

Uklanjanje malahitnog zelenila iz vode biosorpcijom na otpadnu inaktivnu biomasu gljive *Ganoderma applanatum*

Vukoje, Jelena

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:109:272528>

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

Jelena Vukoje

**Uklanjanje malahitnog zelenila iz vode biosorpcijom na
otpadnu inaktivnu biomasu gljive *Ganoderma applanatum***

Diplomski rad

Osijek, 2023.

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 18, 31000 Osijek, Hrvatska

Diplomski sveučilišni studij Procesno inženjerstvo

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Biotehnologija

Nastavni predmet: Bioproceni 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 malahitnog zelenila iz vode biosorpcijom na otpadnu inaktivnu biomasu gljive

Ganoderma applanatum

Jelena Vukoje, 0113145649

Sažetak: Cilj rada bio je istražiti mogućnost uklanjanja kationskog bojila malahitnog zelenila (MZ) iz modelnih otopina bojila i sintetske otpadne vode biosorpcijom na otpadnu inaktivnu biomasu gljive *Ganoderma applanatum*. Provedeni su šaržni adsorpcijski eksperimenti, kako bi se istražio utjecaj različitih čimbenika na proces biosorpcije: koncentracija biosorbensa (0,5 – 5 g/L), vrijeme kontakta (1 – 120 min), početna koncentracija bojila (10 – 100 mg/L) i pH (4 - 10). Povećanje koncentracije biosorbensa dovelo je do povećanja postotka uklanjanja MZ te smanjenja količine adsorbiranog MZ po gramu biosorbensa. Ravnotežno stanje postignuto je unutar 120 min, pri čemu se proces biosorpcije odvijao vrlo brzo u prvih 30 minuta, dok se u kasnijim fazama usporavao dok nije postignuta ravnoteža. Proces biosorpcije bio je ovisan o koncentraciji MZ. Povećanje početne koncentracije bojila od 10 do 100 mg/L praćeno je povećanjem količine MZ adsorbiranog po gramu biosorbensa (od 7,79 mg/g do 74,64 mg/g) te smanjenjem postotka uklanjanja bojila. pH vrijednosti veće od 7 pogoduju biosorpciji MZ na inaktivnu biomasu *G. applanatum*, što se očituje većom količinom bojila adsorbiranog po jedinici mase biosorbensa, kao i većem postotku uklanjanja bojila. Freudlichov ravnotežni model bolje opisuje proces biosorpcije MZ na inaktivnu biomasu *G. applanatum*, u odnosu na Langmuirov model. Kinetiku biosorpcije pri primijenjenim eksperimentalnim uvjetima bolje opisuje kinetički model pseudo-drugog reda, u usporedbi s modelom pseudo-prvog reda. Nešto veća količina bojila adsorbirana je po gramu biosorbensa, pri uklanjanju iz sintetske otpadne vode s dodatkom bojila, u odnosu na modelnu otopinu bojila.

Ključne riječi: biosorpcija, *Ganoderma applanatum*, inaktivna biomasa, malahitno zelenilo

Rad sadrži: 41 stranicu
16 slika
3 tablice
36 literaturnih referenci

Jezik izvornika: hrvatski

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

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

Datum obrane: 11. srpnja 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 the Cationic Dye Malachite Green from Water by Biosorption on Waste Inactive Biomass of the Fungus *Ganoderma applanatum*

Jelena Vukoje, 0113145649

Summary: The aim of this work was to investigate the possibility of removing the cationic dye malachite green (MG) from model dye solutions and synthetic wastewater by biosorption on inactive waste biomass of the fungus *Ganoderma applanatum*. Batch adsorption experiments were performed to investigate the influence of various factors on the biosorption process: Biosorbent concentration (0.5 - 5 g/L), contact time (1 - 120 min), initial dye concentration (10 - 100 mg/L), and pH (4 - 10). An increase in biosorbent concentration resulted in an increase in the percentage of MG removal and a decrease in the amount of MG adsorbed per gram of biosorbent. The equilibrium condition was reached within 120 minutes, and the biosorption process was very fast in the first 30 minutes, while it slowed down in the later stages until equilibrium was reached. The biosorption process was dependent on the concentration of MG. An increase in the initial dye concentration from 10 to 100 mg/L was accompanied by an increase in the amount of MG adsorbed per gram of biosorbent (from 7.79 mg/g to 74.64 mg/g) and a decrease in the percentage of dye removal. pH values above 7 favor biosorption of MG on the inactive biomass of *G. applanatum*, as indicated by a greater amount of dye adsorbed per unit mass of biosorbent and a higher percentage of dye removal. The Freundlich equilibrium model better describes the process of biosorption of MG on the inactive biomass of *G. applanatum* compared to the Freundlich model. 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. A slightly larger amount of dye per gram of biosorbent was adsorbed in the removal from synthetic wastewater with dye addition than in the model dye solution.

Key words: biosorption, *Ganoderma applanatum*, inactive biomass, Malachite Green

Thesis contains: 41 pages
16 figures
3 tables
36 references

Original in: Croatian

Defense committee:

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

Defense date: July 11, 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 strpljenju, savjetima, utrošenom vremenu i pomoći prilikom izrade ovog diplomskog rada. Hvala Vam na ukazanom povjerenju svojim mentorstvom.

Posebnu zahvalnost iskazujem svim svojim prijateljima i ostatku obitelji koji su bili uz mene, osobito Katarini L., Dajani Ž. i Vici T. za svu podršku i nezaboravne trenutke koji su ovaj period studiranja zaista učinili izuzetno posebnim i predivnim iskustvom.

Na kraju, najveće hvala pripisujem svojim roditeljima, braci i seki na bezuvjetnoj ljubavi, vjeri i podršci tijekom svih ovih godina. Omogućili ste mi sve što jedan student može poželjeti i bez vas ništa od ovoga ne bi bilo moguće. Vi ste me učinili onim što sam danas, hvala vam.

Sadržaj

1. UVOD	1
2. TEORIJSKI DIO.....	3
2.1. Bojila	4
2.1.1. <i>Malahitno zelenilo</i>	5
2.2. Utjecaj sintetskih bojila na okoliš i ljudsko zdravlje	6
2.3. Postupci uklanjanja sintetskih bojila iz otpadnih voda	7
2.3.1. <i>Adsorpcija i biosorpcija</i>	10
2.3.2. <i>Inaktivna biomasa gljiva kao biosorbens</i>	13
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	15
3.1. Zadatak.....	16
3.2. Materijali i metode	16
3.2.1. <i>Kemikalije</i>	16
3.2.2. <i>Instrumenti</i>	16
3.2.3. <i>Biosorbens</i>	17
3.2.4. <i>Priprema modelnih otopina bojila (adsorbata)</i>	18
3.2.5. <i>Priprema sintetske otpadne vode s dodatkom bojila</i>	18
3.2.6. <i>Šaržni adsorpcijski eksperimenti</i>	18
3.2.7. <i>Ravnotežne adsorpcijske izoterme</i>	20
3.2.8. <i>Kinetički modeli</i>	21
3.2.9. <i>Obrada rezultata</i>	21
4. REZULTATI I RASPRAVA	22
4.1. Utjecaj koncentracije biosorbensa na biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu <i>G. applanatum</i>	23
4.2. Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i bojila (adsorbata) na biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu <i>G. applanatum</i>	24
4.3. Utjecaj početne koncentracije bojila na biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu <i>G. applanatum</i>	26
4.4. Utjecaj pH modelne otopine bojila na biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu <i>G. applanatum</i>	28
4.5. Adsorpcijske izoterme i kinetika adsorpcije.....	29
4.6. Uklanjanje malahitnog zelenila iz sintetske otpadne vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive <i>G. applanatum</i>	33
5. ZAKLJUČCI	35
6. LITERATURA	37

1. UVOD

Voda je nedvojbeno jedan od najvrjednijih prirodnih resursa koji pokriva 70 posto Zemljine površine. Iako je ova činjenica općepoznata, onečišćenje vodnih resursa predstavlja veliki ekološki problem. To onečišćenje je velikim dijelom posljedica različitih industrijskih aktivnosti koje rezultiraju nastajanjem značajnih količina otpadnih voda, koje se često nedovoljno pročišćene ili nepročišćene ispuštaju u prirodne recipijente, odnosno vodene ekosustave, što doprinosi njihovom daljnjem onečišćivanju. Ipak, odgovornost za onečišćenje vodenih ekosustava ne leži samo na industriji, već i na kućanstvima i tvrtkama/ustanovama u kojima nastaju komunalne otpadne vode.

U velikom broju industrijskih (proizvodnih) procesa koriste se sintetska bojila, koja putem otpadnih voda tih industrija dopijevaju u okoliš i nakupljaju se u njemu. Većina sintetskih bojila su aromatski spojevi te se svrstavaju u skupinu teško biorazgradljivih ksenobiotika (Yu i Wen, 2005). Osim toga, sintetska bojila čak i u vrlo malim koncentracijama imaju štetan utjecaj na vodene ekosustave, budući da umanjuju prolazak sunčeve svjetlosti te tako ometaju proces fotosinteze. Nadalje, njihova prisutnost u vodenim ekosustavima može dovesti do inhibicije rasta biljaka te utjecati na povećanje biokemijske (BPK) i kemijske (KPK) potrošnje kisika (Ardila-Leal i sur., 2021).

Zbog svega navedenog, intenzivno se istražuju i razvijaju nove metode za uklanjanje sintetskih bojila iz otpadnih voda, a općenito se mogu podijeliti na biološke, kemijske i fizikalne (Rafatullah i sur., 2010). Jedna od često korištenih metoda, koja se i dalje aktivno istražuje je adsorpcija. „Podvrstu“ adsorpcije, kod koje se koristi adsorbens biološkog podrijetla nazivamo biosorpcijom. U skladu s time, kako navodi Volesky (2003), širok raspon biomaterijala dostupnih u prirodi mogu se koristiti kao biosorbensi za uklanjanje različitih onečišćujućih tvari iz vode, poput biljne biomase (lignocelulozni materijali) ili mikrobne biomase.

U ovom radu kao biosorbens za uklanjanje sintetskog bojila malahitnog zelenila iz modelnih otopina bojila i sintetske otpadne vode korištena je otpadna inaktivna biomasa gljive *Ganoderma applanatum*.

2. TEORIJSKI DIO

2.1. Bojila

Bojila i pigmenti široko se primjenjuju u tekstilnoj, farmaceutskoj, prehrambenoj i kozmetičkoj industriji, kao i u industrijama plastike, boja, tinte i papira. Zapravo, gotovo da i ne postoji industrija u kojoj se, u većoj ili manjoj mjeri, koriste sintetska bojila. Procjenjuje se da se u industriji primjenjuje više od 10 000 komercijalno dostupnih bojila te da se godišnje u svijetu proizvede više od 700 000 tona sintetskih bojila (Gürses i sur., 2016).

