

**Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Denija Krivičić

**Remedijacija otpadne vode iz procesa proizvodnje
maslinovog ulja**

Zagreb, 2016.

Ovaj rad izrađen je u Zavodu za industrijsku ekologiju Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom dr.sc. Dajane Kučić, znan. sur. i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2015./2016.

POPIS SIMBOLA I KRATICA

Simboli

c_0 - početna koncentracija, mg dm^{-3}

C_e - ravnotežna koncentracija, mg g^{-1}

k_1 - Lagergrenova konstanta brzine adsorpcije, min^{-1}

k_2 - Hoova konstanta brzine adsorpcije, $\text{mg g}^{-1} \text{min}^{-1}$

k'_1 - konstanta brzine reakcije prvog reda,

k'_2 - konstanta brzine povratne reakcije prvog reda,

K_F - Freundlichova konstanta adsorpcije, -

K_L - Langmuirova konstanta adsorpcije, $\text{dm}^3 \text{mg}^{-1}$

$m()$ - masa, g

n_F - Freundlichova konstanta

r_1 - brzina Lagergrenovog modela adsorpcije, razne jedinice

r_2 - brzina Hoovog modela adsorpcije, razne jedinice

r' - brzina reakcije prvog reda, $\text{mol dm}^{-3} \text{s}^{-1}$

r'' - brzina reakcije drugog reda, razne jedinice

R_L - separacijski faktor, -

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

q_{\max} - maksimalni adsorpcijski kapacitet, mg g^{-1}

q_t - količina adsorbirane tvari u vremenu t , mg g^{-1}

T - temperatura

t - vrijeme

P - ukupno povećanje (okular \times objektiv)

Grčki simboli

λ - električna vodljivost, mS cm^{-1}

γ - masena koncentracija, mg dm^{-3}

Ostale oznake

BPK - biokemijska potrošnja kisika

CFU - colony-forming unit

COD - chemical oxygen demand

KPK - kemijska potrošnja kisika

OVM - otpadna voda iz procesa proizvodnje maslinovog ulja

ST - suha tvar

UV - ultraviolet light (ultraljubičasto svjetlo)

VT - vlažna tvar

Indeksi

0 - početna vrijednost

eksp. - eksperimentalna vrijednost

izrač. - izračunata vrijednost

max - maksimalna vrijednost

Sadržaj

1. UVOD	1
2. OPĆI DIO	3
2.1. Industrijske otpadne vode.....	3
2.1.1. Otpadne vode iz proizvodnje maslinovog ulja (OVM).....	3
2.2. Fenoli.....	5
2.3. Remedijacija otpadne vode	6
2.3.1. Fizikalno - kemijski postupci uklanjanja onečišćujućih tvari	7
2.3.2. Biološko uklanjanje onečišćujućih tvari	8
2.4. Adsorpcija	8
2.4.1. Adsorbensi.....	9
2.5. Biosorpcija	11
2.6. Izoterme.....	11
2.6.1. Freundlichova izoterma.....	12
2.6.2. Langmuirova izoterma	13
2.7. Kinetički modeli adsorpcije	14
3. EKSPERIMENTALNI DIO	17
3.1. Materijali	17
3.1.1. Otpadna voda iz procesa proizvodnje maslinovog ulja (OVM).....	17
3.1.2. Adsorbensi.....	17
3.1.3. Biosorbensi.....	18
3.1.4. Hranjive podloge za uzgoj mikroorganizama	18
3.2. Kemikalije i otopine	18
3.3. Instrumenti	18
3.4. Analitički postupci	19
3.4.1. Fizikalno-kemijska analiza otpadne vode	19
3.4.2. Određivanje koncentracije fenola.....	20
3.4.3. Određivanje vrijednosti kemijske potrošnje kisika (KPK)	20
3.4.4. Određivanje boje u uzorku otpadne vode.....	20
3.4.5. Mikrobiološka analiza otpadne vode.....	20
3.5. Remedijacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja	21
3.5.1. Taloženje i filtracija onečišćujućih tvari iz OVM.....	21
3.5.2. Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na različite adsorbense.....	21

3.5.3. Utjecaj mase aktivnog ugljika na adsorpciju fenola i organskih tvari iz OVM.....	22
3.5.4. Adsorpcija fenola i organskih tvari na aktivni ugljik pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti	23
3.5.5. Uzgajanje micelijskih zrnaca plijesni <i>Aspergillus niger</i> i <i>Stachybotrys</i> sp.....	24
3.5.6. Biosorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na micelijska zrnca <i>Aspergillus niger</i> i <i>Stachybotrys</i> sp.....	24
3.5.7. Biosorpcija fenola i organskih tvari na micelijska zrnca <i>Aspergillus niger</i> pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti	25
3.6. Bojanje micelijskih zrnaca metilenskim modrilom.....	26
4. REZULTATI	27
4.1. Fizikalno-kemijska karakterizacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja.....	27
4.2. Mikrobiološka analiza otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja.....	27
4.3. Remedijacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja	30
4.3.1. Taloženje i filtracija onečišćujućih tvari iz OVM.....	30
4.3.2. Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na različite adsorbense.....	30
4.3.3. Utjecaj mase aktivnog ugljika na adsorpciju fenola i organskih tvari iz OVM.....	32
4.3.4. Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na aktivni ugljik pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti	33
4.3.5. Uzgoj micelijskih zrnaca plijesni <i>Aspergillus niger</i> i <i>Stachybotrys</i> sp.	35
5. RASPRAVA	42
5.1. Fizikalno-kemijska karakterizacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja.....	42
5.2. Mikrobiološka analiza otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja.....	42
5.3. Remedijacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja	43
5.3.1. Taloženje i filtracija onečišćujućih tvari iz OVM.....	43
5.3.2. Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na različite adsorbense.....	44
5.3.3. Utjecaj mase aktivnog ugljika na adsorpciju fenola i organskih tvari iz OVM.....	45
5.3.4. Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na aktivni ugljik pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti	46
5.3.5. Uzgoj micelijskih zrnaca plijesni <i>Aspergillus niger</i> i <i>Stachybotrys</i> sp.	53
5.3.6. Biosorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na micelijska zrnca <i>Aspergillus niger</i> i <i>Stachybotrys</i> sp.....	53
5.3.7. Biosorpcija fenola i organskih tvari na micelijska zrnca <i>Aspergillus niger</i> pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti	54
5.4. Bojanje micelijskih zrnaca metilenskim modrilom.....	61

6. ZAKLJUČCI	62
7. LITERATURA	63
SAŽETAK.....	70
ABSTRACT	72
ZAHVALE	74
ŽIVOTOPIS.....	75

1. UVOD

Početak ovog stoljeća bogatstvo prirodnih resursa i očuvanje okoliša privlači sve veću pažnju čovječanstva te svako ljudsko djelovanje nastoji obuhvatiti koncept održivog razvoja u svrhu rješavanja ekoloških i gospodarskih problema koji do sada nisu bili od velikoga značaja. Živi svijet zasnovan je na vodi, koja je nezamjenjivo prirodno bogatstvo te obuhvaća veliki dio planeta Zemlje. Iako je nepresušan prirodni resurs, ipak se može lokalno i regionalno iscrpiti. Stoga je potrebno održavanje ravnoteže i sprječavanje iscrpljivanja vode kao suštinskog elementa okoliša.^{1,2}

U mediteranskom podneblju široko su rasprostranjeni nasadi maslina te prerada plodova i proizvodnja gotovo najdragocjenijeg proizvoda - maslinovog ulja. U agroindustrijskom procesu prerade maslina u svrhu proizvodnje maslinovog ulja nastaje otpadna voda koja je karakterizirana visokim organskim opterećenjem (vrijednost kemijske potrošnje kisika (KPK) u rasponu od 47 - 178 g O₂/dm³)³ i visokom koncentracijom fenola (0,5-10,7 g/dm³)³, niskom pH - vrijednošću (pH = 4 - 5)⁴, visokom provodnošću (5,50 – 10 dS m⁻¹)⁵, toksična je i tamne boje. Ako se iz takve otpadne vode ne uklone onečišćujuće i/ili štetne tvari i ispuste u okoliš, dolazi do narušavanja prirodne ravnoteže. Zbog toga se iz otpadne vode iz proizvodnje maslinovog ulja (OVM) mora prije ispuštanja u vodeni okoliš odnosno u sustav javne odvodnje ukloniti onečišćujuće i/ili štetne tvari kako bi se zadovoljili izlazni fizikalno-kemijski pokazatelji prema Pravilniku o graničnim vrijednostima emisija.⁶ Prema Pravilniku⁶ granične vrijednosti emisija fenola i vrijednosti KPK u otpadnim vodama prilikom ispuštanja u sustav javne odvodnje moraju iznositi 0,01 g/dm³, odnosno 0,7 g O₂/dm³. Postoje različiti postupci remedijacije vode među kojima su fizikalni (adsorpcija, biosorpcija), kemijski (katalitička oksidacija) i biološki (biorazgradnja – kulturama kao što su primjerice *Phanerochaete chrysosporium*⁷, *Pleurotus ostreatus*⁷, *Geotrichum candidum*^{8,9}, *Candida* spp.¹⁰, *Trichosporon montevidense*¹¹ itd.). Prilikom odabira postupka remedijacije treba uzeti u obzir niz faktora, odnosno vrstu onečišćujuće tvari i medij u kojem oni opstaju.¹² Adsorpcija i biosorpcija se najčešće primjenjuju jer su ekonomski prihvatljive tehnike, jednostavan je operacijski sustav te zbog dostupnosti i raširenosti sorbensa i mogućnosti njihove regeneracije.^{9, 13-20}

U ovom radu provedena je *ex situ* remedijacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja porijeklom iz sjevernog i južnog priobalja Republike Hrvatske u šaržnim uvjetima rada. Postupci remedijacije koji su se primijenili u ovome radu su adsorpcija na aktivni ugljik, koru banane, modificiranu kominu masline i na modificirani zeolit te biosorpcija na micelijska zrnca *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp. Svrha šaržnih adsorpcijskih i biosorpcijskih eksperimenata bila je ispitivanje učinkovitosti adsorbensa i biosorbensa za uklanjanje boje, fenola i ukupne organske tvari. Rezultati dobiveni primjenom diskontinuiranog procesa omogućili su odabir adsorbensa i biosorbensa te su primijenjeni za modeliranje kinetike i utvrđivanje ravnotežnih parametara diskontinuiranog adsorpcijskog procesa, odnosno opisani su kinetičkim modelima pseudo-prvog i pseudo-drugog reda te Langmuirovom i Frenlichovom izotermom. Ravnotežni parametri procijenjeni su nelinearnom regresijom u programskom paketu *Scientist*.

2. OPĆI DIO

2.1. Industrijske otpadne vode

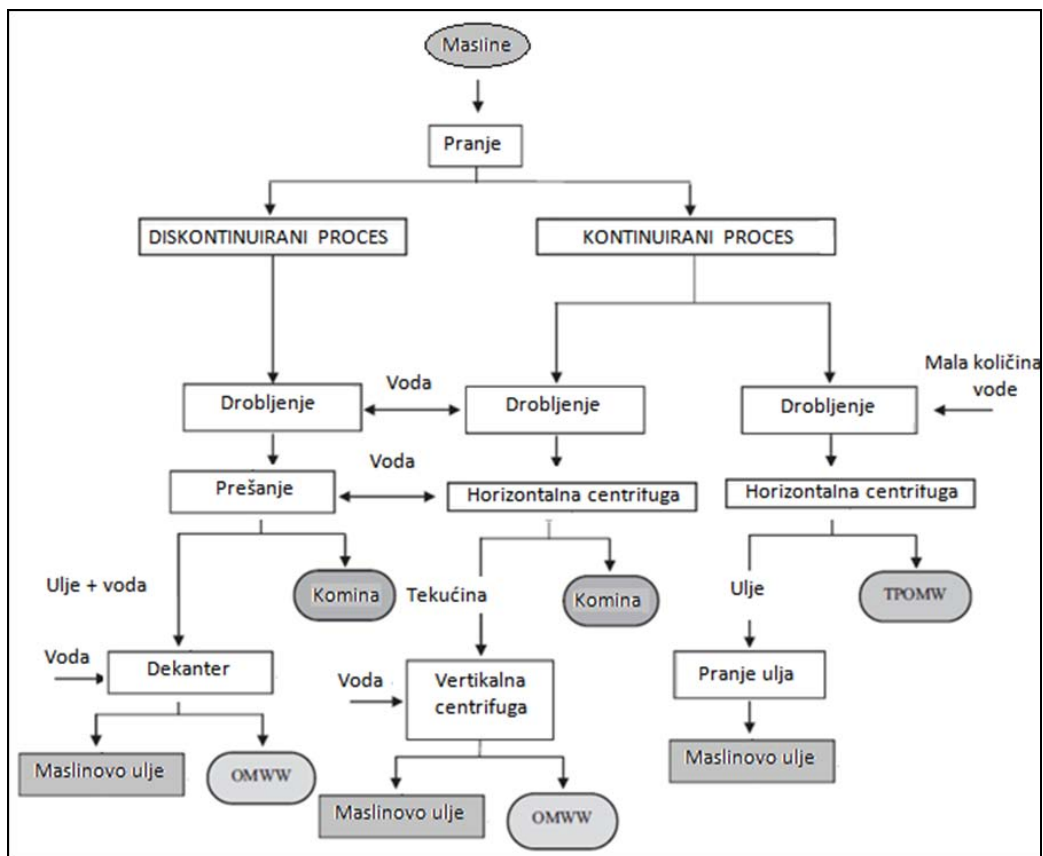
Industrijske otpadne vode predstavljaju sve veći problem općenito u svijetu, a posebice na Mediteranu. Raznolikost tehnoloških procesa u pojedinim industrijama uočljiva je i u različitom sastavu otpadnih voda. One se mogu podijeliti u dvije osnovne skupine: biološki razgradive (mogu se miješati s komunalnim otpadnim vodama) te biološki nerazgradive (zahtijevaju prethodno pročišćavanje prije miješanja s komunalnim otpadnim vodama). Industrijska otpadna voda je u većini slučajeva opterećena visokim sadržajem tvari organskog i/ili anorganskog podrijetla, visokim ili niskim pH-vrijednostima, policikličkim aromatskim spojevima, fenolima, organometalnim spojevima i pesticidima koji predstavljaju sve veću opasnost i veliki problem te ih je potrebno svesti na maksimalno dozvoljene vrijednosti prije ispuštanja u vodotoke ili u sustav javne odvodnje. Stoga se u današnje vrijeme povećava nadzor nad kvalitetom i kvantitetom ispuštenih voda te se značajni interes usmjeruje na nove tehnologije uklanjanja onečišćujućih tvari iz otpadnih voda.^{1,2}

2.1.1. Otpadne vode iz proizvodnje maslinovog ulja (OVM)

U današnje vrijeme sve je veća proizvodnja maslinovog ulja zbog blagotvornog i ljekovitog učinak na ljudsko zdravlje te se sve više potiče njegova uporaba u svakodnevnoj prehrani. Svjetska proizvodnja maslinovog ulja za razdoblje 2009./2010. iznosila je 2.861.500 tona, od čega više od 98 % dolazi iz mediteranskih zemalja kao što su Španjolska, Italija, Grčka te Portugal.³ Prema službenim podacima Ministarstva poljoprivrede Republike Hrvatske u 2013. godini proizvodnja maslinovog ulja iznosila je 5.000 tona.²¹

Maslinovo ulje, iz prethodno samljevenih maslina, moguće je ekstrahirati na dva načina: na tradicionalni, diskontinuirani način, uz pomoć preša te na kontinuirani način pomoću centrifuge (slika 1.). Diskontinuirani, tradicionalni način pomoću preša najstariji je i najrašireniji način proizvodnje maslinovog ulja. Maslinovo tijesto po završetku mljevenja stavlja se između dijafragmi te se pomoću hidrauličnih preša visokog pritiska izlučuje ulje. Postupak zahtijeva određenu količinu vode kako bi se odvojila uljna faza. Na ovaj način odvaja se smjesa ulja i vode od komine koja sadrži endokarp (koštica), epikarp (kožica) te kamenje. Emulzijskoj smjesi dodaje se još vode te se dekantiranjem odvaja maslinovo ulje od vegetativne vode. Prednosti ovog procesa su ekonomičnost, jednostavnost procesa, mali utošak vode (40 - 60 dm³ / 100 kg maslina) što rezultira niskim volumenima OVM.

Usprkos tome, izostanak automatizacije procesa te visoke vrijednosti kemijske potrošnje kisika (KPK) OVM glavni su nedostaci procesa.²² Kontinuirani način ekstrakcije maslinovog ulja noviji je proces koji razdvaja sve faze uz pomoć centrifuge. Osnovni temelj razdvajanja je razlika u gustoći maslinovog ulja, vode te netopljivih komponenti. Kontinuirani trostupanjski sustav razdvaja maslinovo ulje, kominu te OVM čiji volumen iznosi 80 – 120 dm³/ 100 kg maslina. Kako bi se smanjio nastali volumen vegetativne vode devedesetih godina prošloga stoljeća razvio se kontinuirani dvostupanjski proces čija je primjena u današnje vrijeme široko rasprostranjena. Ovaj proces rezultira razdvajanjem maslinovog ulja od smjese otpadne vode i edokrapa maslina čiji volumen iznosi oko 10 dm³ / 100 kg maslina. Usprkos tome što ovakva vrsta otpada iziskuje zahtjevniju obradu, proces se smatra ekološki prihvatljivijim zbog smanjenja vode u sustavu.



Slika 1. Osnovni procesi ekstrakcije maslinovog ulja.²³

U fazi prerade maslina nastaje nekoliko vrsta otpadnih voda: voda nastala pranjem maslina, vegetativna voda (OVM), voda dodana u procesima ekstrakcije te voda nastala pranjem i čišćenjem sustava za preradu maslina.

Najznačajnija i najopterećenija je upravo vegetativna voda, a zbog zastarjelosti procesne opreme i nedovoljne izobrazbe pojedinca učestalo završava u okolišu bez prethodne obrade.^{3,24-25} Boja otpadne vode, varira od crvene do tamno smeđe/crne zbog prisutstva lignina i tanina, a osim toga karakterizira ju i niska pH vrijednost, visoka električna vodljivost, visoki udio fenola, šećera te organskih kiselina.²³ U tablici 1. dan je sastav otpadne vode iz trostupanjskog procesa prerade maslina.^{3-5,26-28} Značajan utjecaj na osnovne karakteristike imaju kvaliteta i kvantiteta otpadne vode, vrsta maslina, vremenski uvjeti, način uzgoja te tip procesa ekstrakcije ulja.²³

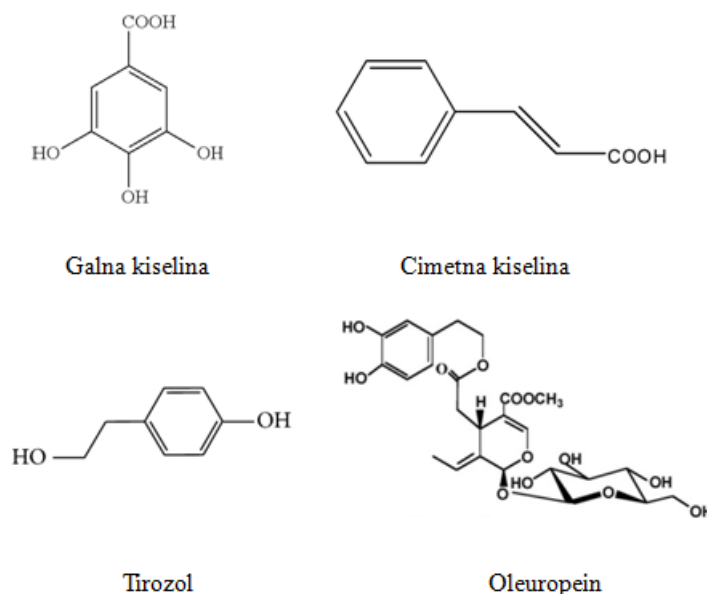
Tablica 1. Prosječni sastav otpadne vode iz proizvodnje maslinovog ulja (OVM).^{3-5, 26-28}

Pokazatelj	Raspon vrijednosti
pH	2,24 - 5,90
Električna vodljivost (dS m ⁻¹)	5,50 – 10,00
Suspendirana tvar (g dm ⁻³)	22,50 - 32,70
Krute hlapljive tvari (g dm ⁻³)	19,50 - 29,50
Krute tvari (g dm ⁻³)	64,60 - 91,80
Organska tvar (g dm ⁻³)	46,50 - 62,10
Ukupni organski ugljik (g dm ⁻³)	34,20 - 39,80
BPK (g O ₂ dm ⁻³)	46,00 – 94,00
KPK (g O ₂ dm ⁻³)	67,00 – 178,00
Ukupni dušik (g dm ⁻³)	0,62 - 2,10
Lipidi (g dm ⁻³)	1,64 - 12,20
Fenoli (g dm ⁻³)	0,98 - 10,70
Ukupni šećeri (%)	1,50 - 12,22

2.2. Fenoli

Otpadna voda iz proizvodnje maslinovog ulja sadrži visoke koncentracije fenola (tablica 1) koji su štetni i toksični. Primjerice, pri ispuštanju 10 % te vode bez prethodne obrade, biljka *Vicia faba* je pokazala smanjenje mitotske aktivnosti, a pri ispuštanju 20 % pokazuje potpunu mitotsku neaktivnost.^{29,30} Osim monomera fenola, vegetativna voda sadrži i fenole visoke molekulske mase koji se sastoje od aromatskih prstena na kojima su vezane hidroksilne te funkcionalne skupine pokrajnjih lanaca.

Polifenoli sadrže više monomernih jedinica te nastaju polimerizacijom monofenola.³⁰ Oleuropein, fenolne kiseline kao što su galna kiselina i cimetna kiselina, tirozol i hidroksitirozol tanin samo su neki od prirodnih fenola (slika 2.).^{31,23} Dije se u različite skupine, ovisno o strukturnim karakteristikama, a najvažnije među njima su fenolne kiseline i aldehidi, flavonoidi, lignani, stilbeni, tanini te lignini.³² U samom maslinovom ulju vrlo je istaknuta zaštitna uloga fenola kod pojedinih bolesti te izrazito antioksidativno djelovanje.³³ Pozitivni učinci fenola, poput zaštite od pojedinih bolesti, UV-zračenja, zaštite sjemenki do faze klijanja, uočeni su i kod biljaka. Faktori kao što su starost i vrste masline, klimatski uvjeti, vrijeme skladištenja te način ekstrakcije ulja odgovorni su za raznolikost fenolnih komponenti.³¹ Gotovo više od 98 % fenolnih spojeva prilikom proizvodnje maslinovog ulja završava u vegetativnoj vodi, a njihov antioksidativni učinak ograničava biorazgradnju OVM-a³⁴. Gotovo svi polifenoli visoke molekulske mase su kondenzirani tanini odnosno polimerizirani fenoli nastali procesom autooksidacije i odgovorni su za tamnu boju otpadne vode. Uklanjanje boje prilikom procesa bioremedijacije OVM usko je povezano sa smanjenjem fenola te ukupnog organskog ugljika.³⁵



Slika 2. Primjeri fenolnih spojeva koji se nalaze u OVM.³¹

2.3. Remedijacija otpadne vode

Otpadna voda iz proizvodnje maslinovog ulja sadrži štetne i toksične tvari koje se prije ispuštanja u vodeni okoliš moraju ukloniti.

Postoje različiti postupci remedijacije, fizikalni, kemijski i biološki. Svaki od navedenih postupaka ima svoje prednosti i nedostatke. U konačnici idealan proces remedijacije bio bi takav da u potpunosti razgradi onečišćujuću tvar bez stvaranja međuprodukata. Nadalje, potpuno uklanjanje onečišćujućih i/ili štetnih tvari zbog raznovrsnog sastava vode i toksičnosti gotovo je nemoguće postići korištenjem samo jedne metode. Upravo iz tog razloga kombinacija različitih postupaka, primjerice fizikalno-kemijske i biološke, smatra se učinkovitim načinom postizanja željenih rezultata.³⁶

Postoje dva načina provedbe remedijacije vode: *in situ* i *ex situ*. Oba načina uključuju biološke, kemijske i fizikalne mehanizme koji razaraju, imobiliziraju ili uklanjaju onečišćujuću tvar. Međutim, uvjeti ispod površine nikad neće biti u istom razmjeru kontrolirani kao u postupku *ex situ*.

