

UNIVERZITET U BEOGRADU
TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET

Anja V. Antanasković

Sinteza, karakterizacija i primena
multifunkcionalnih biočadi na bazi otpadne
lignocelulozne biomase

Doktorska disertacija

Beograd, 2025

UNIVERSITY OF BELGRADE
FACULTY OF TECHNOLOGY AND METALLURGY

Anja V. Antanasković

Synthesis, characterization and application of
multifunctional biochars based on waste
lignocellulosic biomass

Doctoral dissertation

Belgrade, 2025

Mentori:

dr Milan Milivojević, vanredni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

dr Zorica Lopičić, viši naučni saradnik
Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina

Članovi komisije:

dr Suzana Dimitrijević-Branković, redovni profesor
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

dr Vladimir Adamović, naučni saradnik
Institut za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina

dr Katarina Mihajlovski, viši naučni saradnik
Univerzitet u Beogradu, Tehnološko-metalurški fakultet

Datum odbrane doktorske disertacije: _____

Zahvalnica

*Neizmernu zahvalnost dugujem svojim mentorima, dr Milanu Miliwojeviću u dr Zorici Lopučić, na nesebičnom prenošenju znanja, velikom strpljenju, stručnim i životnim savetima, kao i čvrstom osloncu tokom istraživanja i izrade ove doktorske disertacije.
Bez vas, ovaj rad ne bi bio moguć. Hvala vam od srca!*

Veliku zahvalnost dugujem dr Vladimiru Adamoviću za uvođenje u svet veštačkih neuronskih mreža, za strpljivo objašnjavanje i podsticanje kritičkog razmišljanja. Hvala na posvećenosti, razumevanju u podršci tokom svih ovih godina zajedničke saradnje.

Podjednako se zahvaljujem profesorki dr Suzani Dimitrijević-Branković i dr Katarina Mihajlovski na diskusijama i korisnim sugestijama koje su doprinele kvalitetnijem istraživanju i oblikovanju ovog rada, kao i na spremnosti da pomognu u svakom trenutku. Bilo je zadovoljstvo saradivati sa vama!

Posebno se zahvaljujem i dr Jeleni Vicanović čije su velikodušna pomoć i stručnost značajno doprinele kvalitetu ove disertacije.

Zahvaljujem se i svim prijateljima i kolegama iz Instituta za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina na saradnji i podršci tokom izrade ove disertacije.

Posebnu zahvalnost dugujem kolegici dr Neveni Ilić na savetima, pomoći i realizaciji istraživanja u oblasti imobilizacije enzima.

Najveću zahvalnost dugujem svojoj porodici, mojoj mami Pepeljugi, tati Velimiru, bratu Ivanu i baki Nedi, za sve godine nesebične podrške tokom mog školovanja, za bezgraničnu ljubav, razumevanje i za sve do sada postignuto, vama i Jani od srca posvećena je ova doktorska disertacija.

Sinteza, karakterizacija i primena multifunkcionalnih biočadi na bazi otpadne lignocelulozne biomase

Sažetak

Istraživanje u okviru ove doktorske disertacije usmereno je na održivo korišćenje otpada iz prehrambene industrije u cilju razvoja multifunkcionalnih biočadi. Otpadne koštice voća: breskve (KB), višnje (KV) i šljive (KŠ), poreklom iz lokalne fabrike voća, pirolizovane su kako bi se proizvele biočadi KBB, KVB i KŠB, redom. Dobijene biočadi su prosejane na željene granulacije i detaljno okarakterisane različitim fizičko-hemijskim analizama kao i primenom: SEM-EDX, XRD, FTIR-ATR, BET i TGA/DTG tehnike. Zahvaljujući velikoj specifičnoj površini, razvijenoj poroznoj stukturi i prisustvu velikog broja funkcionalnih grupa, sintetisane biočadi su se pokazale kao efikasni adsorbenti za uklanjanje toksične boje brilijantno zelene (BZ) u šaržnom sistemu. U cilju optimizacije adsorpcionog procesa, ispitani su procesni parametri, pri čemu su optimalni uslovi postignuti primenom adsorbenta prečnika 0,5-1 mm, na pH vrednosti 6, dozi adsorbenta od 2 g/L, vremenu kontakta od 90 min, temperaturi od 35 °C i inicijalnoj koncentraciji boje od 50 mg/L.

Radi boljeg razumevanja mehanizma adsorpcije BZ primenom sintetisanih biočadi, eksperimentalni podaci su analizirani primenom različitih kinetičkih (pseudo-prvi red, pseudo-drugi red i Weber-Morrisov model) i izotermnih modela (Langmuirov, Freundlichov i Sipsov model). Primenjene adsorpcione izoterme, potvrdile su visoke adsorpcione kapacitete biočadi prema BZ, pri čemu su najviši kapaciteti ostvareni primenom Sipsovog modela: 114,46 mg/g za KVB, 101,11 mg/g za KBB i 100,38 mg/g za KŠB. Da bi se ispitao uticaj mešanja na kinetiku adsorpcije, eksperiment je dodatno izveden u *air-lift* reaktoru (ALR) pri dva različita protoka vazduha. Rezultati su pokazali da je primenom KVB u ALR-u postignuta približno ista efikasnost uklanjanja BZ kao u šaržnom sistemu, ali za dvostruko kraće vreme, što ukazuje na značajan potencijal *air-lift* sistema za efikasno uklanjanje boje uz značajno smanjenje trajanja procesa i energetske troškove.

Na osnovu eksperimentalno dobijenih rezultata, primenom veštačkih neruonskih mreža, razvijen je model koji omogućava pouzdano predviđanje adsorpcionog kapaciteta sintetisanih biočadi prema drugim katjionskim bojama. Model je pokazao dobru tačnost predikcije, čime je potvrđen potencijal proizvedenih biočadi za širu primenu u tretmanu otpadnih voda.

Pored toga, proizvedene biočadi su hemijski aktivirane i ispitivane kao nosači za imobilizaciju lakaze iz *Trametes versicolor*. Uzorak KVB se pokazao kao najefikasniji nosač, a uspešna imobilizacija lakaze potvrđena je pomoću SEM-EDX i FTIR-ATR analiza. Imobilisana lakaza na KVB uspešno je primenjena za razgradnju BZ, pri čemu je u šaržnom sistemu postignuta efikasnost uklanjanja od 93% nakon 4 h, dok je u ALR-u ostvarena efikasnost od 98% za 2,5 puta kraće vreme. Imobilisana lakaza na KVB pokazala je efikasnost razgradnje boje veću od 80% nakon devet uzastopnih ciklusa u šaržnom sistemu, što ukazuje na dobru stabilnost imobilisanog enzima na biočadi.

Rezultati ove doktorske disertacije ukazuju da se otpad iz prehrambene industrije može prevesti u multifunkcionalne biočadi, koje su se pokazale kako ekološki prihvatljivi i ekonomski isplativi adsorbenti i nosači za imobilizaciju enzima. Pretvaranjem otpada iz prehrambene industrije u biočad, ne samo da se smanjuje njegovo taloženje po deponijama, već se istovremeno doprinosi i ostvarivanju principa cirkularne ekonomije kroz razvoj novih proizvoda visoke upotrebne vrednosti sa širokom potencijalnom primenom u različitim oblastima.

Ključne reči: lignocelulozna otpadna biomasa, piroliza, biočad, adsorpcija, katjionske boje, *air-lift* reaktor, imobilizacija, lakaza, ANN

Naučna oblast: Tehnološko inženjerstvo

Uža naučna oblast: Biohemijsko inženjerstvo i biotehnologija

Synthesis, characterization and application of multifunctional biochars based on waste lignocellulosic biomass

Abstract

The research presented in this doctoral dissertation focuses on the sustainable utilization of food industry waste for the development of multifunctional biochars. Waste fruit stones from peach (KB), sour cherry (KV), and plum (KŠ), obtained from a local fruit processing factory, were pyrolysed to produce the biochars KBB, KVB, and KŠB, respectively. The obtained biochars were sieved to the desired particle sizes and thoroughly characterized through various physico-chemical analyses, as well as: SEM-EDX, XRD, FTIR-ATR, BET, and TGA/DTG techniques. Owing to their high specific surface area, highly developed porous structure and the presence of numerous surface functional groups, the synthesized biochars demonstrated high efficiency as adsorbents for the removal of the toxic dye Brilliant Green (BZ) in a batch system. In order to optimize the adsorption process, various operational parameters were investigated, and the optimal conditions were achieved using an adsorbent with a particle size of 0.5-1 mm, at pH value of 6, an adsorbent dose of 2 g/L, a contact time of 90 min, a temperature of 35 °C, and an initial dye concentration of 50 mg/L.

To gain a better understanding of the adsorption mechanism of BZ using the synthesized biochars, experimental data were analyzed using various kinetic (pseudo-first order, pseudo-second order and Weber–Morris model) and isotherm models (Langmuir, Freundlich, and Sips models). The applied adsorption isotherms confirmed the high adsorption capacities of the biochars for BZ, with the highest capacities obtained using the Sips model: 114.46 mg/g for KVB, 101.11 mg/g for KBB, and 100.38 mg/g for KŠB. To examine the influence of mixing on adsorption kinetics, the experiment was additionally conducted in an *air-lift* reactor (ALR) at two different air flow rates. The results showed that the use of KVB in the ALR achieved approximately the same BZ removal efficiency as in the batch system, but in half the time, indicating the significant potential of the *air-lift* system for efficient dye removal with substantial reductions in both process duration and energy consumption.

Based on the experimentally obtained results, the model was developed using artificial neural networks to enable reliable prediction of the adsorption capacity of the synthesized biochars for other cationic dyes. The model demonstrated good predictive accuracy, confirming the potential of the produced biochars for broader application in wastewater treatment.

In addition, the produced biochars were chemically activated and investigated as carriers for the immobilization of laccase from *Trametes versicolor*. The KVB proved to be the most efficient carrier, and successful laccase immobilization was confirmed using SEM-EDX and FTIR-ATR analyses. The immobilized laccase on KVB was successfully applied for the degradation of BZ, achieving a removal efficiency of 93% after 4 hours in the batch system, while in the ALR, an efficiency of 98% was achieved in 2.5 times shorter duration. The immobilized laccase on KVB retained more than 80% degradation efficiency after nine consecutive cycles in the batch system, indicating good stability of the immobilized enzyme on the biochar.

The results obtained in this doctoral dissertation indicate that food industry waste can be converted into multifunctional biochars, which have proven to be both environmentally friendly and economically viable as adsorbents and carriers for enzyme immobilization. Converting food processing waste into biochar, not only is landfill disposal reduced, but the principles of the circular economy are also supported through the development of new high-value products with broad potential applications across various fields.

Keywords: lignocellulosic waste biomass, pyrolysis, biochar, adsorption, cationic dyes, *air-lift* reactor, immobilization, laccase, ANN

Scientific Field: Technological engineering

Scientific subfield: Biochemical engineering and biotechnology

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	TEORIJSKI DEO	2
2.1.	Lignocelulozna biomasa.....	2
2.1.1.	Fizičko - hemijske osobine lignocelulozne biomase	4
2.1.2.	Modifikacija lignocelulozne biomase	6
2.1.2.1.	Fizička modifikacija.....	7
2.1.2.2.	Hemijska modifikacija.....	8
2.1.2.3.	Biološka modifikacija	10
2.1.2.4.	Termohemijska modifikacija	11
2.2.	Biočad - pojam i karakteristike	14
2.2.1.	Aktivacija biočadi.....	15
2.2.2.	Primena biočadi.....	17
2.2.2.1.	Primena u zemljištu	17
2.2.2.2.	Prečišćavanje otpadnih voda.....	18
2.2.2.3.	Prečišćavanje gasova	19
2.2.2.4.	Skladištenje ugljen-dioksida	19
2.2.2.5.	Nosač za enzime	20
2.2.2.6.	Ostale primene biočadi	20
2.3.	Enzimi	22
2.3.1.	Faktori koji utiču na aktivnost enzima.....	22
2.3.2.	Lakaza	23
2.3.2.1.	Primena Lakaze.....	25
2.3.3.	Imobilizacija enzima	25
2.4.	Adsorpcija - pojam i karakteristike	27
2.4.1.	Adsorpcija u šaržnom sistemu	29
2.4.2.	Adsorpcija u <i>air-lift</i> reaktoru	29
2.4.3.	Kinetika adsorpcionih procesa.....	30
2.4.4.	Ravnotežne adsorpcione izoterme	32
2.5.	Boje.....	33
2.5.1.	Brilijantno zelena	34
2.6.	Veštačke neuronske mreže	35
3.	EKSPERIMENTALNI DEO.....	40
3.1.	Plan eksperimentalnog rada.....	40
3.2.	Korišćene hemikalije.....	40
3.3.	Priprema uzorka	41

3.4.	Karakterizacija proizvedenih biočadi.....	41
3.4.1.	Prinos biočadi	41
3.4.2.	Proksimativna analiza	41
3.4.3.	Elementarna organska analiza.....	42
3.4.4.	Analiza sadržaja neorganskih elemenata	42
3.4.5.	Kontaktna pH.....	42
3.4.6.	Određivanje tačke nultog naelektrisanja.....	42
3.4.7.	Električna provodljivost	42
3.4.8.	Određivanje zeta potencijala.....	43
3.4.9.	Određivanje morfoloških karkteristika	43
3.4.10.	Određivanje specifične površine i poroznosti materijala	43
3.4.11.	Rendgenska difrakciona analiza (XRD)	43
3.4.12.	Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom i prigušenom totalnom refleksijom (FTIR-ATR)	43
3.4.13.	Raspodela veličina čestica	44
3.4.14.	Termijska analiza	44
3.5.	Primena biočadi kao adsorbenta.....	44
3.5.1.	Adsorpcija boje u šaržnom sistemu	44
3.5.1.1.	Ispitivanje procesnih parametara.....	45
3.5.1.2.	Kinetika adsorpcije	45
3.5.1.3.	Adsorpcione izoterme	45
3.5.2.	Adsorpcija u <i>air-lift</i> reaktoru	46
3.6.	Primena biočadi kao nosača za enzime	46
3.6.1.	Aktivacija biočadi.....	46
3.6.2.	Priprema rastvora lakaze	47
3.6.3.	Određivanje aktivnosti slobodne i imobilisane lakaze	47
3.6.4.	Određivanje koncentracije proteina.....	47
3.6.5.	Uticaj procesnih parametara na imobilizaciju enzima	48
3.6.6.	Karakterizacija slobodne i imobilisane lakaze	49
3.6.6.1.	Temperaturni optimum slobodne i imobilisane lakaze.....	49
3.6.6.2.	pH optimum slobodne i imobilisane lakaze	49
3.7.	Razgradnja boje primenom imobilisane lakaze na biočadi	49
3.7.1.	Razgradnja boje u šaržnom sistemu	49
3.7.1.1.	Ispitivanje procesnih parametara.....	50
3.7.1.2.	Ponovna upotreba imobilisane lakaze	50
3.7.2.	Razgradnja boje u <i>air-lift</i> reaktoru	50
3.8.	Razvoj modela za predviđanje adsorpcionih kapaciteta pomoću Veštačke neuronske mreže	50

3.8.1.	Razvoj modela	51
3.8.2.	Statistički indikatori performansi modela	52
4.	REZULTATI I DISKUSIJA.....	54
4.1.	Karakterizacija biočadi.....	54
4.1.1.	Prinos biočadi	54
4.1.2.	Proksimativna analiza	54
4.1.3.	Elementarna organska analiza.....	55
4.1.4.	Analiza sadržaja neorganskih elemenata	56
4.1.5.	Kontaktna pH.....	56
4.1.6.	Određivanje tačke nultog naelektrisanja.....	56
4.1.7.	Električna provodljivost	57
4.1.8.	Određivanje zeta potencijala.....	57
4.1.9.	Određivanje morfoloških karkteristika	58
4.1.10.	Određivanje specifične površine i poroznosti materijala	59
4.1.11.	Rendgenska difrakciona analiza (XRD)	60
4.1.12.	Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom i prigušenom totalnom refleksijom (FTIR-ATR)	60
4.1.13.	Raspodela veličina čestica	61
4.1.14.	Termijska analiza	62
4.2.	Primena biočadi kao adsorbenta.....	63
4.2.1.	Adsorpcija boje u šaržnom sistemu	63
4.2.1.1.	Ispitivanje procesnih parametara.....	63
4.2.1.2.	Kinetika adsorpcije BZ	67
4.2.1.3.	Adsorpcione izoterme	70
4.2.1.4.	Poređenje dobijenih rezultata	72
4.2.2.	Adsorpcija u <i>air-lift</i> reaktoru	74
4.3.	Primena biočadi kao nosača za enzime	77
4.3.1.	Uticaj procesnih parametara na imobilizaciju lakaze na biočadi	78
4.3.2.	Karakterizacija slobodne i imobilisane lakaze	80
4.3.2.1.	Temperaturni optimum slobodne i imobilisane lakaze.....	80
4.3.2.2.	pH optimum slobodne i imobilisane lakaze	81
4.3.2.3.	Karakterizacija imobilisane lakaze na biočadi	81
4.3.3.	Razgradnja boje primenom imobilisane lakaze na biočadi	83
4.3.3.1.	Razgradnja boje u šaržnom sistemu.....	83
4.3.3.1.1.	Ispitivanje procesnih parametara.....	83
4.3.3.1.2.	Ponovna upotreba imobilisane lakaze	86
4.3.4.	Razradnja boje u <i>air-lift</i> reaktoru	87

4.4.	Razvoj modela za predviđanje adsorpcionih kapaciteta pomoću veštačke neuronske mreže	88
4.4.1.	Razvoj modela za predviđanje adsorpcionog kapaciteta za uklanjanje BZ i MZ	88
4.4.2.	Razvoj modela za predviđanje adsorpcionog kapaciteta za uklanjanje Klj.....	91
5.	ZAKLJUČAK.....	95
6.	LITERATURA	97

1. UVOD

Porast broja stanovnika, zajedno sa neodrživim obrascima potrošnje savremenog načina života, dovodi do značajnog povećanja količine otpada od hrane, koji predstavlja jedan od najvećih izazova savremenog društva. Pored toga što dovodi do trošenja resursa uloženi u proizvodnju, transport i preradu hrane, ovaj otpad predstavlja i značajno opterećenje za životnu sredinu [1,2]. Neadekvatno zbrinjavanje otpada od hrane dovodi do ispuštanja štetnih materija u zemljište, vodu i vazduh, kao i do emisija gasova sa efektom staklene bašte [3].

Otpad iz prehrambene industrije, koji je uglavnom lignocelulozne prirode, predstavlja jeftin, dostupan, obnovljiv i potencijalno vredan resurs za dobijanje različitih proizvoda. Upotrebom ovog otpada, ne samo da bi se smanjilo njegovo taloženje i spaljivanje na deponijama, već bi se omogućila njegova ponovna primena u cilju razvoja novih proizvoda, što je u skladu sa principima cirkularne ekonomije i „zero waste” strategije. Piroliza, termohemijska konverzija otpadne biomase u inertnim uslovima, privlači sve više pažnje za reciklažu otpada iz prehrambene industrije, jer predstavlja jednostavan i praktičan način za smanjenje više od 80% ukupnog otpada [4]. Procesom pirolize otpad od hrane se prevodi u vredan proizvod-biočađ, uz smanjenje negativnih uticaja na životnu sredinu. Biočađ predstavlja ugljenični materijal, koji zahvaljujući svojim karakteristikama, poput velike specifične površine i obilja funkcionalnih grupa, nalazi široku primenu u različitim oblastima, posebno u oblasti održivog upravljanja resursima. Upotreba biočađi je u skladu sa ciljevima održivog razvoja, čime se potvrđuje njegova primena kao efikasnog alata u rešavanju ključnih globalnih problema, poput klimatskih promena, erozije i plodnosti zemljišta i sveukupnog zagađenja životne sredine. Procene ukazuju da piroliza otpadne biomase i proizvodnja biočađi može doprineti smanjenju emisije između 66 i 130 milijardi metričkih tona ekvivalenta CO₂ u periodu od jednog veka. Približno 50% smanjenja emisije potiče od sposobnosti biočađi da dugoročno skladišti ugljenik u zemljištu, 30% se odnosi na zamenu fosilnih goriva energijom dobijenom tokom pirolize, dok se preostalih 20% pripisuje smanjenju emisije metana i azot-oksida [5].

Biočađ se posebno efikasno pokazala kao adsorbent za prečišćavanje kontaminiranih voda, naročito u uklanjanju boja koje se smatraju jednim od najopasnijih zagađujućih materija, usled toksičnosti prema živim organizmima i štetnog uticaja na životnu sredinu [6]. Najveći adsorpcioni kapacitet biočađ pokazuje prema katjonskim bojama, koje, u poređenju sa anjonskim, pokazuju izraženije kancerogeno, mutageno i toksično dejstvo [7]. Ove boje se najčešće primenjuju u industriji papira, tekstila i kože, nakon čega se ispuštaju u vodotokove i dolaze u direktan kontakt sa živim organizmima [8,9].

Pored toga, poslednjih godina, biočađ se razmatra i kao nosač za imobilizaciju enzima. Primena slobodnih enzima ima određene nedostatke poput visokih operativnih troškova, niske stabilnosti, otežanog izdvajanja enzima i nemogućnosti ponovne upotrebe [10]. Iako primena komercijalnih nosača može efikasno prevazići ove probleme, njihova visoka cena često predstavlja ograničavajući faktor za široku primenu u industriji. Pored velike specifične površine, razvijene porozne strukture, prisustva funkcionalnih grupa, inertne prirode i fizičko-hemijske stabilnosti, biočađ se izdvaja kao pristupačan, lako dostupan i održiv materijal za imobilizaciju enzima [10].

Zbog svega prethodno navedenog, cilj ispitivanja sprovedenih i opisanih u ovoj disertaciji je upotreba otpada iz prehrambene industrije za razvoj multifunkcionalnih biočađi. Proizvedene biočađi su detaljno okarakterisane primenom različitih instrumentalnih i fizičko-hemijskih analiza, nakon čega je istraživanje išli u dva pravca. U prvom delu, sintetisane biočađi su korišćene kao adsorbenti za uklanjanje katjonske boje brilijantno zelene u šaržnom i *air-lift* sistemu, dok su u drugom delu ispitivane kao nosači za imobilizaciju komercijalne lakaze poreklom iz *Trametes versicolor*. Imobilisana lakaza na biočađi dalje je primenjena za razgradnju brilijantno zelene boje u šaržnom i *air-lift* sistemu.

Imajući u vidu da prehrambena industrija svakodnevno generiše značajne količine otpada, njegova efikasna konverzija i upotreba predstavljaju značajan doprinos održivom upravljanju otpadom i razvoju ekološki prihvatljivih tehnologija.

Inovativnost ovog istraživanja ogleda se u izboru sirovina za dobijanje biočadi, s obzirom da u dostupnoj literaturi do sada nije zabeleženo nijedno istraživanje koje se bavi primenom otpadnih koštica voća za proizvodnju biočadi namenjenih za adsorpciju katjonske boje BZ kako u šaržnom tako ni u *air-lift* reaktoru. Dodatnu naučnu vrednost ove disertacije predstavlja činjenica da do sada nisu dostupni podaci o imobilizaciji lakaze na biočadi iz ovih polaznih sirovina. Na taj način je razvijeno ekonomično i ekološki prihvatljivo rešenje zbrinjavanja otpadnih koštica voća, uz istovremenu sintezu novih funkcionalnih materijala, koji mogu imati široku primenu u različitim granama industrije. Ovakav pristup direktno doprinosi principima održivog razvoja, kroz smanjenje otpada, unapređenje upravljanja resursima i promociju zelenih tehnologija u zaštiti životne sredine.

2. TEORIJSKI DEO

2.1. Lignocelulozna biomasa

Biomasa predstavlja organsku materiju biološkog porekla, nastalu direktno ili indirektno putem fotosinteze. Obuhvata širok spektar materijala, uključujući biljne i životinjske ostatke, mikroorganizme, otpad iz poljoprivrede, šumarstva, industrije i komunalnog otpada [11]. Biomasa je vredan resurs zbog svoje široke dostupnosti, ekonomske isplativosti i raznovrsne primene, koja, između ostalog, uključuje proizvodnju toplote i električne energije, kao i biogoriva poput bioetanola i biodizela, čime značajno doprinosi razvoju održivih energetske sistema. Kao obnovljiv izvor energije s najdužom tradicijom korišćenja, biomasa ima značajnu ulogu u održivom upravljanju prirodnim resursima i smanjenju emisije gasova sa efektom staklene bašte [12].

Lignocelulozni otpad predstavlja najobimniji i najvećim delom neiskorišćeni izvor biomase na Zemlji, sa približnim prinosom od oko 200 milijardi tona godišnje [13]. Iako se oko 8,2 milijarde tona otpadne lignocelulozne biomase koristi u različitim industrijskim oblastima, značajan deo i dalje završava na deponijama, čime dodatno opterećuje životnu sredinu [14]. Lignocelulozna biomasa (LB) može se dobiti iz različitih izvora (Slika 2.1), poput komunalnog i industrijskog otpada, šumske biomase, drvenastog otpada, poljoprivrednog otpada i poljoprivrednih ostataka [15].

U Srbiji se godišnje proizvede oko 12,5 miliona tona poljoprivredne LB, koja obuhvata ostatke poljoprivrednih kultura, voćarstva, vinogradarstva, prerade voća... Ova količina proizvedene biomase je očekivana, uzimajući u obzir da poljoprivreda predstavlja ključni sektor srpske ekonomije, pri čemu oko 55 % ukupne teritorije zemlje čine poljoprivredna zemljišta [12]. Najvažniji izvor poljoprivredne biomase u Srbiji predstavljaju žetveni ostaci žitarica i industrijskih biljaka, pri čemu su najzastupljeniji iz kukuruza i pšenice. Pored toga, otpad koji nastaje tokom rezidbe voćnjaka i vinograda, predstavlja još jedan značajan izvor biomase [12,16]. Proizvedena biomasa u Srbiji uglavnom se koristi u domaćinstvima za grejanje i proizvodnju električne energije, dok preostali deo ostaje neiskorišćen. Na primer, ukupna količina drvnih ostataka nastalih nakon šumskih seča procenjuje se na 1,1 milion m³, od čega oko 0,6 miliona m³ ostaje neiskorišćeno kao šumski otpad [12]. Prema planu za 2025. godinu, predviđa se da će proizvodnja čvrste biomase iznositi 1,700 miliona tona ekvivalenta nafte (Mtoe), od čega će 88% biti iskorišćeno za grejanje u domaćinstvima [17].



Slika 2.1. Različiti izvori otpadne lignocelulozne biomase

Organizacija za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih Nacija, *Food and Agriculture Organization* (FAO), beleži značajan porast svetske potražnje, a samim tim i proizvodnje svežeg voća i povrća. Prosečna svetska godišnja proizvodnja voća iznosi oko 887 miliona metričkih tona (MMT), pri čemu se najviše proizvode banane (119,83 MMT), lubenice (101,62 MMT), jabuke (86,44 MMT) i grožđe (78,03 MMT) [18]. Zbog kvarljive prirode i prisustva nejestivih delova, tokom proizvodnje, skladištenja, distribucije i konzumacije nastaju značajne količine otpada, koji čini 25–30% ukupne mase prerađenih sirovina. Ovaj otpad najvećim delom potiče od kore (15–60%), dok preostali deo čine koštice, semenke, ljuske i drugi delovi [19]. Otpad od voća i povrća sadrži velike količine suspendovanih čvrstih materija i pokazuje visoke vrednosti biološke i hemijske potrošnje kiseonika, što značajno utiče na izbor metoda za njegovo zbrinjavanje i na troškove tretmana [2]. U Tabeli 2.1 prikazane su količine i sastav lignoceluloznog otpada koji potiče iz industrije prerade voća. Kao što se može videti iz prikazanih podataka, svake godine generišu se ogromne količine ovog otpada, koji se obično spaljuje ili deponuje što dovodi do dodatnog opterećenja životne sredine i stvaranja sekundarnog otpada.

Tabela 2.1. Lignocelulozni sastav i količina otpada iz industrije prerade voća

Voće	Vrsta Otpada	Lignocelulozne komponente, %			Količina otpada, MTG*	Referenca
		Celuloza	Hemiceluloza	Lignin		
Banana	Kora	11,45	25,52	9,82	9	[1,20]
Pomorandža	Kora	11,93	14,46	2,17	25-30	[20,21]
Grožđe	Komina	10,50	6,10	31,9	5-9	[1,22]
Breskva	Komina	58,05	5,10	16,54	2,4	[23,24]
Šljiva	Koštica	26,50	22,00	49,30	0,7**	[25–27]

MTG*-Milion tona godišnje

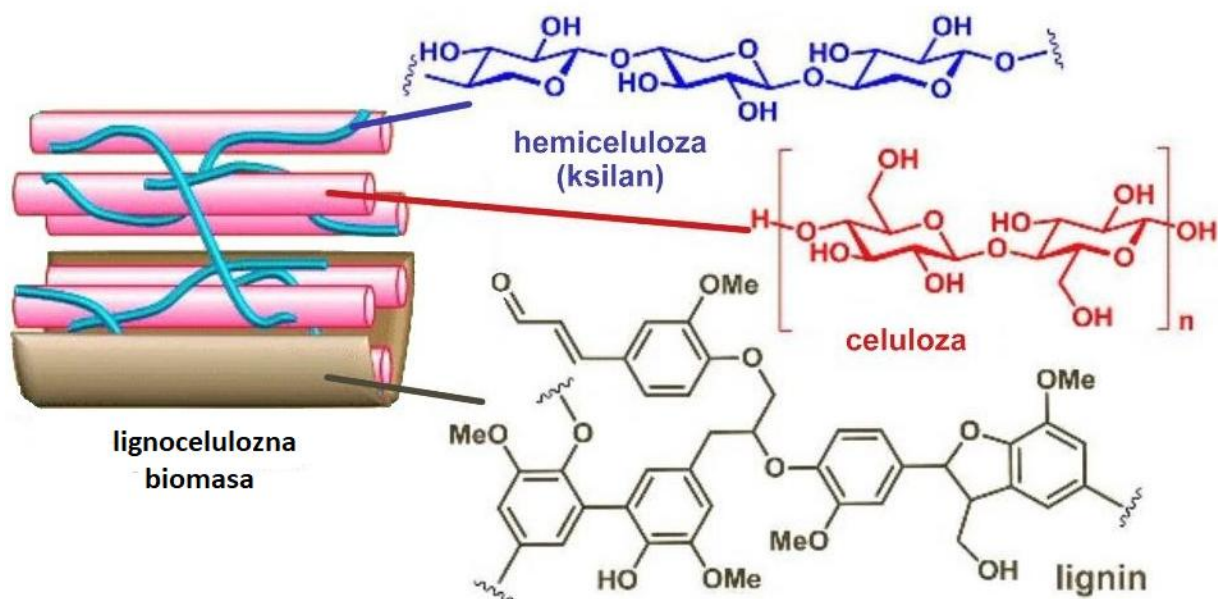
**Izračunato pomoću literaturnih podataka

Koštičavo voće predstavlja četvrtu najzastupljeniju grupu voćnih kultura po proizvodnji u Evropi, sa 7,3 miliona tona, dok se po površini uzgoja nalazi na petom mestu (0,6 miliona hektara). Najzastupljenije vrste su breskve, koje čine 42% ukupne proizvodnje, a zatim slede šljive sa 20%, nektarine sa 16% i trešnje sa 13% udela u ukupnoj proizvodnji koštičavog voća [25].

Industrija prerade voća u Srbiji predstavlja jedan od ključnih sektora privrede, sa godišnjom proizvodnjom od približno 1,5 miliona tona [28]. Srbija je među vodećim svetskim proizvođačima šljiva, sa prosečnom godišnjom proizvodnjom od 380 hiljada tona. Takođe, u Srbiji se, poslednjih godina beleži rastući trend u proizvodnji višanja, koja se procenjuje na oko 136 hiljada tona godišnje, kao i u proizvodnji breskvi, koja dostiže prosečnu godišnju proizvodnju od oko 25 hiljada tona [29]. Na osnovu podataka o udelu koštice u masi ovog voća [27,30,31], može se proceniti da godišnje nastane više od 47 hiljada tona otpadnih koštica, za koje trenutno ne postoji adekvatan način za prikupljanje i dalju upotrebu, već se najčešće odlažu na deponije ili se uništavaju spaljivanjem.

2.1.1. Fizičko - hemijske osobine lignocelulozne biomase

LB ima složenu hemijsku strukturu, koja se većinski sastoji od tri polimera: celuloze, hemiceluloze i lignina, čija količina i međusobni odnos varira, u zavisnosti od porekla biomase [32]. Pored navedenih komponenti, LB sadrži i male količine pektina, proteina, ekstrakata i neorganskih jedinjenja, koje su raspoređene duž ćelijskog zida na nasumičan način, formirajući strukturu koja podseća na skelet [33]. Kristalna celuloza i polimerni okvir hemiceluloze su prekriveni fenolnim ligninom sa visokim stepenom polimerizacije, što značajno komplikuje procese konverzije biomase. Celuloza i hemiceluloza obično čine više od 70% ukupne LB i usko su povezani sa ligninom kovalentnim i vodoničnim vezama. Ova čvrsta povezanost daje lignoceluloznom materijalu veliku otpornost na degradaciju [15]. Lignoceluloznu biomasu karakteriše značajna hemijska reaktivnost, koja je rezultat visoke donorske reaktivnosti hidroksilnih grupa u molekulima celuloze i lignina. Pored hidroksilnih grupa, kod lignoceluloznih materijala prisutan je i veliki broj drugih funkcionalnih grupa, kao što su: fenolne, metoksidne, karbonilne i karboksilne [34]. Na slici 2.2. prikazana je struktura lignocelulozne biomase.



Slika 2.2. Struktura lignocelulozne biomase [15]

Celuloza, $[(C_6H_{10}O_5)_n]$, poznata i kao β -1-4-glukan, najzastupljeniji je polimer na Zemlji. Ona predstavlja glavnu komponentu LB, zastupljenu u opsegu između 40% i 45% suve mase [33]. Celuloza je linearni homopolimer, molekulske mase od 50 kDa do $2,5 \times 10^6$ kDa, koji se sastoji od molekula D-glukoze, međusobno povezanih β -1,4-glikozidnim vezama [15]. Paralelni lanci glukoze organizovani su u fibrilne strukture, koje se potom udružuju u snopove i formiraju mikrofilamentnu mrežu. U određenim delovima celuloze, gde dolazi do formiranja vodoničnih veza među fibrilama, uspostavlja se kristalna struktura, dok ostali regioni ostaju amorfni. Zahvaljujući jakim intra- i intermolekulskim vodoničnim vezama koje povezuju lance, celuloza je nerastvorna u vodi i u većini organskih rastvarača [23]. Pored toga, visoki stepen polimerizacije, stabilna kristalna struktura, i povezanost sa hemicelulozom i ligninom, omogućavaju celulozi rezistentnost na enzimsku razgradnju, kao i na dejstvo različitih hemikalija, čineći je najmanje reaktivnom komponentnom LB. Celuloza se razgrađuje u temperaturnom opsegu od 300 do 400 °C, pri čemu dostiže maksimalnu brzinu razgradnje na 355 °C [35,36]. Iako se celuloza smatra homopolimerom, zbog činjenice da više od 95% čini glukoza, u manjim količinama mogu biti prisutni i drugi šećeri, kao što su galaktoza, manosa ili ksiloza [37].

Hemiceluloza je heteropolimer sa opštom formulom $[(C_5H_8O_4)_n]$, sastavljen od kratkih, razgranatih lanaca koji uključuju različite pentoze (ksiloza i arabinoza), heksoze (glukoza, manosa i galaktoza) i šećerne kiseline. Najzastupljenija komponenta hemiceluloze je ksilan, homopolimer izgrađen od jedinica ksiloze [15]. U poređenju sa celulozom, hemiceluloza ima nižu molekulsku masu i sastoji se od 150 do 200 monomernih jedinica [13]. Pored toga, u LB prisutna je u manjem udelu od celuloze, čineći 25–35% suve mase [33]. Hemiceluloze su povezane sa celuloznim mikrofibrilima u kristalnu strukturu pomoću nekovalentnih veza. Ove veze daju celulozi čvrstinu u ćelijskom zidu i omogućavaju efikasan kontakt između celuloznih mikrovlakana i drugih matričnih polimera, čime doprinose stabilnosti i funkcionalnosti ćelijskog zida [32]. Hemicelulozni lanci su kraći i amorfni u odnosu na celulozu, što je čini podložnijom hidrolizi i enzimskoj razgradnji. U poređenju sa ligninom i celulozom, hemiceluloza ima nižu temperaturu razlaganja koja se odvija na temperature između 220 i 315 °C, pri čemu maksimalan gubitak mase dostiže na 268 °C [35]. Pored toga, hemiceluloza ima i veći kapacitet adsorpcije vode, što je glavni faktor koji doprinosi hidrofilnoj prirodi LB [38].

Lignin predstavlja najsloženiji i najmanji deo lignocelulozne biomase. Udeo lignina u LB varira u zavisnosti od njenog porekla i obično iznosi između 15-40% suve mase [33]. Lignin je

složen amorfni heteropolimer izgrađen iz fenilpropanskih jedinica: *p*-kumaril, koniferil i sinapil alkohola. Ovi monomeri, međusobno su povezani C-C i C-O vezama, a razlikuju se po broju metoksi grupa u fenonlnim prstenovima. Njihov odnos unutar polimera varira u zavisnosti od vrste biljaka, drvenih tkiva i slojeva ćelijskog zida [39]. Osim osnovnih fenilpropanskih jedinica, lignin sadrži i alifatične i aromatične komponente. Lignin omogućava vezivanje hemiceluloze sa celulozom, čime povećava čvrstoću, izdržljivost i otpornost LB na biorazgradnju. Osnovna funkcija lignina unutar LB je da pruži strukturnu podršku i čvrstoću biljnim ćelijama, nepropusnost i otpornost na dejstvo različitih mikroorganizama. Ovaj trodimenzionalni polimer pokazuje stabilnost u kontaktu sa vodom, slabim kiselinama i bazama, dok pod uticajem povišene temperature, može doći do hemijskih promena. Smatra se termički najstabilnijim polimerom LB, koji se razlaže u temperaturnom opsegu od 160 do 900 °C [35]. Izolacija lignina iz biomase je otežana zbog snažnih interakcija između fenilpropanoidnih jedinica, ligninskih molekula i polisaharida, a delignifikacija ili modifikacija strukture lignina zahteva raskidanje jakih kovalentnih veza.

U kompleksnoj strukturi LB, prisutne su četiri glavne veze: etarske, estarske, ugljenične i vodonične veze. Ove veze omogućavaju kako intrapolimerno vezivanje unutar svake od komponenti, tako i interpolimerno između različitih komponenti, što doprinosi stabilnosti i čvrstoći strukture LB [34].

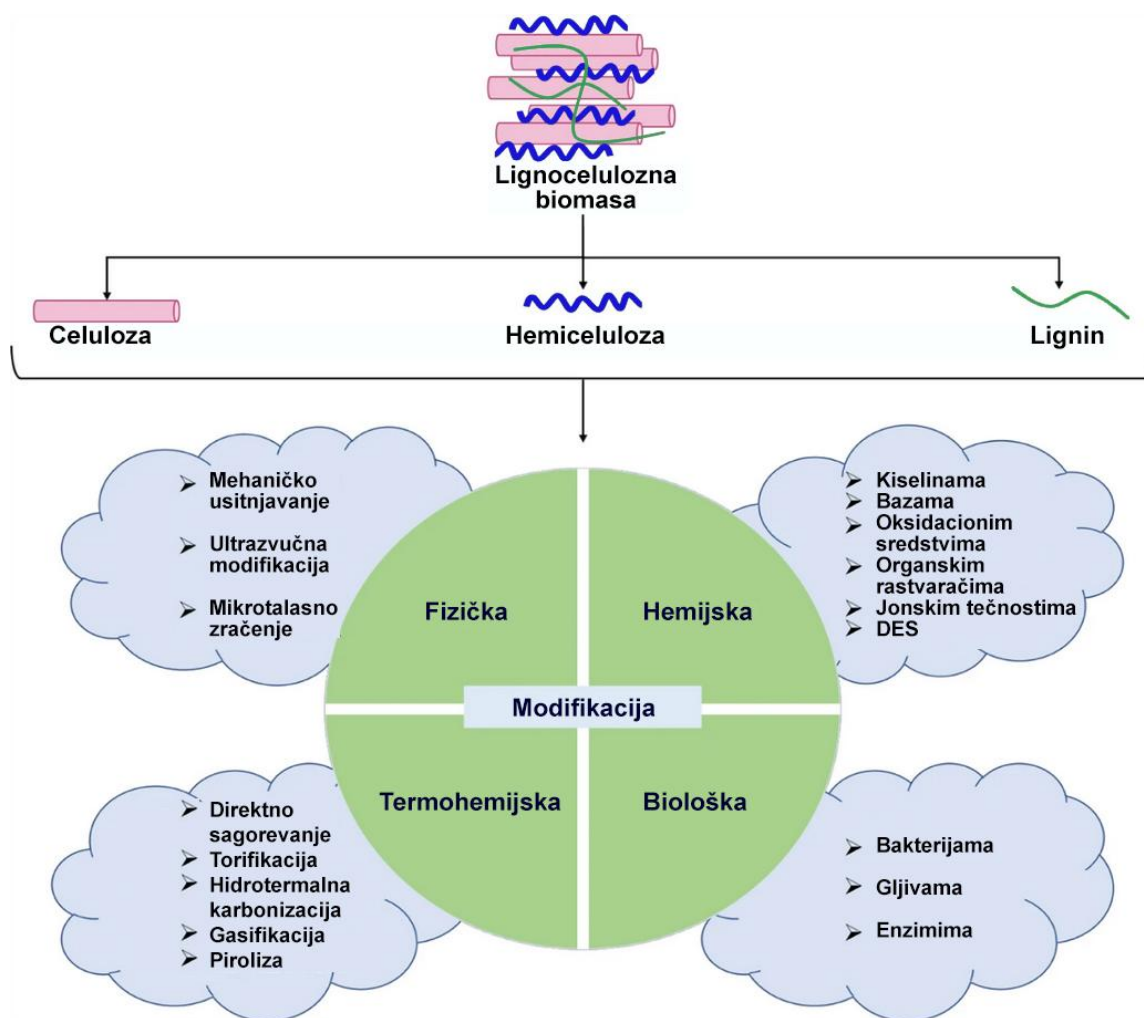
Zahvaljujući svojim osobinama, LB, kao obnovljiv, CO₂-neutralan i održiv zeleni materijal, privlači sve veću pažnju i nalazi sve širu primenu u različitim granama industrije. Otpadna LB ima potencijal da delimično ili u potpunosti zameni plastiku i druge materijale na bazi nafte. Biokompoziti dobijeni iz lignoceluloznih sirovina uspešno se primenjuju u različitim oblastima, uključujući proizvodnju enzima, papira, ambalaže, bioplastike, kao i različitih biorazgradivih materijala za primenu u medicini [14,40]. Poslednjih godina, sve više se razmatra upotreba LB za proizvodnju etanola i biogoriva, kao održiva alternativa tečnim fosilnim gorivima i prirodnom gasu. Primena LB za proizvodnju biogoriva, smanjuje emisiju gasova staklene bašte, čime se doprinosi sprečavanju klimatskih promena [13]. Osim toga, LB ima značajnu ulogu u adsorpciji, gde se, zahvaljujući svojoj poroznoj strukturi i prisustvu funkcionalnih grupa, efikasno koristi za uklanjanje različitih zagađujućih materija iz otpadnih voda. Niska cena, široka rasprostranjenost, dostupnost i jednostavna regeneracija čine LB obećavajućim materijalom za proizvodnju adsorbenata [23]. Lignocelulozna biomasa može se koristiti u nativnom obliku ili se može podvrgnuti odgovarajućoj modifikaciji u cilju poboljšanja adsorpcionih osobina. Objavljen je veliki broj radova koji se bave primenom različitih oblika LB za uklanjanje polutanata iz kontaminiranih voda. Neomodifikovane lignocelulozne komponente, poput lignina, imaju sposobnost vezivanja teških metala procesom kompleksiranja [41]. Termičkom obradom lignocelulozne biomase može se proizvesti aktivni ugalj i biočad, materijali sa visokom specifičnom površinom i razvijenom poroznom strukturom, koji se intenzivno primenjuju za efikasno uklanjanje različitih polutanata [42–44]. Daljim modifikacijama moguće je dobiti nanocevčice i nanočestice, koje zbog svoje velike površine i prisustva funkcionalnih grupa predstavljaju efikasne adsorbente za boje, farmaceutske komponente i druge toksične materije [45,46]. Pored toga, kombinacija lignoceluloznih materijala sa oksidima metala ili polimernim komponentama omogućava sintezu kompozitnih adsorbenata sa poboljšanom selektivnošću i kapacitetom adsorpcije.

Sve ove primene čine LB ključnim i održivim resursom u savremenim industrijskim procesima, podržavajući principe cirkularne ekonomije. Upotrebom otpadne LB, podstiče se korišćenje obnovljivih izvora energije, smanjuje se količina deponovanog otpada uz istovremenu sintezu novih materijala sa novom upotrebom vrednošću.

2.1.2. Modifikacija lignocelulozne biomase

Zavisno od predviđene namene, LB se često mora podvrgnuti procesu modifikacije. Modifikacija je proces ili kombinacija procesa koji menjaju strukturu biomase, smanjujući odnos sadržaja lignina, amorfne celuloze i hemiceluloze, dok je istovremeno čine manje kristalnom. Tokom modifikacije dolazi do depolimerizacije i delignifikacije, koje uključuju razgradnju

estarskih i etarskih veza u strukturi biomase. Ove promene dovode do opuštanja strukture matriksa biomase i smanjenja kristaliničnosti celuloze [47]. Prilikom razmatranja modifikacije, utrošak energije i ekonomska isplativost predstavljaju ključne faktore za definisanje održivosti samog postupka. Pored toga, treba uzeti u obzir i složenost i varijabilnost LB, kako bi se očuvala strukturalna svojstva pojedinih komponenti. LB često pokazuje značajnu otpornost na različite tehnike modifikacije. Ova otpornost potiče od nekoliko faktora, uključujući kristalnu strukturu celuloze, stepen lignifikacije, kao i strukturalnu heterogenost i složenost komponenata ćelijskog zida. Prevažilaženje ovih izazova ključno je za efikasno iskorišćavanje lignocelulozних sirovina. Idealna modifikacija LB treba da ispunjava sledeće uslove: (1) ne stvara toksične inhibitore; (2) ima nisku cenu; (3) niske energetske zahteve; (4) da je moguća reciklaža korišćenih hemikalija [48]. U zavisnosti od namene i specifičnih ciljeva tretmana, postoji više različitih klasifikacija metoda modifikacije lignocelulozних materijala. Prema Kucharskoj i saradnicima [47] metode modifikacije LB mogu se podeliti na fizičke, hemijske, termohemijske i biološke, koje su prikazane na Slici 2.3. U literaturi se često mogu pronaći kombinacije ovih metoda, koje služe za poboljšanje efikasnosti procesa. Neke od metoda modifikacije još uvek su u fazi razvoja, a njihova primena zahteva dalja istraživanja i optimizaciju.



Slika 2.3. Modifikacija lignocelulozne biomase

2.1.2.1. Fizička modifikacija

Fizička modifikacija podrazumeva promenu strukturalnih i površinskih osobina lignocelulozних materijala usitnjavanjem, ultrazvučnim i mikrotalasnim zračenjem [49]. Ovaj

proces dovodi do povećanja površine i poroznosti materijala, uz istovremeno uklanjanje nečistoća, čime se poboljšava dostupnost aktivnih mesta na njegovoj površini. Fizička modifikacija je efikasan, brz i ekološki prihvatljiv metod, koji se često koristi u kombinaciji sa drugim modifikacijama [15].

Mehaničko usitnjavanje predstavlja jedan od najčešće korišćenih metoda modifikacije lignoceluloznih materijala. Ovaj proces uključuje tehnike poput mlevenja, seckanja i rasparčavanja u zavisnosti od željene veličine čestica. Na primer, mlevenjem LB dobijaju se čestice veličine od 0,2 do 2 mm, dok se rasparčavanjem dobijaju veće čestice, veličine od 10 do 30 mm [50]. Ovi postupci povećavaju specifičnu površinu materijala i smanjuju stepen polimerizacije i kristaliničnosti celuloze. Zakaria i saradnici [51] su pokazali da je mlevenjem biomase uljane palme u kugličnom mlinu dovelo do smanjenja indeksa kristalnosti sa 56,1% na 9,3%. Mehaničko usitnjavanje se vrši korišćenjem različitih tipova mlinova, kao što su kuglični, čekićasti, valjkasti i vibracioni mlinovi, u zavisnosti od željene veličine i oblika čestica. Karakteristike dobijenih čestica zavise od tipa materijala, primenjene metode i dužine obrade. Međutim, mehaničko usitnjavanje je energetski zahtevan proces, a količina utrošene energije zavisi od karakteristika uređaja, svojstava materijala i željene veličine čestica. Radi prevazilaženja ovog nedostatka, mehaničko usitnjavanje se često koristi u kombinaciji sa drugim predtretmanima. Istraživanja pokazuju da se, kombinovanjem fizičko-hemijske modifikacije, znatno smanjuje potrošnja energije u odnosu na primenu samo fizičke modifikacije [52].

Ultrazvučna modifikacija je tehnika koja se zasniva na primeni ultrazvučnih talasa visokih frekvencija (20-40 kHz), pri čemu se tokom širenja talasa u medijumu javlja fenomen kavitacije. Tokom kavitacije formiraju se mikromehurići, čija implozija oslobađa energiju koja izaziva pucanje veza u biomasi [49]. Upotreba ultrazvučnih talasa pomaže u razbijanju čvrstih struktura LB, omogućavajući njeno bolje iskorišćenje. Efikasnost ultrazvučnog tretmana zavisi od frekvencije talasa, vremena tretmana, tipa materijala, korišćenog rastvarača i geometrije reaktora. Ova metoda ima mnoge prednosti, poput kratkog vremena tretmana, velike energetske efikasnosti i boljeg prenosa mase, što omogućava efikasno razlaganje biomase [49]. Wang i saradnici [53] su pokazali da tokom ultrazvučnog tretmana dolazi do pucanja α -O-4 i β -O-4 etarskih veza u ligninu, što rezultira oslobađanjem polisaharida i lignina, i olakšava razgradnju biomase. Ultrazvučni pretretman je posebno atraktivan jer ne zahteva visoke temperature ili agresivne hemikalije, što ga čini ekološki prihvatljivim rešenjem za modifikaciju lignoceluloznih materijala.

Mikrotalasnno zračenje predstavlja tretman nejonizujućim elektromagnetnim talasima koji izazivaju vibraciju polarnih molekula unutar biomase. Modifikacija mikrotalasnim zračenjem dovodi do formiranja „vrućih tačaka” unutar čestica biomase usled toplote koju generišu mikrotalasi, što uzrokuje razgradnju složenih molekula, naročito lignina i hemiceluloze, čineći celulozu pristupačnijom za enzime u kasnijim fazama razgradnje [54]. Primena ovog metoda ima niz prednosti kao što su: kratko vreme reakcije, brzo i ravnomerno zagrevanje, niska aktivaciona energija, visok prinos, i isplativost. Međutim, uprkos svojim prednostima, mikrotalasnno pretretman ima određene nedostatke, kao što su potrošnja energije, visoki kapitalni troškovi i potreba za specifičnim sadržajem vlage u uzorku i uslovima pritiska [49].

2.1.2.2. Hemijska modifikacija

Hemijska modifikacija podrazumeva primenu hemijskih agenasa s ciljem narušavanja strukture lignocelulozne biomase. Ovim postupkom mogu se izmeniti određena svojstva lignoceluloznih materijala, poput hidrofилne/hidrofobne prirode, sposobnosti upijanja vode, kapacitet adsorpcije ili jonske izmene, kao i otpornost na delovanje mikroorganizama. Hemijska modifikacija se može vršiti primenom različitih hemijskih reagensa kao što su kiseline, baze, oksidaciona sredstva, organski rastvarači i dr [15].

Modifikacija kiselinama predstavlja efikasnu hemijsku metodu za razgradnju LB raskidanjem glukoziđnih veza. Ovim postupkom dolazi do rastvaranja hemiceluloze i delimične

degradacije lignina, čime se povećava dostupnost celuloze za dalju razgradnju [55]. Primenom kiselina poboljšava se hidrofilitnost i uklanjaju se nečistoće sa površine lignoceluloznih materijala [56]. U ove svrhe, mogu se koristiti različite neorganske i organske kiseline, a najčešće se primenjuju sumporna, sirćetna i fosforna kiselina [49]. Hemijska modifikacija kiselinama može se izvoditi primenom razblaženih ili koncentrovanih kiselina, pri čemu oba postupka imaju svoje prednosti i nedostatke. Modifikacija razblaženim kiselinama (npr. 0,1%) zahteva manju potrošnju kiseline, ali je postupak energetski zahtevniji usled visokih temperature [49]. S druge strane, korišćenje koncentrovanih kiselina (30-70%) smanjuje potrošnju energije, usled niže temperature reakcije, ali veća kiselost može dovesti do proizvodnje inhibitora fermentacije (furfural, 5-hidroksimetilfurfural). Takođe, primena koncentrovanih kiselina povećava rizik od korozije reaktora. Modifikacija kiselinama poboljšava fizička i hemijska svojstva lignoceluloznih materijala. Jain i saradnici [57] su pokazali da je modifikacija lišća *Ficus racemose* sumpornom kiselinom dovela do povećanja specifične površine sa 21,177 na 41,796 m²/g, dok je ukupna zapremina porasla sa 0,066 na 0,109 cm³/g. U drugom istraživanju koje su sproveli Neris i saradnici [58], modifikacija vlakana zumbula azotnom kiselinom dovela je do povećanja adsorpcionog kapaciteta prema olovu sa 49,7 mg/g na 71,8 mg/g. Ovo povećanje kapaciteta rezultat je visoke koncentracije H₃O⁺ u rastvoru nakon modifikacije kiselinom, što omogućava protonaciju karboksilnih i acetatnih grupa na površini materijala, čime se povećava broj dostupnih aktivnih mesta za vezivanje metala.

Modifikacija bazama smatra se jednom od najčešće korišćenih i najjeftinijih modifikacija koja se zasniva na delignifikaciji i uklanjanju hemiceluloze [59]. Alkalni pretretman narušava strukturu lignina i raskida veze između lignina i drugih ugljenih hidrata, čime se povećava njihova dostupnost. Za razliku od kiselinske, alkalna modifikacija se obično izvodi pri blažim operativnim uslovima, čime se eliminiše potreba za skupim materijalima i specijalno dizajniranim reaktorima otpornim na koroziju. Najčešće korišćeni alikalni reagensi su hidroksilni derivati natrijuma, kalijuma, kalcijuma i amonijaka, pri čemu se NaOH pokazao kao najefikasniji. Modifikacija bazama dovodi do bubrenja biomase, čime se povećava specifična površina i smanjuje stepen polimerizacije i kristaliničnost celuloze [47]. Jain i saradnici [57] su ispitivali uticaj modifikacije lišća *Ficus racemosa* primenom NaOH i zaključili da se nakon modifikacije povećala poroznost materijala, dok je specifična površina porasla sa 21,177 na 136,257 m²/g. Ovi rezultati su u skladu sa istraživanjima Ofudje i saradnika [60], koji su zaključili da je povećanje adsorpcionog kapaciteta prema Pb²⁺ rezultat poboljšanih površinskih karakteristika kokosove stabljike nakon modifikacije kalijum hidroksidom. Alkalna modifikacija je najpogodnija za LB sa niskim sadržajem lignina, poput biomase iz poljoprivredne proizvodnje, a efikasnost modifikacije opada sa povećanjem sadržaja lignina [48]. Glavni nedostatak ovog postupka je dužina trajanja, koja može trajati i do nekoliko dana.

Modifikacija oksidacionim sredstvima dovodi do rastvaranja lignina i amorfne celuloze, dok se hemiceluloza rastvara tek nakon odvajanja od biopolimera [47]. Tokom ovog procesa dolazi do raskidanja C-C i C-O veza, elektrofilnih supstitucija i uklanjanja bočnih lanaca [61]. Modifikacijom LB oksidacionim sredstvima, povećava se sadržaj funkcionalnih grupa koje sadrže kiseonik [56]. Ariyanto i saradnici [62] su u svojoj studiji pokazali da modifikacija nanoporoznog ugljenika proizvedenog iz kokosove ljuske, primenom vodonik-peroksida, dovodi do povećanja sadržaja karboksilnih grupa. Najčešće korišćeni oksidacioni reagensi su vodonik-peroksid, ozon, kiseonik, vazduh i peroksi kiseline. Ozon predstavlja jedan od najačih oksidacionih agenasa. Ključan parametar koji utiče na efikasnost ozonolize je sadržaj vlage u biomasi; što je veći sadržaj vlage, to je oksidacija lignina slabija [63]. Prednosti ozonolize uključuju efikasnu degradaciju lignina, izvođenje na sobnoj temperaturi i atmosferskom pritisku, pri čemu ne dolazi do stvaranja inhibitora. Iako je ozonoliza efikasan metod modifikacije lignoceluloznih materijala, zahteva velike količine ozona, što značajno povećava troškove procesa [63].

Modifikacija organskim rastvaračima podrazumeva tretman biomase pomoću organskih rastvarača, kao što su metanol, etanol, etilenglikol, aceton i drugi, pod kontrolisanim uslovima temperature i pritiska [63]. Ova modifikacija se obično izvodi u prisustvu katalizatora, poput

kiselina, baza ili soli, čime se postiže veći prinos. Primenjena temperatura zavisi od vrste biomase i korišćenog katalizatora, a može ići do 200 °C [34]. Tokom modifikacije organskim rastvaračima, dolazi do raskidanja veza između lignina i hemiceluloze putem solubilizacije, što povećava dostupnost celuloze i olakšava enzimsku hidrolizu. Jedna od glavnih prednosti ove modifikacije je mogućnost izdvajanja lignina visoke čistoće, koji se potom može koristiti u proizvodnji električne energije, grejanju i drugim industrijskim aplikacijama. Nakon modifikacije, rastvarač je neophodno ukloniti, što se najčešće vrši isparavanjem i kondenzacijom. Iako se ovaj metod modifikacije koristi već godinama, proces ima određene nedostatke, poput visokih troškova, zapaljivosti i otežane regeneracije rastvarača, što ga čini energetski zahtevnim i skupim [49].