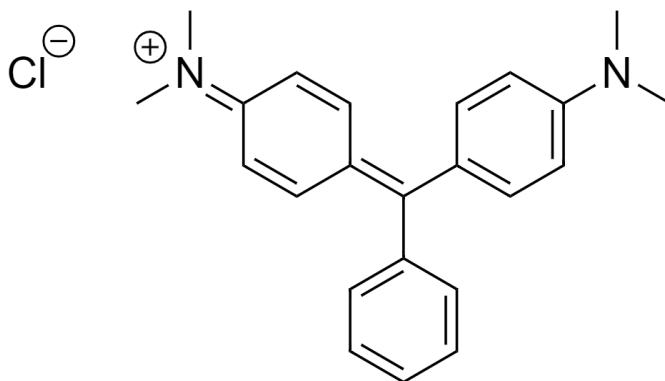
Osnovna podjela bojila temelji se na njihovu podrijetlu, pri čemu se razlikuju prirodna i sintetska bojila. Kroz povijest ljudske civilizacije - biljke, životinje i minerali korišteni su kao prirodni izvori bojila, boja ili pigmenata. Najstariji zapisi o korištenju prirodnih bojila otkriveni su u Kini, a sežu iz vremena 2600. g. p.n.e. Prirodna bojila dobivaju se izolacijom iz različitih biljnih (korijenja, kore, plodova, lišća) i životinjskih sastojaka, ali su na današnjem tržištu rjeđe zastupljeni zbog slabije učinkovitosti i postojanosti u primjeni u odnosu na sintetska bojila. Danas se uglavnom upotrebljavaju za bojenje živežnih namirnica, farmaceutskih i kozmetičkih proizvoda. S druge strane, većina sintetskih bojila su aromatske strukture i organske prirode (benzenski i/ili naftalenski tip) (Gudelj i sur., 2011) te pripadaju skupini ksenobiotika koji su teško biorazgradljivi (Yu i Wen, 2005). Jedno od prvih sintetskih bojila, muavein, poznat kao anilinska ljubičasta otkrio je William H. Perkin 1856. godine (Gürses i sur., 2016). U odnosu na prirodna bojila, jednostavnost i isplativost sintetskih bojila kao i iznimno visoka stabilnost i otpornost na utjecaj temperature, svjetlosti, detergenata te razgradnju pomoću mikroorganizama u konačnici je dovelo do napuštanja upotrebe prirodnih bojila (Couto, 2009).

Kemijsko svojstvo karakteristično za sva bojila je nezasićenost veza u strukturi njihovih molekula. Atomske skupine koje uvjetuju selektivnu apsorpciju svjetlosti, a samim time i obojenost nazivaju se kromoforne skupine. U njih ubrajamo karbonilnu skupinu ($-C=O$), etilensku skupinu ($-C=C-$), nitrozo skupinu ($-N=O$), nitro skupinu ($-NO_2$), azoskupinu ($-N=N-$) i druge koje su najčešće povezane s aromatskim jezgrama. Kromogen je kemijski spoj koji se oboji uvođenjem kromofora, ali kao takav u tehničkom smislu ne sadržava karakteristike bojila. Tek uvođenjem aoksokromne skupine, kojom se postiže vezanje kromogena za materijal, kromogen postaje tehničko bojilo (web 1) . Kako navodi Vujević (2007) neke od najvažnijih aoksokromnih skupina su amino ($-NH_2$), hidroksilna ($-OH$), karboksilna ($-COOH$) i sulfonska ($-SO_3H$) skupina. Prema kemijskoj građi kromoforne skupine razlikuju se azo-bojila,

kao najveća skupina sintetskih bojila, potom nitro-bojila, akridinska, oksazinska, indigoidna, antrakinonska, azinska, tiazinska, stilbenska, sumporna i dr. (Gürses i sur., 2016).

2.1.1. Malahitno zelenilo

4-[[4-(dimetilamino)fenil](fenil)metiliden]-N,N-dimetilcikloheksa-2,5-dien-1-iminijev klorid, poznatiji kao malahitno zelenilo, jedno je od često korištenih organskih bojila. Prvi ga je sintetizirao poznati njemački kemičar H. Fischer 1877. godine kondenzacijom benzaldehida s dimetilanilinom u molarnom omjeru 1:2 uz prisutstvo dehidratacijskog agensa (poput H_2SO_4) (Tewari i sur., 2018). Kada se sintetizira na ovaj način bojilo je prvo prisutno u neutralnom obliku (leuko-malahitno zelenilo ili LMG), te se daljnjom oksidacijom postiže kationski oblik spoja (**slike 1. i 2.**).



Slika 1. Struktura malahitnog zelenila (kationski oblik, kloridna sol).

Kao što je već navedeno, malahitno zelenilo jedno je od najčešće korištenih sintetskih bojila te se koristi u velikom broju raznih industrijskih grana, poput papirne i tekstilne, gdje se koristi za bojenje pamuka, papira, svile, vune i kožnih proizvoda (Sartape i sur., 2017). Osim kao bojilo, ovaj se spoj pokazao korisnim i za druge primjene. U akvakulturi malahitno zelenilo koristi se kao antimikrobni agens, a ujedno i za liječenje parazitskih, fungalnih i bakterijskih infekcija ribe (Wang i sur., 2015). Unatoč svemu, mora se upotrebljavati kontrolirano i vrlo oprezno. Iako se intenzivno koristi i ima široku lepezu primjene, malahitno zelenilo toksično je za životinje, vodene organizme te u konačnici i za ljude. U velikim koncentracijama izaziva akutne reakcije, a nakupljanjem u organizmu kroz određeno vrijeme može oštetiti jetru,

slezenu, bubrege i srce te uzrokovati lezije na koži, očima, plućima i kostima. Također, dokazano je teratogeno djelovanje te štetno djelovanje na živčani sustav i mozak u ljudi (Swan i Zaini, 2019).



Slika 2. Malahitno zelenilo u obliku praha (web 2).

2.2. Utjecaj sintetskih bojila na okoliš i ljudsko zdravlje

Postoji mnogo izvora onečišćenja vode, a mogu se podijeliti na izravne i neizravne. Izravni izvori uključuju otpadne vode iz industrija, rafinerija i postrojenja za obradu otpada, dok neizravni izvori uključuju onečišćujuće tvari koje dospijevaju u vodene ekosustave putem tla, podzemnih voda ili iz atmosfere putem kišnice. Općenito, onečišćujuće se tvari dijele u dvije skupine: organske i anorganske. Organske onečišćujuće tvari obuhvaćaju hlapljive organske spojeve, industrijska otapala, insekticide, pesticide i dr. dok anorganske onečišćujuće tvari uključuju metale, umjetna gnojiva i kiselost uzrokovanu industrijskim nusproizvodima. Većina bojila se ubrajaju u skupinu organskih onečišćujućih tvari te se smatra kako oko dva posto od ukupne količine bojila korištenih u različitim industrijskim procesima završava u otpadnim vodama, odnosno u konačnici u različitim prirodnim recipijentima (Vijayaraghavan i Yun, 2008). Najznačajniji onečišćivač je tekstilna industrija, koja u velikoj mjeri koristi azo-bojila za koja je utvrđeno da su najčešći spojevi koji su okidači alergijskih reakcija kod ljudi, a pokazuju i mutageni te kancerogeni učinak.

Prisutnost bojila u vodenim ekosustavima uzrokuje porast BPK₅ vrijednosti, odnosno dovodi do smanjenja koncentracije kisika u vodenim ekosustavima. Nadalje, prisutnost bojila dovodi

do inhibicije procesa fotosinteze, što posljedično utječe na fotoautotrofne organizme i dovodi do narušavanja prirodne ravnoteže (Venkata Mohan i sur., 2002).

Kako su izrazito stabilne na svjetlu te otporne na mikrobnu razgradnju i izbljeđivanje tijekom ispiranja, sintetska bojila se teško uklanjaju iz otpadnih voda konvencionalnim metodama obrade. Procjenjuje se da se oko 10 posto bojila u procesu bojenja tekstila ne vežu za vlakna te se kao posljedica toga ispuštaju u okoliš. Također neke komponente azo bojila, kao što su benzidin i *p*-fenilandiamin (*p*-PDA) povezuju se s rakom mokraćnog mjehura i alergijskih reakcija kod ljudi koji su bili izloženi azo bojilima putem udisanja, gutanja ili dodira s kožom. Azo bojila se u tijelu procesom biotransformacije prevode u aromatske amine koji su izrazito toksični po čovjeka i sam okoliš. Najznajčajniji biotransformacijski proces je reduktivno cijepanje uz pomoć azo reduktaze, enzima prisutnog u crijevnoj mikroflori (Chung, 2016).

U ovome radu kao bojilo korišteno je malahitno zelenilo za koje je utvrđeno da u velikim koncentracijama štetno djeluje na čovjeka i okoliš. No, uporaba malahitnog zelenila nedvojbeno će se nastaviti s obzirom na njegovu učinkovitost i svestranost primjene, ali se pri korištenju treba biti vrlo oprezan (Alderman, 1985).

2.3. Postupci uklanjanja sintetskih bojila iz otpadnih voda

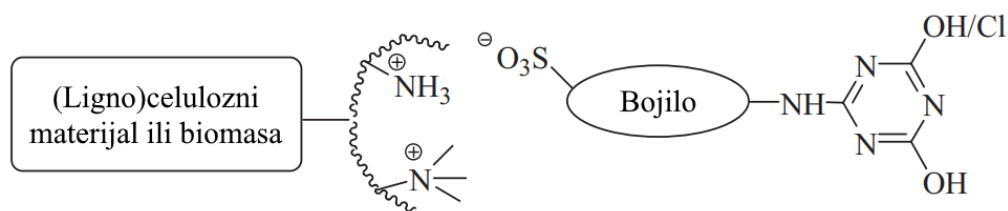
Zbog slabe kontrole, kao i nepostojanja jasno propisanih ograničenja u primjeni te odgovarajuće zakonske regulative u području upravljanja industrijskim otpadnim vodama sa sadržajem bojila, devedesetih godina prošlog stoljeća bojila su se iz otpadnih voda uklanjala samo preliminarnim procesima pročišćavanja (poput egalizacija i sedimentacija), čija je učinkovitost vrlo skromna. Tek nakon što su uspostavljeni standardi te uvedeni zakoni s definiranim dopuštenim granicama za ispuštanja efluenta sa sadržajem bojila iz industrijskih procesa u prirodne recipijente, postignut je napredak u vidu učinkovitijeg uklanjanja bojila iz otpadnih voda industrije (Mezohegyi i sur., 2012). Brojna istraživanja provode se kako bi se pronašla što učinkovitija, ali istovremeno i ekonomična, metoda za uklanjanje bojila iz otpadnih voda. Postojeće metode za uklanjanje bojila iz otpadnih voda mogu se podijeliti u tri kategorije: fizikalne, kemijske i biološke (Rafatullah i sur., 2010) i prikazane su u tablici 1.

Tablica 1. Prednosti i nedostaci pojedinih metoda za uklanjanje bojila iz otpadnih voda (prema Singh i Arora, 2011).