2.3.1. Fizikalno - kemijski postupci uklanjanja onečišćujućih tvari

Procesi kao što su isparavanje, taloženje, filtracija, adsorpcija, oksidacija te razrjeđivanje su neki od fizikalno – kemijskih postupaka koji se primjenjuju za uklanjanje onečišćujućih tvari iz OVM. Razrjeđivanje, kao jedan od fizikalnih postupaka, učestalo se primjenjuje u kombinaciji s biološkim postupkom zbog osjetljivosti mikroorganizama.³⁷ Centrifugiranje i filtracija povećavaju pH vrijednost i električnu vodljivost vode, a u kombinaciji s drugim procesom, moguća je njihova upotreba kao predobrada jer omogućuju djelomično uklanjanje suspendiranih tvari.^{38,39} Najčešće korišten je proces adsorpcije na određeni adsorbens zbog isplativosti, učinkovitosti i jednostavnosti procesa. Rezultati dosadašnjih istraživanja na aktivnom ugljiku i zeolitu pokazali su smanjenje fenola za oko 80 % i KPK vrijednosti za 50 %¹⁸, odnosno 60 % polifenola¹⁶.

Prilikom uklanjanja onečišćujućih tvari iz OVM procesom oksidacije koriste se različita oksidacijska sredstva poput poput ozona, vodikova peroksida, klora i njegovih derivata. Sustavi u kojima se koristi ozon ili vodikov peroksid su prihvatljivi jer se provode pri atmosferskom tlaku te sobnoj temperaturi, a njihovo razlaganje ne rezultira nastankom štetnih produkata.⁴⁰ Napredne oksidacijske metode kombinacija su odgovarajućeg oksidansa i UV zračenja što rezultira visoko reaktivnim OH radikalima koji mogu u potpunosti oksidirati organsku tvar u ugljikov dioksid. Postupak omogućuje visok stupanj smanjenja KPK vrijednosti, međutim osnovni nedostatak je ekonomska neisplativost zbog visokih operativnih troškova.³⁷

2.3.2. Biološko uklanjanje onečišćujućih tvari

Biološko uklanjanje onečišćujućih i toksičnih tvari iz otpadne vode se može provesti uz prisustvo kisika (aerobna) i bez prisustva kisika (anaerobna). Proces aerobne razgradnje se primijenjuje kod opterećenijih otpadnih voda, te pokazuje visok stupanj uklanjanja fenolnih spojeva, odnosno značajno smanjenje toksičnosti.³⁷ Mikroorganizmi koji se koriste su različite kulture bakterija, gljiva i mikroalgi. U procesu anaerobne razgradnje mikroorganizmima nije potreban kisik. Osnovni stupnjevi u procesu anaerobne razgradnje su hidroliza, acidogeneza te metanogeneza. Metoda energetski nije zahtjevna te nastaje metan koji je moguće iskoristiti u energetske svrhe.⁴¹

2.4. Adsorpcija

Adsorpcija je proces nakupljanja, odnosno koncentriranja molekula plina ili otopljene tvari iz otopine na graničnu površinu između dviju faza (površina čvrstog tijela okružena kapljevatom ili plinovitom fazom). Uzrok ovoj pojavi su privlačne sile koje se javljaju između čvrste površine i molekula plina ili fluida. Ovisno o privlačnim silama između adsorbata (tvar koja se adsorbira) i adsorbenta (tvar na čiju se površinu adsorbira), postoje dvije osnovne vrste adsorpcijskih pojava: (1) fizikalna adsorpcija i (2) kemijska adsorpcija.

Zbog djelovanja van der Waalsovih privlačnih sila koje se javljaju između svih molekula čvrstih i plinovitih ili kapljevutih tvari, učestalija je pojava fizikalne adsorpcije. Uzrok kemijske adsorpcije je kovalentno vezanje molekula na površinu adsorbensa. Brzo postizanje ravnoteže i oslobađanje topline karakterizira fizikalnu adsorpciju, dok se kod kemijske javlja značajnije oslobađanje topline uz sporo uspostavljanje ravnoteže. U tablici 2 dana je razlika između fizikalne i kemijske adsorpcije. Na sam proces adsorpcije utječu svojstva adsorbenta, svojstva adsorbata, njihove koncentracije te temperatura.⁴²

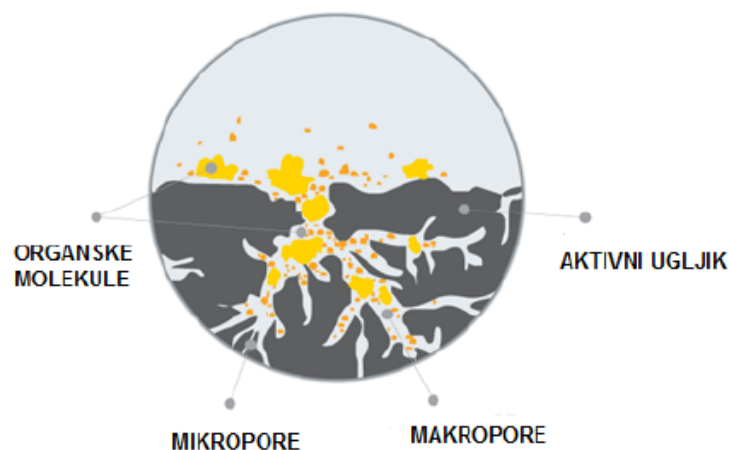
Tablica 2. Osnovne razlike između fizikalne i kemijske adsorpcije.⁴³

Značajka	Fizikalna adsorpcija	Kemijska adsorpcija
Veza s površinom	Slabe međumolekularne sile (van der Waals)	Kemijske veze
Pokrivenost površine	Višeslojna adsorpcija	Jednoslojna adsorpcija
Reverzibilnost procesa	Povratan proces	Često nepovratan proces
Temperaturna zavisnost	Linearna ili potencijska	Arrheniusova
Entalpija	Mala (do 20 kJ mol ⁻¹)	Velika (do 400 kJ mol ⁻¹)

2.4.1. Adsorbensi

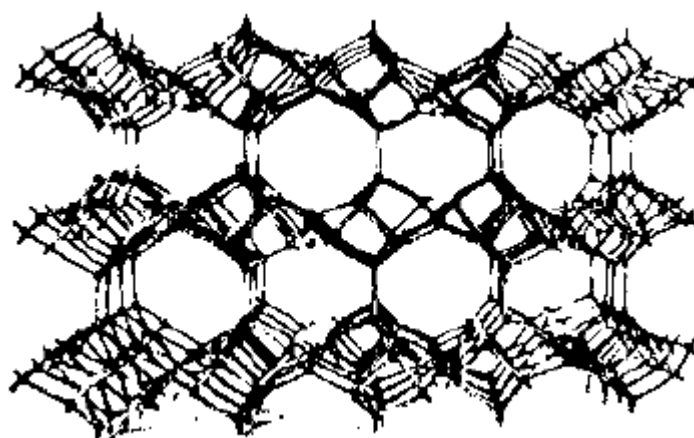
Osnovne karakteristike adsorbensa su poroznost i velika specifična aktivna površina. Količina adsorbata koji se adsorbira ovisi o specifičnoj aktivnoj površini adsorbensa koja je znatno veća od geometrijske⁴⁴, a može iznositi od 100 do 3.000 m² g⁻¹. Specifična aktivna površina aktivnog ugljika i silikagela sastavljena je od kompleksne mreže međusobno povezanih makropora, mezopora te mikropora.⁴⁵ Zeolitna specifična aktivna površina jednolikog je sastava, pora gotovo jednakih dimenzija.⁴⁶ Tvari koje se adsorbiraju prolaze kroz pore (otvore), na čvrstim tvarima i na taj način dolaze u kontakt s unutrašnjošću adsorbensa na čiju se površinu vežu. Veličina i raspored pora definirana je pojmom poroznost što predstavlja omjer ukupnog volumena pora i ukupnog volumena adsorbensa.⁴⁷

Aktivni ugljik je gotovo najpoznatiji adsorbens s velikom unutrašnjom površinom koja iznosi 500 - 1.500 m² g⁻¹.⁴⁸ Materijale s visokim sadržajem ugljika potrebno je aktivirati kemijskim ili fizikalnim postupcima i na taj način dobiva se aktivni ugljik. Povećanje specifične površine adsorbensa postiže se različitim modifikacijama.⁴⁹ U slici 3. dan je prikaz strukture aktivnog ugljika, koja se može opisati kao trodimenzionalna mreža ugljikovih atoma povezanih kovalentnim vezama između kojih se nalaze nepravilni oblici koji stvaraju međuprostore i omogućuju poroznost.⁴⁴ Po završetku adsorpcije aktivni ugljik potrebno je regenerirati, što se vrši toplinskom, biološkom ili ultrazvučnom obradom.⁴⁹ Prema istraživanjima aktivni ugljik pokazao se kao učinkovit adsorbens za uklanjanje onečišćujućih tvari iz otpadne vode iz proizvodnje maslinovog ulja.¹⁸



Slika 3. Prikaz strukture aktivnog ugljika i adsorpcije organskih molekula.⁵⁰

Zeoliti su također poznati porozni adsorpcijski materijali, čija je struktura sačinjena od trodimenzionalne mreže $(\text{SiO}_4)^{4-}$ i $(\text{AlO}_4)^{5-}$ tetraedara, spojenih kisikovim atomima (slika 4.).⁵¹ Zbog neutralizacije negativnog naboja u $[\text{AlO}_4]^{5-}$ tetraedru ugrađuje se u strukturnu mrežu hidratizirani alkalijski i zemnoalkalijski kationi ulazeći u šupljine i kanale, gdje pokazuju dosta veliku pokretljivost. Poroznost zeolita moguće je poboljšati raznim fizikalnim i kemijskim metodama. Najpoznatiji prirodni zeolit je klinoptilolit. Njegova nalazišta su široko rasprostranjena u svijetu, a cijena je prilično niska. U Hrvatskoj se naslage klinoptilolita nalaze u poroznim stijenama u Donjem Jesenju. Klinoptilolit, učinkovito uklanja onečišćujuće tvari iz zraka, vode i otpadne vode iz proizvodnje maslina.^{52,53}



Slika 4. Prikaz strukture zeolita.⁵⁴

Prilikom prerade maslina nastaje **komina** (slika 1). Raznim fizikalnim i kemijskim metodama moguća je njezina modifikacija čime se postižu bolja adsorpcijska svojstva. Prema literaturnim podacima **modificirana komina maslina** korištena je za uklanjanje teških metala⁵⁵ te za obradu otpadne vode iz proizvodnje maslinovog ulja.¹⁵

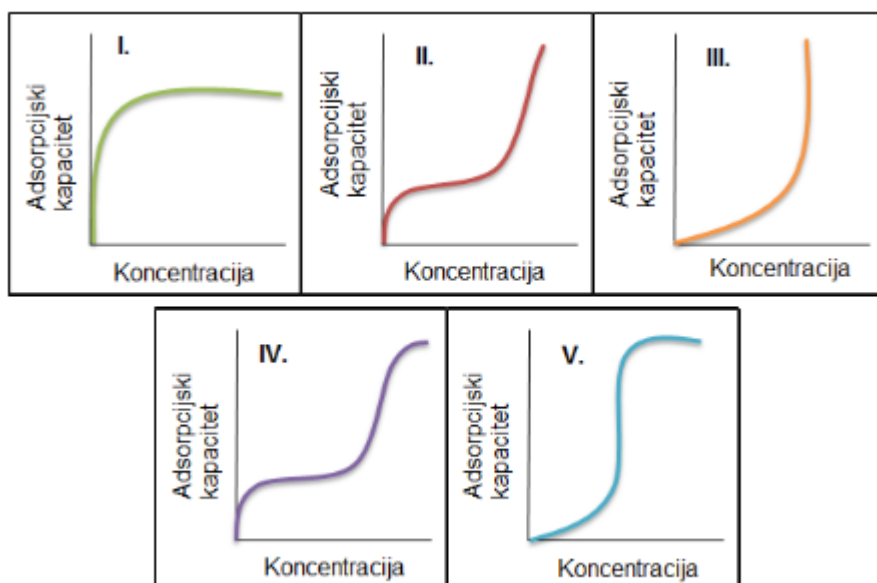
Pojedini agroindustrijski otpad, poput kore banane, može se koristiti kao adsorbens za uklanjanje onečišćujućih tvari npr. fenola.²⁰ Važno je uzeti u obzir kako bezvrijedni otpad, u ovakvoj prilici, postaje korisna sirovina.

2.5. Biosorpcija

U novije vrijeme sve više se primjenjuju ekonomski i ekološki prihvatljivi načini uklanjanja onečišćujućih tvari iz OVM. Osnovne prednosti biosorpcije su učinkovito uklanjanje onečišćujućih tvari iz otpadnih voda, dostupnost prirodnih biosorbensa i njihova cijena koja je učestalo vrlo niska. Biosorpcijski procesi mogu značajno smanjiti toksičnost otpadne vode iz proizvodnje maslinovog ulja sniženjem koncentracije fenola i KPK vrijednosti.⁵⁶⁻⁵⁸ Prema dosadašnjim istraživanjima sljedeći mikroorganizmi su pokazali učinkovito uklanjanje onečišćujućih tvari procesom biosorpcije i biorazgradnje: *Aspergillus niger*^{9,19}, *Penicillium* sp⁷, *Phanerochaete chrysosporiu*⁷, *Aspergillus terreus*⁹, *Geotrichum candidum*^{8,9}, *Raultella terrigena*⁵⁹, *Pantoea agglomerans*⁵⁹, *Pleurotus ostreatus*⁷, *Trichosporon montevidense*¹¹, *Abortiporus biennis*⁶⁰, *Trametes versicolor*⁶¹, *Yarrowia lipolytica*⁶², itd.

2.6. Izoterme

Odnos između količine adsorbirane tvari po masi adsorbensa i koncentracije tvari u kapljevitaj fazi kod određene konstantne temperature opisuje se adsorpcijskim izotermama. Na slici 5. prikaz je najčešće korištenih izoterma te njihova podjela prema Braunaueru.⁶³



Slika 5. Vrste adsorpcijskih izoterma prema Braunaueru.⁶³

Izoterma I predstavlja Langmuirovu adsorpcijsku izotermu, izoterma II, III i IV prikazuju višeslojnu adsorpciju (fizikalna adsorpcija), a izoterma V je slična izotermi III i vrlo su rijetke. Utvrđivanjem konstanti u adsorpcijskim izotermama moguće je utvrditi kojem tipu adsorpcije pripada svaki pojedini slučaj, što se onda koristi pri proračunu adsorpcijskih uređaja. Poznavanje adsorpcijske izoterme daje direktan uvid u kapacitet adsorbensa.⁶⁴ U procesu adsorpcije molekule adsorbata dolaze u kontakt s površinom adsorbensa, neke molekule se odmah adsorbiraju, neke difundiraju u otopinu, međutim s vremenom raste koncentracija adsorbata na površini adsorbensa. Usporedno s adsorpcijom odvija se i desorpcijski proces te se u određenom trenutku, kada su brzine navedenih procesa izjednačene, uspostavlja termodinamička ravnoteža. Ravnotežno stanje definira se ravnotežnim krivuljama i za to pripadajućim jednadžbama.^{43,65}

2.6.1. Freundlichova izoterma

Model Freundlichove izoterme, kojim se opisuje fizikalna adsorpcija, definira se jednadžbom (2.1):⁶⁵

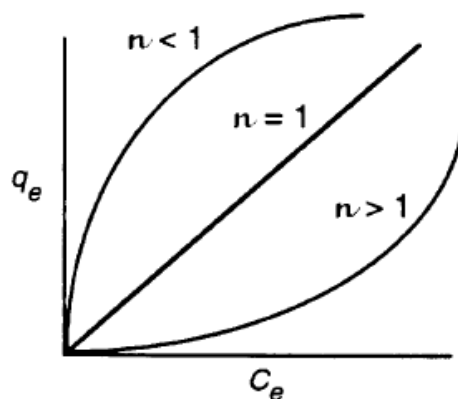
$$q_e = K_F \cdot c_e^{1/n_F} \quad (2.1)$$

gdje su K_F i $1/n_F$ empirijske konstante ovisne o temperaturi i svojstvene za svaki par adsorbens - adsorbat.

K_F predstavlja kapacitet ravnotežne adsorpcije, a $1/n_F$ intenzitet adsorpcije. Konstanta n_F može biti veća, jednaka ili manja od 1 (slika 6.), učestalo je veća od 1, a određuje se iz jednadžbe pravca (2.2)^{66,67}:

$$\log q_e = \log K_F + \frac{1}{n_F} \log c_e \quad (2.2)$$

Freundlichove konstante dobivaju se iz odsjeka pravca na ordinati i nagiba pravca. Povećanjem ravnotežne koncentracije nije moguće doseći maksimum adsorbirane tvari, iz čega se zaključuje da prilikom adsorpcije nastaje više slojeva adsorbirane tvari.^{43,68} Kada vrijednosti konstante n_F prelaze vrijednost 10, oblik izoterme postaje sve više nelinearan te se sve veća količina adsorbirane tvari nepovratno veže. Pretpostavka je da adsorbensi koje karakterizira ova vrsta adsorpcije imaju heterogenu površinu na kojoj se nalaze aktivna mjesta s različitim adsorpcijskim potencijalom.^{67,69} Freundlichova jednadžba uobičajeno se upotrebljava za razrijeđene i uske koncentracijske intervale jer pri visokim vrijednostima ravnotežnih koncentracija tvari koja se adsorbira, Freundlichov model gubi značenje zbog znatnog odstupanja od eksperimentalnih podataka.⁶⁹



Slika 6. Prikaz modela Freundlichove izoterme.⁷⁰

2.6.2. Langmuirova izoterma

Za razliku od Freundlichova modela izoterme, Langmuirov model (slika 7.) pretpostavlja formiranje monomolekularnog sloja na adsorbensu te se njime opisuju procesi kemisorpcije. Polazište Langmuirovog modela su četiri pretpostavke:

1. Adsorpcija se odvija na lokaliziranim i točno određenim aktivnim mjestima na površini adsorbensa;
2. Na svakom aktivnom mjestu može se vezati samo jedna molekula tvari koja se adsorbira;

3. Adsorpcijska energija (jačina veze koja se stvara između površine i adsorbirane tvari) jednaka je za sva aktivna mjesta;
4. Između susjednih adsorbiranih molekula nema sile međudjelovanja, odnosno adsorbirana količina molekula nema utjecaj na brzinu adsorpcije.^{43,44}

Model Langmuirove izoterme definira se jednadžbom (2.3):

$$q_e = \frac{K_L \cdot q_{\max} \cdot c_e}{1 + K_L \cdot c_e} \quad (2.3)$$

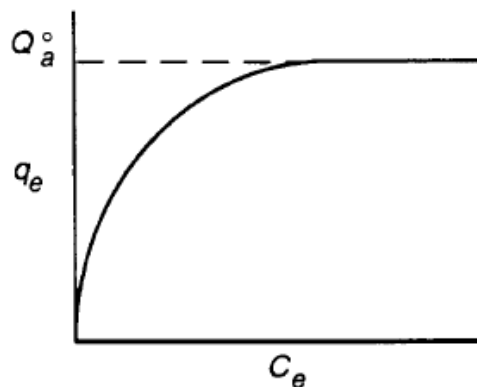
gdje q_e predstavlja adsorpcijski kapacitet, mg g^{-1} , K_L Langmuirovu ravnotežnu konstanta adsorpcije, $\text{dm}^3 \text{mg}^{-1}$, q_{\max} konstanta koja predstavlja maksimalno mogući adsorpcijski kapacitet, mg g^{-1} , i c_e ravnotežnu koncentraciju, mg dm^{-3} .^{43,71} Linearizacijom jednadžbe (2.3) dobiva se jednadžba pravca iz čijeg se odsjeka na ordinati i nagiba mogu odrediti konstante (2.4):^{65, 66, 71, 72}

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{q_{\max} \cdot K_L} + \frac{c_e}{q_{\max}} \quad (2.4)$$

Separacijski faktor R_L , karakterističan za svaki sustav adsorbens-adsorbat te se može izračunati jednadžbom (2.5):^{71 - 73}

$$R_L = \frac{1}{1 + K_L \cdot c_0} \quad (2.5)$$

gdje je c_0 početna koncentracija adsorbata, mg/dm^3 . Separacijski faktor daje kvantitativni opis područja ravnoteže ispitivanog procesa adsorpcije.



Slika 7. Prikaz Langmuirovog modela izoterme.⁷⁰

2.7. Kinetički modeli adsorpcije

Kemijska kinetika bavi se promjenama sustava u ovisnosti o vremenu i istražuje brzine kojima pojedine komponente sustava teže uspostavljanju stanja ravnoteže.

Promjena sustava s vremenom nije određena samo njegovim početnim i konačnim stanjem, već ovisi i o reakcijskom mehanizmu koji dovodi do ukupne kemijske pretvorbe. Eksperimentalna osnova za istraživanje reakcijskog mehanizma je mjerenje brzina reakcija u ovisnosti o koncentracijama tvari koje reagiraju i temperaturi.⁷²

Jednostavan kinetički model povratne reakcije prvog reda (brzina reakcije je direktno proporcionalna koncentraciji reaktanta) pri čemu se uspostavlja ravnoteža između dvije faze (A - kapljevito, B - čvrsto), može se prikazati na sljedeći način, jednačba (2.6):

$$r' = k'_1 \cdot c'_A - k'_2 \cdot c'_B = -\frac{dc'_A}{dt} \quad (2.6)$$

Prema izrazu (2.6) može se analogno izvesti Lagergrenov model^{74, 75} tzv. pseudo-prvog reda za brzinu adsorpcije, jednačba (2.7):

$$r_1 = \frac{dq}{dt} = k_1 \cdot (q_e - q_t) \quad (2.7)$$

gdje je k_1 Lagergrenova konstanta brzine adsorpcije (min^{-1}), a q_t količina adsorbirane tvari u vremenu t (mg g^{-1}). Linearan oblik jednačbe (2.7) prikazan je jednačbom (2.8):

$$\log(q_e - q_t) = \log(q_e) - \frac{k_1}{2,303} \cdot t \quad (2.8)$$

U većini slučajeva pseudo-prvi red reakcije tj. Lagergrenov model ne opisuje dobro cijelo područje adsorpcije. Općenito je primjenjiv na početku adsorpcijskog procesa (20 – 30 min).⁷⁴ Za provedbu analize eksperimentalnih podataka primjenom Lagergrenovog modela potrebno je pretpostaviti vrijednost q_e na lijevoj strani izraza (2.8), što se najčešće provodi uzimanjem eksperimentalno određene vrijednosti adsorpcijskog kapaciteta za vrlo dugo vrijeme trajanja procesa, ovisno o ispitivanom sustavu ili ekstrapolacijom eksperimentalnih podataka.⁷⁴

Kinetički model reakcije drugog reda (brzina reakcije je proporcionalna kvadratu koncentracije reaktanta) koja ovisi samo o jednom reaktantu (A) može se prikazati sljedećom jednačbom (2.9):

$$r'' = k'' \cdot c'_A{}^2 \quad (2.9)$$

Analogno prethodnom postupku može se prikazati Hoov model⁷⁶ za brzinu adsorpcije tzv. pseudo – drugog reda, jednačba (2.10):

$$r_2 = \frac{dq}{dt} = k_2 \cdot (q_e - q_t)^2 \quad (2.10)$$

gdje je k_2 konstanta brzine adsorpcije pseudo – drugog reda ($\text{g mg}^{-1} \text{ min}^{-1}$). Linearni oblik prikazan je jednačbom (2.11):

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 \cdot q_e^2} + \frac{1}{q_e} \cdot t \quad (2.11)$$

q_e i k_2 mogu se odrediti na temelju eksperimentalno dobivenih podataka ovisnosti adsorpcijskog kapaciteta o vremenu, odnosno iz linearne ovisnosti t/q o t . Za primjenu ovog modela vrijednost q_e ne treba procijeniti na temelju eksperimentalnih podataka.⁷⁴

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. Materijali

3.1.1. Otpadna voda iz procesa proizvodnje maslinovog ulja (OVM)

Ispitivana otpadna voda, nastala tijekom procesa proizvodnje maslinovog ulja, porijeklom je iz uljara sjevernog i južnog priobalja Republike Hrvatske. Otpadna voda pohranjena je u plastičnim spremnicima u zamrzivaču na temperaturi od -18 °C.