Modifikacija jonskim tečnostima predstavlja inovativan pristup zasnovan na korišćenju organskih soli koje su u tečnom stanju na sobnoj ili blago povišenoj temperaturi (<100 °C) [63]. Princip modifikacije jonskim tečnostima zasniva se na bubrenju i rastvaranju celuloze i lignina. Jonske tečnosti, najčešće imidazolijumske soli, imaju niz prednosti, uključujući nisku tačku topljenja, zanemarljiv pritisak pare i veliku termičku stabilnost. Iako su efikasne u tretmanu biomase, njihova šira primena je ograničena zbog visokih cena, problema oko regeneracije i ponovne upotrebe, kao i potencijalnog stvaranja inhibitora [61].

Modifikacija dubokim eutektičkim rastvaračima (DES) nedavno je postala alternativa tradicionalnim hemijskim metodama, poput tretmana kiselinama ili bazama, koji često izazivaju ekološke i ekonomske probleme. DES su tečne smeše koje se obično sastoje od dve ili tri jeftine i bezbedne komponente, koji se mogu samospojiti, često putem vodoničnih veza, formirajući eutektičku smešu čija je tačka topljenja niža od tačaka topljenja pojedinačnih komponenti, što omogućava efikasnu i selektivnu modifikaciju biomase [63]. Jedna od glavnih prednosti primene DES-a u modifikaciji lignoceluloze je njihova sposobnost da efikasno rastvore lignin i hemicelulozu, čime se povećava dostupnost celuloze za enzimsku hidrolizu. Modifikacija lignoceluloznih materijala DES-om ekološki je prihvatljivija od drugih metoda, jer se DES sastoji od netoksičnih i biorazgradivih hemikalija [49]. Ipak, izazovi poput, složenosti procesa proizvodnje i problema sa reciklažom i ponovnom upotrebom još uvek nisu istraženi.

2.1.2.3. Biološka modifikacija

Biološka modifikacija podrazumeva primenu mikroorganizama, poput bakterija, gljiva ili njihovih enzima, za razgradnju lignoceluloznog kompleksa [64,65]. Mikroorganizmi imaju sposobnost da jedinjenja velike molekulske mase razgrade u komponente jednostavnije strukture, koje se zatim mogu koristiti u procesu fermentacije [66]. Ovaj proces je moguć zahvaljujući njihovoj sposobnosti da sintetišu ekstracelularne enzime koji razgrađuju složene polimere. Biološka modifikacija se odvija u blagim reakcionim uslovima, pri sobnoj temperaturi i atmosferskom pritisku, bez potrebe za dodatnom energijom ili upotrebom hemikalija. Takođe, tokom ove modifikacije ne nastaju toksični nusproizvodi, što je čini ekološki prihvatljivom [59]. Ova modifikacija obično se koristi za obradu lignoceluloznih materijala sa visokim udelom vlage. Međutim, biološka modifikacija ima i određene nedostatke. U poređenju sa drugim metodama, biološka modifikacija je izuzetno spora, obično traje između 2 i 5 nedelja, zahteva strogo kontrolisane uslove za rasta mikroorganizama i dovoljno prostora [59]. Pored toga, mikroorganizmi koji se koriste ne mogu koristiti ugljenik iz lignina, već se oslanjaju na oslobođene šećere, što može dovesti do gubitka dela ugljenih hidrata tokom biološkog tretmana.

Bakterijski predtretman zasniva se na primeni bakterija iz različitih rodova, koje su sposobne da razgrade komponente LB. Kao inokulum mogu se koristiti bakterije jedne vrste, bakterijski konzorcijum ili kombinacija bakterija i gljiva. Bakterije se mogu izolovati iz različitih izvora, poput mikrobnih kultura sa prethodnih fermentacija, mulja, supstrata sa lignoceluloznom strukturom, kao i raznih nusproizvoda iz prehrambene i agroindustrije [66]. Bakterije se relativno lako prilagođavaju novim uslovima i supstratima i nakon kraće ili duže faze prilagođavanja (*lag* faze), počinju da se razmnožavaju. Nekoliko vrsta bakterija posebno su poznate po sposobnosti da

razgrade lignin, među kojima se izdvajaju vrste *Streptomyces*, *Actinomyces*, *Nocardia* i *Eubacteria* [66].

Predtretman gljivama zasniva se na upotrebi gljiva, koje su poznate po svojoj sposobnosti razgradnje lignoceluloznih materijala zahvaljujući enzimima koje proizvode. Gljive su široko rasprostranjene u prirodi, a mnoge od njih proizvode različite enzime, uključujući celulolitičke, hemicelulolitičke i ligninolitičke enzime [40]. Gljive koje se koriste za pretretman biomase uključuju gljive smeđeg, belog i mekog truljenja, pri čemu se prvenstveno razgrađuju lignin, hemiceluloza i mali deo celuloze. Među različitim vrstama gljiva, gljive belog truljenja su posebno efikasne u razgradnji lignina, zahvaljujući svom specifičnom enzimskom sistemu. Gljive belog truljenja razlažu sve komponente ćelijskog zida, što dovodi do postepenog omekšavanja i posvetljivanja biljnog tkiva kako proces napreduje [67]. Wan i Li [68] su dokazali da su gljive belog truljenja sposobne da potpuno razgrade lignin oksidacijom ligninskih molekula. Gljive su bolji producenti ligninaza u odnosu na bakterije, zbog čega su efikasnije u razlaganju LB sa visokim udelom lignina.

Predtretman enzimima uključuje direktno dodavanje sirovih, prečišćenih ili delimično prečišćenih enzima u biomasu sa ciljem oslobađanja jednostavnih šećera iz kristalne celuloze i hemiceluloze. Efikasnost enzimskog tretmana zavisi pre svega od vrste korišćenog enzima, odnosno njegove specifičnosti, kao i od sastava biomase [66]. Najčešće korišćeni enzimi za predtretman LB su celulaze, hemicelulaze i ligninolitički enzimi, poput lakaze i peroksidaze. Predtretman enzimima nije toliko efikasna kao mikrobiološki pretretman, uglavnom zbog složenosti ligninolitičkog enzimskog sistema, koji obično zahteva sinergiju nekoliko enzima i prisustvo medijatora za efikasnu degradaciju lignina. Prednosti enzimskog pretretmana ogledaju se u kratkom reakcionom vremenu i činjenici da inhibitori i mikrobiološki metabolizam ne utiču značajno na aktivnost enzima. Međutim, visoka cena enzima često ograničava njihovu primenu [69].

2.1.2.4. Termohemijska modifikacija

Termohemijska modifikacija je metoda predtretmana biomase, koja se odvija pod dejstvom toplotne energije. Prema različitim autorima, termohemijski tretman obuhvata različite metode, a prema Joshi i saradnicima [11] termohemijski tretman se može podeliti na: direktno sagorevanje, torifikaciju, hidrotermalnu karbonizaciju, gasifikaciju i pirolizu. Direktno sagorevanje pretvara biomasu u toplotu, dok preostale metode omogućavaju efikasniju modifikaciju materijala. Izbor tretmana zavisi od brojnih faktora, poput vrste i količine LB, uticaja na životnu sredinu, a pre svega od željenih proizvoda. Tokom termohemijskog tretmana, zavisno od temperature, obično dolazi do razgradnje hemiceluloze i celuloze, dok se lignin delimično depolimerizuje [70]. Toplota uzrokuje raskidanje vodoničnih veza u kristalnom kompleksu, što dovodi do širenja biomase i povećanja dostupne površine [69]. Primena primenu visoke temperature, može biti energetski zahtevna, posebno kada se toplotna energija obezbeđuje konverzijom električne energije.

Torifikacija je proces termičke degradacije biomase u inertnoj atmosferi ili uz smanjeni sadržaj kiseonika, u temperaturnom opsegu od 225 do 300 °C [11]. Na proces torifikacije utiče brzina zagrevanja, temperatura, vreme trajanja procesa, veličina čestica i sadržaj vlage. Tokom torifikacije dolazi do razgradnje hemiceluloze, uklanjanja kiseonika, oslobađanja vlage, CO, CO₂ i isparljivih organskih komponenti, poput sirćetne i mravlje kiseline [36]. Hemiceluloza se uglavnom razgrađuje na temperaturi neposredno ispod tačke torifikacije, što znači da biomasa sa visokim sadržajem hemiceluloze prolazi kroz značajan gubitak mase tokom ovog procesa. Rezultat je čvrsti, homogeni produkt sa smanjenim sadržajem vlage i povećanom energetskom vrednošću. Ovaj proces predstavlja obećavajući metod za pretvaranje biomase u energetski gušći i ekološki prihvatljiviji izvor goriva.

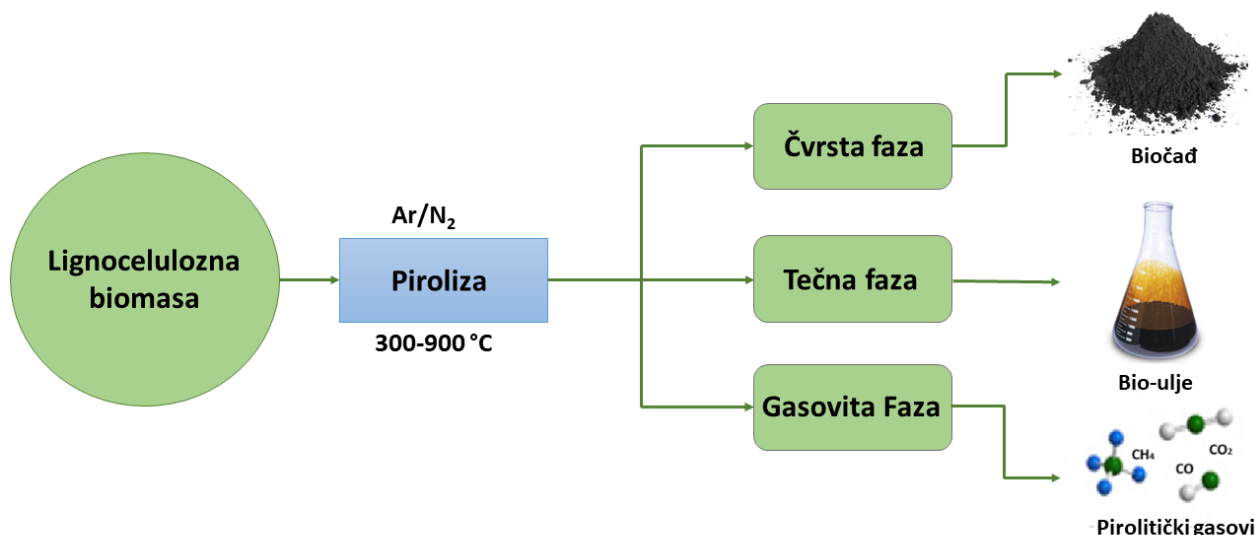
Hidrotermalna karbonizacija je blag termohemijski proces u kojem se suspenzija LB i vode zagreva na temperaturi od 180 do 280 °C pod povišenim pritiskom [71]. Zbog svoje niske viskoznosti i male dielektrične konstante, primenom vode kao rastvarača olakšavaju se reakcije

kiselo-bazne katalize i poboljšava razgradnja biomase. Tokom hidrotermalne karbonizacije biomasa prolazi kroz niz hemijskih procesa, uključujući hidrolizu, dehidraciju, dekarboksilaciju, a kao glavni proizvod formira se čvrsti ugljeni materijal - hidročađ, bez direktnog ispuštanja CO₂ ili CH₄ u atmosferu [11,36]. Proces traje između 1 i 12 h, a dobijena hidročađ zadržava 50–70% ukupne mase [72]. Procesom hidrotermalne karbonizacije može se tretirati biomasa sa visokim sadržajem vode, što je čini odličnom alternativom za tretiranje otpadnih tokova, poput kanalizacijskog mulja. Usled izvođenja pri relativno niskim temperaturama, hidrotermalna karbonizacija pokazuje značajnu ekonomsku i energetska efikasnost. Pored toga, ovaj proces omogućava razgradnju toksičnih supstanci i eliminaciju rezidualnih mikroorganizama prisutnih u biomasi [11]. Međutim, nakon hidrotermalne karbonizacije zaostaje procesna tečnost koja otežava odvajanje hidročađi. Ova tečnost sadrži inhibitore i organske kiseline, poput mravlje i smatra se toksičnom za životnu sredinu, pa zahteva dodatni tretman pre eventualnog ispuštanja ili ponovne upotrebe [70].

Gasifikacija je termohemijska modifikacija biomase primenom visokih temperatura u opsegu od 700-1400 °C u prisustvu agensa za gasifikaciju, kao što su para, kiseonik, vazduh ili njihova kombinacija [36,73]. Agensi za gasifikaciju utiču na reaktivnost procesa, a najčešće se koristi vazduh, zbog svoje niske cene i lake dostupnosti. Procesom gasifikacije biomasa se prevodi u gorivi gas, koji sadrži CH₄ i manju količinu N₂, ili u sintezni gas koji se sastoji od H₂ i CO, a može da sadrži i CH₄, CO₂ i druge lake ugljovodonike [36]. Sastav sinteznog gasa zavisi od uslova gasifikacije, karakteristika biomase, sadržaja vlage u biomasi i načinu dovođenja u gasifikator. Nakon što se prečisti, nastali gas se može koristiti za proizvodnju energije. Pored sinteznog gasa, gasifikacijom nastaje i katran, kao i različita azotna i sumporna jedinjenja [36].

Piroliza je najčešće primenjivana termohemijska metoda modifikacije biomase, koja se odvija na povišenim temperaturama u inertnoj atmosferi. Ovaj proces zahteva visoku temperaturu, od 300 do 900 °C i umereni pritisak od 0.1–0.5 Mpa, pri čemu dolazi do nepovratnih hemijskih promena u biomasi [74]. Atmosfera bez kiseonika omogućava zagrevanje biomase iznad njene termičke stabilnosti, što dovodi do formiranja stabilnijih proizvoda i čvrstog ostatka. Pored toga, odsustvo kiseonika sprečava sagorevanje biomase [75]. Kao krajnji proizvodi pirolize dobijaju se biočađ, bio-ulje i smeša pirolitičkih gasova (Slika 2.4).

Biočađ predstavlja čvrsti ugljeni ostatak, dok je bio-ulje tamna organska tečnost koja nastaje istovremenom fragmentacijom i depolimerizacijom glavnih komponenti LB. Bio-ulje obično sadrži visok sadržaj vode i različite organske komponente poput: kiselina, alkohola, ketona, furana, fenola, etara, estara, azotna i jedinjenja koja sadrže kiseonik. Glavni gasovi koji nastaju tokom pirolize su ugljen-dioksid, ugljen-monoksid, vodonik, metan, etan, etilen, propan, oksidi sumpora i azota, kao i amonijak [76]. Na sastav krajnjih proizvoda utiču različiti procesni parametri pirolize, poput konfiguracije reaktora, brzine zagrevanja, radne temperature, protoka inertnog gasa i veličine čestica biomase [77].



Slika 2.4. Proizvodi pirolize LB

Piroliza je kompleksan proces, koji obuhvata veliki broj reakcija, uključujući dehidraciju, depolimerizaciju, izomerizaciju, aromatizaciju, dekarboksilaciju i karbonizaciju [77]. Piroliza biomase sastoji se od tri međusobno isprepletanih faza: 1) početnog isparavanja vlage, 2) primarne razgradnje i 3) sekundarnih reakcija, uključujući krekvanje i repolimerizaciju. Razgradnja biomase obično se odvija tokom primarne razgradnje na temperaturi od 200 do 400 °C, pri čemu se formiraju glavni proizvodi, dok se sekundarne reakcije odvijaju unutar nastalih proizvoda i intenziviraju se sa porastom temperature [78].

U inertnoj atmosferi, sa postepenim zagrevanjem, dolazi do uklanjanja vlage iz biomase. Nakon isparavanja vlage dolazi do raskidanja slabijih hemijskih veza i formiranja hidroperoksida, karboksilnih i karbonilnih grupa [79]. Daljim povećanjem temperature, počinje razgradnja hemiceluloze, koja se odvija na temperaturi između 220 i 315 °C. Tokom ovog procesa oslobađaju se isparljive komponente, što dovodi do ekspanzije površine i povećanja poroznosti. Celuloza, koja je termički stabilnija, razlaže se pri višim temperaturama, počevši od 300 do 400 °C. Celuloza se raspada na manja jedinjenja poput levoglukozana, furfurala i hidroksiacetaldehida, uz formiranje bio-ulja i gasova [33]. Lignin, koji je izuzetno termički stabilan, razgrađuje se postepeno na aromatične komponente u temperaturnom intervalu od 160 do 900 °C, pri čemu se njegova brzina razgradnje smanjuje sa porastom temperature [35,80].

Na osnovu operativnih uslova piroliza se može podeliti na [63]:

1. Sporu pirolizu;
2. Brzu pirolizu.

Ključne razlike između spore i brze pirolize odnose se na brzinu zagrevanja i temperaturu reakcije. Spora piroliza se odvija na nižim temperaturama (300-500 °C), sa sporijom brzinom zagrevanja (1-20 °C/s) i dužim vremenom procesa (od nekoliko sati do nekoliko dana) [33,81]. Ovaj proces favorizuje stvaranje biočadi u većem udelu (50-60%), dok je proizvodnja bio-ulja manja. S druge strane, brza piroliza se izvodi pri visokim temperaturama (450 i 600 °C), sa vrlo kratkim vremenom kontakta (0,5–10 s) i veoma brzim zagrevanjem biomase (10-200 °C/s) [4,82]. Ovaj proces favorizuje proizvodnju bio-ulja, koje čini oko 60-75% proizvoda, uz manji udeo biočadi i pirolitičkih gasova.

Jedna od ključnih prednosti pirolize predstavlja njena fleksibilnost, kako u pogledu vrste biomase, tako i operativnih uslova. Optimizacijom procesnih parametara moguće je dobiti proizvod željenih karakteristika. Kvalitet proizvoda dobijenih pirolizom čini ovu tehnologiju superiornom u odnosu na druge procese.

2.2. Biočad - pojam i karakteristike

Biočad je materijal bogat ugljenikom, koji se dobija termičkom razgradnjom biomase ili drugih organskih materijala u odsustvu kiseonika. Prema Internacionalnoj inicijativi za biočad [83], pored ugljenika, biočad sadrži i pepeo, vodonik, kiseonik, azot i sumpor. Zahvaljujući hemijskom sastavu, prisustvu funkcionalnih grupa, visoko razvijenoj poroznoj stukturi, velikoj specifičnoj površini, dobroj električnoj provodljivosti i velikoj termičkoj i hemijskoj stabilnosti, biočad je u poslednjih nekoliko godina postala privlačan i koristan materijal u različitim oblastima industrije [82].

Fizičko-hemijske osobine biočadi zavise od karakteristika polazne sirovine i procesnih parametara pirolize. Prvi korak u proizvodnji biočadi je izbor odgovarajuće lignocelulozne biomase. Glavna svojstva biomase koja utiču na osobine biočadi su: sastav biomase, sadržaj vlage i veličina čestica [75,79]. Sastav biomase značajno utiče na prinos i karakteristike proizvedene biočadi. Relativni maseni odnos organskih i neorganskih komponenti varira u zavisnosti od porekla biomase, a piroliza svakog pojedinačnog sastojka LB odvija se kroz specifične reakcione puteve u zavisnosti od termohemijskih karakteristika, pri čemu nastaju različiti proizvodi [78]. Celuloza i hemiceluloza doprinose proizvodnji bio-ulja i pirolitičkih gasova, dok lignin povećava prinos biočadi. Osim toga, veći sadržaj lignina može povećati molekulsku masu i viskoznost bio-ulja, ali i smanjiti sadržaj vode. Ekstraktivne materije u LB takođe mogu uticati na karakteristike biočadi, jer njihovo prisustvo podstiče proizvodnju bio-ulja, a smanjuje prinos biočadi i gasova [84]. Zbog toga se za proizvodnju biočadi preporučuje upotreba biomase sa visokim sadržajem lignina i niskim sadržajem ekstraktivnih materija. Sadržaj vlage u biomasi ima značajan uticaj na formiranje biočadi. Visok udeo vlage podstiče stvaranje katrana, dok istovremeno inhibira formiranje biočadi [79]. Pored toga, energija koja se dovodi tokom pirolize troši se na uklanjanje vlage, umesto na postizanje željene temperature. Lignocelulozna biomasa uvek sadrži određenu količinu vlage, koja može biti prisutna u hemijski vezanom ili slobodnom obliku [33]. Za proizvodnju biočadi potrebno je koristiti biomasu sa niskim sadržajem vlage čime se značajno smanjuje količina potrebne energije i vreme trajanja procesa, što sam proces pirolize čini ekonomičnijim. Biomasa sa više od 30% vlage nije pogodna za pirolizu [85], već se za termički tretman takve biomase koristi hidrotermalna karbonizacija.

Veličina čestica polazne sirovine takođe ima uticaj na prinos proizvedene biočadi, jer utiče na brzinu prenosa toplote tokom pirolize. Ogunkanmi i saradnici [84] ispitivali su uticaj veličine čestica ljuske palmine koštice na prinos proizvoda tokom pirolize i zaključili da se pirolizom većih čestica dobija veći prinos biočadi, dok se primenom čestica manje veličine dobija veći prinos bio-ulja i gasova. Čestice manje veličine se zagrevaju ravnomerno u toku pirolize, što dovodi do otpuštanja više isparljivih materija, kao i većim prinosom bio-ulja i gasova. Suprotno tome, veće čestice imaju veći temperaturni gradijent, što otežava prenos toplote prema unutrašnjoj površini čestice i smanjuje količinu isparljivih materija, a povećava prinos biočadi

Za dobijanje biočadi visokog prinosa i željenih osobina, pored odabira odgovarajuće polazne sirovine, potrebno je i optimizovati procesne parametre pirolize. Temperatura pirolize jedan je od najbitnijih parametara koji utiču na promene u stukturi i fizičko-hemijske osobine biočadi [79]. Povećanje temperature pirolize uzrokuje intenzivnije termičko razlaganje biomase, što dovodi do većeg prinosa bio-ulja i gasova, a manjeg prinosa biočadi. Ogunkanmi i saradnici [84] su u svom istraživanju pokazali da povećanje temperature pirolize sa 350 na 550 °C smanjenjuje prinos biočadi iz ljuske palmine koštice za 19%. Visoke temperature pirolize dovode do povećanja specifične površine i zapremine pora, što je rezultat termičke razgradnje biomase. Takođe, povećanje temperature rezultira većim sadržajem vezanog ugljenika i pH vrednosti [86]. Tokom pirolize, usled visoke temperature dolazi do dehidracije, isparavanja i preuređenja molekula u lignoceluloznoj biomasi. Alifatične strukture iz hemiceluloze i lignina transformišu se u aromatične, što dovodi do povećanja broja fenolnih i etarskih grupa u biočadi. Zhang i saradnici [86] su u svom istraživanju ispitivali uticaj temperature pirolize (200-800 °C) na sadržaj funkcionalnih grupa u biočadi bambusa i ljuske pirinča. Na nižim temperaturama (200 °C i 300 °C), bile su prisutne:

hidroksilne, karboksilne, karbonilne i metoksilne funkcionalne grupe, koje su postepeno nestajale sa povećanjem temperature do 400 °C. Kako se temperatura dalje povećavala, ove funkcionalne grupe su se termički razgradile, što je dovelo do oslobađanja gasovitih i tečnih komponenti. Na temperaturama od 700 °C i 800 °C, pomenute funkcionalne grupe su bile gotovo potpuno eliminisane i transformisane u stabilne, manje reaktivne strukture. Pored toga, visoke temperature pirolize utiču pozitivno na električnu provodljivost. Neki autori ovo ponašanje povezuju sa smanjenjem procenta kiseonika, dok drugi smatraju da je to posledica povećanja sadržaja rastvorljivih soli i smanjenja kiselih funkcionalnih grupa [79,82].

Brzina zagrevanja igra važnu ulogu u pirolizi biomase, jer brzina promene temperature utiče na prirodu i sastav krajnjih proizvoda. Pored toga što utiče na prinos, brzina zagrevanja može da utiče i na morfološke osobine biočadi. Angin i saradnici [87] su u svojoj studiji pokazali da je pri pirolizi semena šafranike, u temperaturnom opsegu od 400 do 600 °C, povećanje brzine zagrevanja sa 10 na 50 °C/min dovelo do smanjenja površine i zapremine pora biočadi. Pri nižim brzinama zagrevanja isparljive materije imaju dovoljno vremena da difunduju iz čestica, dok se pri višim brzinama to vreme značajno skraćuje, što dovodi do njihove akumulacije između i unutar čestica. Ova pojava može dovesti do smanjenja zapremine pora i specifične površine biočadi.

Dužina trajanja pirolize usko je povezana sa temperaturom i brzinom zagrevanja, što otežava precizno definisanje trajanja pirolize. Wang i saradnici [88] su ispitivali uticaj dužine trajanja ko-pirolize pri 600 °C na prinos i karakteristike biočadi proizvedene iz otpadnog mulja i stabljike pamuka. Prinos biočadi se smanjivao sa produžavanjem vremena pirolize sa 30 na 90 min, dok između uzoraka tretiranih na 120 i 150 min nije uočena značajna razlika. Ovi rezultati ukazuju da je nakon 120 min završen proces konverzije, te da dalje produženje vremena pirolize ne utiče na prinos biočadi. Produžavanjem vremena pirolize sa 30 na 90 min, specifična površina je porasla sa 9,17 na 23,59 m²/g, što se može objasniti intenzivnijom termičkom razgradnjom LB i povećanim oslobađanjem isparljivih komponenti. Ovi procesi doprinose stvaranju porozne strukture biočadi, čime se povećava njena ukupna specifična površina. Međutim, pri daljem produženju pirolize na 150 min, specifična površina je opala na 21,48 m²/g, što sugerise da je produženo vreme pirolize dovelo do narušavanja porozne strukture biočadi i smanjenja njene specifične površine.

Pritisak unutar reaktora takođe igra značajnu ulogu u prinosu proizvoda. Kada se piroliza obavlja pod pritiskom većim od atmosferskog, prinos biočadi se povećava. Visok pritisak utiče i na sadržaj ugljenika, pa se koncentracija ugljenika u biočadi povećava kada se biomasa pirolizuje pod visokim pritiskom [75].

Protok inertnog gasa tokom pirolize može uticati na prinos biočadi. Tokom pirolize biomase dolazi do formiranja određene količine gasova, koji mogu učestvovati u sekundarnim reakcijama i tako promeniti prirodu i sastav proizvoda pirolize [75]. Saif i saradnici [76] su u svojoj studiji pokazali da se pirolizom šećerne trske na 500 °C prinos biočadi smanjio sa 36% na 24% pri povećanju protoka azota sa 100 na 500 mL/min. Povećanje protoka ubrzava eliminaciju gasova iz reakcione zone čime se sprečavaju sekundarne reakcije i smanjuje prinos biočadi. Kao inertni gasovi, najčešće se koriste azot, argon i vodena para, pri čemu je azot najpopularniji zbog svoje inertnosti i niske cene [75].

2.2.1. Aktivacija biočadi

Čak i uz preciznu kontrolu definisanih procesnih parametara pirolize, nije uvek moguće postići željena svojstva biočadi, što često zahteva dodatnu aktivaciju. Aktivacijom biočadi mogu se značajno unaprediti poroznost, specifična površina i električna svojstva. Pored toga, primenom odgovarajućih metoda aktivacije mogu se modifikovati i funkcionalne grupe na površini biočadi, čime se povećavaju adsorpciona svojstva prema specifičnim jedinjenjima [82]. Ova mogućnost prilagođavanja čini biočad izuzetno svestranim materijalom, čija se svojstva mogu optimizovati radi poboljšanja performansi u specifičnim primenama. Metode aktivacije se generalno klasifikuju na hemijske i fizičke, pri čemu svaka od njih nudi specifične prednosti u zavisnosti od ciljanih

svojstava biočadi [89]. Efikasnost aktivacije zavisi od karakteristika biočadi, temperature, prirode i koncentracije korišćenih hemikalija.

Hemijska aktivacija je najčešće korišćen metod aktivacije biočadi, koji se zasniva na primeni hemijskih reagenasa poput kiselina, baza, soli metala ili oksidacionih sredstava [90]. Glavne prednosti hemijske aktivacije su visoka efikasnost, visok prinos ugljenika, povećanje specifične površine i poroznosti, kao i niži temperaturni opseg rada u poređenju sa fizičkom aktivacijom [91]. Međutim, rizici povezani sa hemijskom aktivacijom veći su nego kod fizičke aktivacije, jer vrsta i količina korišćenog hemijskog agensa moraju biti pažljivo kontrolisani. Primena hemijskih reagenasa može dovesti do korozije opreme i zagađenja životne sredine, a visoka cena i otežana reciklaža hemikalija predstavljaju dodatne izazove [89].

Kiselinskom aktivacijom uklanjaju se prisutne nečistoće sa površine biočadi, dok se istovremeno uvode nove funkcionalne grupe koje sadrže kiseonik [90]. Za kiselinsku aktivaciju najčešće se koriste hlorovodonična, sumporna, fosforna, azotna i limunska kiselina. Yu i saradnici [92] su u svojoj studiji modifikovali biočad kukuruznog klipa primenom sumporne kiseline, za uklanjanje natrijumovih jona. Njihovo istraživanje je pokazalo da je tokom modifikacije došlo do formiranja $-SO_3H$ grupa, koje značajno poboljšavaju adsorpciju katjona. Pored toga, specifična površina biočadi se praktično udvosturčila, dok je SEM analiza otkrila pojavu velikih pora koje nisu bile prisutne u netretiranom uzorku.

Bazna aktivacija obično povećava hidrofobnost biočadi i dovodi do promena u njenoj specifičnoj površini i poroznosti [10]. Najčešće korišćene baze za ovaj proces su natrijum, kalijum i amonijum hidroksid. Aktivacijom biočadi ljuste kikirikija primenom kalijum-hidrokisda, Han i saradnici [93] su potvrdili da se alkalnom aktivacijom značajno menja specifična površina i poroznost biočadi. Specifična površina netretiranog uzorka povećala se sa 12,28 na 640 m^2/g nakon aktivacije, dok se zapremina pora povećala sa 0,017 na 0,76 cm^3/g , omogućavajući efikasniju adsorpciju Metilen plavog. Ove promene nastale su kao posledica prodiranja kalijum hidroksida u unutrašnju strukturu biočadi, gde je regovao sa ugljenikom, omogućavajući otvaranje i proširivanje postojećih pora. U poređenju sa aktivacijom kiselinama, primena baza dovodi do značajnijeg povećanja specifične površine biočadi, većeg H/C i N/C odnosa, dok se O/C odnos smanjuje [94].

Aktivacija biočadi pomoću soli polivalentnih metala ili metalnih oksida može značajno poboljšati njene karakteristike, kao što su adsorpcioni kapacitet, katalitička svojstva i magnetizam [90]. Biočad, zbog negativnog površinskog naelektrisanja, pokazuje nizak adsorpcioni kapacitet prema anjonima. Modifikacija metalima menja površinske osobine biočadi, što dovodi do povećanja adsorpcionog kapaciteta prema ovim jonskim vrstama. Long i saradnici [95] su ispitivali adsorpciju nitrata korišćenjem biočadi kukuruznog klipa, aktivirane različitim solima metala ($MgCl_2$, $ZnCl_2$, $AlCl_3$, $FeCl_3$). Najbolji rezultati postignuti su aktivacijom sa $FeCl_3$, čime je dobijena biočad sa najvišim zeta potencijalom (+42,67 mV), što je čini najpovoljnijim za adsorpciju anjona, kao što su nitrati. Aktivacija metalima olakšava ponovnu upotrebu (reciklažu) biočadi, s obzirom da sitne čestice biočadi dovode do otežanog uklanjanja iz vodenih rastvora. Upotrebom soli gvožđa ili oksida gvožđa, biočad postaje magnetičan, što omogućava lakšu separaciju i reciklažu [10]. Takođe, aktivacija metalnim solima ili oksidima doprinosi formiranju metal-biočad kompozita. Aktivacija pomoću metala ili metalnih soli može se izvesti na dva načina: u prvom, metalne soli ili oksidi se mešaju sa biomasom pre pirolize, dok se u drugom slučaju biočad prvo pirolizuje, a zatim tretira rastvorom metalnih soli ili oksida [96]. Ovi pristupi omogućavaju optimizaciju svojstava biočada, a najčešće korišćeni metali uključuju gvožđe, magnezijum, aluminijum i mangan.

Aktivacija oksidacionim reagensima, poput vodonik-peroksida i kalijum-permanganata, povećava sadržaj funkcionalnih grupa koje sadrže kiseonik, posebno karboksilnih, što poboljšava adsorpcione karakteristike biočadi prema različitim zagađujućim materijama [94]. Visoka cena i potreba za zbrinjavanjem oksidacionih sredstava nakon upotrebe predstavljaju prepreke za njihovu širu primenu kao agensa za aktivaciju.

Fizička aktivacija biočadi podrazumeva upotrebu fizičkih agenasa kao što su para, ugljen-dioksid, vazduh ili azot, na različitim temperaturama [90]. Veći deo isparljivih materija, uključujući ugljen-dioksid, koji nastaju tokom karbonizacije, može se ukloniti fizičkom aktivacijom. Tokom ovog procesa, zatvorene pore u matrici biočadi se otvaraju i povezuju sa drugim porama, čime se značajno može povećati specifična površina i formirati mikroporozna struktura [97]. Efikasnost fizičke aktivacije zavisi od temperature, stepena aktivacije, karakteristika materijala i aktivacionog agensa. Ove metode aktivacije su ekološki prihvatljivije u poređenju sa hemijskim metodama, jer smanjuju upotrebu hemikalija, ali su energetska zahtevnije [92].

Aktivacija parom predstavlja najčešće korišćenu metodu fizičke aktivacije. Obično se sprovodi na visokim temperaturama, u opsegu od 500 do 850 °C, sa vremenom obrade od 1 do 7 sati. Tokom ovog procesa, dolazi do niza reakcije između biočadi, pare i međuproizvoda nastalih u toku aktivacije, koje dovode do povećanja postojećih i stvaranja novih pora. U svojoj studiji, Rajapaksha i saradnici [98] aktivirali su biočad dobijenu iz otpada čaja korišćenjem pare, što je dovelo do povećanja specifične površine sa 342 na 576,1 m²/g i značajnog poboljšanja adsorpcione kapaciteta prema sulfametazinu.

Korišćenje vazduha kao aktivacionog agensa čini proces znatno ekonomičnijim u poređenju sa drugim aktivacionim agensima. Međutim, ukoliko se proces ne kontroliše pažljivo, reakcija između vazduha i biočadi može preći u sagorevanje, što dovodi do stvaranja pepela [97].

2.2.2. Primena biočadi

Poslednjih godina, biočad privlači sve više pažnje, kako zbog mogućnosti proizvodnje iz širokog spektra sirovina, uključujući otpadne materijale, tako i zbog fizičko-hemijskih karakteristika. Zahvaljujući svojoj velikoj specifičnoj površini, mikroporoznosti, stabilnoj ugljeničnoj strukturi i specifičnim funkcionalnim grupama, biočad, je pronašla široku primenu u različitim oblastima, koje su prikazane na Slici 2.5. Danas, biočad predstavlja obećavajući materijal, a istraživanja se i dalje usmeravaju na otkrivanje novih mogućnosti njene primene, naročito u kontekstu održivih tehnologija i zaštite životne sredine.



Slika 2.5. Primena biočadi

2.2.2.1. Primena u zemljištu

Zahvaljujući svojim osobinama, biočad je našla raznovrsnu primenu u tretmanu zemljišta. Pokazala se kao efikasan dodatak za poboljšanje kvaliteta, plodnosti i strukture zemljišta, čime

doprinosi rastu biljaka i povećanju prinosa useva. Osim toga, istraživanja ukazuju na značajnu ulogu biočadi u ublažavanju klimatskih promena i remedijaciji kontaminiranih zemljišta [90].

Purakayastha i saradnici [99] su objasnili da dodavanje biočadi u zemljište poboljšava kvalitet zemljišta, smanjuje zapreminsku gustinu, povećava poroznost, kapacitet zadržavanja vode i hidrauličku provodljivost. Pored toga, biočađ sadrži visok udeo neorganskih elemenata, poput K, Ca, Mg i Na, koji mogu poslužiti kao makro i mikro nutrijenti za biljke, delujući kao đubrivo i podstičući njihov rast [84]. Na taj način smanjuje se upotreba hemijskih đubriva, čime se doprinosi očuvanju životne sredine. Pored toga, biočađ može stimulisati mikrobnu populaciju i njihovu aktivnost u zemljištu, posebno mikorizne gljive, koje su od suštinskog značaja za ciklus hranljivih materija [90].

Biočađ se pokazala izuzetno efikasno u remedijaciji kontaminiranog zemljišta, jer može da imobilise i transformise zagađujuće komponente poput organskih jedinjenja, teških metala, metaloida, policikličnih aromatičnih ugljovodonika i drugih toksičnih supstanci. Proces remedijacije primenom biočadi uglavnom se odvija putem adsorpcije. Burachevskaya i saradnici [100] ispitivali su upotrebu biočadi iz ljuske suncokreta, ljuske pirinča i drveta za adsorpciju teških metala (Pb, Cu i Zn) iz zemljišta. Oni su pokazali da se primenom sve tri vrste biočadi ukolonilo više od 77% teških metala, pri čemu se najviše adsorbovalo Pb. Među ispitivanim uzorcima, biočađ drveta pokazala je najveći adsorpcioni kapacitet, zahvaljujući najvećoj specifičnoj površini i najvećem sadržaju aromatičnih funkcionalnih grupa.

Efekti primene biočadi u zemljištu zavise od brojnih faktora, kao što su polazna biomasa, uslovi pirolize, karakteristike biočadi, osobine zemljišta i vremenski uslovi. Biočađ sa velikom specifičnom površinom i razvijenom poroznošću pokazuje veći afinitet prema vlazi i hranljivim materijama, omogućavajući njihovo efikasno zadržavanje u zemljištu [90]. Funkcionalne grupe na površini biočadi mogu učestvovati u difuziji hranljivih materija u zemljištu. S obzirom da je biočađ obično alkalna, može se koristiti za smanjenje kiselosti zemljišta. Biočađ proizvedena na visokim temperaturama pokazuje visoku efikasnost u neutralizaciji kiselosti i poboljšanju zadržavanja hranljivih materija, dok biočađ dobijen na nižim temperaturama uglavnom doprinosi povećanju kapaciteta razmene katjona u zemljištu. Pored toga, starost biočadi može uticati na njeno ponašanje u zemljištu. Starija biočađ pokazuje veći stepen mineralizacije, kao i veću mikrobnu i enzimsku aktivnost u poređenju sa svežom biočadi [90].

2.2.2.2. Prečišćavanje otpadnih voda

Zbog svojih specifičnih osobina, biočađ ima sposobnost uklanjanja širokog spektra zagađujućih materija iz otpadnih voda, putem različitih mehanizama, od kojih je najčešća adsorpcija. Efikasnost adsorpcije biočadi zavisi od polazne sirovine i procesnih parametara pirolize [101].

Teški metali nisu biorazgradivi, a zbog svoje toksičnosti i kancerogenosti u visokim koncentracijama, predstavljaju ozbiljnu pretnju kako za životnu sredinu, tako i za zdravlje ljudi. Zbog velike specifične površine, poroznosti, obilja funkcionalnih grupa i mineralnog sastava, biočađ se pokazala kao efikasan adsorbent za uklanjanje teških metala iz otpadnih voda [43]. Funkcionalne grupe koje sadrže kiseonik, poput karboksilnih i hidroksilnih grupa, pokazuju elektrostatičku privlačnost, sposobnost za razmenu jona ili površinsko kompleksiranje sa teškim metalima. Samsuri [102] i saradnici su u svojoj studiji ispitivali fizičko-hemijske osobine biočadi dobijene iz biomase palme zaostale nakon ceđenja ulja kao i pirinčanih ljuski, kao i njihove adsorpcione kapacitete prema Zn, Cu i Pb. Rezultati su pokazali da, uprkos manjoj specifičnoj površini, biočađ palme ima znatno veći adsorpcioni kapacitet za ispitivane metale u poređenju sa biočadi iz pirinčane ljuske. Autori su zaključili da su hemijske osobine biočadi, poput funkcionalnih grupa koje sadrže kiseonik, molarnog odnosa O/C i indeksa polariteta [(O+N)/C], mnogo značajniji za adsorpciju metala nego površina biočadi.

Organske zagađujuće materije u otpadnim vodama obuhvataju boje, fenole, pesticide, polinuklearne aromatične supstance i antibiotike. Efikasnost biočadi u uklanjanju organskih

jedinjenja u velikoj meri zavisi od njegovih morfoloških i fizičkih osobina, površinskih funkcionalnih grupa i hidrofoobnih karakteristika, kao i od karakteristika polutanta. Usled velike specifične površine i zapremine mikropora, organske zagađujuće materije mogu se adsorbovati na biočađi fizičkim vezivanjem, taloženjem i popunjavanjem pora. Tokom ovog procesa, zagađujuće materije formiraju sloj na površini biočađi, dok njihova kondenzacija dodatno doprinosi ispunjavanju mikropora [98]. Liu i saradnici [42] su zaključili da su velika specifična površina i visokorazvijena porozna struktura biočađi ključni faktori za brzu i efikasnu adsorpciju antibiotika. Pored toga, funkcionalne grupe takođe igraju značajnu ulogu u adsorpciji organskih jedinjenja. Saif Ur Rehman i saradnici [101] su pokazali da hidroksilne i karboksilne grupe prisutne u biočađi dobijene hidrolizom pirinčane slame, imaju značajnu ulogu u adsorpciji brilijantno zelene boje. Ove grupe doprinose negativnom naelektrisanju površine biočađi, što omogućava adsorpciju katjonskih molekula boje putem elektrostatičkih interakcija.

Biočađ se može koristiti i za uklanjanje nutrijenata, poput azota i fosfora, čije visoke koncentracije mogu biti štetne za vodene ekosisteme. Njihovo uklanjanje može se postići različitim mehanizmima, uključujući precipitaciju sa Mg^{2+} ili Ca^{2+} , elektrostatičke interakcije, razmenu liganda i anjonsku razmenu [44]. Karakteristike biočađi, kao i vrsta sirovine iz kojih se proizvodi, igraju ključnu ulogu u uklanjanju azota i fosfora.

Prilikom razmatranja biočađi za prečišćavanje otpadnih voda, pored visoke efikasnosti od ključne je važnosti razmotriti mogućnost reciklaže i ponovne upotrebe ovog materijala, čime se doprinosi održivosti procesa.

2.2.2.3. Prečišćavanje gasova

Zbog svojih adsorpcionih osobina, niske cene, visoko specifične površine i poroznosti, biočađ se može koristiti za prečišćavanje gasova. Prečišćavanje gasova, poput NO_x , SO_2 i H_2S primenom biočađi odvija se na sledeći način: transport gasova do čestica biočađi, ulazak u pore, adsorpcija na aktivnim mestima i reakcija adsorbovanih gasova na površini biočađi u proizvode koji ostaju adsorbovani na njenoj površini [84]. Biočađ sa većom specifičnom površinom i zapreminom pora obično ima bolji kapacitet adsorpcije gasova, jer omogućava veću difuziju gasova u pore i njihovu adsorpciju fizičkim i hemijskim putem. Za adsorpciju gasova, često je potrebno dodatno aktivirati površinu biočađi. Choudhury i Lansing [103] istraživali su efekat dodatka biočađi od kukuruzne slame i javorovog drveta impregniranih gvožđem, na uklanjanje H_2S u anaerobnim digestorima. Rezultati su pokazali da pri odnosu 0,5 g biočađi/g stajnjaka nije detektovan H_2S u sistemu. Takođe, pH vrednost biočađi utiče na adsorpciju i disocijaciju određenih gasova, posebno kiselih gasova. Osim NO_x , SO_2 i H_2S , biočađ može biti efikasna u uklanjanju i drugih gasova poput CH_4 , NH_3 , CO_2 i organskih isparenja [90].

2.2.2.4. Skladištenje ugljen-dioksida

Prosečna globalna godišnja koncentracija CO_2 u atmosferi iznosila je 442 ppm u 2020. godini, a predviđa se da bi do 2030. godine mogla dostići vrednosti znatno više od 600 ppm [104]. Ovako visoke koncentracije CO_2 u atmosferi, pored toga što utiču na klimatske promene, mogu imati štetan uticaj na ljudsko zdravlje, kao što je smanjenje kognitivnih funkcija, smanjenje mineralne gustine kostiju, formiranje kalcijumskih naslaga u bubrežima, povećani oksidativni stres i druge negativne posledice [104]. Zemljište, kao važan rezervoar ugljenika, igra značajnu ulogu u ciklusu kretanja ugljenika. Kao strategija za smanjenje emisije CO_2 , predloženo je skladištenje ugljenika u zemljištu. Biočađ, zahvaljujući svojoj aromatičnoj strukturi, poseduje veliku otpornost na biorazgradnju, zbog čega se smatra da ima pozitivan efekat na skladištenje ugljenika u zemljištu. Efikasnost skladištenja zavisi od: (1) prinosa biočađi i sadržaja ugljenika u biočađi, (2) sadržaja stabilnog ugljenika u biočađi i (3) stabilnosti biočađi u zemljištu pod različitim uslovima [90]. Za procenu stabilnosti biočađi primenjuju se različite metode, među kojima se često koriste molarni

odnosi H/C i O/C. Prema IBI standard [83], biočad se smatra stabilnom ukoliko je molarni odnos H/C manji od 0,7, a O/C manji od 0,4.

Kada se biočad primeni u zemljištu, prolazi kroz procese starenja i degradacije, uključujući cikluse vlaženja i sušenja, fotohemijsku iradijaciju i blagu oksidaciju [105], što dovodi do značajnih promena u njenim fizičko-hemijskim karakteristikama. Kuzyakov i saradnici [106] ispitivali su proces razgradnje biočadi poreklom iz ražene trave u zemljištu tokom osam godina. Rezultati su pokazali izuzetno sporu stopu razgradnje biočadi, pri čemu se sadržaj ugljenika po danu smanjivao za samo $7 \times 10^{-4}\%$, pod optimalnim uslovima, što znači da bi bilo potrebno skoro 400 godina da biočad izgubi samo 1% sadržaja ugljenika. Međutim, ovako dugoročno ponašanje biočadi u zemljištu još uvek nije potvrđeno, jer su prirodni uslovi vrlo kompleksni i postoji mnogo faktora koji mogu uticati na svojstva biočadi.

2.2.2.5. Nosač za enzime

Zahvaljujući visokoj katalitičkoj efikasnosti i specifičnosti, enzimi su našli široku primenu u različitim industrijama. Ipak, njihova nestabilnost često ograničava njihovu upotrebu, što nameće potrebu za imobilizacijom. Prilikom imobilizacije enzima, ključnu ulogu igra odabir odgovarajućeg nosača. Nosač treba da obezbedi višestruku upotrebu enzima bez gubitka aktivnosti. Osim toga, ovaj materijal mora biti stabilan, inertan, ekonomičan i otporan na kontaminaciju. Nosač bi takođe trebalo da ima optimalnu veličinu pora, jer prevelike pore mogu dovesti do smanjene specifične površine, dok premale pore mogu onemogućiti vezivanje enzima [107]. Zbog svoje inertne prirode, velike specifične površine, razvijene porozne strukture i prisustvu funkcionalnih grupa koje sadrže kiseonik, biočad predstavlja odličan matriks za imobilizaciju enzima [10]. Dodatno, biočad karakteriše izuzetna disperzibilnost, biokompatibilnost i fizičko-hemijska otpornost, što se pripisuje njegovim svojstvima razmene elektrona. Ove karakteristike, uz nisku cenu i široku dostupnost, čine biočad izuzetnim nosačem za imobilizaciju enzima. Primenom različitih metoda aktivacije, omogućava se prilagođavanje biočadi specifičnim enzimima, čime se povećava efikasnost imobilizacije i mogućnost primene u željenim procesima [7]. Imobilizacija enzima na biočadi obično se vrši adsorpcijom ili kovalentnim vezivanjem. U studiji Padneya i saradnika [108], lakaza je imobilisana na biočadi dobijenoj iz borovih iglica, prethodno aktiviranoj slabim kiselinama, pri čemu je postignuta aktivnost imobilisane lakaze od 64,4 U/g, uz visok prinos imobilizacije od 78,1%. Pored toga, imobilisana lakaza pokazala je veću stabilnost u alkalnom opsegu i na višim temperaturama u poređenju sa slobodnim enzimom.

2.2.2.6. Ostale primene biočadi

Dodatak u kompostiranju organskog čvrstog otpada

Organski otpad čini približno polovinu ukupnog čvrstog otpada, a njegovo konstantno povećanje negativno utiče na održivi razvoj i životnu sredinu. Zbog niskih troškova, kompostiranje, biološki proces razgradnje organske materije mikroorganizmima, privlači sve više pažnje kao efikasan metod za tretman otpada. Dodavanje biočadi značajno unapređuje i ubrzava proces kompostiranja, jer poboljšava aeraciju, kapacitet zadržavanja vlage i smanjuje emisiju gasova [97]. Pored toga što predstavlja stanište za mikroorganizme, dodatak biočadi može povećati mikrobnu raznovrsnost u kompostu, jer njena porozna struktura omogućava stvaranje povoljnog mikrokruženja, što dovodi do brže biološke razgradnje organske materije [96]. Chowdhury i saradnici [109] su proučavali uticaj biočadi od tvrdog i mekog drveta na emisiju gasova staklene bašte tokom kompostiranja pilećeg stajnjaka i goveđe balege, pri čemu su otkrili da dodatak biočadi smanjuje ukupnu emisiju gasova za 27-32%.

Efikasnost kompostiranja primenom biočadi zavisi od osobina i doze biočadi, kao i tipa zemljišta. Preporučena doza biočadi za kompostiranje iznosi između 5 i 10 %, jer veća količina može izazvati neativne efekte poput gubitka vode i rasipanja toplote [97].

Biočad kao katalizator

Biočad se pokazala kao potencijalni katalizator za proizvodnju biodizela i kao dodatak katalizatorima na bazi ugljenika. Površinske funkcionalne grupe i dispergovane metalne nanočestice na površini biočadi ključne su za primenu biočadi kao katalizatora. Pored toga, velika specifična površina, poroznost i hidrofobnost takođe mogu doprineti upotrebi biočadi kao katalizatora u pojedinim reakcijama. Generalno, povećanje specifične površine biočadi dovodi do većeg prinosa transesterifikacije. Yu i saradnici [110] su objavili da se biodizel rinos budvostručio, nakon što se specifična površina biočadi povećala sa 1,88 na 640 m²/g. Pored toga, prisustvo kiselinskih funkcionalnih grupa, poput -SO₃H, dodatno unapređuje konverziju masnih kiselina. Zahvaljujući ovim osobinama, biočad predstavlja alternativu konvencionalnim katalizatorima na bazi metala.

Osim toga, biočad se pokazala kao potencijalan fotokatalizator za razgradnju organskih zagađujućih materija, pri čemu struktura pora, njihova raspodela i površinske funkcionalne grupe igraju ključnu ulogu u katalitičkoj aktivnosti [90].

Materijal za elektrode

Superkondenzatori, kao uređaji za skladištenje energije, privukli su značajnu pažnju zbog svoje visoke snage, dugog životnog ciklusa i brze sposobnosti punjenja i pražnjenja. Idealni materijali za elektrode u superkondenzatorima treba da poseduju veliku specifičnu površinu i visoku poroznu strukturu, kako bi obezbedili dovoljan broj aktivnih mesta za elektrohemijsku oksidaciju [96].

Uobičajeni materijali na bazi ugljenika, kao što su granularni aktivni ugalj, grafitne granule, grafen i ugljenične nanocevčice, često se koriste kao materijali za elektrode. Međutim, visoki troškovi proizvodnje ovih materijala ograničavaju njihovu primenu [96]. Nasuprot tome, biočad nudi uporedivu specifičnu površinu i poroznu strukturu, uz značajno niže troškove proizvodnje, zbog čega se sve više razmatra kao isplativa i ekološki prihvatljivu alternativa.

Pored toga, visok sadržaj ugljenika u biočadi doprinosi visokoj snagi, pod uslovom da je sadržaj pepela na prihvatljivom nivou. Aktivacija biočadi povećava njenu specifičnu površinu i poboljšava raspodelu distribucije pora, čime se unapređuju performanse u skladištenju i pretvaranju energije [90]. Osim što služi kao materijal za elektrode, biočad se može upotrebiti i kao modifikator elektroda [96].

Proizvodnja biogasa

Dodatak biočadi u proces anaerobne digestije ima višestruki efekat: ublažava inhibiciju amonijakom, adsorbuje inhibitore, povećava prinos biogasa i metana i selektuje kolonizaciju mikroba [90]. Stuktura, površinske grupe, sadržaj mikroelemenata i pH biočadi ključna su svojstva koja utiču na efikasnost anaerobne digestije.

Amonijak, kao glavni metabolički nusproizvod anaerobne digestije, može se adsorbovati na površini biočadi. Adsorbovani amonijak može da reaguje sa različitim funkcionalnim grupama na površini biočadi i formira amine i amide, čime se smanjuje akumulacija i mobilnost amonijaka kao direktnog inhibitora, bez uticaja na sam proces. Pored amonijaka, tokom anaerobne digestije mogu nastati i drugi inhibitori, poput isparljivih masnih kiselina, koje dovode do snižavanja pH vrednosti. Dodavanje alkalne biočadi pomaže u regulaciji pH vrednosti sistema, čime se poboljšava proces anaerobne digestije [111]. Pored toga, alkalna svojstva biočadi, povećavaju prinos metana u procesu anaerobne digestije, jer alkalne supstance u pepelu biočadi mogu reagovati i adsorbovati nastale gasove. Zahvaljujući poroznoj stukturi, biočad omogućava veliku površinu za fizičku adsorpciju mikrobioloških zajednica koje su ključne za olakšavanje prenosa elektrona između različitih vrsta mikroorganizama [90]. Detaljne informacije o karakteristikama biočadi, kao što su specifična površina i raspodela veličine pora na proizvodnju biogasa, još uvek nije ispitana.

Pored navedenih primena, biočad se efikasno pokazala i u mnogim drugim sferama. U veterini se koristi kao aditiv u stočnoj hrani [112], dok se u prehrambenoj tehnologiji koristi za pakovanje hrane, gde se pokazala kao ekološki prihvatljiv materijal za apsorpciju vlage i produženo

očuvanje svežine proizvoda [113]. Pored toga, zbog niske toplotne provodljivosti, niske zapaljivosti i visoke hemijske stabilnosti, biočađ je našla primenu i u građevinskoj industriji [97]. Zahvaljujući svojoj svestranosti i izvanrednim karakteristikama, biočađ predstavlja obećavajući materijal za buduća istraživanja u različitim industrijskim sektorima, doprinoseći održivosti različitih procesa.

2.3. Enzimi

Enzimi su visoko efikasni biomolekuli koji omogućavaju biotransformaciju, delujući kao katalizatori za širok spektar supstrata [10]. Po hemijskoj strukturi, enzimi su proteini sa izraženim katalitičkim svojstvima i prisutni su u svim organizmima. Oni snižavaju energiju aktivacije, ubrzavajući hemijsku reakciju iz koje izlaze nepromenjeni, što im omogućava da učestvuju u narednim reakcijama. Njihova selektivnost prema proizvodima, sposobnost delovanja u blagim reakcionim uslovima i nizak uticaj na životnu sredinu omogućili su njihovu široku primenu u različitim industrijama [7].

Kao proteini, enzimi se sastoje od lanaca aminokiselina koje formiraju specifične trodimenzionalne strukture. Sekvenca aminokiselina određuje strukturu, koja zatim određuje katalitičku aktivnost enzima. Stuktura enzima može se podeliti na četiri nivoa: primarnu, sekundarnu, tercijalnu i kvaternu stukturu [114]. Primarna struktura, najjednostavniji nivo strukture enzima, predstavlja sekvencu aminokiselina povezanih u polipeptidnom lancu. Savijanjem polipeptidnog lanca u stabilne oblike formira se sekundarna struktura. Sekundarna stuktura obično nastaje pomoću vodoničnih veza, između vodonika iz amino grupa i kiseonika iz karboksilnih grupa. Ukupna trodimenzionalna struktura polipeptida naziva se tercijarnom strukturom, koja je obično rezultat interakcija između R grupa aminokiselina. Mnogi proteini se sastoje od jednog polipeptidnog lanca i imaju samo tri nivoa strukture. Međutim, neki proteini se sastoje od više polipeptidnih lanaca, poznatih i kao subjedinice, koje kada se povežu formiraju kvaternarnu strukturu proteina [115].

Specifičnost strukture enzima ogleda se u njegovom katalitičkom mestu, poznatom kao aktivni centar. Aktivni centar predstavlja specifičnu regiju na površini enzima, formiranu trodimenzionalnim rasporedom aminokiselinskih ostataka, koji direktno učestvuju u vezivanju supstrata i katalizi hemijske reakcije. Supstrat se za aktivni cenatr vezuje kovalentnim vezama, po principu „ključ u bravu“, odnosno stuktura aktivnog centra omogućava prepoznavanje i vezivanje određenih supstrata [114].

2.3.1. Faktori koji utiču na aktivnost enzima

Aktivnost enzima zavisi od niza fizičkih i hemijskih faktora, koji mogu pozitivno ili negativno uticati na brzinu katalitičke reakcije. Razumevanje ovih faktora ključno je za optimizaciju enzimskih procesa u industrijskim, biotehnoškim i laboratorijskim uslovima.