Fizikalne (fizikalno-kemijske) metode	Kemijske metode	Biološke metode
Adsorpcija, koagulacijsko-flokulacijski procesi, sedimentacija, membranski filtracijski procesi (mikrofiltracija, ultrafiltracija, nanofiltracija, reverzna osmoza)	Izravna jednostavna kemijska oksidacija, napredni oksidacijski procesi, fotokataliza, fotokemijska oksidacija, elektrokemijske metode	Aerobni postupci uklanjanja, anaerobni postupci uklanjanja, primjena mikroorganizama (alge, gljive, bakterije, kvasci)
<i>prednosti</i>		
Uglavnom jednostavni procesi, jednostavna primjena u industriji	Brzo i učinkovito uklanjanje, prevođenje molekule bojila u oblike koji nisu štetni za okoliš	Vrlo učinkovito za uklanjanje bojila iz otopina koje su opterćene organskim tvarima, lako rješavanje otpadne biomase
<i>nedostatci</i>		
Često manja učinkovitost u odnosu na kemijske i biološke, molekule bojila ostaju kemijski nepromijenjene te je potrebna daljnja obrada	Zahtijevaju skupe uređaje i kemikalije te kompetentne osobe za rukovanje i skladištenje, korištene kemikalije često same po sebi štetne za okoliš	Ovisnost procesa o broju i aktivnosti primijenjenog mikroorganizma, ovisnost mikroorganizama o koncentraciji kisika (aerobni procesi) u otopini koja se obrađuje

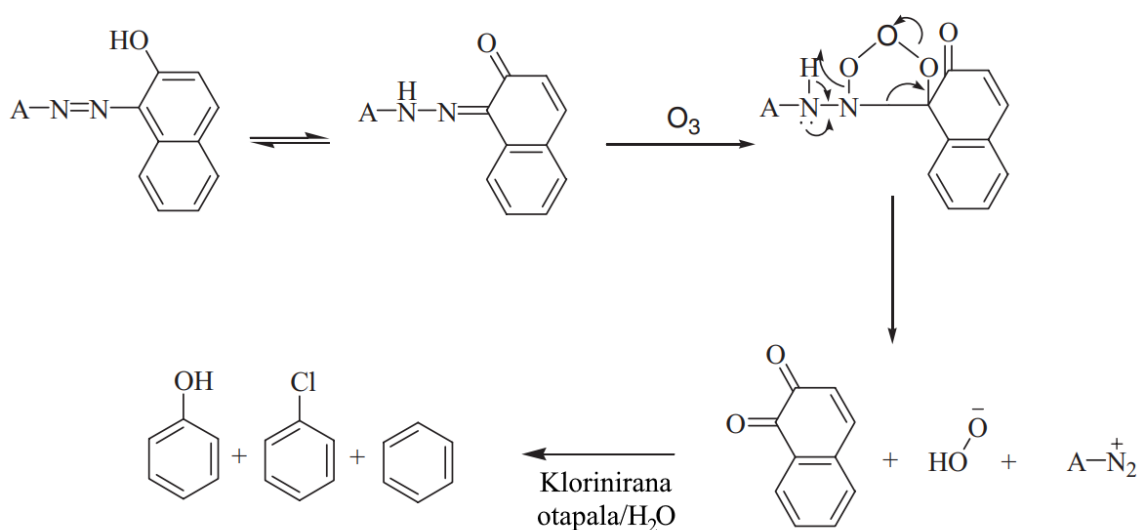
Konvencionalne fizikalne (fizikalno-kemijske) metode uklanjanja bojila iz otpadnih voda su adsorpcija, koagulacija, flokulacija, ionska izmjena, zračenje, membranska filtracija, nanofiltracija, ultrafiltracija te reverzna osmoza. Primjer korištenja kemijski modificirane lignocelulozne biomase kao jeftinog alternativnog adsorbensa prikazan je na slici 3. Fizikalne (fizikalno-kemijske) metode najčešće se upotrebljavaju, jer zahtijevaju najmanje kemikalija te jednostavnije za primjenu u odnosu na druge metode. Relativno su jeftine, pri čemu porast u

cijeni prati povećanje specifičnosti i učinkovitosti samog procesa pročišćavanja (Katheresan i sur., 2018).



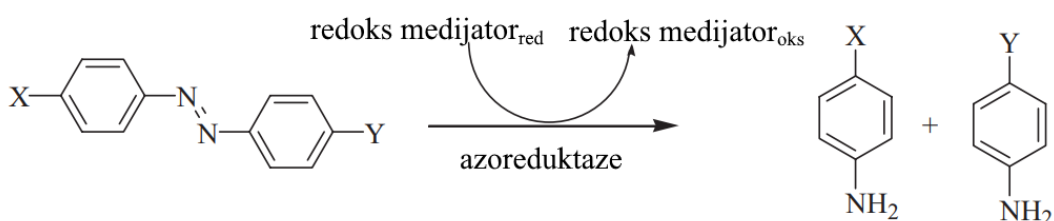
Slika 3. Mehanizam vezanja bojila na lignocelulozni materijal modificiran kvaternizacijom (prema Singh i Arora, 2011).

Konvencionalne kemijske metode za uklanjanja bojila iz otpadnih voda uključuju napredne oksidacijske procese, elektrokemijsku degradaciju, Fentonov proces, tretiranjem ozonom (mehanizam prikazan na slici 4.), fotokatalitičku i/ili fotokemijsku degradaciju te tretiranje iradijacijom (Katheresan i sur., 2018). Većina kemijskih metoda uklanjanja bojila iz otpadnih voda skupa su u usporedbi s biološkim i fizikalnim metodama, te su ujedno i komercijalno neprivačne, zahtijevaju skupu, kompliciranu opremu i potrošnju velike količine energije. Također, javlja se i problem nastanka toksičnih nusprodukata što dovodi u pitanje korist samog procesa uklanjanja bojila (Wang i sur., 2018).



Slika 4. Mehanizam degradacije bojila primjenom oksidacije ozonom (prema Singh i Arora, 2011).

Biološke metode za uklanjanje bojila iz otpadnih voda, uključuju primjenu aerobnih i anaerobnih mikroorganizama, poput bakterija i gljiva, pri čemu su tri mehanizma kojima se bojilo uklanja biosorpcija, bioakumulacija i biorazgradnja pomoću enzima (primjer vidljiv na slici 5.) (Al-Alwani i sur., 2017). Glavno ograničenje bioloških metoda je brzina rasta mikroorganizama koji se koriste u procesu pročišćavanja otpadne vode, a na koju utječu različiti čimbenici poput temperature, pH, prisutnosti inhibitornih spojeva, koncentracija otopljenog kisika (aerobi) i sl. (Katheresan i sur., 2018).

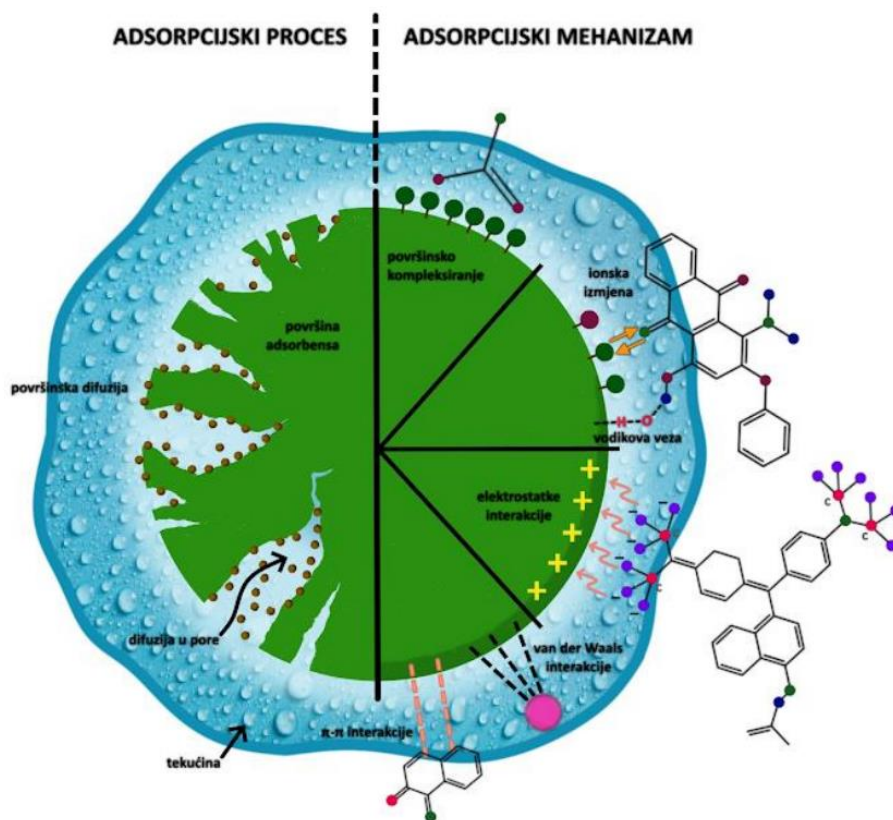


Slika 5. Redukcija azo bojila korištenjem bakterija uz pomoć enzima azoreduktaze (prema Singh i Arora, 2011).

2.3.1. Adsorpcija i biosorpcija

Adsorpcija je fizikalni, kemijski ili kombinirani proces koji se odvija se na granici između dviju faza, a podrazumijeva prijenos ili nakupljanje čestica plina ili tekućine – adsorbata, na površinu nekog, najčešće krutog materijala – adsorbensa (Yagub i sur., 2014). U većini slučajeva, ovaj se proces opisuje u ravnotežnom stanju pomoću matematičkih modela i jednadžbi koje kvantificiraju količinu adsorbata vezanu na površinu adsorbensa u odnosu na koncentraciju adsorbata prisutnu u otopini (Artioli, 2008). U konačnici, dobivamo grafički prikaz – adsorpcijske izoterme – koje prikazuju ravnotežni odnos između količine adsorbata i tlaka ili koncentracije adsorbata u otopini pri konstantnoj temperaturi (Dabrowski, 2001). Kako je prethodno navedeno, proces adsorpcije može se podijeliti u dvije glavne kategorije: fizikalnu adsorpciju i kemijsku adsorpciju. Do fizikalne adsorpcije (fizisorpcije) dolazi zbog međumolekulskih sila (npr. van der Waalsovih sila), a kako su ove vrste veza relativno slabe struktura molekula adsorbata gotovo se ne mijenja, energija adsorpcije je niska, a adsorbirana tvar se lako ponovno odvaja s površine adsorbensa, odnosno desorbira (Hu i Xu, 2020). S druge

strane kemijska adsorpcija (kemisorpciju) koju karakterizira stvaranje jakih kemijskih veza, odnosno značajna izmjena elektronske gustoće, između molekula adsorbensa i adsorbata. Kemijske veze koje nastaju u procesu kemisorpcije leže bilo gdje na spektru od potpuno ionskog do potpuno kovalentnog karaktera. Iz razloga što proces kemijske adsorpcije podrazumijeva stvaranje i razaranje kemijskih veza, za ovaj tip adsorpcije (ili desorpcije) potrebno je puno više energije u odnosu na fizikalnu adsorpciju. Međutim, fizikalna i kemijska adsorpcija nisu izolirane pojave te se često u prirodi javljaju zajedno. U tehnologiji pročišćavanja otpadnih voda, primjerice, veliki udio adsorpcijskih procesa je rezultat nekoliko mehanizama ili kombinacija različitih adsorpcijskih procesa (slika 6.) (Hu i Xu, 2020). Adsorpcija se, za razliku od ostalih tehnika za uklanjanje teško biorazgradljivih onečišćujućih tvari (poput bojila) iz otpadnih voda, pokazala kao bolja i jednostavnija opcija prvenstveno u pogledu cijene, jednostavnosti dizajna, lakoće rada i neosjetljivosti na toksične spojeve i nusprodukte (Khalaf, 2008).



Slika 6. Adsorpcijski mehanizmi kod uklanjanja sintetskih bojila iz otpadnih voda (slika prema Dutta i sur., 2021).