3.1.2. Adsorbensi

Adsorbensi koji su se koristili u eksperimentima su (slika 8.): aktivni ugljik (Silcarbon K835, Njemačka), modificirana komina masline (Istra, Hrvatska) i kora banane (kućanski otpad). Veličine čestica aktivnog ugljika, modificirane komine maslina i kore banane iznosile su 0,6 - 2,4 mm, 0,5 – 2 mm, odnosno 2 – 5 mm.

Aktivni ugljik je u svim pokusima prethodno opran u razrijeđenoj klorovodičnoj kiselini i osušen na 105 °C. Komina masline modificirana je stajanjem u kiselom mediju ($m(\text{konc.H}_2\text{SO}_4)/m(\text{komine}) = 1/8$) 48 sati te po završetku modifikacije isprana je s 1 mol dm^{-3} NaOH i deioniziranom vodom te osušena na 105 °C. Kora banane je isprana deioniziranom vodom te osušena na 105 °C.



Slika 8. Ispitivani adsorbensi: (a) aktivni ugljik, (b) modificirana komina masline i (c) kora banane.

3.1.3. Biosorbensi

Plijesni *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp. izolirani su iz OVM, održavani su precjepljivanjem na kosu hranjivu podlogu, sladni agar, i inkubirani su na 28 °C, 3-5 dana. Iz izoliranih čistih kultura uzgojila su se micelijska zrnca u svrhu provođenja biosorpcije.

3.1.4. Hranjive podloge za uzgoj mikroorganizama

Za određivanje ukupnog broja bakterija i gljiva (funga) priređivane su u Erlenmeyer tikvicama hranjive podloge prema uputama proizvođača (Biolife Manual, second edition, Ingraf, Italija 1991.). Hranjivi agar korišten je za uzgoj bakterija, a sladni (malt) agar za uzgoj gljiva.

3.2 Kemikalije i otopine

Korištene kemikalije su čistoće p.a., proizvođača „KEMIKA“ Zagreb, odnosno „MERCK“ Darmstad.

- Korištena je deionizirana voda s električnom provodnošću $\kappa < 1 \mu\text{S cm}^{-1}$;
- KPK reagens, živin (II) sulfat;
- 4-Aminoantipyrine, $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}$, SigmaAldrich
- Kalijev dihidrogenfosfat, KH_2PO_4 , Gram-Mol d.o.o.,
- Kalijev hidrogenfosfat trihidrat, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$, Merck,
- Kalijev heksacianoferat (III), $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, Kemika,
- Klorovodična kiselina, 37 %, HCl, Carlo ErbaReagents,
- Sumporna kiselina, 96 %, H_2SO_4 , Lach-Ner d.o.o.,
- Natrijev hidroksid, NaOH, Gram-Mol d.o.o.
- Natrijev klorid, NaCl, Carlo ErbaReagents.

3.3. Instrumenti

- Za određivanje pH vrijednosti i vodljivosti korišten je uređaj Multi 340i WTW, SAD.
- Za mikroskopiranje preparata korišten je mikroskop Olympus BX50.
- Koncentracija fenola, KPK vrijednost i boja određivali su se na spektrofotometru HACH, DR2400, SAD.
- Eksperimenti su se provodili na rotacijskoj tresilici Heidolph, Unimax 1010, Heidolph – Inkubator 1000, Njemačka.

- Sustav za vakuum filtracijom: vakuum pumpa, Sartorius lijevak i membranski filter (0,45 μm).
- Za homogeniziranje priređenih razrjeđenja korišten je homogenizator REAX top, Heidolph, Njemačka.
- Uzgoj mikroorganizama provoden je u termostatima, Termomedicinski aparati, Hrvatska.
- Sušionik Termomedicinski aparati (TMA), Bodalec i Bodalec, Hrvatska, korišten je za sušenje uzorka.
- Za precizno vaganje korištena je vaga Sartorius BP 210, Njemačka.
- Za sterilizaciju hranjivih podloga, čistog i nečistog staklenog posuđa korišten je autoklav Sutjeska, Jugoslavija.

3.4. Analitički postupci

3.4.1. Fizikalno-kemijska analiza otpadne vode

Koncentracija suspendirane tvari određivana je prema standardnoj metodi⁷⁷ filtriranjem po 5 cm^3 uzorka otpadne vode kroz membranski filter veličine pora 0,45 μm koji je potom osušen na 105 °C do konstantne mase. Vrijednosti pH te električna vodljivosti određene su pH elektrodom odnosno konduktometrijskom ćelijom (slika 10.).



Slika 10. Uređaj za mjerenje pH vrijednosti i vodljivosti Multi 340i WTW.

3.4.2. Određivanje koncentracije fenola

Koncentracija fenola određivana je spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 500 nm prema standardnoj metodi 4-aminoantipyrin-om.⁷⁷

3.4.3. Određivanje vrijednosti kemijske potrošnje kisika (KPK)

Organsko opterećenje izraženo kao kemijska potrošnja kisika ($\text{mg O}_2 \text{ dm}^{-3}$) određeno je spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 670 nm prema standardnoj metodi.⁷⁷

3.4.4. Određivanje boje u uzorku otpadne vode

Boja uzoraka otpadne vode određivana je spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 400 nm.

3.4.5. Mikrobiološka analiza otpadne vode

Ukupan broj živih stanica bakterija i gljiva (CFU; Colony Forming Units) određivan je naciepljivanjem po 1 cm^3 dobro homogenizirane OVM, originalnog uzorka te određenog decimalnog razrjeđenja, u Petrijeve zdjelice koje su zalivene hranjivim agarom odnosno sladnim agarom. Petrijeve zdjelice inkubirane su pri $37 \text{ }^\circ\text{C}$, 24 - 48 h, za bakterije, odnosno pri $28 \text{ }^\circ\text{C}$, 3 - 5 dana, za gljive, a broj mikroorganizama određivan je brojanjem izraslih kolonija i rezultat je izražen kao CFU cm^{-3} .

Kolonije mikroorganizama (kvasci i plijesni) koje su izrasle na podlozi više puta su precjepljivane tehnikom iscrpljivanja na sladni agar kako bi se dobila čista kultura i zasebne kolonije. Identifikacija kvasaca i plijesni provodila se korištenjem API stripa 20 C AUX, odnosno mikroskopiranjem pod povećanjem od 400 x i pregledom morfoloških značajki.



Slika 11. Svjetlosni mikroskop Olympus BX50.

3.5. Remedijacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja

3.5.1. Taloženje i filtracija onečišćujućih tvari iz OVM

Uklanjanje suspendiranih tvari OVM provedlo se postupcima taloženja i filtracije. Taloženje se provelo u Immhoff-ovom lijevku ukupnog volumena 1 dm³. Bistri dio se dekantirao i filtrirao kroz naborani filter papir veličine pora od 12 – 14 μm. Dobiveni filtrat koristio se u daljnjim ispitivanjima.

3.5.2. Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na različite adsorbense

Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM-a na odabranim adsorbensima, aktivni ugljik, modificirana komina masline i kora banane, ispitana je u diskontinuiranim uvjetima rada, pokus P1. Masa adsorbensa iznosila je 0,5 g, a volumen otpadne vode 50 cm³. Pokusi, P1-I, P1-II i P1-III, provedeni su na termostatisanoj rotacijskoj tresilici (slika 12.) pri 25 °C i brzini okretaja 180 o min⁻¹ tijekom 24 sata (tablica 2.). U određenom vremenskom intervalu iz tikvica izuzimani su određeni alikvoti, filtrirani kroz Sartorius membranski filter (pore 0,45 μm) te su spektrofotometrijski praćene koncentracije fenola te KPK vrijednosti.



Slika 12. Rotacijska tresilica Unimax 1010, Heidolph – Inkubator 1000.

Tablica 2. Početne vrijednosti za pokus P1.

	POKUS P1		
	P1-I	P1-II	P1-III
Adsorbens	Aktivni ugljik	Modificirana komina maslina	Kora banane
pH / -	5,50	3,04	5,71
λ / mS cm⁻¹		2,79	
γ_0 (fenoli) / mg dm⁻³		57	
γ_0 (KPK - vrijednost) / mg O₂ dm⁻³		7.977	

3.5.3. Utjecaj mase aktivnog ugljika na adsorpciju fenola i organskih tvari iz OVM

U pokusu P2 provedena je adsorpcija fenola i organske tvari na aktivni ugljik u diskontinuiranim uvjetima rada pri različitim početnim masama aktivnog ugljika, tablica 3. Volumen otpadne vode iznosio je 100 cm³. Pokusi, P2-I, P2-II, P2-III i P2-IV, provedeni su na termostatiranoj rotacijskoj tresilici pri 25 °C i brzini okretaja 180 o min⁻¹ tijekom 7 sati. U određenim vremenskim intervalima iz tikvica izuzimani su određeni alikvoti, filtrirani kroz Sartorius membranski filter (pore 0,45 μm) te su spektrofotometrijski praćene koncentracije fenola te KPK vrijednosti.

Tablica 3. Početne vrijednosti za pokus P2.

	POKUS P2			
	P2-I	P2-II	P2-III	P2-IV
m (adsorbensa) / g	1	2	3	5
pH / -			5,85	
λ / mS cm⁻¹			2,83	
γ_0 (fenoli) / mg dm⁻³			49	
γ_0 (KPK - vrijednost) / mg O₂ dm⁻³			7.088	

3.5.4. Adsorpcija fenola i organskih tvari na aktivni ugljik pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti

U pokusu P3 provedena je adsorpcija fenola i organskih tvari na aktivni ugljik pri različitim početnim koncentracijama OVM u diskontinuiranim uvjetima rada. Masa aktivnog ugljika iznosila je 5 g, a volumen otpadne vode 100 cm³. Pokusi, P3-I, P3-II, P3-III, P3-IV, P3-V i P3-VI, provedeni su na termostatiranoj rotacijskoj tresilici pri 25 °C i brzini okretaja 180 o min⁻¹ tijekom 7 sati (tablica 4.). U određenom vremenskom intervalu iz tikvica izuzimani su određeni alikvoti, filtrirani kroz Sartorius membranski filter (pore 0,45 μm) te su spektrofotometrijski praćene koncentracije fenola te KPK vrijednosti.

Tablica 4. Početne vrijednosti za pokus P3.

POKUS P3						
	P3-I	P3-II	P3-III	P3-IV	P3-V	P3-VI
pH / -	6,94	5,80	5,54	5,45	4,93	4,78
λ / mS cm ⁻¹	1,48	3,80	7,25	5,50	8,82	11,96
γ_0 (fenoli) / mg dm ⁻³	22	34	59	80	189	238
γ_0 (KPK - vrijednost) / mg O ₂ dm ⁻³	4.112	8.130	13.939	18.740	28.135	35.955

3.5.5. Uzgajanje micelijskih zrnaca plijesni *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp.

Iz izoliranih i čistih kultura plijesni, *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp, iz OVM uzgojila su se micelijska zrnca u svrhu provođenja biosorpcije. Podloga za uzgoj micelijskih zrnaca plijesni priređena je otapanjem 140 g saharoze, 2,50 g KH₂PO₄, 0,25 g MgSO₄ x 7H₂O, 2,50 g NH₄NO₃ u litri demineralizirane vodi u koju je dodano 1 cm³ prethodno priređenih otopina CuSO₄ x 5H₂O (0,024 g / 100 cm³ demineralizirane vode), ZnSO₄ x 7H₂O (0,110 g / 100 cm³ demineralizirane vode) te FeCl₃ x 6H₂O (0,200 g / 100 cm³ demineralizirane vode). Priređene podloge volumena 100 cm³ pipetirane su u Erlenmeyer tikvice i sterilizirane 30 minuta pri 0,5 atp i 110 °C.

U sljedećem koraku pripravljena je suspenzija spora plijesni, a broj spora odredio se pomoću Thomine komorice, koji je iznosio $2,6 \times 10^6$ st cm⁻³. U prethodno priređenu podlogu inokulirano je 1 cm³ dobro homogenizirane suspenzije spora. Erlenmeyer tikvice u kojima je bila podloga s inokuliranim sporama plijesni postavljene su na termostatiranu rotacijsku tresilicu pri 160 o min⁻¹, tijekom 24 - 48 sati.

3.5.6. Biosorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na micelijska zrnca *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp.

U pokusu P4 provedena je biosorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na prethodno uzgojena micelijska zrnca *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp. u diskontinuiranim uvjetima rada. Masa biosorbensa iznosila je 1 g_{VT} (vlažna tvar), odnosno 0,0269 g_{ST} (suha tvar) za *Aspergillus niger* i 0,0686 g_{ST} (suha tvar) za *Stachybotrys* sp., a volumen otpadne vode 100 cm³. Veličina peleta kulture *Aspergillus niger* bila je od 4 – 7 mm, a *Stachybotrys* sp. < 2 mm.

Pokusi, P4-I i P4-II, provedeni su na termostatiranoj rotacijskoj tresilici pri 25 °C i brzini okretaja 180 o min⁻¹ tijekom 3 sata, tablica 5. U određenom vremenskom intervalu iz tikvica izuzimani su određeni alikvoti primjenjujući sterilnu tehniku rada, filtrirani kroz Sartorius membranski filter (pore 0,45 µm) te je spektrofotometrijski praćena boja te koncentracije fenola i KPK vrijednosti.

Tablica 5. Početne vrijednosti za pokus P4.

POKUS P4		
	P4-I	P4-II
Biosorbens	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Stachybotrys sp.</i>
pH / -		5,09
Boja / -		1,45
γ₀ (fenoli) / mg dm⁻³		51
γ₀ (KPK - vrijednost) / mg O₂ dm⁻³		6.638

3.5.7. Biosorpcija fenola i organskih tvari na micelijska zrnca *Aspergillus niger* pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti

U pokusu P5 provedena je biosorpcija i biorazgradnja fenola i organskih tvari iz OVM, pri različitim početnim koncentracijama OVM, na micelijska zrnca *Aspergillus niger* u diskontinuiranim uvjetima rada. Masa biosorbensa iznosila je 2 g_{VT} odnosno 0,0538 g_{ST}, veličine peleta 5 – 7 mm, a volumen otpadne vode iznosio je 200 cm³. Pokusi, P5-I, P5-II i P5-III, provedeni su na termostatiranoj rotacijskoj tresilici pri 25 °C i brzini okretaja 180 o min⁻¹ tijekom 72 sata, tablica 6. U određenom vremenskom intervalu iz tikvica izuzimani su određeni alikvoti primjenjujući sterilnu tehniku rada, filtrirani kroz Sartorius membranski filter (pore 0,45 µm) te je spektrofotometrijski praćena boja te koncentracije fenola i KPK vrijednosti.

Tablica 6. Početne vrijednosti za pokus P5.

	POKUS P5		
	P5-I	P5-II	P5-III
pH / -	4,66	4,69	4,94
Abs (boja) / -	0,33	0,69	0,61
γ_0 (fenoli) / mg dm ⁻³	13	15	25
γ_0 (KPK - vrijednost) / mg O ₂ dm ⁻³	1.380	1.868	2.574

3.6. Bojanje micelijskih zrnaca metilenskim modrilom

Micelijska zrnca su sterilnom Paster pipetom prenesena na predmetnicu nakon čega je na njih nanoseno puferirano metilensko modriilo. Na pripravak je položena pokrovnica i preparat je ostavljen 5 minuta da odstoji nakon čega je mikroskopiran.

4. REZULTATI

4.1. Fizikalno-kemijska karakterizacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja

U tablici 7. dani su rezultati fizikalno-kemijske karakterizacije otpadne vode iz proizvodnje maslinovog ulja (OVM).

Tablica 7. Fizikalno kemijska karakterizacija OVM.

pH / -	λ / mS cm ⁻¹	γ (fenoli) / mg dm ⁻³	γ (KPK - vrijednost) / mg O ₂ dm ⁻³	γ (suspendirane tvari) / g dm ⁻³
4,94	11,54	370	62.640	12,55

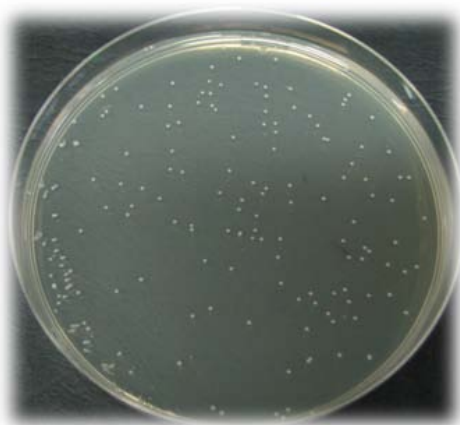
4.2. Mikrobiološka analiza otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja

U tablici 8. dani su rezultati ukupnog broja izraslih kolonija bakterija i gljiva na hranjivom i sladnom agaru.

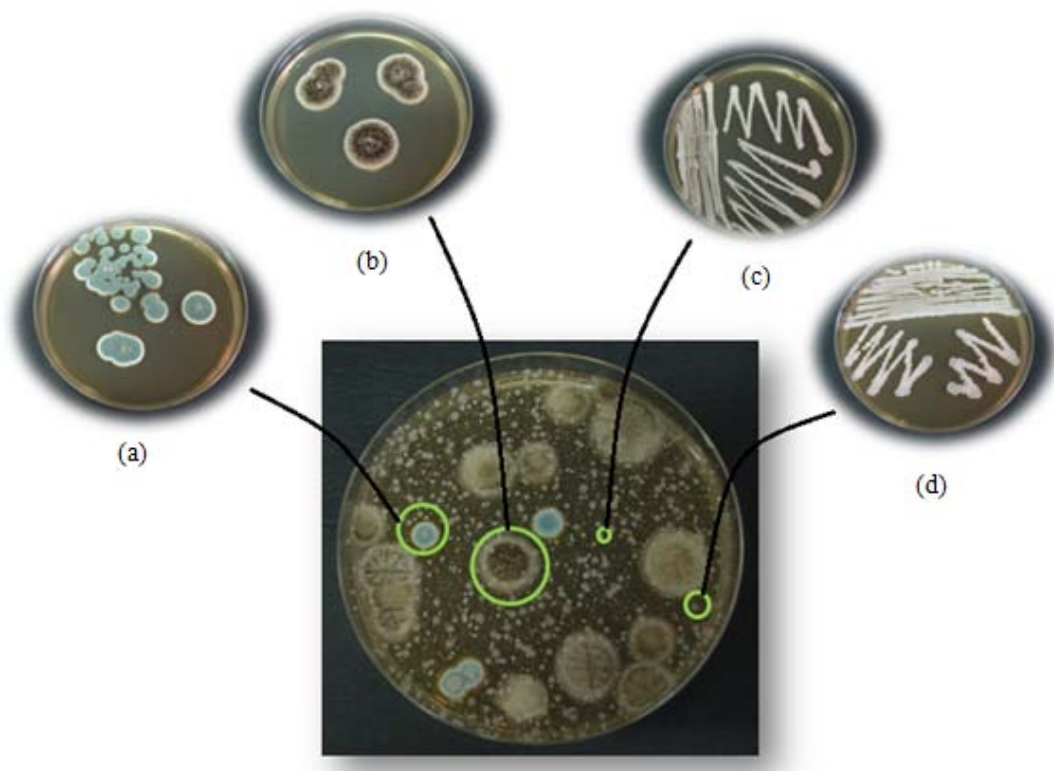
Tablica 8. Ukupan broj izraslih kolonija mikroorganizama na hranjivom i sladnom agaru.

Hranjiva podloga	CFU / st cm ⁻³
Hranjivi agar	$2,1 \times 10^7$
Sladni agar	$4,2 \times 10^3$

U slikama 13 i 14. prikazane su kulture bakterija i gljiva (kvasci i plijesni) koje su izrasle na hranjivom i sladnom agaru. Obilježene kolonije na sladnom agaru (slika 14.) su precijepljene na hranjivu podlogu tehnikom iscrpljivanja u više navrata kako bi se dobila čista kultura i provela identifikacija mikroorganizama.

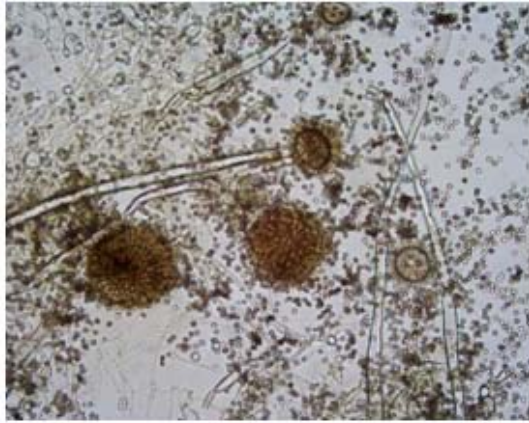


Slika 13. Kulture bakterija prisutne u OVM izrasle na hranjivom agaru.



Slika 14. Autohtone gljive prisutne u OVM; *Stachybotrys* sp. (a), *Aspergillus niger* (b), *Cryptococcus neoformans* (c) i *Candida guilliermondii* (d).

Mikroskopiranjem čistih kultura plijesni i pregledom morfoloških značajki ustanovljeno je da su najzastupljenije autohtone vrste u OVM *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp..



(a)



(b)

Slika 15. Mikrofotografija stanica *Aspergillus niger* (a) i *Stachybotrys* sp.(b), P = 400×.

Dvije različite kolonije kvasaca izolirane iz OVM identificirane su API stripom 20 C AUX (slika 16) te je utvrđeno da se radi o kulturama *Cryptococcus neoformans* i *Candida guilliermondii* (slika 17).



Slika 16. Prikaz API stripa 20 C AUX za identifikaciju kvasaca.



(a)



(b)

Slika 17. Mikrofotografija stanica kvasaca *Cryptococcus neoformans* (a), *Candida guilliermondii* (b), P = 400×.

4.3. Remedijacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja

U poglavlju 4.3.1 prikazani su rezultati uklanjanja onečišćujućih tvari procesima taloženja i filtracije. U poglavljima od 4.3.2. do 4.3.4. prikazani su rezultati adsorpcije fenola, organske tvari izražene kao KPK vrijednost, a u poglavljima od 4.3.5. do 4.3.7. biosorpcija fenola, organske tvari izražene kao KPK vrijednost i boje.

4.3.1. Taloženje i filtracija onečišćujućih tvari iz OVM

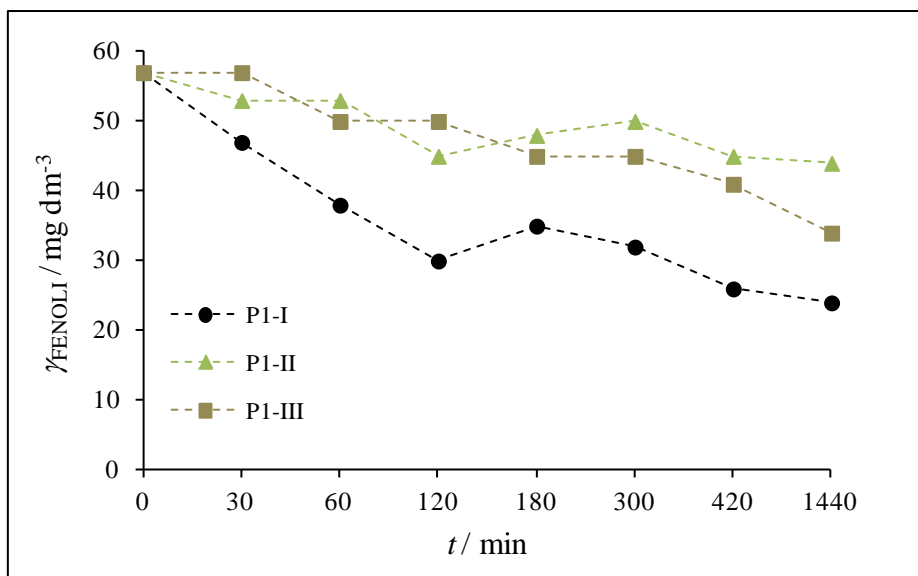
U tablici 9. dani su rezultati fizikalno-kemijske karakterizacije OVM nakon predobrade OVM procesima taloženja i filtracije suspendiranih tvari.

Tablica 9. Fizikalno-kemijska karakterizacija OVM nakon predobrade OVM.