Koncentracija enzima predstavlja količinu enzima prisutnu u jedinici zapremine ili mase. Povećanje koncentracije enzima dovodi do ubrzanja hemijske reakcije, pod uslovom da je dostupna odgovarajuća količina supstrata za vezivanje. Kada se sav supstrat veže za enzim, reakcija se više neće ubrzavati [116].

Koncentracija supstrata značajno utiče na brzinu enzimske reakcije. Sa povećanjem koncentracije supstrata, povećava se i brzina reakcije. Međutim, pri veoma visokim koncentracijama supstrata, enzimi postaju zasićeni, pa dodatno povećanje koncentracije supstrata ne dovodi do dodatnog ubrzanja reakcije [117].

Temperatura ima značajan uticaj na aktivnost enzima. Svaki enzim ima optimalnu temperaturu pri kojoj postiže maksimalnu aktivnost. Povećanje temperature obično dovodi do porasta enzimske aktivnosti, jer temepratura povećava molekularno kretanje, što dovodi do većeg broja sudara molekula. Međutim, kada temperatura pređe optimalnu vrednost, usled osetljive proteinske strukture, može doći do denaturacije enzima [118]. Toplota narušava njegovu trodimenzionalnu strukturu razgradnjom vodoničnih veza, što dovodi do gubitka funkcionalnosti. S

druge strane, niske temperature smanjuju intenzitet molekularnog kretanja, čime usporavaju aktivnost enzima [116].

pH vrednost takođe utiče na aktivnost enzima. Svaki enzim ima optimalnu pH vrednost za očuvanje njegove trodimenzionalne strukture, na kojoj enzim pokazuje maksimalnu aktivnost [116]. Ako pH odstupa od optimalne vrednosti, aktivnost enzima se smanjuje, usled promene u naelektrisanju molekula, što utiče na jonske veze koje održavaju njegovu funkcionalnost.

Prisustvo aktivatora povećava aktivnost enzima. Ove supstance mogu poboljšati sposobnost enzima da se veže za supstrat ili da katalizuje hemijsku reakciju. Aktivatori mogu biti mali molekuli, joni ili drugi proteini koji deluju na enzim tako što povećavaju njegovu efikasnost, stabilnost ili specifičnost.

Prisustvo inhibitora smanjuje brzinu enzimске reakcije, a u nekim slučajevima mogu je i potpuno zaustaviti. Neke enzimatske reakcije mogu biti inhibirane visokim koncentracijama proizvoda i/ili supstrata. Na primer, aktivnost β -galaktozidaze iz *Aspergillus niger* je značajno inhibirana prisustvom galaktoze (proizvoda), dok je aktivnost invertaze znatno smanjena u uslovima visokih koncentracija saharoze (njegovog supstrata) [119]. Razlikuju se kompetativna, nekompetativna i nepovratna inhibicija [116]. Kompetativna inhibicija nastaje kada se molekul veoma sličan supstratu, veže za aktivno mesto enzima, i na taj način sprečava vezivanje supstrata. Nekompetativna inhibicija nastaje kada se molekuli vežu za enzim, ali ne za njegov aktivni centar, uzrokujući promenu njegove strukture i smanjenje aktivnosti. Nepovratna inhibicija je tip inhibicije u kojem se inhibitor trajno vezuje za enzim, obično kovalentnim vezama, čime se trajno inaktivira enzim.

2.3.2. Lakaza

Lakaza je enzim iz grupe oksidoreduktaza, koji sadrži više atoma bakra, koji imaju značajan uticaj na njenu katalitičku aktivnost. Ovaj enzim oksidiše različita aromatična i nearomatična jedinjenja, pri čemu molekulski kiseonik služi kao akceptor elektrona, dok kao nusproizvod nastaje isključivo voda [120]. Molekulska masa lakaze varira u opsegu od 50 do 140 kDa, a aminokiselinska sekvenca može da sadrži između 220 i 800 aminokiselina [121]. Ugljenohidratna komponenta molekula lakaze sastoji se od glukoze, manoze, galaktoze, fukoze i arabinoze, i ima funkciju da doprinese strukturnoj stabilnosti enzima, zaštiti od razgradnje proteazama i očuva aktivnost enzima u prisustvu slobodnih radikala [120]. Lakaza se može pojaviti u monomernoj, dimernoj ili tetramernoj formi, u zavisnosti od porekla. Osobine lakaze, uključujući strukturu, molekulska masu, redoks potencijal i stabilnost, značajno variraju u zavisnosti od izvora enzima. Lakaza se prirodno proizvodi u različitim organizmima, kao što su gljive, bakterije, biljke i insekti. Među njima, gljive su najznačajniji prirodni izvor ovog enzima, pri čemu se posebno ističu bazidiomicete. Bazidiomicete koje proizvode lakazu uključuju gljive belog truljenja poput *Trametes versicolor*. Glavna karakteristika gljivičnih lakaza je visok redoks potencijal [122]. Bakterijska lakaza pokazuje visoku stabilnost u širokom opsegu temperature i pH vrednosti. Zahvaljujući ovim osobinama, bakterijska lakaza predstavlja odličan izbor za bioremedijaciju u prirodnim sredinama, uprkos njenom nižem redoks potencijalu. Iako lakaza iz biljaka takođe ima nizak redoks potencijal, često se koristi za proizvodnju goriva, zbog svoje visoke sposobnosti delignifikacije.

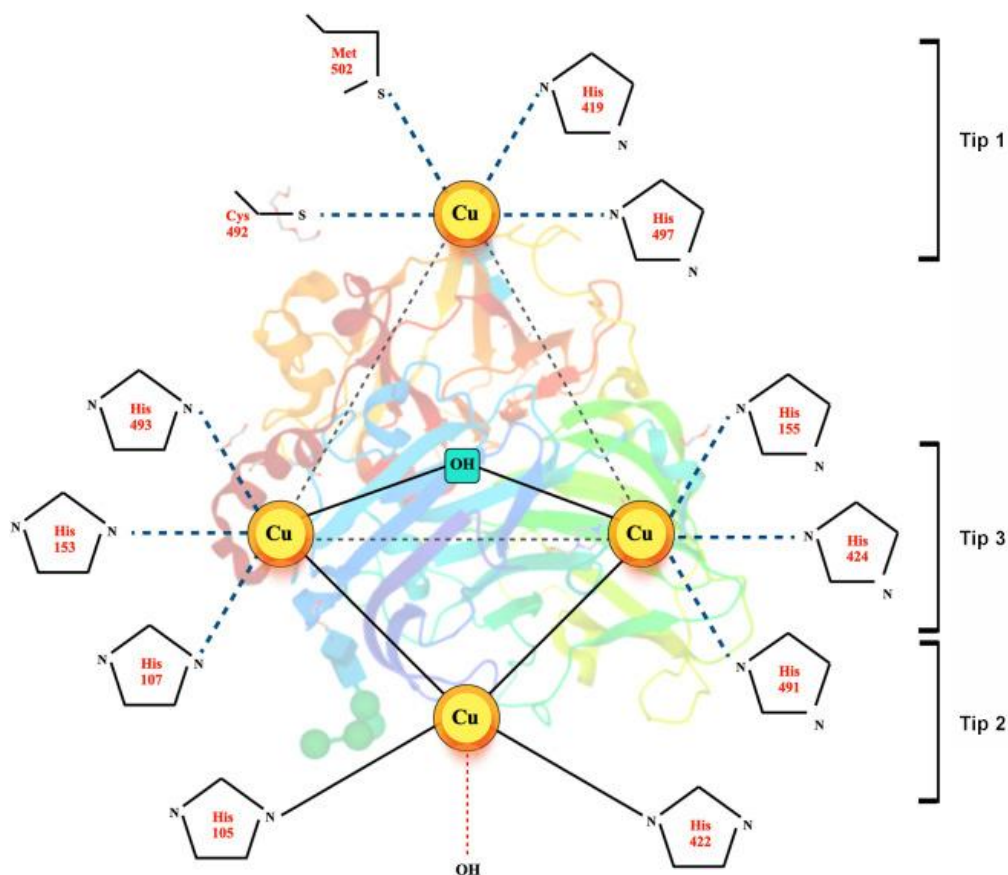
Katalitička aktivnost lakaze omogućena je prisustvom četiri atoma bakra, raspoređena u tri grupe:

- tip I (T1)-plavi bakar;
- tip II (T2)-običan bakar;
- tip III (T3)-binuklearni bakar.

Struktura lakaze prikazana je na Slici 2.6. Bakar T1, kordiniran sa dva histidina i jednim cisteinom, služi kao mesto za oksidaciju supstrata zahvaljujući svom visokom redoks potencijalu i trigonalnoj orijentaciji. Oksidativni potencijal lakaze zavisi od položaja liganda, koji igra ključnu

ulogu u regulaciji aktivnosti enzima. Plava boja lakaze potiče upravo od prisustva bakra T1, čija apsorpcija svetlosti nastaje zbog kovalentne veze između bakra i cisteinskih ostataka [122].

Bakar T2, kordiniran sa dva ostatka histidina, je pozicionirna u blizini bakra T3 (koji reguliše šest histidina) sa kojim je povezan preko hidroksidnog mosta [122]. Bakar T2 i bakar T3 nalaze se na udaljenosti manjoj od 0,4 nm, formirajući trinuklearni klaster, koji omogućava oslobađanje vode redukcijom kiseonika. Za razliku od drugih oksidoreduktaza koje koriste vodonik-peroksid u procesu katalize, lakaza katalizuje reakciju pomoću molekularnog kiseonika, zbog čega se smatra „zelenim katalizatorom“.



Slika 2.6. Struktura Lakaze [122]

Kao oksidoreduktaza, sposobnost lakaze da oksidiše supstrat direktno je povezana sa njenim redoks potencijalom. Redoks potencijal, odnosno energija potrebna da lakaza primi elektron sa redukujućeg supstrata, je ključan u definisanju reaktivnosti enzima i ukupnih karakteristika reakcije. Lakaza je sposobna da direktno oksidiše supstrate niskog redoks potencijala, dok je za supstrate visokog redoks potencijala neophodno prisustvo medijatora [121]. Prisustvo medijatora ne samo što značajno povećava efikasnost katalitičkog procesa, već i omogućava oksidaciju šireg spektra supstrata, čime se proširuju potencijalne primene lakaze.

Lakaza može oksidisati različita organska jedinjenja, kao što su mono- i difenoli ili njihovi derivati sa hidroksil-, karboksil-, metoksi-, sulfo- ili amino- funkcionalnim grupama, koristeći radikalni mehanizam [123]. Fenoli su tipični supstrati za lakaze zbog svog niskog redoks potencijala, što omogućava apsorpciju elektrona od strane bakra T1.

Prisustvo određenih molekula, poput cijanidina, azidnog jona, katjona žive ili masnih kiselina, može uticati na aktivnost lakaze. Ovi inhibitori se vezuju za atome bakra u T2 i T3 centru enzima, ometajući prenos elektrona unutar aktivnog centra. Ova inhibicija rezultira smanjenjem ili potpunim zaustavljanjem aktivnosti lakaze, blokirajući ključne procese u oksidaciji supstrata i sprečavajući normalno funkcionisanje enzima.

2.3.2.1. Primena Lakaze

Zahvaljujući sposobnosti da katalizuju oksidaciju fenola i drugih organskih supstanci, lakaze su našle široku primenu u različitim sektorima industrije. U prehrambenoj industriji, lakaze se najčešće koriste u procesu bistrenja vina, gde efikasno uklanjaju polifenole koji mogu negativno uticati na ukus i boju vina. Takođe, u proizvodnji piva, lakaze pomažu eliminaciji polifenola koji uzrokuju замуćenje, čime poboljšavaju vizuelnu čistoću i stabilnost piva. U tekstilnoj industriji, lakaze se koriste za uklanjanje boja i izbeljivanju tkanina, nudeći ekološki prihvatljiviju alternativu agresivnim hemikalijama. Našle su primenu i u sintezi tekstilnih boja, čime se omogućava sinteza novih, ekološki prihvatljivih boja i nijansi, koje su često stabilnije i manje toksične [124]. Osim toga, lakaze pokazuju antikancerogeno dejstvo, što ih čini predmetom istraživanja u medicinskoj primeni [125]. U oblasti nanotehnologije, lakaze se koriste za detekciju molekula poput kiseonika, fenola i anilina, dok u kozmetici pronalaze primenu u proizvodima za negu kože i kose, poput proizvoda za farbanje i kovrdžanje kose. U papirnoj industriji, lakaze omogućavaju blažu i ekološki prihvatljiviju delignifikaciju drvenih vlakana, nudeći alternativu metodama koje koriste hemikalije na bazi hlorina. Pored toga, istražuju se i njihova primena kao katoda u enzimskim bioenergetskim ćelijama [126].

Zbog široke primene u različitim granama industrije, iza kojih često zaostaju kontaminirane vode, prečišćavanje nastalih voda postalo je jedan od ključnih problema koje treba rešiti. Generalno, oksidoreduktaze su se pokazale kao najefikasniji enzimi koji katalizuju oksidaciju širokog spektra polutanata, kao što su fenoli, herbicidi, pesticidi, boje, farmaceutski proizvodi i mnogi drugi. Pored toga, nakon tretmana, lako se odvajaju precipitacijom i centrifugiranjem. Pored lignin peroksidaze i manganskih peroksidaza, lakaze su vodeće oksidoreduktaze u prečišćavanju otpadnih voda, zahvaljujući svom širokom spektru supstrata, jednostavnoj katalizi, stabilnosti i odsustvu inhibicije u poređenju sa drugim enzimima [7]. Posebno su se efikasno pokazale u razgradnji boja, koje imaju izuzetno štetan uticaj kako na životnu sredinu, tako i na zdravlje ljudi. Mehanizam degradacije boje zasniva se na sposobnosti lakaze da oksidiše supstrat, povlačeći elektrone i pretvarajući ih u slobodne radikale. Lakaza prihvata ove elektrone, što omogućava redukciju molekularnog kiseonika u vodu. Proizvodi degradacije koji nastaju, obično su manji fragmenti koji su manje toksični u odnosu na početnu boju. Karakteristike nastalih proizvoda zavise od specifične strukture boje, vrste korišćene lakaze i reakcijskih uslova [123]. Primenom lakaze, boja se može delimično ili potpuno razgraditi.

Primena lakaza u slobodnom obliku često je povezana sa visokim operativnim troškovima, niskom mogućnošću oporavka i slabom stabilnošću, što ograničava njihovu upotrebu u većim razmerama, zbog čega se razmatra imobilizacija na različitim nosačima.

2.3.3. Imobilizacija enzima

Efikasnost prečišćavanja kontaminiranih voda primenom enzima zavisi od njihove operativne stabilnosti i trajnosti. Iako lakaze pokazuju sposobnost degradacije širokog spektra zagađujućih materija, njihova visoka osetljivost i nestabilnost pod strogim industrijskim uslovima otežavaju njihovu primenu u procesima prečišćavanja kontaminiranih voda. Pored toga, slobodne lakaze se ne mogu ponovo upotrebiti, jer se gube u tečnom medijumu, zbog čega se moraju imobilisati [127]. Pod imobilizacijom enzima se podrazumeva fizičko ili hemijsko ograničavanje kretanja enzima u određenoj oblasti, uz očuvanje njegove katalitičke aktivnosti. Proces imobilizacije predstavlja efikasan način za prevazilaženje ovih ograničenja, jer se primenom imobilizacije poboljšava stabilnost enzima, omogućava njegova ponovna upotreba, smanjuju se troškovi i omogućava se bolja kontrola procesa [10]. Međutim, imobilizacije enzima ima i određene nedostatke, poput gubljenja enzimске aktivnosti, desorpcije enzima sa nosača, kao i visoke cene komercijalnih nosača [128].

Metode imobilizacije enzima mogu biti fizičke i hemijske, a izbor metode zavisi od prirode enzima, nosača i specifičnih potreba procesa. Fizičke metode imobilizacije podrazumevaju

stvaranje slabih nekovalentnih veza između enzima i nosača, što dovodi do lakog odvajanja enzima, bez gubitka njegove aktivnosti i oštećenja nosača. U fizičke metode ubrajaju se: adsorpcija i zarobljavanje enzima [129]. Hemijske metode imobilizacije su ireverzibilne, pa nije moguće odvajanje enzima od nosača bez gubitka enzimske aktivnosti ili oštećenja nosača. U hemijske metode imobilizacije spadaju kovalentno vezivanje i umrežavanje [129,130].



Slika 2.7. Metode imobilizacije enzima [131]

Adsorpcija je jednostavna, ekonomična i potpuno nedestruktivna metoda za imobilizaciju enzima. Ovaj proces podrazumeva stavljanje enzima i nosača u kontakt na određeni vremenski period, pod određenim procesnim uslovima. Adsorpcija enzima može biti fizičke, jonske ili afinitetne prirode, pri čemu se fizička adsorpcija najčešće koristi [129]. Tokom adsorpcije uspostavljaju se slabe veze, kao što su Van der Waalsove sile, vodonične veze ili hidrofobne interakcije između enzima i površine nosača [10]. Velika specifična površina, prisustvo funkcionalnih grupa i afinitet nosača prema enzimu značajno olakšavaju adsorpciju na čvrstim nosačima. Količina enzima koja se može vezati za površinu nosača zavisi od njegove poroznosti: što je veći prečnik pora, efikasnija je difuzija supstrata ka aktivnom mestu enzima. Efikasnost adsorpcije enzima zavisi od karakteristika nosača, osobina enzima i pH rastvora [10]. Uprkos slaboj vezi između enzima i nosača, adsorpcija predstavlja najčešće korišćen metod imobilizacije enzima zbog visoke katalitičke efikasnosti, niske cene, jednostavne primene i ponovne upotrebe adsorbenta. U studiji koju su sprovedi Al-Sareji i saradnici [132], aktivni ugalj dobijen iz kokosove ljuske korišćen je kao nosač za imobilizaciju lakaze *Trametes versicolor* putem adsorpcije. Rezultati su pokazali da je imobilizacija značajno poboljšala stabilnost enzima, pri čemu je nakon 4 uzastopna ciklusa upotrebe lakaza zadržala više od 80% svoje relativne aktivnosti.

Zarobljavanje je fizička metoda imobilizacije u kojoj se enzim fizički zatvara unutar poroznih materijala, poput kolagena i acetat celuloze bez stvaranja hemijskih veza između enzima i nosača [100]. Ova metoda je izuzetno jednostavna, ne narušava strukturu enzima, a enzimska aktivnost je u potpunosti očuvana. Međutim, glavni nedostaci ove metode uključuju potencijalno curenje enzima iz matrice, kao i difuziona ograničenja koja mogu smanjiti efikasnost interakcije između enzima i supstrata, odnosno otežati oslobađanje reakcijskih proizvoda [133]. Najpoznatija tehnika zarobljavanja je mikrokapulacija, gde se enzim zatvara unutar polupropusne sferne membrane sa kontrolisanom poroznošću.

Kovalentna imobilizacija enzima zasniva se na formiranju kovalentnih veza između funkcionalnih grupa nosača i aminokiselinskih ostataka enzima [10]. U formiranju ovih veza obično učestvuju nukleofilne funkcionalne grupe bočnih lanaca aminokiselina, poput hidroksilnih, amino, karboksilnih i tiolnih grupa [129]. Ovaj proces se može odvijati direktno između nosača i enzima, ili prethodnom modifikacijom nosača radi povećanja njegove reaktivnosti. Efikasnost imobilizacije

zavisi od veličine čvrstog nosača, dostupnosti funkcionalnih grupa i procesnih parametara. Kovalentnom imobilizacijom enzima dolazi do sporog oslobađanja enzima, što poboljšava njegovu kapacitet za skladištenje i trajnost. Osuna i saradnici [134] su proučavali imobilizaciju lipaza iz *Aspergillus niger* putem kovalentnog vezivanja na magnetne nanočestice presvučene hitozanom. Rezultati su pokazali da je kovalentnom imobilizacijom postignuta visoka stabilnost pri skladištenju tokom 50 dana, dok je nakon 15 hidrolitičkih ciklusa očuvano više od 80% početne aktivnosti enzima. Međutim, za primenu kovalentne imobilizacije dostupan je znatno manji broj komercijalnih nosača u odnosu na imobilizaciju adsorpcijom [129]. Pored toga, kovalentnom imobilizacijom može doći do narušavanja konformacione strukture enzima, što može uticati na njegovu katalitičku aktivnost.

Metoda umrežavanja zasniva se na upotrebi multifunkcionalnih reagensa, pri čemu se formiraju kovalentne veze koje omogućavaju čvrstu imobilizaciju enzima. Najčešće korišćeni multifunkcionalni reagensi su glutaraldehyd, izocijanati i N,N'-etilenbismaleimid, pri čemu je glutaraldehyd najzastupljeniji [133]. Ovaj proces poboljšava mogućnost ponovne upotrebe i stabilnost enzima. Međutim, upotreba agenasa za umrežavanje smanjuje stepen slobode enzima, što može negativno uticati na njegovu aktivnost [87].

Za imobilizaciju enzima, ispitivani su različiti materijali. Prirodni polimeri, poput hitozana, alginata i celuloze, pokazali su odličnu biokompatibilnost, veliki afinitet prema peptidima i sposobnost očuvanja katalitičkih svojstava enzima [135]. Sintetički polimeri, poput poliamida i poliakrilonitrila, zahvaljujući prisustvu različitih funkcionalnih grupa, omogućavaju formiranje čvrstih kovalentnih veza sa enzimima, čime se povećava njihova stabilnost i katalitička aktivnost. Međutim, sinteza polimera sa specifičnim funkcionalnim grupama može biti složen i vremenski zahtevan proces. Zbog ovih poteškoća, ispitivani su i neorganski polimeri, kao što su silika, titanijum-dioksid i glina. Silikonski nosači se često koriste za imobilizaciju enzima, zbog svoje visoke adsorpcione sposobnosti, koja potiče od velike specifične površine, kao i zbog uniformne veličine pora koja omogućava ravnomernu distribuciju enzima. Ipak, ovi materijali su hemijski inertni i zahtevaju odgovarajuću aktivaciju [10]. Materijali na bazi ugljenika, poput aktivnog uglja, poseduju izuzetne adsorpcione osobine, zahvaljujući svojoj velikoj specifičnoj površini, poroznosti i niskim troškovima proizvodnje. Međutim, i ovi materijali zahtevaju odgovarajuću aktivaciju kako bi se obezbedile jake interakcije između enzima i nosača. Korišćenje ugljeničnih nanocevi izazvalo je veliko interesovanje za imobilizaciju enzima, zbog porozne strukture, velike specifične površine, stabilnosti i mogućnosti ponovne upotrebe [46]. Međutim, složena i skupa sinteza ovog tipa nosača ograničava njihovu širu primenu.

Biočad, zahvaljujući već pomenutim osobinama, poput velike specifične površine, porozne strukture, prisustvu funkcionalnih grupa, visokog adsorpcionog kapaciteta i niskih troškova proizvodnje, poslednjih godina se izdvaja kao obećavajući nosač za imobilizaciju enzima. Za razliku od uglja i aktivnog uglja, biočad poseduje sposobnost razmene katjona i prihvatanja i doniranja elektrona, što ga čini idealnim kandidatom za biokatalitičke procese [10]. Takođe, biočad dobijena od poljoprivrednog ili industrijskog otpada pruža ekonomske prednosti u pogledu cene, dostupnosti i održivosti u odnosu na druge materijale.

2.4. Adsorpcija - pojam i karakteristike

Adsorpcija je difuzioni proces koji se zasniva na raspodeli komponenata na granici faza heterogenog sistema [36]. U procesu adsorpcije učestvuju adsorbent, najčešće čvrsta faza na kojoj se vrši vezivanje, i adsorbat, tečna ili gasovita faza koja se vezuje za površinu adsorbenta. Ukoliko su veze između adsorbenta i adsorbata uspostavljene putem slabih fizičkih interakcija, poput Van der Waalsovih sila i vodoničnih veza proces se naziva fizisorpcija. Nasuprot tome, ako se između adsorbenta i adsorbata formiraju jake hemijske veze, proces se naziva hemisorpcija. Fizisorpcija je reverzibilna zbog slabih fizičkih veza između adsorbenta i adsorbata, dok je hemisorpcija, usled čvrstih hemijskih veza, proces koji je uglavnom ireverzibilan [136].

Količina adsorbovane supstance može se opisati preko adsorpcionog kapaciteta sledećom jednačinom:

$$q_e = \frac{V(C_i - C_e)}{m} \quad (1)$$

gde je q_e (mg/g) ravnotežni adsorpcioni kapacitet, V (mL) zapremina rastvora, C_i i C_e (mg/mL) su početna i ravnotežna koncentracija adsorbata, a m (g) masa adsorbenta.

Efikasnost adsorpcije pri određenim operativnim parametrima može se izračunati i preko efikasnosti uklanjanja (%):

$$\text{Efikasnost uklanjanja (R)} = \frac{(C_i - C_e)}{C_i} * 100\% \quad (2)$$

Na proces adsorpcije utiču osobine adsorbenta, kao i operativni uslovi pod kojima se proces izvodi, poput: temperature, pH rastvora, vreme kontakta, doze adsorbenta, inicijalne koncentracije adsorbata, brzine mešanja i drugih faktora [136]. Za efikasnu adsorpciju potrebno je ispitati uticaj svih procesnih parametara i odabrati najpovoljnije uslove za dobijanje što stabilnijeg i uspešnijeg procesa.

Uticaj temperature na adsorpciju je povezan sa kinetičkom energijom, mobilnošću, rastvorljivošću i hemijskim potencijalom adsorbata, što dovodi do promene adsorpcionog kapaciteta [137]. Ako sa povećanjem temperature raste i adsorpcioni kapacitet, proces se smatra entoretmnim. Ovo može biti posledica povećanja pokretljivosti molekula adsorbata i broj aktivnih mesta na površini adsorbenta. S druge strane, smanjenje adsorpcionog kapaciteta sa porastom temperature ukazuje da je proces egzoterman, što može biti uzrokovano slabljenjem veza između adsorbata i aktivnih mesta na površini adsorbenta [136].

Vrednost pH rastvora adsorbata ima ključan uticaj na proces adsorpcije, jer direktno utiče na funkcionalne grupe na površini adsorbenta i na aktivnost jona polutanta u rastvoru [8]. Pri niskim pH vrednostima funkcionalne grupe su protonovane, odnosno imaju pozitivno naelektrisanje, dok pri visokim pH vrednostima dolazi do njihovog deprotonovanja pri čemu postaju negativno naelektrisane.

Vreme kontakta je važan faktor u procesu adsorpcije, jer određuje efikasnost uklanjanja polutanata, veličinu reaktora i isplativost procesa [138]. Vezivanje polutanta je obično brzo u početnoj fazi, a zatim postepeno usporava dok se ne uspostavi ravnoteža.

Količina adsorbenta takođe ima značajan uticaj na proces adsorpcije. Povećanje količine adsorbenta direktno povećava broj dostupnih aktivnih mesta za vezivanje polutanta. Međutim, ukupna količina adsorbovanih molekula po jedinici mase adsorbenta može opasti sa porastom njegove koncentracije, što je rezultat interakcije između aktivnih mesta na adsorbentu [139].

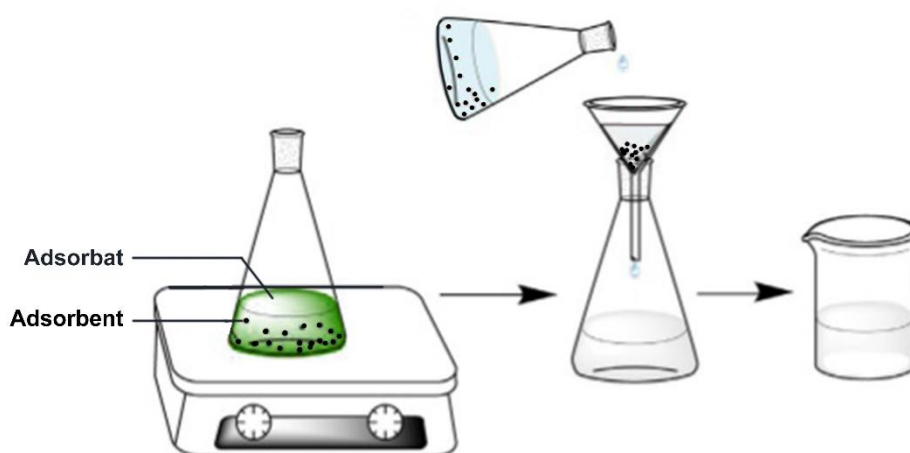
Početna koncentracija rastvora adsorbata, predstavlja pogonsku silu prenosa mase između dve faze i utiče na vezivanje polutanta za aktivne centre na površini adsorbenta. Sa povećanjem inicijalne koncentracije adsorbata, obično dolazi do povećanja količine adsorbovanih molekula. Međutim, ako se koncentracija poveća iznad određenog nivoa, može doći do zasićenja aktivnih mesta na adsorbentu, što dovodi do uspostavljanja ravnoteže, a dalje povećanje koncentracije ne dovodi do značajnog povećanja adsorpcionog kapaciteta [140].

Mešanje obično poboljšava proces adsorpcije jer omogućava bolji kontakt između adsorbenta i adsorbata, što rezultira bržom i efikasnijom adsorpcijom. Povećanje brzine mešanja smanjuje otpor prenosu mase kroz film fluida koji okružuje čestice adsorbenta, čime se povećava stepen adsorpcije [141]. Međutim, preintenzivno mešanje može izazvati turbulencije koje negativno utiču na efikasnost adsorpcionog procesa, zbog čega je važno ispitati uticaj brzine mešanja.

Proces adsorpcije može se izvoditi u šaržnom sistemu, adsorpcionim kolonama (sa pokretnom ili nepokretnom čvrstom fazom) i air-lift sistemu. Izbor odgovarajuće tehnike zavisi od karakteristika adsorbenta i adsorbata, efikasnosti, isplativosti i investicionih troškova. U ovoj disertaciji ispitana je adsorpcija u šaržnom i air-lift sistemu.

2.4.1. Adsorpcija u šaržnom sistemu

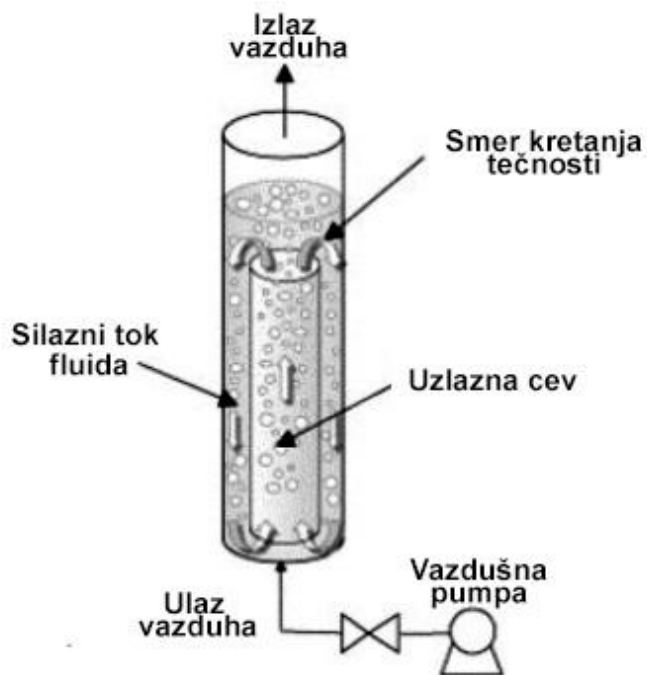
Adsorpcija u šaržnom sistemu je izuzetno jednostavna tehnika i obično se sprovodi u početnim fazama istraživanja. Ovaj sistem se često koristi za tretman otpadnih voda korišćenjem adsorpcije. Proces se odvija u zatvorenom sistemu koji sadrži optimalnu količinu adsorbenta u kontaktu sa unapred određenom zapreminom rastvora adsorbata. U zatvorenoj posudi, mešanje se obezbeđuje pomoću rotacionih mešalica kako bi se adsorbent u potpunosti izmešao sa rastvorom adsorbata. Promena koncentracije adsorbenta se može pratiti tokom vremena, a proces traje sve dok se ne postigne ravnoteža. Dobro dizajnirani šaržni procesi su visoko efikasni, a iskorišćeni adsorbent se može ukloniti npr. filtracijom ili sedimentacijom. Pored toga, adsorpcija u šaržnom sistemu može biti isplativa ukoliko se koriste jeftini adsorbensi ili kada postoji mogućnost njihove regeneracije [142]. Ovaj proces se takođe može koristiti za uklanjanje zagađujućih komponenti direktno na mestu njihovog nastanka, kao i za unapređenje kvaliteta otpadnih voda iz industrijskih i drugih izvora. Prikaz šeme adsorpcije u šaržnom sistemu prikazan je na Slici 2.8.



Slika 2.8. Šema adsorpcije u šaržnom sistemu [142]

2.4.2. Adsorpcija u *air-lift* reaktoru

Air-lift reaktor (ALR) je reaktor jednostavne konstrukcije i fleksibilnog kapaciteta, koji koristi strujanje gasa, obično vazduha, koji ima funkciju aeracije i mešanja, uz kontrolisanu recirkulaciju. Korišćenjem samo komprimovanog vazduha postiže se simultano mešanje gas-tečnost-čvrsta faza i recirkulacija tečnosti. Na osnovu načina cirkulacije fluida, razlikuju se ALR sa spoljašnjom i unutrašnjom cirkulacijom. Brzina cirkulacije fluida je jedan od ključnih parametara za adsorpciju u ALR-u, jer utiče na intenzitet mešanja, kretanje i raspodelu gasnih mehurova, raspodelu gasa, kao i na ukupni sadržaj gasne faze unutar reaktora [143]. Ovaj tip reaktora se smatra izuzetno efikasnim za prečišćavanje voda putem adsorpcije, zbog niza prednosti kao što su: jednostavna konstrukcija (bez pokretnih delova), jednostavno održavanje, visoki sadržaj tečne faze, odlična sposobnost prenosa toplote, umereni prenos mase između faza i efikasno mešanje uz nisku potrošnju energije [144]. Pored toga, u poređenju sa šaržnim sistemom, sila trenja je niža zbog prisustva turbulentnog polja u tečnoj fazi i usmerenog protoka, što omogućava ravnomerniju raspodelu sile trenja unutar stuba reaktora. Ovaj efekat čini ALR pogodnim za rad sa biološkim katalizatorima, poput enzima, jer niža sila trenja pomaže u očuvanju njihove stabilnosti i funkcionalnosti [143]. Primer *air-lift* reaktora prikazan je na Slici 2.9.



Slika 2.9. Air-lift reaktor [145]

2.4.3. Kinetika adsorpcionih procesa

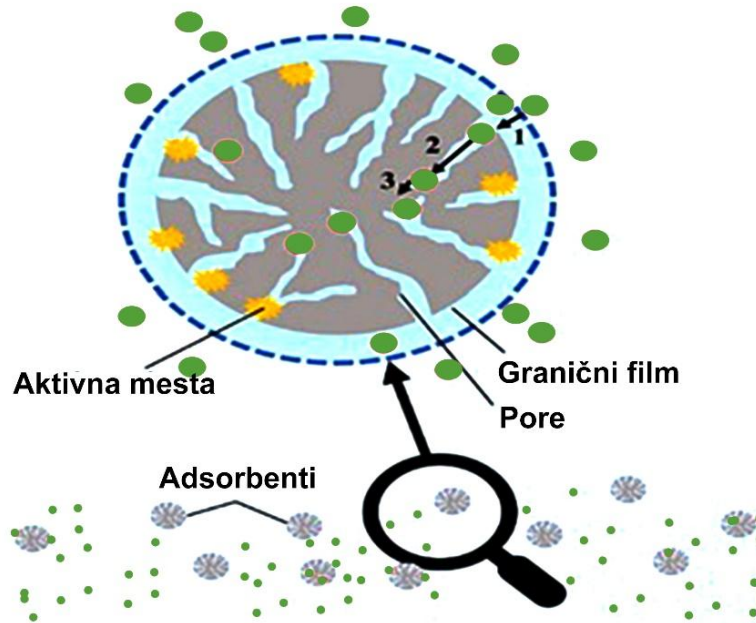
Kinetika adsorpcionih procesa proučava brzinu odvijanja adsorpcije i vreme potrebno za postizanje ravnoteže, koja predstavlja dinamički balans kada je količina adsorbovanih molekula na površini i u rastvoru konstantna. Vreme potrebno za uspostavljanje ravnoteže zavisi od karakteristika adsorbenta, procesnih parametara i osobina adsorbata, pri čemu može varirati od nekoliko minuta do nekoliko sati ili čak dana. Razumevanje adsorpcione kinetike je ključno za identifikaciju mogućih puteva i mehanizama koji se odvijaju tokom adsorpcije, kao i za optimizaciju parametara i radnih uslova [146].

Proces adsorpcije se može opisati kroz tri koraka:

1. Zapreminska difuzija- brza faza tokom koje se molekuli adsorbata transportuju iz tečne faze do graničnog filma koji okružuje čvrstu fazu;
2. Difuzija kroz film- prenos molekula adsorbata sa površine filma do površine čvrste faze;
3. Unutarčestična difuzija- molekuli adsorbata fizički ili hemijski stupaju u interakciju sa aktivnim mestima unutar strukture čvrste faze.

Najsporiji korak je limitirajući korak koji određuje ukupnu brzinu procesa [147]. Na Slici 2.10. prikazani su koraci transporta adsorbata u toku adsorpcije.

Tipični kinetički profili pokazuju brzo povećanje adsorpcionog kapaciteta u početnoj fazi procesa, nakon čega sledi postepeno usporavanje, sve dok se ne dostigne ravnoteža. Velika brzina adsorpcije u početku, objašnjava se velikim brojem slobodnih aktivnih mesta, dok se tokom vremena ta mesta popunjavaju molekulima adsorbata, što dovodi do usporavanja kasnijih faza procesa [8].



Slika 2.10. Koraci transporta adsorbata tokom adsorpcije [148]

Brzina i mehanizam adsorpcije utvrđuju se analizom eksperimentalnih podataka primenom kinetičkih modela, koji se mogu podeliti u dve osnovne grupe: reakcioni i difuzioni modeli.

Reakcioni kinetički modeli temelje se na osnovnim fizičko-hemijskim principima, prema kojima je ukupna brzina adsorpcije određena brzinom vezivanja polutanta za površinu adsorbenta. Najčešće korišćeni reakcioni kinetički modeli su: model pseudo-prvog reda (Lagergrenov model), pseudo-drugog reda (Ho-ov model), Elovičev i Roginski-Zeldovičev model. Nasuprot njima, difuzioni kinetički modeli zasnivaju se na pretpostavci da je ukupna brzina adsorpcije određena brzinom kojom adsorbat difunduje prema česticama adsorbenta [149]. Najčešće korišćeni difuzioni modeli su Weber-Morrisov model (model unutarčestične difuzije) i Boydov model.

U literaturi se često mogu naći linearni oblici kinetičkih modela, čija primena nije preporučljiva iz više razloga. Naime, korišćenjem linearnog oblika, potrebno je manje eksperimentalnih tačaka za definisanje prave, u poređenju sa primenom nelinearnog oblika, što može dovesti do netačnih rezultata. Pored toga, linearizacija se zasniva na pretpostavci da su varijacije vrednosti adsorbovanog kapaciteta (q) ujednačene u celom opsegu podataka. Ovaj pristup može dovesti do lažno dobrog uklapanja modela i povećanja vrednosti koeficijenta korelacije (R^2). Zato, veća vrednost R^2 dobijena linearizacijom u poređenju sa nelinearnim oblikom ne znači nužno bolje uklapanje eksperimentalnih podataka [150]. U Tabeli 2.2. prikazani su nelinearni oblici jednačina reakcionih i difuzionih kinetičkih modela korišćenih u ovoj disertaciji, dok je njihovo detaljno izvođenje objašnjeno u disertaciji Lopičić 2017 [23].

Tabela 2.2. Kinetički modeli korišćeni u ovoj disertaciji

Naziv kinetičkog modela	Formula	Parameteri	Referenca
Pseudo-prvi red	$q_t = q_m(1 - e^{-k_1 t})$	q_t (mg/g): količina adsorbata po masi adsorbenta u bilo kom trenutku t ; q_m (mg/g) : ravnotežni adsorpcioni kapacitet; k_1 (1/min): konstanta pseudo prvog reda;	[151]
Pseudo-drugi red	$q_t = \frac{q_m^2 kt}{1 + q_e kt}$	k_2 (g/(mg min)): konstanta pseudo drugog reda;	[152]
Weber-Morrisov model	$q_t = K_d t^{0,5} + C$	K_d (mg/(g min ^{1/2})): konstanta brzine unutarčestične difuzije; C (mg/g): konstanta povezana sa difuzijom kroz granični sloj	[153]

Model psuedo-prvog reda, poznat i kao Lagergrenov model, predstavlja najstariji kinetički model koji se kristi za opisivanje brzine adsorpcije na osnovu kapaciteta adsorpcije [151]. Lagergenov model zasniva se na pretpostavci da je brzina adsorpcije proporcionalna broju slobodnih mesta na adsorbentu [154]. Ovaj model se često koristi za opisivanje fizičke adsorpcije, gde interakcije između adsorbata i adsorbenta nisu previše jake.

Model pseudo-drugog reda razvili su Ho i McKay za adsorpciju dvovalentnih jona metala na čvrstom adsorbentu [152]. Ovaj model pretpostavlja da je brzina adsorpcije proporcionalna kvadratu broja slobodnih mesta na adsorbentu. Osnovna pretpostavka modela pseudo-drugog reda je da je hemisorpcija ograničavajući korak, pri čemu dolazi do deljenja ili razmene elektrona između adsorbenta i adsorbata [23].

Weber-Morrisov model, zasnovan na unutarčestičnoj difuziji, koristi se za detaljnije razumevanje kinetike procesa adsorpcije [153]. Konstanta C u ovom modelu odnosi se na otpor prenosu mase kroz granični sloj tečnosti oko čestica adsorbenta. Vrednost ove konstante je negativna, što ukazuje da dolazi do „odlaganja” procesa adsorpcije za vremenski peirod t_{lag} [149]. Ukoliko bi konstanta C imala pozitivnu vrednost, to bi značilo da je određena količina adsorbata već adsorbovana u početnoj tački ($t=0$), što bi ukazivalo na izuzetno brz proces adsorpcije. U tom slučaju, difuzija kroz granični sloj ne bi imala značajan uticaj na kinetiku adsorpcije, pa Weber-Morrisov model ne bi bio primenljiv.

2.4.4. Ravnotežne adsorpcione izoterme

U toku adsorpcije, molekuli rastvorene supstance prelaze iz tečne faze na površinu čvrstog materijala, gde se postepeno povećava njihova koncentracija sve dok se ne uspostavi ravnoteža. U stanju ravnoteže, uspostavljena je stabilna raspodela molekula između tečne faze i adsorbenta, što se opisuje adsorpcionom izotermom. Adsorpcione izoterme opisuju ravnotežno ponašanje adsorbenata pri konstantnoj temperaturi.

Modeli adsorpcionih izotermi pružaju informacije o mehanizmima koji upravljaju procesom adsorpcije, što je od ključne važnosti za projektovanje adsorpcionih sistema. Takođe, ovi modeli omogućavaju procenu maksimalnog kapaciteta adsorpcije, što je značajno za procenu efikasnosti

adsorbenata pod prethodno optimizovanim uslovima [155]. U literaturi se mogu pronaći različiti modeli za adsorpcionih izoterma kao što su Langmir-ova, Freundlih-ova, Temkin-ova, BET, Sips-ova i mnogi drugi. Slično kao kod kinetičkih modela, primena linearnih oblika izotermnih modela može dovesti do netačnih rezultata. Zbog toga su u ovoj disertaciji korišćeni nelinearni oblici, Langmirovog, Freundlihovog i Sipsovog model, koji su prikazani u Tabeli 2.3., dok je detaljno izvođenje prikazano u disertaciji Lopičić 2017 [23].

Tabela 2.3. Parametri adsorpcionih izoterma

Naziv izotermnog modela	Formula	Parameteri	Referenca
Langmuir	$q_e = \frac{q_m K_L C_e}{1 + K_L C_e}$	q_e (mg/g): ravnotežni adsorpcioni kapacitet; q_m (mg/g): maksimalni adsorpcioni kapacitet; K_L (L/mg): Langmirova konstanta; C_e (mg/L): ravnotežna koncentracija;	[156]
Freundlih	$q_e = K_f C_e^{1/n}$	K_f (mg/g)(L/g) ^{1/n} : Freundlihova konstanta; n : faktor heterogenosti;	[157]
Sips	$q_e = \frac{q_m K_s C_e^s}{1 + C_e K_s^s}$	K_s (L/g): Sipsova konstanta afiniteta adsorpcije; s : faktor heterogenosti;	[158]

Langmuirova i Freundlihova adsorpciona izoterma su dvoparametarski adsorpcioni modeli. Langmir-ova adsorpciona izoterma zasniva se na pretpostavci da je adsorpcija homogena i da se molekuli adsorbata vezuju na specifična mesta na površini adsorbenta, pri čemu svako mesto može biti zauzeto samo jednim molekulom, dok se Freundlih-ova izoterma zasniva na pretpostavci da je površina adsorbenta heterogena, odnosno da postoje različita aktivna mesta sa različitim afinitetom prema adsorbatu. Sipsova izoterma predstavlja troparametarsku formu nastalu kombinacijom Langmuirovog i Freundlihovog modela. Pri nižim koncentracijama adsorbata, ponašanje sistema odgovara opisu Freundlihovog modela, dok pri višim koncentracijama dominira mehanizam monoslojne adsorpcije, karakterističan za Langmuirov model [23].

2.5. Boje

Boje su organska jedinjenja, složene strukture koja apsorbuju svetlost određene talasne dužine. Njihova osnovna funkcija je bojenje različitih materijala, pri čemu se vezuju za podlogu putem fizičkih sila ili hemijskih veza, u zavisnosti od prirode boje i materijala [136,159].

Prema poreklu, boje se dele na prirodne i sintetičke. Prirodne boje se dobijaju iz biljaka, životinja, insekata ili minerala. One su manje alergene i toksične u poređenju sa sintetičkim bojama, a otpadne vode koje nastaju njihovom upotrebom mogu se efikasno tretirati biološkim procesima razgradnje [159]. Zbog svoje biorazgradivosti i ekološke prihvatljivosti, sve se više teži upotrebi prirodnih boja. S druge strane, sintetičke boje se proizvode hemijskim putem od naftnih derivata, što ih čini znatno jeftinijim, stabilnijim i često intenzivnijim u poređenju s prirodnim bojama. Sintetičke boje se široko koriste u raznim industrijama, kao što su tekstilna, papirna, prehrambena, kozmetička, industrija gume, štampe kao i industrija proizvodnje samih boja [123]. Međutim, njihovo ispuštanje u vodene ekosisteme predstavlja ozbiljan ekološki problem, jer njihova otpornost na razgradnju dovodi do neželjnog obojenja vode, što smanjuje prodor sunčeve svetlosti i ometa fotohemijske i biološke procese, ugrožavajući vodeni svet. Pored prethodno navedenog, boje mogu

biti toksične za vodene ekosisteme i mogu inhibirati rasta mikroorganizama, pri čemu mnoge sintetičke boje i proizvodi njihovog razlaganja pokazuju i toksične, mutagene i kancerogene efekte na zdravlje ljudi. Zavisno od koncentracije i vrste boje, može doći do alergijskih reakcija i iritacije kože, sluzokože i disajnih puteva, a u težim slučajevima i do ozbiljnijih zdravstvenih problema, kao što su oštećenja bubrega, reproduktivnog sistema, jetre, mozga i nervnog sistema [136].

Zbog ovih negativnih efekata na ljudsko zdravlje i životnu sredinu, od ključne je važnosti efikasno uklanjanje sintetičkih boja iz industrijskih otpadnih voda. Pored brojnih tehnika, kao što su hemijsko i biološko uklanjanje, adsorpcija se pokazala kao obećavajuća metoda zbog svoje visoke efikasnosti, jednostavnosti primene i relativno niskih troškova. Ova metoda omogućava selektivno vezivanje boja na različite adsorbente, čime se smanjuje njihov uticaj na vodene ekosisteme i zdravlje ljudi.

Na osnovu naelektrisanja boje se mogu klasifikovati na nejonske, anjonske i katjonske boje [136]. Nejonske boje, koje se klasifikuju kao disperzne boje, ne sadrže grupe sa elektrostatičkim naelektrisanjem pri rastvaranju u vodi. koje nemaju naelektrisane elemente. Zbog svoje nejonske prirode, disperzne boje su isparljive, a njihova para se snažno adsorbuje na hidrofobnim vlaknima [160]. Nejonske boje se obično vezuju za supstrat putem hidrofobnih interakcija ili Van der Waalsovih sila, što im omogućava stabilnost u različitim uslovima.

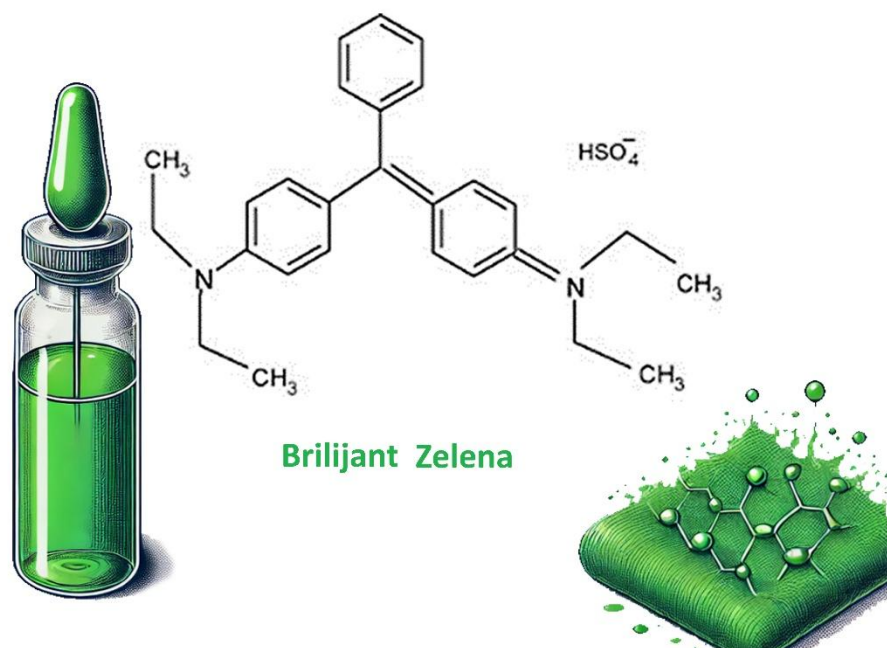
Anjonske boje sadrže negativno naelektrisane grupe (anjone) i obuhvataju različite klase boja, među kojima su direktne, reaktivne i kisele boje. Ove boje se razlikuju po strukturi, a zajedničke osobine su im dobra rastvorljivost u vodi i prisustvo jonskih grupa. Reaktivne boje sadrže grupe koje reaguju sa vlaknima poput pamuka i vune, formirajući jake kovalentne veze [159]. Ispuštanje reaktivnih boja u ekosistem nije preporučljivo, zbog hidrolize njihovih reaktivnih grupa. Kisele boje se primenjuju na vlaknima kao što su svila, akril, polipropilen i poliamid, a karakterišu se dobrom rastvorljivošću u vodi. Međutim, zbog prisustva organskih sulfonskih kiselina, ove boje mogu predstavljati rizik za ljudsko zdravlje, uzrokujući iritacije ili druge toksične efekte [6].

Katjonske boje, poznate i kao bazne boje, su pozitivno naelektrisane komponente, rastvorljive u vodi, koje u rastvoru formiraju obojene katjone. Katjonske boje imaju široku primenu, a najčešće se koriste za bojenje svile, vune, akrila i najlona. Generalno, katjonske boje su vidljive i karakterišu se velikom brilijantnošću i intenzitetom boja. Međutim, ove boje su toksičnije u poređenju s anjonskim bojama i mogu izazvati ozbiljne zdravstvene probleme, čak i pri izuzetno niskim koncentracijama (~ 1 mg/L) [144]. Postoje različite vrste katjonskih boja, kao što su azo boje, trifenilmetanske boje i antrahinonske boje. Trifenilmetanske katjonske boje predstavljaju najveću grupu sintetičkih boja, koje se odlikuju intenzivnim sjajem i visokim intenzitetom boje, ali imaju ograničenu otpornost na svetlost. Njihov hromoforni sistem sastoji se od centralnog atoma ugljenika povezanog sa tri aromatična prstena, dok hidroksilne, amino i supstituisane amino grupe u para položaju deluju kao auksohromi [161]. Trifenilmetanske boje široko se primenjuju u bojenju tekstila, uključujući vunu, svilu, pamuk i kožu [162]. Među najpoznatijim predstavnicima ove grupe su kristalno ljubičasta, malahit zelena i brilijantno zelena boja. Kristalno ljubičasta (KLJ), (*Cristal violet*) i malahit zelena (MZ) (*Malachite green*) su boje rastvorljive u vodi iz trifenilmetanskih jedinjenja, koje su koriste u tekstilnoj, prehrambenoj, akvarističkoj i medicinskoj industriji [9]. Obe boje pokazuju karakterističnu apsorbancu u vidljivom spektru, KLJ pri talasnoj dužini od približno 590 nm, dok se maksimalna apsorbancia MZ javlja na oko 615 nm. Ove boje su izuzetno toksične, mogu izazvati iritaciju digestivnog trakta i kože, a u kontaktu sa očima mogu prouzrokovati trajno oštećenje. Pored toga, dokazano je da KLJ i MZ dovode do stvaranja tumora na jetri i da su izrazito citotoksične i kancerogene za ćelije sisara, zbog čega je neophodno njihovo uklanjanje iz životne sredine [9].

2.5.1. Brilijantno zelena

Brilijantna zelena (BZ) (*Briliant green*) je katjonska boja, bez mirisa koja se pojavljuje u obliku zlatno-zelenih kristala. Ova trifenilmetanska boja ima molekulsku formula $C_{27}H_{34}N_2O_4S$, a

njena hemijska struktura prikazana je na Slici 2.11. Apsorpcioni maksimum BZ meri se na talasnoj dužini od 624 nm.



Slika 2.11. Hemijska struktura Brilijantno zelene

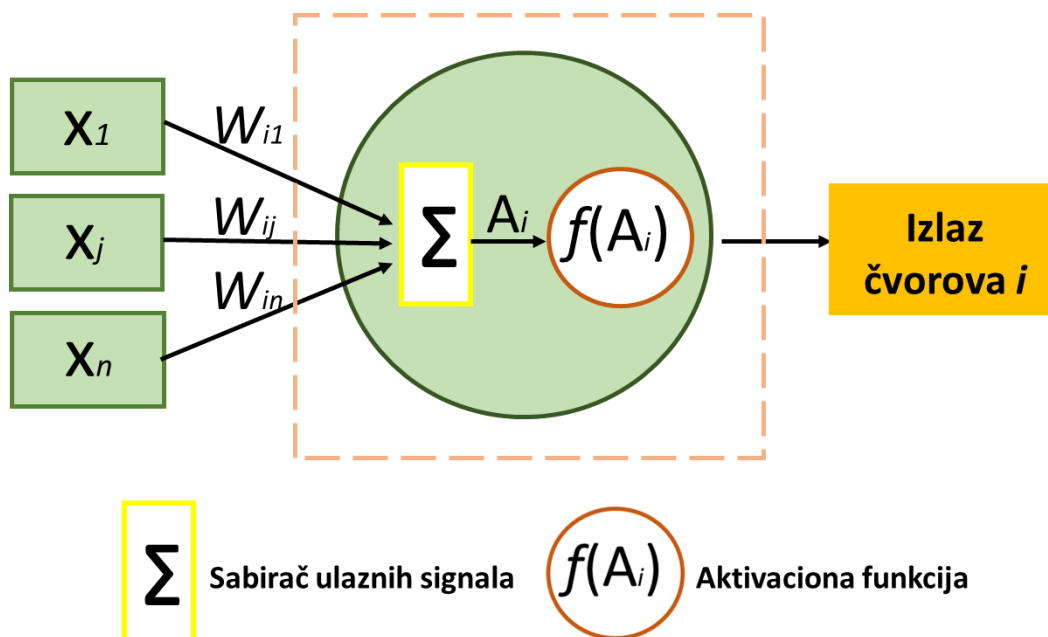
Boja BZ ima široku primenu, koristi se u bojenju tekstila, gume, papira, štampe, kao i u drugim industrijama koje se bave obradom boja. Ova boja našla je primenu i kao dermatološki agens, biološki marker, dodatak hrani za živinu (za inhibiranje rasta crevnih parazita i gljivica), i u proizvodnji mastila i komponenti za bojenje medija [163].

Brilijantno zelena je izuzetno toksična boja. Prisustvo BZ čak i u malim dozama izaziva probleme sa gastrointestinalnim i respiratornim sistemima, uzrokujući iritaciju i simptome poput mučnine, povraćanja, dijareje, iritacije bubrega, kašlja i otežanog disanja. U većim dozama, BZ može izazvati methemoglobinemiju, kardiovaskularni kolaps i smrt usled prekida funkcionisanja respiratornog sistema. Pored toga, produžena izloženost ovoj tokisčnoj boji može dovesti do oštećenja organa [8]. Razgradnja BZ može proizvesti gasove kao što su ugljen-monoksid, ugljen-dioksid, azotni oksid i sumporni dioksid, koji doprinose efektu staklene bašte.

2.6. Veštačke neuronske mreže

Veštačke neuronske mreže (ANN) predstavljaju tehniku mašinskog učenja, osmišljenu za analizu složenih problema i simulaciju nelinearnih odnosa između podataka. ANN su prvi predstavili McCulloch i Pitts [164], zasnivajući njihov koncept na jednostavnim principima funkcionisanja ljudskog mozga. ANN se baziraju na principima rada bioloških neuronskih mreža, gde se informacije primaju u obliku signala iz drugih izvora, nakon čega se kombinuju i obrađuju pomoću nelinearnih operacija koje generišu izlazne podatke kao krajnji rezultat.

