA, Kuczek T: Amounts of artificial food colors in commonly consumed beverages and potential behavioral implications for consumption in children. *Clinical Pediatrics* 53: 133–140, 2014.

Srivastava, A., Rani, R.M., Patle, D.S. and Kumar, S. (2022), Emerging bioremediation technologies for the treatment of textile wastewater containing synthetic dyes: a comprehensive review. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 97: 26-41.

Tkaczyk A, Mitrowska K, Posyniak A: Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. *Science of the Total Environment* 717: 137222, 2020.

Velić N, Drempeć AM, Gorenšek J, Stjepanović M, Kosović I, Velić D, Pavlović H: Waste or Resource: Biosorption Potential of the Inactive Biomass of *Fomitopsis pinicola* Mushroom for the Removal of the Synthetic Dye Congo Red from Water, *International Medicinal Mushroom Conference IMMC11 Electronic Abstract Book*, Beograd, str. 110-110, 2022.

Villar Blanco L, González Sas O, Sánchez PB, Domínguez Santiago A, González de Prado B: Congo red recovery from water using green extraction solvents. *Water Resources and Industry* 27: 100170, 2022.

Volesky B: Biosorption of Heavy Metals. *CRC Press*, Boca Raton, Florida, SAD, 1990.

Yagub MT, Sen TK, Afroze S, Ang HM: Dye and its removal from aqueous solution by adsorption: a review. *Advances in Colloid Interface Science* 209: 172–184, 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.

Yaneva ZL, Georgieva NV: Insights into Congo Red Adsorption on Agro-Industrial Materials – Spectral, Equilibrium, Kinetic, Thermodynamic, Dynamic and Desorption Studies: A Review. *International Review of Chemical Engineering* 4: 127–146, 2012.

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

Weisz A, Milstein SR, Scher AL, Hepp NM: Colouring agents in cosmetics: Regulatory aspects and analytical methods, *Elsevier BV*, Amsterdam, Nizozemska, 123–157, 2017.

Zollinger H: Azo dyes and pigments. U: Colour Chemistry; Synthesis, Properties and Applications of Organic Dyes and Pigments, str. 92-100. *VCH*. New York, SAD, 1987.

web 1: <https://www.southernbiological.com/chemicals/stains-and-indicators/sip5-11-congo-red/> (pristupljeno 11. siječnja 2023.)

web 2: <https://www.first-nature.com/fungi/images/ganodermataceae/ganoderma-applanatum1.jpg> (pristupljeno 11. siječnja 2023.)

7. PRILOZI

Prilog 1 Primjer izgleda omota CD-a za diplomski rad



Prilog 2 Primjer izgleda prednje strane CD-a za diplomski rad