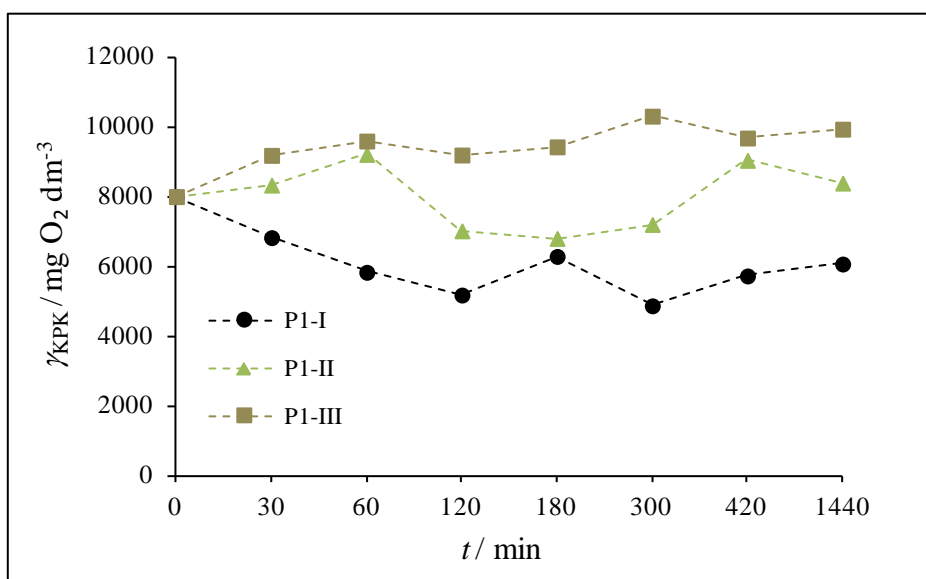
Postupci predobrade OVM	γ (KPK - vrijednost) / $\text{mg O}_2 \text{ dm}^{-3}$	γ (fenoli) / mg dm^{-3}	γ (suspendirane tvari) / g dm^{-3}	pH / -	λ / mS cm^{-1}
Taloženje	45.350	265	1,46	5,03	11,54
Filtracija	36.780	260	0,66	5,15	

4.3.2. Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na različite adsorbense

Adsorpcija fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost iz OVM na različite adsorbense, aktivni ugljik (P1-I), modificiranu kominu masline (P1-II) i koru banane (P1-III), opisana je u poglavlju 3.5.2. i prikazana u slikama 18. i 19. Početna koncentracija fenola iznosila je 57 mg dm^{-3} , a KPK vrijednost $7.977 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3}$. Pokus se provodio 24 sata. U tablici 10. dane su pH vrijednosti i vodljivosti na početku i na kraju pokusa P1.



Slika 18. Promjena koncentracije fenola tijekom 24 sata u pokusu P1 ($m = 0,5$ g, $V = 50$ cm³, $T = 25$ °C i 180 o min⁻¹).



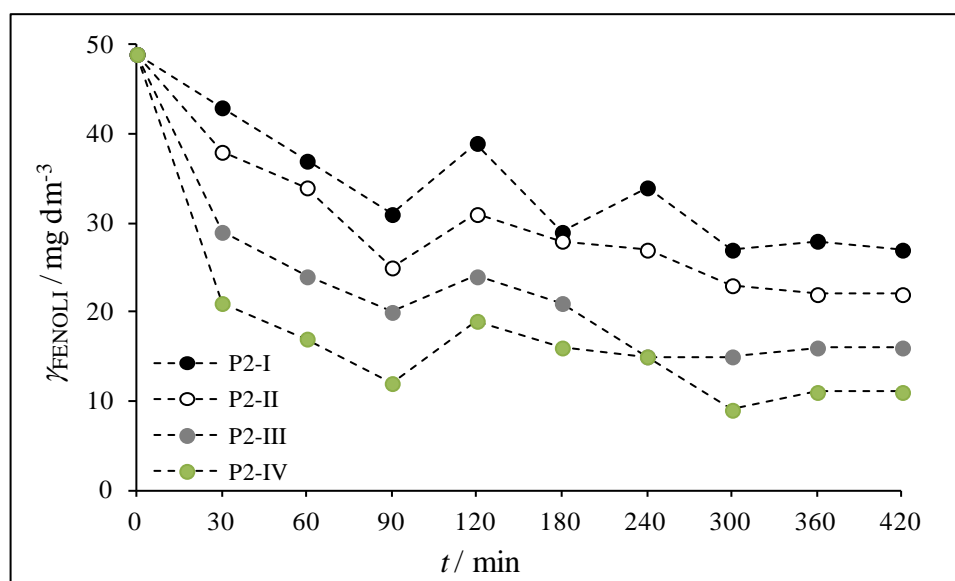
Slika 19. Promjena KPK vrijednosti tijekom 24 sata u pokusu P1 ($m = 0,5$ g, $V = 50$ cm³, $T = 25$ °C i 180 o min⁻¹).

Tablica 10. Izmjerene pH vrijednosti i električne vodljivosti na početku i kraju provedenog pokusa P1.

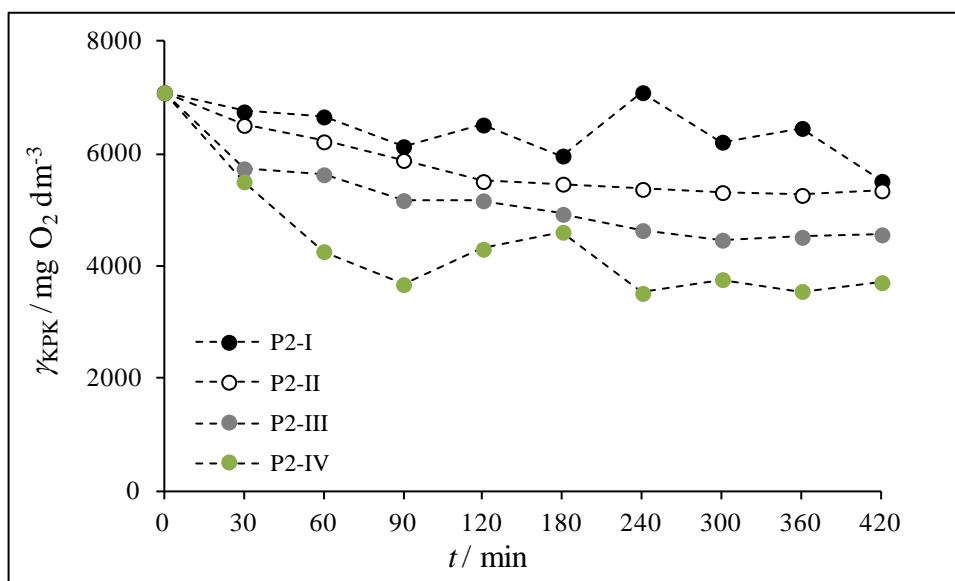
	pH / -		λ / mS cm ⁻¹	
	Početak	Kraj	Početak	Kraj
P1-I	5,50	6,17		2,80
P1-II	3,04	2,75	2,79	5,75
P1-III	5,71	6,12		3,90

4.3.3. Utjecaj mase aktivnog ugljika na adsorpciju fenola i organskih tvari iz OVM

Adsorpcija fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost iz OVM na aktivni ugljik pri različitim masama (1 g (P2-I), 2 g (P2-II), 3 g (P2-III), 5 g (P2-IV)) opisana je u poglavlju 3.5.3. i prikazana u slikama 20. i 21. Početna koncentracija fenola iznosila je 49 mg dm⁻³, a KPK vrijednost 7.088 mg O₂ dm⁻³. Pokus se provodio sedam sati. U tablici 11. dane su pH vrijednosti i vodljivosti na početku i na kraju pokusa P2.



Slika 20. Promjena koncentracije fenola tijekom sedam sati u pokusu P2 ($V = 100 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ i 180 o min^{-1}).



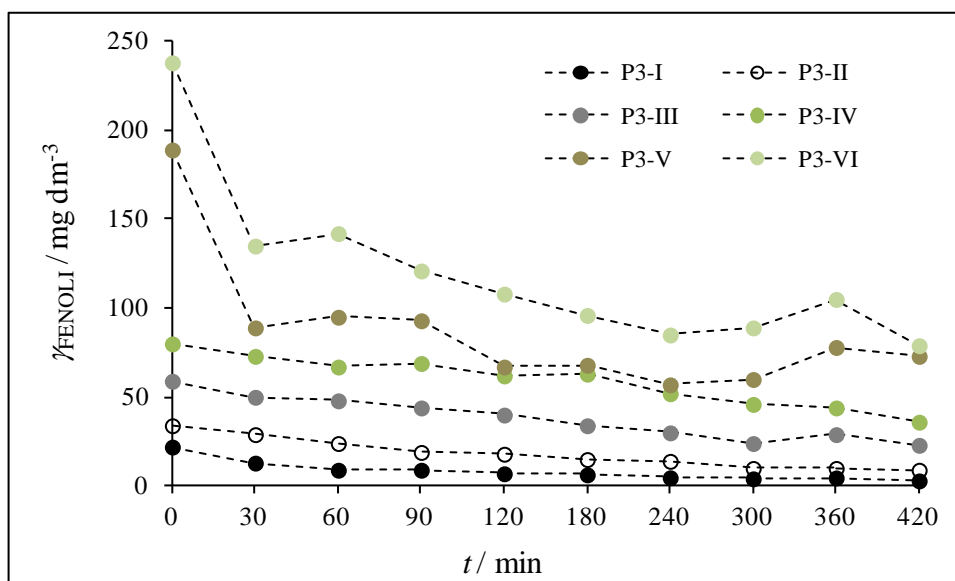
Slika 21. Promjena KPK vrijednosti tijekom sedam sati u pokusu P2 ($V = 100 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ i 180 o min^{-1}).

Tablica 11. Izmjerene pH vrijednosti i električne vodljivosti na početku i kraju provedenog pokusa P2.

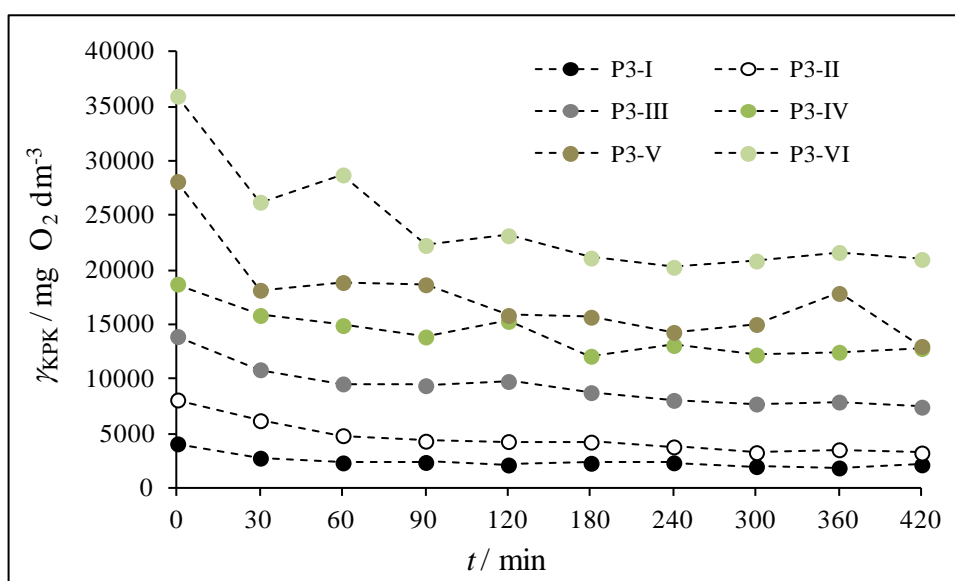
	pH / -		$\lambda / \text{mS cm}^{-1}$	
	Početak	Kraj	Početak	Kraj
P2-I		5,63		2,80
P2-II		6,01		2,81
P2-III	5,25	6,36	2,82	2,84
P2-IV		6,83		2,90

4.3.4. Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na aktivni ugljik pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti

Adsorpcija fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost iz OVM na aktivni ugljik pri različitim početnim koncentracijama fenola i organske tvari (P3-I do P3-VI) opisana je u poglavlju 3.5.4. i prikazana u slikama 22. i 23. Pokus se provodio sedam sati. U tablici 12. dane su pH vrijednosti i vodljivosti na početku i na kraju pokusa P3.



Slika 22. Promjena koncentracije fenola tijekom sedam sati u pokusu P3 ($m = 5$ g, $V = 100$ cm^3 , $T = 25$ $^\circ\text{C}$ i 180 o min^{-1}).



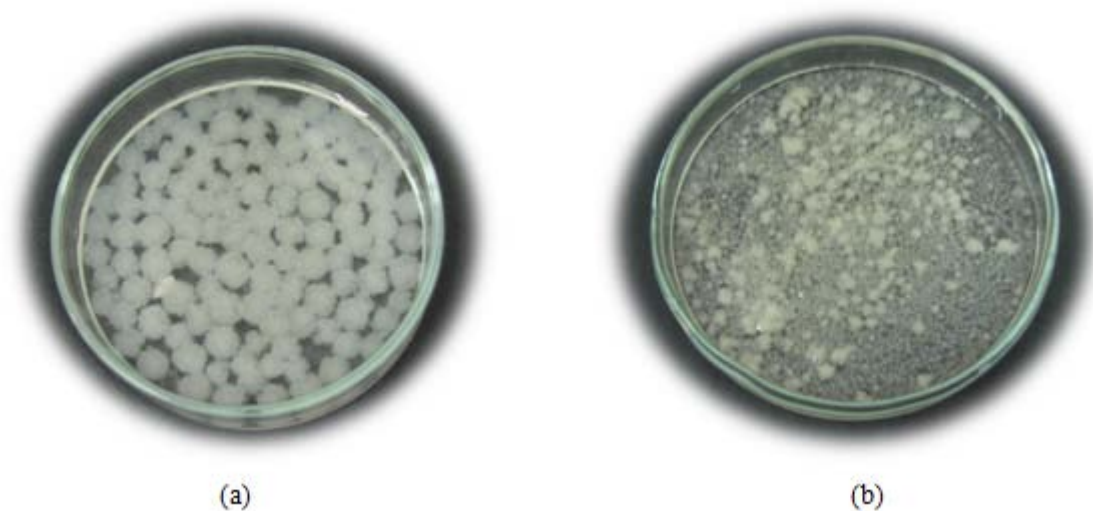
Slika 23. Promjena KPK vrijednosti tijekom sedam sati u pokusu P3 ($m = 5$ g, $V = 100$ cm^3 , $T = 25$ $^\circ\text{C}$ i 180 o min^{-1}).

Tablica 12. Izmjerene pH vrijednosti i električne vodljivosti na početku i kraju provedenog pokusa P3.

	pH / -		λ / mS cm ⁻¹	
	početak	kraj	početak	kraj
P3-I	6,94	8,18	1,48	1,66
P3-II	5,80	7,25	3,80	3,95
P3-III	5,54	6,80	7,25	5,63
P3-IV	5,45	6,66	5,50	7,43
P3-V	4,93	6,35	8,82	9,20
P3-VI	4,78	5,90	11,96	12,28

4.3.5. Uzgoj micelijskih zrnaca plijesni *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp.

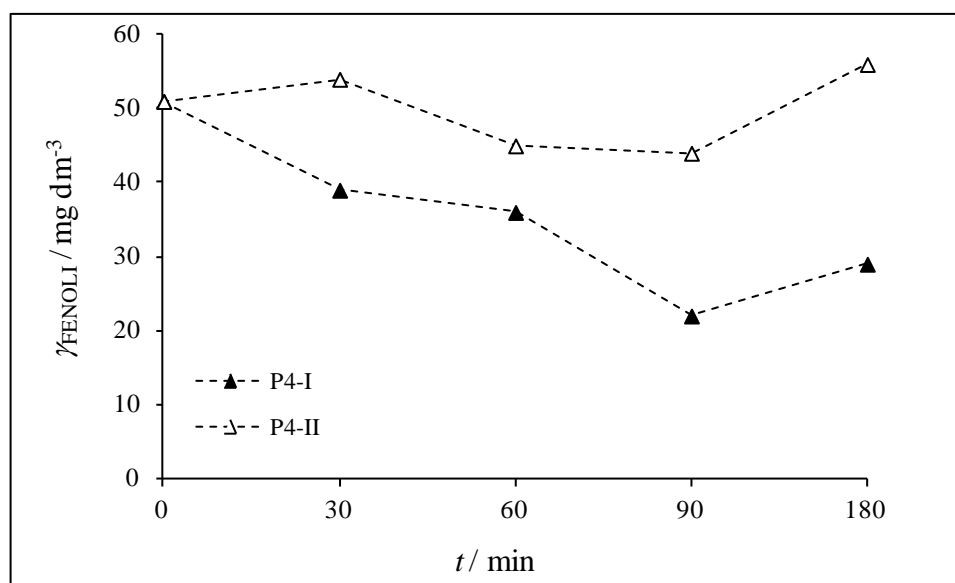
Uzgoj micelijskih zrnaca plijesni *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp. opisan je u poglavlju 3.5.5. U slici 23. prikazani su peleti *Aspergillus niger* promjera 4 – 7 mm i *Stachybotrys* sp. promjera < 2 mm.



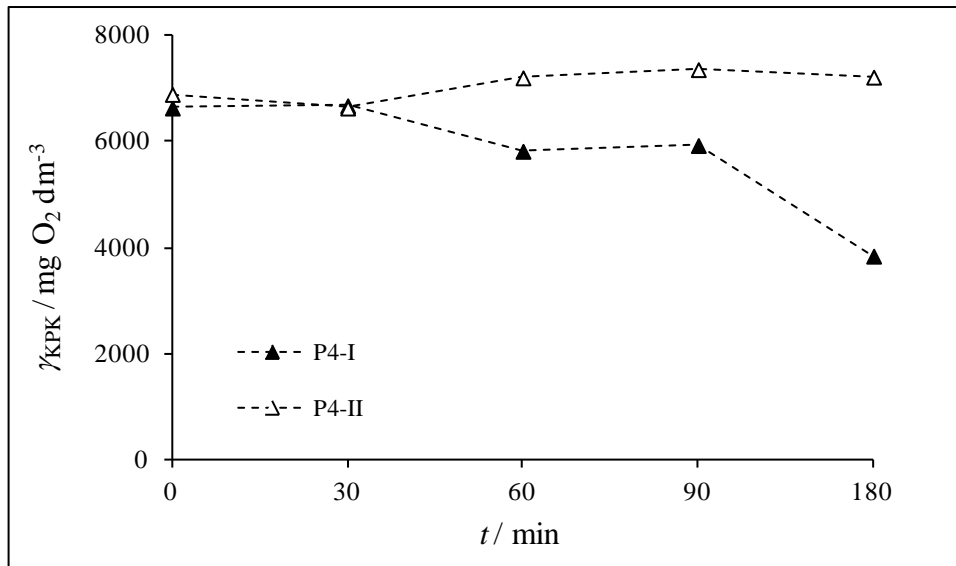
Slika 24. Uzgojena micelijska zrnca kultura *Aspergillus niger* (a) i *Stachybotrys* sp. (b).

4.3.6. Biosorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na micelijska zrnca *Aspergillus niger* i *Stachybotrys sp.*

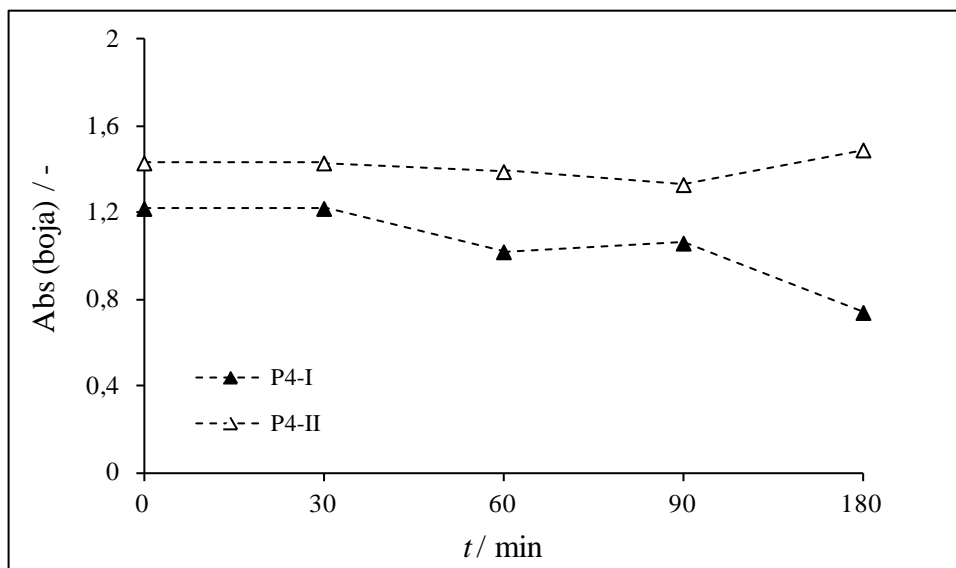
Biosorpcija fenola i organskih tvari izražene kao KPK vrijednost iz OVM na micelijska zrnca *Aspergillus niger* (P4-I) i *Stachybotrys sp.* (P4-II) opisana je u poglavlju 3.5.6. i prikazana u slikama 25., 26. i 27. Početna koncentracija fenola iznosila je 51 mg dm^{-3} , KPK vrijednost $6638 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3}$, a apsorbanca boje je 1,45 pri $\lambda = 400 \text{ nm}$. Pokus se provodio tri sata. U slikama 28. i 29. prikazani su peleti *Aspergillus niger* i *Stachybotrys sp.* prije i nakon biosorpcije.



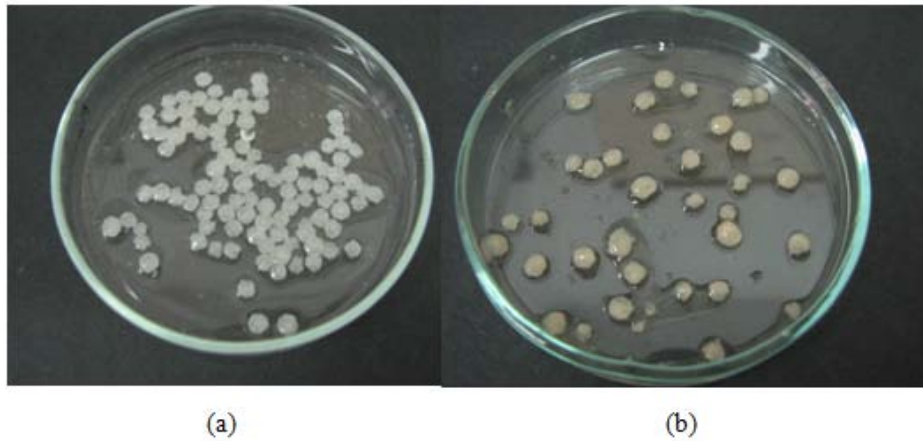
Slika 25. Promjena koncentracije fenola tijekom tri sata u pokusu P4 (m (vlažne tvari) = 1 g, $V = 100 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ °C}$ i 180 o min^{-1}).



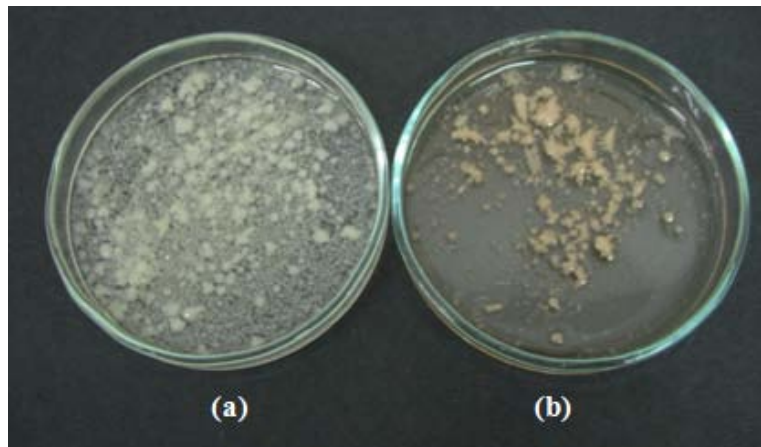
Slika 26. Promjena KPK vrijednosti tijekom tri sata u pokusu P4 (m (vlažne tvari) = 1 g, $V = 100 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ °C}$ i 180 o min^{-1}).