Obrada informacija kod ANN odvija se u čvorovima, koji se nazivaju i neuroni. Svaki neuron se sastoji od tri elementa: težinskih koeficijenata (w_i), sabirača ulaznih signala (Σ) i aktivacione funkcije ($f(A_i)$). Težinski koeficijenti određuju značaj svakog ulaznog signala, sabirač kombinuje ulazne signale uzimajući u obzir njihove težinske koeficijente, dok aktivaciona funkcija primenjuje nelinearnu transformaciju na sumirani signal i formira izlazni signal (Y). Struktura veštačkog neurona prikazana je na Slici 2.12.



Slika 2.12. Stuktura veštačkog neurona

Model neurona, prikazanog na Slici 2.12, može se matematički prikazati formulama:

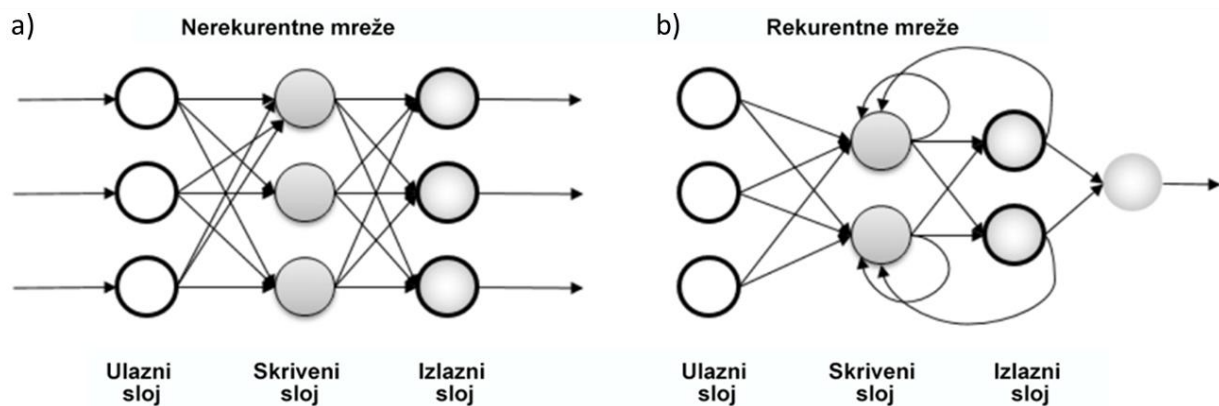
$$Y' = x_1 w_1 + x_2 w_2 + \dots x_n w_n = \sum_{i=1}^n x_i w_i \quad (3)$$

$$Y = f(Y') = f\left(\sum_{i=1}^n x_i w_i\right) \quad (4)$$

gde je x_i ulazni signal neurona, w_i težinski koeficijent, Y' zbir ulaznih signala, $f(Y')$ aktivaciona funkcija koja transformiše zbir u izlaz, Y izlazni signal neurona.

Neuroni i težinski koeficijenti koji povezuju neurone čine osnovne komponente veštačkih neuronskih mreža. Neuron prima ulazne signale, obrađuje ih i generiše izlaz koji se prosleđuje dalje kroz mrežu, dok težinski koeficijenti određuju značaj svakog ulaza za neuron i utiču na njegovu aktivaciju. Povezivanje neurona ostvaruje se preko sinapsi [165], a veći broj neurona organizovanih u slojeve čini neuronske mreže. Slojevi u neuronskoj mreži mogu se klasifikovati prema njihovoj funkciji, pa tako postoje ulazni, izlazni i skriveni slojevi. Ulazni slojevi primaju signale iz okoline, dok izlazni slojevi daju izlazne podatke. Između ulaznog i izlaznog sloja, može postojati jedan ili više skrivenih slojeva koji prosleđuju podatke između njih. Što je više skrivenih slojeva u mreži, biće potrebno više podataka i vremena za obradu i optimizaciju rezultata [166]. Svi slojevi u mreži su međusobno povezani tako da izlaz jednog sloja predstavlja ulaz sledećeg sloja. Specifično povezivanje neurona u jednu celinu čini arhitekturu neuronskih veza.

Prema toku kretanja signala kroz mrežu, veštačke neuronske mreže se mogu podeliti na nereketne i rekurentne. Nerekurentne mreže (*feed-forward*) prenose signal unapred, od ulaznog sloja, kroz skrivene slojeve do izlaznog sloja, bez povratnih veza. Kod rekurentnih mreža (*feedback*) signal se može kretati u oba smera, uključujući povratne veze i skokovite veze, gde se jedan sloj može povezivati sa svim prethodnim slojevima [167]. Na Slici 2.13. prikazani su primeri nereketne i rekurentne mreže.



Slika 2.13. Veštačke neuronske mreže sa: a) nerekurentnim kretanjem signala, b) rekurentnim kretanjem signala [168]

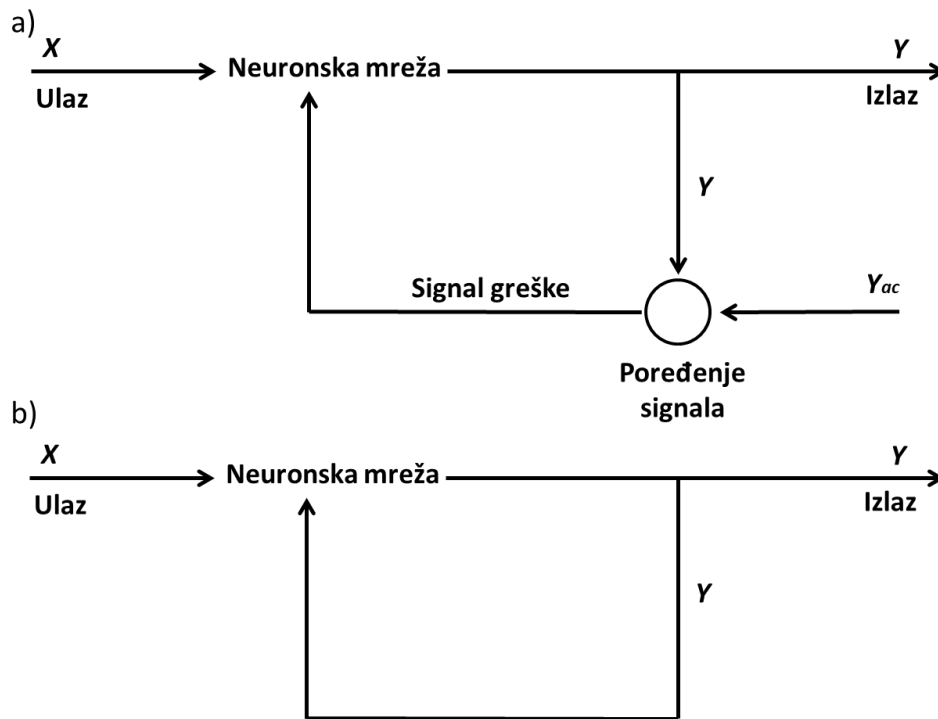
Obučavanje (treniranje) mreže je proces u kojem se težinski koeficijenti i pragovi aktivacione funkcije podešavaju i optimizuju primenom odgovarajuće metode učenja, koristeći skup usklađenih ulazno-izlaznih podataka. Izlazi mreže, koji predstavljaju zavisne parametre, upoređuju se sa željenim ili tačnim izlazima za odgovarajuće ulaze. Proces obučavanja se nastavlja sve dok izlazi mreže ne postanu potpuno usklađeni sa željenim izlazima [169].

Metode obučavanja se mogu podeliti na: nadgledano, nenadgledano i podsticajno obučavanje [167].

Kod nadgledanog obučavanja (*supervised learning*) mreži se pružaju ulazni podaci zajedno sa tačno izmerenim vrednostima izlazima (Y_{ac}) za odgovarajuće ulaze. Dobijene izlazne vrednosti se porede sa željenim izlazima i na osnovu razlike, poznate kao „signal greške“, mreža podešava težinske koeficijente u sledećoj iteraciji. Kroz ponovljene iteracije, podešavanjem parametara mreže, razlika između dobijenih i željenih izlaza se postepeno smanjuje dok se ne postigne zadovoljavajuće usklađivanje. Šema nadgledanog obučavanja neuronske mreže prikazana je na Slici 2.14 a).

Kod nenadgledanog obučavanja (*unsupervised learning*), poznatog i kao samoobučavanje, mreža ima samo ulazne podatke, dok izlazne podatke sama otkriva analizom i statističkom obradom ulaznih podataka. Šema nenadgledano obučavanje neuronske mreže prikazana je na Slici 2.14 b).

Mreže sa podsticajnim obučavanjem (*reinforcement learning*), predstavljaju analogiju nadgledanom učenju, koriguju težinske koeficijente na osnovu „signal greške“, koji se bazira na kvalitativnim oznakama, kao što su „tačno“ ili „netačno“, što daje okvir za usmeravanje procesa obučavanja.



Slika 2.14. Obučavanje neuronske mreže: a) nadgledano obučavanje, b) nenadgledano obučavanje

Prema primenjenom algoritmu za obučavanje veštačke neuronske mreže se mogu podeliti na [167]:

1. Neuronske mreže sa propagacijom greške unazad (*Backpropagation neural networks - BPNNs*);
2. Probabilističke neuronske mreže (*Probabilistic neural networks - PNN*);
3. Neuronske mreže sa opštom regresijom (*General regression neural network - GRNN*);
4. Kohonenove neuronske mreže (*Kohonen neural networks*);
5. Modularne mreže (*Modular ANN*);
6. Polinomalne mreže.

BPNNs se svrstavaju u mreže sa nadgledanim obučavanjem i predstavljaju jednu od najčešće korišćenih arhitektura. Sastoje se od više slojeva neurona, a prema smeru toka signala između slojeva dele se na: (i) mreže sa standardnom vezom, gde je svaki sloj povezan isključivo sa prethodnim slojem, (ii) mreže sa skokovitim vezama, u kojima je svaki sloj povezan sa svim prethodnim slojevima, i (iii) rekurentne mreže, koje karakterišu veze ostvarene povratnom spregom u ulazni sloj i to iz samog ulaznog, skrivenog ili izlaznog sloja [167].

PNN se primenjuju za kategorizaciju podataka u definisani broj kategorija. Spada u mreže sa nadgledanim obučavanjem, a njihova arhitektura obuhvata četiri sloja neurona.

GNN predstavlja poseban tip PNN koji se primenjuju za modelovanje višedimenzionalnog prostora, sa višedimenzionalnim ulaznim podacima [167]. Njihova arhitektura je prilično jednostavna i obično uključuje četiri sloja neurona, pri čemu je broj neurona u svakom sloju određen na osnovu broja ulaznih i izlaznih parametara, kao i broja dostupnih serija podataka.

Kohonenove neuronske mreže spadaju u nenadgledane metode učenja i koriste se za klasifikaciju podataka u definisani broj kategorija. Njihova jednostavna arhitektura sastoji se od samo dva sloja; ulaznog i izlaznog.

Modularne mreže predstavljaju sistem posebnih neuronskih mreža, pri čemu svaka od njih uči na osnovu jednog podskupa od ukupnog skupa podataka za treniranje. Modularne mreže se primenjuju kada se ulazni skup podataka prirodno može podeliti na više podskupova, koje dalje

obrađuju „ekspertske” mreže, dok njihove izlazne signale obrađuje „mreža odluke“, koja generiše konačne rezultate [167].

Polinomalne mreže su fleksibilna, samoorganizujuća arhitektura koja tokom obuke sama određuje optimalan broj slojeva i neurona-direktno iz podataka, bez njihovog definisanja unapred.

Veštačke neuronske mreže predstavljaju efikasan matematički alat, zasnovan na procesu učenja, odnosno treniranja pomoću ulaznih eksperimentalnih podataka, pri čemu identifikuje ključne obrasce i odnose između odgovarajućih faktora, kako bi se stečeno znanje dalje primenilo na nove, nepoznate skupove podataka. ANN model se može primeniti kako za fitovanje (uklapanje) podataka, tako i za njihovu predikciju. Značajna prednost ove metode ogleda se u njenoj sposobnosti da se prilagodi različitim vrstama problema, što je čini pogodnom za analizu složenih nelinearnih odnosa i realnih problema kada među promenljivama ne postoji linearna korelacija [166]. ANN model se može primeniti u različitim oblastima, te se tako poslednjih godina široko upotrebljava za modelovanje i predviđanje procesa adsorpcije različitih zagađujućih materija u otpadnim vodama. Glavna prednost primene veštačkih neuronskih mreža (ANN) u prečišćavanju otpadnih voda u odnosu na tradicionalne metode ogleda se u tome što njihova primena ne zahteva detaljno poznavanje složenih procesa koji se odvijaju tokom tretmana [170].

3. EKSPERIMENTALNI DEO

3.1. Plan eksperimentalnog rada

Eksperimentalni deo doktorske disertacije obuhvatao je sintezu biočadi iz otpadne lignocelulozne biomase, njenu aktivaciju, kao i detaljnu karakterizaciju. Sintetisane biočadi dalje su ispitivane kao adsorbent za uklanjanje toksičnih boja, kao i nosač za enzime.

Eksperimentalni rad podeljen je u nekoliko faza:

- Sinteza i karakterizacija biočadi;
- Primena biočadi za adsorpciju boje;
- Primena biočadi kao nosača za imobilizaciju enzima;
- Primena imobilisanog enzima na biočadi za razgradnju boje;
- Razvoj modela za uklanjanje boja pomoću biočadi, primenom veštačkih neuronskih mreža.

Prva faza istraživanja obuhvatila je prijem otpadnog lignoceluloznog materijala, njegovu obradu i pirolizu u cilju proizvodnje biočadi. U okviru ove disertacije, proizvedene su tri vrste biočadi, dobijene iz koštica breskve, višnje i šljive. Karakterizacija sintetisanih biočadi uključivala je različite fizičko hemijske metode.

Druga faza istraživanja obuhvatala je primenu sintetisanih biočadi kao adsorbenta za uklanjanje toksične boje BZ u šaržnom sistemu i *air-lift* reaktoru, uz optimizaciju procesnih parametara. Eksperimentalni podaci su modelovani primenom kinetičkih i izotermnih adsorpcionih modela pomoću OriginPro (2021) softvera.

U trećoj fazi istraživanja sintetisane biočadi su dodatno modifikovane i ispitivane kao nosač za imobilizaciju komercijalne lakaze, uz optimizaciju uslova imobilizacije.

U narednoj fazi, komercijalna lakaza imobilisana na biočadi je korišćena za razgradnju toksične boje BZ u šaržnom i *air-lift* sistemu.

U poslednjoj fazi razvijen je model koji je omogućio predviđanje uklanjanja drugih boja, primenom biočadi, pomoću veštačkih neuronskih mreža.

3.2. Korišćene hemikalije

Sve hemikalije korišćene u eksperimentalnom delu bile su analitičke čistoće, a detalji o njihovim nazivima i proizvođačima navedeni su u nastavku:

- Kalijum hidroksid (KOH), Merck, Darmstadt, Nemačka
- Hlorovodonična kiselina (HCl), 37 mas. %, Zorka, Šabac, Srbija
- Kalijum nitrat (KNO₃), Alkaloid, Skoplje, Severna Makedonija
- Natrijum hlorid (NaCl), Zorka, Šabac, Srbija
- Natrijum hidroksid (NaOH), 98 mas. %, Centrohem, Beograd, Srbija
- Brilijant zelena boja (C₂₇H₃₄N₂O₄S), Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka
- Kristalno ljubičasta boja (C₂₅N₃H₃₀Cl), Acros Organics, Nju Džerzi, SAD
- Malahit zelena boja (C₂₃H₂₅ClN₂), Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka
- Coomassie brilijantno plava G-250, Fluka Analytical, St. Louis, MO SAD
- Sumporna kiselina (H₂SO₄), 95 mas. %, NRK Inženjering, Beograd, Srbija
- Azotna kiselina (HNO₃), 63 mas. %, Zorka, Šabac, Srbija
- Lakaza iz *Trametes versicolor*, praškasta, ≥0,5 U/mg, Sigma-Aldrich, Steinheim, Nemačka
- Natrijum citrat (CH₃COONa), Thermo Scientific, Waltham, MA, SAD
- Dikalijum fosfat (K₂HPO₄), Thermo Scientific, Waltham, MA, SAD
- ABTS (C₁₈H₁₈N₄O₆S₄), Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, SAD

3.3. Priprema uzorka

Otpadna lignocelulozna biomasa, koštice breskve (KB), koštice višnje (KV) i koštice šljive (KŠ), korišćena je kao polazna sirovina za proizvodnju biočadi. Ovi materijali prikupljeni su iz lokalne fabrike za preradu voća „Vino Župa” iz Aleksandrovca, gde su kategorisani kao otpadni proizvodi. Prikupljene koštice pažljivo su odvojene od zaostale pulpe, temeljno oprane i ostavljene da se osuše na sobnoj temperaturi.

Nakon sušenja, pripremljeni uzorci KB, KV i KŠ podvrgnuti su postupku pirolize kako bi se proizvela biočad: KBB, KVB i KŠB, u peći model Nabertherm 1300 (Lilienthal, Nemačka). Piroliza je sprovedena pri temperaturi od 500 °C tokom 90 min, uz brzinu zagrevanja od 10 °C/min, u inertnoj atmosferi argona. Nakon završetka pirolize, dobijena biočad je odmah premeštena u eksikator kako bi se sprečila apsorpcija vlage iz okoline. Na Slici 3.1. prikazani su sintetisani uzorci biočadi.



Slika 3.1. Priprema biočadi

Pripremljeni uzorci biočadi samleveni su u vibratormom mlinu sa diskom Siebtechnik—T S250 (Langenfeld, Nemačka) i prosejeni korišćem različitih sita kako bi se dobile željene granulacije: Klasa I ($d < 0,1$ mm), Klasa II ($0,1 < d < 0,5$ mm), Klasa III ($0,5 < d < 1,0$ mm) i Klasa IV ($1,0 < d < 2,0$ mm).

3.4. Karakterizacija proizvedenih biočadi

3.4.1. Prinos biočadi

Maseni prinos biočadi definiše se kao odnos mase dobijene biočadi u odnosu na masu početne sirovine, što se izražava sledećom jednačinom:

$$Y = \frac{m_1}{m_2} * 100\% \quad (5)$$

gde Y (%) predstavlja prinos, m_1 (g) masu proizvedene biočadi, m_2 (g) masu polazne sirovine.

3.4.2. Proksimativna analiza

Proksimativna analiza (količina vlage, isparljive materije, pepeo i vezani ugljenik) pripremljenih biočadi, urađena je u skladu sa ASTM D1762-84 (2007) standardom, dok su korišćene metode, instrumentalne tehnike i parametri analize sumirani u Tabeli 3.1.

Tabela 3.1. Metode i parametri proksimativne analize

Parametar	Metoda	Parametri analize
Sadržaj vlage	Gravimetrija	Sušenje na 105 °C
Isparljive materije	Gravimetrija	Žarenje na 950 °C 7 min
Pepeo	Gravimetrija	Žarenje na 750 °C tokom 6 h
Vezani ugljenik	Računski	VU= 100% - (sadržaj vlage + isparljive materije + pepeo)

3.4.3. Elementarna organska analiza

Elementarni sastav uzorka, uključujući sadržaj ugljenika, vodonika, azota i sumpora, analiziran je pomoću uređaja VARIO-EL III CHNS-O Analyzer (Hanau, Nemačka). Uzorci su podvrgnuti sagorevanju na 1150 °C, sa ubrizgavanjem kiseonika i u struji helijuma. Na ovaj način elementi prisutni u uzorcima konvertovani su u gasove (CO₂, H₂O, SO₂, N₂), a njihove koncentracije su precizno merene. Opseg rada uređaja prilagođen je svakom elementu i iznosili su: 0,03–20 mg za C, 0,03–3 mg za H, 0,03–2 mg za N i 0,03–6 mg za S. Procenat kiseonika određen je indirektno, oduzimanjem ukupnog sadržaja detektovanih elemenata od 100%.

3.4.4. Analiza sadržaja neorganskih elemenata

Analiza neorganskih elemenata (K, Ca, Mg, Fe, Si, Zn, Mn, Cu, Pb) u uzorcima biočadi odrađena je primenom metode atomske apsorpcione spektroskopije (AAS) pomoću uređaja Perkin-Elmer (AAAnalyst 300, Waltham, SAD). Uzorci su pripremljeni postupkom kiselinskog rastvaranja u HNO₃ tokom 12 sati, nakon čega su kuvani 2 h na temperaturi ključanja. Nakon hlađenja rastvora, dodata je koncentrovana HClO₄, a kuvanje je nastavljeno tokom 3 h na 180 °C. Otklopljeni rastvor je zatim grejan na 80 °C do prestanka isparavanja belih para, ohlađen, i termički tertian sa HCl. Na kraju, ohlađeni rastvor je filtriran i dopunjen destilovanom vodom za analizu pomoću AAS.

3.4.5. Kontaktna pH

Kontaktna pH ili pH suspenzije (pH_{sus}) ukazuje na kiselost ili baznost površinskih funkcionalnih grupa na površini materijala [8]. Za određivanje vrednosti pH_{sus}, u erlenmajer od 250 mL dodato je 0,2 g uzorka i 30 mL destilovane vode. Suspenzija se potom mešala 72 h na orbitalnoj mešalici, nakon čega je meren pH pomoću pH metra SensION3 (Hach, SAD), a dobijena vrednost predstavlja pH_{sus}.

3.4.6. Određivanje tačke nultog naelektrisanja

Tačka nultog naelektrisanja (pH_{pzc}) predstavlja pH vrednost pri kojoj je površina pozitivnog naelektrisanja na površini adsorbenta jednaka količini negativnog naelektrisanja. Za određivanje pH_{pzc} korišćena je metoda opisana u radu Milonjića i saradnika [171]. Početne pH vrednosti (pH_i) 0,01 M rastvora KNO₃ (50 cm³) podešene u opsegu od 2 do 10 pomoću 0,01 M HNO₃ i 0,01 M KOH. Zatim je dodato po 0,1 g uzorka u svaki rastvor, nakon čega su mešani tokom 24 časa. Nakon ovog perioda, izmerene su konačne pH vrednosti (pH_f), a tačka preseka krive pH_i i pH_f predstavlja tačku nultog naelektrisanja.

3.4.7. Električna provodljivost

Električna provodljivost (EC), koja odražava ukupnu količinu rastvorenih soli u biočadi, određena je prema IBI standardu [83]. Uzorak biočadi suspendovan je u destilovanoj vodi u odnosu 1:20 (m/V) i mešan na rotacionom šejkeru pri sobnoj temperaturi tokom 1 h kako bi se omogućilo

rastvaranje prisutnih soli. Nakon toga, električna provodljivost rastvora merena je pomoću elektrode za provodljivost TDS Meter PTDSM 2 A1 (Bochumu, Nemačka).

3.4.8. Određivanje zeta potencijala

Zeta potencijal (ζ) je električni potencijal koji se javlja u ravni smicanja, odnosno na granici između čestice i sloja tečnosti u suspenziji [172]. Za određivanje zeta potencijala, u seriju rastvora elektroita 1 M NaCl (40 dm³) suspendovano je po 0,1 g uzorka i podešena pH vrednost u opsegu od 3 do 8 korišćenjem 0,1 M HCl i 0,1 M NaOH. Suspenzije su dispergovane u ultrazvučnom kupatilu sa frekvencijom od 35 kHz na temperaturi od 30 °C tokom 30 min, a potom su ostavljene da odstoje 72 h, nakon čega je meren zeta potencijal pomoću aparata Zetasizer Nano Z (Malvern, UK), a podaci su analaizirani pomoću Zetasizer Software Version 6.20.

3.4.9. Određivanje morfoloških karakteristika

Morfološke karakteristike uzoraka biočadi analizirane su korišćenjem skenirajuće elektronske mikroskopije (SEM), dok je energetsko-disperziona rendgenska spektroskopija (EDX) korišćena za mapiranje prisustva određenih komponenti na površini materijala. SEM-EDX analiza sprovedena je korišćenjem uređaja JEOL JSM-6610 LV SEM (Tokio, Japan) na uzorcima prevučenim tankim slojem zlata.

3.4.10. Određivanje specifične površine i poroznosti materijala

Specifična površina biočadi određena je korišćenjem uređaja Surfer (Thermo Fisher Scientific, SAD), primenom metode adsorpcije azota na temperaturi tečnog azota (-196 °C). Pre merenja, uzorci su degazirani u vakuumu na 150 °C tokom 5 sati, u cilju uklanjanja zaostalih gasova i vlage sa površine materijala. Zatim su određene adsorpcione i desorpcione izoterme azota, kao grafička zavisnost količine adsorbovanog/desorbovanog gasa od relativnog pritiska, na konstantnoj temperaturi. Analizom rezultata adsorpcione izoterme, određena je vrednost specifične površine, SA, primenom BET jednačine, koju su izveli Brunauer, Emmett i Teller [173]. Zapremina mikropora V_{mic} određena je t-plot metodom, dok je raspodela pora određena je korišćenjem BJH metode [174].

3.4.11. Rendgenska difrakciona analiza (XRD)

Za određivanje kristalne strukture materijala i identifikaciju faznog sastava korišćena je rendgenska difrakciona analiza (XRD) na rendgenskom difraktometru Philips PW-1710 (Eindhoven, Holandija). Intenziteti difraktovanog $CuK\alpha$ rendgenskog zračenja ($\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$) merili su se na sobnoj temperaturi u intervalima od 0,02° 2 θ , uz vremensko trajanje od 1 sekunde, u opsegu uglova od 5° do 30° 2 θ . Indeks kristaličnosti (Crl) izračunat je preko sledeće formule:

$$Crl = \frac{I_{002} - I_{am}}{I_{002}} * 100\% \quad (6)$$

gde je I_{002} intenzitet difrakcije kristalne faze biomase koji odgovara celulozi, I_{am} intenzitet difrakcije amorfne faze koji odgovara hemicelulozi i ligninu.

3.4.12. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom i prigušenom totalnom refleksijom (FTIR-ATR)

Identifikacija funkcionalnih grupa na površini uzoraka izvršena je primenom infracrvene spektroskopije sa Fourierovom transformacijom i prigušenom totalnom refleksijom (FTIR-ATR) na uređaju Thermo Nicolet 6700 FTIR (Waltham, SAD) u opsegu od 400 do 4000 cm⁻¹.

3.4.13. Raspodela veličina čestica

Za analizu raspodele veličine čestica korišćenjen je uređaj Mastersizer 2000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Velika Britanija), koji funkcioniše na principu analize difrakcije svetlosti. Pripremljeni uzorci su prethodno dispergovani u destilovanoj vodi tokom 10 min, primenom ultrazvučnog kupatila niske frekvencije (40 kHz, 50 W), nakon čega je izvršeno merenje.

3.4.14. Termijska analiza

Termogravimetrijska analiza (TGA) i derivativna termogravimetrijska analiza (DTG) su tehnike termoanalize koje prate promene fizičkih i hemijskih karakteristika materijala u funkciji temperature ili vremena. TGA/DTG analiza je urađena na instrumentu NETZSCH 449 F5 JUPITER (Selb, Nemačka). Uzorci su prvo sušeni 24 časa na 60 °C, a zatim držani u eksikatoru 24 časa pri relativnoj vlažnosti vazduha od 23 %. Nakon toga, uzorci su zagrevani od sobne temperature do 900 °C, uz brzinu zagrevanja od 10 °C/min u atmosferi vazduha. Prosečna masa analiziranih uzoraka bila je 30 mg.

3.5. Primena biočadi kao adsorbenta

Adsorpcija boje BZ primenom biočadi ispitivana je u šaržnom sistemu i *air-lift* reaktoru. Svi eksperimenti su rađeni u duplikatu, a rezultati su prikazani kao srednje vrednosti uz standardne greške merenja. Promena koncentracije boje merena je na UV/VIS spektrofotometru Spekol 1300 (Analytik Jena, Nemačka) na talasnoj dužini od 624nm. Na osnovu eksperimentalnih rezultata izračunat su adsorpcioni kapacitet i efikasnost uklanjanja u skladu sa jednačinama (1) i (2) iz poglavlja 2.6. Za procenu podobnosti kinetičkih i izotermskih modela korišćeni su nelinearni korelacioni koeficijent (R^2) i redukovani hi-kvadrat (χ^2) test, čime je omogućeno sagledavanje usklađenosti modela sa eksperimentalnim podacima. Za najbolje slaganje modela sa eksperimentalnim podacima, R^2 treba da bude što bliži 1, dok vrednost χ^2 treba da bude što niža.

3.5.1. Adsorpcija boje u šaržnom sistemu

Adsorpcija boje BZ primenom KBB, KVB, KŠB ispitana je u šaržnom sistemu, uz optimizaciju procesnih parametara. Eksperimenti su izvedeni na orbitalnom šejkeru Heidolph Unimax 1010 (Schwabach, Nemačka) pri 200 obr/min, koji je prikazan Slici 3.2.



Slika 3.2. Orbitalni šejker Heidolph Unimax 1010

3.5.1.1. Ispitivanje procesnih parametara

Uticaj procesnih parametara na adsorpciju boje BZ ispitan je u šaržnom sistemu sa mešanjem. Analiza je obuhvatila sledeće parametre: veličinu čestica adsorbenta, pH vrednost rastvora, vreme kontakta, temperaturu, odnos čvrste i tečne faze, kao i početnu koncentraciju boje.

Ispitivanje uticaja veličine čestica

Ispitivanje uticaja veličine čestica sprovedeno je na uzorcima biočadi različitih veličina, podeljenih u četiri klase: Klasa I ($d < 0,1$ mm), Klasa II ($0,1 < d < 0,5$ mm), Klasa III ($0,5 < d < 1,0$ mm) i Klasa IV ($1,0 < d < 2,0$ mm). Uzorci su pripremljeni i odmereni u erlenmajerima od 250 mL pri odnosu 2 g/L i koncentraciji boje od 50 mg/L, sa pH vrednošću od 6,8. Erlenmajeri su mešani na orbitalnom šejkeru na sobnoj temperaturi tokom 120 min.

Ispitivanje uticaja pH

Uticaj pH vrednosti na adsorpciju boje BZ ispitan je u opsegu od 3 do 9, pri odnosu od 2 g/L i početnoj koncentraciji boje od 50 mg/L. Suspenzije su mešane na orbitalnom šejkeru na sobnoj temperaturi tokom 120 min.

Ispitivanje odnosa čvrste i tečne faze

Uticaj odnosa čvrste i tečne faze ispitan je pri sledećim odnosima biočadi i rastvora boje: 1, 2, 5 i 10 g/L. Suspenzije su mešane na orbitalnom šejkeru sa početnom koncentracijom boje od 50 mg/L, pri optimalnom pH, temperatur i vremenu kontakta.

Ispitivanje uticaja kontaktnog vremena

Uticaj kontaktnog vremena na adsorpciju boje BZ ispitan je u vremenskim intervalima od 3 do 120 min. Eksperimenti su izvedeni sa početnom koncentracijom boje od 50 mg/L, optimalnom pH, optimalnom odnosu čvrste i tečne faze i na sobnoj temperaturi.

Ispitivanja uticaja temperature

Uticaj temperature na adsorpciju boje BZ ispitan je na četiri različite temperature: 15 °C, 25 °C, 35 °C i 50 °C. Eksperimenti su izvedeni na orbitalnom šejkeru sa početnom koncentracijom boje od 50 mg/L, pri optimalnom pH, optimalnom odnosu čvrste i tečne faze i optimalnom kontaktnom vremenu.

Ispitivanja uticaja koncentracije boje

Za ispitivanje uticaja koncentracije boje korišćeni su rastvori BZ od 10, 25, 50, 150, 200, 300 i 350 mg/L. Eksperimenti su izvedeni na orbitalnom šejkeru pri prethodno optimizovanim uslovima.

3.5.1.2. Kinetika adsorpcije

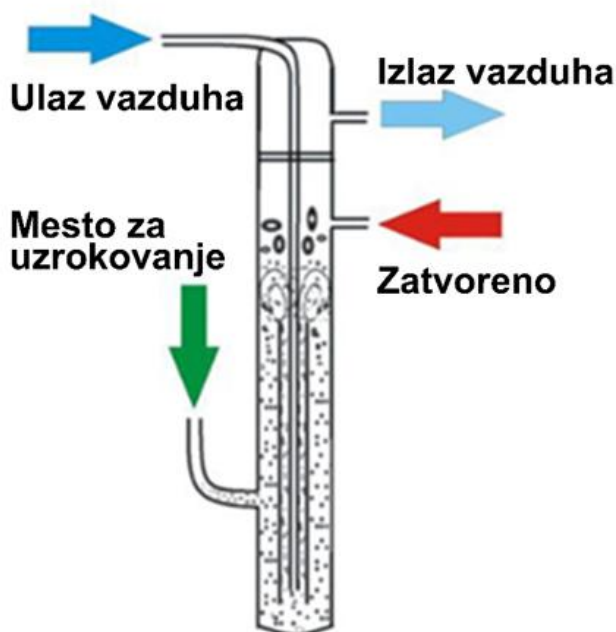
Kinetika adsorpcije BZ primenom KBB, KVB i KŠB ispitana je na osnovu rezultata dobijenih ispitivanjem uticaja kontaktnog vremena, opisanih u poglavlju 3.5.1.1. Količina uklonjene boje (q_e) izračunata je u vremenskom interval t primenom jednačine (1), dok su zavisnosti q_e od t analizirane korišćenjem kinetičkih i difuzionih modela pomoću OriginPro (2021) softvera.

3.5.1.3. Adsorpcione izoterme

Da bi se objasnio mehanizam adsorpcije BZ primenom KBB, KVB i KŠB, rezultati dobijeni ispitivanjem uticaja koncentracije boje iz poglavlja 3.5.1.1 su analizirani primenom adsorpcionih izotermnih modela. Ravnotežna količina uklonjene BZ nakon uspostavljene ravnoteže (q_e) izračunata je primenom jednačine 1, a na osnovu dobijenih rezultata urađene su zavisnosti q_e od ravnotežne koncentracije boje u rastvoru (C_e). Dobijene zavisnosti analizirane su primenom izotermnih adsorpcionih modela pomoću OriginPro (2021) softvera.

3.5.2. Adsorpcija u *air-lift* reaktoru

Biočad koja se pokazala najefikasnije za adsorpciju BZ u šaržnom sistemu, dodatno je ispitana u *air-lift* reaktoru sa unutrašnjom cirkulacijom (Slika 3.3.) pri protoku od 2,55 i 5,50 L/h. Procesni parametri poput veličine čestica, pH, temperature, odnosa adsorbenta/adsorbata i koncentracije boje preuzeti su iz šaržnog sistema, dok je vreme kontakta ispitivano kako bi se utvrdio uticaj mešanja na brzinu adsorpcije boje. Uzorci od 2 ml uzimani su iz reaktora u različitim vremenskim intervalima (0,5, 1, 2, 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 i 120 min), a nakon merenja apsorbance vraćani su u sistem. Dobijeni eksperimentalni rezultati su analizirani primenom odgovarajućih kinetičkih modela.



Slika 3.3. *Air-lift* reaktor sa unutrašnjom cirkulacijom [144]

3.6. Primena biočadi kao nosača za enzime

Zahvaljujući svojim fizičko-hemijskim osobinama, biočad predstavlja poencijalni nosač za imobilizaciju enzima. Biočadi, proizvedene iz otpadne lignocelulozne biomase, aktivirane su hemijskim putem, i korišćene za imobilizaciju komercijalne lakaze. Eksperimenti su izvedeni u dva ponavljanja, a rezultati su izraženi kao aritmetičke sredine sa odgovarajućim standardnim greškama merenja.

3.6.1. Aktivacija biočadi

Za imobilizaciju komercijalne lakaze korišćeni su uzorci biočadi Klase II, koja je dodatno prosejana do prečnika $0,2 < d < 0,3$ mm, kako bi se obezbedila što uniformnija površina za imobilizaciju enzima. Ova biočad je dalje modifikovana hemijskim putem primenom 1M smeše H_2SO_4 i HNO_3 (1:1) mešanjem na magnetnoj mešalici tokom 24 h na sobnoj temperaturi. Nakon toga, uzorci su temeljno isprani dejonizovanom vodom do neutralne pH vrednosti (pH 6–7). Dobijeni materijali, modifikovana biočad koštica breskve (M-KBB), modifikovana biočad koštica višnje (M-KVB) i modifikovana biočad koštica šljive (M-KŠB), sušeni su tokom noći na $80\text{ }^{\circ}C$ i korišćeni za imobilizaciju lakeze.

3.6.2. Priprema rastvora lakaze

Rastvor lakaze pripremljen je rastvaranjem praškaste lakaze iz *T. versicolor* u 0,1M rastvoru natrijum-acetatnog pufera pH 5 u koncentraciji od 25 mg/mL.

3.6.3. Određivanje aktivnosti slobodne i imobilisane lakaze

Aktivnosti lakaze, kako slobodne tako i imobilisane, određivana je korišćenjem ABTS-a kao supstrata. Metoda se zasniva na oksidaciji ABTS-a, pri čemu se promena apsorbance meri na talasnoj dužini od 420 nm. Reakciona smeša pripremljena je dodavanjem 0,2 mL 0,1 M ABTS-a, 0,6 mL acetatnog pufera (0,1 M, pH 5,0) i 0,2 mL komercijalne lakaze/imobilisane lakaze na biočađi (25mg/mL). Inkubacija je izvedena na temperaturi od 30 °C, a aktivnost slobodne lakaze je računata prema sledećoj jednačini:

$$E.A._z = \frac{A_{420} * V_t}{t * v_e * \epsilon} * D \quad (7)$$

gde je $E.A._z$ (U/mL) zapreminska aktivnost lakaze, A_{420} apsorbance na 420 nm, V_t (mL) zapremina reakcione smeše, t (min) vreme inkubacije, V_e (ml) zapremina rastvora lakaze, ϵ (1/M cm) molarni ekstincioni koeficijent za ABTS.

Ukupna aktivnost slobodne lakaze je izračunata primenom formule prema [175]:

$$E.A. = E.A._z * \frac{V}{m_s} \quad (8)$$

gde je $E.A.$ (IU/mg) ukupna aktivnost lakaze, V (mL) zapremina potrebna za ekstrakciju lakaze, m_s (mg) masa praškaste lakaze.

Aktivnost imobilisane lakaze na biočađi računata je prema sledećoj formuli [175]:

$$E.A. = \frac{A_{420} * V_t}{t * m_s * \epsilon} \quad (9)$$

gde je $E.A.$ (IU/mg) ukupna aktivnost imobilisane lakaze, A_{420} apsorbance na 420 nm, V_t (mL) zapremina reakcione smeše, t (min) vreme inkubacije, m_s (mg) masa biočađi i ϵ (1/M cm) molarni ekstincioni koeficijent za ABTS.

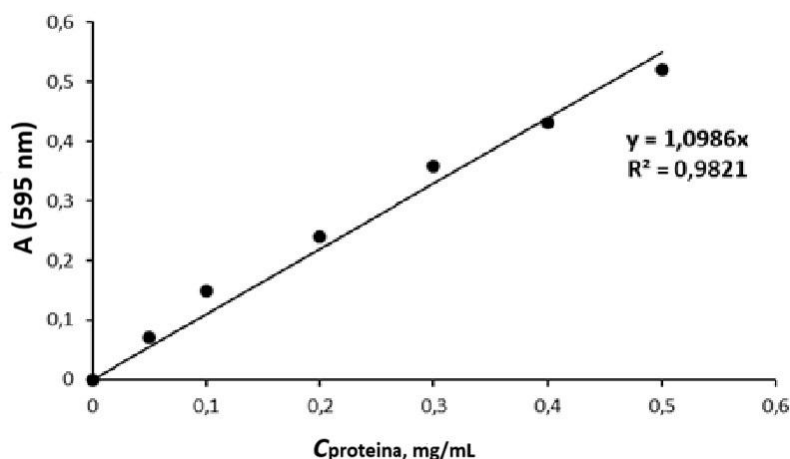
Rezidualna aktivnost enzima se računa prema formuli [175]:

$$\text{Rezidualna aktivnost} = \frac{E.A. \text{ Imobilisanog enzima}}{E.A. \text{ Slobodnoh enzima}} * 100\% \quad (10)$$

3.6.4. Određivanje koncentracije proteina

Za određivanje koncentracije proteina primenjena je Bradfordova metoda, koja se zasniva na interakciji boje Coomassie Brilliant Blue G-250 sa amino grupama proteina u kiseloj sredini. Ova interakcija dovodi do konverzije boje u njen anjonski oblik.

Da bi se odredila koncentracija proteina u uzorku, najpre je potrebno konstruisati standardnu krivu merenjem apsorbance rastvora sa poznatim koncentracijama proteina, pri čemu se kao standard koristi albumin iz goveđeg seruma (BSA), uz dodatak Bradfordovog reagensa. Standardna kriva prikazana je na Slici 3.4.



Slika 3.4. Standardna kriva za određivanje koncentracije proteina metodom po Bredfordu

Za određivanje koncentracije proteina u uzorku, 20 μ l rastvora (rastvora slobodnog enzima ili supernatanta) odmerava se u plastičnu kivetu, kojoj se zatim dodaje 1 mL Bradfordovog reagensa. Nakon inkubacije od 5 min, apsorbancija uzorka se meri spektrofotometrijski na talasnoj dužini od 595 nm i računa koncentracija proteina c po sledećoj formuli:

$$c = \frac{A_{595}}{\text{Nagib standardne krive}} = \frac{A_{595}}{1,0986} \quad (11)$$

Koncentracija imobilisanih proteina računata je prema sledećoj formuli:

$$c_i = \frac{c_0 - c_s}{m} \quad (12)$$

gde je c_0 (mg/mL) koncentracija proteina u rastvoru lakaze, c_s (mg/mL) koncentracija proteina u supernatantu nakon imobilizacije, a m (mg) masa nosača.

Efikasnost imobilizacije se računa pomoću formule prema [175]:

$$\text{Efikasnost imobilizacije} = \frac{c_i}{c_0} * 100\% \quad (13)$$

3.6.5. Uticaj procesnih parametara na imobilizaciju enzima

Uticaj pH na imobilizaciju enzima

Uticaj pH na imobilizaciju enzima ispitivan je u pH opsegu od 4 do 8, primenom 0,1 M natrijum-acetatnog pufera (pH 4 i 5) i 0,1 M kalijum-fosfatnog pufera (pH 6-8). U Ependorf tube zapremine 2 mL odmereno je po 20 mg modifikovane biočadi i dodato po 1 mL rastvora lakaze. Nakon 3 h inkubacije na sobnoj temperaturi, uz neprekidno mešanje na orbitlnom šejkeru pri 200 obr/min, supernatant je pažljivo izdvojen. Zaostali talog je tri puta ispran sa po 1 mL 0,1 M rastvora odgovarajućeg pufera i korišćen za određivanje aktivnosti imobilisane lakaze, u skladu sa postupkom opisanom u poglavlju 3.6.3.

Uticaj temperature na imobilizaciju lakaze

Da bi se ispitao uticaj temperature na imobilizaciju lakaze, u četiri Ependorf tube odmereno je po 20 mg modifikovane biočadi i dodato po 1 mL rastvora enzima. Svaka Ependorf tuba je

inkubirana 3 h na različitim temperaturama (20–50 °C) na orbitalnom šejkeru pri 200 obr/min. Nakon inkubacije, supernatant je izdvojen, a zaostali talog je ispran tri puta sa po 1 mL 0,1 M rastvorom pufera. Talog je zatim korišćen za određivanje aktivnosti imobilisane lakaze prema postupku opisanom u poglavlju 3.6.3.

Uticaj kontaktnog vremena na imobilizaciju enzima

Uticaj kontaktnog vremena između lakaze i modifikovane biočadi ispitivan je variranjem vremena inkubacije u periodu od 1 do 6 sati. U svaku Ependorf tubu odmereno je po 20 mg modifikovane biočadi i dodato po 1 mL rastvora enzima. Pripremljeni uzorci su inkubirani pri optimalnoj temperaturi na orbitalnom šejkeru pri 200 obr/min, nakon čega je izvučen supernatant, a zaostali talog ispran tri puta sa po 1 mL 0,1 M rastvorom pufera i korišćen za određivanje aktivnosti imobilisane lakaze, prema postupku opisanom u poglavlju 3.6.3.

3.6.6. Karakterizacija slobodne i imobilisane lakaze

3.6.6.1. Temperaturni optimum slobodne i imobilisane lakaze

Da bi se odredio temperaturni optimum slobodne i imobilisane lakaze, ispitivana je aktivnost lakaze na različitim temperaturama u opsegu od 20 do 60 °C tokom 10 min. Reakciona smeša se sastojala 0,200 mL 0,1 M ABTS-a, 0,600 mL 0,1 M natrijum-acetatnog pufera (pH 5) i 0,400 mL lakaze/imobilisane lakaze na biočadi (25 mg/mL). Nakon inkubacije, aktivnost enzima je određena korišćenjem formule (8) za slobodnu lakazu, odnosno formule (9) za lakazu imobilisanu na biočadi. Dobijeni rezultati su prikazani kao relativna aktivnost lakaze pomoću jednačine, pri čemu je najveća vrednost uzeta kao 100%.

$$\text{Relativna aktivnost (RA)} = \frac{E.A.}{E.A._m} * 100\% \quad (14)$$

gde je $E.A.$ (IU) izmerena aktivnost pri određenoj pH, a $E.A._m$ (IU) maksimalna izmerena aktivnost (aktivnost pri optimalnim uslovima).

3.6.6.2. pH optimum slobodne i imobilisane lakaze

Da bi se odredio pH optimum slobodne i imobilisane lakaze, ispitivana je njena aktivnost na različitim pH vrednostima u opsegu od 4 do 8. Reakciona smeša se sastojala od 0,200 mL 0,1 M ABTS-a, 0,600 mL 0,1 M pufera odgovarajuće pH vrednosti i 0,400 mL lakaze/imobilisane lakaze na biočadi (25mg/mL). Nakon inkubacije, aktivnost enzima je određena korišćenjem formule (8) za slobodnu lakazu odnosno formule (9) za imobilisanu lakazu, a rezultati su prikazani kao relativna aktivnost u skladu sa formulom (14).

3.7. Razgradnja boje primenom imobilisane lakaze na biočadi

Lakaza imobilisana na biočadi korišćena je za razgradnju BZ u šaržnom sistemu i *air-lift* reaktoru. Svi eksperimenti su rađeni u triplicatu, a rezultati su prikazani kao srednje vrednosti uz standardne greške merenja. Promena koncentracije boje merena je spektrofotometrijski pri talasnoj dužini od 624nm. Na osnovu eksperimentalnih rezultata izračunata je efikasnost uklanjanja u skladu sa jednačinom (2).

3.7.1. Razgradnja boje u šaržnom sistemu

Lakaza imobilisana na biočadi, koja je pokazala najveću efikasnost imobilizacije, ispitivana je za razgradnju boje BZ u šaržnom sistemu. Eksperimenti su rađeni u Ependorf tubama od 2 mL u kojima je biočad sa imobilisanim enzimom suspendovana u 1 mL BZ. Eksperimenti su rađeni na orbitalnom šejkeru pri 200 obr/min.

3.7.1.1. Ispitivanje procesnih parametara

Ispitivanje početne koncentracije boje

Efikasnost razgradnje BZ primenom imobilisane lakaze ispitivana je pri različitim početnim koncentracijama boje, u rasponu od 10 do 500 mg/L, pri pH 6,8, na temperature od 20 °C tokom 3 h.

Ispitivanje uticaja pH

Uticaj pH vrednosti na razgradnju BZ pomoću imobilisane lakze ispitivan je u opsegu od 3 do 7, pri koncentraciji boje od 50 mg/L, na temperaturi od 20 °C tokom 3 h.

Ispitivanje uticaja temperature

Razgradnja BZ primenom lakaze imobilisane na biočadi ispitana je variranjem temperature u opsegu od 20, 30, 40 i 50 °C, koncentraciji boje od 50 mg/L, pri optimalnom pH tokom 3 h.

Ispitivanje kontaktnog vremena

Uticaj kontaktnog vremena na razgradnju BZ ispitivan je tokom perioda od 1 do 6 h, pri prethodno optimizovanim procesnim parametrima.

3.7.1.2. Ponovna upotreba imobilisane lakaze

Mogućnost ponovne upotrebe imobilisane lakaze na biočadi ispitivana je u procesu razgradnje BZ u šaržnom sistemu. Nakon svakog ciklusa, rastvor boje je uklonjen i merena je apsorbancija, dok je imobilisana lakaza na biočadi isprana dva puta puferom za imobilizaciju. U svakom narednom ciklusu dodavana je ista količina početnog rastvora BZ u Ependorf tubu sa imobilisanom lakazom, a svaki naredni ciklus razgradnje boje je rađen pri istim procesnim uslovima.

3.7.2. Razgradnja boje u *air-lift* reaktoru

Lakaza imobilisana na biočadi dodatno je ispitana u *air-lift* reaktoru sa unutrašnjom cirkulacijom, prikazanom na Slici 3.3. pri protoku od 5,5 L/h za razgradnju BZ. Procesni parametri poput, pH, temperature i koncentracije boje preuzeti su iz šaržnog sistema, dok je vreme kontakta ispitivano kako bi se utvrdio uticaj mešanja na brzinu adsorpcije boje. Uzorci od 2 ml uzimani su iz reaktora u različitim vremenskim intervalima (15, 30, 45, 60, 90 i 120 min), a nakon merenja apsorbance uzorci su vraćani u sistem. Na osnovu eksperimentalnih rezultata izračunata je efikasnost uklanjanja u skladu sa jednačinom (2).

3.8. Razvoj modela za predviđanje adsorpcionih kapaciteta pomoću veštačke neuronske mreže

Ovo poglavlje se bavi razvojem, optimizacijom i evaluacijom modela za predviđanje adsorpcionih kapaciteta proizvedenih biočadi: KBB, KVB i KŠB, za uklanjanje tri različite boje: brilijantno zelene (BZ), malahit zelene (MZ) i kristalno ljubičaste (KLj).

U razvoju modela u ovim istraživanjima korišćen je softver NeuroShell 2.

Odabir adekvatne arhitekture neuronske mreže jedan je od ključnih koraka u njenom projektovanju. U ovoj disertaciji za razvoj modela primenjena je neuronska mreža sa propagacijom greške unazad (*Backpropagation neural network - BPNN*). Optimizacija ulaznih podataka obavljena je pomoću korelacione analize, kao i procene veličine uticaja pojedinih ulaznih promenljivih na izlaznu promenljivu.

Najpre su razvijeni modeli za predviđanje adsorpcionog kapaciteta sintetisanih biočadi za boje BZ i MZ, za koje su postojali eksperimentalni podaci, kako bi se ispitala mogućnost predikcije adsorpcionih kapaciteta pod različitim eksperimentalnim uslovima.

U drugom delu ispitivanja, razvijen je model na postojećim eksperimentalnim podacima za adsorpciju BZ i MZ, koji je primenjen za predviđanje adsorpcionog kapaciteta KLJ na ispitivanim biočadima.

3.8.1. Razvoj modela

Prilikom rešavanja praktičih problema uvek postoji više različitih pristupa, a precizno definisanje problema kroz identifikaciju promenljivih koje je potrebno predvideti ili klasifikovati, određuje izlazne parametre neuronske mreže. Zbog toga definisanje izlazne promenljive predstavlja prvi korak u razvoju modela ANN. Nakon definisanja jedne ili više izlaznih promenljivih, pristupa se identifikaciji ulaznih promenljivih, koje imaju direktan uticaj na izlazne promenljive. Ovaj korak je od suštinske važnosti za uspešan razvoj modela, jer ANN ima sposobnost da prepozna zakonitosti i obrasce između promenljivih, koje dalje koristi za uopštavanje. Zbog toga je neuronskoj mreži neophodno prikazati što više ulaznih promenljivih koje imaju značajan uticaj na izlaznu promenljivu, kako bi se obezbedila što bolja generalizacija i preciznija predikcija.

U ovoj disertaciji kao izlazna promenljiva definisan je adsorpcioni kapacitet proizvedenih biočadi (KBB, KVB i KŠB) prema katjonskim bojama (BZ, MZ i KLj), dok su kao ulazne promenljive korišćeni sledeći podaci:

- Osnovne karakteristike boja:
 - molekulska masa M_r (g/mol);
 - rastvorljivost u vodi na sobnoj temperaturi R (g/L).
- Karakteristike proizvedenih biočadi:
 - rezultati proksimativne analize (%);
 - rezultati elementarne organske analize (%);
 - sadržaj neorganskih elemenata (%);
 - prinos biočadi (%);
 - pH_{sus} ;
 - pH_{pzc} ;
 - zeta potencijal na pH 7 (mV);
 - specifična površina biočadi S_A (m²/g),
 - specifična površina mikropora S_{mic} (m²/g).
- Procesni parametri adsorpcije:
 - prečnik čestica (mm);
 - pH;
 - odnos čvrste i tečne faze (g/L);
 - vreme kontakta (min);
 - temperatura (°C);
 - početna koncentracije boje (mg/L).

Molekulska masa i rastvorljivost u vodi na sobnoj temperaturi ispitivanih boja prikazane su u Tabeli 3.2., dok su ostale ulazne promenljive prikazane u odeljku Rezultati i Diskusija.

Tabela 3.2. Molekulska masa i rastvorljivost u vodi na sobnoj temperaturi za boje BZ, MZ i KLJ

Boja	Molekulska masa M_r (g/mol)	Rastvorljivost u vodi na 25 °C R (g/L)	Referenca
BZ	482,64	100	[144]
MZ	364,91	66,66	[176]
KLj	407,98	16	[177]

3.8.2. Statistički indikatori performansi modela

Za procenu performansi razvijenog modela mogu se primeniti različite statističke metode. Njihova primena podrazumeva poređenje vrednosti predviđenih modelom sa stvarnim, eksperimentalno dobijenim rezultatima, čime se omogućava analiza tačnosti i pouzdanosti modela. Ne postoji univerzalni set statističkih indikatora koji se primenjuje za evoluciju tačnosti, ali je preporučljivo primeniti što veći broj indikatora kako bi se što sveobuhvatnije sagledali različiti aspekti ponašanja modela.

U cilju procene performansi razvijenog modela, u okviru ove disertacije primenjeni su sledeći statistički indikatori:

Koeficijent korelacije (r) predstavlja stepen linearne korelacije između stvarnih (dobijenih) i modelovanih vrednosti, čije se vrednosti kreću u opsegu od -1 do 1. Što su vrednost r bliže ovim vrednostima to se model smatra preciznijim. Matematički, r se izračunava prema sledećoj formuli:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}_n) \cdot (y_i - \bar{y}_n)}{(n-1) \cdot \sigma_x \cdot \sigma_y} = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y}_n)}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}_n)^2} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y}_n)^2}} \quad (15)$$

gde x i y predstavljaju vrednosti promenljivih čija se korelacija ispituje, \bar{x} i \bar{y} su srednje vrednosti ispitivane populacije ($i=1, 2 \dots n$), a σ_x i σ_y su standardne devijacije.

Koeficijent determinacije (R^2) predstavlja kvadrat koeficijenta korelacije između modelovanih i stvarnih vrednosti, čije se vrednosti kreću u opsegu od 0 do 1. Što je vrednost R^2 bliža 1, to su performanse modela preciznije. Izračunava se prema formuli:

$$R^2 = \frac{[\sum_{i=1}^n (O_i - \bar{O})(P_i - \bar{P})]^2}{\sum_{i=1}^n (O_i - \bar{O})^2 \cdot \sum_{i=1}^n (P_i - \bar{P})^2} \quad (16)$$

gde O_i predstavlja stvarnu (izmerenu) vrednost izlazne promenljive veličine, \bar{O} je srednja vrednost stvarne (izmerene) izlazne promenljive veličine, P_i predstavlja vrednost izlazne promenljive veličine koja je dobijena predikcijom modela, \bar{P} je srednja vrednost izlazne promenljive koje je dobijena predviđanjem razvijenog modela, dok je n broj merenja ili predviđanja.

Koren srednje kvadratne greške ($RMSE$) je relativna veličina, koja predstavlja kvadratni koren greške srednjeg kvadratnog odstupanja. Što su vrednosti $RMSE$ niže, to je preciznost kreiranog modela veća. Vrednosti za modele koji su razvijani sa različitim promenljivim veličinama ne mogu da se porede. $RMSE$ se izračunava pomoću sledeće formule:

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} [\sum (O_i - P_i)^2]} \quad (17)$$

Srednja vrednost apsolutnih grešaka (MAE) predstavlja srednju vrednost apsolutne razlike stvarne i predviđene vrednosti. Što je MAE manja, to su predviđene vrednosti bliže stvarnim vrednostima, a u idealom slučaju je $MAE = 0$ kad je $O_i = P_i$. MAE se izračunava prema sledećoj formuli:

$$MAE = \sum_{i=1}^n \frac{|O_i - P_i|}{n} \quad (18)$$

Srednja apsolutna procentualna greška ($MAPE$) predstavlja procentualnu tačnost koju daje model u odnosu na stvarne vrednosti. Što je vrednost $MAPE$ manja, model je precizniji. Prema

Lewisu [178] vrednosti *MAPE* manja od 10% ukazuje na visoku tačnost predikcije, vrednosti u opsegu od 10 do 20% označavaju dobru tačnost modela, dok se vrednosti između 20 i 50% ocenjuju kao razumna tačnost prognoze. Sa druge strane, *MAPE* veće od 50% ukazuju na nisku pouzdanost modela i svrstavaju se u netačne predikcije. *MAPE* se računa prema formuli:

$$MAPE = \frac{100}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|O_i - P_i|}{|O_i|} \quad (19)$$

Indeks slaganja (IA) predstavlja stepen srednjeg slaganja stvarnih i predviđenih vrednosti, kao i razlike između njih. Što je slaganje bolje, to je vrednost *IA* bliže 1. *IA* se računa prema sledećoj formuli:

$$IA = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (O_i - P_i)^2}{\sum_{i=1}^n (|P_i - \bar{O}| + |O_i - \bar{O}|)^2} \quad (20)$$

4. REZULTATI I DISKUSIJA

4.1. Karakterizacija biočadi

4.1.1. Prinos biočadi

Na prinos biočadi presudan uticaj imaju operativni uslovi pirolize i karakteristike polazne sirovine.