Biosorpcija

Jedna od podvrsta adsorpcije jest biosorpcija. Ona se može definirati kao uklanjanje ili vezivanje ciljanih tvari (adsorbata) iz vodene otopine korištenjem različitih materijala biološkog podrijetla kao adsorbensa (u tom slučaju koristi se naziv „biosorbens“). Biološki materijali korišteni za biosorpciju mogu biti organski ili anorganski te mogu biti u vodenim otopinama prisutni u čvrstom (netopljivom) obliku ili otopljeni (Michalak i sur., 2013). Mikrobna biomasa raznih mikroorganizama, biljna i životinjska biomasa i njihovi derivati i dalje izazivaju veliko zanimanje istraživača kao potencijalni biosorbensi u raznim biosorpcijskim procesima (Volesky B, 2003). Posljednjih godina sve je veća pozornost usmjerena na korištenje otpadnih materijala, posebno otpadne lignocelulozne biomase iz poljoprivredno-prehrambene proizvodnje (Witek-Krowiak i sur., 2013).

Kada se govori o biosorpciji kao podvrsti adsorpcije, ona je definirana kao pasivan i metabolički neovisan proces, npr. pasivno uklanjanje metala ili bojila vezanjem na površinu inaktivne mikrobne biomase. U odnosu na biosorpciju, pojam koji se često vezuje uz primjenu žive mikrobne biomase kao biosorbensa je bioakumulacija. Bioakumulacija, kao i biorazgradnja (biodegradacija) nužno uključuju korištenje živih stanica mikroorganizama za uklanjanje onečišćujućih tvari aktivnim metaboličkim transportom i/ili razgradnjom (Gadd, 2009).

Kod uklanjanja bojila iz otpadnih voda biosorpcijom, prednost u odnosu na korištenje konvencionalnih adsorbensa mogu biti manji troškovi samog procesa, jer se često koriste otpadni materijali kao biosorbensi. Također, biosorpcija se pokazala kao tehnika kojom se može ukloniti velik broj različitih onečišćujućih tvari – od teških metala do sintetskih bojila. Njezina neselektivnost je u nekim slučajevima prednost, dok u drugim slučajevima može biti i nedostatak. Brzina procesa biosorpcije i količina onečišćujuće tvari koja se može ukloniti po jedinici mase bisorbensa također je velika prednost (Vijayaraghavan i Yun, 2008). Sve ovo upućuje na to da je biosorpcija nedvojbeno važan proces u području industrijske i okolišne biotehnologije, primjenjiv i u konvencionalnim procesima obrade otpada i otpadnih voda. Iako je dugo predlagana kao jeftina i učinkovita tehnologija, do danas je imala izuzetno ograničenu industrijsku primjenu, čak i kao dodatan vid obrade nakon primijenjenih konvencionalnih metoda obrade u hibridnim tehnologijama. Kako se biosorpcija sve više istražuje i razvija, za očekivati je kako će se, osim u istraživačkim laboratorijima, sve više primjenjivati i u industriji kao izvrsna alternativa ili dodatak postojećim tehnologijama obrade (Gadd, 2009).

2.3.2. Inaktivna biomasa gljiva kao biosorbens

Za razliku od konvencionalnih adsorbensa poput aktivnog ugljena, zeolita te silikatnih i aluminijskih gelova, inaktivna mikrobnna biomasa različitih vrsta bakterija, gljiva ili mikroalgi posljednjih se godina intenzivno istražuje kao potencijalni biosorbensi te velik broj znanstvenih radova potvrđuje kako bi baš ova vrsta bioloških materijala mogla predstavljati izvrsnu alternativu postojećim konvencionalnim (i često skupim) adsorbensima. Ozer i suradnici (2005) u literaturnom pregledu navode kako je inaktivna biomasa različitih vrsta gljiva pokazala impresivno velike adsorpcijske kapacitete za uklanjanje niza onečišćujućih tvari, poput teških metala i sintetskih bojila. Puchana-Rosero i suradnici (2016.) navode kako je uklanjanje bojila inaktivnom biomasom mikroorganizama podjednako ili u nekim slučajevima čak i učinkovitije u odnosu na metabolički-zavisno uklanjanje (razgradnju) bojila korištenjem aktivne biomase tj. živih mikroorganizama. Taha i sur. (2014) u svome su radu pokazali da je biomasa termofilne gljive *T. indicae-seudaticae* bila učinkovita za uklanjanje mješavine azo–antrakvinona pri koncentracijama bojila od 100, 500 i 1000 mg/L pri 30-55 °C, pri čemu je postotak uklanjanja bojila iznosio do 75% . Puchana-Rosero i suradnici (2016) pokazali su kako je toplinski inaktivirana biomasa gljive *Trametes sp. SC-10* vrlo učinkovit biosorbens u procesu biosorpcije bojila AB-161, uz maksimalni biosorpcijski kapacitet od 221,7 mg/g. Učinkovitost biosorpcije u simuliranom efluentu po sastavu sličnom otpadnoj vodi iz procesa proizvodnje kože bila je približno 89,47%.

Ganoderma applanatum

U ovom diplomskom radu ispitana je mogućnost korištenja inaktivne otpadne biomase gljive *G. applanatum* za uklanjanje malahitnog zelenila iz modelnih otopina bojila i iz sintetske otpadne vode s dodatkom bojila

Ganoderma applantum je gljiva stapčarka koja se prema taksonomiji svrstava u razred bazidiomiceta, također poznata kao „umjetnikova gljiva“ (artist's conk) ili medvjedi kruh, vrlo je česta, višegodišnja, drvenasta gljiva, široko rasprostranjena u gotovo svim umjerenim i suptropskim šumama svijeta, od Sjeverne Amerike i Europe do Afrike i Azije. Obično se pojavljuje pojedinačno ili u skupinama, na bjelogoričnom drveću, što je njezino specifično

stanište (slika 7.). S obzirom da se ubraja u razlagače, također raste na trupcima i panjevima odumrlog drveća te na taj način pridonosi mineralizaciji organskog otpada (Klaus i sur., 2016).

Koristila se od davnina, u razne svrhe. Njenim paljenjem, dobivao se snažan repelent protiv komaraca, što je bilo izrazito cijenjeno u suptropskim krajevima, a i danas se ponegdje prakticira isto (web 3). Od davnina je poznata u istočnjačkoj medicini. Poznato je da se njezino plodište u tradicionalnoj kineskoj medicini koristi za liječenja raka, ali njezina ljekovita svojstva uključuju i antitumorski, antivirusni, imunomodulatorni učinak (Lee i sur., 2006; Jeonng i sur., 2008; Luo i sur., 2015). Uz navedena svojstva, ostali ljekoviti učinci pripisuju se širokom spektru bioaktivnih komponenti kao što su polisaharidi, triterpeni, steroli, lektini i drugi proteini (Elkhateeba i sur., 2018).

Otpadna inaktivna biomasa ove gljive korištena u ovom radu zaostala je u obliku filtracijskog kolača nakon ekstrakcije biološki aktivnih tvari iz plodišta gljive.



Slika 7. Ganoderma applanatum na kori drveta (web 4).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Zadatak

Cilj rada bio je istražiti mogućnost uklanjanja kationskog bojila malahitnog zelenila iz vode biosorpcijom na otpadnu inaktivnu biomasu gljive *Ganoderma applanatum*. Učinkovitost uklanjanja malahitnog zelenila ispitana je kao funkcija koncentracije biosorbensa, vremena biosorpcije, početne koncentracije bojila te pH vrijednosti modelnih otopina bojila.

3.2. Materijali i metode

3.2.1. Kemikalije

Kemikalije korištene u ovome radu:

- malahitno zelenilo oksalat, Merck, Njemačka
- NaOH (natrijev hidroksid), Kemika d.d., Hrvatska
- HCl (kloridna kiselina), Kemika d.d., Hrvatska
- NaCl (natrijev klorid), Kemika d.d., Hrvatska
- Pepton, Biolife, Italija
- Ekstrakt mesa, Merck, Njemačka
- $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (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

3.2.2. Instrumenti

Instrumenti korišteni u ovome radu:

- 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 KS 260 basic, IKA Labortechnik, Njemačka
- spektrofotometar, LLG-uniSPEC 2, LLG-Labware, Njemačka
- laboratorijski pH metar Seven Easy, MettlerToledo, SAD
- magnetska termostatska miješalica, MR 3001, Heidolph, Njemačka

3.2.3. Biosorbens

Kao biosorbens u ovome radu upotrijebljena je otpadna inaktivna biomasa gljive *Ganoderma applanatum* (iz privatne zbirke Institute for Applied Mycology and Biotechnology, Celje, Slovenija) dobivena nakon ekstrakcije biološki aktivnih spojeva iz osušenog i usitnjenog plodišta gljive. Plodište gljive osušeno je i usitnjeno na veličinu čestica manju od 1,5 mm. 100 g osušenog i usitnjenog plodišta macerirano je u etanolu pri 20 °C i vremenu od 12 h. Nakon završene maceracije sadržaj je homogeniziran i profiltriran upotrebom vakuum nuč-filtra. Filtracijski kolač zatim je ispran s 20 L etanola, osušen, izvagan i dodan u 10 L destilirane vode. Sadržaj je zatim homogeniziran i autoklaviran na 121 °C i 1 bar te je po završetku sterilizacije provedena je filtracija korištenjem filter papira sa staklenim vlaknima (veličine pora 100 μm). Zaostali filtracijski kolač osušen je i ponovno usitnjen na laboratorijskom mlinu kako bi se mogao koristiti za daljnja istraživanja.



Slika 8. Otpadna inaktivna biomasa gljive G. applanatum u obliku filtracijske pogače prije mljevenja te nakon mljevenja.

3.2.4. Priprema modelnih otopina bojila (adsorbata)

Modelna otopina bojila koncentracije iznosi 1 mg/L pripremljena je otapanjem 1 g malahitnog zelenila u 1 L demineralizirane vode, a zatim su razrjeđivanjem s demineraliziranom vodom dobivene masene koncentracije modelnih otopina koncentracija 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 40 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L i 100 mg/L.

3.2.5. Priprema sintetske otpadne vode s dodatkom bojila

Sintetska otpadna voda pripremljena je otapanjem sljedećih kemikalija i sastojaka u demineraliziranoj vodi (prema smjernicama OECD 302B): pepton (160 mg/L), ekstrakt mesa (110 mg/L), urea (30 mg/L), K_2HPO_4 (28 mg/L), NaCl (7 mg/L), $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (4 mg/L) i $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (2 mg/L). Sintetska otpadna voda s dodatkom bojila (10 mg/L - 100 mg/L) dobivena je dodatkom standardne otopine bojila u sintetsku otpadnu vodu.

3.2.6. Šaržni adsorpcijski eksperimenti

Za ispitivanje adsorpcijskih svojstava otpadne inaktivne biomase gljive *G. applanatum* provedeni su šaržni adsorpcijski eksperimenti. Određena masa biomase gljive te 50 mL otopine bojila poznate masene koncentracije dodane su u Erlenmeyerovu tikvicu od 100 mL. U termostatiranu tresilicu postavljene su tikvice na temperaturu 25 °C, pri brzini miješanja od 150 okr/min i vremenu od 120 min, zbog postizanja ravnotežnog stanja (izuzev za istraživanje utjecaja vremena biosorpcije te početne koncentracije biosorbensa). Nakon što je proces biosorpcije završen, iz tresilice su izvađene tikvice te je postupkom filtracije otopina adsorbata odvojena od biosorbensa. Filtrat je zatim centrifugiran na 6000 okr/min u trajanju od 5 minuta. Nakon centrifugiranja mjerene su apsorbancije filtrata na valnoj duljini od 623 nm te je koncentracija malahitnog zelenila izračunata korištenjem kalibracijske krivulje ($y = 0,1967 \cdot x - 0,108$).