Slika 27. Promjena apsorbance boje u uzorku OVM tijekom tri sata u pokusu P4 (m (vlažne tvari) = 1 g, $V = 100 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ °C}$ i 180 o min^{-1}).



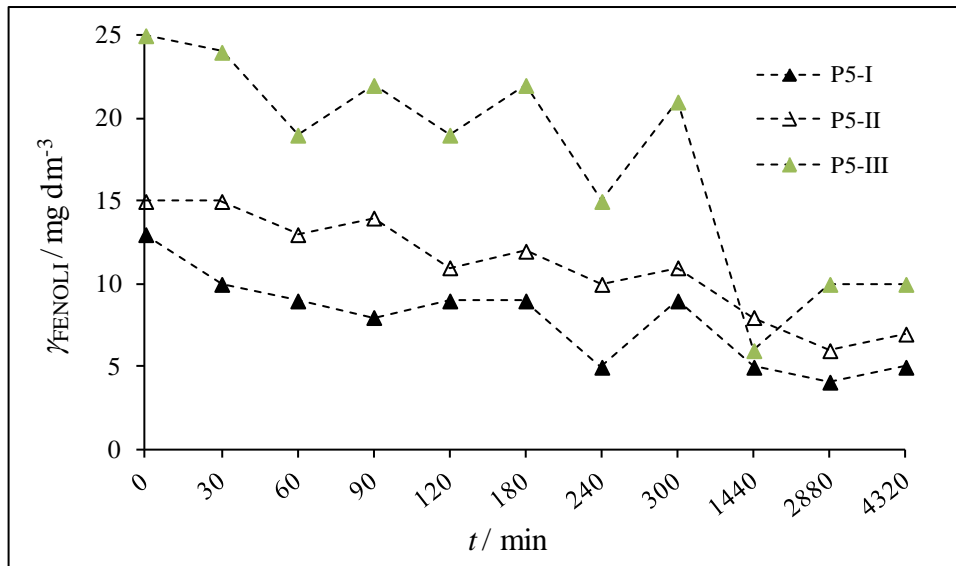
Slika 28. Micelijska zrnca *Aspergillus niger*-a prije (a) i nakon (b) procesa biosorpcije.



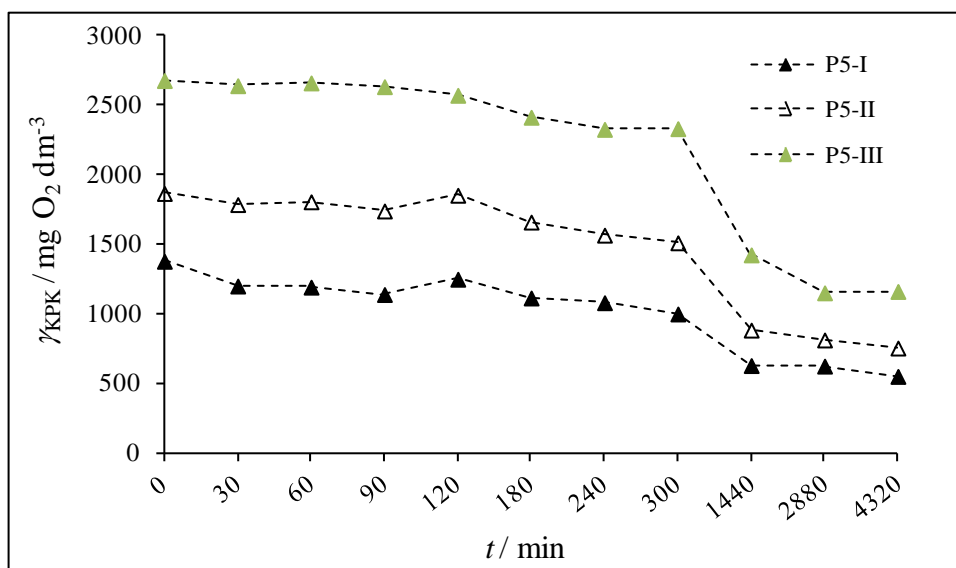
Slika 29. Micelijska zrnca *Stachybotrys* sp. prije (a) i nakon (b) procesa biosorpcije.

4.3.7. Biosorpcija fenola i organskih tvari na micelijska zrnca *Aspergillus niger* pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti

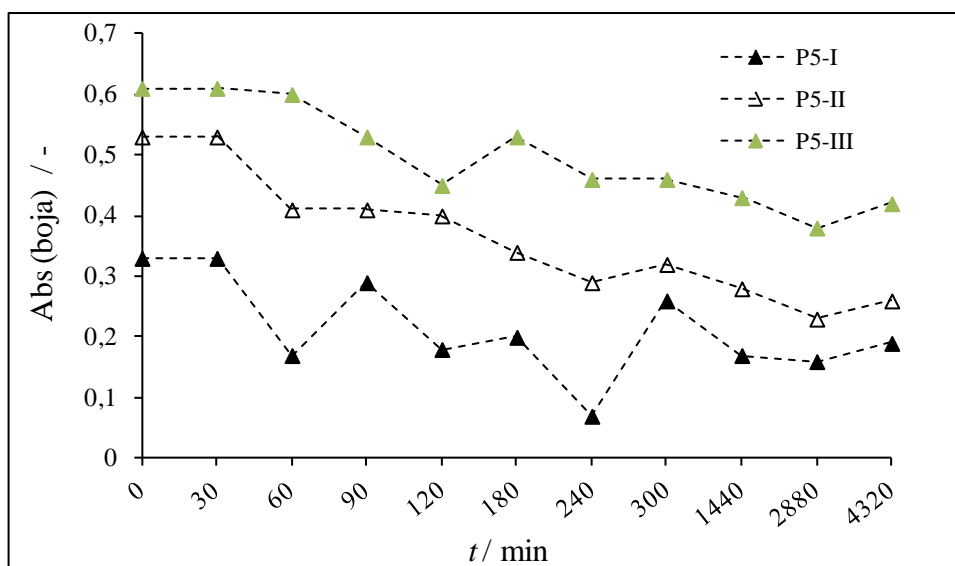
Biosorpcija fenola i organskih tvari izražene kao KPK vrijednost iz OVM na micelijska zrnca *Aspergillus niger* pri različitim početnim koncentracijama fenola i organske tvari (P5-I, P5-II i P5-III) opisana je u poglavlju 3.5.7. i prikazana u slikama 30., 31. i 32. Pokus se provodio 72 sata. U slici 33. prikazana su micelijska zrnca *Aspergillus niger* nakon 72 sata za pokus P5-I, P5-II i P5-III.



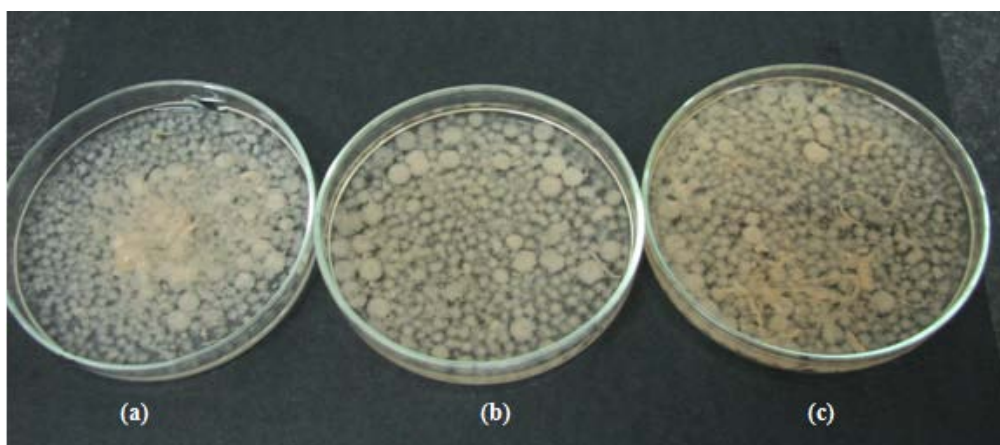
Slika 30. Promjena koncentracije fenola tijekom 72 sata u pokusu P5 (m (vlažne tvari) = 2 g, veličina peleta 5 - 7 mm, $V = 200 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ °C}$ i 180 o min^{-1}).



Slika 31. Promjena KPK vrijednosti tijekom 72 sata u pokusu P5 (m (vlažne tvari) = 2 g, veličina peleta 5 - 7 mm, $V = 200 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ °C}$ i 180 o min^{-1}).



Slika 32. Promjena apsorbance boje u uzorku OVM tijekom 72 sata u pokusu P5 (m (vlažne tvari) = 2 g, veličina peleta 5 - 7 mm, $V = 200 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ i 180 o min^{-1}).



Slika 33. Micelijska zrnca *Aspergillus niger*-a 72 sata (P5-I (a), P5-II (b), P5-III (c)).

4.4. Bojanje micelijskih zrnaca metilenskim modrilom

Bojanje micelijskih zrnaca opisano je u poglavlju 3.6. Slika 34. predstavlja mikroskopsku sliku obojanog micelijskog zrna *Aspergillus niger*-a pod ukupnim povećanjem od 100 x prije procesa biosorpcije, a slika 35. nakon procesa biosorpcije, tj. u 72 satu.

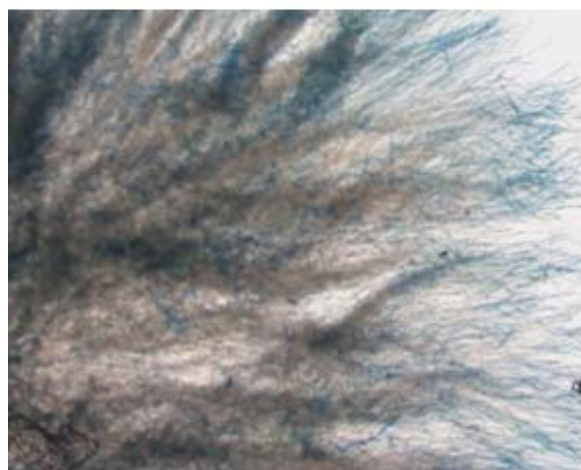


(a)



(b)

Slika 34. Mikrofotografija obojanog micelijskog zrna *Aspergillus niger* prije procesa biosorpcije.



(a)



(b)

Slika 35. Mikrofotografija obojanog micelijskog zrna *Aspergillus niger* nakon procesa biosorpcije, tj. u 72. satu.

5. RASPRAVA

U današnje vrijeme sve se više posvećuje zbrinjavanju nastalih industrijskih otpadnih tokova kako bi rizik za okoliš bio minimalan. Brojim zakonima⁶ regulirani su izlazni pokazatelji otpadnih tokova koje svaka industrija mora poštivati. Međutim, iako je nadzor otpadnih tokova kontroliran, problemi se javljaju primjerice u agroindustrijama sezonskog karaktera upravo zbog njihovog nastajanja u kratkom periodu godine. Proizvodnja maslinovog ulja odvija se u periodu od desetog do kraja dvanaestog mjeseca što je zapravo vrlo kratko razdoblje, a otpadni tokovi (otpadna voda i komina) koji nastaju su visoko opterećeni štetnim i toksičnim tvarima koje se moraju ukloniti prije ispuštanja u sustav javne odvodnje ili odlaganja na tlo. Postoje različite postupci remedijacije kojima se otpadna voda nastala u procesu proizvodnje maslinovog ulja može zbrinuti, među kojima je i proces adsorpcije, odnosno biosorpcije.^{7-9, 13-20,59-62}

Cilj ovog rada bio je ukloniti štetne i toksične tvari iz OVM procesima adsorpcije i biosorpcije. Ispitivanja koja su provedena na korištenim adsorbensima, aktivni ugljik, modificirana komina masline i kora banane, pokazala su da aktivni ugljik najučinkovitije uklanja organsku tvar izraženu kao KPK vrijednost i fenole, te povećava pH vrijednost otpadne vode. Proces biosorpcije proveden je na micelijskim zrcima izoliranih kultura plijesni iz OVM, *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp.. *Aspergillus niger* pokazao je bolje uklanjanje boje, organske tvari izražene kao KPK vrijednost te fenole od *Stachybotrys* sp..

5.1. Fizikalno-kemijska karakterizacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja

Prije samog postavljanja pokusa adsorpcije i biosorpcije provedena je fizikalno-kemijska karakterizacija OVM. Prema literaturi^{3-5,26-28} te iz tablice 7. može se vidjeti da OVM karakterizira niska pH vrijednost, visoka električna vodljivost, visoka koncentracija suspendiranih tvari, KPK vrijednosti i fenola. Svi ti pokazatelji ukazuju da je OVM izrazito opterećena organskom tvari i da se kao takva ne smije ispustiti u sustav javne odvodnje.

5.2. Mikrobiološka analiza otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja

Mikrobiološkom analizom utvrđen je ukupan broj bakterija i gljiva koji je iznosio $4,2 \times 10^3$ st cm^{-3} odnosno $1,9 \times 10^7$ st cm^{-3} , od toga je $1,56 \times 10^7$ st cm^{-3} kvasaca, a $3,4 \times 10^6$ st cm^{-3} plijesni.

Navedeni rezultati ukazuju da je OVM dobar medij za rast gljiva, odnosno plijesni i kvasca, zbog niske pH vrijednost OVM (tablica 7.) što pogoduje aktivnosti kvasaca i plijesni.^{9,42} Nadalje, otpadne vode iz proizvodnje maslinovog ulja sadrže šećere (tablica 1.) koji pogoduju rastu gljiva, jer su otpornije na osmotski tlak od bakterija, pa mogu rasti u okolišu s velikom koncentracijom šećera.⁵

Kulture iz OVM koje su izrasle na sladnom agaru i koje prevladavaju (dvije plijesni i dva kvasca) izolirane su i podvrgnute daljnjoj identifikaciji kako bi se utvrdilo o kojem se kvascu odnosno plijesni radi. Kvasci su identificirani API stripom (slika 16.), te očitavanjem biokemijskog profila API stripa utvrđeno je kako se radi o kulturama *Cryptococcus neoformans* (95 % uspješna identifikacija) te *Candida guilliermondii* (98 % uspješna identifikacija). Kultura *Cryptococcus neoformans* na hranjivoj podlozi tvori kolonije mliječno bijele boje okruglog oblika, nepravilnog ruba i ispupčenog rasta (slike 14 (c) i 17 (a)). Kultura *Candida guilliermondii* na hranjivoj podlozi također tvori kolonije mliječno bijele boje, sluzave i sjajne površine te okruglog do jajolikog oblika. Karakteristika ove kulture je da tvori pseudo-hife, (slike 14 (d) i 17 (b)).

Mikroskopskim pregledom i utvrđivanjem morfoloških karakteristika izolirane kulture plijesni su *Aspergillus niger* (slika 15 (a)) i *Stachybotrys* sp. (slika 15. (b)). *Aspergillus niger* je najpoznatija vrsta plijesni iz roda *Aspergillus*. Osnovna morfološka karakteristika je neseptirana hifa i glavica iz koje zrakasto rastu miceliji na kojima se nalaze spore crne boje. *Stachybotrys* sp. karakterizira plavkasto zelenkasta boja te konidiofori koji tvore metule na kojima se nalaze sterigme i lanci konidiospora.⁷⁸ Identificirane kulture kvasaca i plijesni su prema literaturi identificirane u OVM i u drugim istraživanjima.^{19,79}

5.3. Remedijacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja

5.3.1. Taloženje i filtracija onečišćujućih tvari iz OVM

Kako bi se uklonile suspendirane tvari iz OVM, provedeni su postupci taloženja i filtracije^{18,80}, a rezultati su prikazani u tablici 9. Iz tablice 7. vidljivo je kako je koncentracija suspendiranih tvari vrlo visoka i iznosi $12,55 \text{ g dm}^{-3}$, a nakon provedenog postupka taloženja koncentracija se smanjila na $1,46 \text{ g dm}^{-3}$, odnosno za 88,37 %, . Nadalje, koncentracija fenola se smanjila za 28,38 %, a KPK vrijednost za 27,60 %.

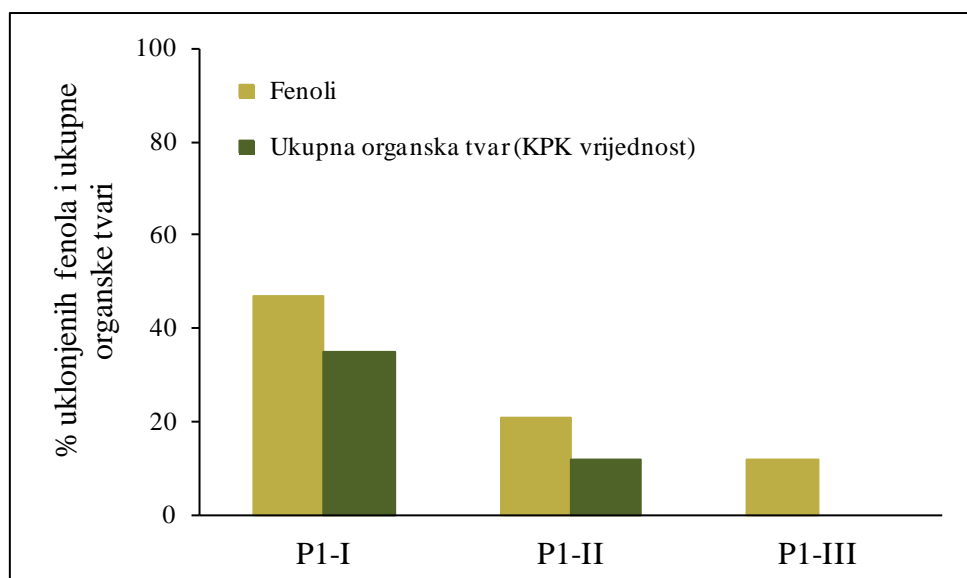
Nakon provedenog postupka taloženja uslijedila je filtracija kroz naborani filter papir. Postupak filtracije rezultirao je dodatnim uklanjanjem suspendirane tvari sa $1,46 \text{ g dm}^{-3}$ na $0,66 \text{ g dm}^{-3}$, odnosno za 54,79 %. Koncentracija fenola nije se značajno promijenila nakon filtracije u odnosu na taloženje, dok KPK vrijednost se smanjila sa $45.350 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3}$ na $36.780 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3}$, odnosno za 18,90 %.

5.3.2. Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na različite adsorbense

Provedena je adsorpcija fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost iz OVM na različite adsorbense, aktivni ugljik (P1-I), modificiranu kominu masline (P1-II) i koru banane (P1-III). Promjena koncentracije fenola i KPK vrijednosti praćena je 24 sata.

Iz slika 18. i 36. vidljivo je kako aktivni ugljik učinkovito uklanja fenole, 47 %, dok kora banane 23 %, a modificirana komina masline manje od 15 %. Prema istraživanju Achack i suradnika²⁰ kora banane adsorbirala je 34 % fenola iz OVM nakon 24 sata.²⁰ Nadalje, prema nekim istraživanjima komina masline i modificirana komina masline učinkovito uklanjaju fenole, dok prema nekima komina masline ne uklanja nego otpušta fenole koje sadrži.¹⁵ Prema istraživanju Stasinakisa i suradnika¹⁵ modificirana komina masline, pri masi od 1 g dm^{-3} adsorbensa, uklanja oko 18 % fenola iz OVM. U pokusu P1-I može se vidjeti da je u prvih 120 minuta najintenzivniji proces adsorpcije fenola, dok se u pokusu P1-III koncentracija fenola ravnomjerno smanjuje tijekom 24 sata.

Iz slika 19. i 36. može se vidjeti kako tijekom prvih 120 minuta pokusa vrijednost KPK se smanjila za 37,5 % primjenom aktivnog ugljika, odnosno za 12,5 % primjenom modificirane komine maslina. Vrijednost KPK se nije smanjivala tijekom vremena s obzirom na početnu koncentraciju prilikom adsorpcije na koru banane, već je neznatno porasla zbog otapanja nekih organskih tvari koje su prisutne u i na kori banane, npr. pesticidi, što je u skladu s drugim istraživanjima.²⁰ Nakon 120 minuta koncentracija KPK vrijednosti se neznatno mijenjala, odnosno izmjenjivali su se procesi adsorpcije i desorpcije.^{15,18}



Slika 36. Postotak uklonjenih fenola i ukupnog organskog opterećenja izraženog preko KPK vrijednosti u pokusu P1 nakon 120 minuta ($m = 0,5 \text{ g}$, $V = 50 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ °C}$ i 180 o min^{-1}).

U tablici 10. prikazane su početne i krajnje pH vrijednosti i električne vodljivosti u pokusu P1. U pokusu P1-I i P1-III pH vrijednost je porasla iz razloga što su aktivni ugljik i kora banane lužnati. P1-II ukazuje na nisku početnu pH vrijednost jer je komina masline modificirana koncentriranom sumpornom kiselinom, a tijekom vremena otpuštanjem H^+ iona došlo je do smanjenja pH vrijednosti otpadne vode. Električna vodljivost se nije mijenjala u pokusu P1-I, a u pokusima P1-II i P1-III se povećala zbog otapanja anorganskih tvari prisutnih u adsorbensima.

5.3.3. Utjecaj mase aktivnog ugljika na adsorpciju fenola i organskih tvari iz OVM

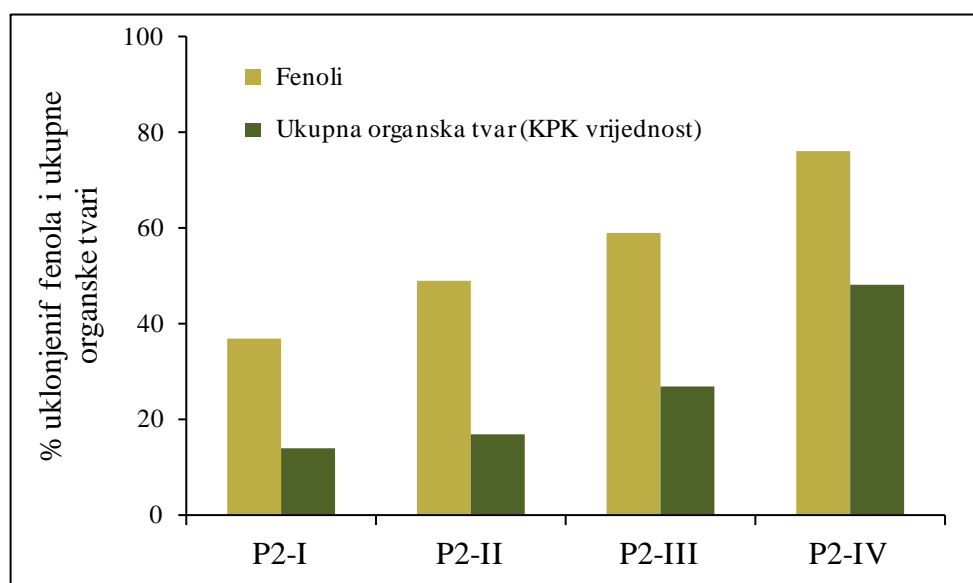
U pokusu P2 provedeno je ispitivanje utjecaja mase aktivnog ugljika (1 g (P2-I), 2 g (P2-II), 3 g (P2-III), 5 g (P2-IV)) na adsorpciju fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost iz OVM.

Iz slika 20. i 37. može se vidjeti kako se tijekom vremena koncentracija fenola smanjivala, te se najviše fenola adsorbiralo u prvih 90 minuta. Nadalje, što je masa aktivnog ugljika bila veća to se više fenola uklonilo⁹, odnosno u P2-I 37 %, P2-II 49 %, P2-III 59% te u P2-IV 76%.

U slikama 21. i 37. prikazana je promjena KPK vrijednosti za pokus P2 i postotak uklonjene organske tvari izražene preko KPK vrijednosti. Koncentracija KPK vrijednosti se tijekom vremena smanjivala, te se najviše organske tvari uklonilo u prvih 90 minuta.

Nadalje, porastom mase aktivnog ugljika povećala se učinkovitost uklanjanja organske tvari, odnosno u P2-I je uklonilo 14 %, u P2-II 17 %, u P2-III 27 % te u P2-IV 48 %.¹⁸ Nakon 90 minuta koncentracija fenola i organske tvari se naizmjenično povećavala i smanjivala, odnosno izmjenjivali su se procesi adsorpcije i desorpcije.

U tablici 11. prikazane su početne i krajnje izmjerene pH vrijednosti i električne vodljivosti u pokusu P2.. Električna vodljivost se nije mijenjala tijekom procesa, dok se pH vrijednost povećavala s povećanjem mase aktivnog ugljika zbog njegove lužnate prirode.