Sva tri proizvedene biočadi imaju relativno slične prinose, koji se kreću u rasponu od 26,10 do 28,64% (Tabela 4.1). Dobijeni rezultati su u skladu sa prinosima biočadi proizvedenih sporom pirolizom sličnih sirovina, kao što su koštica višnje (28,20%) i koštica masline (32,58%) [179,180].

Najveći prinos biočadi (30,51%) zabeležen je kod uzorka KŠB, što se može objasniti njegovim višim sadržajem pepela u poređenju sa uzorcima KBB i KVB, budući da visok sadržaj pepela može doprineti povećanju prinosa [181]. Pored toga, razlike u strukturi i elementarnom sastavu polaznih sirovina takođe su mogle uticati na prinos proizvedenih biočadi. Sadržaj lignina ima ključan uticaj na prinos biočadi. Prema literaturnim podacima, koštice šljive sadrže više lignina (49,3%) u poređenju sa košticama breskve (15,54%) i višnje (39,73%) [23,25,182]. Pored toga, KŠB je pokazao najveći sadržaj kako elementarnog, tako i vezanog ugljenika (71,78% i 65,73%, respektivno), što ukazuje na veću količinu preostale čvrste faze nakon pirolize, i samim tim, viši prinos biočadi.

4.1.2. Proksimativna analiza

Rezultati proksimativne analize prikazani su u Tabeli 4.1. Sadržaj vlage u biočadi odražava njenu higroskopnu prirodu. Zbog specifične stukture vezivanja sastavnih C atoma, izdvajanje vode iz biomase je otežano, zbog čega biočađ uvek sadrži određenu količinu vlage. Uzorak KBB ima najveći sadržaj vlage, 8,30%, dok KŠB ima najmanji sadržaj vlage, 6,05%. Što je sadržaj vlage manji, to je kvalitet biočadi bolji, jer je biočađ stabilnija i efikasnija u različitim primenama [183].

Sadržaj pepela u biočadi direktno je povezan sa prisustvom neorganskih elemenata, koji su glavni sastojci pepela i predstavljaju neisparljive minerale nastale tokom procesa sagorevanja. Uzorak KŠB ima najveći sadržaj pepela, od 2,08%, što odgovara i njegovom najvećem sadržaju neorganskih elemenata, poput K, Ca, Mg, Si i dr. Nasuprot tome, uzorak KBB ima najmanji sadržaj pepela, svega 0,73%, što ukazuje na manju količinu neorganskih elemenata, što se jasno može videti iz Tabele 4.1. Visok sadržaj pepela može negativno uticati na adsorpcioni kapacitet biočadi, jer prisustvo mineralnih komponenti poput K, Ca, Mg, može izazvati zapušavanje pora, što dovodi do smanjenja specifične površine i broja raspoloživih adsorpcionih mesta [183].

Sadržaj isparljivih materija i vezanog ugljenika je obrnuto proporcionalan i direktno zavisi od uslova pirolize. Piroliza sprovedena na 500 °C tokom 90 min rezultirala je nižim sadržajem isparljivih materija i višim sadržajem vezanog ugljenika. Na nižim temperaturama oslobađanje isparljivih jedinjenja je sporije, što dovodi do povećanja udela vezanog ugljenika, koji predstavlja preostalu masu nakon uklanjanja isparljivih komponenti, vode i pepela [184]. Kako je prikazano u Tabeli 4.1, sadržaj ugljenika opada redosledom KŠB > KVB > KBB, dok se sadržaj isparljivih materija povećava. Veći udeo vezanog ugljenika povoljno utiče na kalorijsku vrednost materijala, omogućavajući duže sagorevanje i veći energetski potencijal ispitivanog uzorka. Osim toga, visok sadržaj vezanog ugljenika doprinosi većoj čistoći biočadi, čime se proširuje njeno potencijalna primena.

Tabela 4.1. Karakterizacija uzoraka KBB, KVB i KŠB

Analiza	Parametar	Uzorak		
		KBB	KVB	KŠB
Proksimativna analiza, %	Sadržaj vlage	8,30	7,95	6,05
	Isparljive materije	39,44	29,81	26,14
	Pepeo	0,73	1,78	2,08
	Vezani ugljenik	51,3	60,46	65,73
Elementarna analiza, %	C	69,37	64,4	71,78
	H	2,74	2,90	2,91
	O	27,49	31,5	23,70
	N	0,30	1,1	1,62
	S	<0,10	<0,10	0,00
	H/C	0,04	0,04	0,04
	O/C	0,40	0,49	0,33
Neorganski elementi, %	K	0,096	0,32	0,41
	Ca	0,047	0,25	0,34
	Mg	0,019	0,11	0,18
	Fe	0,026	0,014	0,024
	Si	0,311	0,006	0,32
	Zn	0,0006	0,0019	0,0056
	Mn	0,0006	0,0011	0,0015
	Cu	0,0012	0,0013	0,0021
Pb	0,0009	0,00044	0,0007	
Prinos, %		26,10	26,57	30,51
pH _{sus}		6,91	6,71	7,09
pH _{pzc}		6,74	6,60	6,70
EC, $\mu\text{S}/\text{cm}$		495	961	707
Crl, %		28,42	25,61	27,37
SA, m^2/g		186	182	168
S _{mic} , m^2/g		119	143	124
V _{mic} , cm^3/g		0,0587	0,0744	0,0643

4.1.3. Elementarna organska analiza

Elementarni sastav biočađi dobijene iz koštica breskve, višnje i šljive pokazuje sličnosti u odnosu ispitivanih elemenata. Najveći sadržaj ugljenika zabeležen je kod uzorka KŠB, sa vrednošću od 71,78%, dok su sadržaji za KBB i KVB iznosili 69,37% i 64,4%, respektivno. Shaaban i saradnici [185] su zaključili da veći sadržaj ugljenika ukazuje na viši stepen čistoće biočađi. Sadržaj kiseonika bio je najveći u uzorku KVB (31,5%), zatim kod KBB (27,49%) i najmanji kod uzorka KŠB (23,70%). Veći sadržaj kiseonika ukazuje da materijal poseduje više funkcionalnih grupa koje sadrže kiseonik, poput karboksilnih, karbonilnih i fenolnih, koje poboljšavaju adsorpcioni kapacitet biočađi, omogućavajući efikasniju razmenu katjona putem elektrostatičkih interakcija.

Na osnovu elementarne analize izračunat je molarni odnos H/C i O/C, koji se koriste kao indikatori polariteta i stepena karbonizacije biočađi [102]. Molarni odnos H/C predstavlja pokazatelj aromatičnosti biočađi i za sva tri ispitivana uzorka iznosi 0,04. Izuzetno niska vrednost

H/C odnosa ukazuje na stabilnu i izrazito aromatičnu strukturu proizvedenih biočadi, što je u skladu i sa IBI standardom [83], prema kome se biočadi sa odnosom H/C manjim od 0,7 smatraju stabilnim. Aromatična stuktura biočadi, sa π -sistemom bogatim elektronima može pojačati postojeće vodonične veze ili delovati kao akceptor protona u adsorpcionim procesima [147]. Molarni odnos O/C koristi se kao indikator hidrofилности biočadi, pri čemu veće vrednosti ukazuju na prisustvo većeg broja polarnih funkcionalnih grupa i veću hidrofилност. Prema dobijenim rezultatima, KVB pokazuje najviši odnos O/C od 0,49, što ukazuje na najveći stepen hidrofилности među ispitivanim uzorcima. Sledeći po redu je KBB sa odnosom O/C od 0,40, dok KŠB ima najniži odnos od 0,33, što ukazuje na najmanju hidrofилност. Niža vrednost O/C kod KŠB može se povezati sa manjim sadržajem polarnih funkcionalnih grupa, što ga čini pogodnijim za adsorpciju hidrofobnih organskih jedinjenja, dok su KVB i KBB hidrofилniji i pogodniji za adsorpciju polarnih i organskih jedinjenja.

4.1.4. Analiza sadržaja neorganskih elemenata

U Tabeli 4.1. prikazane su koncentracije neorganskih elemenata u proizvedenim biočadima. Ca, K i Mg su dominantni elementi u uzorcima KVB i KŠB, pri čemu su njihove koncentracije značajno više u odnosu na one u KBB. Uzorak KŠB pokazao je najviši sadržaj ovih elemenata, što ukazuje na njegovu potencijalnu primenu za poboljšanje plodnosti zemljišta, posebno za neutralizaciju kiselih zemljišta i obogaćivanje esencijalnim makroelementima [81].

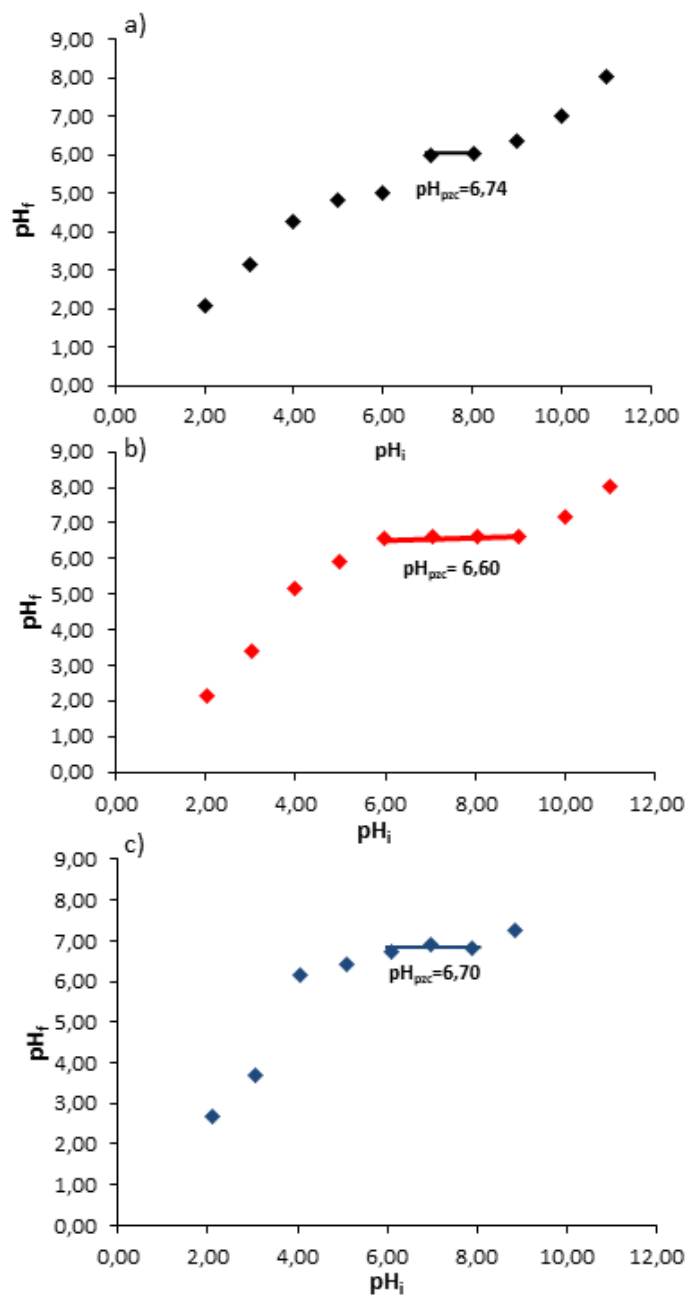
4.1.5. Kontaktna pH

Kada destilovana voda dođe u kontakt sa adsorbentom, pH vrednost suspenzije se menja usled interakcije sa kiselim i alkalnim grupama na površini materijala. pH suspenzije (pH_{sus}) ili kontaktna pH vrednost, predstavlja indikator kiselno-alkalne prirode površine adsorbenta [144].

Izmerena vrednost pH_{sus} za KBB iznosila je 6,91, za KVB 6,71, a za KŠB 7,09, što ukazuje na neutralne do blago kisele karakteristike. Ove vrednosti sugerišu na prisustvo kiselih funkcionalnih grupa na površini biočadi, naročito kod uzorka KVB. Najviša pH_{sus} vrednost (7,09), zabeležena kod KŠB, ukazuje na nešto veći sadržaj alkalnih minerala, što je u skladu sa rezultatima analize neorganskih elemenata.

4.1.6. Određivanje tačke nultog naelektrisanja

Tačka nultog naelektrisanja (pH_{pzc}) predstavlja pH vrednost rastvora pri kojoj je zbir površinskih naelektrisanja adsorbenta jednak nuli. Rezultati analize pH_{pzc} mogu ukazivati na potencijalne elektrostatističke interakcije između adsorbenta i adsorbata u rastvoru [8]. Pri pH vrednostima rastvora nižim od pH_{pzc} , površina materijala je pozitivno naelektrisana, što povoljnije utiče na vezivanje negativno naelektrisanih jona-anjona, dok pri pH vrednostima višim od pH_{pzc} , površina adsorbenta postaje negativno naelektrisana i pogodna za vezivanje katjona. Kao što se može videti sa Slike 4.1, sva tri uzorka imaju slične vrednosti pH_{pzc} , koje se kreću u opsegu od 6,60 do 6,74. Međutim, uzorak KVB pokazuje veću stabilnost u širem opsegu pH vrednosti (od 6 do 9) u poređenju sa KBB i KŠB, koji pokazuju neutralnost u užem opsegu pH vrednosti. S obzirom da je pH vrednost rastvora boje BZ 6,80, što je više od pH_{pzc} svih analiziranih uzorka, površina adsorbenata je negativno naelektrisana, što pogoduje vezivanju katjona, kakva je boja BZ.



Slika 4.1. Tačka nultog naelektrisanja: a) KBB, b) KVB, c) KŠB

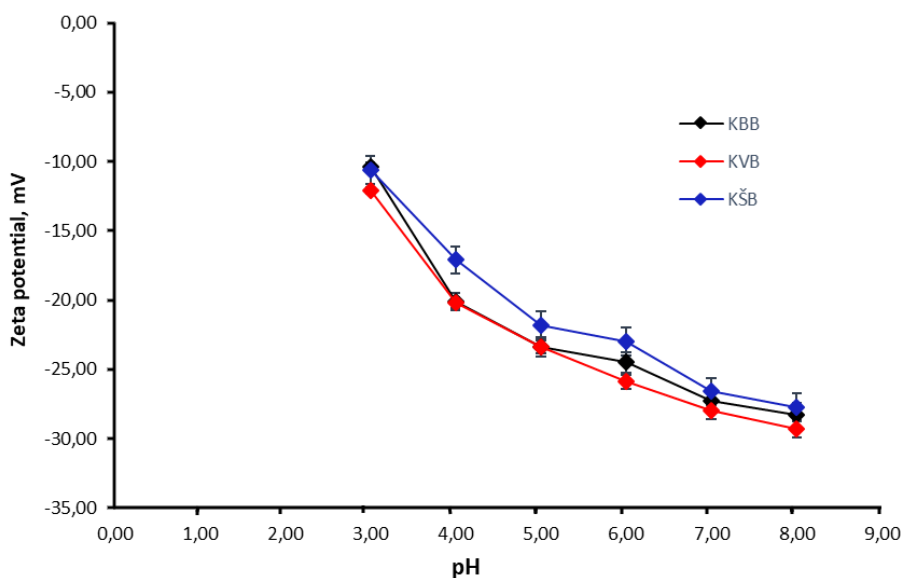
4.1.7. Električna provodljivost

Analizirane biočadi značajno se razlikuju po svojoj električnoj provodljivosti (EC) (Tabela 2.1). Najviša vrednost EC dobijena je za KVB (961 $\mu\text{S}/\text{cm}$), dok je najniža zabeležena kod KBB (495 $\mu\text{S}/\text{cm}$). Razlika u vrednostima EC mogu biti posledica različitih koncentracija rastvorljivih i izmenjivih baznih katjona [186]. Uzorci KVB i KŠB, koji sadrže veće količine Ca, Mg i K, te samim tim pokazuju višu vrednost EC, dok je kod uzorka KBB, sa nižim koncentracijama ovih katjona, zabeležena najniža vrednost EC.

4.1.8. Određivanje zeta potencijala

Zeta potencijal predstavlja potencijal koloidnih čestica u ravni smicanja, a njegova vrednost i znak su povezani sa površinskim naelektrisanjem čestica [187]. Na slici 4.2. prikazan je zeta potencijal u funkciji pH rastvora za KBB, KVB i KŠB. U ispitivanom intervalu pH vrednosti od 3

do 8, zeta potencijal pokazuje negativne vrednosti za sva tri uzorka biočadi. Sa povećanjem pH vrednosti, zeta potencijal postaje sve negativniji, usled deprotonovanja funkcionalnih grupa na površini biočadi. Negativne vrednosti zeta potencijala pri svim ispitanim pH vrednostima ukazuju da je površina biočadi negativno naelektrisana, što favorizuje vezivanje katjona, čak i u kiselom pH opsegu. Sa Slike 4.2 se vidi da KVB ima negativniji zeta potencijal pri svim pH vrednostima u poređenju sa KBB i KŠB, što sugeroše na veći sadržaj kiselih funkcionalnih grupa, što je i potvrđeno FITR-ATR analizom.

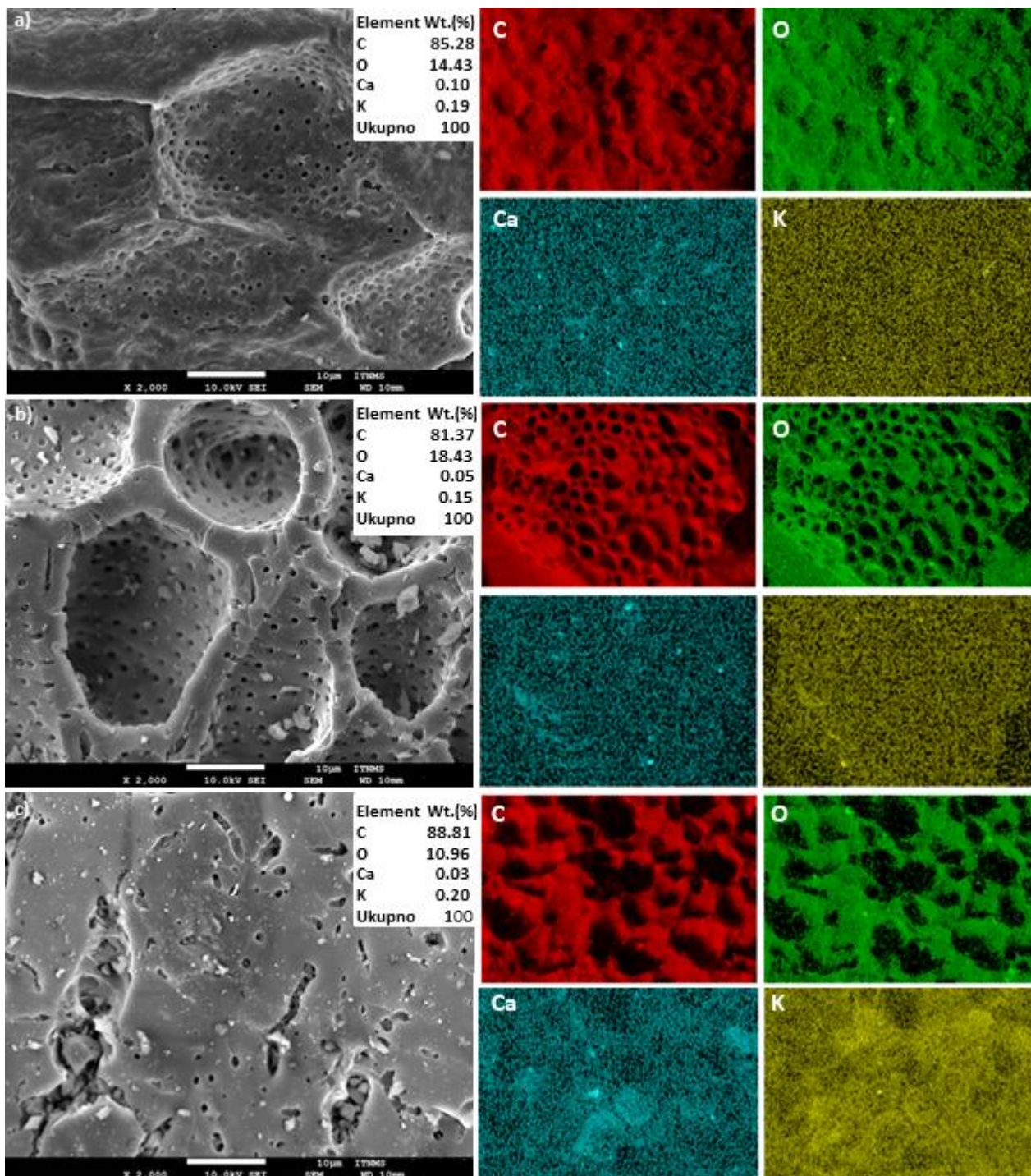


Slika 4.2. Zeta potencijal za KBB, KVB i KŠB

4.1.9. Određivanje morfoloških karakteristika

Na slici 4.3. prikazana je SEM i EDX analiza za uzorke KBB, KVB i KŠB. Morfologija površine proizvedenih biočadi ispitana je pomoću SEM analize. Mikrofotografije su pokazale da sva tri uzorka biočadi poseduju poroznu strukturu, ali sa različitim stepenom razvijenosti. Uzorak KŠB pokazuje najmanje izraženu poroznost, sa nehomogenom i ispucalom površinom kao i manjim udelom vidljivih pora. Ova karakteristika može biti posledica gubitka isparljivih materija tokom procesa pirolize, što je u skladu sa najnižim sadržajem isparljivih materija dobijenih proksimativnom analizom, uočenim kod KŠB u odnosu na KBB i KVB. Uzorak KBB pokazuje razvijeniju poroznu strukturu sa prisustvom manjih i ravnomerno raspoređenih pora, dok uzorak KVB ima najrazvijeniju poroznost, sa porama različitih veličina, pri čemu su manje pore raspoređene unutar većih pora. Veće pore olakšavaju kretanje molekula, dok prisustvo manjih pora povećava površinu dostupnu za vezivanje [188]. Prisustvo pora različitih veličina značajno doprinosi adsorpcionoj sposobnosti uzorka KVB, jer omogućava brži prolaz molekula boje i efikasniju adsorpciju.

EDX analiza pokazala je da se biočađ sastoji najvećim delom od ugljenika i vodonika, dok su kalijum i kalcijum prisutni u manjim količinama. Uzorak KŠB, ima najveći sadržaj ugljenika od 88,81%, što ukazuje na viši stepen karbonizacije i bolju termičku stabilnost, u skladu sa rezultatima EOA. S druge strane, uzorak KVB pokazuje najviši sadržaj kiseonika, što sugeriše na prisustvo funkcionalnih grupa koje sadrže kiseonik, poput hidroksilnih, što je potvrđeno FTIR-ATR analizom.



Slika 4.3. SEM i EDX: a) KBB, b) KVB, c) KŠB

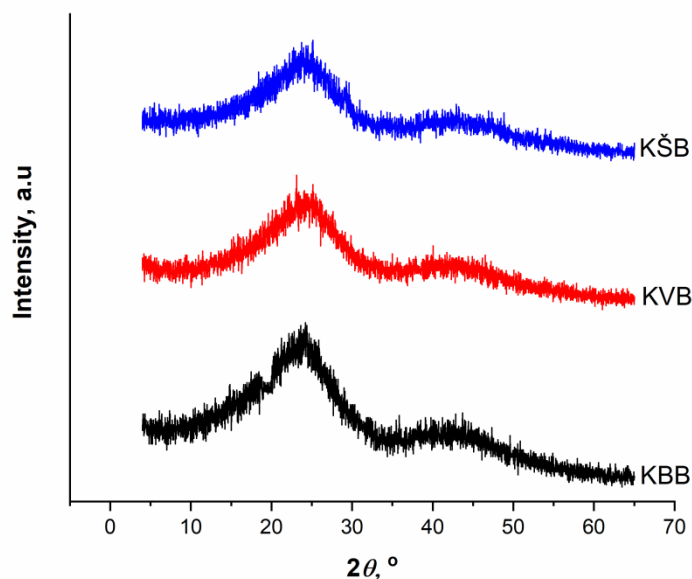
4.1.10. Određivanje specifične površine i poroznosti materijala

Vrednosti specifične površine (SA), kao i specifične površine mikropora (S_{mic}) i zapremine mikropora (V_{mic}) ispitivanih biočadi, prikazane su u Tabeli 4.1. Uzorci KBB i KVB imaju sličnu specifičnu površinu, koja iznosi $186 \text{ m}^2/\text{g}$ i $182 \text{ m}^2/\text{g}$, dok uzorak KŠB pokazuje nešto nižu vrednost od $168 \text{ m}^2/\text{g}$. Dobijene vrednosti su u skladu sa BET analizom biočadi iz sličnih materijala poput koštica masline ($150 \text{ m}^2/\text{g}$) i semena urme ($187 \text{ m}^2/\text{g}$) [180,189]. Uzorak KVB ima najvišu vrednost S_{mic} od $143 \text{ m}^2/\text{g}$ i V_{mic} od $0,0744 \text{ cm}^3/\text{g}$ u poređenju sa KBB i KVB. Velika specifična površina i mikroporozna struktura čini ovaj materijal pogodnim za vezivanje različitih molekula, poput boja i

enzima, jer poseduje veliki broj aktivnih mesta, koja olakšavaju adsorpciju i stabilnu interakciju sa površinom materijala.

4.1.11. Rendgenska difrakciona analiza (XRD)

Na Slici 4.4. prikazani su XRD difraktogrami uzoraka KBB, KVB i KŠB. Zbog sličnog lignoceluloznog porekla, uzorci imaju slične difraktograme. Svi uzorci imaju dominantan pik između 23° i $25^\circ 2\theta$, koji odgovara ravnima grafitne mreže. Široki maksimumi prisutni u sva tri uzorka potvrđuju prisustvo visoke koncentracije ugljenika i amfornu prirodu uzoraka [190]. Još jedan pik uočen je između 38 i $43^\circ 2\theta$, koji pripada C (100) ravni kondenzovanih karbnizovanih stuktura.



Slika 4.4. XRD analiza uzorka KBB, KVB i KŠB

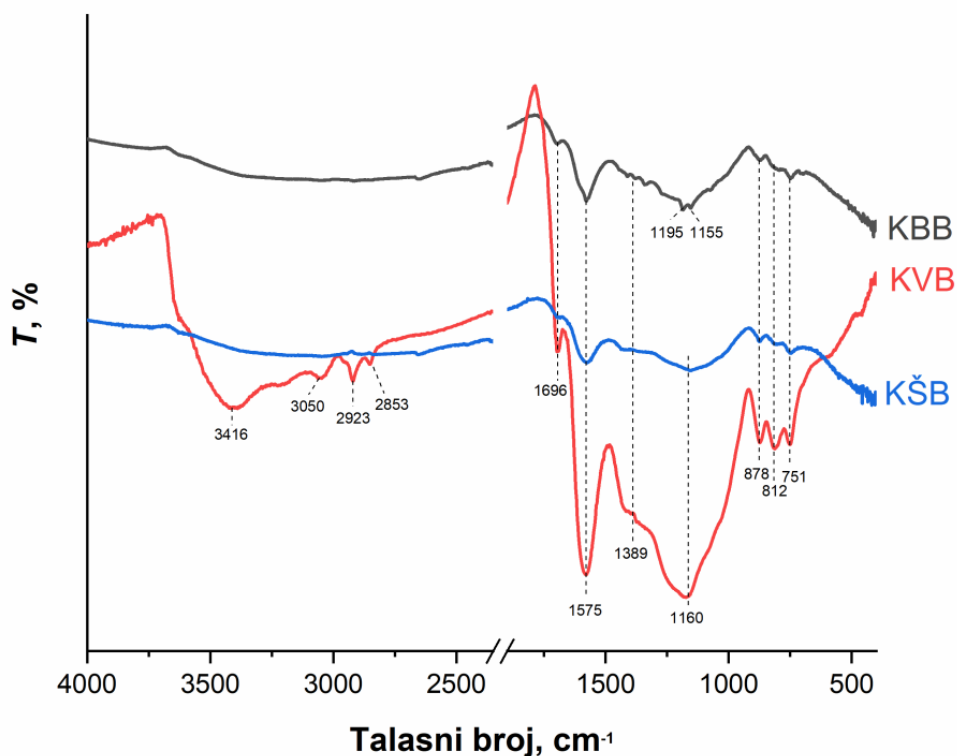
Indeks kristaličnosti (CrI) ima značajan uticaj na adsorpcione sposobnosti biočađi [191]. Viši udeo kristalne faze ukazuje na manju reaktivnost i poroznost materijala, usled prisutva manje funkcionalnih grupa [23]. S druge strane, viši udeo amorfne faze ukazuje da materijal sadrži više funkcionalnih grupa koje sadrže kisonik, koje poboljšavaju adsorpciju različitih polutanata. Na osnovu formule (6) izračunate vrednosti CrI iznose 28,42% za KBB, 25,61% za KVB i 27,37% za KŠB. Najniža vrednost CrI kod uzorka KVB ukazuje na veću amornost materijala, što sugerise prisustvo većeg broja $-OH$ grupa, što je potvrđeno FTIR-ATR analizom. Dobijene vrednosti CrI nalaze se u opsegu drugih biočađi poreklom iz lignoceluloznih materijala, kao što su biočađ od palminog otpada (29,70 %) i biočađ od kore krompira (25,02 %) [192,193].

4.1.12. Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom i prigušenom totalnom refleksijom (FTIR-ATR)

Infracrvena spektroskopija sa Furijeovom transformacijom i prigušenom totalnom refleksijom (FTIR-ATR) koristi se za analizu funkcionalnih grupa na površini materijala, što je od ključnog značaja za razumevanje njihovih hemijskih i adsorpcionih osobina. Na Slici 4.5. prikazana je FTIR-ATR analiza ispitivanih biočađi: KBB, KVB i KŠB. Iz FTIR-ATR spektra može se uočiti nekoliko zajedničkih pikova za sve tri vrste biočađi. Jedan od njih je pik na 1696 cm^{-1} , koji potiče od istezanja $C=O$ grupa karboksilnih kiselina, kao i pik na 1575 cm^{-1} koji je povezan sa antisimetričnim istezanjem $C=O$ grupe, kao i aromatskim $C=C$ vibracijama [100,144]. Takođe, pik na 1389 cm^{-1} , prisutan kod svih uzoraka biočađi, može se pripisati savijanju $-OH$ grupe ili vibracijama istezanja $C-O$ grupe [194]. Kod uzorka KBB, registrovani su pikovi na 1195 i 1155

cm^{-1} , koji se mogu povezati sa vibracijama C-O veza sekundarnih alkohola, dok se kod uzoraka KŠB i KVB ovaj pik javlja na 1160 cm^{-1} [146]. Pikovi između 751 i 878 cm^{-1} , koji su zabeleženi kod svih uzoraka biočađi, potiču od aromatičnih C-H vibracija [194].

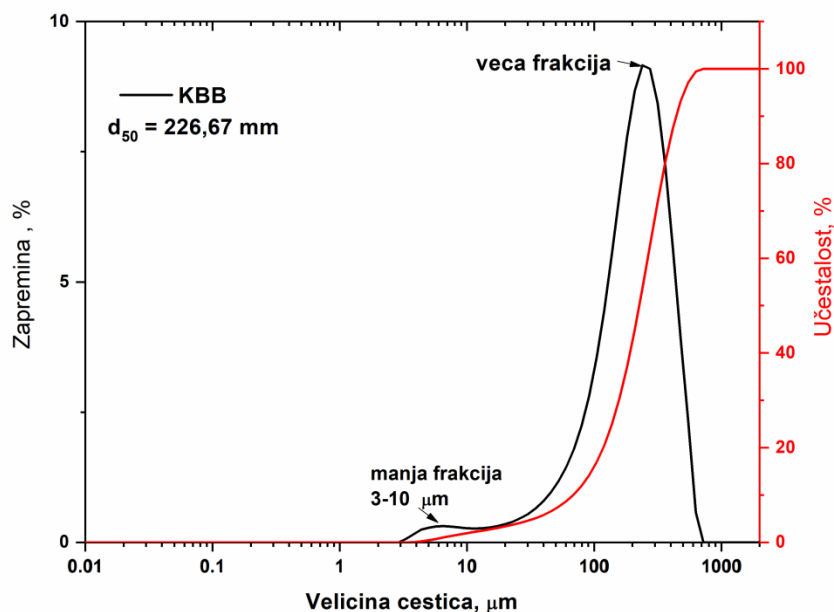
U spektru uzorka KVB uočen je izražen pik na 3416 cm^{-1} , koji se pripisuje prisustvu hidroksilnih grupa [100], a koji nije zabeležen kod uzoraka KBB i KŠB. Ovo zapažanje je u skladu sa rezultatima elementarne analize, koja pokazuje da KVB ima najviši molarni odnos O/C u poređenju sa KBB i KŠB, što ukazuje na veći sadržaj polarnih funkcionalnih grupa u ovom uzorku. Pored toga, u spektru uzorka KVB, detektovan je triplet pikova u opsegu od 2853 do 3050 cm^{-1} , koji se pripisuje asimetričnim i simetričnim vibracijama istezanja C-H veza u zasićenim ugljovodoničnim grupama [12].



Slika 4.5. FTIR-ATR analiza KBB, KVB i KŠB

4.1.13. Raspodela veličina čestica

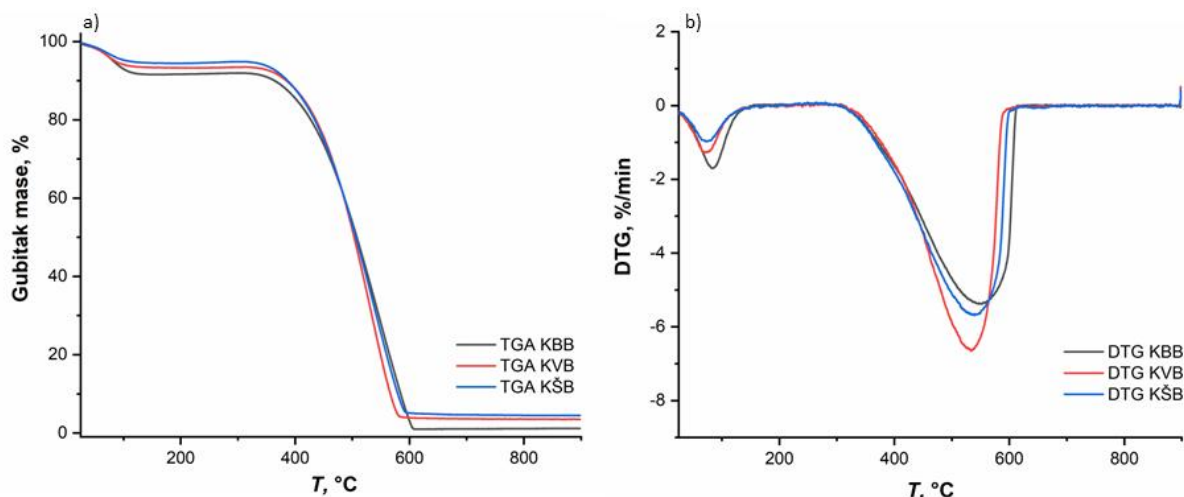
Zbog sličnosti u strukturi i identičnih uslova pripreme ispitivanih uzoraka, pretpostavlja se da će raspodela veličine čestica biti ista za sve biočađi, zbog čega je na Slici 4.6. prikazana samo za uzorak KBB. Uzorak KBB pokazuje bimodalnu raspodelu veličine čestica, sa stepenom uniformnosti od 0,499. Veličine čestica uzorka KBB uglavnom se kreću u opsegu od 6 do $300 \mu\text{m}$. Srednji prečnik čestica iznosi $226,668 \mu\text{m}$, pri čemu je oko 90% čestica manjih od $440,52 \mu\text{m}$, dok je samo 10% čestica manjih od $68,47 \mu\text{m}$.



Slika 4.6. Dijagram raspodele veličine čestica KBB

4.1.14. Termijska analiza

Za termijsku analizu proizvedenih biočadi korišćene su termogravimetrijska analiza (TGA) i derivativna termogravimetrijska analiza (DTG). TGA se sprovodi da bi se pratila promena mase materijala sa promenom temperature, dok DTG pokazuje reaktivnost materijala na određenoj temperaturi. Na Slici 4.7. prikazana je TGA/DTG analiza za KBB, KVB i KŠB.



Slika 4.7. Termička analiza KBB, KVB i KŠB: a) TGA, b) DTG

Sve tri ispitivane biočadi pokazuju sličan profil gubitka mase (Slika 4.7). Početna faza, koja se javlja u opsegu od sobne temperature do 300 °C nastaje usled gubitka vlage i lakše ragradivih komponenti prisutnih u biočadi. Prvi gubitak mase, koji je jasno uočen na DTG krivama (Slika 4.7. b)), nastaje oko 100 °C i rezultat je isparavanja vlage. Daljim povećanjem temperature, dolazi do razgradnje hemiceluloze, koja započinje na oko 220 °C, kao i delimične degradacije celuloze [35]. Gubitak mase u ovoj fazi bio je 7,54 % za KBB, 6,34% za KVB i 4,89% za KŠB što je u skladu sa rezultatima sadržaja isparljivih materija (Tabela 4.1).

Druga faza, koja započinje na temperaturama iznad 300 °C, odnosi se na postepeno sagorevanje zaostalih fragmenata celuloze i lignina. Ovaj proces se intenzivira u intervalu od 380

°C do 400 °C usled oksidacije amornog ugljenika, glavne komponente biočadi [100]. U ovom temperaturnom opsegu dolazi do najznačajnijeg gubitka mase, koji pri dostizanju 600 °C iznosi 88,87% za KBB, 89,55% za KVB i 89,71% za KŠB. Na DTG krivama (Slika 4.7. b)) jasno je vidljiv glavni pik na temperaturi od 548 °C za KBB, 534 °C za KVB i 540 °C za KŠB, što odgovara najintenzivnijem stepenu gubitka mase. Najizraženiji i najintenzivniji pik ima uzorak KVB, što sugerise na veći sadržaj razgradljivih organskih materijala u poređenju sa KBB i KŠB na posmatranoj temperaturi.

U poslednjoj fazi, koja se odvija na temperaturama iznad 600 °C, dolazi do razgradnje preostalog lignina koji nije razgrađen u toku prethodne faze. Ukupan gubitak mase na kraju termičke analize iznosio je 98,34% za uzorak KBB, 96,29% za KVB i 95,24% za KŠB. Najmanji gubitak mase uzorka KŠB ukazuje da ima najveći stepen karbonizacije i najbolju termičku stabilnost, što je u skladu sa EOA kao i najvećim sadržajem mineralnih materija (Tabela 4.1).

4.2. Primena biočadi kao adsorbenta

4.2.1. Adsorpcija boja u šaržnom sistemu

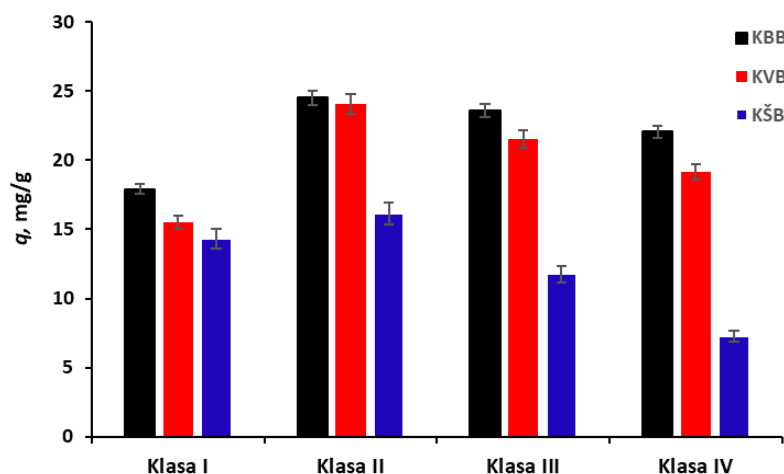
Adsorpcija u šaržnom sistemu je jedan od najčešće korišćenih laboratorijskih pristupa u ispitivanjima mogućnosti prečišćavanja kontaminiranih voda. Ovaj sistem omogućava efikasnu kontrolu nad procesom jer pruža mogućnost preciznog praćenja promena u koncentraciji adsorbata u odnosu na vreme, temperaturu i druge parametre. Adsorpcija BZ primenom biočadi ispitana je u šaržnom sistemu, uz optimizaciju procesnih parametara, pri čemu su određeni odgovarajući kinetički i ravnotežni parametri.

4.2.1.1. Ispitivanje procesnih parametara

Svi parametri koji utiču na proces adsorpcije moraju biti detaljno ispitani kako bi se utvrdili i razumeli mehanizmi vezivanja polutanata za površinu adsorbenta. Ova analiza doprinosi optimizaciji procesa, omogućavajući razvoj što efikasnijeg adsorbenta.

Ispitivanje uticaja veličine čestica

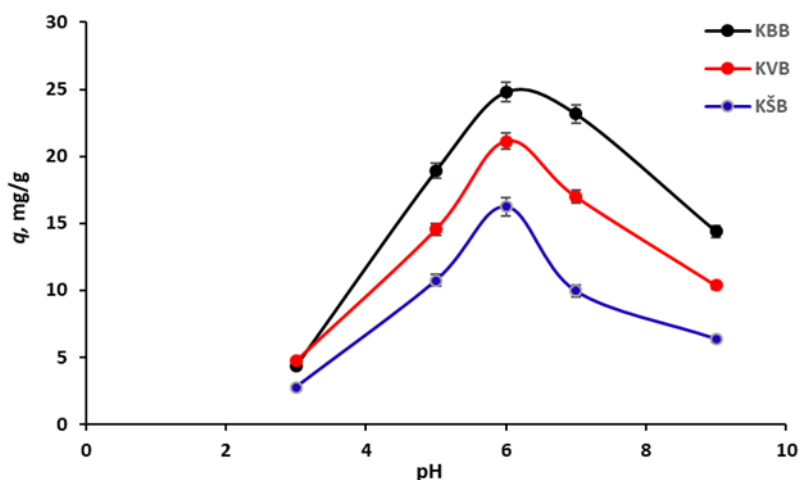
Biočad, prethodno kategorizovana prema veličini čestica u četiri klase (Klasa I ($d < 0,1$ mm), Klasa II ($0,1 < d < 0,5$ mm), Klasa III ($0,5 < d < 1,0$ mm) i Klasa IV ($1,0 < d < 2,0$ mm)), korišćena je za ispitivanje uticaja veličine čestica na adsorpciju BZ. Sa Slike 4.8. se jasno može videti da se sa povećanjem veličine čestica smanjuje adsorpcioni kapacitet za sva tri ispitivana uzorka. Manja veličina čestica doprinosi povećanju specifične površine materijala, čime aktivna mesta postaju dostupnija, a difuzioni put kraći što rezultira bržom adsorpcijom i povećanim adsorpcionim kapacitetom. Međutim, korišćenje najsitnijih čestica, klase I, izazvalo je zamućenje rastvora i otežalo odvajanje biočadi, što je uticalo na preciznost očitavanja apsorbance i validnost rezultata. Zbog toga su dalja istraživanja sprovedena korišćenjem klase II. Sa Slike 4.8. se može uočiti da uzorak KBB ima najveći kapacitet adsorpcije BZ, KVB ima nešto niži, a KŠB najmanji.



Slika 4.8. Uticaj veličine čestica na adsorpciju BZ primenom KBB, KVB i KŠB ($pH=7$, $m/V=2g/L$, $t=60$ min, $T=25$ °C, $C_i=50$ mg/L)

Ispitivanje uticaja pH

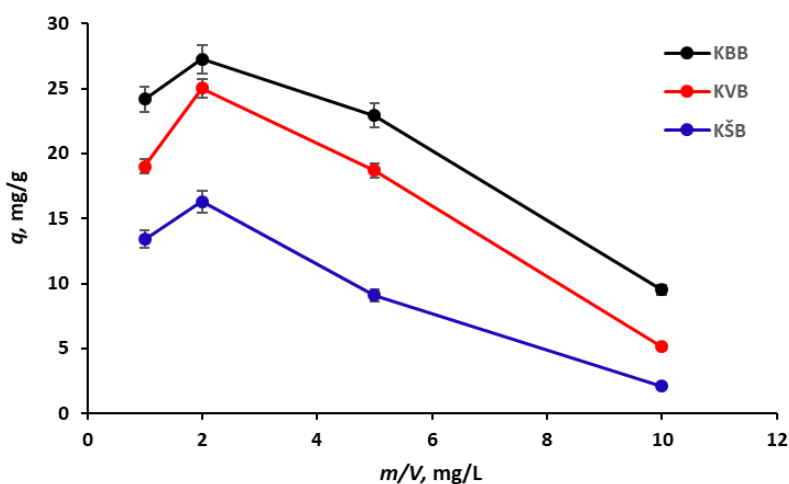
Vrednost pH rastvora predstavlja jedan od ključnih faktora u adsorpcionim procesima, jer direktno utiče na disocijaciju funkcionalnih grupa na površini adsorbenta (što dovodi do promena površinskog naelektrisanja), kao i na hemijske osobine rastvora i stepen jonizacije prisutnih supstanci. Pored toga, pH rastvora menja hemijsku strukturu boje i utiče na količinu elektrostatičkog naelektrisanja, što dovodi do promene brzine adsorpcije [196]. Kao što je prikazano na Slici 4.9. svi ispitivani uzorci biočadi prate isti trend sa promenom pH vrednosti: sa povećanjem pH vrednosti od 3 do 6 kapacitet adsorpcije raste, nakon čega se postepeno smanjuje za sve ispitivane uzorke. Na nižim pH vrednostima dolazi do konkurencije između jona vodonika i katjona boje za aktivna mesta na površini biočadi, što dovodi do niskog adsorpcionog kapaciteta. Maksimalni kapacitet adsorpcije postignut je pri pH 6 i iznosi 24,16 mg/g za KBB, 21,13 mg/g za KVB i 16,26 mg/g za KŠB. Daljim povećanjem pH vrednosti dolazi do smanjenja adsorpcionog kapaciteta, što se može objasniti akumulacijom OH^- jona na površini adsorbenta. Kao rezultat toga, dolazi do smanjenja elektrostatičkih interakcija između negativno naelektrisane površine adsorbenta i molekula katjonske boje, što negativno utiče na adsorpciju molekula boje na površinu biočadi [197]. Sličan trend zabeležili su i Saif Ur Rehman i saradnici [101], koji su utvrdili da je pH vrednost 6 optimalna za adsorpciju BZ na biočadi dobijenoj hidrolizom pirinčane slame.



Slika 4.9. Uticaj pH na adsorpciju BZ primenom KBB, KVB i KŠB (klasa II, $m/V=2g/L$, $t=60$ min, $T=25$ °C, $C_i=50$ mg/L)

Ispitivanje odnosa čvrste i tečne faze

Na Slici 4.10. prikazan je uticaj odnosa čvrste i tečne faze na adsorpciju BZ. Sva tri ispitivana materijala prate isti trend promene adsorpcionog kapaciteta. Pri najnižoj dozi adsorbenta od 1 g/L, zabeležene su vrednosti adsorpcionog kapaciteta od 24,01 mg/g za KBB, 19,2 mg/g za KVB i 13,46 mg/g za KŠB. Povećanjem doze na 2 g/L dolazi do porasta adsorpcionog kapaciteta, koji dostiže maksimalne vrednosti od 27,17 mg/g za KBB, 25,02 mg/g za KVB i 16,42 mg/g za KŠB. Ovaj porast ukazuje da pri dozama adsorbenta nižim od 2 g/L nema dovoljne količine adsorbenta, odnosno nema dovoljno aktivnih mesta za vezivanje BZ, što dovodi do smanjene efikasnosti uklanjanja. Međutim, daljim povećanjem doze adsorbenta dolazi do opadanja adsorpcionog kapaciteta, pri istoj inicijalnoj koncentraciji adsorbata. Ova pojava može biti posledica prisustva veće količine 'neiskorišćenog' adsorbenta, kao i agregacija čestica biočadi, što dovodi do smanjenja dostupnosti aktivnih mesta i otežava homogenizacija sistema, usporavajući prenosa mase [128].

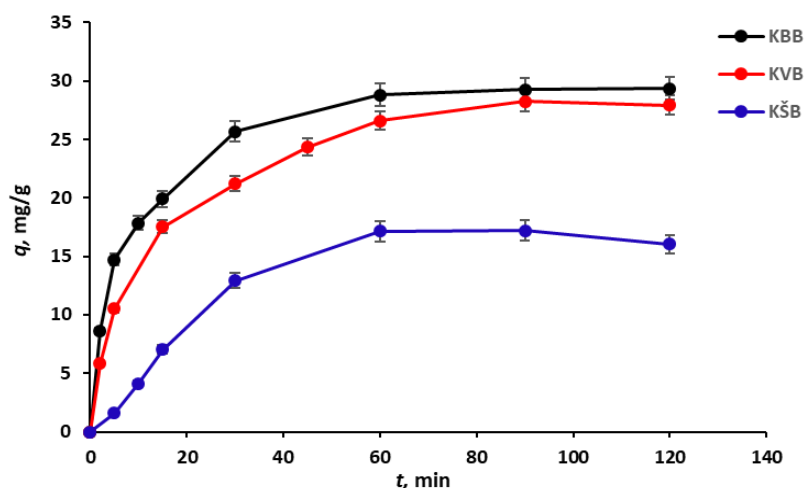


Slika 4.10. Uticaj odnosa čvrste i tečne faze na adsorpciju BZ primenom KBB, KVB i KŠB (klasa II, pH=6, $t=60$ min, $T=25$ °C, $C_i=50$ mg/L)

Ispitivanje uticaja kontaktnog vremena

Uticaj kontaktnog vremena na adsorpciju BZ korišćenjem KBB, KVB i KŠB prikazan je na Slici 4.11. Na početku procesa, u prvih 30 min, brzina uklanjanja boje je bila izuzetno visoka, što se može objasniti velikom dostupnošću slobodnih aktivnih mesta na površini biočadi. Vremenom, adsorpcija postepeno usporava, dok sistem ne uđe u ravnotežu. Usporavanje adsorpcije rezultat je smanjene dostupnosti preostalih aktivnih mesta, usled vezivanja molekula boje, što dovodi do povećanog međumolekulskog odbijanja između već adsorbovanih molekula i molekula prisutnih u rastvoru. Pored toga, preostali molekuli boje moraju prodreti dublje unutar pora materijala, gde nailaze na veći otpor difuziji, što dovodi do usporavanja procesa [197].

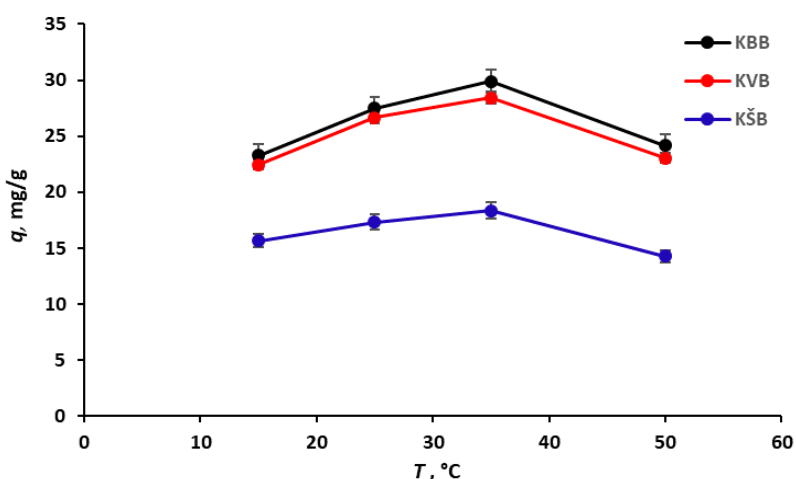
Sa Slike 4.11. se može videti da sva tri ispitivana uzorka dostižu ravnotežno stanje nakon približno 90 min, sa maksimalnim kapacitetom adsorpcije od 29,26 mg/g za KBB, 28,52 mg/g za KVB i 18,21 mg/g za KŠB. U skladu sa SEM i BET analizom, KŠB ima manje poroznu strukturu i manju specifičnu površinu, što otežava difuziju molekula boje u unutrašnjost adsorbenta, rezultirajući nižim kapacitetom adsorpcije u poređenju sa ostalim materijalima.



Slika 4.11. Uticaj kontaktnog vremena na adsorpciju BZ primenom KBB, KVB i KŠB (klasa II, pH=6, $m/V=2\text{g/L}$, $T=25\text{ }^\circ\text{C}$, $C_i=50\text{ mg/L}$)

Ispitivanja uticaja temperature

Temperatura igra značajnu ulogu u procesu adsorpcije, jer utiče na difuziju molekula boje, kako kroz spoljašnji film, tako i unutar pora adsorbenta. Uticaj temperature na adsorpciju BZ primenom KBB, KVB i KŠB prikazan je na Slici 4.12. Povećanjem temperature sa 15 na 35 °C, kapacitet adsorpcije je porastao, dok je daljim povećanjem temperature sa 35 na 50 °C zabeležen blagi pad adsorpcionog kapaciteta. Maksimalni kapacitet adsorpcije je postignut pri 35 °C iznosio je 29,89 mg/g za KBB, 28,44 mg/g za KVB i 18,37 mg/g za KŠB. Ovi rezultati ukazuju da je adsorpcija BZ u početku bila endotermna (15–35 °C), dok je pri višim temperaturama (35–50 °C) prešla u egzoterman proces. Sličan endotermno-egzotermni trend tokom adsorpcije BZ na biočadi dobijene hidrolizom pirinčane slame primetili su i Saif Ur Rehman i saradnici [101], koji su ovu pojavu objasnili činjenicom da egzotermne statičke interakcije dominiraju ispod 35 °C, dok endotermne hidrofobne interakcije preovlađuju iznad 35 °C.

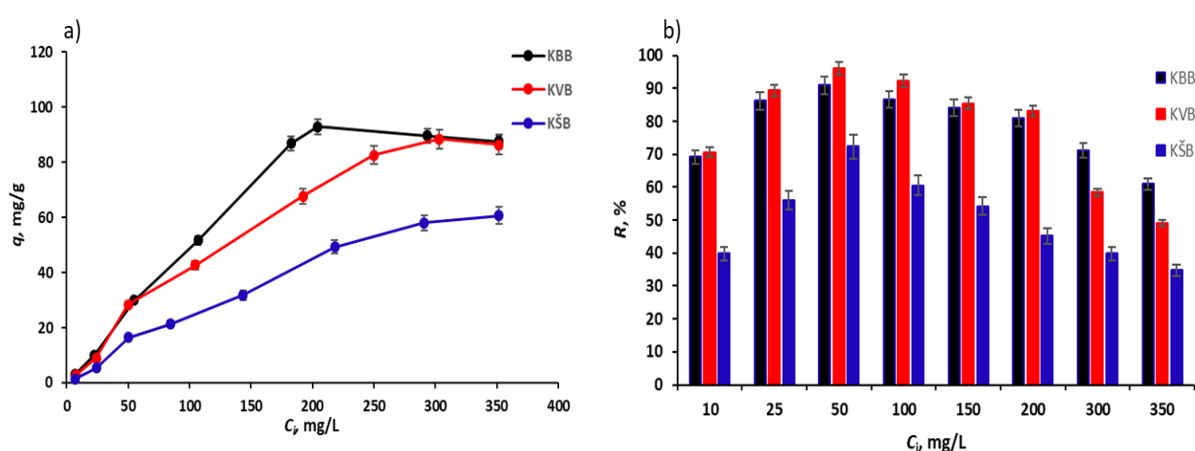


Slika 4.12. Uticaj temperature na adsorpciju BZ primenom KBB, KVB i KŠB (klasa II, pH=6, $m/V=2\text{g/L}$, $t=90\text{ min}$, $C_i=50\text{ mg/L}$)

Ispitivanja uticaja koncentracije boje

Za detaljnije ispitivanje uticaja početne koncentracije BZ, analizirani su i adsorpcioni kapacitet (Slika 4.13a) i efikasnost uklanjanja (Slika 4.13b), koji su pokazali različite trendove. Povećanje koncentracije BZ dovodi do rasta adsorpcionog kapaciteta za sva tri ispitivana uzorka. Kako koncentracije boje u šaržnom sistemu raste, povećava se pogonska sila koja savladava otpor

prenosu mase između tečne i čvrste faze, što dovodi do povećanja adsorpcionog kapaciteta. Međutim, kada se sva dostupna adsorpciona mesta popune, postiže se ravnoteža, nakon čega dalji porast koncentracije boje ne utiče na povećanje kapaciteta adsorpcije. Maksimalna efikasnost uklanjanja boje (ori odnosu $m/V=2\text{g/L}$) postignuta je pri koncentraciji BZ od 50 mg/L, i iznosi 90% za KBB, 96% za KVB i 72% za KŠB. Takođe, utvrđeno je da efikasnost uklanjanja boje raste sa povećanjem koncentracije boje od 10 do 50 mg/L, nakon čega postepeno opadala. Ovaj trend se može objasniti dostupnošću aktivnih mesta na površini ispitivanih biočadi pri nižim koncentracijama, kada većina molekula boje može biti adsorbovana, što rezultira visokom efikasnošću uklanjanja. Međutim, pri višim koncentracijama dolazi do kompeticije između molekula boje za ograničeni broj aktivnih mesta, zbog čega veći broj molekula ostaje neadsorbovan u rastvoru, što dovodi do smanjenja procenta uklonjene boje [198,199]. Zbog toga se koncentracija BZ od 50 mg/L, može smatrati kao optimalna koncentracija za adsorpciju na KBB, KVB i KŠB. Sličan trend primećen je i u studiji Akanda i saradnika [199] prilikom uklanjanja katjonske boje Malahit Zelene primenom lista *Tabernaemontana divaricate*.