Postotak uklanjanja bojila izračunat je pomoću slijedeće formule :

$$\% \text{ uklanjanja bojila} = \frac{(y_0 - y)}{y_0} \cdot 100$$

gdje su y_0 i y početna i konačna masena koncentracija bojila (mg/L).

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

$$q_t = \frac{y_0 - y_t}{m \cdot V}$$

gdje je q_t količina bojila adsorbirana po jedinici mase biosorbensa u vremenu t (mg/g), y_0 i y_t su početna masena koncentracija bojila i koncentracija nakon vremena t (mg/L), m je masa biosorbensa (g), a V volumen otopine bojila (L).

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

Utjecaj masene koncentracije biosorbensa

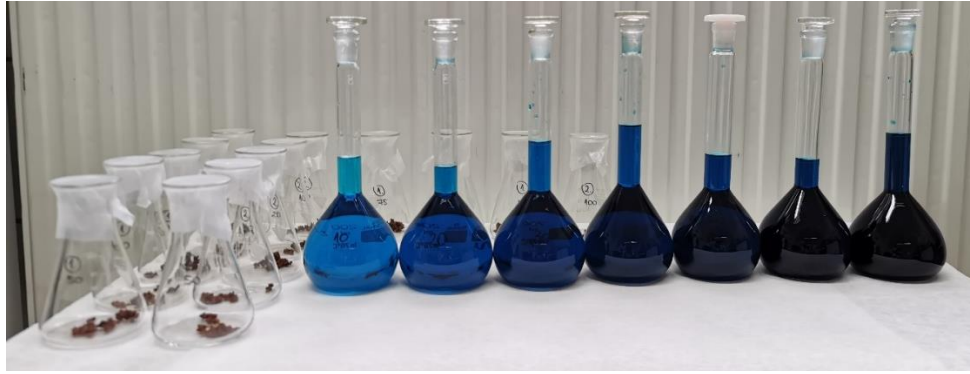
Utjecaj masene koncentracije biosorbensa na uklanjanje bojila ispitan je pri koncentracijama biosorbensa u rasponu od 0,5 g/L do 5 g/L tijekom 24 h. Ostali eksperimentalni uvjeti bili su: $\gamma_{\text{bojila}} = 50$ mg/L, $\theta = 25$ °C, brzina miješanja 150 okr/min.

Utjecaj vremena biosorpcije (kontakta između biosorbensa i adsorbata)

Utjecaj vremena biosorpcije ispitan je u vremenskim intervalima od $t = 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 20, 25, 30, 60, 90$ i 120 minuta pri koncentracijama bojila od 10 mg/L, 50 mg/L i 100 mg/L. Ostali eksperimentalni uvjeti bili su: $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1$ g/L, $\theta = 25$ °C, brzina miješanja 150 okr/min.

Utjecaj početne koncentracije bojila

Utjecaj početne koncentracije bojila na proces biosorpcije ispitan je pri početnim masenim koncentracijama bojila od 10 mg/L, 20 mg/L, 30 mg/L, 40 mg/L, 50 mg/L, 75 mg/L i 100 mg/L pri temperaturi 25 °C (slika 9.). Ostali eksperimentalni uvjeti bili su: $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1$ g/L, $t = 120$ min, $\theta = 25$ °C, brzina miješanja 150 okr/min.



Slika 9. Biosorbens i otopine bojila za ispitivanje utjecaja početne koncentracije bojila.

Utjecaj pH modelne otopine bojila

Utjecaj pH vrijednosti na proces biosorpcije ispitan je u rasponu pH vrijednosti od 4 do 10. Vrijednosti pH modelnih otopina bojila podešavane su s 0,01 mol/dm³ otopinom NaOH i 0,01 mol/dm³ otopinom HCl. Ostali eksperimentalni uvjeti bili su kako slijedi: $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $y_{\text{biosorbensa}} = 1 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 120 \text{ min}$, brzina miješanja 150 okr/min.

Adsorpcija bojila na biosorbens iz sintetske otpadne vode

Adsorpcija je ispitana pri masenim koncentracijama bojila $y_{\text{bojila}} = 10 \text{ mg/L}$, 20 mg/L , 30 mg/L , 40 mg/L , 50 mg/L , 75 mg/L i 100 mg/L , $y_{\text{biosorbensa}} = 1 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 120 \text{ min}$, brzina miješanja 150 okr/min.

3.2.7. Ravnotežne adsorpcijske izoterme

Langmuirov ravnotežni adsorpcijski model matematički je prikazan sljedećom jednačbom:

$$q_e = q_m \cdot KL \cdot y_e / 1 + KL \cdot y_e$$

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

Freundlichov ravnotežni adsorpcijski model matematički je prikazan sljedećom jednačbom:

$$q_e = K_f y_e \cdot 1/n$$

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

3.2.8. Kinetički modeli

Model pseudo-prvog reda opisan je jednadžbom:

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

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

Model pseudo-drugog reda opisan je jednadžbom:

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

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

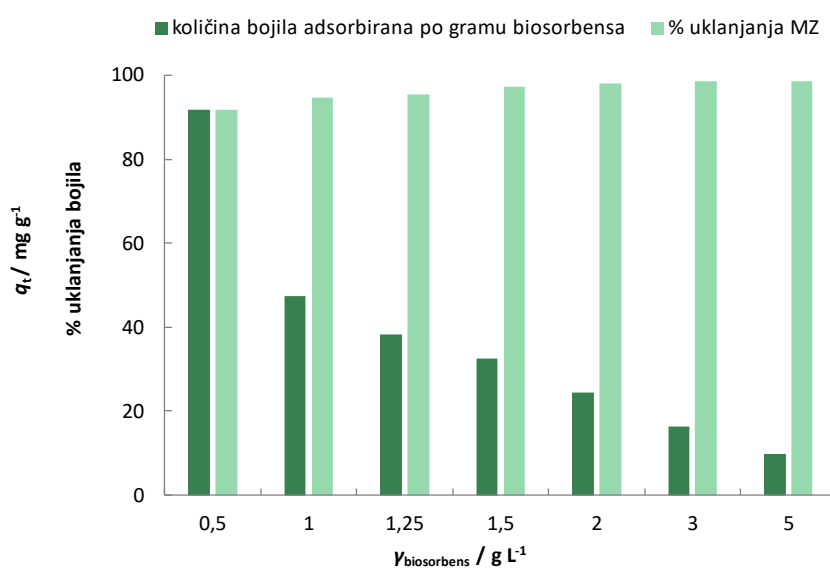
3.2.9. Obrada rezultata

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 malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*

Prilikom istraživanja adsorpcijskih svojstava adsorbensa (biosorbensa) potrebno je odrediti njegovu optimalnu koncentraciju koja će se koristiti u daljnjim eksperimentima. U ovom istraživanju provedeni su šaržni adsorpcijski eksperimenti, pri čemu su ispitane masene koncentracije biosorbensa iznosile od 1 g/L do 5 g/L, uz ostale eksperimentalne uvjete kako slijedi: $\gamma_{\text{bojilo}} = 50 \text{ mg/L}$, $t = 24 \text{ h}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$. Dobiveni rezultati prikazani su na slici 10.



Slika 10. Utjecaj koncentracije inaktivne biomase *G. applanatum* (biosorbensa) na količinu adsorbiranog bojila po gramu biosorbensa i postotak uklanjanja bojila ($\gamma_{\text{bojilo}} = 50 \text{ mg/L}$; $t = 24 \text{ h}$; $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$; $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

Iz slike 10. je vidljivo kako je povećanje koncentracije biosorbensa od 0,5 g/L do 5 g/L dovelo do smanjenja količine bojila adsorbirane po masi biosorbensa od 91,76 mg/g do 9,87 mg/g te do povećanja postotka uklanjanja bojila od 91,76% do 98,65%. Na proces adsorpcije, koncentracija adsorbensa ima znatan utjecaj, jer se njezinim porastom povećava kontaktna površina, odnosno broj adsorpcijskih mjesta dostupnih za vezanje adsorbata. Ovo utječe na povećanje postotka uklanjanja bojila. Istovremeno, količina bojila adsorbirana po gramu

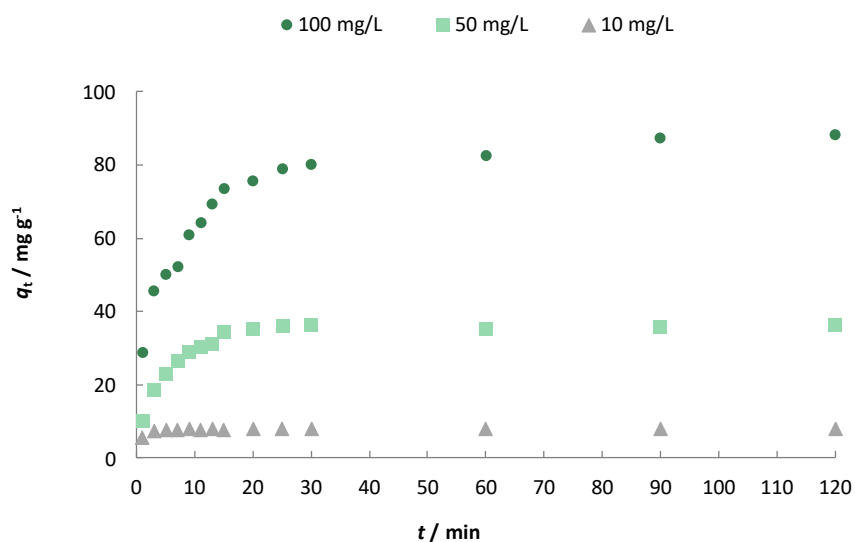
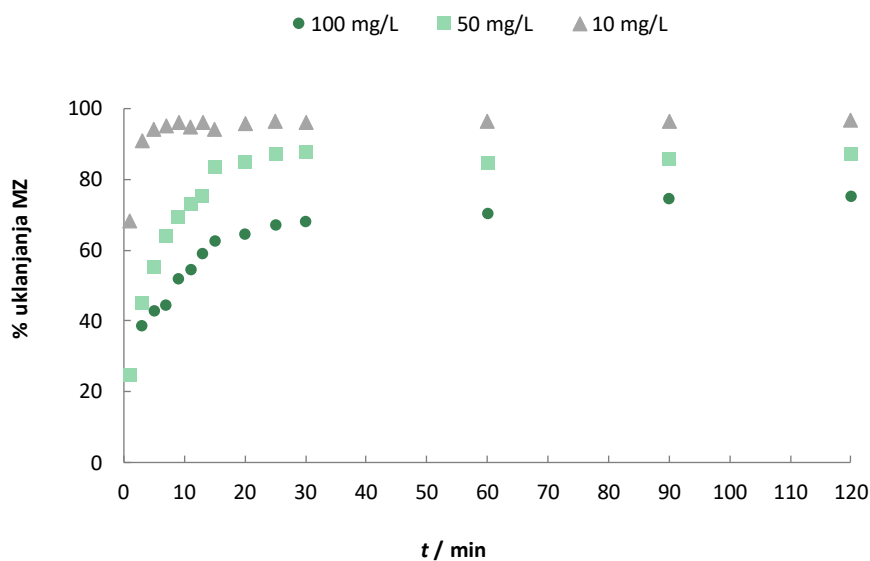
biosorbensa smanjuje se povećanjem koncentracije biosorbensa (za istu početnu koncentraciju bojila), jer je sada za istu količinu bojila (adsorbata) dostupno puno više adsorpcijskih mjesta za vezivanje. Dobiveni rezultati u skladu su s istraživanjima drugih autora koji su koristili inaktivnu biomasu različitih gljiva za uklanjanje sintetskih bojila poput kristal violeta (Grassi i sur., 2019) ili kongo crvenila (Yang i sur., 2020).