Slika 37. Postotak uklonjenih fenola i ukupnog organskog opterećenja izraženog kao KPK vrijednost u pokusu P2 nakon 90 minuta ($V = 100 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$ i 180 o min^{-1}).

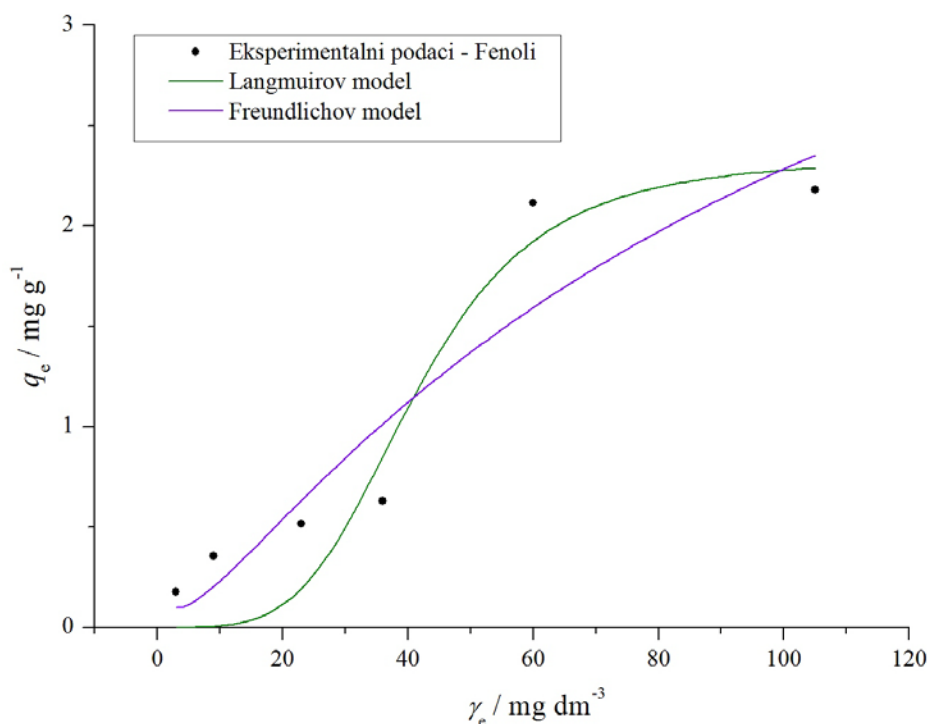
5.3.4. Adsorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na aktivni ugljik pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti

U pokusu P3 ispitivana je adsorpcija fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost iz OVM na aktivni ugljik pri različitim početnim koncentracijama fenola i organske tvari (P3-I do P3-VI)

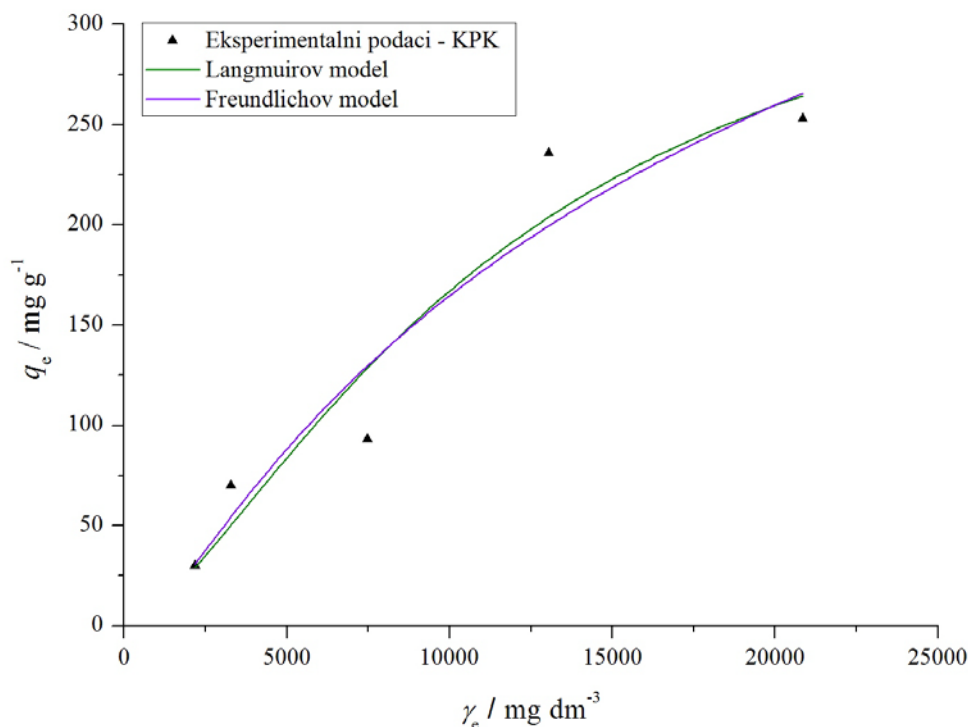
U slikama 38. i 39. prikazane su adsorpcijske izoterme za aktivni ugljik prilikom adsorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost pri danim uvjetima procesa. Adsorpcijske izoterme opisuju interakciju između adsorbata i adsorbensa, odnosno prikazuju ovisnost ravnotežne koncentracije o masi adsorbirane tvari po masi adsorbensa, te zbog toga su bitne pri odabiru adsorbensa i optimiziranju procesa adsorpcije.

Adsorpcijski kapacitet aktivnog ugljika raste s povećanjem početne koncentracije fenola i KPK vrijednosti u OVM, što ukazuje da postoji puno slobodnih aktivnih mjesta na površini adsorbensa za njihovu adsorpciju.⁸¹ Nakon postignute ravnoteže, kada se koncentracija fenola i KPK vrijednosti više nije mijenjala, odnosno došlo je do zasićenja adsorbensa, stvorio se plato i slobodnih adsorpcijskih mjesta za daljnju adsorpciju fenola i organske tvari više nije bilo.

Uspostavljanje adsorpcijske ravnoteže fenola i organske tvari analizirano je primjenom Freundlichovog (jednadžba 2.1) i Langmuirovog modela (jednadžba 2.3) u ispitivanom koncentracijskom području od 20 do 240 mg dm⁻³, odnosno od 4.000 do 36.000 mg dm⁻³ (slike 38. i 39.). Vrijednosti, K_F , K_L , n , q_{max} i R^2 za aktivni ugljik prilikom adsorpcije fenola i organske tvari dane su u tablici 13. Parametri Langmuirove i Freundlichove izoterme procijenjeni su nelinearnom regresijom metodom najmanjih kvadrata u programskom paketu *Scientist*. Iz dobivenih rezultata vidljivo je da se eksperimentalni rezultati (fenoli i KPK vrijednost) nešto lošije slažu s podacima izračunatim na temelju Freundlichovog modela, u odnosu na Langmuirov model, a na to ukazuje i izračunata R^2 vrijednost (tablica 13).



Slika 38. Adsorpcijska izoterma za aktivni ugljik tijekom adsorpcije fenola. Usporedba Langmuirovog i Freundlichovog modela ($m = 5$ g, $V = 100$ cm³, $T = 25$ °C, $t = 420$ min i 180 o min⁻¹).



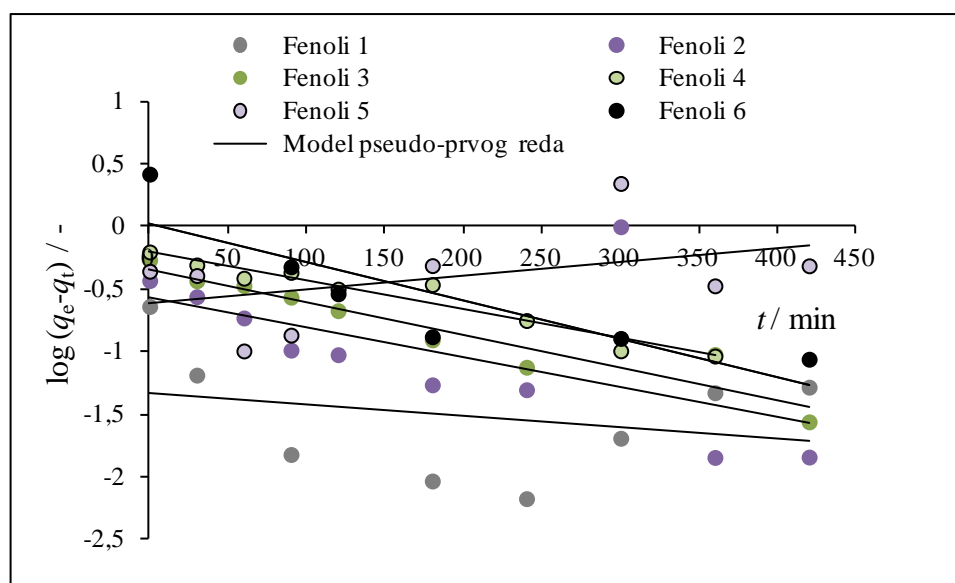
Slika 39. Adsorpcijska izoterma za aktivni ugljik tijekom adsorpcije organske tvari izražene kao KPK vrijednost. Usporedba Langmuir-ovog i Freundlich-ovog modela ($m = 5 \text{ g}$, $V = 100 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 420 \text{ min}$ i 180 min^{-1}).

U slikama 22. i 23. prikazan je utjecaj trajanja procesa na adsorpciju fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik. U prvih 30 min se adsorbirala najveća koncentracija fenola (oko 50 %) i organske tvari (oko 30 %) na aktivni ugljik u pokusima P3-V i P3-VI. U pokusima P3-I do P3-IV koncentracija fenola se smanjivala prvih 240 minuta te se do kraja procesa nije mijenjala, dok KPK vrijednost se ustalila nakon 60 minuta. Adsorpcija je na početku procesa bila izražena zbog velikog broja slobodnih adsorpcijskih mjesta na površini adsorbensa⁸¹ te se s vremenom usporavala.

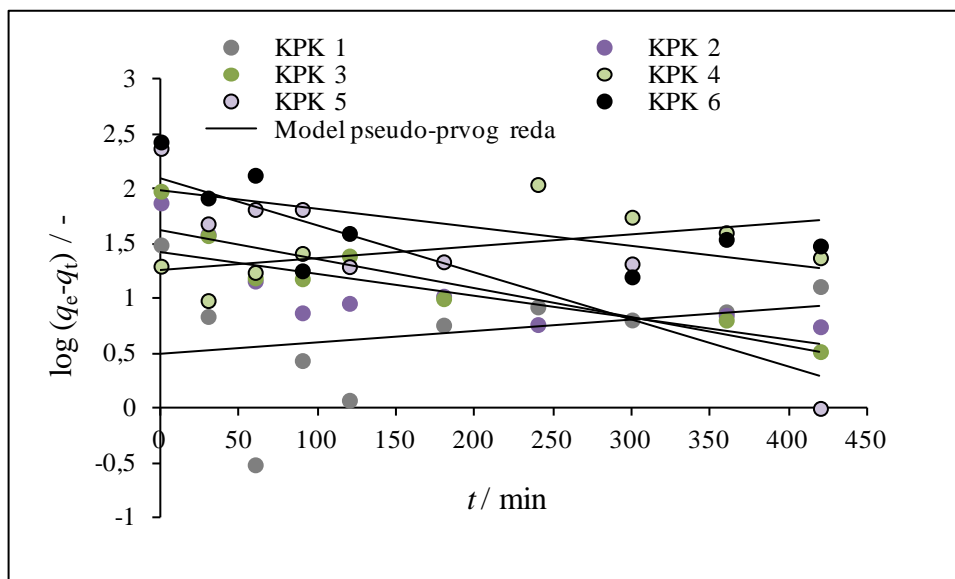
Kinetika adsorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik opisana je dvama kinetičkim modelima primjenom Lagergrenovog modela reakcije pseudo-prvog reda (jednadžba 2.8) i Hoovog modela reakcije pseudo-drugog reda (jednadžba 2.11) u ispitivanom koncentracijskom području od 20 do 240 mg dm^{-3} , odnosno od 4.000 do 36.000 mg dm^{-3} (slike 40. - 43. i tablica 14). Kinetički parametri su procijenjeni koristeći linearnu regresiju. U tablici 14. dani su rezultati eksperimentalno dobivene q_e vrijednosti i vrijednosti dobivene prema modelima pseudo-prvog i pseudo-drugog reda, konstante brzine pseudo-prvog i pseudo-drugog reda i regresijski koeficijent.

Tablica 13. Vrijednosti adsorpcijskih konstanta dobivenih iz Langmuirove i Freundlichove izoterme pri adsorpciji fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik.

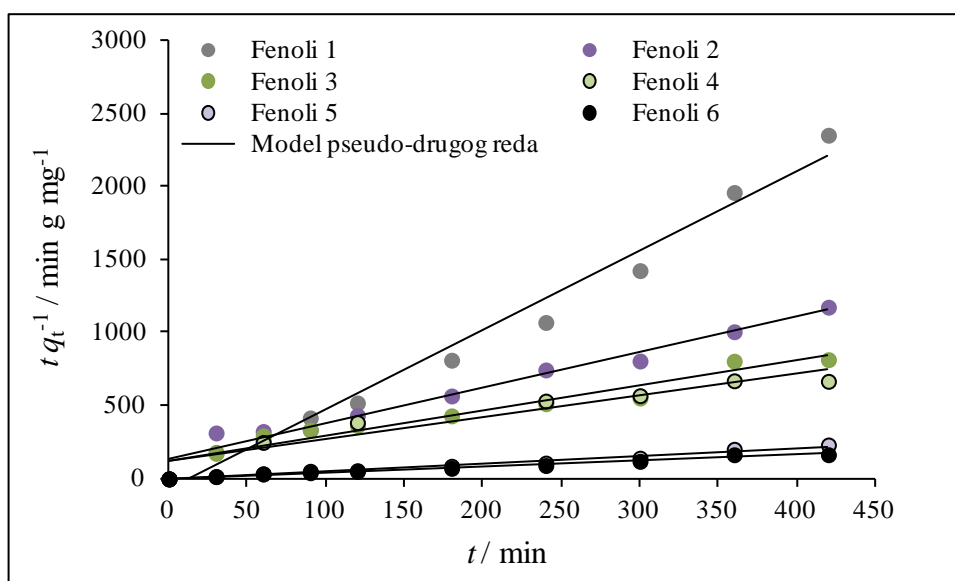
Onečišćujuća tvar			
Adsorpcijska izoterma	Parametri	Fenol (mg dm ⁻³)	Organska tvar (KPK vrijednost / mg O ₂ dm ⁻³)
Langmuir	q_{\max} / mg g ⁻¹	2,338	376,140
	K_L / dm ³ mg ⁻¹	0,052	$1,866 \cdot 10^{-5}$
	R^2 / -	0,855	0,862
Freundlich	K_F / -	0,0328	0,018
	n / -	1,379	1,468
	R^2 / -	0,799	0,848



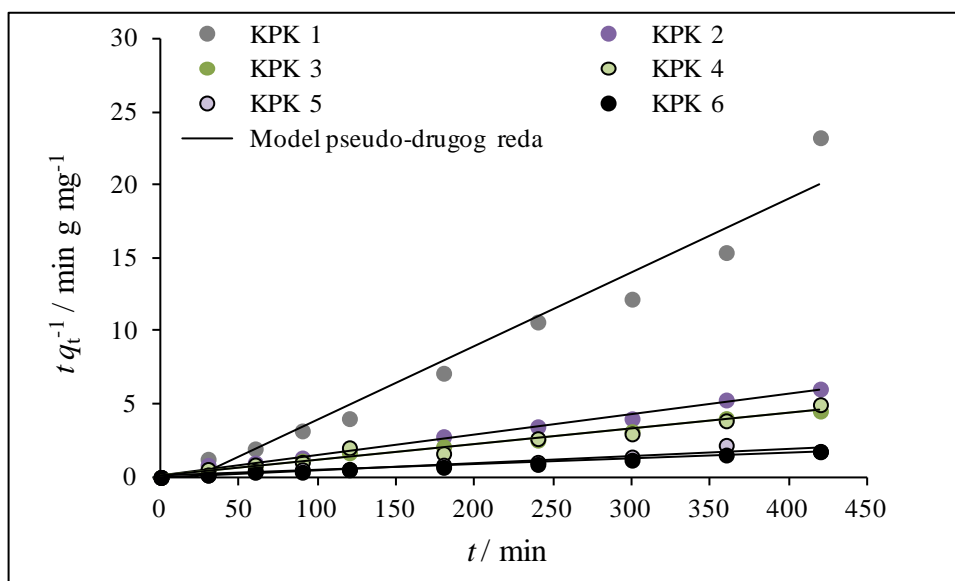
Slika 40. Slaganje kinetičkog modela pseudo-prvog reda i rezultata pokusa adsorpcije fenola na aktivni ugljik.



Slika 41. Slaganje kinetičkog modela pseudo-prvog reda i rezultata pokusa adsorpcije organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik.



Slika 42. Slaganje kinetičkog modela pseudo-drugog reda i rezultata pokusa adsorpcije fenola na aktivni ugljik.



Slika 43. Slaganje kinetičkog modela pseudo-drugog reda i rezultata pokusa adsorpcije organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik.

Iz slika 40. i 41. može se vidjeti da model pseudo-prvog reda ne opisuje dobro eksperimentalne rezultate u pokusima adsorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik za ispitivano koncentracijsko područje što potvrđuje i koeficijent regresije koji je nizak (tablica 13.). Model pseudo-prvog reda općenito je primjenjiv za prvih 20 do 30 min trajanja procesa.^{74,75} Kinetički model pseudo-drugog reda pokazuje dobro slaganje s eksperimentalnim rezultatima u pokusima adsorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik (slike 42. i 43.) što pokazuje koeficijent regresije koji je iznad 0,95 (tablica 14). Prema dosadašnjim istraživanjima adsorpcije fenola na aktivni ugljik, model pseudo-drugog reda pokazivao je dobra slaganja s eksperimentalnim rezultatima.⁸² Na temelju navedenog ovaj model može se primijeniti za ispitivano koncentracijsko područje od 20 do 240 mg dm⁻³ za fenole, odnosno od 4.000 do 36.000 mg dm⁻³ za organsku tvar u procesu adsorpcije. Konstanta brzine adsorpcije pseudo-drugog reda (k_2) opada s porastom početne koncentracije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost.

Tablica 14. Rezultati procjene parametara za modele pseudo-prvog i pseudo-drugog reda metodom linearne regresije pri adsorpciji fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik.

Adsorbens - AKTIVNI UGLJIK			Kinetički model					
			Pseudo-prvi red			Pseudo-drugi red		
Onečišćujuća tvar	$\gamma_0 / \text{mg dm}^{-3}$	$q_{e, \text{eksp.}} / \text{mg g}^{-1}$	$q_e / \text{mg g}^{-1}$	$k_1 \cdot 10^{-3} / \text{min}^{-1}$	R^2	$q_e / \text{mg g}^{-1}$	$k_2 / \text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$	R^2
Fenol (mg dm^{-3})	22	0,18	0,05	2,07	0,07	0,18	0,39	0,98
	34	0,36	0,27	5,53	0,34	0,41	0,05	0,97
	59	0,51	0,46	5,99	0,41	0,58	0,02	0,94
	80	0,64	0,63	5,30	0,94	0,67	0,02	0,91
	189	2,16	0,24	2,53	0,19	1,87	0,09	0,98
	238	2,18	1,07	7,13	0,75	2,48	0,05	0,98
Organska tvar (KPK vrijednost / $\text{mg O}_2 \text{dm}^{-3}$)	4.112	22,57	3,08	2,53	0,70	19,88	0,002	0,96
	8.130	69,44	27,73	4,61	0,55	71,94	0,001	0,99
	13.939	92,48	41,71	5,99	0,80	96,15	0,0007	0,99
	18.740	110,30	17,96	2,53	0,30	94,33	0,0008	0,96
	28.135	214,68	126,94	9,90	0,82	208,33	0,001	0,94
	35.955	253,76	96,31	3,91	0,40	250,12	0,0004	0,98

5.3.5. Uzgoj micelijskih zrnaca plijesni *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp.

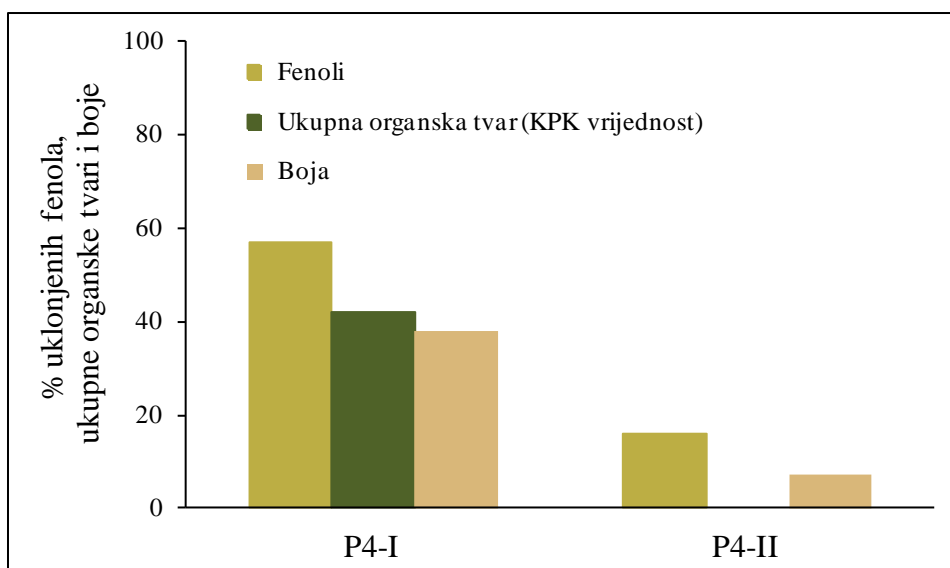
Prema postupku opisanom u poglavlju 3.5.5. uzgojena su micelijska zrnca kultura plijesni *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp. izoliranih iz OVM. Promjer uzgojenih micelijskih zrnaca *Aspergillus niger* iznosio je 4 – 7 mm, a *Stachybotrys* sp. < 2 mm. Vrijeme potrebno za uzgoj micelijskih zrnaca jedan je od značajnih čimbenika koji određuje njihovu veličinu, odnosno što se duže uzgajaju to su veći. Prema literaturi promjeri micelijskih zrnaca približnih vrijednosti pokazali su dobru biosorpciju fenola i ostalih onečišćujućih tvari.^{12,83-84}

5.3.6. Biosorpcija fenola i organskih tvari iz OVM na micelijska zrnca *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp.

U pokusu P4 ispitana je biosorpcija fenola, organskih tvari izražene kao KPK vrijednost te boje iz OVM na micelijska zrnca *Aspergillus niger* (P4-I) i *Stachybotrys* sp. (P4-II). U slikama 25. i 44. prikazana je promjena koncentracije fenola tijekom 180 minuta. U prvih 90 minuta 57 % odnosno 16 % fenola se biosorbiralo na micelijska zrnca *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp. Nakon 90-te minute izražena je desorpcija fenola kod obje kulture. Micelijska zrnca *Aspergillus niger* uklanjaju 41 % više fenola nego micelijska zrnca *Stachybotrys* sp. (slika 44).

U slikama 26. i 44. prikazana je promjena KPK vrijednosti tijekom 180 minuta. Micelijska zrnca *Stachybotrys* sp. (P4-II) ne uklanjaju organske tvari za razliku od micelijskih zrnca *Aspergillus niger* (P4-I). Micelijska zrnca *Aspergillus niger* pokazuju smanjenje KPK vrijednosti za 13 % tijekom 60 minuta, a izraziti pad koncentracije od 34 % uočava se u vremenu od 90-te do 180-te minute.

Promjena apsorbance boje u uzorku OVM prikazana je u slikama 27. i 44, a u slikama 28. i 29. usporedba micelijskih zrnaca *Aspergillus niger*, odnosno *Stachybotrys* sp. prije i nakon procesa biosorpcije. Vidljivo je kako micelijska zrnca *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp. biosorbiraju boju te je ukupno uklonjeno 38 % odnosno 7 % boje.



Slika 44. Postotak uklonjenih fenola nakon 90 minuta, ukupnog organskog opterećenja izraženog preko KPK vrijednosti i boje nakon 180 minuta u pokusu P4 (m (vlažne tvari) = 1 g, $V = 100 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ °C}$ i 180 o min^{-1}).