Slika 4.13. Uticaj početne koncentracije boje na a) adsorpioni kapacitet, b) efikasnost uklanjanja BZ primenom KBB, KVB i KŠB (klasa II, pH=6, $m/V=2\text{g/L}$, $t=90\text{ min}$, $T=35\text{ }^\circ\text{C}$)

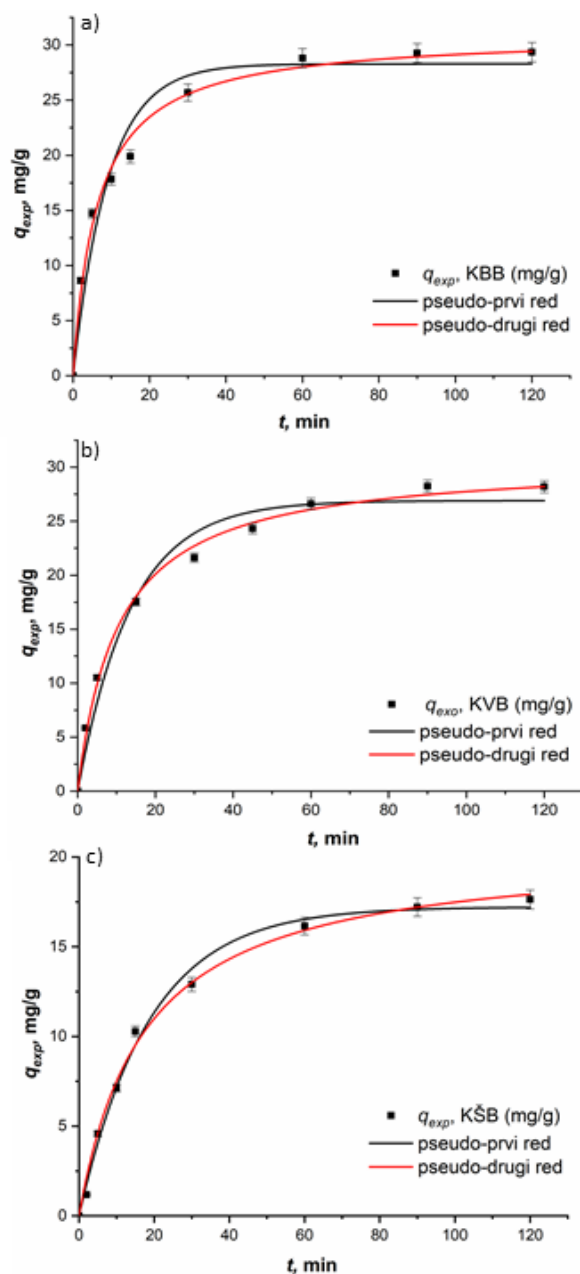
4.2.1.2. Kinetika adsorpcije BZ

Za svaki uspešan proces adsorpcije, ključno je ispitati kinetiku procesa kako bi se razumeli mehanizmi adsorpcije i identifikovao najsporiji korak koji utiču na brzinu procesa, poput otpora prenosu mase ili mogućih površinskih interakcija. Kinetika adsorpcije BZ primenom KBB, KVB i KŠB proučavana je korišćenjem dva reakciona modela, model pseudo-prvog i pseudo-drugog reda, kao i difuzionog Weber-Morrisovog modela. Na Slici 4.14. prikazani su rezultati modelovanja eksperimentalnih podataka primenom reakcionih kinetičkih modela, dok su dobijeni parametri sumirani u Tabeli 4.2.

Tabela 4.2. Kinetički parametri adsorpcije BZ

Model	Parameter	KBB	KVB	KŠB
	q_{exp} (mg/g)	29,26	28,52	18,21
Pseudo-prvi red	q_m (mg/g)	27,28	26,01	16,20
	k_1 (1/min)	0,1089	0,0729	0,0537
	R^2	0,9571	0,9718	0,9829
	χ^2	4,51	3,05	0,52842
Pseudo-drugi red	q_m (mg/g)	31,00	30,66	20,10
	k_2 (g/(mg min))	0,0050	0,0061	0,0018
	R^2	0,9889	0,9949	0,9945
	χ^2	1,16	0,55	0,25
Weber-Morrisov model	K_d (mg/(g min ^{1/2}))	-	-	3,38
	C	-	-	-3,50
	R^2	-	-	0,9763

Na osnovu eksperimentalnih podataka, može se uočiti da model pseudo drugog-reda bolje odgovara podacima u poređenju sa modelom pseudo-prvog reda. Pored toga, model pseudo-prvog reda pokazuje niže vrednosti koeficijenta korelacije (R^2) i više vrednosti hi-kvadrata (χ^2) u odnosu na model pseudo drugog-reda. Viši R^2 (0,9889, 0,9949 i 0,9945) i niži χ^2 (1,16, 0,55 i 0,25) ukazuju na veću usklađenost modela pseudo-drugog reda u opisivanju kinetike adsorpcije boje BZ na KBB, KVB i KŠB, što ukazuje da je brzina adsorpcije kontrolisana hemisorpcijom, koja obuhvata valentne sile ostvarene deljenjem ili razmenom elektrona između boje i biočadi. Pregledom literature utvrđeno je da se kinetika adsorpcije BZ primenom biočadi različitog porekla opisuje kinetikom pseudo-drugog reda [101], [146].

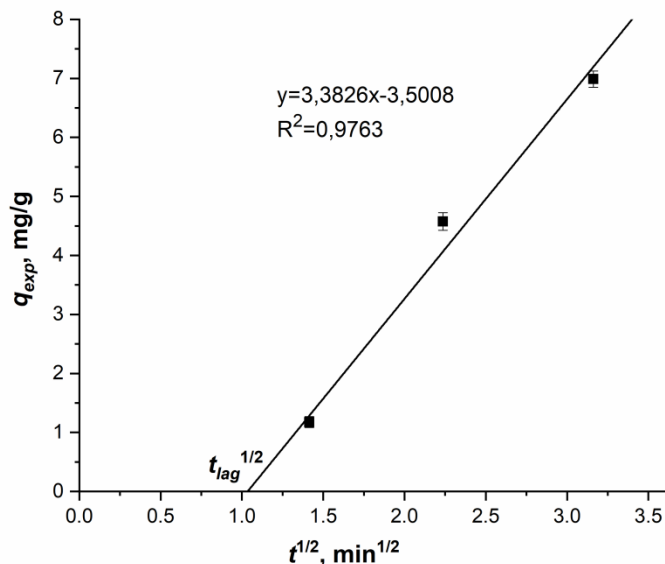


Slika 4.14. Kinetički modeli adsorpcije BZ primenom: a) KBB, b) KVB, c) KŠB (klasa II, pH=6, $m/V=2\text{g/L}$, $T=35\text{ }^\circ\text{C}$, $C_i=50\text{ mg/L}$)

Konstanta k_2 ima značajan uticaj na kinetiku adsorpcije, jer veće vrednosti k_2 ukazuju na brži proces. Iz Tabele 4.2, se može videti da iako se vrednosti konstante k_2 razlikuju među ispitivanim uzorcima, ove razlike nisu velike da bi ukazivale na značajno bržu kinetiku adsorpcije među ispitivanim uzorcima. KBB pokazuje najvišu vrednost k_2 (0,0050 g/(mg min)) u poređenju sa KVB (0,0031 g/(mg min)) i KŠB (0,0018 g/(mg min)), što sugeriše na neznatno bržu adsorpciju na ovom uzorku.

Prilikom primene Weber-Morrisovog modela (WM) u opisu kinetike adsorpcije, polazi se od pretpostavke da su čestice adsorbenta sfernog oblika, a da se uticaj difuzije može razmatrati u početnom periodu adsorpcije, odnosno u slučaju kada je odnos $q/q_e < 0,4$ [149,200]. Primenom WM modela na eksperimentalne podatke uklanjanja BZ uzorkom KBB dobijene su pozitivne vrednosti konstante C (+1,87), što ukazuje na to da se proces vezivanja boje odvija izuzetno brzo, te da ne postoji uticaj difuzije kroz granični sloj koji bi kontrolisao ukupnu kinetiku uklanjanja. Sličan trend primećen je i za uzorak KVB, kod koga je uočeno jako kratko tranziciono vreme od približno 12 s, što ukazuje na brzu kinetiku i zanemarljiv uticaj difuzije. Ovo je omogućeno razvijenijom

poroznom strukturu ovih uzoraka, kako je i potvrđeno BET analizom, što dalje omogućava brži transport molekula boje do aktivnih mesta na površini biočadi. Nasuprot tome, KŠB ima manje razvijenu poroznu strukturu, što otežava kretanje molekula boje kroz adsorbent, pa brzina adsorpcije postaje kontrolisana difuzijom u određenom vremenskom periodu. Primena difuzionog modela na eksperimentalne podatke u početnom period kod koga je $q_v/q_e < 0,4$, korišćenjem KŠB kao adsorbenta prikazan je na Slici 4.15. dok su parametri modela navedeni u Tabeli 4.2.



Slika 4.15. Primena Weber-Morriovog modela na adsorpciju BZ na KŠB u početnom periodu ($q_v/q_e < 0,4$, klasa II, pH=6, $m/V=2\text{g/L}$, $T=35\text{ }^\circ\text{C}$, $C_i=50\text{ mg/L}$)

Kao što se može uočiti na Slici 4.14., eksperimentalni podaci pokazuju linearnu zavisnost sa negativnim presekom na y-osi ($C=-3,50\text{ mg/g}$) i pozitivnim presekom sa x-osom ($t_{lag}^{1/2}=1,031\text{ min}^{1/2}$), što ukazuje na vremensko kašnjenje (t_{lag}) od 1,08 min. Vrednost odsečka na y-osi (C) povezana je sa prividnom debljinom graničnog sloja fluida, a negativna vrednost ukazuje na prisustvo otpora pri difuziji kroz spoljašnji film, što dodatno usporava proces adsorpcije [201].

Rezultati su pokazali da je kašnjenje u procesu adsorpcije primećeno samo kod uzorka KŠB, što se može povezati sa strukturnim karakteristikama ovog materijala. Uzorak KŠB ima najmanju specifičnu površinu i najmanje razvijenu poroznu stukturu u poređenju sa KBB i KVB, što dovodi do manjeg broja dostupnih mesta za vezivanje, kao i otežanog kretanja molekula boje, što dovodi do kašnjenja u procesu adsorpcije.

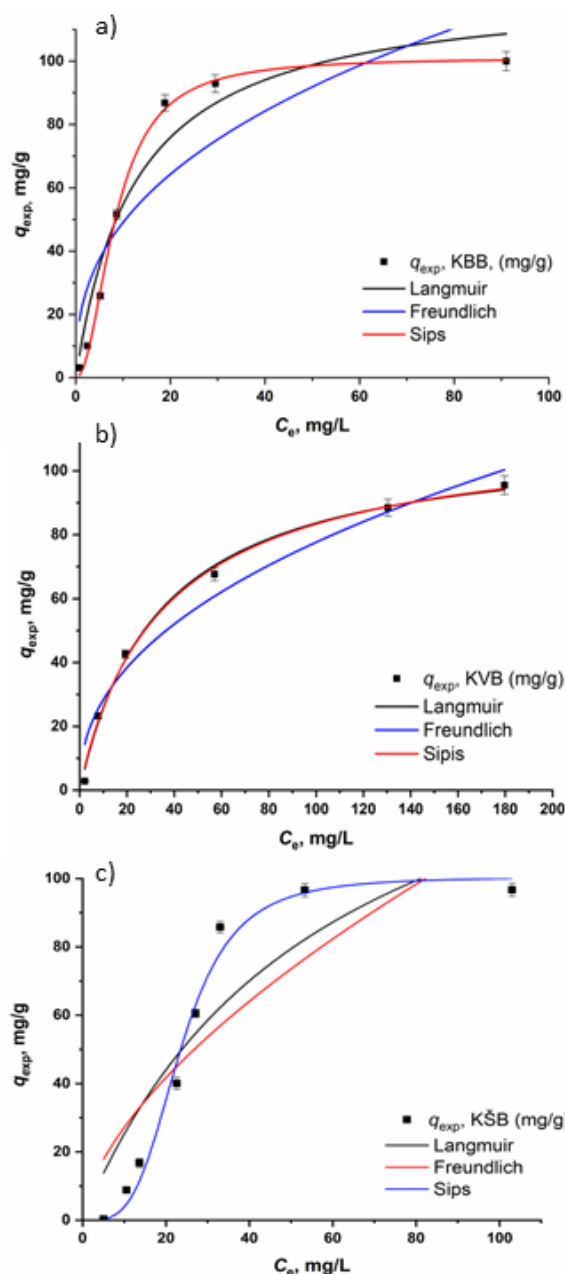
4.2.1.3. Adsorpcione izoterme

Modeli adsorpcionih izotermi primenjuju se za opisivanje ravnoteže vezanog adsorbata na površini adsorbenta i njegove koncentracije u rastvoru. Na Slici 4.16. prikazani su primenjeni modeli adsorpcionih izotermi, koji su opisani u poglavlju 2.6.4., a dobijeni parametri su sumirani u Tabeli 4.3. Koeficijent korelacije (R^2) i vrednosti hi-kvadrata (χ^2) korišćeni su kao kriterijum za određivanje najprikladnijeg modela za opisivanje adsorpcionih izotermi.

Tabela 4.3. Parametri izotermiskih modela za adsorpciju BZ

Model	Parametar	KBB	KVB	KŠB
Langmuir	q_m (mg/g)	123,68	111,61	171,23
	K_L (L/mg)	0,0794	0,0299	0,01730
	R^2	0,9402	0,9942	0,8401
	χ^2	99,75	13,83	295,87
Freundlih	K_F (mg/g) (L/g) ^{1/n}	19,98	10,35	6,54
	1/n	0,3900	0,4375	0,6184
	R^2	0,7733	0,9569	0,7621
	χ^2	378,38	58,51	440,08
Sips	q_m (mg/g)	101,11	114,46	100,38
	K_s (L/g)	0,0126	0,0322	0,000076
	s	2,05	0,960	3,73
	R^2	0,9969	0,9965	0,9803
	χ^2	5,182	8,21	31,52

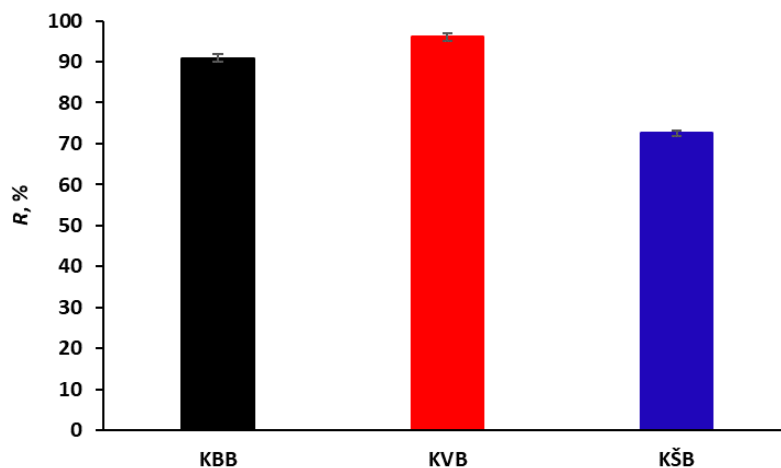
Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 4.3, može se uočiti da primena Freundlihovog modela daje niske vrednosti R^2 i izuzetno visoke vrednosti χ^2 za sva tri ispitivana uzorka, što ukazuje da ovaj model nije adekvatan za opisivanje adsorpcije BZ na ovim uzorcima. S druge strane, Langmuirov model daje više vrednosti R^2 , posebno za uzorke KBB i KVB, dok su vrednosti χ^2 i dalje visoke, što sugerise na određena odstupanja između eksperimentalnih podataka i modelovanih vrednosti. Primenom Sipsovog izotermnog modela dobijeni su najviši R^2 i najniži χ^2 za sva tri uzorka, što ukazuje na najbolje poklapanje ovog modela sa eksperimentalnim podacima adsorpcije BZ na uzorcima KBB, KVB i KŠB. Sipsov model adsorpcije objedinjuje karakteristike Langmuirovog i Freundlihovog modela, pri čemu pri nižim koncentracijama adsorbata prati Freundlihov model, dok se pri višim koncentracijama približava Langmuirovoj monoslojnoj adsorpciji. Ovi rezultati ukazuju da se tokom adsorpcije BZ na biočadi prvo formira monosloj na površini adsorbenta. Međutim, zbog neujednačene raspodele površinske energije, dolazi do složenijih mehanizama vezivanja, što može uključivati formiranje višeslojnih struktura [202]. Faktor heterogenosti s kod Sipsovog modela predstavlja heterogenost površine i obično je manji od 1 kod izrazito heterogenih materijala [23]. Faktor heterogenosti kod KBB iznosi 2,05, za KVB 0,960 i kod 3,73 KŠB, što ukazuje da je površina KVB značajno heterogenija u poređenju sa KBB i KŠB. Ovi rezultati su u skladu sa FTIR-ATR analizom, kojom je utvrđeno da KVB ima više funkcionalnih grupa u poređenju sa KBB i KŠB. Maksimalni kapacitet adsorpcije predviđen Sipsovim modelom za KBB iznosi 101,11 mg/g, za KVB 114,46 mg/g, a za KŠB 100,38 mg/g, što ukazuje da se uzorak KVB pokazao najefikasnije za adsorpciju BZ.



Slika 4.16. Adsorpcione izoterme za BZ na: a) KBB, b) KVB, c) KŠB (klasa II, pH=6 $m/V=2$ g/L, $t=90$ min, $T=35$ °C, $C_i= 50-350$ mg/L)

4.2.1.4. Poređenje dobijenih rezultata

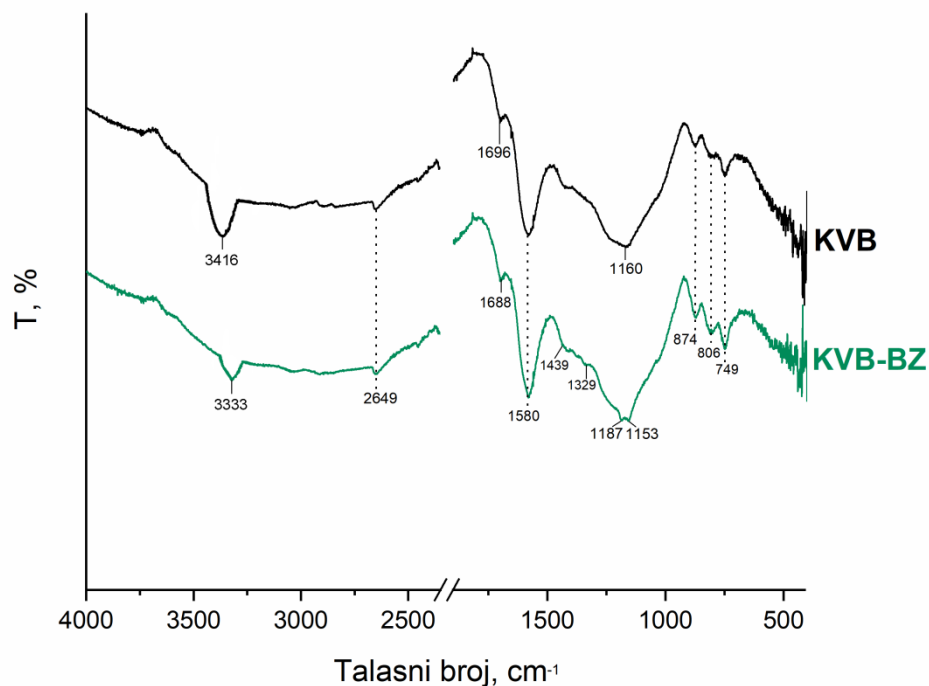
Na osnovu eksperimentalnih podataka, utvrđeno je da su za adsorpciju BZ primenom KBB, KVB i KŠB optimalni sledeći uslovi: veličina čestica Klase II, pH vrednost 6, odnos čvrste i tečne faze 2 g/L, temperatura od 35 °C i početna koncentracija boje od 50 mg/L. Efikasnost uklanjanja BZ pod ovim uslovima prikazana je na Slici 4.17. Uzorak KVB pokazao je najvišu efikasnost uklanjanja, gotovo u potpunosti obezbojivši rastvor sa 94% uklonjene boje. Sledeći po efikasnosti bio je uzorak KBB sa 90%, dok je uzorak KŠB ostvario efikasnost od 72%.



Slika 4.17. Efikasnost uklanjanja BZ primenom KBB, KVB i KŠB (klasa II, pH=6, $m/V=2\text{g/L}$, $t=90$ min, $T=35$ °C, $C_i=50$ mg/L)

Na osnovu dobijenih rezultata, može se zaključiti da su se sva tri uzorka biočađi pokazala kao efikasni adsorbenti za uklanjanje katjonske boje BZ. Međutim, primenom uzorka KVB postignut je najveći adsorpcioni kapacitet (114,46 mg/g), kao i najveća efikasnost uklanjanja (96%). Ovo se može pripisati velikoj specifičnoj površini i najrazvijenijoj mikroporoznoj strukturi, u poređenju sa uzorcima KBB i KŠB, kao i FTIR analizom uzorka KVB, koja je ukazala na značajno prisustvo funkcionalnih grupa poput hidroksilnih, koje poboljšavaju interakciju sa bojom. Ovi rezultati ukazuju da kombinacija visoko razvijene mikroporozne stukture, specifičnih funkcionalnih grupa i bolje dostupnosti aktivnih mesta na površini KVB doprinosi njegovoj većoj adsorpcionoj sposobnosti u odnosu na druge ispitane uzorke.

Kako bi se potvrdila adsorpcija BZ na uzorku KVB urađena je FTIR-ATR analiza, koja je prikazana na Slici 4.18. Detaljna FTIR-ATR analiza uzorka KVB odrađena je u pogavlju 4.1.10. Nakon adsorpcije boje FTIR-ATR spektri pokazuju da kisele funkcionalne grupe KVB-a, kao što su hidroksilne i karboksilne, igraju značajnu ulogu u adsorpciji BZ. Pik na 3416 cm^{-1} , koji se pripisuje hidroksilnim grupama, pomerio se na 3333 cm^{-1} uz smanjenje intenziteta, što ukazuje na interakciju između -OH grupa na površini KVB i N atoma boje BZ [101]. Pik na 1696 cm^{-1} , koji potiče od istezanja C=O grupa karboksilnih kiselina, pomerio se nakon adsorpcije BZ, ukazujući na interakciju boje sa karboksilnom grupom [101]. Izraženi pik na 1160 cm^{-1} , koji se vezuje za vibraciju istezanja C–O fenolnih hidroksilnih grupa na površini biočađi, nakon adsorpcije boje se podelio na dva nova pika na 1187 cm^{-1} i 1153 cm^{-1} , što ukazuje na formiranje vodoničnih veza između C=O grupa BZ i fenolnih -OH grupa na površini KVB-a [144].

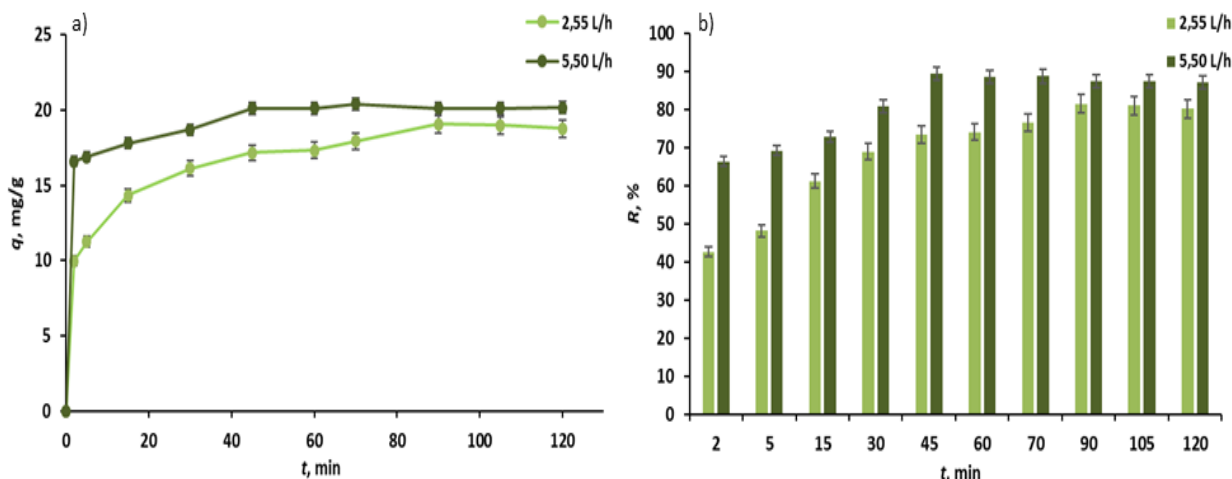


Slika 4.18. FTIR-ATR analiza KVB pre i posle adsorpcije BZ

4.2.2. Adsorpcija u *air-lift* reaktoru

U cilju ispitivanja uticaja različitih tipova mešanja na kinetiku adsorpcije korišćen je *air-lift* reaktor (ALR) sa unutrašnjom cirkulacijom. Eksperimenti su sprovedeni pri protoku vazduha od 2,55 i 5,50 L/h, koji su regulisani vazdušnom pumpom Laboport N 86 KT.1 (Freiburg, Nemačka). Eksperimenti su izvedeni pod optimalnim procesnim parametrima iz šaržnog sistema koji uključuju: uzorak KVB, čestice klase II, pH 6, odnos čvrste i tečne faze 2 g/L, temperatura 35 °C, pri inicijalnoj koncentraciji boje BZ od 50 mg/L. Tokom eksperimenata, uzorci zapremine 2 mL uzimani su u definisanim vremenskim intervalima (0,5, 1, 2, 5, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105 i 120 min) pri čemu je merena njihova apsorbanca, a zatim su vraćani u ALR kako bi se održala stabilnost procesa. Dobijeni eksperimentalni rezultati analizirani su primenom rekcioni modela pseudo-prvog i pseudo-drugog reda, kao i primenom difuzionog Weber-Morriovog modela.

Na Slici 4.19. prikazan je kapacitet adsorpcije i efikasnost uklanjanja BZ u funkciji vremena, pri protoku od 2,55 i 5,50 L/h.



Slika 4.19.: a) kapacitet adsorpcije, b) efikasnost uklanjanja BZ u funkciji vremena pri protoku od 2,55 i 5,50 L/h (klasa II, pH=6, $m/V=2\text{g/L}$, $t=90\text{ min}$, $T=35\text{ }^\circ\text{C}$, $C_i=50\text{ mg/L}$)

Pri protoku vazduha od 5,50 L/h ravnoteža je postignuta za približno 45 min, skoro dva puta brže u poređenju sa nižim protokom (2,55 L/h), što jasno ukazuje na uticaj mešanja na prenos mase. Povećan protok vazduha poboljšava spoljni prenos mase, omogućavajući molekulima BZ da brže dospeju do površine biočadi. Na taj način, primena većeg protoka vazduha od 5,50 L/h pokazala se efikasnijom u uklanjanju BZ. Nakon 5 min kontakta, uzorak KVB uklonio je gotovo 70% boje, dok je pri nižem protoku od 2,55 L/h uklonjeno približno 48%. Ovi rezultati su u skladu sa studijom Ezzi i saradnika [203], koji su takođe pokazali da je brzina uklanjanja polutanta u ALR funkcija režima aeracije. Njihova istraživanja su pokazala da je primenom aktivnog uglja pri protoku vazduha od 7 L/min postignuta efikasnost uklanjanja fenola od 71%, dok je povećanjem protoka na 18 L/min efikasnost porasla na 83%. Veći protok vazduha dovodi do intenzivnije unutrašnje cirkulacije, koja značajno doprinosi ukupnoj brzini adsorpcije, povećavajući prenos mase ka površini biočadi, a potencijalno i unutar njenih pora [204].

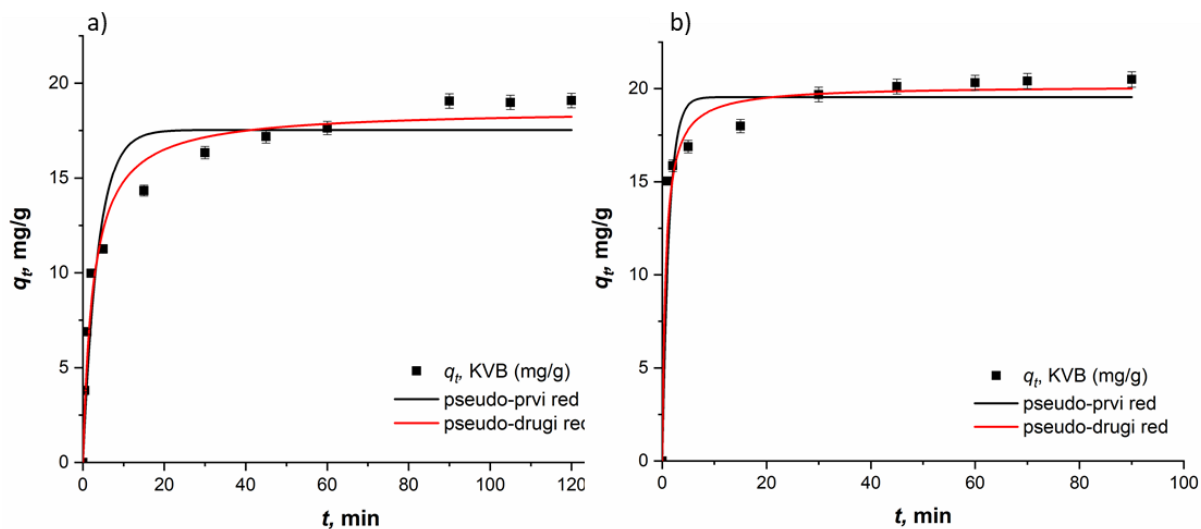
Na Slici 4.20. prikazani su rezultati korelisanja experimentalnih podataka adsorpcije BZ (pri različitim protocima) primenjenim reakcionim modelima, dok su dobijeni parametri navedeni u Tabeli 4.4.

Tabela 4.4. Kinetički parametri adsorpcije BZ primenom KVB pri različitim protocima

Model	Parametar	Protok: 2,55 L/h	Protok: 5,50 L/h
		q_{exp} (mg/g)	19,09
Pseudo-prvi red	q_m (mg/g)	17,53	19,54
	k_1 (1/min)	0,2725	0,7625
	R^2	0,9169	0,9700
	χ^2	3,360	1,4697
	q_m (mg/g)	18,62	20,15
Pseudo-drugi red	k_2 (g/(mg min))	0,0209	0,0752
	R^2	0,9688	0,9892
	χ^2	1,2616	0,5308
Weber-Morrisov model	K_d (mg/(g min ^{1/2}))	9,10	-
	C	-2,57	-
	R^2	0,9904	-

Primenom nižeg protoka vazduha dobijeni su lošiji rezultati statističkih parametra (R^2 i χ^2) u poređenju sa primenom većeg protoka. Primenom većeg protoka vazduha, konstanta k_2 (0,0752 g/(mg min)) je 3,6 puta veća u odnosu na vrednost k_2 (0,0209 g/(mg min)) pri nižem protoku, što

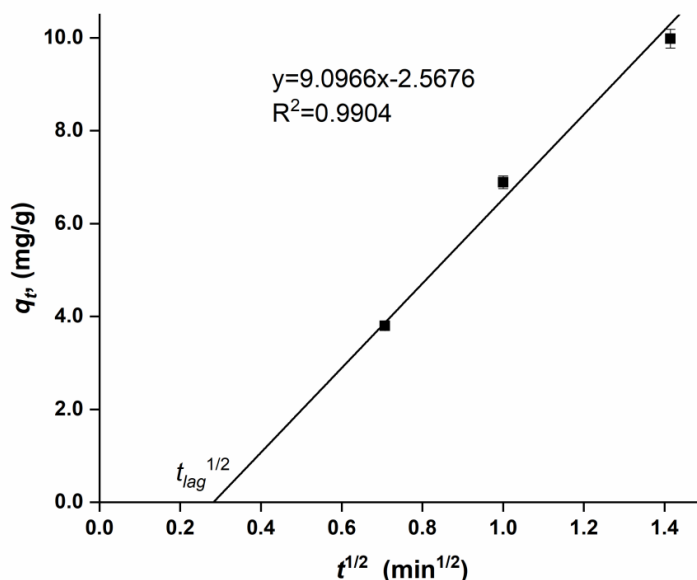
ukazuje na značajno bržu kinetiku adsorpcije BZ. Smanjenje otpora spoljašnjeg prenosa mase, kao i kraći difuzioni put kroz granični film, omogućili su veću brzinu adsorpcije i povećanje ukupne konstante brzine.



Slika 4.20. Kinetički reakcioni modeli adsorpcije BZ primenom KVB pri protoku od: a) 2,55 L/h, b) 5,55 L/h (klasa II, pH=6, $m/V=2$ g/L, $T=35$ °C, $C_i=50$ mg/L)

Na osnovu rezultata prikazanih u Tabeli 4.3. može se zaključiti da su eksperimentalni rezultati bolje korelisani sa modelom pseudo-drugog reda u odnosu na model pseudo-prvog reda. Primenom modela pseudo-drugog reda dobijena je viša vrednost R^2 (0,9892) u poređenju sa vrednošću za pseudo-prvi red (0,9700), kao i niža vrednost χ^2 (0,5308) u odnosu na pseudo-prvi red (1,4697). Pored toga, primenom modela pseudo-drugog reda dobijen je adsorpcioni kapacitet od 20,15 mg/g, što je znatno bliže eksperimentalnom ravnotežnom kapacitetu (20,49 mg/g) u poređenju sa adsorpcionim kapacitetom dobijenim primenom modela pseudo-prvog reda (19,54 mg/g).

Da bi se bolje razumeo korak koji ograničava brzinu adsorpcije, primenjen je Weber-Morrisov model unutarčestične difuzije. Otpor prenosu mase unutar tečnog filma koji okružuje česticu značajan je samo tokom početne faze difuzije. Prihvatanjem pretpostavke da su čestice adsorbenta sfernog oblika, dolazi se do izraza za početnu fazu adsorpcije, kada je odnos $q_t/q_e < 0,4$ [149,200]. Na osnovu toga, Weber-Morrisov model unutarčestične difuzije primenjen je na eksperimentalne podatke za početni period ($q_t/q_e < 0,4$), koji je prikazan na Slici 4.21., dok su parametri modela navedeni u Tabeli 4.3.



Slika 4.21. Primena Weber-Morrisovog modela na adsorpciju BZ na KVB pri protoku od 2,55 L/h u početnom periodu ($q_t/q_e < 0,4$, klasa II, pH=6, $m/V=2\text{g/L}$, $T=35\text{ }^\circ\text{C}$, $C_i=50\text{ mg/L}$)

Eksperimentalni podaci korelisani Weber-Morrisovim modelom, pri protoku vazduha od 2,55 L/h, pokazali su pravolinijsku zavisnost sa negativnim presekom na y-osi ($C = -2,57\text{ mg/g}$) i pozitivnim presekom na x-osi ($t_{lag}^{1/2} = 0,282\text{ min}^{1/2}$), što ukazuje na kašnjenje od 0,08 min. Negativna vrednost C ukazuje na uticaj otpora difuzije kroz spoljašnji film, koji zajedno sa unutarčestičnom difuzijom ograničava brzinu adsorpcije, zbog čega se adsorpcija odlaže za manje od 5 sekundi. Ovi rezultati su u skladu sa nalazima Zhu i saradnika [205], koji su takođe zabeležili negativnu vrednost C i odloženu adsorpciju prilikom adsorpcije piridina na polimerne adsorbente.

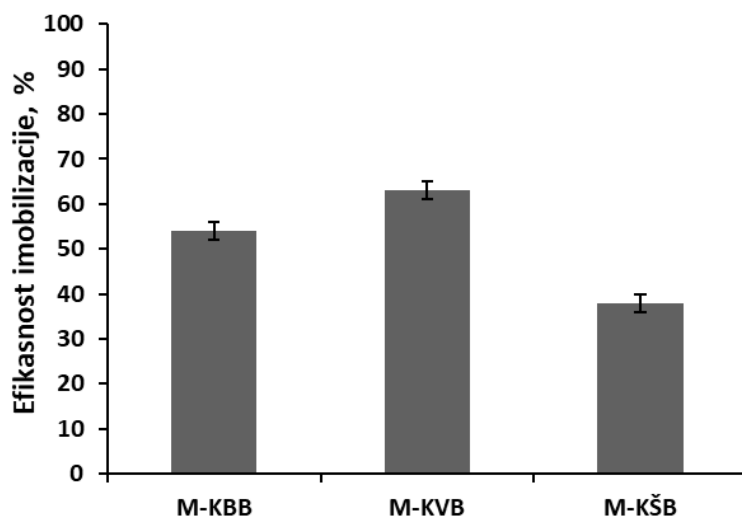
Primenom većeg protoka vazduha od 5,50 L/h, proces adsorpcije bio je kinetički kontrolisan, a ne difuzijom. Veći protok vazduha izazvao je intenzivnije mešanje, što je značajno smanjilo debljinu graničnog sloja adsorbata, kao i otpor prenosu mase kroz tečni film oko čestica adsorbenta. Na taj način, vreme koje molekuli boje provode na površini adsorbenta je skraćeno, čime se smanjuje i ukupno vreme potrebno za difuziju [206]. Predpostavlja se da je difuzija kroz film bila toliko brza da nije bilo moguće registrovati je tokom eksperimentalnih merenja, s obzirom na to da je prva tačka uzorkovanja izmerena nakon 1 min, kada je q_t/q_e već bilo veći od 0,4 te samim tim i početna faza već bila završena.

U poređenju sa šaržnim sistemom, gde je primenom KVB postignuta efikasnost uklanjanja od 94% za 90 min, u ALR sistemu je zabeležena neznatno manja efikasnost uklanjanja od 90%, ali za duplo kraće vreme. Primenom odgovarajućeg protoka vazduha u ALR-u smanjuje se uticaj graničnog sloja tečnosti i otpor prenosu mase, što poboljšava konvektivni prenos mase i olakšava transport molekula boje do aktivnih mesta adsorpcije, kao što je i pokazano smanjenim tranzicionim vremenom u ALR u odnosu na šaržni sistem. Dobijeni rezultati ukazuju da ALR ima značajan potencijal u adsorpcionim procesima, omogućavajući efikasno uklanjanje boje u kraćem vremenskom periodu, uz smanjenje energetskih troškova.

4.3. Primena biočadi kao nosača za enzime

Za imobilizaciju lakaze korišćeni su KBB, KVB i KŠB modifikovani kiselinama prema postupku opisanom u poglavlju 3.6.1., čime su dobijeni uzorci M-KBB, M-KVB i M-KŠB. Efikasnost imobilizacije na modifikovanim uzorcima prikazana je na Slici 4.22. Uzorak M-KBB pokazao je efikasnost imobilizacije od 54%, M-KVB od 62%, dok je kod uzorka M-KŠB zabeležena najniža efikasnost, od samo 34%. Uzorak M-KVB pokazao je najveću efikasnost za imobilizaciju lakaze, verovatno zbog svoje poroznije strukture i prisustva većeg broja hidroksilnih

grupa u poređenju sa M-KBB i M-KŠB. Na osnovu ovih rezultata, za dalja istraživanja izabran je uzorak M-KVB kao najpogodniji nosač.



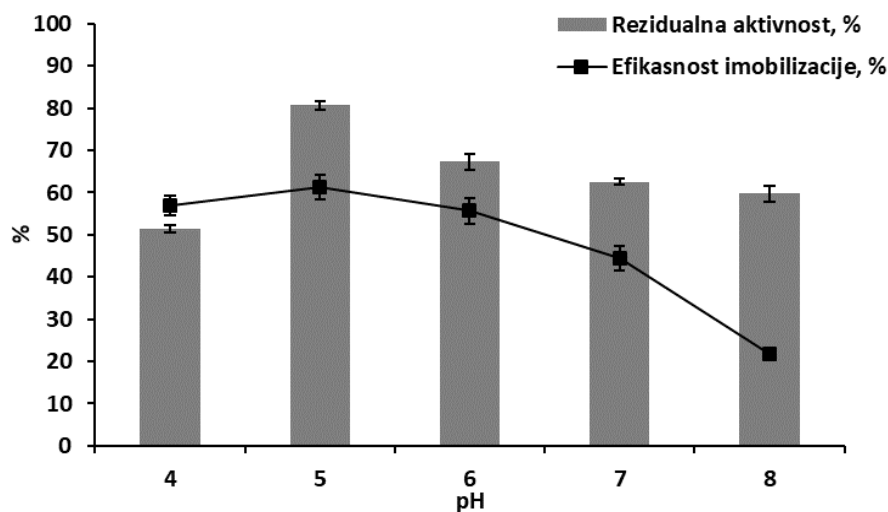
Slika 4.22. Efikasnost imobilizacije lakaze na različitim biočadima ($m/V=20$ g/L, pH=6, $t=3,5$ h, $T=25$ °C)

4.3.1. Uticaj procesnih parametara na imobilizaciju lakaze na biočadi

Ispitivanje procesnih parametara je od suštinskog značaja za optimizaciju imobilizacije i postizanje visokog prinosa imobilisanog enzima sa očuvanom katalitičkom aktivnošću. Procesni parametri direktno utiču na efikasnost imobilizacije, stabilnost enzima i njegovu ponovnu upotrebu. Pored toga, optimizacija procesnih parametara doprinosi ekonomskoj isplativosti i održivosti imobilizacije.

Uticaj pH na imobilizaciju lakaze

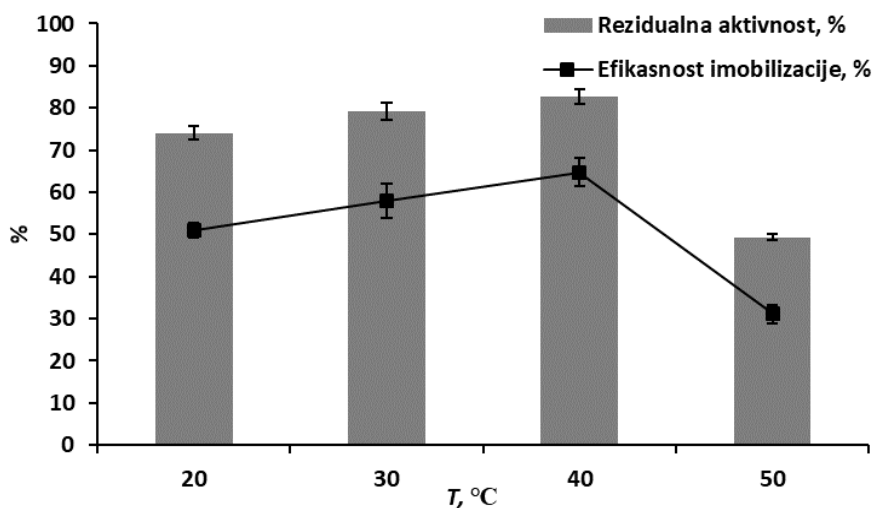
Imajući u vidu da pH vrednost utiče kako na strukturu i konformaciju enzima, tako i na naelektrisanje nosača i funkcionalne grupe enzima, optimizacija pH uslova predstavlja ključni korak za postizanje efikasne imobilizacije [207]. Uticaj pH vrednosti na imobilizaciju lakaze na uzorku M-KVB prikazan je na Slici 4.23. Rezultati pokazuju da rezidualna aktivnost i efikasnost imobilizacije prate isti trend promene u zavisnosti od pH vrednosti. Maksimalna vrednost rezidualne aktivnosti i efikasnosti imobilizacije postignuta je pri pH 5,0, pri čemu je rezidualna aktivnost iznosila 81%, a efikasnost imobilizacije 61%. Dalje povećanje pH vrednosti dovelo je do smanjenja oba parametra, zbog čega se pH 5,0 smatra kao optimalana vrednost za imobilizaciju lakaze na M-KVB. Al-Sareji i saradnici [132], su takođe dokazali da je pH 5,0 optimalna vrednost za imobilizaciju lakaze iz *T. versicolor* na aktivnom uglju kokosove ljuske aktiviranom kiselinama.



Slika 4.23. Uticaj pH na rezidualnu aktivnost i efikasnost imobilizacije lakaze na M-KVB ($m/V=20$ g/L, $t=3,5$ h, $T=25$ °C)

Uticaj temperature na imobilizaciju lakaze

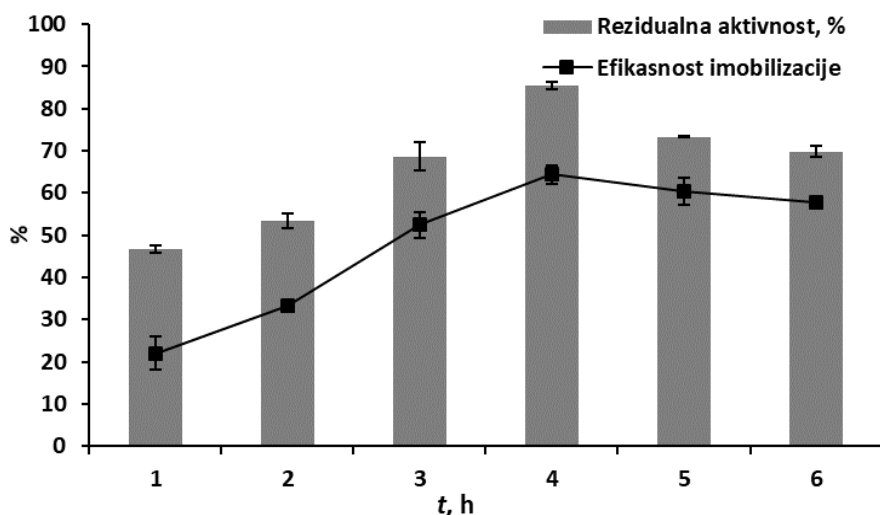
S obzirom na to da su enzimi osetljivi na promenu temperature i aktivni samo u određenim temperaturnim opsezima, ispitivanje uticaja temperature predstavlja jedan od ključnih faktora za uspešnu imobilizaciju. Na Slici 4.24. prikazana je rezidualna aktivnost i efikasnost imobilizacije lakaze na M-KVB u zavisnosti od temperature. Sa porastom temperature, oba parametra se povećavaju, dostižući maksimalne vrednosti na 40 °C, kada rezidualna aktivnost iznosi skoro 83%, a efikasnost imobilizacije 64%. Ova temperatura se smatra optimalnom jer predstavlja ravnotežu između povećane molekularne pokretljivosti i enzimatske aktivnosti, čime se poboljšavaju interakcije između lakaze i biočadi kao nosača. Međutim, daljim povećanjem temperature na 50 °C dolazi do smanjenja i rezidualne aktivnosti i efikasnosti imobilizacije, što se može pripisati termičkoj denaturaciji enzima, koja dovodi do gubitka njegove strukture i funkcije. Dobijeni rezultati su u skladu sa istraživanjem Taharena i saradnika koji su pokazali da je temperatura od 40 °C optimalna za imobilizaciju lakaze iz *T. versicolor* na poliakrilonitril biočadi [208].



Slika 4.24. Uticaj temperature na rezidualnu aktivnost i efikasnost imobilizacije lakaz na M-KVB ($m/V=20$ g/L, pH=5, $t=3,5$ h)

Uticaj kontaktnog vremena na imobilizaciju lakaze

Slika 4.25. prikazuje uticaj vremena kontakta na imobilizaciju lakaze na M-KVB. Rezidualna aktivnost i efikasnost imobilizacije postepeno rastu sa vremenom imobilizacije od 1 do 4 h, kada dostižu svoje maksimalne vrednosti od 85% i 66%, respektivno. Daljim povećanjem kontaktnog vremena dolazi do smanjenja oba parametra, pri čemu su najniže vrednosti rezidualne aktivnosti (69%) i efikasnosti imobilizacije (57%) zabeležene pri najdužem vremenu kontakta. Ovi rezultati ukazuju da produženo vreme imobilizacije ne dovodi do postizanja maksimalne efikasnosti. Duže vreme imobilizacije može izazvati ispiranja enzima ili njegovo odvajanje od nosača usled mehaničkih sila, zbog čega je važno obezbediti brzu imobilizaciju lakaze na biočadi [7].



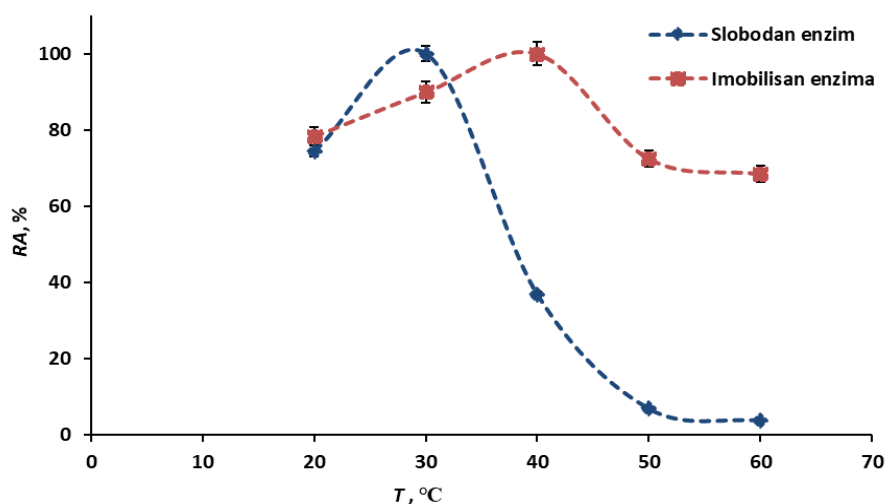
Slika 4.25. Uticaj kontaktnog vremena na rezidualnu aktivnost i efikasnost imobilizacije lakaz na M-KVB ($m/V=20$ g/L, $pH=5$, $T=40$ °C)

4.3.2. Karakterizacija slobodne i imobilisane lakaze

Lakaza iz *T. versicolor*, koja je korišćena u eksperimentalnom delu istraživanja, jedna je od najčešće proučavanih lakaza zbog svoje visoke katalitičke efikasnosti i širokog spektra primene. U ovom istraživanju analiziran je uticaj pH vrednosti rastvora i temperature na aktivnost slobodne i imobilisane lakaze.

4.3.2.1. Temeprturni optimum slobodne i imobilisane lakaze

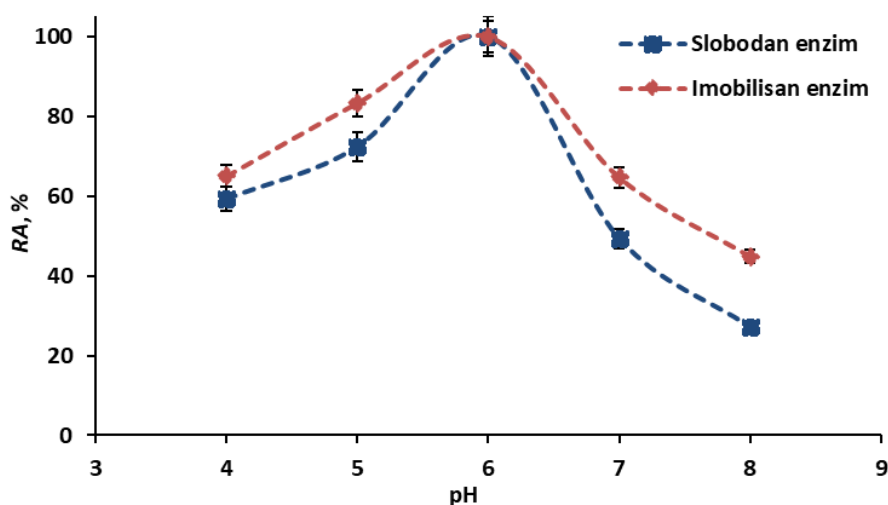
Temperatura ima značajan uticaj na aktivnost enzima, jer može izazvati promene u njegovoj strukturi. Uticaj temperature na aktivnost slobodne i imobilisane lakaze prikazan je na Slici 4.26. Imobilisana lakaza pokazala je veću aktivnost u odnosu na slobodnu lakazu, što sugerise da je proces imobilizacija očuvao aktivnost enzima. Pored toga, temperaturni profil imobilisane lakaze ima širu optimalnu oblast u poređenju sa slobodnim enzimom. Optimalna temperatura za slobodnu lakazu iznosi 30 °C, dok je za imobilisanu lakazu 40 °C, što ukazuje na povećanu otpornost enzima na više temperature nakon imobilizacije. Ove promene su posledica konformacionih i hemijskih promena lakaze usled imobilizacije na biočadi [209].



Slika 4.26. Uticaj Temperature na aktivnost slobodnog i imobilisanog enzima

4.3.2.2. pH optimum slobodne i imobilisane lakaze

Pored temperature, pH vrednost rastvora predstavlja ključni faktor koji utiče na enzimsku aktivnost. Na Slici 4.27. prikazan je profil aktivnosti slobodne i lakaze imobilisane na M-KVB. Imobilisana lakaza pokazuje nešto višu relativnu aktivnost u celom ispitivanom pH opsegu, pri čemu je optimalna pH vrednost i za slobodnu i za imobilisanu lakazu na pH 6.



Slika 4.27. Uticaj pH na aktivnost slobodnog i imobilisanog enzima

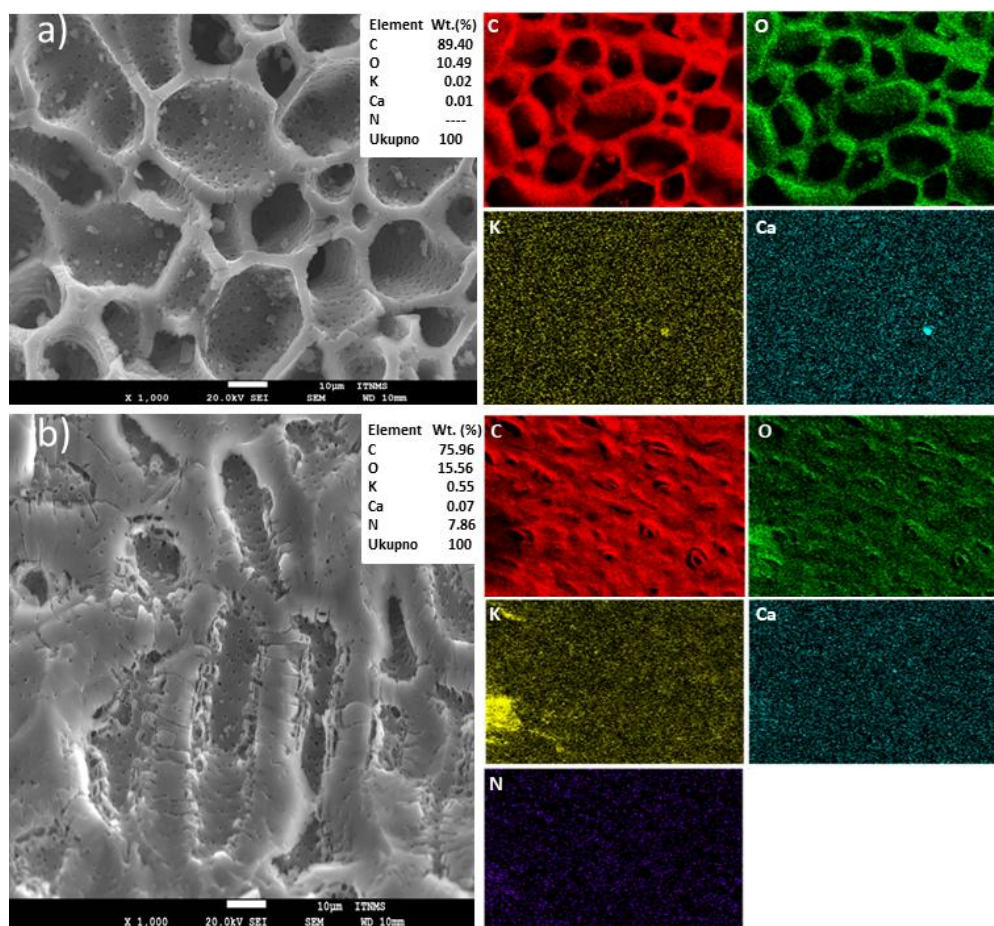
4.3.2.3. Karakterizacija imobilisane lakaze na biočadi

Lakaza imobilisana na modifikovanoj biočadi (LM-KVB) karakterisana je primenom SEM, EDX i FTIR analizom kako bi se utvrdile morfološke promene, elementarna kompozicija i hemijske interakcije između enzima i nosača.

Na Slici 4.28. prikazana je SEM-EDX analiza modifikovane biočadi pre i posle vezivanja enzima. SEM analiza nativnog uzorka KVB, opisana u poglavlju 4.1, otkrila je poroznu strukturu sa porama različitih veličina, pri čemu su manje pore raspoređene unutar većih. Nakon modifikacije kiselinama, površina je postala heterogenija, sa dubljim porama (Slika 4.28.a), što se pripisuje uklanjanju nečistoća iz pora delovanjem kiselina. SEM morfologija imobilisane lakaze na

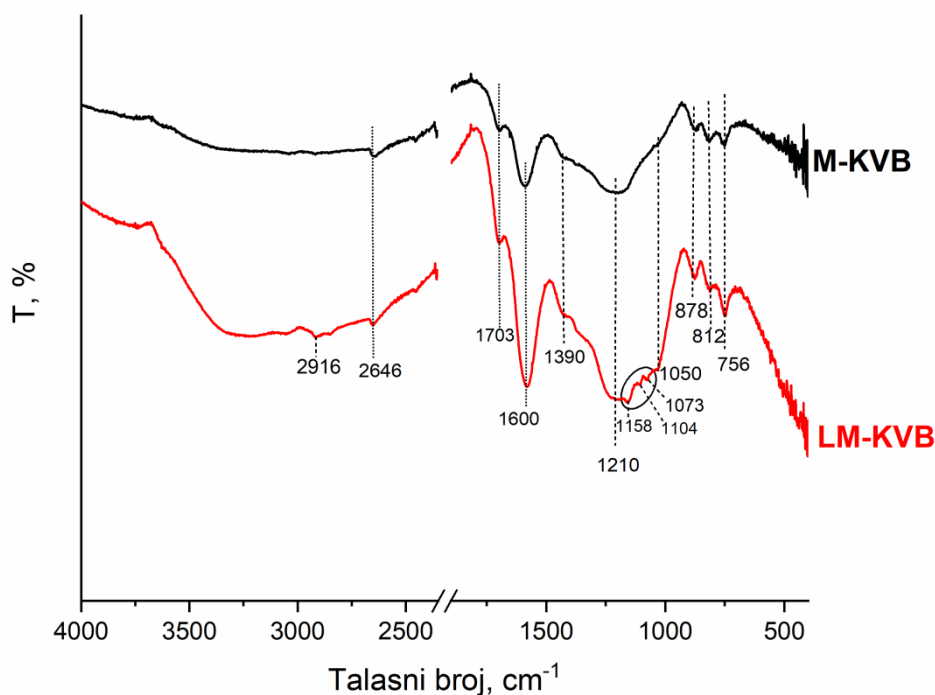
modifikovanoj biočadi, LM-KVB (Slika 4.28b), nije pokazala značajne promene u topografiji površine, što se verovatno može pripisati relativno maloj veličini proteina lakaze (60-90 kDa), koja odgovara dimenzijama čestica manjim od 5 nm. Takve dimenzije je teško detektovati mikroskopskim analizama sa uvećanjem od 1 μm [210,211]. Ipak, nakon imobilizacije lakaze, površina LM-KVB deluje glatkije, što se može pripisati formiranju enzimske prevlake na površini biočadi.