Za daljnja istraživanja odabrana je koncentracija biosorbensa od 1 g/L, kao optimalna koncentracija pri kojoj se istovremeno postiže velik postotak uklanjanja bojila te se zadovoljavajuća količina bojila adsorbira po gramu biosorbensa.

4.2. Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i bojila (adsorbata) na biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*

Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i adsorbata na proces biosorpcije ispitan je za koncentracije bojila 10 mg/L, 50 mg/L i 100 mg/L u vremenskim intervalima 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 20, 25, 30, 60, 90 i 120 min. Ostali eksperimentalni uvjeti bili su kako slijedi : $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1 \text{ g/L}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, brzina miješanja 150 okr/min. Dobiveni rezultati prikazani su na slici 11.

Iz slike 11. može se vidjeti kako je do uspostavljanja ravnotežnog stanja prilikom uklanjanja malahitnog zelenila iz modelnih otopina bojila najbrže došlo pri ispitivanoj koncentraciji bojila od 10 mg/L koje je ostvareno gotovo na samom početku procesa. Nadalje, pri ispitivanoj koncentraciji bojila od 50 mg/L ravnotežno stanje uspostavljeno je u vremenu od 60 min, dok je pri ispitivanoj koncentraciji bojila od 100 mg/L do uspostavljanja ravnotežnog stanja došlo tek nakon 90 min. Također je vidljivo da je tijekom prvih 30 min procesa u sva tri slučaja uklanjanje bojila bilo brzo, a u kasnijim fazama eksperimenta uklanjanje je bilo sve sporije do postizanja ravnoteže. Brzo uklanjanje bojila tijekom prvih 30 min procesa je očekivano zbog većeg broja slobodnih adsorpcijskih mjesta dostupnih za vezanje bojila dok je u kasnijim fazama eksperimenta broj dostupnih mjesta manji budući da je dio adsorpcijskih mjesta već zauzet bojiлом te se samim time i brzina uklanjanja bojila smanjuje (Wanyonyi i sur., 2014).



Slika 11. Utjecaj vremena kontakta između biosorbensa i bojila (adsorbata) na postotak uklanjanja bojila (A) i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa (B) ($\gamma_{\text{bojilo}} = 10 - 100 \text{ g/L}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1 \text{ g/L}$, $\Theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

Očekivano je najveći postotak uklanjanja bojila dobiven pri najmanjoj ispitanoj koncentraciji bojila, dok je najveća količina adsorbiranog bojila po gramu biosorbensa zabilježena pri najvećoj ispitanoj koncentraciji bojila. Bouras i suradnici (2021) koristili su inaktivnu biomasu plijesni *Aspergillus parasiticus* CBS 100926(T) za uklanjanje malahitnog zelenila iz vodenih

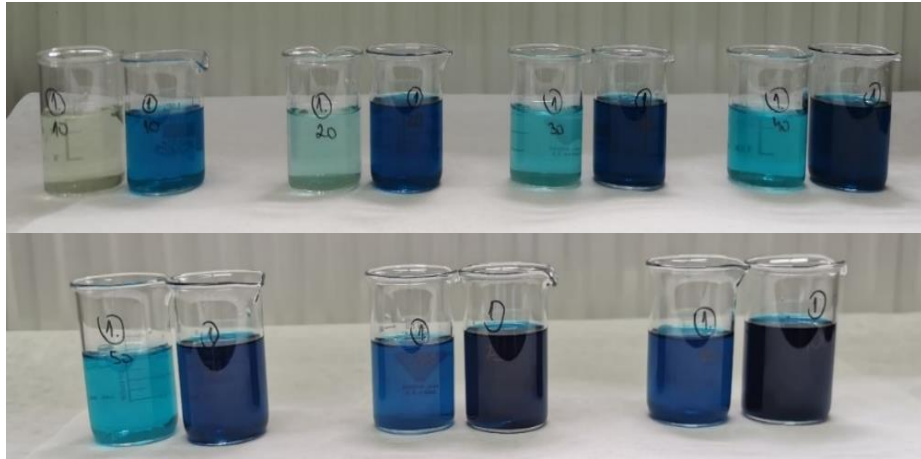
otopina, pri čemu je također pri najmanjoj ispitanoj koncentraciji bojila od 10 mg/L ravnotežno stanje postignuto gotovo trenutno. Nadalje, Argumedo-Delira i suradnici (2021) za uklanjanje malahitnog zelenila iz vodenih otopina koristili su inaktivnu biomasu gljiva *Trichoderma virens* i *T. viride* te je također je došlo do uspostavljanja ravnotežnog stanja već nakon 90 min.

Daljnijim provođenjem procesa biosorpcije do vremena od 1440 min (24 h) nije došlo do značajne promjene postotka uklanjanja malahitnog zelenila. U konačnici za nastavak istraživanja odabrano je vrijeme kontakta biosorbensa i adsorbata od 120 min kako bi se u svim daljnjim eksperimentima osiguralo postizanje ravnotežnog stanja.

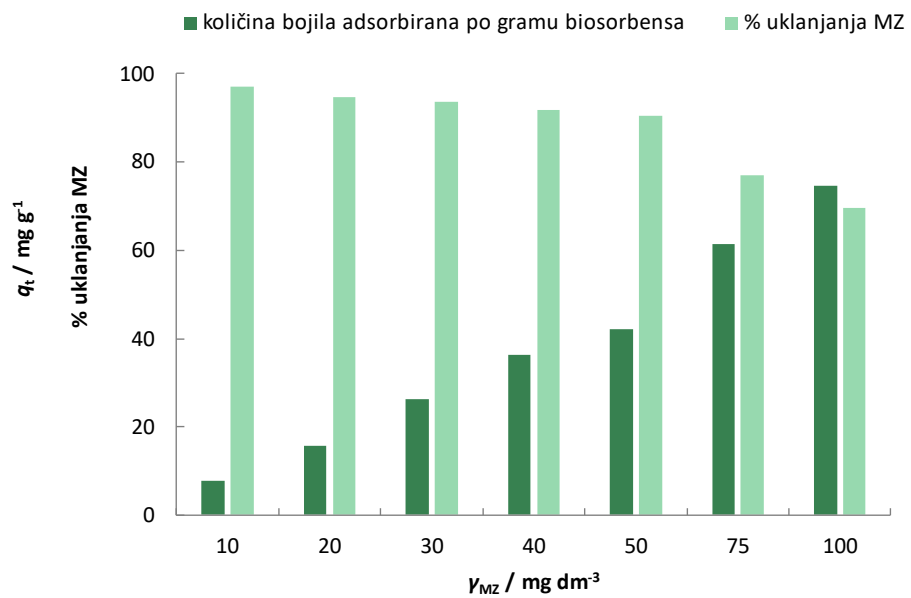
4.3. Utjecaj početne koncentracije bojila na biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*

Utjecaj početne koncentracije bojila na proces biosorpcije ispitan je pri masenim koncentracijama bojila od 10 mg/L do 100 mg/L pri čemu su ostali eksperimentalni uvjeti bili kako slijedi: $\gamma_{\text{biosorbensa}} = 1 \text{ g/L}$, $t = 120 \text{ min}$, $\Theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, brzina miješanja 150 okr/min. Dobiveni rezultati su prikazani na slici 12.

Iz slike 12. je vidljivo kako se povećanjem početne koncentracije bojila od 10 mg/L do 100 mg/L postotak uklanjanja bojila smanjuje od 97,19% do 69,50%. S druge strane, količina bojila adsorbirana po gramu biosorbensa kontinuirano se povećava od 7,79 mg/g do 74,64 mg/g, na osnovu čega se može zaključiti kako je proces uklanjanja malahitnog zelenila iz vodenih otopina biosorpcijom na inaktivnu biomasu *G. applanatum* ovisan o koncentraciji bojila. Istraživanja drugih autora koji su također koristili inaktivnu biomasu gljiva za uklanjanje bojila poput kristal violeta (Grassi i sur., 2019), kongo crvenila (Yang i sur., 2019) i metilenskog modrila potvrđuju rezultate dobivene ovim istraživanjem.



A



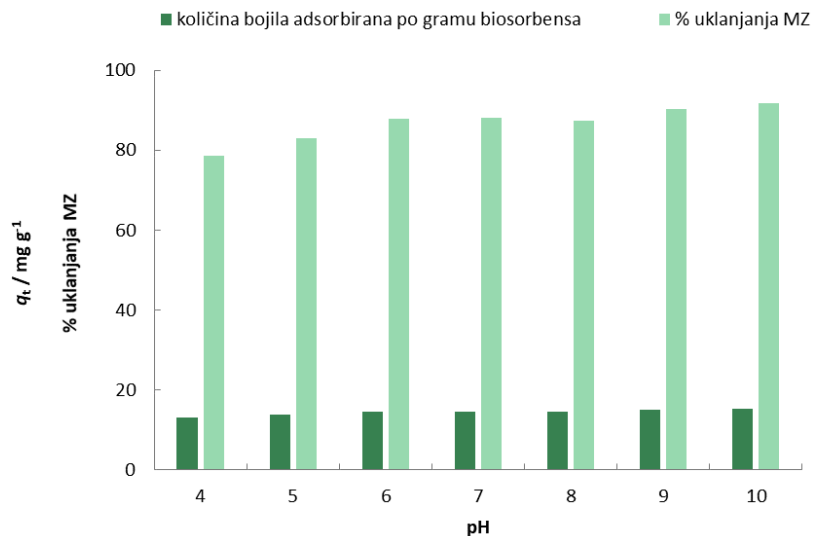
B

Slika 12. Izgled otopina bojila nakon završene biosorpcije (A) i utjecaj početne koncentracije bojila na postotak uklanjanja bojila i količinu bojila adsorbiranu po gramu biosorbensa (B) ($\gamma_{\text{biosorbens}} = 1 \text{ g/L}$, $t = 120 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

4.4. Utjecaj pH modelne otopine bojila na biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*

Utjecaj pH vrijednosti modelne otopine bojila na proces biosorpcije ispitan je za pH područje od 4 do 10, dok su ostali eksperimentalni uvjeti bili: $V_{\text{otopine bojila}} = 50 \text{ mL}$, $\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 3 \text{ g/L}$, $t = 180 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $V_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$. Utjecaj pH otopine bojila na postotak uklanjanja bojila te količinu bojila adsorbiranu na po gramu biosorbensa prikazan je na slici 13.