5.3.7. Biosorpcija fenola i organskih tvari na micelijska zrnca *Aspergillus niger* pri različitim početnim koncentracijama fenola i KPK vrijednosti

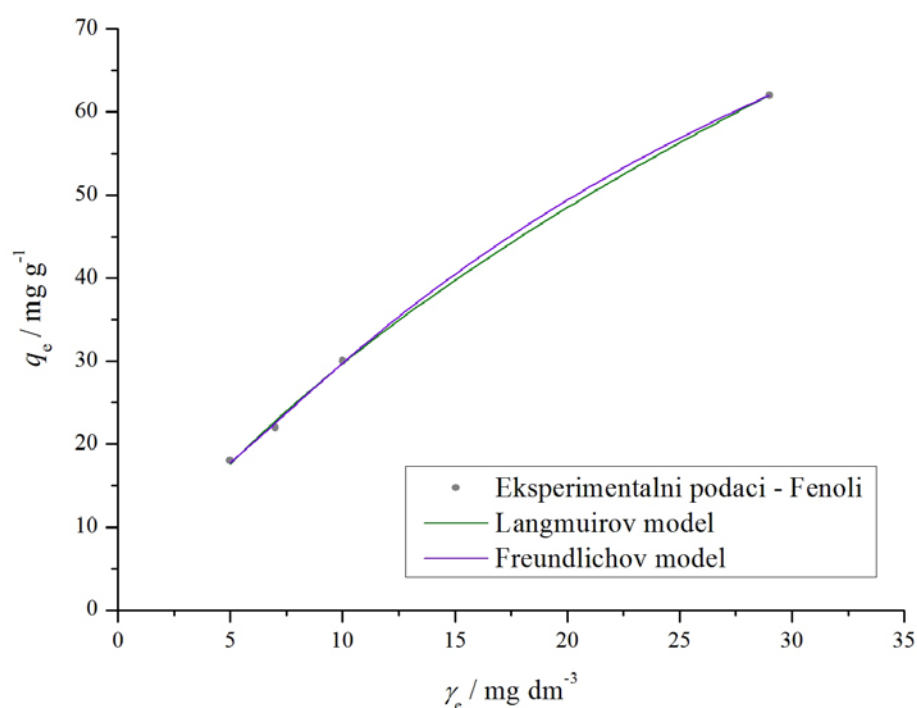
U pokusu P5 ispitana je biosorpcija fenola i organskih tvari izražene kao KPK vrijednost iz OVM na micelijska zrnca *Aspergillus niger* pri različitim početnim koncentracijama fenola i organske tvari (P5-I, P5-II i P5-III) tijekom 72 sata.

U slikama 45. i 46. prikazane su izoterme za micelijska zrnca *Aspergillus niger* prilikom biosorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost pri danim uvjetima procesa. Uspostavljanje biosorpcijske ravnoteže fenola i organske tvari za micelijska zrnca *Aspergillus niger* analizirano je primjenom Freundlichovog (jednadžba 2.1) i Langmuirovog modela (jednadžba 2.3) u ispitivanom koncentracijskom području od 13 do 51 mg dm^{-3} , odnosno od 1.000 do 6.500 mg dm^{-3} . Vrijednosti, K_F , K_L , n , q_{\max} i R^2 za micelijska zrnca *Aspergillus niger* prilikom biosorpcije fenola i organske tvari dane su u tablici 15. Parametri Langmuirove i Freundlichove izoterme procijenjeni su nelinearnom regresijom metodom najmanjih kvadrata u programskom paketu *Scientist*. Dobiveni rezultati ukazuju na gotovo jednako slaganje s Freundlichovim i Langmuirovim modelom, što potvrđuje i izračunata R^2 vrijednost. Nadalje, iz slike 45. može se vidjeti da prilikom biosorpcije fenola na micelijska zrnca *Aspergillus niger* nije postignuto ravnotežno stanje, što ne vrijedi za biosorpciju organske tvari.

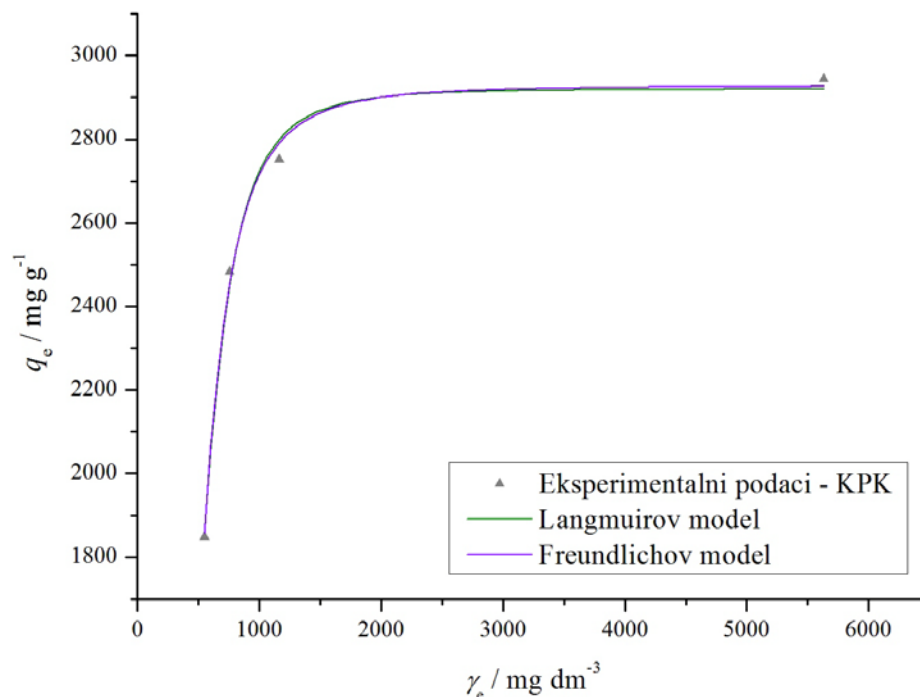
Maksimalni biosorpcijski kapacitet za micelijska zrnca *Aspergillus niger* prilikom biosorpcije fenola odnosno organske tvari iznosio je 138 mg g^{-1} odnosno 3.206 mg g^{-1} .

Tablica 15. Vrijednosti adsorpcijskih konstanta dobivenih iz Langmuirove i Freundlichove izoterme pri biosorpciji fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na micelijska zrnca *Aspergillus niger*.

Onečišćujuća tvar			
Adsorpcijska izoterma	Parametri	Fenol (mg dm^{-3})	Organska tvar (KPK vrijednost / $\text{mg O}_2 \text{ dm}^{-3}$)
Langmuir	$q_{\max} / \text{mg g}^{-1}$	138,310	3.206,031
	$K_L / \text{dm}^3 \text{ mg}^{-1}$	$2,796 \cdot 10^{-2}$	$3,456 \cdot 10^{-3}$
	$R^2 / -$	0,997	0,981
Freundlich	$K_F / -$	3,461	0,970
	$n / -$	1,500	1,451
	$R^2 / -$	0,999	0,988



Slika 45. Biosorpcijska izoterma za micelijska zrnca *Aspergillus niger* tijekom biosorpcije fenola. Usporedba Langmuirovog i Freundlichovog modela (m (vlažne tvari) = 2 g, veličina peleta 5 - 7 mm, $V = 200 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 72 \text{ h}$ i 180 o min^{-1}).



Slika 46. Biosorpcijska izoterma za micelijska zrnca *Aspergillus niger* tijekom biosorpcije organske tvari izražene kao KPK vrijednost. Usporedba Langmuirovog i Freundlichovog modela (m (vlažne tvari) = 2 g, veličina peleta 5 - 7 mm, $V = 200 \text{ cm}^3$, $T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 72 \text{ h}$ i 180 o min^{-1}).

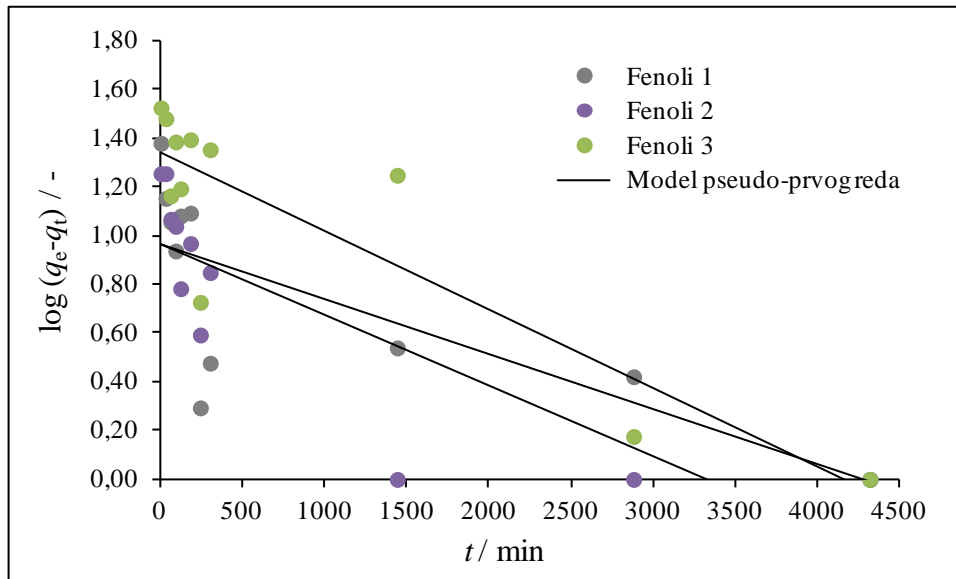
U slici 30. prikazan je utjecaj trajanja procesa na biosorpciju fenola na micelijska zrnca *Aspergillus niger*. Iz slika se može vidjeti da su se koncentracije fenola, organske tvari i apsorbancija boje tijekom 24 sata smanjivali, a od 24-tog sata do 72-gog sata se nisu značajno promijenili. U 24 sata u pokusima P5-I, P5-II i P5-III uklonjeno je 76 %, 47 % odnosno 60 % fenola. Nakon 24 sata koncentracije fenola u svim pokusima (P5-I, P5-II i P5-III) su bile ispod graničnih vrijednosti od $0,01 \text{ g dm}^{-3}$.⁶

U slici 31. prikazan je utjecaj trajanja procesa na biosorpciju organske tvari izražene kao KPK vrijednost na micelijska zrnca *Aspergillus niger*. Iz grafa je vidljivo kako je KPK vrijednost nakon 120 minuta u blagom padu. Izrazita biosorpcija organskih tvari vidljiva je nakon 24 sata te je u pokusima P5-I, P5-II i P5-III uklonjeno 47 %, 53 % odnosno 54 % organske tvari. Nakon 24 sata naglo se smanjuju koncentracije fenola i organskih tvari u OVM zbog raspadanje peleta *Aspergillus niger* uslijed intenzivnog i dugotrajnog miješanja što rezultira povećanjem broja slobodnih aktivnih mjesta na površini biosorbensa.

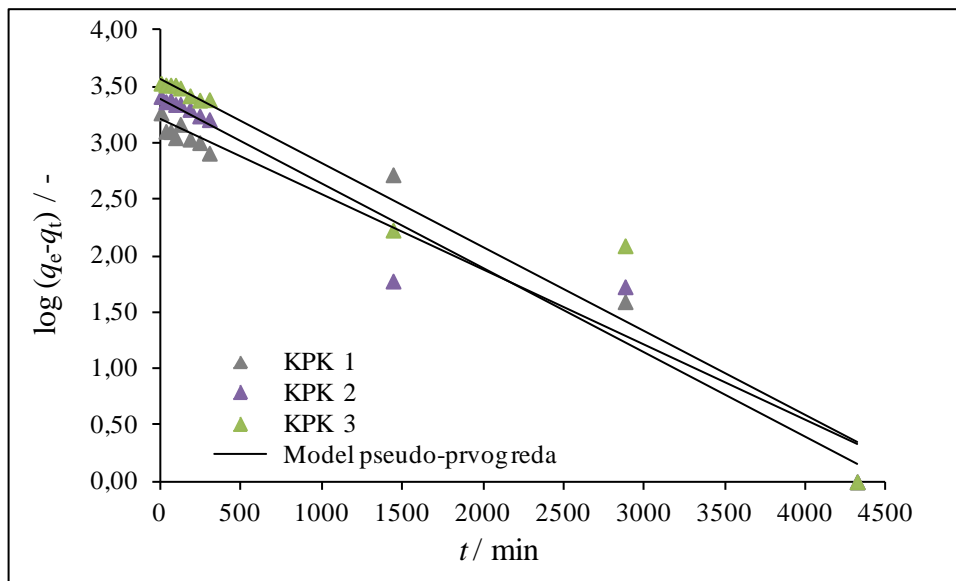
Slika 32. prikazuje promjenu apsorbance boje u pokusima P5-I, P5-II i P5-III. U 60-toj odnosno 90-toj minuti dolazi do naglog pada apsorbance boje u pokusima P5-I i P5-II, odnosno u pokusu P5-III. U pokusu P5-III potrebno je duže vrijeme da se boja biosorbira jer je otpadna voda koncentriranija odnosno tamnija s obzirom na pokuse P5-I i P5-II. Nakon 24 sata uklonjeno je 48 % boje u pokusu P5-I, 47 % u pokusu P5-II te 30 % u pokusu P5-III.¹⁵

Kinetika biosorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na micelijska zrnca *Aspergillus niger* opisana je dvama kinetičkim modelima primjenom Lagergrenovog modela reakcije pseudo-prvog reda (jednadžba 2.8) i Hoovog modela reakcije pseudo-drugog reda (jednadžba 2.11) u ispitivanom koncentracijskom području od 13 do 51 mg dm⁻³, odnosno od 1.000 do 6.000 mg dm⁻³ (slike 47. - 50. i tablica 16). Kinetički parametri su procijenjeni koristeći linearnu regresiju. U tablici 16. dani su rezultati eksperimentalno dobivene q_e vrijednosti i vrijednosti dobivene prema modelima pseudo-prvog i pseudo-drugog reda, konstante brzine pseudo-prvog i pseudo-drugog reda i regresijski koeficijent.

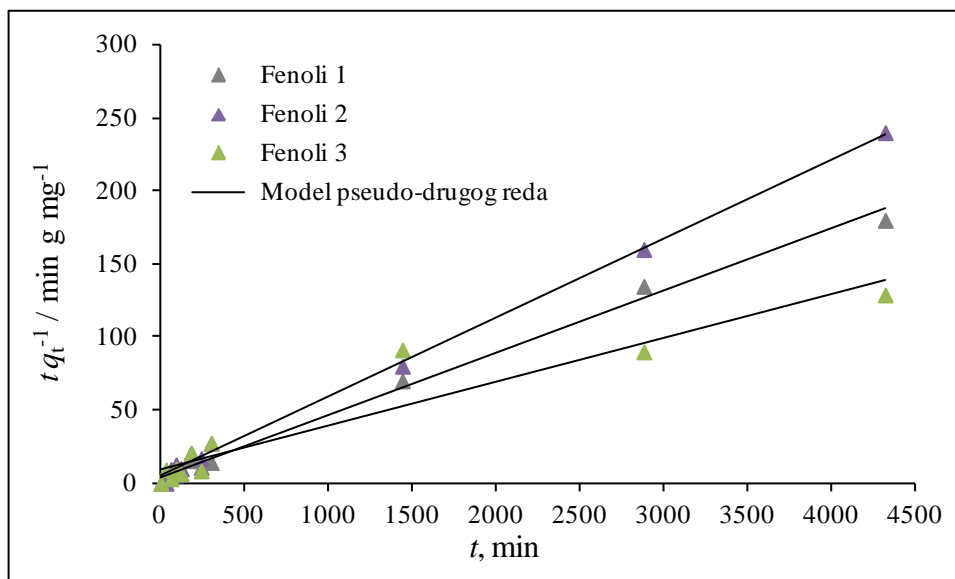
Iz slike 47. može se vidjeti da model pseudo-prvog reda ne opisuje dobro eksperimentalne rezultate u pokusu biosorpcije fenola na micelijska zrnca *Aspergillus niger* za ispitivano koncentracijsko područje što potvrđuje i koeficijent regresije koji je nizak (tablica 16.). Međutim, model pseudo-prvog reda dobro opisuje eksperimentalne rezultate u pokusu biosorpcije organske tvari izražene kao KPK vrijednost na micelijska zrnca *Aspergillus niger* (slika 48.), te koeficijent regresije iznosi 0,95 koji je približno isti koeficijentu regresije (0,97) u kinetičkom modelu pseudo-drugog reda (slika 50., tablica 16.). Nadalje, kao što je već napisano, model pseudo-prvog reda je pretežito primjenjiv za prvih 30 minuta procesa, što u ovom slučaju vrijedi kod biosorpcije fenola. Kinetički model pseudo-drugog reda pokazuje dobro slaganje s eksperimentalnim rezultatima u pokusima biosorpcije fenola na micelijska zrnca *Aspergillus niger* (slike 49.) što pokazuje koeficijent regresije koji je iznad 0,96 (tablica 16). Konstanta brzine adsorpcije pseudo-drugog reda (k_2) opada s porastom početne koncentracije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost.



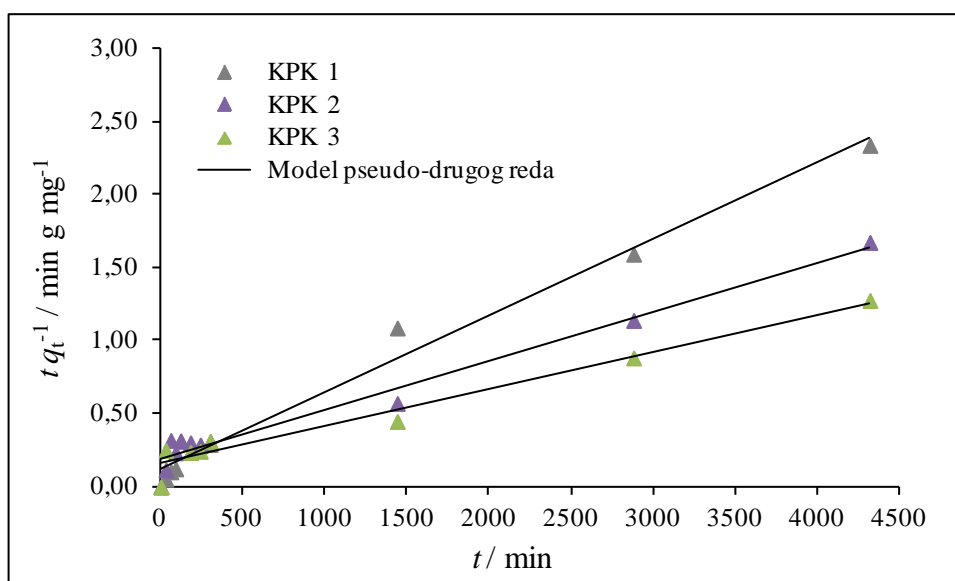
Slika 47. Slaganje kinetičkog modela pseudo-prvog reda i rezultata pokusa biosorpcije fenola na micelijska zrnca *Aspergillus niger*.



Slika 48. Slaganje kinetičkog modela pseudo-prvog reda i rezultata pokusa biosorpcije organske tvari izražene kao KPK vrijednost na micelijska zrnca *Aspergillus niger*.



Slika 49. Slaganje kinetičkog modela pseudo-drugog reda i rezultata pokusa biosorpcije fenola na micelijska zrnca *Aspergillus niger*.



Slika 50. Slaganje kinetičkog modela pseudo-drugog reda i rezultata pokusa biosorpcije organske tvari izražene kao KPK vrijednost na micelijska zrnca *Aspergillus niger*.

Tablica 16. Rezultati procjene parametara za modele pseudo-prvog i pseudo-drugog reda metodom linearne regresije pri procesu biosorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na *Aspergillus niger*.

Biosorbens - <i>Aspergillus niger</i>			Kinetički model					
			Pseudo-prvi red			Pseudo-drugi red		
Onečišćujuća tvar	$\gamma_0 / \text{mg dm}^{-3}$	$q_{e, \text{eksp.}} / \text{mg g}^{-1}$	$q_e / \text{mg g}^{-1}$	$k_1 \cdot 10^{-3} / \text{min}^{-1}$	R^2	$q_e / \text{mg g}^{-1}$	$k_2 / \text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$	R^2
	13	18,00	9,24	0,46	0,55	23,48	0,0005	0,99
Fenol (mg dm^{-3})	15	22,20	9,20	0,69	0,71	18,45	0,0006	0,99
	25	30,42	22,02	0,69	0,78	33,67	0,00009	0,90
Organska tvar (KPK vrijednost / $\text{mg O}_2 \text{dm}^{-3}$)	1.380	1.849,00	1.649,30	1,61	0,95	2.000,00	0,000002	0,98
	1.868	2.483,00	3.694,03	1,61	0,95	3.333,33	0,0000005	0,97
	2.680	3.388,01	2.471,74	1,61	0,95	3.333,33	0,0000006	0,96

5.4. Bojanje micelijskih zrnaca metilenskim modrilom

U slikama 34. i 35. prikazana je usporedba micelijskih zrnaca obojanih metilenskim modrilom prije i nakon procesa biosorpcije. Plavo obojani dijelovi u slici 35. predstavljaju mrtve dijelove stanice. Također, može se vidjeti da su peleti nakon biosorpcije tamniji što ukazuje na sorbiranu boju iz OVM (slika 34.).

6. ZAKLJUČCI

Otpadna voda nastala tijekom proizvodnje maslinovog ulja (OVM) je jako opterećena organskim tvarima, fenolima, ima nisku pH vrijednost i visoku vodljivost te je obojana i kao takva se ne smije ispustiti u vodeni okoliš. U cilju uklanjanja onečišćujućih tvari i/ili štetnih i toksičnih tvari iz otpadne vode provedla se remedijacija OVM postupcima adsorpcije i biosorpcije. Na temelju provedenih eksperimenata mogu se izvesti sljedeći zaključci:

(1) Predobradom OVM postupcima taloženja i filtracije suspendirana tvar, fenoli i KPK vrijednost su se smanjili za 95 %, 28 % odnosno za 41 %.

(2) Rezultati istraživanja procesa adsorpcije u diskontinuiranim uvjetima rada pokazuju da je aktivni ugljik uklonio 58 % fenola i 24 % organske tvari, kora banane 40 % fenola i 0 % organske tvari, a modificirana komina masline 23 % fenola i 13 % organske tvari unutar 24 sata. Određivanje parametara ravnotežne adsorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik provedeno je usporedbom eksperimentalnih rezultata s teorijskim vrijednostima dobivenim primjenom Langmuirovog i Freundlichovog modela. Najbolje slaganje dobiveno je primjenom Langmuirovog modela. Adsorpcijski kapacitet aktivnog ugljika prilikom adsorpcije fenola i organske tvari iznosio je $2,38 \text{ mg g}^{-1}$ odnosno 376 mg g^{-1} .

(3) Rezultati istraživanja procesa biosorpcije u diskontinuiranim uvjetima rada pokazuju da su micelijska zrnca *Aspergillus niger* uklonili 43 % fenola, 42 % organske tvari i 38 % boje, a *Stachybotrys* sp. 19 % fenola, 0 % organske tvari i 7 % boje. Određivanje parametara ravnotežne biosorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na micelijska zrnca *Aspergillus niger* provedeno je usporedbom eksperimentalnih rezultata s teorijskim vrijednostima dobivenim primjenom Langmuirovog i Freundlichovog modela koji podjednako dobro opisuju proces biosorpcije. Biosorpcijski kapacitet micelijskog zrnca *Aspergillus niger* prilikom biosorpcije fenola i organske tvari iznosio je 138 mg g^{-1} odnosno 3206 mg g^{-1} .

(4) Kinetika adsorpcije i biosorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik i micelijska zrnca *Aspergillus niger* u diskontinuiranim uvjetima rada određena je testiranjem eksperimentalnih rezultata za Lagragenov model za reakciju pseudo-prvog reda i Hoovog modela za reakciju pseudo-drugog reda. Bolje slaganje postignuto je primjenom Hoovog modela za reakciju pseudo-drugog reda. Parametri sadržani u primijenjenim modelima procijenjeni su primjenom linearne regresije.