EDX analizom je potvrđeno uspešno vezivanje lakaze na površinu biočadi, zbog značajnog porasta količine azota (7,86%) koji nije registovan kod uzoraka KVB i M-KVB. Detektovan azot verovatno potiče od aminokiselinskih ostataka enzima [108].



Slika 4.28. SEM i EDX analiza: a) pre imobilizacije lakaze (M-KVB), b) posle imobilizacije lakaze (LM-KVB)

Imobilizacija lakaze na biočadi takođe je analizirana FTIR-ATR tehnikom koja je prikazana na Slici 4.29. Detaljna karakterizacija FTIR-ATR spektra nemodifikovane biočadi (KVB) već je opisana u poglavlju 4.1. Nakon modifikacije kiselinama, u spektru M-KVB pojavila su se dva nova pika: na 2646 cm^{-1} , koji ukazuje na prisustvo alifatičnih ($-\text{CH}_n$) grupa, i na 1050 cm^{-1} , koji se pripisuje istezanju $\text{S}=\text{O}$ veze u $-\text{SO}_3\text{H}$ grupi [92]. Sve ostale funkcionalne grupe, uključujući karbonilne grupe (pikovi na 1703 cm^{-1} i 1600 cm^{-1}), hidroksilne i etarske veze (pikovi na 1390 cm^{-1} i 1210 cm^{-1}), kao i aromatske C-H vibracije ($756\text{--}878\text{ cm}^{-1}$), ostale su nepromenjene i prisutne i u uzorcima M-KVB i LM-KVB. Nakon imobilizacije lakaze (LM-KVB), intenzitet pika na 1600 cm^{-1} se povećao, što se može pripisati dodatnim karbonilnim grupama enzima [212]. Pored toga, pojava tripleta na 1116 , 1104 i 1080 cm^{-1} nakon vezivanja enzima ukazuje na prisustvo proteina lakaze [213]. Ovi rezultati su u skladu sa EDX analizom, koja je potvrdila prisustvo azota poreklom iz proteinske strukture enzima.



Slika 4.29. FTIR-ATR analiza pre (M-KVB) i posle imobilizacije lakaze (LM-KVB)

4.3.3. Razgradnja boje primenom imobilisane lakaze na biočadi

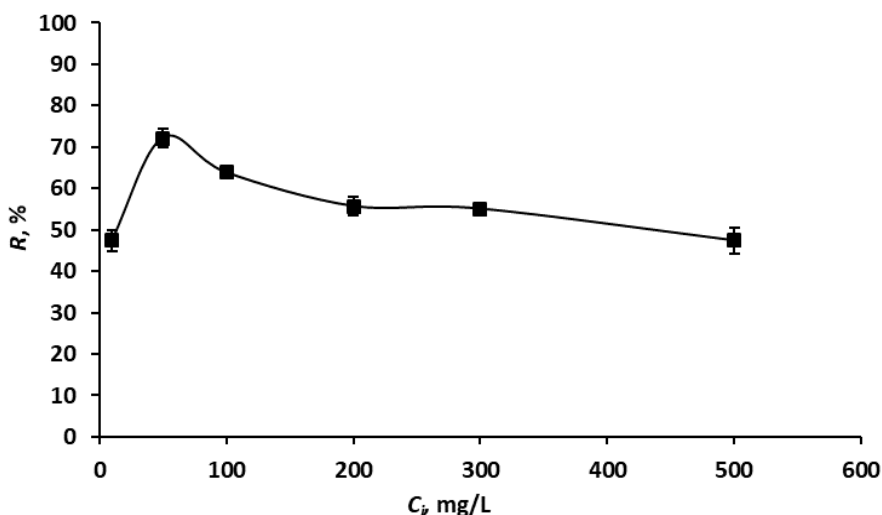
4.3.3.1. Razgradnja boje u šaržnom sistemu

Nakon optimizacije procesa imobilizacije lakaze na M-KVB, ispitivana je oksidativna sposobnost imobilisanog enzima za razgradnju toksične boje BZ. Kako bi se postigla efikasna razgradnja boje i optimizovao proces degradacije, analizirani su ključni procesni parametri.

4.3.3.1.1. Ispitivanje procesnih parametara

Uticaj početne koncentracije boje

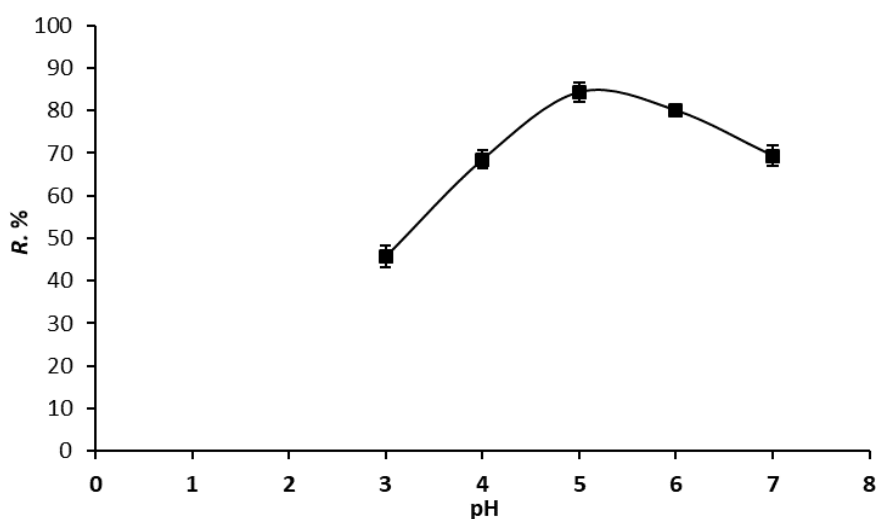
Efikasnost uklanjanja BZ primenom imobilisane lakaze na biočadi ispitivana je pri različitim početnim koncentracijama boje, u rasponu od 10 do 500 mg/L, a rezultati su prikazani na Slici 4.30. Pri najnižoj ispitivanoj koncentraciji od 10 mg/L, efikasnost uklanjanja boje bila je najniža, verovatno zbog nedovoljne količine supstrata potrebne za maksimalnu katalitičku aktivnost enzima. Maksimalna efikasnost uklanjanja BZ primenom LM-KVB postignuta je pri koncentraciji od 50 mg/L i iznosila je 75%. Dalje povećanje početne koncentracije boje dovelo je do smanjenja efikasnosti razgradnje, što se može objasniti inhibicijom supstrata i/ili ograničenom dostupnošću aktivnih mesta enzima, što je rezultiralo smanjenom razgradnjom boje. Sličan trend su primetili Tahkur i saradnici [214] koji su koristili lakazu imobilisanu u alginatu za uklanjanje boje metil narandžaste.



Slika 4.30. Uticaj početne koncentracije boje na razgradnju BZ primenom LM-KVB ($m/V=20$ g/L, pH 6, $t=3$ h, $T=25$ °C)

Uticaj pH

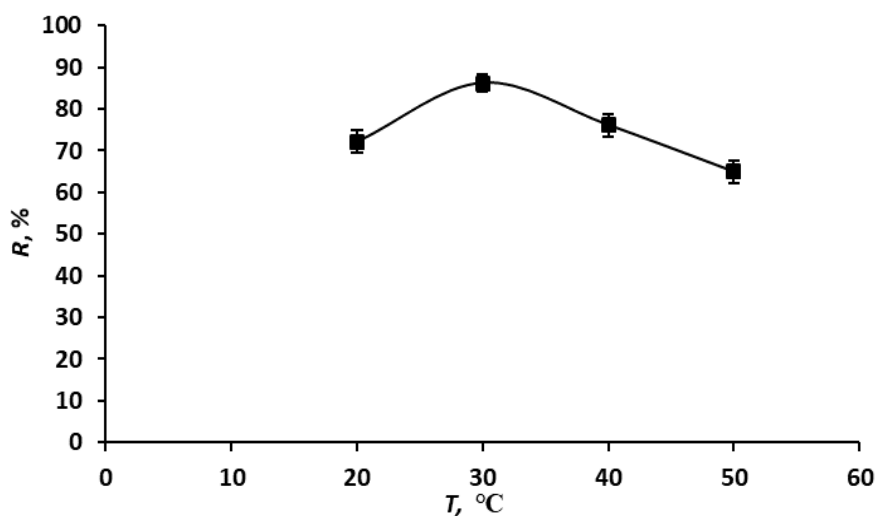
pH vrednost rastvora u procesu enzimske razgradnje boje igra ključnu ulogu jer utiče i na naelektrisanje enzima i na naelektrisanje molekula boje, čime se određuje intenzitet njihovih međusobnih interakcija. Ekstremno niske ili visoke pH vrednosti mogu inhibirati enzimsku aktivnost, dok se optimalni pH za razgradnju boje obično nalazi u neutralnom ili blago kiselom opsegu [215]. Na Slici 4.31. prikazan je uticaj pH vrednosti u rasponu od 3 do 7 na efikasnost uklanjanja BZ primenom LM-KVB. Povećanjem pH vrednosti sa 3 na 5 beleži se porast efikasnosti uklanjanja, nakon čega dolazi do njenog postepenog opadanja sa daljim povećanjem pH. Niska efikasnost uklanjanja BZ pri pH 3, od svega 45%, može se objasniti promenama u strukturi lanaca aminokiselina enzima usled izuzetno kisele sredine, što je dovelo do narušavanja njegove konformacije i smanjenja katalitičke aktivnosti. Maksimalna efikasnost uklanjanja zabeležena je pri pH 5, gde je dostigla efikasnost uklanjanja od skoro 85%. Pri pH vrednosti 6 primećeno je blago smanjenje efikasnosti na 80%, što se može pripisati delimičnom gubitku aktivnosti enzima usled promene jonskog oblika aktivnog mesta pod suboptimalnim pH uslovima [7]. Alsaieri i saradnici [216] su takođe dokazali da je pH 5 optimalna vrednost za razgradnju boje direktno crvene 23 primenom imobilisane lakaze iz *T. versicolor* na magnetnim nanočesticama.



Slika 4.31. Uticaj pH na razgradnju BZ primenom LM-KVB ($m/V=20$ g/L, $t=3$ h, $T=25$ °C, $C_i=50$ mg/L)

Uticaj temperature

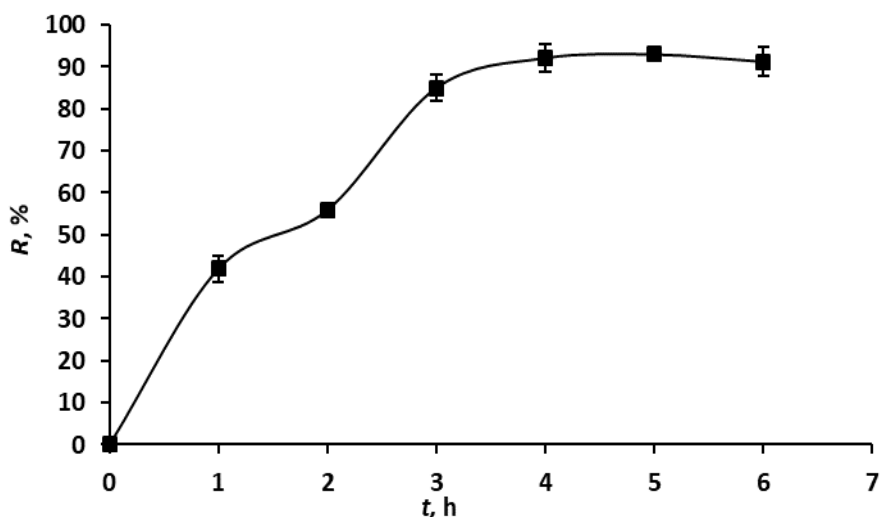
Temperatura ima značajnu ulogu u enzimskoj razgradnji boje. Ekstremne temperature mogu ometati enzimsku aktivnost, zbog čega je ključno odrediti optimalnu temperaturu koja omogućava postizanje maksimalne efikasnosti uklanjanja. Efikasnost uklanjanja BZ primenom LM-KVB ispitivana je u temperaturnom opsegu od 20 do 50 °C, a rezultati su prikazani na Slici 4.32. Efikasnost uklanjanja BZ povećala se sa porastom temperature sa 20 na 30 °C, pri čemu je maksimalna efikasnost iznosila 87% na 30 °C. Međutim, dalji porast temperature doveo je do smanjenja efikasnosti uklanjanja boje. Na temperaturi od 50 °C, efikasnost uklanjanja smanjila se za oko 20% u odnosu na maksimalnu vrednost. Temperature iznad optimalne, negativno su uticale na razgradnju BZ primenom imobilisane lakaze, verovatno zbog promena u konformacionoj strukturi lakaze izazvane termičkom denaturacijom, što je dovelo do smanjene efikasnosti uklanjanja boje [217].



Slika 4.32. Uticaj temperature na razgradnju BZ primenom LM-KVB (pH=5, $m/V=20$ g/L, $t=3$ h, $C_i=50$ mg/L)

Uticaj kontaktnog vremena

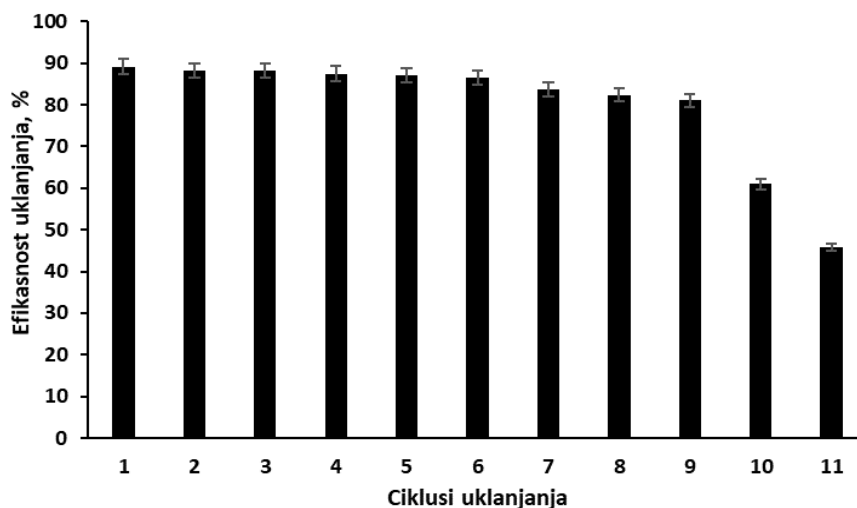
Uticaj kontaktnog vremena na efikasnost uklanjanja boje primenom imobilisanog enzima je važan faktor koji utiče na brzinu i stepen razgradnje boje. Na Slici 4.33. prikazana je efikasnost uklanjanja BZ primenom LM-KVB u vremenskom intervalu od 1 do 6 sati. Nakon prvog sata, uklonjeno je samo 43% boje, dok se daljim povećanjem vremena efikasnost uklanjanja postepeno povećavala. Maksimalna efikasnost uklanjanja postignuta je tokom četvrtog sata, kada je razgrađeno 93% boje. Visoka vrednost efikasnosti uklanjanja ukazuje da LM-KVB pokazuje značajan kapacitet za razgradnju toksičnih boja.



Slika 4.33. Uticaj vremena na razgradnju BZ primenom LM-KVB ($\text{pH}=5$, $m/V=20$ g/L, $T=30$ °C, $C_i=50$ mg/L)

4.3.3.1.2. Ponovna upotreba imobilisane lakaze

Nakon razgradnje boje pomoću imobilisane lakaze, ispitana je mogućnost njene uzastopne ponovne upotrebe, što je prikazano na Slici 4.34. Svaki ciklus ponovne upotrebe izveden je pri početnoj koncentraciji boje od 50 mg/L, pH 5, temperaturi od 30 °C i trajanju od 3 h, kako bi se obezbedila ekonomičnost procesa. Mogućnost ponovne upotrebe enzima ima ključnu ulogu u minimiziranju ukupnih troškova tretmana, smanjenju enzimskog otpada i povećanju njegove industrijske primenljivosti.



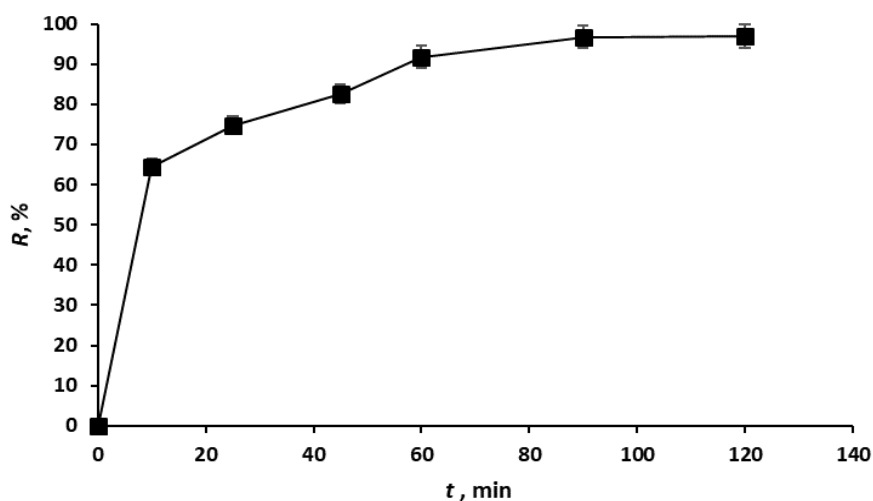
Slika 4.34. Ispitivanje ponovne upotrebe LM-KVB za razgradnju BZ ($\text{pH}=5$, $m/V=20$ g/L, $t=3$ h, $T=30$ °C, $C_i=50$ mg/L)

Prema rezultatima prikazanim na Slici 4.34., imobilisana lakaza može efikasno da se ponovo upotrebi za razgradnju BZ. Nakon prvog ciklusa, efikasnost uklanjanja boje bila je najviša, iznoseći 89%. Međutim, sa svakim sledećim ciklusom efikasnost je postepeno opadala, a na kraju 11. ciklusa iznosila je samo 45%, što je otprilike upola manje u odnosu na prvi ciklus. Značajno smanjenje aktivnosti enzima može biti povezano sa inhibicijom enzima reakcijskim produktima [218]. S obzirom na to da je nakon 9. ciklusa efikasnost uklanjanja boje ostala veća od 81%, smatra se da je 9 ciklusa optimalno za ponovnu upotrebu imobilisane lakaze za razgradnju BZ. Alsaiari i saradnici [216] su pokazali da se lakaza poreklom iz *T. versicolor*, imobilisana na magnetnim nanočesticama,

može uspešno koristiti u 6 uzastopnih ciklusa za razgradnju boje direktno crvena 23. Slično tome, Amari i saradnici [219] su objavili da se ista lakaza, kada je imobilisana na magnetnom metal-organskom nosaču, može primeniti u 5 uzastopnih ciklusa razgradnje reaktivno crne 5 i alizarsko crvene S boje. U poređenju s ovim studijama, lakaza imobilisana na biočadi pokazala je veću operativnu stabilnost, zadržavajući aktivnost u čak 9 uzastopnih ciklusa. Ovi rezultati ukazuju da biočad predstavlja efikasan i stabilan nosač za imobilizaciju lakaze, što je čini pogodnom za višekratnu upotrebu u tretmanu kontaminiranih voda, kao i potencijalnu primenu u industrijskim postrojenjima.

4.3.3.2. Razradnja boje u *air-lift* reaktoru

Na osnovu utvrđenih procesnih parametara iz šaržnog sistema, razgradnja BZ primenom LM-KVB ispitana je u ALR kako bi se ispitalo uticaj mešanja na brzinu razgradnje boje. Eksperiment je izveden pri početnoj koncentraciji boje od 50 mg/L, pH 5 i temperaturi od 30 °C. Efikasnost uklanjanja BZ u funkciji vremena prikazana je na Slici 4.35. Kao što se može videti, u prvih 15 min uklonjeno je čak 65% boje, dok je nakon 90 min rastvor bio gotovo potpuno obezbojen, pri čemu je efikasnost uklanjanja dostigla 98%.



Slika 4.35. Efikasnost uklanjanja BZ primenom LM-KVB u ALR (pH=5, $m/V=20$ g/L, $t=3$ h, $T=30$ °C, $C_i=50$ mg/L)

U poređenju sa šaržnim sistemom, gde se na rotacionom šejkeru pri 200 obrt/min ukloni 93% boje za 4 h, u *air-lift* reaktoru postignuta je veća efikasnost za 2,5 puta kraće vreme. Poboľšana kinetika razgradnje može se objasniti većom dostupnošću kiseonika i intenzivnijim mešanjem, što pospešuje kontakt između imobilisane lakaze i molekula boje [220]. Aeracija u ALR-u omogućava efikasan prenos kiseonika kroz rastvor, što je ključno za oksidativni katalitički mehanizam lakaze. Istovremeno, kruženje fluida u ovom sistemu smanjuje difuzioni otpor prenosu mase, čime se omogućava brži transport molekula boje do aktivnih mesta enzima. Kombinacija poboljšanog prenosa mase i efikasnije dostupnosti kiseonika doprinosi značajnom ubrzanju reakcije razgradnje boje u poređenju sa šaržnim sistemom.

4.4. Razvoj modela za predviđanje adsorpcionih kapaciteta pomoću veštačke neuronske mreže

Za efikasnu adsorpciju različitih polutanata primenom biočađi, ključno je unapred predvideti adsorpcioni kapacitet, odnosno sposobnost uklanjanja polutanata pomoću odgovarajućih modela, kako bi se smanjila potreba za eksperimentalnim radom, kao i upotreba hemikalija i samih polutanata. U poslednje vreme se za ove potrebe ANN izdvaja kao pouzdan alat, jer omogućavaju razvoj i obučavanje mreže iz bilo kog eksperimentalnog skupa, čime se prevazilaze nelinearni i višedimenzionalni funkcionalni odnosi [221].

Primarni cilj primene ANN u ovom istraživanju je razvoj modela koji omogućava pouzdano predviđanje adsorpcionog kapaciteta proizvedenih biočađi prema katjonskim bojama, a kao ulazne promenljive korišćeni su podaci o karakteristikama biočađi, procesni parametri adsorpcije, kao i osnovne karakteristike boja BZ, MZ i KLj.

Karakteristike proizvedenih biočađi prikazane su u Tabeli 4.1., karakteristike boja u Tabeli 3.2., a procesni parametri adsorpcije u poglavlju 4.2.

4.4.1. Razvoj modela za predviđanje adsorpcionog kapaciteta za uklanjanje BZ i MZ

U ovom poglavlju je opisan razvoj modela za predviđanje adsorpcionog kapaciteta proizvedenih biočađi (KBB, KVB i KŠB) prema bojama BZ i MZ. Ispitivane boje pripadaju istoj klasi katjonskih (baznih) boja i poseduju pozitivno naelektrisanje u vodenom rastvoru, što omogućava elektrostatičku interakciju sa površinom negativno naelektrisanih adsorbenata poput biočađi. Međutim, uprkos pripadnosti istoj grupi, ove boje se razlikuju po molekulskoj masi, rastvorljivosti u vodi, strukturi i prisustvu funkcionalnih grupa, što može uticati na kinetiku i mehanizam adsorpcije.

Za uspešno predviđanje adsorpcionog kapaciteta biočađi prema ispitivanim bojama, od suštinske je važnosti pažljivo odabrati ulazne promenljive modela, koje u ovom istraživanju obuhvata: karakteristike biočađi (podaci iz proksimativne analize, elementarne organske analize, sadržaja neorganskih elemenata, prinosa biočađi, pH_{sus} , pH_{pzc} , zeta potencijal, SA i S_{mic}), procesne parametre adsorpcije (d , pH , m/V , t , T i C_i), kao i karakteristike boja (molarnu masu M_r i rastvorljivost u vodi na sobnoj temperaturi R).

Statistički pokazatelji adsorpcionih kapaciteta za boje BZ i MZ primenom biočađi, kao i njihove ukupne vrednosti prikazani su u Tabeli 4.5.

Tabela 4.5. Statistički pokazatelji adsorpcionih kapaciteta biočađi prema BZ i MZ

Biočad	<i>q</i> za BZ, (mg/g)				<i>q</i> za MZ, (mg/g)			
	Sr. vr.	St. dev.	Max	Min	Sr. vr.	St. dev.	Max	Min
KBB	32,3959	26,5594	101,1100	3,1335	30,5130	29,3635	116,1450	3,9959
KVB	29,4943	26,6007	114,4600	2,8058	26,5374	31,1547	118,1281	0,9841
KŠB	18,3568	20,4190	100,3800	0,5910	23,1039	23,7823	99,8900	0,5368
Ukupno	26,7490	25,1968	114,4600	0,5910	26,7197	28,1526	118,1281	0,5368

U Tabeli 4.5. Sr. vr. predstavlja srednju vrednost, St. dev. standardnu devijaciju, Max je maksimalna, a Min minimalna vrednost izmerenih adsorpcionih kapaciteta.

Kako bi se konstruisao ANN model sa zadovoljavajućom tačnošću u predikciji izlazne promenljive, odnosno adsorpcionog kapaciteta biočađi, prema ispitivanim bojama, veoma je važno identifikovati parametre koji imaju značajan uticaj na adsorpcioni kapacitet, odnosno procesne parametre adsorpcije. Statistički pokazatelji procesnih parametara adsorpcije BZ i MZ primenom biočađi prikazani su u Tabeli 4.6.

Tabela 4.6. Statistički pokazatelji procesnih parametara adsorpcije BZ i MZ primenom KBB, KVB i KŠB

Parametara	BZ				MZ			
	Sr. vr.	St. dev.	Max	Min	Sr. vr.	St. dev.	Max	Min
<i>d</i> (mm)	0,5588	0,26601	2	0,5	0,5541	0,2554	2	0,5
<i>t</i> (min)	434,6176	607,2198	1440	2	384,5135	516,6783	1440	2
<i>m/V</i> (g/L)	2,2941	1,4528	10	1	2,2703	1,3944	10	1
pH	6,7994	0,8600	9	3	5,2629	0,8329	9	3
<i>T</i> (°C)	25,7353	4,8948	50	15	25,6757	4,6946	50	15
<i>C_i</i> (mg/L)	90,3891	115,8208	688,1522	7,0313	77,8055	86,5938	486,1430	16,2774

Na performanse ANN modela, pored pravilnog izbora nezavisnih ulaznih promenljivih, značajan uticaj može imati i njihova međusobna korelacija, budući da visoka korelacija ukazuje na izraženu linearnu zavisnost između nezavisno promenljivih [167]. Zbog toga je, nakon selekcije ulaznih promenljivih, sprovedena analiza međusobne korelacije između ulaznih promenljivih, kako bi se identifikovali potencijalno visoko korelisani parametri. U slučaju da između dve promenljive postoji visoka korelacija, preporučuje se eliminacija jedne od njih, kako bi se izbegla konfuzija tokom procesa obučavanja modela.

Kao što je i očekivano, preliminarna analiza korelacije pokazala je izraženo visoke međusobne korelacije između promenljivih iz iste grupe podataka dobijenih analizom biočadi. Visoka korelacija zabeležena je među parametrima proksimativne analize (vlaga, isparljive materije, pepeo i vezani ugljenik), kao i među parametrima elementarne analize (C, H, O, N, S, H/C i O/C). Sličan obrazac uočen je i kod sadržaja neorganskih elemenata (K, Ca, Mg, Fe, Si, Zn, Mn, Cu i Pb), kao i kod fizičko-hemijskih osobina biočadi, uključujući prinos biočadi, pH_{sus}, pH_{pzc}, zeta potencijal, *Crl* i SA.

Nakon preliminarne korelacione analize, izvršena je selekcija ulaznih promenljivih na osnovu procene veličine uticaja na izlaznu promenljivu – adsorpcioni kapacitet biočadi. U skladu sa tim, izabrane su potencijalne ulazne promenljive koje će biti korišćene u daljoj analizi. Vrednosti koeficijenta korelacije za ove promenljive prikazane su u Tabeli 4.7.

Tabela 4.7. Rezultati korelacione analize ulaznih promenljivih za modelovanje adsorpcionih kapaciteta biočadi KBB, KVB i KŠB

	Mr	R	vl	O/C	% Ca	pH _{sus}	pH _{pzc}	<i>Crl</i>	SA	S _{mic}	<i>d</i>	<i>t</i>	<i>m/V</i>	pH	<i>T</i>	<i>C_i</i>
Mr	1															
R		1														
vl	-1,7·10 ⁻¹⁷	3,6·10 ⁻¹⁷	1													
O/C	1,2·10 ⁻¹⁷	-1,7·10 ⁻¹⁷	0,739	1												
% Ca	3,7·10 ⁻¹⁷	2,0·10 ⁻¹⁷	-0,826	-0,230	1											
pH _{sus}	2,0·10 ⁻¹⁷	-4,8·10 ⁻¹⁸	-0,767	-0,999	0,271	1										
pH _{pzc}	4,1·10 ⁻¹⁷	-2,1·10 ⁻¹⁸	-0,099	-0,743	-0,480	0,715	1									
<i>Crl</i>	2,8·10 ⁻¹⁷	6,7·10 ⁻¹⁸	-0,002	-0,675	-0,563	0,643	0,995	1								
SA	1,6·10 ⁻¹⁷	-1,5·10 ⁻¹⁷	0,998	0,6905	-0,763	-0,720	-0,029	0,068	1							
S _{mic}	-1,3·10 ⁻¹⁷	-9,7·10 ⁻¹⁸	0,181	0,796	0,406	-0,770	-0,997	-0,984	0,111	1						
<i>d</i>	0,009	0,009	1,0·10 ⁻¹⁸	-1,6·10 ⁻¹⁷	-7,0·10 ⁻¹⁸	-1,0·10 ⁻¹⁷	-1,5·10 ⁻¹⁷	-1,4·10 ⁻¹⁷	1,0·10 ⁻¹⁸	8,7·10 ⁻¹⁸	1					
<i>t</i>	0,045	0,045	-0,013	-0,001	0,018	0,002	-0,011	-0,013	-0,014	0,010	-0,110	1				
<i>m/V</i>	0,008	0,008	-1,2·10 ⁻¹⁷	5,3·10 ⁻¹⁸	1,9·10 ⁻¹⁸	-1,1·10 ⁻¹⁷	9,5·10 ⁻¹⁸	9,1·10 ⁻¹⁹	-1,3·10 ⁻¹⁷	-2,4·10 ⁻¹⁸	-0,043	-0,101	1			
pH	0,674	0,674	-0,0005	0,012	0,011	-0,012	-0,019	-0,019	-0,002	0,019	-0,011	0,117	0,001	1		
<i>T</i>	0,006	0,006	2,5·10 ⁻¹⁸	1,5·10 ⁻¹⁷	8,9·10 ⁻¹⁸	-1,1·10 ⁻¹⁸	-1,9·10 ⁻¹⁸	-2,8·10 ⁻¹⁹	4,3·10 ⁻¹⁸	1,9·10 ⁻¹⁸	-0,032	-0,070	-0,029	-0,006	1	
<i>C_i</i>	0,062	0,062	0,006	0,006	-0,004	-0,006	-0,003	-0,002	0,006	0,003	-0,073	0,615	-0,066	0,060	0,049	1
<i>q</i>	0,005	0,005	0,160	0,094	-0,152	-0,099	0,0201	0,0360	0,162	-0,007	-0,094	0,657	-0,159	0,046	-0,017	0,885

U ovom istraživanju, za visoko korelisane vrednosti uzete su kombinacije promenljivih kod kojih je koeficijent korelacije (*r*) jednak ili veći od 0,8, što je u skladu sa prethodnim istraživanjima [222].

Na osnovu dobijenih podataka, kao i na osnovu procene uticaja pojedinih ulaznih promenljivih na izlaznu promenljivu (*q*), za razvoj modela odabrane su sledeće ulazne promenljive: Molarna masa boja (Mr), rastvorljivost boja u vodi na sobnoj temperaturi (R), karakteristike biočadi (O/C, %Ca, *Crl*, SA i S_{mic}), kao i svi ispitani procesni parametri (*d*, *t*, *m/V*, pH, *T* i *C_i*).

Nakon selekcije relevantnih ulaznih promenljivih, pristupa se razvoju modela za predviđanje adsorpcionog kapaciteta za boje BZ i MZ primenom različitih vrsta biočadi (KBB, KVB i KŠB), pri različitim operativnim uslovima. U tu svrhu primenjena je arhitektura neuronske mreže sa propagacijom greške unazad (*BPNN*), pri čemu su posebno posmatrani podaci za adsorpcioni kapacitet prema BZ i adsorpcioni kapacitet prema MZ.

Za obučavanje i validaciju neuronske mreže za predikciju adsorpcionog kapaciteta biočadi za uklanjanje BZ korišćen je 81 set podataka, od kojih je 68 nasumično izabranih setova korišćeno za obučavanje, dok je 16 setova korišćeno za validaciju mreže, a dodatnih 18 setova za njeno testiranje.

U slučaju predikcije adsorpcionog kapaciteta uklanjanja MZ, korišćeno je ukupno 90 setova podataka, od kojih je 72 nasumično izabrano za obučavanje, 18 za validaciju, a 21 set za testiranje mreže. U oba slučaja, odnos između broja podataka korišćenih za obučavanje i validaciju bio je približno 4:1, što se smatra pogodnim za stabilno treniranje modela. Broj setova podataka korišćenih za razvoj modela sumiran je u Tabeli 4.8.

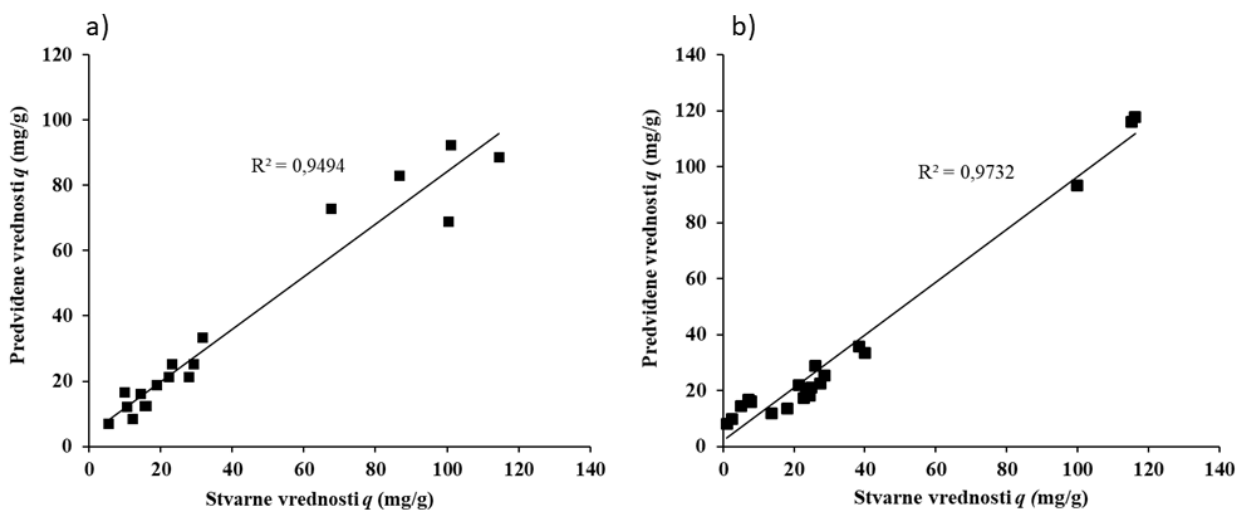
Tabela 4.8. Broj korišćenih serija podataka za razvoj i evaluaciju modela

Skup podataka	BZ	MZ
Podaci korišćeni za razvoj modela	81 serija podataka: Podset za obuku: 68 Podset za validaciju: 16	90 serija podataka: Podset za obuku: 72 Podset za validaciju: 18
Podaci korišćeni za evaluaciju modela	Podset za testiranje: 18	Podset za testiranje: 21
Odnos između broja podataka za razvoj i evaluaciju modela	4,5	4,3

U Tabeli 4.9. prikazani su statistički indikatori performansi razvijenih modela za predikciju adsorpcionih kapaciteta primenjenih biočadi pri uklanjanju BZ i MZ, dok je na Slici 4.36. prikazano grafičko poređenje stvarnih i predviđenih vrednosti adsorpcionih kapaciteta za obe boje.

Tabela 4.9. Statistički indikatori performansi modela za predviđanje adsorpcionih kapaciteta KBB, KVB i KŠB za uklanjanje BZ i MZ

Statistički indikatori	Jedinica	BZ	MZ
R^2	-	0,9494	0,9732
<i>RMSE</i>	mg/g	10,3684	5,6575
<i>MAE</i>	mg/g	6,2328	4,9730
<i>MAPE</i>	%	17,7957	12,8275
<i>IA</i>	-	0,9743	0,9962



Slika 4.36. Poređenje stvarnih i predviđenih vrednosti adsorpcionih kapaciteta primenom biočadi za uklanjanje: a) BZ, b) MZ

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da se adsorpcioni kapaciteti pri različitim eksperimentalnim uslovima mogu uspešno predvideti primenom pažljivo razvijenih modela ANN, što može doprineti smanjenju broja potrebnih eksperimentalnih ispitivanja, što posledično dovodi do smanjenja emitovanja opasnih materija u vode i uštedi značajnih sredstava potrebnih za izvođenje eksperimenata.

4.4.2. Razvoj modela za predviđanje adsorpcionog kapaciteta za uklanjanje KLj

Podaci dobijeni iz adsorpcionih izoterma biočadi (KBB, KVB i KŠB) za boje BZ i MZ, pri optimizovanim procesnim parametrima: veličine čestica (klasa II), vreme kontakta (24 h), doze adsorbenta (2 g/L), pH vrednosti (7 za BZ i 5,5 za MZ) i temperature (25 °C), poslužila su za razvoj modela za predikciju adsorpcionih kapaciteta navedenih biočadi za boju KLj.

Kao ulazne promenljive za razvoj modela korišćene su osnovne karakteristike boja BZ i MZ (M_r i R), kao i odabrane karakteristike korišćenih biočadi (O/C, %Ca, C_{rl} , SA i S_{mic}), pri pH vrednosti odgovarajuće boje, dok ostali procesni parametri nisu korišćeni, jer su bili konstantni. Kao izlazna promenljiva korišćeni su adsorpcioni kapaciteti primenjenih biočadi za boje BZ i MZ.

Statistički indikatori adsorpcionih kapaciteta za BZ i MZ primenom sve tri biočadi (KBB, KVB i KŠB), kao i statistički indikatori osnovnih karakteristika boja, karakteristika biočadi i procesnih parametara prikazani su u Tabeli 4.10.

Tabela 4.10. Statistički indikatori za adsorpcione kapaciteta, karakteristike boja i osobine biočadi (KBB, KVB i KŠB)

Karakteristika	Sr. vr.	St. dev.	Max	Min
q (mg/g)	51,7809	38,1777	118,1281	1,3559
M_r (g/mol)	431,9466	59,2647	482,6400	354,9110
R (g/L)	85,6857	16,7291	100,0000	66,6000
O/C	0,4067	0,0663	0,4900	0,3300
Ca (%)	0,2123	0,1240	0,3400	0,0470
C_{rl} (%)	27,1333	1,1734	28,4200	25,6100
SA (m ² /g)	178,6667	7,8108	186,0000	168,0000
S_{mic} (m ² /g)	128,6667	10,4640	143,0000	119,0000
pH	6,3571	0,7513	7,00000	5,5000
C_i (mg/L)	156,6952	124,8159	351,7171	7,0313

Za razvoj modela za predikciju adsorpcionih kapaciteta biočađi za uklanjanja boje KLJ takođe je korišćena *BPNN* arhitektura neuronske mreže.

Za obučavanje i validaciju neuronske mreže razvijene za predikciju adsorpcionog kapaciteta boje KLJ primenom tri vrste biočađi korišćena su ukupno 42 seta podataka. Od toga, 34 seta su nasumično odabrana za obučavanje mreže, dok je 8 nasumično izabranih setova korišćeno za njenu validaciju, pri čemu je odnos između broja podataka za obučavanje i validaciju iznosio približno 4:1. Za testiranje razvijenog modela korišćeno je dodatnih 9 setova podataka, po tri za svaku boju (BZ, MZ i KLj), pri čemu su za svaku boju korišćene po tri vrste biočađi.

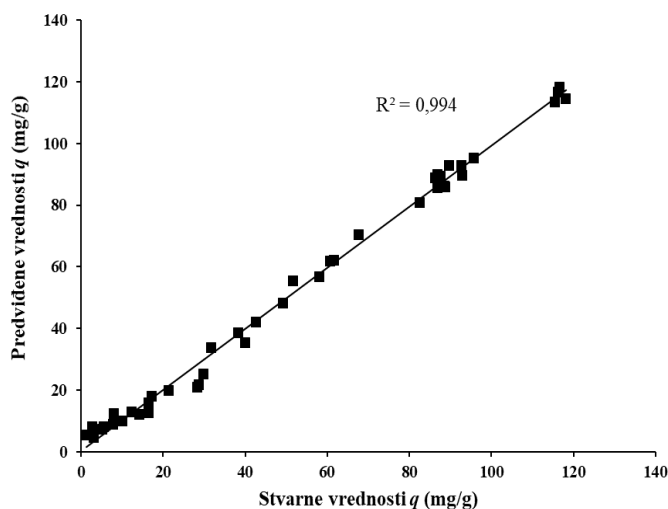
Razvijena neuronska mreža sastojala se od jednog ulaznog sloja sa devet neurona, tri skrivena sloja i jednog izlaznog sloja sa jednim neuronom.

Statistički indikatori performansi modela za obučavanje mreže za predikciju adsorpcionih kapaciteta primenom biočađi (KBB, KVB i KŠB) za uklanjanje boja BZ i MZ prikazani su u Tabeli 4.11.

Tabela 4.11. Statistički indikatori performansi modela za obučavanje mreže za predviđanje adsorpcionih kapaciteta KBB, KVB i KŠB za uklanjanje BZ i MZ

Statistički pokazatelj	Jedinica	BZ i MZ
R^2	-	0,9940
<i>RMSE</i>	mg/g	2,9380
<i>MAE</i>	mg/g	2,3367
<i>MAPE</i>	%	21,4302
<i>IA</i>	-	0,9995

Grafičko poređenje stvarnih i predviđenih vrednosti adsorpcionih kapaciteta biočađi za uklanjanje BZ i MZ prilikom obučavanja mreže koja je poslužila za razvoj modela za predviđanje adsorpcionog kapaciteta biočađi za KLJ prikazano je na Slici 4.37.



Slika 4.37. Poređenje stvarnih i predviđenih vrednosti adsorpcionih kapaciteta primenom biočađi za uklanjanje BZ i MZ prilikom obučavanja mreže

Razvijeni model je primenjen na podatke za testiranje dobijene iz adsorpcionih izoterma za boje BZ, MZ i KLJ primenom biočađi (KBB, KVB i KŠB). Podaci korišćeni za testiranje prikazani su u Tabeli 4.12.

Tabela 4.12. Podaci za testiranje razvijenog modela za predikciju adsorpcionih kapaciteta KBB, KVB i KŠB za uklanjanje boja BZ, MZ i KV

Boja	Biočad	Podaci za testiranje								
		Mr	R	O/C	%Ca	CrI	SA	S _{mic}	pH	C _i
BZ	KBB	482,6400	100	0,4000	0,0470	28,4200	186	119	6	241,0922
	KVB	482,6400	100	0,4900	0,2500	25,6100	182	143	6	314,7053
	KŠB	482,6400	100	0,3300	0,3400	27,3700	168	124	6	351,7171
MZ	KBB	364,9110	66,6	0,4000	0,0470	28,4200	186	119	6	344,7663
	KVB	364,9110	66,6	0,4900	0,2500	25,6100	182	143	6	403,4798
	KŠB	364,9110	66,6	0,3300	0,3400	27,3700	168	124	6	486,1430
KLJ	KBB	407,9800	15	0,4000	0,0470	28,4200	186	119	6	227,4041
	KVB	407,9800	15	0,4900	0,2500	25,6100	182	143	6	106,495
	KŠB	407,9800	15	0,3300	0,3400	27,3700	168	124	6	86,2911

Primenom razvijenog modela na podatke prikazane u Tabeli 4.10. dobijeni su statistički indikatori performansi modela za predikciju adsorpcionih kapaciteta KBB, KVB i KŠB za uklanjanje boja BZ, MZ i KLj, koji su prikazani u Tabeli 4.13.

Tabela 4.13. Statistički indikatori performansi modela za predviđanje adsorpcionih kapaciteta KBB, KVB i KŠB za uklanjanje BZ, MZ i KLj

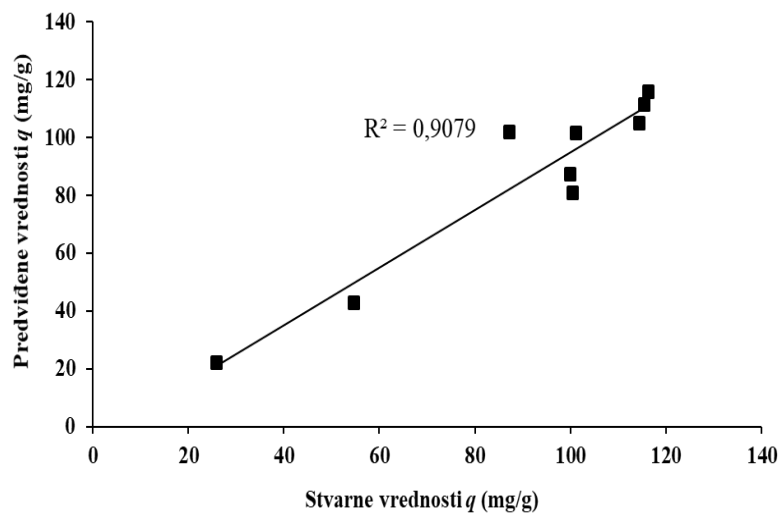
Statistički pokazatelj	Jedinica	BZ, MZ i KLJ
R^2	-	0,9079
RMSE	mg/g	10,6178
MAE	mg/g	8,5423
MAPE	%	10,8862
IA	-	0,9967

U Tabeli 4.14. prikazano je poređenje stvarnih i predviđenih vrednosti adsorpcionih kapaciteta biočadi za uklanjanje BZ, MZ i KLj, dok je njihovo grafičko poređenje prikazano na Slici 4.38.

Tabela 4.14. Poređenje stvarnih i predviđenih adsorpcionih kapaciteta biočadi za uklanjanje BZ, MZ, KLj

Boja	Biočad	Stvarna vrednost	Predviđena vrednost	MAPE (%)
BZ	KBB	101,1100	101,5578	0,44
	KVB	114,4600	104,8882	8,36
	KŠB	100,3800	80,8221	19,48
MZ	KBB	115,3900	111,5736	3,31
	KVB	116,3300	115,6540	0,58
	KŠB	99,8900	87,4465	12,46
KLj	KBB	87,2000	101,7398	16,67
	KVB	54,7400	42,7160	21,97
	KŠB	25,8700	22,0667	14,70

Na osnovu poređenja stvarnih i predviđenih vrednosti adsorpcionih kapaciteta biočadi prema ispitivanim bojama (Tabela 4.14.), može se zaključiti da razvijeni model pokazuje zadovoljavajuću tačnost predikcije. U skladu sa kriterijumima koje je predložio Lewis [178], vrednosti MAPE za gotovo sve kombinacije boja i biočadi ukazuju na visoku (<10%) ili dobru (10–20%) tačnost predikcije modela. Nešto veće odstupanje zabeleženo je jedino u slučaju adsorpcije KLj na KVB (MAPE = 21,97%), što se smatra sa prihvatljivom tačnošću. Ipak, i u ovom slučaju model se može smatrati pouzdanim, s obzirom na kompleksnost sistema.



Slika 4.38. Poređenje stvarnih i predviđenih vrednosti adsorpcionih kapaciteta za uklanjanje boja BZ, MZ i KV primenom razvijenog modela

Dobijeni rezultati jasno ukazuju da se ANN model razvijen u ovoj disertaciji može uspešno primeniti za pouzdano predviđanje adsorpcionih kapaciteta različitih boja, kako u laboratorijskim, tako i u industrijskim uslovima. Ovakav pristup omogućava smanjenje broja eksperimentalnih ispitivanja, što doprinosi uštedi resursa i smanjenju upotrebe potencijalno štetnih supstanci.

Dodatno, očekuje se da će uključivanje većeg broja podataka koji se odnose na različite karakteristike boja i biočadi doprineti unapređenju tačnosti modela, čime se otvara mogućnost njegove šire primene u oblasti obrade otpadnih voda i drugih relevantnih tehnologija.

5. ZAKLJUČAK

U okviru ove disertacije ispitana je mogućnost primene otpadnih koštica voća, poreklom iz prehrambene industrije, za sintezu multifunkcionalnih biočađi. Sintetisane biočađi detaljno su okarakterisane primenom različitih fizičko-hemijskih i instrumentalnih metoda kako bi se dobila sveobuhvatna slika njihovih osobina. Biočađi su dalje ispitivane kao adsorbenti za uklanjanje katjonske boje BZ u šaržnom sistemu uz optimizaciju procesnih parametara i primenu različitih kinetičkih i izotermkih modela. Na osnovu dobijenih rezultata, razvijen je model za predviđanje adsorpcionog kapaciteta sintetisanih biočađi prema drugim katjonskim bojama, primenom veštačkih neuronskih mreža. Takođe, njihova adsorpciona sposobnost ispitana je i u *air-lift* reaktoru, kako bi se ispitaio uticaj mešanja na efikasnost adsorpcije BZ. Pored toga, što su se proizvedene biočađi pokazale kao izvrstan adsorbent, pokazale su se i kao efikasni nosači za imobilizaciju komercijalne lakaze. Imobilisana lakaza na biočađi dalje je primenjivana za razgradnju boje BZ u šaržnom i *air-lift* sistemu.

Na osnovu eksperimentalnih rezultata i sprovedenih analiza u okviru ovog istraživanja, proizašli su sledeći zaključci:

- Koštice breskve (KB), višnje (KV) i šljive (KŠ), kao lignocelulozni otpad iz prehrambene industrije, uspešno su konvertovane u biočađ (KBB, KVB, KŠB) procesom pirolize, pri čemu su ostvareni prinosi od 26,10, 26,57 i 28,64%, redom.
- Sve proizvedene biočađi pokazuju slične osobine u pogledu hemijskih karakteristika. Sve tri biočađi imaju visok nivo ugljenika ($C > 64\%$) kao i izuzetno nizak H/C odnos (0,04), što ukazuje na stabilnu i izrazito aromatičnu strukturu.
- Ispitivane biočađi imaju neutralnu do blago kiselu površinu sa negativnim naelektrisanjem, što ih čini pogodnim za vezivanje katjona. FTIR-ATR analizom potvrđeno je prisustvo kiselih funkcionalnih grupa na površini ispitivanih biočađi, pri čemu je u uzorku KVB detektovan veći sadržaj hidroksilnih grupa.
- SEM i BET analizama je utvrđeno da se sve tri ispitivane biočađi odlikuju velikom specifičnom površinom i razvijenom mikroporoznom strukturom, pri čemu KVB pokazuje najveću specifičnu površinu i zapreminu mikropora.
- Sve tri ispitane biočađi pokazale su se kao efikasni adsorbenti katjonske boje BZ u šaržnom sistemu pod optimizovanim procesnim parametrima ($0,1 < d < 0,5$ mm, pH 6, $m/V=2$ g/L, $t=90$ min, $T=35$ °C i $C_i=50$ mg/L). Uzorak KVB, zahvaljujući najrazvijenijoj mikroporoznoj strukturi i prisustvu funkcionalnih grupa, postigao je najveću efikasnost uklanjanja boje od čak 94%, dok su efikasnosti uzoraka KBB i KŠB iznosile 90% odnosno 72%.
- Adsorpcija BZ primenom KVB potvrđena je FTIR-ATR analizom.
- Modelovanjem adsorpcionih izoterma utvrđeno je da se Sipsov model najbolje opisuje eksperimentalne podatke, pri čemu su postignuti adsorpcioni kapaciteti od 114,46 mg/g za KVB, 101,11 mg/g za KBB i 100,38 mg/g za KŠB.
- Kinetika adsorpcije BZ na biočađi prati model pseudo-drugog reda, što ukazuje na hemisorpcioni mehanizam, zasnovan na valentnim interakcijama koje uključuju deljenje ili razmenu elektrona između molekula boje i biočađi. Adsorpcija boje pomoću KBB i KVB odvija se izuzetno brzo, bez uticaja graničnog sloja na kinetiku adsorpcije. Nasuprot tome, usled manje razvijene porozne stuktore i manje specifične površine, brzina adsorpcija BZ na uzorku KŠB je kontrolisana difuzijom, što dovodi do odlaganja adsorpcije od 1,08 min.
- Zahvaljujući najefikasnijoj adsorpciji BZ, uzorak KVB je odabran za primenu u *air-lift* reaktoru, sa ciljem ispitivanja uticaja mešanja na kinetiku adsorpcije. Primenom većeg protoka vazduha (5,50 L/h) proces dostiže ravnotežu za 45 minuta, što je gotovo dvostruko brže u odnosu na niži protok (2,55 L/h). Primenom nižeg protoka vazduha ukupna brzina adsorpcije je ograničena brzinom prenosa mase, dok se pri većem porotoku proces odvija brže i kinetički je kontrolisan, što potvrđuje slaganje sa modelom pseudo-drugog reda.

- U poređenju sa šaržnim sistemom (pri istim operativnim parametrima), gde je za 90 minuta uklonjeno 94% boje, u *air-lift* reaktoru pri protoku vazduha od 5,50 L/h postignuta je efikasnost uklanjanja od 90% za duplo kraće vreme. *Air-lift* reaktor značajno poboljšava efikasnost adsorpcije, jer smanjuje uticaj graničnog sloja i otpor prenosu mase.
- U cilju što uspešnije imobilizacije enzima, sintetisane biočadi su aktivirane hemijskim putem.
- Uzorak KVB se pokazao i kao najefikasniji nosač za imobilizaciju komercijalne lakaze iz *T. Versicolor*; imobilizacija je potvrđena SEM-EDX i FTIR-ATR analizama.
- Najveća rezidualna aktivnost od 85% i najveća efikasnost imobilizacije od 66%, postignuta je pri sledećim operativnim uslovima: pH 5, $T=40$ °C i $t=4$ h.
- Imobilizacijom lakaze na KVB postignuta je veća stabilnost enzima u širem pH i temperaturnom opsegu.
- Lakaza imobilisana na KVB uspešno je primenjena za razgradnju BZ u šaržnom sistemu pri optimizovanim procenim uslovima (pH 5, $T = 30$ °C, $m/V = 20$ g/L, $t = 4$ h, $C_i = 50$ mg/L), pri čemu je postignuta efikasnost razgradnje boje od 93%.
- Imobilisana lakaza uspešno je primenjena u više uzastopnih ciklusa obezbojavanja, pri čemu je efikasnost uklanjanja boje ostala iznad 80% nakon devetog ciklusa degradacije.
- Lakaza imobilisana na KVB primenjena je za razgradnju boje u *air-lift* reaktoru, pri čemu je postignuto praktično obezbojavanje rastvora (98%) za 90 minuta. Efikasan prenos kiseonika usled aeracije u reaktoru značajno je poboljšao oksidativni katalitički mehanizam lakaze, omogućivši gotovo 2,5 puta bržu razgradnju BZ u poređenju sa imobilisanom lakazom u šaržnom sistemu.
- Primenom veštačkih neuronskih mreža razvijen je model za predikciju adsorpcionih kapaciteta proizvedenih biočadi (KBB, KVB i KŠB) prema BZ i drugim katjonskim bojama (*Malachite green* i *Crystal violet*) sa visokom (MAPE <10%) i dobrom (MAPE 10–20%) tačnošću predikcije. Primena ovog modela značajno smanjuje potrebu za eksperimentalnim ispitivanjima, što doprinosi uštedi vremena, resursa i smanjenju upotrebe štetnih hemikalija.