S obzirom da može utjecati na promjenu aktivnog mjesta biosorbensa te promjenu naboja molekule bojila, početna pH vrijednost modelne otopine bojila ima značajan utjecaj na proces biosorpcije (Crini i sur., 2007). Pri pH 10 postignuta je najveća vrijednost postotka uklanjanja bojila od 91,78 % te je najveća količina bojila adsorbirana po gramu biosorbensa i iznosila je od 15,30 mg/g. Pri pH 4 postignuta je najmanja vrijednost postotka uklanjanja bojila te je najmanja količina bojila adsorbirana po gramu adsorbensa (78,62% i 13,10 mg/g). Dobiveni rezultati potvrđuju tvrdnju Chanzu i suradnika (2019) kako se kationska bojila, u koja se ubraja i malahitno zelenilo, natječu za adsorpcijska mjesta s H^+ ionima pri manjim pH vrijednostima, što negativno utječe na proces adsorpcije. Kationska bojila se, dakle, učinkovitije uklanjaju pri većim pH vrijednostima sustava u kojima se odvija adsorpcija, što je u skladu s rezultatima dobivenim ovim istraživanjem. Razlike u postotku uklanjanja, kao i u količini bojila adsorbiranoj po gramu biosorbensa u pH području od 6 do 10 nisu bile velike.



Slika 13. Utjecaj pH vrijednosti na količinu uklonjenog malahitnog zelenila i postotak uklanjanja biosorpcijom na inaktivnu biomasu *G. applanatum* ($\gamma_{\text{biosorbens}} = 1 \text{ g/L}$, $t = 120 \text{ min}$, $\theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $V_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

4.5. Adsorpcijske izoterme i kinetika adsorpcije

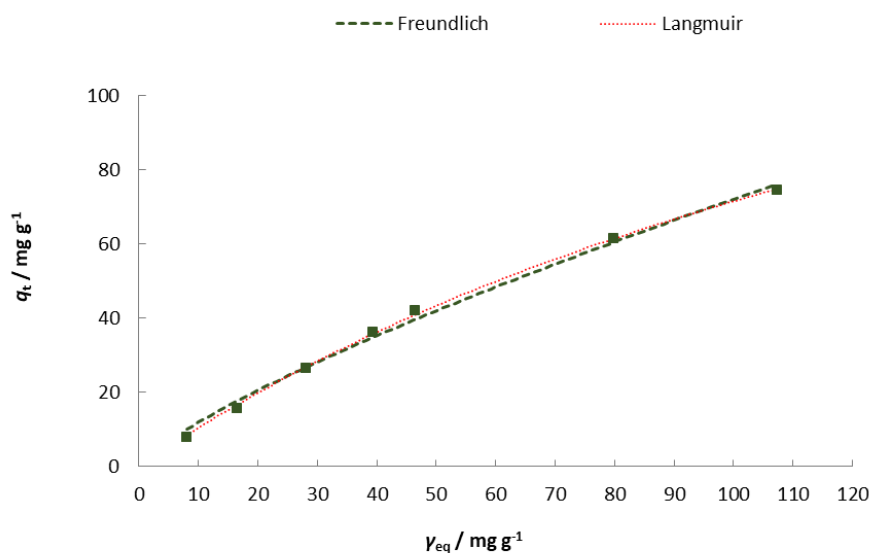
Adsorpcijske izoterme grafički opisuju ovisnost ravnotežne količine adsorbata po jedinici mase adsorbensa o koncentraciji, pri određenoj konstantnoj temperaturi, tlaku i/ili pH. Adsorpcijske izoterme su važne jer pružaju informacije o adsorpcijskim svojstvima materijala, kao i o interakcijama između adsorbata (u ovom slučaju sintetsko bojilo malahitno zelenilo) i adsorbensa (inaktivne biomase gljive *G. applanatum*). Njezini fizikalno-kemijski i termodinamički parametri pružaju uvid u mehanizam i kinetiku adsorpcije, površinske osobine adsorbensa, kapacitet adsorpcije, ravnotežne uvjete i kinetiku adsorpcije (Foo i Hameed, 2009).

Langmuirov i Freundlichov adsorpcijski ravnotežni modeli korišteni su za analizu eksperimentalno dobivenih podataka šaržnih adsorpcijskih eksperimenata te su izračunate vrijednosti parametara adsorpcijskih izotermi kako bi se utvrdilo koji od ova dva modela bolje opisuje proces biosorpcije malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum*. Slika 14. prikazuje eksperimentalno dobivene podatke te računski dobivene krivulje

adsorpcijskih izotermi pri temperaturi 25 °C, dok tablica 2. daje prikaz parametara adsorpcijskih izotermi.

Iako bi se iz grafičkog prikaza te velikih vrijednosti koeficijenta korelacije za oba modela moglo zaključiti kako vrlo dobro opisuju eksperimentalno dobivene podatke, ipak usporedbom vrijednosti q_m cal. (204,48 mg/g) dobivene Langmuirovim modelom te eksperimentalno dobivene vrijednosti q_m exp. (74,64 mg/g), kao i usporedbom vrijednosti korijenske srednje kvadratne pogreške (RSME) može se zaključiti kako Freundlichov model bolje opisuje proces biosorpcije. Pri tome vrijednost bezdimenzionalnog parametra n Freundlichova modela koji pruža informaciju o jakosti adsorpcije, iznosi 1,280 što ukazuje kako se radi o povoljnom fizikalnom procesu ($n > 1$) (Sadaf i sur., 2014).

Za usporedbu, proces uklanjanja malahitnog zelenila inaktivnom biomasom gljiva *T. vires* i *T. viride* nešto bolje opisuje Langmuirov model, u odnosu na Freundlichov model, ali je ta razlika vrlo mala (Argumedo-Delira i sur., 2021).



Slika 14. Langmuirove i Freundlichove adsorpcijske izoterme za biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* pri temperaturi 25 °C.

Tablica 2. Parametri adsorpcijskih izoterma za biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* ($\gamma_{\text{bojila}} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1 \text{ g/L}$, $t = 120 \text{ min}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

Model	25 °C
$q_{m \text{ exp.}} / \text{mg g}^{-1}$	74,64
Langmuir	
$q_{m \text{ cal.}} / \text{mg g}^{-1}$	204,48
$K_L / \text{L mg}^{-1}$	0,005
R^2	0,998
<i>RMSE</i>	2,124
Freundlich	
$K_F / (\text{mg g}^{-1} (\text{L/mg})^{1/n})$	1,977
n	1,280
R^2	0,994
<i>RMSE</i>	0,697

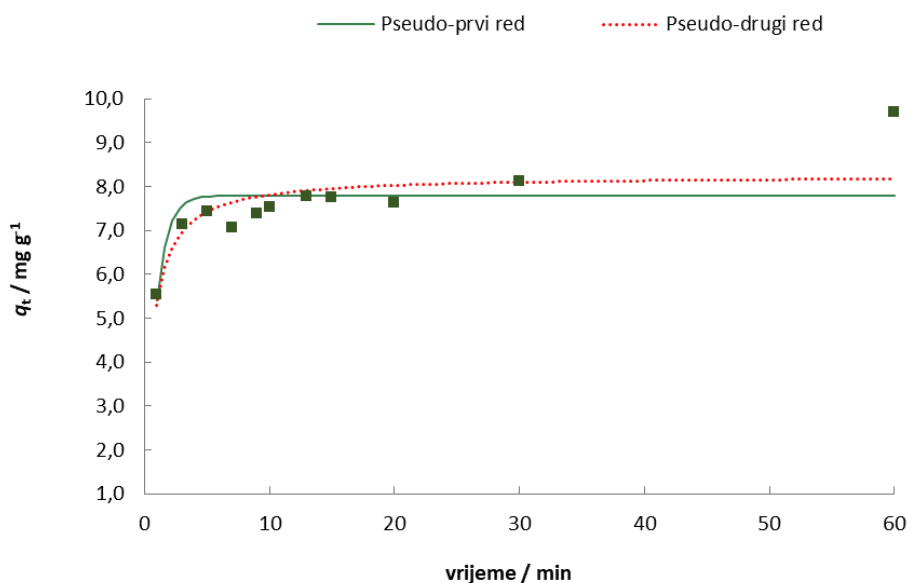
Kinetika adsorpcije opisuje tijek procesa adsorpcije kao funkciju vremena do postizanja ravnoteže. Najčešće korišteni modeli su model pseudo-prvog reda i model pseudo-drugog reda, koji su odabrani za analizu eksperimentalno dobivenih podataka i u ovom istraživanju. Slika 15. i tablica 3. daju grafički prikaz rezultata analize eksperimentalno dobivenih podataka te parametre kinetičkih modela pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum*.

Usporedbom eksperimentalno dobivene vrijednosti $q_{m \text{ exp.}}$ (9,71) s vrijednosti $q_{m 1}$ (7,79 mg/g) i $q_{m 2}$ (8,248 mg/g) dobivenih modelima vidljivo je kako model pseudo-drugog reda pokazuje bolje slaganje s eksperimentalnom vrijednosti.

Model pseudo-drugog reda pretpostavlja 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 (0,661) u odnosu na koeficijent korelacije modela pseudo-prvog reda (0,488), što također potvrđuje zaključak kako model pseudo-drugog reda bolje opisuje kinetiku procesa biosorpcije malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum*.

Ovo je u skladu s rezultatima istraživanja Argumedo-Delira i suradnika (2021) te Bouras i suradnika (2021) koji navode kako je kinetika procesa uklanjanja malahitnog zelenila

inaktivnom biomasom *T. vires* i *T. viride* te *Aspergillus parasiticus* CBS 100926(T) bolje opisana modelom pseudo-drugog reda.



Slika 15. Eksperimentalni podaci i modeli pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* ($\gamma_{bojila} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{biosorbens} = 1 \text{ g/L}$, $t = 1-60 \text{ min}$, $\Theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{miješanja} = 150 \text{ okr/min}$).

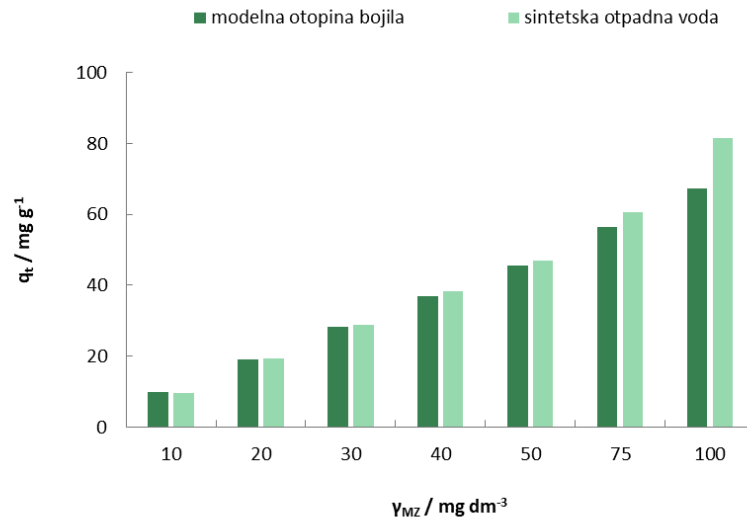
Tablica 3. Parametri kinetičkih modela pseudo-prvog i pseudo-drugog reda za biosorpciju malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* ($\gamma_{bojila} = 50 \text{ mg/L}$, $\gamma_{biosorbens} = 1 \text{ g/L}$, $t = 1-60 \text{ min}$, $\Theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{miješanja}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

Model	
$q_{m \text{ exp.}} / \text{mg g}^{-1}$	9,71
Pseudo-prvi red	
$q_{m1} / \text{mg g}^{-1}$	7,79
k_1 / min^{-1}	1,187
R^2	0,488
Pseudo-drugi red	
$q_{m2} / \text{mg g}^{-1}$	8,248
$k_2 / \text{g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$	0,218
R^2	0,661