7. LITERATURA

1. B. Tušar, Ispuštanje i pročišćavanje otpadne vode, Croatia knjiga, Zagreb, 2004.
2. Z. Jurac, Otpadne vode, Veleučilište u Karlovcu, Karlovac, 2009.
3. Morillo, J. A., Antizar-Ladislao, B., Monteoliva-Sanchez, M., Ramos-Cormenzana, A., Russell, N. J., Bioremediation and biovalorisation of olive-mill wastes, *Appl Microbiol. Biotechnol.*, 82 (2009) 25-39.
4. Akar, T., Tosun, I., Kaynak, Z., Ozkara, E., Yeni, O., Sahin, E. N., Akar, S. T., An attractive agro-industrial by-product in environmental cleanup: Dye biosorption potential of untreated olive pomace, *J. Hazard. Mater.*, 166 (2009) 1217-1225.
5. Paredes, C., Cegarra, J., Roig, A., Sanchez-Monedero, M. A., Bernal, M. P., Characterization of olive-mill wastewater (alpechin) and its sludge for agricultural purposes, *Bioresour. Technol.*, 67 (1997) 111-115.
6. Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda NN 80/2013.
7. Mann, J., Markham J. L., Peiris, P., Nair, N., Spooner-Hart, R. N., Bioremediation of olive mill wastewater with selected filamentous fungi, 4th BioRemediation Conference, Grčka, 2008.
8. Bleve, G., Lezzi, C., Chiriatti, M. A., D'Ostuni, I., Tristezza, M., Di Venere, D., Sergio, L., Mita, G., Grieco, F., Selection of non-conventional yeasts and their use in immobilized form for the bioremediation of olive oil mill wastewaters, *Bioresour. Technol.*, 102 (2011) 982-989.
9. Garcia, I. G., Pena, P. R. J., Venceslada, J. L. B., Martin, A. M., Santos, M. A. M., Gomez, E. R., Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*, *Process. Biochem.*, 35 (2000) 751-758.
10. Ben Sassi, A., Ouazzani, N., Walker, G. M., Ibensouda, S., El Mzibri, M., Boussaid, A., Detoxification of olive mill wastewaters by Moroccan yeast isolates, *Biodegradation*, 19 (2008) 337-346.
11. Hui, L., Yu, Q. J., Wang, G., Ye, F., Cong, Y., Biodegradation of phenol at high concentration by a novel yeast *Trichosporon montevidense* PHE1, *Process. Biochem.*, (2011) 1678-1681.
12. Briški, F., Petrović, M., Macan – Kaštelan, M., Sipos, L., Removal of humic substances from aqueous solution by fungal pellets, *Biocatalysis*, 10 (1994) 1-14.

13. Aly, A. A., Hassan, N. Y. Y., Al-Farraj, A. S., Olive mill wastewater treatment using a simple zeolite-based low-cost method, *J. Environ. Manage.*, **145** (2014) 341-348.
14. Abdelkreem, M., Adsorption of phenol from industrial wastewater using olive mill waste, *APCBEE Procedia*, **5** (2013) 349-357.
15. Stasinakis, A. S., Elia, I., Petalas, V. A., Halvadakis, C. P., Removal of total phenols from olive-mill wastewater using an agricultural by-product, olive pomace, *J. Hazard. Mater.*, **160** (2008) 408-413.
16. Doula, M K., Elaiopoulos, K., Kavvadias, V.A., Mavraganis, V., Use of clinoptilolite to improve and protect soil quality from the disposal of olive oil mills wastes, *J. Hazard. Mater.*, **207-208** (2012) 103-110.
17. Santi, C. A., Cortes, S., D'Acqui, L. P, Sparvoli, E., Pushparaj, B., Reduction of organic pollutants in Olive Mill Wastewater by using different mineral substances as adsorbents, *Bioresour. Technol.*, **99** (2008) 1954-1951.
18. Azzam, M. O., Al-Malah, K., Al- Gazzawi, Z., Al-Omari, S. A., Dynamic treatment response of olive mills wastewater using series of adsorption steps, *Clean* **38** (9) (2010) 822-830.
19. Lasaridi, K. E., Kyriacou, A., Chroni, C., Abeliotis, K., Chatzipavlidis, I., Ayed, L., Chammam N., Hamidi, M., Estimating the bioremediation of green table olive processing wastewater using a selected strain of *Aspergillus niger*, *Desalin. Water. Treat.*, **23** (2010) 26-31.
20. Achak, M., Hafidi, A., Ouazzani, N., Sayadi, S., Mandi, L., Low cost biosorbent "banana peel" for the removal of phenolic compounds from olive mill wastewater: Kinetic and equilibrium studies, *J. Hazard. Mater.*, **66** (2009) 117-125.
21. <http://www.mps.hr/> (pristup 26. veljače 2016.).
22. Di Giovacchino, L., Sestill, S., Di Vincenzo, D., Influence of olive processing on virgin olive quality, *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, **104** (2002) 587-601.
23. Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulouati, F., Michaud, P., Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies, *Process Biochem.*, **48** (2013) 1532–1552.
24. Benitez, J., Beltran-Heredia, J., Torregrossa, J., Acero, J.L., Cerecas, V., Aerobic degradation of olive mill wastewaters, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **47** (1997) 185-188.
25. Kapellakis, I. E., Tsagarakis, K. P., Crowther, J. C., Olive oil history, production and by-product management, *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, **91** (2004) 1-26.

26. Aktas, E. S., Imre, S., Ersoy, L., Characterization and lime treatment of olive mill wastewater, *Water Res.* **35** (2001) 2336.
27. Azbar, N., Bayram, A., Filibeli, A., Muezzinoglu, A., Sengul, F., Ozer, A., A review of waste management options in olive oil production, *Crit. Rev. Env. Sci. Technol.*, **34** (2004) 209.
28. El Hajjouji, H., Pinelli, E., Guiresse, M., Merlina, G., Revel, J. C., Hafidi, M., Assessment of the genotoxicity of olive mill waste water (OMWW) with the *Vicia faba* micronucleus test, *Mutat. Res.* **634** (2007) 25-31.
29. El Hajjouji, H., El Fels, L., Pinelli, E., Barje, F., El Asli, A., Merlina, G., Hafidi, M., Evaluation of an aerobic treatment for olive mill wastewater detoxification, *Environ. Technol.*, **35** (24) (2014) 3052-3059.
30. Bravo, L., Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance, *Nut. Rev.* **56** (1998) 317-333.
31. Goncalves, C., Lopes, L., Ferreira, J. P., Belo, I., Biological treatment of olive mill wastewater by non-conventional yeasts., *Bioresour. Technol.*, **100** (2009) 3759–3763.
32. Shahidi, F., Naczak, M., Phenolics in food and nutraceuticals, Boca Raton, FL, SAD, CR Press, 2003.
33. Owen, R., W., Giacosa, A., Hull, W., E., Haubner, R., The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil, *Eur. J. Cancer*, (2000) 1235-1247.
34. Ben Othman, N., Ayed, L., Assas, N., Kachouri, F., Hammami, M., Hamdi, M., Ecological removal of recalcitrant phenolic compounds of treated olive mill wastewater by *Pediococcus pentosaceus*, *Bioresour. Technol.*, **99** (2008) 2996–3001.
35. Margues, I. P., Anaerobic digestion treatment of olive mill wastewater for effluent re-use in irrigation, *Desalination*, **137** (2001) 233.
36. Parades, C., Cegarra, J., Roig, A., Sanchez-Monedero, M. A., Bernal, M. P., Characterization of olive mill wastewater (alpechin) audits sludge for agricultural purposes, *Bioresour. Technol.*, **67** (1999) 111–115.
37. Tsagaraki, E., Lazarides, N., H., Petrotos, B., K., Olive mill wastewater treatment, Utilization of By-Products and Treatment of Waste in the Food Industry, Springer US, (2007) 133-157.
38. Rozzi, A., Malpei, F., Treatment and disposal of olive mill effluents, *Int. Biodeter. Biodegr.*, **38** (1996) 135-144.

39. Caputo, A. C., Scacchia, F., Pelagagge, P. M., Disposal of by-products in olive oil industry:waste-to-energy solutions, *Applied. Thermal. Engineering.*, **23** (2003) 197.
40. Niaounakis, M., Halvadakis, C., P., Olive – mill waste managment, Literature review and patent survey, Greece
41. Sabbah, I., Marsook, T., Basheer, S., The effect of pretreatment on anaerobic activity of olive mill wastewater using batch and continuous systems, *Process. Biochem.*, **39** (2004) 1947-1951
42. Kučić, D., Integracija procesa kompostiranja i adsorpcije, Doktorski rad. Zagreb: Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije. 2010.
43. Z. Gomzi, *Kemijski reaktori*, HINUS, Zagreb (1998)
44. Dąbrowski, A., Adsorption – from theory to practice, *Adv. Colloid. Interfac.* **93** (2001) 135–224.
45. IUPAC: *J. Colloid. Interface. Chem. Pure. Appl. Chem.* **31** (1972) 578.
46. Hedström, A., Ion exchange, of ammonium in zeolites: A literature review, *J. Environ.* **127** (2001) 673-681.
47. Zrnčević, S., *Kataliza i katalizatori*, HINUS, Zagreb (2005).
48. Jess, A., Wasserscheid, P., *Chemical Technology, An Integrated Textbook*, Wiley-VCH, 4 (2013) 175-395.
49. Shafeeyan, M. S., Daud, W. M. A. W., Houshmand, A., Ammonia modification of activated carbon to enhance carbon dioxide adsorption: Effect of pre-oxidation, *Appl. Surf. Sci.* **257** (2011) 3936 – 3942.
50. Tiquia, S. M., Tam, N. F. Y., Fate of nitrogen during composting of chicken litter, *Environ. Poll.* **110** (2000) 535-541.
51. Doula, M. K., Synthesis of clinoptilolite – Fe system with high Cu sorption capacity, *Chemosphere*, **67** (2007) 731-740
52. Alvarez-Ayuso, E., Gracia-Shancez, A., Querol, X., Purification of metal electroplating waste waters using zeolite, *Water Res.*, **37** (2003) 4855-4862
53. Giordano, G., Centi, G., De Rosa, S., Granato, T., Katovic, A., Siciliano, A., Tagarelli, A., Tripicchio, F., Wet hydrogen peroxide catalytic oxidation of olive oil mill wastewaters using Cu-zeolite and Cu-pillared clay catalysts, *AOPs.*, **124** (2007) 240-246.
54. De Barros, M.A.S.D., Machado, N.R.C.F., Alves, F. V., Sousa - Aguiar, E. F., Ion exchange mechanism of Cr⁺³ on naturally occurring clinoptilolite, *Braz. J. Chem. Eng.*, **14** (1997) 233.

55. Gharaibeh, S. H., Abu-El-Sha'r, W. Y., Al-Kofahi, M. M., Removal of selected heavy-metals from aqueous-solutions using processed solid residue of olive mill products, *Water. Res.*, **32** (1998) 498-502
56. Stanković, V., Božić, D., Gorgievski, M., Bogdanović, G., Heavy metal ions adsorption from mine waters by sawdust, *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, **15** (4) (2009) 237–249.
57. Bohumil Volesky, B., Biosorption and me, *Water. Res.*, **41** (2007) 4017-4029.
58. Milojković, J., Stojanović, M., Ristić, M., Bisorpcija kao nova biotehnologija u funkciji očuvanja i uravnoteženog korišćenja biodiverziteta, *Ecologica*, **58** (17) (2010) 147-150.
59. Maza – Marquez, P., Martinez – Toledo, M. V., Gonzalez – Lopez, J., Rodelas, B., Juarez, B., Fenice, M., Biodegradation of olive washing wastewater pollutants by highly efficient phenol-degrading strains selected from adapted bacterial community, *Int. Biodeter. Biodegr.*, **82** (2013) 192-198.
60. Koutrotsios, G., Zervakis, G. I., Comparative Examination of the Olive Mill Wastewater Biodegradation Process by Various Wood-Rot Macrofungi, *Biomed. Res. Int.*, **2014** (2014)
61. Cerrone, F., Barghini, P., Pesciaroli, C., Fenice, M., Efficient removal of pollutants from olive washing wastewater in bubble-column bioreactor by *Trametes versicolor*, *Chemosphere*, **84** (2011) 254-259.
62. Lanciotti, R., Gianotti, A., Baldi, D., Angrisani, R., Suzzi, G., Mastrocola, D., Guerzoni, M. E., Use of *Yarrowia lipolytica* strains for the treatment of olive mill wastewater, *Bioresour. Technol.*, **96** (2005) 317-322
63. J. D. Seader, E. J. Henley, Separation process principles, Second Edition, John Wiley & Sons, Inc., 15 (2006), 548-620.
64. Ali Wahab, M., Jellali, S., Jedidi, N., Effect of temperature and pH on the biosorption of ammonium onto *Posidonia oceanica fibers*: Equilibrium, and kinetic modeling studies, *Bioresour. Technol.*, **101** (2010) 8606-8615.
65. Sundstrom, D. W., Klei, H. E., Wastewater treatment, *Water Res.*, **14** (1979) 444.
66. Huang, H., Xiao, X., Yao, B., Yang, L., Ammonium removal from aqueous solutions by using natural Chinese (Chende) zeolite as adsorbent, *J. Hazard. Mater.* **175** (2010) 247-252.
67. Allen, S. J., McKay, G., Porter, J. F., Adsorption isotherm models for basic dye adsorption by peat in single and binary component systems, *J. Colloid. Interfac.*, **280** (2004) 322-333.

68. Cohen, Y., Biofiltration - the treatment of fluids by microorganisms immobilized into the filter bedding material: a review, *Bioresource. Technol.*, **77** (2001) 257-274.
69. Do, D. D., *Adsorption Analysis: Equilibria and Kinetics*, Imperial College Press, London (1998).
70. http://faculty.washington.edu/markbenj/CEE483/Adsorption%20Equil%20Principles_483.ppt (pristup 15. siječnja 2016.)
71. Hameed, B. H., Mahmoud, D. K., Ahmad, A. L., Sorption equilibrium and kinetics of basic dye from aqueous solution using banana stalk waste, *J. Hazard. Mater.*, **158** (2008) 499-506.
72. Karadag, D., Koc, Y., Turan, M., Armagan, B., Removal of ammonium ion from aqueous solution using natural Turkish clinoptilolite, *J. Hazard. Mater.*, **B136** (2006) 604-609
73. Ali Wahab, M., Jellali, S., Jedidi, N., Ammonium biosorption onto sawdust: FTIR analysis, kinetics and adsorption isotherms modeling, *Bioresource. Technol.*, **101** (2010) 5070-5075.
74. Ho, Y. S., McKay, G., A comparison of chemisorption kinetic models applied to pollutant removal on various sorbents, *Trans. IChemE.*, **76** (1998) 332-340.
75. Kučić, D., Čosić, I., Vuković, M., Briški, F., Sorption Kinetic Studies of Ammonium from Aqueous Solution on Different Inorganic and Organic Media, *Acta. Chim. Slov.*, **60** (2013) 109-119.
76. Chowdhury, S., Saha, P., Pseudo-second-order kinetic model for sorption of malachite green onto sea shell: Comparison of linear and non-linear methods, *The IIOAB Journal* **1** (2010) 3-7.
77. Standard methods for the examination of waste and wastewater, American public health association, 1999.
78. S. Duraković, *Opća mikrobiologija, Prehrambeno-tehnološki inženjering Zagreb* (1996).
79. Fadil, K., Chahlaoui, A., Ouahbi, A., Zaid, A., Borja, R. Aerobic biodegradation and detoxification of wastewaters from the olive oil industry, *Int. Biodeterior. Biodegradation.*, **51** (2003) 37-41.
80. Al-Farraj, A. S., Al-Sewailem, M. S., Anwar, A. A., Al-Wabel, M. I., El-Maghraby, S. E., Assessment and heavy metals behaviors of industrial wastewater on Riyadh City, Saudi Arabia. *Proc. Int. Acad. Ecol. Environ. Sci.*, **3** (2013) 266-277.
81. Öztürk, N., Kavak, D., Adsorption of boron from aqueous solutions using fly ash: Batch and column studies, *J. Hazard. Mater.*, **B127** (2005) 81-88.

- 82.** Podkoscielny, P., Nieszporek, K., Adsorption of phenols from aqueous solutions: Equilibria, calorimetry and kinetics of adsorption, *J. Colloid. Interf. Sci.*, **354** (2011) 282-291.
- 83.** Petrović, M., Briški, F., Macan – Kaštelan, M., Biosorption and biodegradation of humic substances by *Trichoderma viride*, *Prehrambeno – Tehnol. Biotechnol. rev.*, **31** (4) (1993) 145-149.
- 84.** Furač, L., Čurković, L., Briški, F., Heidemarie, M., Uklanjanje teških metala iz vodene otopine s micelijskim zrcima *Aspergillus niger*, *Znanstveni skup: Metali u hrani i okolišu*, (1994) 296.

SAŽETAK

Denija Krivičić

Remedijacija otpadne vode iz procesa proizvodnje maslinovog ulja

Visoko opterećena otpadna voda nastala u procesima proizvodnje maslinovog ulja (OVM) karakterizirana je niskom pH vrijednošću, visokom električnom vodljivošću, tamnom bojom zbog prisustva tanina i lignina te visokim udjelom fenola, šećera i organskih kiselina. Takva voda se ne smije ispustiti u vodeni okoliš bez prethodnog uklanjanja onečišćujućih i/ili štetnih tvari. Postoje različiti postupci remedijacije otpadne vode kao što su fizikalni (adsorpcija, biosorpcija), kemijski (katalitička oksidacija) i biološki (biorazgradnja). Svaki od navedenih postupaka ima svoje prednosti i nedostatke. U konačnici idealan proces remedijacije bio bi takav da u potpunosti razgradi onečišćujuću tvar bez stvaranja međuprodukata.

U ovom radu provedena je remedijacija otpadne vode iz proizvodnje maslinovog ulja u šaržnim uvjetima rada adsorpcijom na aktivni ugljik, koru banane te modificiranu kominu masline i biosorpcija na micelijska zrnca *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp. Aktivni ugljik je uklonio 58 % fenola i 24 % organske tvari, kora banane 40 % fenola i 0 % organske tvari, a modificirana komina masline 23 % fenola i 13 % organske tvari unutar 24 sata. Nadalje, micelijska zrnca *Aspergillus niger* i *Stachybotrys* sp. uklonili su 43 % i 19 % fenola, 42 % i 0 % organske tvari te 38 % i 7 % boje.

Tijekom provođenja procesa adsorpcije i biosorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik odnosno micelijska zrnca *Aspergillus niger* određeni su njihovi kapaciteti. Adsorpcijski i biosorpcijski kapacitet aktivnog ugljika i micelijskog zrnca *Aspergillus niger* prilikom adsorpcije i biosorpcije fenola i organske tvari iznosio je 2,38 mg g⁻¹ i 376 mg g⁻¹, odnosno 138 mg g⁻¹ i 3.206 mg g⁻¹. Ravnotežni i kinetički parametri adsorpcije i biosorpcije fenola i organske tvari izražene kao KPK vrijednost na aktivni ugljik i micelijsko zrno *Aspergillus niger* procijenjeni su usporedbom eksperimentalnih rezultata s teorijskim vrijednostima dobivenim primjenom Langmuirovog i Freundlichovog modela, odnosno modela za reakciju pseudo-prvog i pseudo-drugog reda. Najbolje slaganje dobiveno je primjenom Langmuirovog modela prilikom adsorpcije fenola i organske tvari na aktivni ugljik te podjednako slaganje Langmuira i Freundlicha prilikom biosorpcije na micelijska zrnca *Aspergillus niger*. Model pseudo-drugog reda bolje opisuje adsorpciju i biosorpciju fenola i organske tvari na odabrani adsorbens odnosno biosorbens.

Ključne riječi: otpadna voda iz procesa proizvodnje maslinovog ulja, fenol, KPK vrijednost, boja, adsorpcija, biosorpcija, Langmuirov i Freundlichov model, kinetička analiza

ABSTRACT

Denija Krivičić

Remediation of olive mill wastewater

The highly-loaded olive mill wastewater (OMW) is characterized with low pH value, high electrical conductivity, dark coloured caused by tannins and lignins, high content of sugar, phenols and organic acids. Such wastewater cannot be discharged into the aquatic environment without prior removal of pollutants and/or harmful substances. There are different remediation processes of wastewater such as physical (adsorption, biosorption), chemical (catalytic oxidation) and biological (biodegradation). Each of these processes has its advantages and disadvantages. Ultimately, the ideal remediation process would be to completely decompose the pollutant without the production of by-products.

In this paper, it was conducted the remediation of olive mill wastewater which was carried out in a batch conditions by adsorption on the activated carbon, banana peel and modified olive pomace and also by biosorption on fungal pellets of *Aspergillus niger* and *Stachybotrys* sp. The activated carbon has removed 58 % of phenols and 24 % of organic load; banana peel 40 % of phenols and 0 % of organic load and modified olive pomace 23 % of phenols and 13 % of the organic load within 24 hours. Furthermore, the fungal pellets of *Aspergillus niger* and *Stachybotrys* sp. have removed 43 % and 19 % of phenols, 42 % and 0 % of organic load and 38 % and 7 % of colour, respectively.

During the adsorption and biosorption of phenols and organic load expressed as COD (chemical oxygen demand) value on the activated carbon and fungal pellets of *Aspergillus niger* the adsorption capacities were determined. The adsorption and biosorption capacity of the activated carbon and fungal pellets of *Aspergillus niger* during the adsorption and biosorption of phenols and organic load was 2,38 mg g⁻¹ and 376 mg g⁻¹, 138 mg g⁻¹ and 3.206 mg g⁻¹, respectively. The equilibrium modelling parameters of phenols and organic load (COD) on the activated carbon and on fungal pellets of *Aspergillus niger* were evaluated by comparison of experimental results and theoretical values of the Langmuir and Freundlich isotherm models and sorption kinetic data were analyzed using pseudo-first order and pseudo-second order, respectively.

The equilibrium data were best represented by the Langmuir isotherm model during the adsorption of phenols and organic load on the activated carbon and the same value of regression coefficient was obtained for Langmuir and Freundlich isotherm model during biosorption on fungal pellets of *Aspergillus niger*. The model of pseudo-second order describes better than pseudo-first order the adsorption and biosorption of phenols and organic load on the selected adsorbent and biosorbent, respectively.

Key words: olive mill wastewater (OMW), phenols, COD value, colour, adsorption, biosorption, Langmuir and Freundlich isotherm models, kinetic analysis

ZAHVALE

Najveću zahvalu upućujem mentorici dr.sc. Dajani Kučić. Hvala na pruženoj prilici, potpori, svesrdnoj pomoći oko pisanja ovog rada, izuzetno korisnim savjetima te utrošenom vremenu na konzultacijama.

Zahvaljujem se svim članovima Zavoda za industrijsku ekologiju na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije na ugodnoj radnoj atmosferi i kolegijalnosti. Također veliko hvala profesorici dr. sc. Feliciti Briški i tehničkoj suradnici Marijani Vidaković na pomoći i stručnim savjetima.

Zahvalu upućujem i obitelji i prijateljima na podršci i strpljenju.

ŽIVOTOPIS

Zovem se Denija Krivičić, rođena sam 29. rujna 1992. godine u Rijeci. Osnovnoškolsko obrazovanje završila sam u zavičajnom mjestu Buzet u OŠ Vazmoslava Gržalje. Godine 2007. upisujem Pazinski Kolegij - Klasičnu gimnaziju, gdje nakon četiri godine završavam svoje srednjoškolsko obrazovanje.

Godine 2011. upisujem Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu, smjer Ekoinženjerstvo. Akademske godine 2012./2013., 2013./2014., 2014./2015., 2015./2016. bila sam demonstrator na vježbama iz kolegija Mikrobiologija i Zaštita okoliša, te 2015./2016. na vježbama iz kolegija Kompostiranje u Zavodu za industrijsku ekologiju. Stručnu praksu, u sklopu prediplomskog studija, odradila sam u Istarskom vodovodu. U rujnu 2015. obranila sam završni rad na temu „Poboljšanje efikasnosti oksidacijske desulfurizacije korištenjem dodekafosfovolframove kiseline“ pod mentorstvom profesorice Katice Sertić – Bionde. Iste godine nastavljam diplomski studij na istoimenom Fakultetu na modulu Ekoinženjerstvo. Godine 2016., u sklopu završnog rada, sudjelovala sam na XI. Susretu mladih kemijskih inženjera.