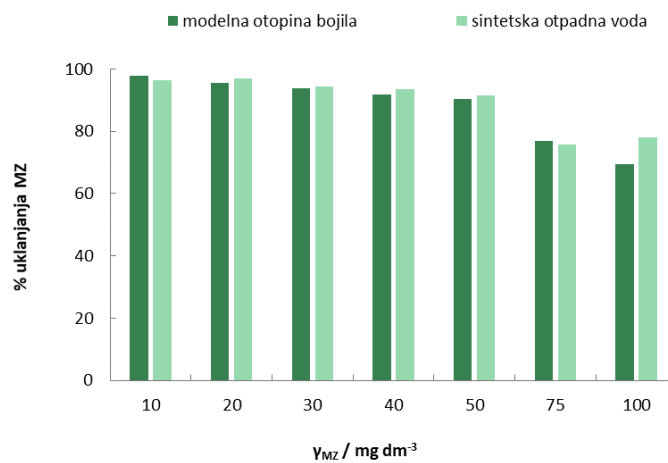
4.6. Uklanjanje malahitnog zelenila iz sintetske otpadne vode biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum*

Šaržni adsorpcijski eksperimenti provedeni su u sintetskoj otpadnoj vodi s dodatkom bojila, kako bi se simulirali realni uvjeti, odnosno realna otpadna voda. Eksperimenti su provedeni u sintetskoj otpadnoj vodi s dodatkom bojila u koncentraciji od 10 mg/L do 100 mg/L pri čemu su ostali eksperimentalni uvjeti bili kako slijedi: $\gamma_{\text{biosorbens}} = 1 \text{ g/L}$, $t = 120 \text{ min}$, $\Theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$. Dobiveni rezultati prikazani su na slici 16.

Iz slike 16. A vidljivo je kako količina adsorbiranog bojila po gramu biosorbensa kontinuirano raste s povećanjem koncentracije bojila i u modelnoj otopini bojila i u sintetskoj otpadnoj vodi s dodatkom bojila, ali je također ta količina pri svim ispitanim početnim koncentracijama bojila nešto veća u sintetskoj otpadnoj vodi. Postotak uklanjanja bojila smanjuje se povećanjem početne koncentracije bojila (slika 16. B), pri čemu su te vrijednosti vrlo slične i za modelnu otopinu bojila i za sintetsku otpadnu vodu, osim vrijednosti za početnu koncentraciju bojila 100 mg/L gdje je veći postotak uklanjanja bojila postignut u sintetskoj otpadnoj vodi.



A



B

Slika 16. 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 ($\gamma_{\text{biosorbens}} = 1 \text{ g/L}$, $t = 120 \text{ min}$, $\Theta = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $v_{\text{miješanja}} = 150 \text{ okr/min}$).

5. ZAKLJUČCI

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

- Ispitivanje utjecaja koncentracije biosorbensa na uklanjanje malahitnog zelenila biosorpcijom na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* rezultiralo je povećanjem postotka uklanjanja malahitnog zelenila, dok se istovremeno količina adsorbiranog malahitnog zelenila po gramu biosorbensa smanjila.
- Proces biosorpcije malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu *G. applanatum* odvijao se brzo u prvih 30 minuta, dok se u kasnijim fazama usporavao dok nije postignuta ravnoteža. Postotak uklanjanja bojila, kao i količina bojila adsorbirana po jedinici mase biosorbensa povećavali su se s povećanjem vremena kontakta između biosorbensa i adsorbata sve dok nije postignuto ravnotežno stanje nakon 120 min.
- Proces uklanjanja malahitnog zelenila biosorpcijom na inaktivnu biomasu *G. applanatum* ovisan je o početnoj koncentraciji bojila, pri čemu se povećanjem početne koncentracije bojila od 10 mg/L do 100 mg/L količina bojila adsorbiranog po gramu biosorbensa kontinuirano povećavala od 7,79 mg/g do 74,64 mg/g.
- Pri pH vrijednosti 10 postignut je najveći postotak uklanjanja bojila te je najveća količina bojila adsorbirana po gramu biosorbensa, za razliku od pH 4 pri kojima su navedeni parametri bili najmanji.
- Od dva primijenjena ravnotežna adsorpcijska modela - Langmuirovog i Freundlichovog, eksperimentalno dobivene rezultate bolje opisuje Freundlichov ravnotežni adsorpcijski model. Kinetiku biosorpcije malahitnog zelenila na inaktivnu biomasu gljive *G. applanatum* pri primijenjenim eksperimentalnim uvjetima dobro opisuje kinetički model pseudo-drugog reda.
- Nešto veća količina bojila adsorbirana je po gramu biosorbensa, pri uklanjanju iz sintetske otpadne vode s dodatkom bojila, u odnosu na modelnu otopinu bojila.

6. LITERATURA

- Argumedo-Delira R, Gómez-Martínez MJ, Uribe-Kaffure R: Trichoderma Biomass as an Alternative for Removal of Congo Red and Malachite Green Industrial Dyes. *Applied Sciences* 11: 448, 2021.
- Artoli Y: Adsorption. U *Encyclopedia of Ecology*, str. 60–65, Elsevier, Amsterdam, 2008.
- Bouras HD, Rédayeddou A, Bouras N, Chergui A, Favier L, Amrane A, Dizge N: Biosorption of cationic and anionic dyes using the biomass of *Aspergillus parasiticus* CBS 100926(T). *Water Science and Technology* 83: 622–630, 2021.
- Chanzu HA, Onyari JM, Shiundu PM: Brewers' spent grain in adsorption of aqueous Congo Red and Malachite Green dyes: Batch and continuous flow systems. *Journal of hazardous materials* 380: 120897, 2019.
- Couto SR: Dye removal by immobilising fungi. *Biotechnology Advances* 27:227, 2009.
- Crini G: Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review. *Bioresource Technology* 97(9): 1061–85, 2006.
- Dąbrowski A: Adsorption — from theory to practice. *Advances in Colloid and Interface Science* 93(1-3): 135–224, 2001.
- Elkhateeb WA, Zaghlol GM, El-Garawani IM, Ahmed EF, Rateb ME, Abdel Moneim AE: *Ganoderma applanatum* secondary metabolites induced apoptosis through different pathways: *In vivo* and *in vitro* anticancer studies. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 101: 264–277, 2018.
- Forgacs E, Cserhati T, Orosb G: Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environment International* 30: 953 – 971, 2004.
- Gadd GM: Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 84: 13–28, 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.

Gudelj I, Hrenović J, Landeka Dragičević T, Delaš F, Šoljan V i 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.

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

Hu H, Xu K: Physicochemical technologies for HRP and risk control. U *High-Risk Pollutants in Wastewater*. Str. 169–207, Elsevier, Amsterdam, 2020.

Jeong YT, Yang BK, Jeong SC, Kim SM, Song CH: *Ganoderma applanatum*: a promising mushroom for antitumor and immunomodulating activity. *Phytotherapy Research* 22(5): 614–619, 2008.

Khalaf M: Biosorption of reactive dye from textile wastewater by non-viable biomass of *Aspergillus niger* and *Spirogyra* sp. *Bioresource Technology* 99 (14): 6631–6634, 2008.

Klaus AS, Kozarski MS, Vunduk JD, Petrović PM, Nikšić MP: Antibakterijski i antifungalni potencijal gljive *Ganoderma applanatum* bazidiomicete iz prirode. *Lekovite sirovine* 36: 37–46, 2016.

Luo Q, Di L, Dai WF, Lu Q, Yan YM, Yang ZL, Li RT, Cheng YX: Applanatumin A, a New Dimeric Meroterpenoid from *Ganoderma applanatum* That Displays Potent Antifibrotic Activity. *Organic Letters* 17(5): 1110–1113, 2015.

Michalak I, Chojnacka K, Witek-Krowiak A: State of the Art for the Biosorption Process—a Review. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 170(6): 1389–1416, 2013.

Ozer A, Akkaya G, Turabik M: Biosorption of acid red 274 (AR 274) on *Enteromorpha prolifera* in a batch system. *J. Hazard. Mater.* B126: 119–127, 2008.

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

Puchana-Rosero MJ, Lima EC, Ortiz-Monsalve S, Mella B, da Costa D, Poll E, Gutterres M: Fungal biomass as biosorbent for the removal of Acid Blue 161 dye in aqueous solution. *Environmental Science and Pollution Research* 24(4): 4200–4209, 2016.

Sartape AS, Mandhare AM, Jadhav VV, Raut PD, Anuse MA, Kolekar SS: Removal of malachite green dye from aqueous solution with adsorption technique using *Limonia acidissima* (wood apple) shell as low cost adsorbent. *Arabian Journal of Chemistry* 10(2): S3229-S3238, 2017.

Singh K, Arora S: Removal of Synthetic Textile Dyes from Wastewaters: A Critical Review on Present Treatment Technologies. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 41(9): 807–878, 2011.

Swan NB, Zaini MAA: Adsorption of malachite green and congo red dyes from water: recent progress and future outlook. *Ecol Chem Eng S.* 26(1): 119-132, 2019.

Taha M, Adetutu EM, Shahsavari E, Smith AT, Ball AS: Azo and anthraquinone dye mixture decolourization at elevated temperature and concentration by a newly isolated thermophilic fungus, *Thermomucor indicae-seudaticae*. *Journal of Environmental Chemical Engineering* 2(1): 415–423, 2014.

Tewari K, Singhal G, Arya RK: Adsorption removal of malachite green dye from aqueous solution. *Rev Chem Eng* 34(3): 427-453, 2018.

Venkatamohan S, Rao N, Karthikeyan J: Adsorptive removal of direct azo dye from aqueous phase onto coal based sorbents: a kinetic and mechanistic study. *Journal of Hazardous Materials* B90:189, 2002.

Vijayaraghavan K, Yun YS: Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology Advances* 26: 266–291, 2008.

Volesky B: Potential of biosorption. U *Sorption and biosorption*, str. 5–12, BV Sorbex, Inc, Montreal, 2003.

Vujević D: Uklanjanje organskih tvari iz obojenih otpadnih voda primjenom naprednih oksidacijskih procesa. *Doktorska disertacija*, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2007.

Wang D, Liu L, Jiang X, Yu J, Chen X: Adsorption and removal of Malachite Green from aqueous solution using magnetic β -cyclodextrin-graphene oxide nanocomposites as adsorbents. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 466:166-173, 2014.

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

Witek-Krowiak A, Harikishore Kumar Reddy D: Removal of microelemental Cr(III) and Cu(II) by using soybean meal waste--unusual isotherms and insights of binding mechanism. *Bioresour Technol* 127: 350-357, 2013.

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.

Web 1: <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=34163> (pristupljeno 27.10.2022.)

Web 2: <https://www.indiamart.com/proddetail/malachite-green-powder-24898154762.html> (pristupljeno 27.10.2022.)

Web 3: <http://nuta-ljekovite-gljive.hr/ljekovite-gljive.html> (pristupljeno 17.5.2023.)

Web 4: [Ganoderma Applanatum: Artist's Bracket Identification & Benefits \(healing-mushrooms.net\)](http://GanodermaApplanatum:Artist'sBracketIdentification&Benefits(healing-mushrooms.net)) (17.5.2023.)