6. LITERATURA

1. Zhu, Y.; Luan, Y.; Zhao, Y.; Liu, J.; Duan, Z.; Ruan, R. Current Technologies and Uses for Fruit and Vegetable Wastes in a Sustainable System: A Review. *Foods* **2023**, *12*, doi:10.3390/foods12101949.
2. Mirabella, N.; Castellani, V.; Sala, S. Current Options for the Valorization of Food Manufacturing Waste: A Review. *J. Clean. Prod.* **2014**, *65*, 28–41, doi:10.1016/j.jclepro.2013.10.051.
3. Sridhar, A.; Ponnuchamy, M.; Kapoor, A.; Prabhakar, S. Valorization of Food Waste as Adsorbents for Toxic Dye Removal from Contaminated Waters: A Review. *J. Hazard. Mater.* **2022**, *424*, 127432, doi:10.1016/j.jhazmat.2021.127432.
4. Pradhan, S.; Parthasarathy, P.; Mackey, H.R.; Al-Ansari, T.; McKay, G. Food Waste Biochar: A Sustainable Solution for Agriculture Application and Soil–Water Remediation. *Carbon Res.* **2024**, *3*, doi:10.1007/s44246-024-00123-2.
5. Afshar, M.; Mofatteh, S. Biochar for a Sustainable Future: Environmentally Friendly Production and Diverse Applications. *Results Eng.* **2024**, *23*, 102433, doi:10.1016/j.rineng.2024.102433.
6. Senthil Kumar, P.; Janet Joshiba, G.; Femina, C.C.; Varshini, P.; Priyadharshini, S.; Arun Karthick, M.S.; Jothirani, R. A Critical Review on Recent Developments in the Low-Cost Adsorption of Dyes from Wastewater. *Desalin. Water Treat.* **2019**, *172*, 395–416, doi:10.5004/dwt.2019.24613.
7. Antanasković, A.; Lopičić, Z.; Dimitrijević-Branković, S.; Ilić, N.; Adamović, V.; Šoštarić, T.; Milivojević, M. Biochar as an Enzyme Immobilization Support and Its Application for Dye Degradation. *Processes* **2024**, *12*, doi:10.3390/pr12112418.
8. Antanasković, A.; Lopičić, Z.; Pehlivan, E.; Adamović, V.; Šoštarić, T.; Milojković, J.; Milivojević, M. Thermochemical Conversion of Non-Edible Fruit Waste for Dye Removal from Wastewater. *Biomass Convers. Biorefinery* **2024**, *14*, 18649–18665, doi:10.1007/s13399-023-04083-2.
9. Ouettar, L.; Guechi, E.K.; Hamdaoui, O.; Fertikh, N.; Saudi, F.; Alghyamah, A. Biosorption of Triphenyl Methane Dyes (Malachite Green and Crystal Violet) from Aqueous Media by Alfa (*Stipa Tenacissima* L.) Leaf Powder. *Molecules* **2023**, *28*, doi:10.3390/molecules28083313.
10. Pandey, D.; Daverey, A.; Arunachalam, K. Biochar: Production, Properties and Emerging Role as a Support for Enzyme Immobilization. *J. Clean. Prod.* **2020**, *255*, 120267, doi:10.1016/j.jclepro.2020.120267.
11. Joshi, N.C.; Sinha, S.; Bhatnagar, P.; Nath, Y.; Negi, B.; Kumar, V.; Gururani, P. A Concise Review on Waste Biomass Valorization through Thermochemical Conversion. *Curr. Res. Microb. Sci.* **2024**, *6*, 100237, doi:10.1016/j.crmicr.2024.100237.
12. Panić, S.; Đurišić-Mladenović, N.; Petronijević, M.; Stijepović, I.; Milanović, M.; Kozma, G.; Kukovec, Á. Valorization of Waste Biomass towards Biochar Production – Characterization and Perspectives for Sustainable Applications in Serbia. *Environ. Technol. Innov.* **2025**, *37*, doi:10.1016/j.eti.2025.104043.
13. Wang, F.; Ouyang, D.; Zhou, Z.; Page, S.J.; Liu, D.; Zhao, X. Lignocellulosic Biomass as Sustainable Feedstock and Materials for Power Generation and Energy Storage. *J. Energy Chem.* **2021**, *57*, 247–280, doi:10.1016/j.jechem.2020.08.060.

14. Mujtaba, M.; Fernandes Fraceto, L.; Fazeli, M.; Mukherjee, S.; Savassa, S.M.; Araujo de Medeiros, G.; do Espírito Santo Pereira, A.; Mancini, S.D.; Lipponen, J.; Vilaplana, F. Lignocellulosic Biomass from Agricultural Waste to the Circular Economy: A Review with Focus on Biofuels, Biocomposites and Bioplastics. *J. Clean. Prod.* **2023**, *402*, 136815, doi:10.1016/j.jclepro.2023.136815.
15. Abo, B.O.; Gao, M.; Wang, Y.; Wu, C.; Ma, H.; Wang, Q. Lignocellulosic Biomass for Bioethanol: An Overview on Pretreatment, Hydrolysis and Fermentation Processes. *Rev. Environ. Health* **2019**, *34*, 57–68, doi:10.1515/reveh-2018-0054.
16. Development Strategy of the Republic of Serbia up to 2040 with Projections up to 2050 Available online: <https://www.mre.gov.rs/extfile/sr/5928/Draft - Energy Strategy 15072024.pdf>.
17. Commission, E. ENERGETSKI BILANS REPUBLIKE SRBIJE ZA 2025. GODINU Available online: <https://www.mre.gov.rs/extfile/sr/9153/ОДЈУКА - ЕНЕРГЕТСКИ БИЛАНС РС ЗА 2025. ГОДИНУ.pdf>.
18. Shahbandeh, M. 2023. Global Production of Fruit by Variety Selected 2020. 26/1/2022 Ed, Statista. Available online: <https://www.statista.com/statistics/264001/worldwide-production-of-fruit-by-variety/>.
19. Rifna, E.J.; Misra, N.N.; Dwivedi, M. Recent Advances in Extraction Technologies for Recovery of Bioactive Compounds Derived from Fruit and Vegetable Waste Peels: A Review. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **2023**, *63*, 719–752, doi:10.1080/10408398.2021.1952923.
20. Orozco, R.S.; Hernández, P.B.; Morales, G.R.; Núñez, F.U.; Villafuerte, J.O.; Lugo, V.L.; Ramírez, N.F.; Díaz, C.E.B.; Vázquez, P.C. Characterization of Lignocellulosic Fruit Waste as an Alternative Feedstock for Bioethanol Production. *BioResources* **2014**, *9*, 1873–1885.
21. Calabrò, P.S.; Pontoni, L.; Porqueddu, I.; Greco, R.; Pirozzi, F.; Malpei, F. Effect of the Concentration of Essential Oil on Orange Peel Waste Biomethanization: Preliminary Batch Results. *Waste Manag.* **2016**, *48*, 440–447, doi:10.1016/j.wasman.2015.10.032.
22. Gowman, A.C.; Picard, M.C.; Rodriguez-Urbe, A.; Misra, M.; Khalil, H.; Thimmanagari, M.; Mohanty, A.K. Physicochemical Analysis of Apple and Grape Pomaces. *BioResources* **2019**, *14*, 3210–3230, doi:10.15376/biores.14.2.3210-3230.
23. Lopičić, Z. Proučavanje Sorpcionog i Energetskog Potencijala Otpadne Biomase Prunus Persica L., Tehnološko-Metalurški Fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2017.
24. Solomakou, N.; Drosaki, A.M.; Kaderides, K.; Mourtzinou, I.; Goula, A.M. Valorization of Peach By-Products: Utilizing Them as Valuable Resources in a Circular Economy Model. *Sustain.* **2024**, *16*, doi:10.3390/su16031289.
25. Doczekalska, B.; Bartkowiak, M.; Kuśmierk, K.; Świątkowski, A. Activated Carbons from Plum Stones as Efficient Adsorbents for the Removal of Phenol and Bisphenol A from Aqueous Solutions. *Desalin. Water Treat.* **2023**, *306*, 51–62, doi:10.5004/dwt.2023.29748.
26. Miladinović, M.R.; Pavlović, S.; Banković-Ilić, I.B.; Kostić, M.D.; Stamenković, O.S.; Veljković, V.B. Utilization of Waste Plum Stones as a Source of Oil and Catalyst for Biodiesel Production. *Hem. Ind.* **2023**, *77*, 39–52, doi:10.2298/HEMIND221113009M.
27. Miljić, U.; Puškaš, V. Suitability Of Chosen Plum Cultivars (Prunus Domestica L.) For Fruit Wine Production. *J. Process. Energy Agric.* **2015**, *19*, 95–97.
28. Serbia Does Fruit, Available: [Www.Serbiadoesfruit.Com](http://www.Serbiadoesfruit.Com). [Accessed: Feb. 1, 2025].

29. Statistical Office of the Republic of Serbia Available online: www.stat.gov.rs.
30. Kniepkamp, K.; Errico, M.; Yu, M.; Roda-Serrat, M.C.; Eilers, J.G.; Wark, M.; Van Haren, R. Lipid Extraction of High-Moisture Sour Cherry (*Prunus Cerasus L.*) Stones by Supercritical Carbon Dioxide. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **2024**, *99*, 810–819, doi:10.1002/jctb.7581.
31. Kaynak, B.; Topal, H.; Atimtay, A.T. Peach and Apricot Stone Combustion in a Bubbling Fluidized Bed. *Fuel Process. Technol.* **2005**, *86*, 1175–1193, doi:10.1016/j.fuproc.2004.12.007.
32. Anwar, Z.; Gulfraz, M.; Irshad, M. Agro-Industrial Lignocellulosic Biomass a Key to Unlock the Future Bio-Energy: A Brief Review. *J. Radiat. Res. Appl. Sci.* **2014**, *7*, 163–173, doi:10.1016/j.jrras.2014.02.003.
33. Yogalakshmi, K.N.; Poornima Devi, T.; Sivashanmugam, P.; Kavitha, S.; Yukesh Kannah, R.; Varjani, S.; Adish Kumar, S.; Kumar, G.; Rajesh Banu, J. Lignocellulosic Biomass-Based Pyrolysis: A Comprehensive Review. *Chemosphere* **2022**, *286*, 131824, doi:10.1016/j.chemosphere.2021.131824.
34. Harmsen, P.; Huijgen, W.; López, L.; Bakker, R. Literature Review of Physical and Chemical Pretreatment Processes for Lignocellulosic Biomass. *Food Biobased Res.* **2010**, 1–49.
35. Yang, H.; Yan, R.; Chen, H.; Lee, D.H.; Zheng, C. Characteristics of Hemicellulose, Cellulose and Lignin Pyrolysis. *Fuel* **2007**, *86*, 1781–1788, doi:10.1016/j.fuel.2006.12.013.
36. Petrović, J. Optimizacija Procesa Hidrotermalne Karbonizacije Komine Grožđa i Primena Dobijene Hidročadi, Tehnološko-Metalurški Fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2017.
37. Satgé, C.; Granet, R.; Verneuil, B.; Branland, P.; Krausz, P. Synthesis and Properties of Biodegradable Plastic Films Obtained by Microwave-Assisted Cellulose Acylation in Homogeneous Phase. *Comptes Rendus Chim.* **2004**, *7*, 135–142, doi:10.1016/j.crci.2003.11.003.
38. Xu, Y.; Liu, K.; Yang, Y.; Kim, M.S.; Lee, C.H.; Zhang, R.; Xu, T.; Choi, S.E.; Si, C. Hemicellulose-Based Hydrogels for Advanced Applications. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **2023**, *10*, 1–18, doi:10.3389/fbioe.2022.1110004.
39. Tišma, M.; Bucic-Kojic, A.; Planinic, M. Bio-Based Products from Lignocellulosic Waste Biomass: A State of the Art. *Chem. Biochem. Eng. Q.* **2021**, *35*, 139–156, doi:10.15255/CABEQ.2021.1931.
40. Sharma, H.K.; Xu, C.; Qin, W. Biological Pretreatment of Lignocellulosic Biomass for Biofuels and Bioproducts: An Overview. *Waste and Biomass Valorization* **2019**, *10*, 235–251, doi:10.1007/s12649-017-0059-y.
41. Ruthran, V.B.; Barman, P.; Kadam, R.; Kumar, A. Lignin-Based Adsorbent for Effective Removal of Toxic Heavy Metals from Wastewater. *Emergent Mater.* **2022**, *5*, 923–943, doi:10.1007/s42247-021-00311-5.
42. Liu, S.; Wang, Y.; Feng, Z.; Wang, Y.; Sun, T. Hierarchical Porous Biochar with Ultra-High Specific Surface Area for Rapid Removal of Antibiotics from Water. *New J. Chem.* **2021**, *45*, 17418–17427, doi:10.1039/d1nj02686k.
43. Li, H.; Dong, X.; da Silva, E.B.; de Oliveira, L.M.; Chen, Y.; Ma, L.Q. Mechanisms of Metal Sorption by Biochars: Biochar Characteristics and Modifications. *Chemosphere* **2017**, *178*, 466–478, doi:10.1016/j.chemosphere.2017.03.072.

44. Nobaharan, K.; Novair, S.B.; Lajayer, B.A.; Van Hullebusch, E.D. Phosphorus Removal from Wastewater: The Potential Use of Biochar and the Key Controlling Factors. *Water* **2021**, *13*, 1–20, doi:10.3390/w13040.
45. Agustin, M.B.; Lehtonen, M.; Kemell, M.; Lahtinen, P.; Oliaei, E.; Mikkonen, K.S. Lignin Nanoparticle-Decorated Nanocellulose Cryogels as Adsorbents for Pharmaceutical Pollutants. *J. Environ. Manage.* **2023**, *330*, 117210, doi:10.1016/j.jenvman.2022.117210.
46. Feng, W.; Ji, P. Enzymes Immobilized on Carbon Nanotubes. *Biotechnol. Adv.* **2011**, *29*, 889–895, doi:10.1016/j.biotechadv.2011.07.007.
47. Kucharska, K.; Rybarczyk, P.; Hołowacz, I.; Łukajtis, R.; Glinka, M.; Kamiński, M. Pretreatment of Lignocellulosic Materials as Substrates for Fermentation Processes. *Molecules* **2018**, *23*, 1–32, doi:10.3390/molecules23112937.
48. Agbor, V.B.; Cicek, N.; Sparling, R.; Berlin, A.; Levin, D.B. Biomass Pretreatment: Fundamentals toward Application. *Biotechnol. Adv.* **2011**, *29*, 675–685, doi:10.1016/j.biotechadv.2011.05.005.
49. Mankar, A.R.; Pandey, A.; Modak, A.; Pant, K.K. Pretreatment of Lignocellulosic Biomass: A Review on Recent Advances. *Bioresour. Technol.* **2021**, *334*, 125235, doi:10.1016/j.biortech.2021.125235.
50. Veluchamy, C.; Kalamdhad, A.S.; Gilroyed, B.H. Advanced Pretreatment Strategies for Bioenergy Production from Biomass and Biowaste. *Handb. Environ. Mater. Manag.* **2019**, 1507–1524, doi:10.1007/978-3-319-73645-7_45.
51. Zakaria, M.R.; Fujimoto, S.; Hirata, S.; Hassan, M.A. Ball Milling Pretreatment of Oil Palm Biomass for Enhancing Enzymatic Hydrolysis. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **2014**, *173*, 1778–1789, doi:10.1007/s12010-014-0964-5.
52. Zhu, J.Y.; Pan, X.J. Woody Biomass Pretreatment for Cellulosic Ethanol Production: Technology and Energy Consumption Evaluation. *Bioresour. Technol.* **2010**, *101*, 4992–5002, doi:10.1016/j.biortech.2009.11.007.
53. Wang, D.; Yan, L.; Ma, X.; Wang, W.; Zou, M.; Zhong, J.; Ding, T.; Ye, X.; Liu, D. Ultrasound Promotes Enzymatic Reactions by Acting on Different Targets: Enzymes, Substrates and Enzymatic Reaction Systems. *Int. J. Biol. Macromol.* **2018**, *119*, 453–461, doi:10.1016/j.ijbiomac.2018.07.133.
54. Shi, J.; Pu, Y.; Yang, B.; Ragauskas, A.; Wyman, C.E. Comparison of Microwaves to Fluidized Sand Baths for Heating Tubular Reactors for Hydrothermal and Dilute Acid Batch Pretreatment of Corn Stover. *Bioresour. Technol.* **2011**, *102*, 5952–5961, doi:10.1016/j.biortech.2011.03.027.
55. Lorenci Woiciechowski, A.; Dalmas Neto, C.J.; Porto de Souza Vandenberghe, L.; de Carvalho Neto, D.P.; Novak Sydney, A.C.; Letti, L.A.J.; Karp, S.G.; Zevallos Torres, L.A.; Soccol, C.R. Lignocellulosic Biomass: Acid and Alkaline Pretreatments and Their Effects on Biomass Recalcitrance – Conventional Processing and Recent Advances. *Bioresour. Technol.* **2020**, *304*, 122848, doi:10.1016/j.biortech.2020.122848.
56. Abegunde, S.M.; Idowu, K.S.; Adejuwon, O.M.; Adeyemi-Adejolu, T. A Review on the Influence of Chemical Modification on the Performance of Adsorbents. *Resour. Environ. Sustain.* **2020**, *1*, 100001, doi:10.1016/j.resenv.2020.100001.
57. Jain, S.N.; Gogate, P.R. Adsorptive Removal of Acid Violet 17 Dye from Wastewater Using Biosorbent Obtained from NaOH and H₂SO₄ Activation of Fallen Leaves of Ficus

Racemosa. *J. Mol. Liq.* **2017**, *243*, 132–143, doi:10.1016/j.molliq.2017.08.009.

58. Neris, J.B.; Luzardo, F.H.M.; Santos, P.F.; De Almeida, O.N.; Velasco, F.G. Evaluation of Single and Tri-Element Adsorption of Pb²⁺, Ni²⁺ and Zn²⁺ Ions in Aqueous Solution on Modified Water Hyacinth (*Eichhornia Crassipes*) Fibers. *J. Environ. Chem. Eng.* **2019**, *7*, 102885, doi:10.1016/j.jece.2019.102885.
59. Baksi, S.; Saha, D.; Saha, S.; Sarkar, U.; Basu, D.; Kuniyal, J.C. Pre-Treatment of Lignocellulosic Biomass: Review of Various Physico-Chemical and Biological Methods Influencing the Extent of Biomass Depolymerization. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **2023**, *20*, 13895–13922, doi:10.1007/s13762-023-04838-4.
60. Ofudje, E.A.; Akiode, O.K.; Oladipo, G.O.; Adedapo, A.E.; Adebayo, L.O.; Awotula, A.O. Application of Raw and Alkaline-Modified Coconut Shaft as a Biosorbent for Pb²⁺ Removal. *BioResources* **2015**, *10*, 3462–3480, doi:10.15376/biores.10.2.3462-3480.
61. Sai Bharadwaj, A.V.S.L.; Dev, S.; Zhuang, J.; Wang, Y.; Yoo, C.G.; Jeon, B.H.; Aggarwal, S.; Park, S.H.; Kim, T.H. Review of Chemical Pretreatment of Lignocellulosic Biomass Using Low-Liquid and Low-Chemical Catalysts for Effective Bioconversion. *Bioresour. Technol.* **2023**, *368*, 128339, doi:10.1016/j.biortech.2022.128339.
62. Ariyanto, T.; Sarwendah, R.A.G.; Amimmal, Y.M.N.; Laksmna, W.T.; Prasetyo, I. Modifying Nanoporous Carbon through Hydrogen Peroxide Oxidation for Removal of Metronidazole Antibiotics from Simulated Wastewater. *Processes* **2019**, *7*, 1–9, doi:10.3390/pr7110835.
63. Kumar, A.K.; Sharma, S. Recent Updates on Different Methods of Pretreatment of Lignocellulosic Feedstocks: A Review. *Bioresour. Bioprocess.* **2017**, *4*, doi:10.1186/s40643-017-0137-9.
64. Poddar, B.J.; Nakhate, S.P.; Gupta, R.K.; Chavan, A.R.; Singh, A.K.; Khardenavis, A.A.; Purohit, H.J. A Comprehensive Review on the Pretreatment of Lignocellulosic Wastes for Improved Biogas Production by Anaerobic Digestion. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **2022**, *19*, 3429–3456, doi:10.1007/s13762-021-03248-8.
65. Neshat, S.A.; Mohammadi, M.; Najafpour, G.D.; Lahijani, P. Anaerobic Co-Digestion of Animal Manures and Lignocellulosic Residues as a Potent Approach for Sustainable Biogas Production. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2017**, *79*, 308–322, doi:10.1016/j.rser.2017.05.137.
66. Ferdeş, M.; Dincă, M.N.; Moiceanu, G.; Zabava, B.Ş.; Paraschiv, G. Microorganisms and Enzymes Used in the Biological Pretreatment of the Substrate to Enhance Biogas Production: A Review. *Sustain.* **2020**, *12*, doi:10.3390/su12177205.
67. Stajić, M.; Kukavica, B.; Vukojević, J.; Simonić, J.; Veljović-Jovanović, S.; Duletić-Laušević, S. Wheat Straw Conversion by Enzymatic System of *Ganoderma Lucidum*. *BioResources* **2010**, *5*, 2362–2373, doi:10.15376/biores.5.4.2362-2373.
68. Wan, C.; Li, Y. Fungal Pretreatment of Lignocellulosic Biomass. *Biotechnol. Adv.* **2012**, *30*, 1447–1457, doi:10.1016/j.biotechadv.2012.03.003.
69. Kovačić, Đ.; Radočaj, D.; Samac, D.; Jurišić, M. Influence of Thermal Pretreatment on Lignin Destabilization in Harvest Residues: An Ensemble Machine Learning Approach. *AgriEngineering* **2024**, *6*, 171–184, doi:10.3390/agriengineering6010011.
70. Sankaran, R.; Parra Cruz, R.A.; Pakalapati, H.; Show, P.L.; Ling, T.C.; Chen, W.H.; Tao, Y. Recent Advances in the Pretreatment of Microalgal and Lignocellulosic Biomass: A Comprehensive Review. *Bioresour. Technol.* **2020**, *298*, 122476,

doi:10.1016/j.biortech.2019.122476.

71. Yu, K.L.; Lau, B.F.; Show, P.L.; Ong, H.C.; Ling, T.C.; Chen, W.H.; Ng, E.P.; Chang, J.S. Recent Developments on Algal Biochar Production and Characterization. *Bioresour. Technol.* **2017**, *246*, 2–11, doi:10.1016/j.biortech.2017.08.009.
72. Zhang, J.; Zhang, X. *Biomass, Biopolymer-Based Materials, and Bioenergy*; Elsevier Ltd, 2019; ISBN 9780081024263.
73. Guerrero, J.; Carmona-Martínez, A.A.; Jarauta-Córdoba, C. Renewable Syngas Production and Technoeconomic Validation in a Pilot-Scale Reactor of Air and Air-Steam Gasification of Biomass. *Int. J. Hydrogen Energy* **2024**, *93*, 273–284, doi:10.1016/j.ijhydene.2024.10.363.
74. Abdin, Z.; Zafaranloo, A.; Rafiee, A.; Mérida, W.; Lipiński, W.; Khalilpour, K.R. Hydrogen as an Energy Vector. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2020**, *120*, doi:10.1016/j.rser.2019.109620.
75. Tripathi, M.; Sahu, J.N.; Ganesan, P. Effect of Process Parameters on Production of Biochar from Biomass Waste through Pyrolysis: A Review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2016**, *55*, 467–481, doi:10.1016/j.rser.2015.10.122.
76. Saif, A.G.H.; Wahid, S.S.; Ali, M.R.O. Pyrolysis of Sugarcane Bagasse: The Effects of Process Parameters on the Product Yields. *Mater. Sci. Forum* **2020**, *1008*, 159–167, doi:10.4028/www.scientific.net/MSF.1008.159.
77. Hu, X.; Gholizadeh, M. Biomass Pyrolysis: A Review of the Process Development and Challenges from Initial Researches up to the Commercialisation Stage. *J. Energy Chem.* **2019**, *39*, 109–143, doi:10.1016/j.jechem.2019.01.024.
78. Kan, T.; Strezov, V.; Evans, T.J. Lignocellulosic Biomass Pyrolysis: A Review of Product Properties and Effects of Pyrolysis Parameters. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2016**, *57*, 1126–1140, doi:10.1016/j.rser.2015.12.185.
79. Tomczyk, A.; Sokołowska, Z.; Boguta, P. Biochar Physicochemical Properties: Pyrolysis Temperature and Feedstock Kind Effects. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* **2020**, *19*, 191–215, doi:10.1007/s11157-020-09523-3.
80. Lv, D.; Xu, M.; Liu, X.; Zhan, Z.; Li, Z.; Yao, H. Effect of Cellulose, Lignin, Alkali and Alkaline Earth Metallic Species on Biomass Pyrolysis and Gasification. *Fuel Process. Technol.* **2010**, *91*, 903–909, doi:10.1016/j.fuproc.2009.09.014.
81. Wang, L.; Olsen, M.N.P.; Moni, C.; Dieguez-Alonso, A.; de la Rosa, J.M.; Stenrød, M.; Liu, X.; Mao, L. Comparison of Properties of Biochar Produced from Different Types of Lignocellulosic Biomass by Slow Pyrolysis at 600 °C. *Appl. Energy Combust. Sci.* **2022**, *12*, 100090, doi:10.1016/j.jaecs.2022.100090.
82. Feliz Florian, G.; Ragoubi, M.; Leblanc, N.; Taouk, B.; Abdelouahed, L. Biochar Production and Its Potential Application for Biocomposite Materials: A Comprehensive Review. *J. Compos. Sci.* **2024**, *8*, 1–25, doi:10.3390/jcs8060220.
83. *IBI Standardized Product Definition and Product Testing Guidelines for Biochar That Is Used in Soil*; 2015;
84. Ogunkanmi, J.O.; Kulla, D.M.; Omisanya, N.O.; Sumaila, M.; Obada, D.O.; Dodoo-Arhin, D. Extraction of Bio-Oil during Pyrolysis of Locally Sourced Palm Kernel Shells: Effect of Process Parameters. *Case Stud. Therm. Eng.* **2018**, *12*, 711–716, doi:10.1016/j.csite.2018.09.003.

85. Akhtar, J.; Saidina Amin, N. A Review on Operating Parameters for Optimum Liquid Oil Yield in Biomass Pyrolysis. *Renew. Sustain. Energy Rev.* **2012**, *16*, 5101–5109, doi:10.1016/j.rser.2012.05.033.
86. Zhang, Y.; Ma, Z.; Zhang, Q.; Wang, J.; Ma, Q.; Yang, Y.; Luo, X.; Zhang, W. Comparison of the Physicochemical Characteristics of Bio-Char Pyrolyzed from Moso Bamboo and Rice Husk with Different Pyrolysis Temperatures. *BioResources* **2017**, *12*, 4652–4669, doi:10.15376/biores.12.3.4652-4669.
87. Angin, D. Effect of Pyrolysis Temperature and Heating Rate on Biochar Obtained from Pyrolysis of Safflower Seed Press Cake. *Bioresour. Technol.* **2013**, *128*, 593–597, doi:10.1016/j.biortech.2012.10.150.
88. Wang, Z.; Liu, K.; Xie, L.; Zhu, H.; Ji, S.; Shu, X. Effects of Residence Time on Characteristics of Biochars Prepared via Co-Pyrolysis of Sewage Sludge and Cotton Stalks. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **2019**, *142*, 104659, doi:10.1016/j.jaap.2019.104659.
89. Venkatachalam, C.D.; Sekar, S.; Sengottian, M.; Ravichandran, S.R.; Bhuvaneshwaran, P. A Critical Review of the Production, Activation, and Morphological Characteristic Study on Functionalized Biochar. *J. Energy Storage* **2023**, *67*, 107525, doi:10.1016/j.est.2023.107525.
90. Xie, Y.; Wang, L.; Li, H.; Westholm, L.J.; Carvalho, L.; Thorin, E.; Yu, Z.; Yu, X.; Skreiberg, Ø. A Critical Review on Production, Modification and Utilization of Biochar. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **2022**, *161*, doi:10.1016/j.jaap.2021.105405.
91. Panwar, N.L.; Pawar, A. Influence of Activation Conditions on the Physicochemical Properties of Activated Biochar: A Review. *Biomass Convers. Biorefinery* **2022**, *12*, 925–947, doi:10.1007/s13399-020-00870-3.
92. Yu, J.; Chang, J.S.; Guo, H.; Han, S.; Lee, D.J. Sodium Ions Removal by Sulfuric Acid-Modified Biochars. *Environ. Res.* **2023**, *235*, 116592, doi:10.1016/j.envres.2023.116592.
93. Han, X.; Chu, L.; Liu, S.; Chen, T.; Ding, C.; Yan, J.; Cui, L.; Quan, G. Removal of Methylene Blue from Aqueous Solution Using Porous Biochar Obtained by KOH Activation of Peanut Shell Biochar. *BioResources* **2015**, *10*, 2836–2849, doi:10.15376/biores.10.2.2836-2849.
94. Ahmed, M.B.; Zhou, J.L.; Ngo, H.H.; Guo, W.; Chen, M. Progress in the Preparation and Application of Modified Biochar for Improved Contaminant Removal from Water and Wastewater. *Bioresour. Technol.* **2016**, *214*, 836–851, doi:10.1016/j.biortech.2016.05.057.
95. Long, L.; Xue, Y.; Hu, X.; Zhu, Y. Study on the Influence of Surface Potential on the Nitrate Adsorption Capacity of Metal Modified Biochar. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2019**, *26*, 3065–3074, doi:10.1007/s11356-018-3815-z.
96. Wang, J.; Wang, S. Preparation, Modification and Environmental Application of Biochar: A Review. *J. Clean. Prod.* **2019**, *227*, 1002–1022, doi:10.1016/j.jclepro.2019.04.282.
97. Sakhiya, A.K.; Anand, A.; Kaushal, P. Production, Activation, and Applications of Biochar in Recent Times. *Biochar* **2020**, *2*, 253–285, doi:10.1007/s42773-020-00047-1.
98. Rajapaksha, A.U.; Vithanage, M.; Lee, S.S.; Seo, D.C.; Tsang, D.C.W.; Ok, Y.S. Steam Activation of Biochars Facilitates Kinetics and PH-Resilience of Sulfamethazine Sorption. *J. Soils Sediments* **2016**, *16*, 889–895, doi:10.1007/s11368-015-1325-x.
99. Purakayastha, T.J.; Bera, T.; Bhaduri, D.; Sarkar, B.; Mandal, S.; Wade, P.; Kumari, S.; Biswas, S.; Menon, M.; Pathak, H.; et al. A Review on Biochar Modulated Soil Condition Improvements and Nutrient Dynamics Concerning Crop Yields: Pathways to Climate

Change Mitigation and Global Food Security. *Chemosphere* **2019**, 227, 345–365, doi:10.1016/j.chemosphere.2019.03.170.

100. Burachevskaya, M.; Minkina, T.; Bauer, T.; Lobzenko, I.; Fedorenko, A.; Mazarji, M.; Sushkova, S.; Mandzhieva, S.; Nazarenko, A.; Butova, V.; et al. Fabrication of Biochar Derived from Different Types of Feedstocks as an Efficient Adsorbent for Soil Heavy Metal Removal. *Sci. Rep.* **2023**, 13, 1–14, doi:10.1038/s41598-023-27638-9.
101. Saif Ur Rehman, M.; Kim, I.; Rashid, N.; Adeel Umer, M.; Sajid, M.; Han, J.I. Adsorption of Brilliant Green Dye on Biochar Prepared From Lignocellulosic Bioethanol Plant Waste. *Clean - Soil, Air, Water* **2016**, 44, 55–62, doi:10.1002/clen.201300954.
102. Samsuri, A.W.; Sadegh-Zadeh, F.; Seh-Bardan, B.J. Characterization of Biochars Produced from Oil Palm and Rice Husks and Their Adsorption Capacities for Heavy Metals. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **2014**, 11, 967–976, doi:10.1007/s13762-013-0291-3.
103. Choudhury, A.; Lansing, S. Biochar Addition with Fe Impregnation to Reduce H₂S Production from Anaerobic Digestion. *Bioresour. Technol.* **2020**, 306, 123121, doi:10.1016/j.biortech.2020.123121.
104. Li, S.; Tasnady, D. Biochar for Soil Carbon Sequestration: Current Knowledge, Mechanisms, and Future Perspectives. *C-Journal Carbon Res.* **2023**, 9, doi:10.3390/c9030067.
105. Leng, L.; Huang, H.; Li, H.; Li, J.; Zhou, W. Biochar Stability Assessment Methods: A Review. *Sci. Total Environ.* **2019**, 647, 210–222, doi:10.1016/j.scitotenv.2018.07.402.
106. Kuzyakov, Y.; Bogomolova, I.; Glaser, B. Biochar Stability in Soil: Decomposition during Eight Years and Transformation as Assessed by Compound-Specific ¹⁴C Analysis. *Soil Biol. Biochem.* **2014**, 70, 229–236, doi:10.1016/j.soilbio.2013.12.021.
107. Bijoy, G.; Rajeev, R.; Benny, L.; Jose, S.; Varghese, A. Enzyme Immobilization on Biomass-Derived Carbon Materials as a Sustainable Approach towards Environmental Applications. *Chemosphere* **2022**, 307, 135759, doi:10.1016/j.chemosphere.2022.135759.
108. Pandey, D.; Daverey, A.; Dutta, K.; Arunachalam, K. Bioremoval of Toxic Malachite Green from Water through Simultaneous Decolorization and Degradation Using Laccase Immobilized Biochar. *Chemosphere* **2022**, 297, 134126, doi:10.1016/j.chemosphere.2022.134126.
109. Chowdhury, M.A.; de Neergaard, A.; Jensen, L.S. Potential of Aeration Flow Rate and Bio-Char Addition to Reduce Greenhouse Gas and Ammonia Emissions during Manure Composting. *Chemosphere* **2014**, 97, 16–25, doi:10.1016/j.chemosphere.2013.10.030.
110. Yu, J.T.; Dehkoda, A.M.; Ellis, N. Development of Biochar-Based Catalyst for Transesterification of Canola Oil. *Energy and Fuels* **2011**, 25, 337–344, doi:10.1021/ef100977d.
111. Li, L.; Zou, D.; Xiao, Z.; Zeng, X.; Zhang, L.; Jiang, L.; Wang, A.; Ge, D.; Zhang, G.; Liu, F. Biochar as a Sorbent for Emerging Contaminants Enables Improvements in Waste Management and Sustainable Resource Use. *J. Clean. Prod.* **2019**, 210, 1324–1342, doi:10.1016/j.jclepro.2018.11.087.
112. Lao, E.J.; Mbega, E.R. Biochar As a Feed Additive for Improving the Performance of Farm Animals. *Malaysian J. Sustain. Agric.* **2020**, 4, 86–93, doi:10.26480/mjsa.02.2020.86.93.
113. Bhattacharya, T.; Khan, A.; Ghosh, T.; Kim, J.T.; Rhim, J.W. Advances and Prospects for Biochar Utilization in Food Processing and Packaging Applications. *Sustain. Mater. Technol.* **2024**, 39, e00831, doi:10.1016/j.susmat.2024.e00831.

114. Knežević, Z. *Enzimsko Inženjerstvo*; Tehnološko-metalurški fakulte, Beograd, Srbija.: Beograd, 2008; ISBN 978-86-7401-253-6.
115. Manoochchri, H.; Hosseini, N.F.; Saidijam, M.; Taheri, M.; Rezaee, H.; Nouri, F. A Review on Invertase: Its Potentials and Applications. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **2020**, *25*, 101599, doi:10.1016/j.bcab.2020.101599.
116. Whitaker, J. *Factors Affecting Enzyme Activity in Foods*; R.Y. Yada, Ed.; Second edi.; 2004;
117. Buckner, C.A.; Lafrenie, R.M.; Dénommée, J.A.; Caswell, J.M.; Want, D.A.; Gan, G.G.; Leong, Y.C.; Bee, P.C.; Chin, E.; Teh, A.K.H.; et al. Sustainable Textile Processing by Enzyme Applications. *Intech* **2016**, *11*, 13, doi:DOI: 10.5772/intechopen.97198.
118. Ibrahim, N.A.; Eid, B.M.; Amin, H.A. *Sustainable Textile Finishing Processes and Pollution Control Based on Enzyme Technology*; 2021; ISBN 9780323852043.
119. Robinson, P.K. Enzymes: Principles and Biotechnological Applications. *Essays Biochem.* **2015**, *59*, 1–41, doi:10.1042/BSE0590001.
120. Shraddha; Shekher, R.; Sehgal, S.; Kamthania, M.; Kumar, A. Laccase: Microbial Sources, Production, Purification, and Potential Biotechnological Applications. *Enzyme Res.* **2011**, *2011*, doi:10.4061/2011/217861.
121. Lin, H.; Yu, Z.; Wang, Q.; Liu, Y.; Jiang, L.; Xu, C.; Xian, M. Application of Laccase Catalysis in Bond Formation and Breakage: A Review. *Catalysts* **2023**, *13*, doi:10.3390/catal13040750.
122. Jeyabalan, J.; Veluchamy, A.; V, V.P.; Kumar, A.; Chandrasekar, R.; Narayanasamy, S. A Review on the Laccase Assisted Decolourization of Dyes: Recent Trends and Research Progress. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.* **2023**, *151*, 105081, doi:10.1016/j.jtice.2023.105081.
123. Legerská, B.; Chmelová, D.; Ondrejovič, M. Degradation of Synthetic Dyes by Laccases - A Mini-Review. *Nov. Biotechnol. Chim.* **2016**, *15*, 90–106, doi:10.1515/nbec-2016-0010.
124. Singh, J.; Kundu, D.; Das, M.; Banerjee, R. *Enzymatic Processing of Juice from Fruits/Vegetables: An Emerging Trend and Cutting Edge Research in Food Biotechnology*; Elsevier Inc., 2018; ISBN 9780128132807.
125. Kale Bakir, E.; Deveci Ozkan, A.; Erman, G.; Isik, S.; Yuzugullu Karakus, Y. Anticancer Potential of Purified Laccase Enzyme from *Trametes Versicolor*: Specific Cytotoxicity against Thyroid and Endometrial Cancer Cells. *Mol. Biol. Rep.* **2025**, *52*, 1–13, doi:10.1007/s11033-025-10416-3.
126. Rodrigues, A.G. *Secondary Metabolism and Antimicrobial Metabolites of Aspergillus*; Elsevier B.V., 2016; ISBN 9780444635136.
127. Wlizio, K.; Polak, J.; Kapral-Piotrowska, J.; Graz, M.; Paduch, R.; Jarosz-Wilkolazka, A. Influence of Carrier Structure and Physicochemical Factors on Immobilisation of Fungal Laccase in Terms of Bisphenol a Removal. *Catalysts* **2020**, *10*, 1–21, doi:10.3390/catal10090951.
128. Bié, J.; Sepodes, B.; Fernandes, P.C.B.; Ribeiro, M.H.L. Enzyme Immobilization and Co-Immobilization: Main Framework, Advances and Some Applications. *Processes* **2022**, *10*, 1–31, doi:10.3390/pr10030494.
129. Cavalcante, F.T.T.; Italo, I.R.; José, J.E.; Rocha, T.G.; de Sousa, I.G.; Cavalcante, A.L.G.; de Oliveira, A.L.B.; de Sousa, M.C.M.; dos Santos, J.C.S. Designing of Nanomaterials-Based Enzymatic Biosensors: Synthesis, Properties, and Applications. *Electrochem* **2021**, *2*, 149–

184, doi:10.3390/electrochem2010012.

130. Sirisha, V.L.; Jain, A.; Jain, A. *Enzyme Immobilization: An Overview on Methods, Support Material, and Applications of Immobilized Enzymes*; S.K. Kim, F.T., Ed.; First Edit.; Elsevier Inc., 2016; Vol. 79;.
131. Pinyou, P.; Noguer, T.; Blay, V. Sensing Materials: Enzymes and Aptamers. In *Encyclopedia of Sensors and Biosensors: Volume 1-4, First Edition*; 2022; Vol. 1–4, pp. 413–434 ISBN 9780128225486.
132. Al-sareji, O.J.; Meiczinger, M.; Somogyi, V.; Al-Juboori, R.A.; Grmasha, R.A.; Stenger-Kovács, C.; Jakab, M.; Hashim, K.S. Removal of Emerging Pollutants from Water Using Enzyme-Immobilized Activated Carbon from Coconut Shell. *J. Environ. Chem. Eng.* **2023**, *11*, doi:10.1016/j.jece.2023.109803.
133. Lucas Vallejo-García, J.; Cutillo-Foraster, A.; Arnaiz, A.; Vallejos, S.; M. García, J.; Asunción Muñoz Santamaría, M.; Trigo-López, M. Hydrolysis of Lactose: Conventional Techniques and Enzyme Immobilization Strategies on Polymeric Supports. *Milk Proteins - Technol. Innov. Nutr. Sustain. Nov. Appl. [Working Title]* **2024**, 1005087, doi:10.5772/intechopen.1005087.
134. Osuna, Y.; Sandoval, J.; Saade, H.; López, R.G.; Martinez, J.L.; Colunga, E.M.; de la Cruz, G.; Segura, E.P.; Arévalo, F.J.; Zon, M.A.; et al. Immobilization of *Aspergillus Niger* Lipase on Chitosan-Coated Magnetic Nanoparticles Using Two Covalent-Binding Methods. *Bioprocess Biosyst. Eng.* **2015**, *38*, 1437–1445, doi:10.1007/s00449-015-1385-8.
135. Bilal, M.; Iqbal, H.M.N. Naturally-Derived Biopolymers: Potential Platforms for Enzyme Immobilization. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *130*, 462–482, doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.02.152.
136. Yagub, M.T.; Sen, T.K.; Afroze, S.; Ang, H.M. Dye and Its Removal from Aqueous Solution by Adsorption: A Review. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2014**, *209*, 172–184, doi:10.1016/j.cis.2014.04.002.
137. de Carvalho Costa, L.R.; Jurado-Davila, I.V.; Oliveira, J.T. De; Nunes, K.G.P.; Estumano, D.C.; de Oliveira, R.A.; Carissimi, E.; Féris, L.A. Exploring Key Parameters in Adsorption for Effective Fluoride Removal: A Comprehensive Review and Engineering Implications. *Appl. Sci.* **2024**, *14*, doi:10.3390/app14052161.
138. Sakib, M.N.; Mallik, A.K.; Rahman, M.M. Update on Chitosan-Based Electrospun Nanofibers for Wastewater Treatment: A Review. *Carbohydr. Polym. Technol. Appl.* **2021**, *2*, 100064, doi:10.1016/j.carpta.2021.100064.
139. Iftekhhar, S.; Ramasamy, D.L.; Srivastava, V.; Asif, M.B.; Sillanpää, M. Understanding the Factors Affecting the Adsorption of Lanthanum Using Different Adsorbents: A Critical Review. *Chemosphere* **2018**, *204*, 413–430, doi:10.1016/j.chemosphere.2018.04.053.
140. Sahu, O.; Singh, N. *Significance of Bioadsorption Process on Textile Industry Wastewater*; Elsevier Ltd., 2018; Vol. 13; ISBN 9780081024911.
141. Kyzas, G.Z.; Favvas, E.P.; Kostoglou, M.; Mitropoulos, A.C. Effect of Agitation on Batch Adsorption Process Facilitated by Using Nanobubbles. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2020**, *607*, 125440, doi:10.1016/j.colsurfa.2020.125440.
142. Aktar, J. *Batch Adsorption Process in Water Treatment*; Elsevier Inc., 2020; ISBN 9780128196717.
143. Milivojević, M.; Andrejić, D.; Bugarski, B. Effects of Air-Lift Reactor Dimensions on Its

- Hydrodynamic Characteristics. *Hem. Ind.* **2010**, *64*, 35–46, doi:10.2298/HEMIND1009035M.
144. Antanasković, A.; Lopičić, Z.; Šošćarić, T.; Adamović, V.; Cvetković, S.; Perendija, J.; Miliwojević, M. Toxic Dye Removal by Thermally Modified Lignocellulosic Wastewaste in a Three-Phase Air-Lift Reactor: Kinetic Insights. *Hem. Ind.*, doi:https://doi.org/10.2298/HEMIND230607015A.
 145. Duan, Y.; Shi, F. *Bioreactor Design for Algal Growth as a Sustainable Energy Source*; Elsevier B.V., 2014; ISBN 9780444595782.
 146. Laskar, N.; Kumar, U. Removal of Brilliant Green Dye from Water by Modified Bambusa Tulda: Adsorption Isotherm, Kinetics and Thermodynamics Study. *Int. J. Environ. Sci. Technol.* **2019**, *16*, 1649–1662, doi:10.1007/s13762-018-1760-5.
 147. Tong, Y.; McNamara, P.J.; Mayer, B.K. Adsorption of Organic Micropollutants onto Biochar: A Review of Relevant Kinetics, Mechanisms and Equilibrium. *Environ. Sci. Water Res. Technol.* **2019**, *5*, 821–838, doi:10.1039/c8ew00938d.
 148. Muliwa, A.M.; Oyewo, O.A.; Maity, A. Recent Progress on the Removal of Aqueous Mercury by Carbon-Based Adsorbents: A Review. *Inorg. Chem. Commun.* **2023**, *156*, 111207, doi:10.1016/j.inoche.2023.111207.
 149. Obradovic, B. Guidelines for General Adsorption Kinetics Modeling. *Hem. Ind.* **2020**, *74*, 65–70, doi:10.2298/HEMIND200201006O.
 150. Bergmann, C.P. *Carbon Nanomaterials as Adsorbents for Environmental and Biological Applications* / Carlos P Bergmann / Springer; ISBN 9783319188744.
 151. Lagergren, S. About the Theory of so Called Adsorption of Soluble Substances. *K Sven Veternskapsakad Handl* **1898**, *24*, 1-39.
 152. Ho, Y.S.; McKay, G. Pseudo-Second Order Model for Sorption Processes. *Process Biochem* **1999**, *34*, 451-465.
 153. Weber, W.J. Morris, J.C. Kinetics of Adsorption on Carbon from Solution. *J Sanit Eng Div* **1963**, *89*, 31–60.
 154. Perendija, J. Uklanjanje Toksičnih Jona Iz Vodnih Rastvora Primenom Adsorbenata Na Bazi Modifikovane Celuloze, Tehnološko-Metalurški Fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2021.
 155. Esposito, A.; Pagnanelli, F.; Vegliò, F. PH-Related Equilibria Models for Biosorption in Single Metal Systems. *Chem. Eng. Sci.* **2002**, *57*, 307–313, doi:10.1016/S0009-2509(01)00399-2.
 156. Langmuir, I. The Adsorption of Gases on Plane Surfaces of Glass, Mica and Platinum. *Am. Chem. Soc.* **1918**, *40*, 1361–1403.
 157. Martín-Lara, M.A.; Pérez, A.; Vico-Pérez, M.A.; Calero, M.; Blázquez, G. The Role of Temperature on Slow Pyrolysis of Olive Cake for the Production of Solid Fuels and Adsorbents. *Process Saf. Environ. Prot.* **2019**, *121*, 209–220, doi:10.1016/j.psep.2018.10.028.
 158. Sips, R. Combined Form of Langmuir and Freundlich Equations. *J. Chem. Phys.* **1948**, *16*, 490–495.
 159. Benkhaya, S.; M'rabet, S.; El Harfi, A. A Review on Classifications, Recent Synthesis and Applications of Textile Dyes. *Inorg. Chem. Commun.* **2020**, *115*, 107891, doi:10.1016/j.inoche.2020.107891.

160. Sohn, H.J. *Spin-Dyeing of Synthetic Fibres*; Woodhead Publishing Limited, 1988;
161. Damant, A.P. *Food Colourants*; Woodhead Publishing Limited, 2011;
162. Poornima Parvathi, V.; Parimaladevi, R.; Umadevi, M.; Sathe, V. Graphene-Based Surface-Enhanced Raman Scattering as an Efficient Tool in the Detection of Toxic Organic Dyes in Real Industrial Effluents. *Carbon Nanomater. Sensors Emerg. Res. Trends Devices Appl.* **2022**, 167–187, doi:10.1016/B978-0-323-91174-0.00013-5.
163. Nandi, B.K.; Goswami, A.; Purkait, M.K. Adsorption Characteristics of Brilliant Green Dye on Kaolin. *J. Hazard. Mater.* **2009**, *161*, 387–395, doi:10.1016/j.jhazmat.2008.03.110.
164. McCulloch, W.S.; Pitts, W. A Logical Calculus Nervous Activity. *Bull. Math. Biol.* **1990**, *52*, 99–115.
165. Goz, E.; Yuceer, M.; Karadurmus, E. *Total Organic Carbon Prediction with Artificial Intelligence Techniques*; Elsevier Masson SAS, 2019; Vol. 46; ISBN 9780128186343.
166. Sadu, U.U.N. Razvoj i Optimizacija Funkcionalnog Proizvoda Od Šljive Utemeljenog Na Preferencijama Potrošača. **2023**.
167. Adamovic, V. Predviđanje Indikatora Za Upravljanje Čvrstim Otpadom Na Nacionalnom Nivou Primenom Veštačkih Neuronskih Mreža, Tehnološko-Metalurški Fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2019.
168. Pekel, E.; Soner Kara, S. A Comprehensive Review for Artificial Neural Network Application to Public Transportation. *Sigma Mühendislik ve Fen Bilim. Derg.* **2017**, *35*, 157–179.
169. Ghaedi, A.M.; Vafaei, A. Applications of Artificial Neural Networks for Adsorption Removal of Dyes from Aqueous Solution: A Review. *Adv. Colloid Interface Sci.* **2017**, *245*, 20–39, doi:10.1016/j.cis.2017.04.015.
170. Dutta, S.; Parsons, S.A.; Bhattacharjee, C.; Bandhyopadhyay, S.; Datta, S. Development of an Artificial Neural Network Model for Adsorption and Photocatalysis of Reactive Dye on TiO₂ Surface. *Expert Syst. Appl.* **2010**, *37*, 8634–8638, doi:10.1016/j.eswa.2010.06.090.
171. Milonjić, S.K.; Ruvarac, A.L.; Šušić, M. V. The Heat of Immersion of Natural Magnetite in Aqueous Solutions. *Thermochim. Acta* **1975**, *11*, 261–266, doi:10.1016/0040-6031(75)85095-7.
172. Souza, I.D.L.; Saez, V.; Mansur, C.R.E. Lipid Nanoparticles Containing Coenzyme Q10 for Topical Applications: An Overview of Their Characterization. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2023**, *230*, 113491, doi:10.1016/j.colsurfb.2023.113491.
173. Gregg, S.J.; Sing, K.S.W. Adsorption, Surface Area and Porosity: Second Edition 1982, 1–313.
174. Lippens, B.C.; Linsen, B.G.; Boer, J.H. d. Studies on Pore Systems in Catalysts I. The Adsorption of Nitrogen; Apparatus and Calculation. *J. Catal.* **1964**, *3*, 32–37, doi:10.1016/0021-9517(64)90089-2.
175. Ilić, N.; Davidović, S.; Milić, M.; Lađarević, J.; Onjia, A.; Dimitrijević-Branković, S.; Mihajlovski, K. Green Biocatalyst for Decolorization of Azo Dyes from Industrial Wastewater: Coriolopsis Troglia 2SMKN Laccase Immobilized on Recycled Brewer's Spent Grain. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2024**, *31*, 32072–32090, doi:10.1007/s11356-024-33367-x.
176. Fiala, H.; Bendjeffal, H.; Achraf, H.; Amina, L.; Yamina, B.; Zhour, H.; Abdelhak, G. Removal of Malachite Green Dye From Aqueous Media Using Helianthus Annuus Seeds Shells as Eco-Friendly Adsorbent: Optimization, Equilibrium, and Kinetic Studies. *Ann.*

Rom. Soc. Cell Biol. **2021**, *25*, 16488–16510.

177. Güzel, F.; Saygili, H.; Saygili, G.A.; Koyuncu, F. Decolorisation of Aqueous Crystal Violet Solution by a New Nanoporous Carbon: Equilibrium and Kinetic Approach. *J. Ind. Eng. Chem.* **2014**, *20*, 3375–3386, doi:10.1016/j.jiec.2013.12.023.
178. Lewis CD. *Industrial and Business Forecasting Method*. London: Butter- WortheHeinemann; 1982.; 1982;
179. Pollard, Z.A.; Goldfarb, J.L. Valorization of Cherry Pits: Great Lakes Agro-Industrial Waste to Mediate Great Lakes Water Quality. *Environ. Pollut.* **2021**, *270*, 116073, doi:10.1016/j.envpol.2020.116073.
180. Karakaş, C.; Özçimen, D.; İnan, B. Potential Use of Olive Stone Biochar as a Hydroponic Growing Medium. *J. Anal. Appl. Pyrolysis* **2017**, *125*, 17–23, doi:10.1016/j.jaap.2017.05.005.
181. Xiaofeng, B.; Xiaoqin, Z.; Zifu, L.; Jiewen, N.; Xue, B. Properties and Applications of Biochars Derived from Different Biomass Feedstock Sources. *Int. J. Agric. Biol. Eng.* **2017**, *10*, 242–250, doi:10.3965/j.ijabe.20171002.2878.
182. Farhadi, S.; Javanmard, M.; Safavi, M. Sour-Cherry Seed Polyphenol Contents, Antioxidant Activity and Nutritional Components as a Potential Bioactive Source. *Nutr. Food Sci. Res.* **2022**, *9*, 19–29, doi:10.52547/nfsr.9.1.19.
183. Napitupulu, M.; Walanda, D.K.; Simatupang, M. Utilization of Red Fruit’s Peel (Freycinetia Arborea Gaudich) as Biochar for Lead (Pb) Adsorption. *J. Phys. Conf. Ser.* **2020**, *1434*, doi:10.1088/1742-6596/1434/1/012033.
184. Maroneze, M.M.; Zepka, L.Q.; Vieira, J.G.; Queiroz, M.I.; Jacob-Lopes, E. Biochar from Orange Waste as a Filter Medium for Domestic Effluent Treatment Aimed at Agricultural Reuse. *Rev. Ambient. e Agua* **2014**, *9*, 445–458, doi:10.4136/1980-993X.
185. Shaaban, A.; Se, S.M.; Mitan, N.M.M.; Dimin, M.F. Characterization of Biochar Derived from Rubber Wood Sawdust through Slow Pyrolysis on Surface Porosities and Functional Groups. *Procedia Eng.* **2013**, *68*, 365–371, doi:10.1016/j.proeng.2013.12.193.
186. Demirbas, A. The Influence of Temperature on the Yields of Compounds Existing in Bio-Oils Obtained from Biomass Samples via Pyrolysis. *Fuel Process. Technol.* **2007**, *88*, 591–597, doi:10.1016/j.fuproc.2007.01.010.
187. Qamhieh, K. Effect of Dielectric Constant on the Zeta Potential of Spherical Electric Double Layers. *Molecules* **2024**, *29*, doi:10.3390/molecules29112484.
188. Shi, Q.; Wang, Y.; Zhang, X.; Shen, B.; Wang, F.; Zhang, Y. Hierarchically Porous Biochar Synthesized with CaCO₃ Template for Efficient Hg₀ Adsorption from Flue Gas. *Fuel Process. Technol.* **2020**, *199*, 106247, doi:10.1016/j.fuproc.2019.106247.
189. Mandal, S.; Ishak, S.; Adnin, R.J.; Lee, D.E.; Park, T. An Approach to Utilize Date Seeds Biochar as Waste Material for Thermal Energy Storage Applications. *J. Energy Storage* **2023**, *68*, 107739, doi:10.1016/j.est.2023.107739.
190. Khadem, M.; Husni Ibrahim, A.; Mokashi, I.; Hasan Fahmi, A.; Noeman Taqui, S.; Mohanavel, V.; Hossain, N.; Baba Koki, I.; Elfasakhany, A.; Dhaif-Allah, M.A.H.; et al. Removal of Heavy Metals from Wastewater Using Low-Cost Biochar Prepared from Jackfruit Seed Waste. *Biomass Convers. Biorefinery* **2023**, *13*, 14447–14456, doi:10.1007/s13399-022-02748-y.

191. Das, S.K.; Ghosh, G.K.; Avasthe, R.; Sinha, K. Morpho-Mineralogical Exploration of Crop, Weed and Tree Derived Biochar. *J. Hazard. Mater.* **2021**, *407*, 124370, doi:10.1016/j.jhazmat.2020.124370.
192. Ahmad, M.; Ahmad, M.; Usman, A.R.A.; Al-Faraj, A.S.; Abduljabbar, A.; Ok, Y.S.; Al-Wabel, M.I. Date Palm Waste-Derived Biochar Composites with Silica and Zeolite: Synthesis, Characterization and Implication for Carbon Stability and Recalcitrant Potential. *Environ. Geochem. Health* **2019**, *41*, 1687–1704, doi:10.1007/s10653-017-9947-0.
193. Augustine, D.; Abdelhaleem, A.; Ookawara, S.; Nasr, M. A Novel Adsorption/Co-Digestion/Pyrolysis Scheme for Potato Peel Waste Management to Fulfill the Sustainable Development Goals (SDGs). *Waste and Biomass Valorization* **2024**, 6323–6341, doi:10.1007/s12649-024-02594-1.
194. Li, X.; Huang, Y.; Liang, X.; Huang, L.; Wei, L.; Zheng, X.; Albert, H.A.; Huang, Q.; Liu, Z.; Li, Z. Characterization of Biochars from Woody Agricultural Wastes and Sorption Behavior Comparison of Cadmium and Atrazine. *Biochar* **2022**, *4*, 1–12, doi:10.1007/s42773-022-00132-7.
195. Taheri, M. al-R.; Astaraei, A.R.; Lakzian, A.; Emami, H. The Role of Biochar and Sulfur-Modified Biochar on Soil Water Content, Biochemical Properties and Millet Crop under Saline-Sodic and Calcareous Soil. *Plant Soil* **2024**, *499*, 221–236, doi:10.1007/s11104-023-05912-z.
196. Yadav, M.; Singh, N.; Annu; Khan, S.A.; Raorane, C.J.; Shin, D.K. Recent Advances in Utilizing Lignocellulosic Biomass Materials as Adsorbents for Textile Dye Removal: A Comprehensive Review. *Polymers (Basel)*. **2024**, *16*, doi:10.3390/polym16172417.
197. Srivastava, V.C.; Mall, I.D.; Mishra, I.M. Removal of Cadmium(II) and Zinc(II) Metal Ions from Binary Aqueous Solution by Rice Husk Ash. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **2008**, *312*, 172–184, doi:10.1016/j.colsurfa.2007.06.048.
198. Saif Ur Rehman, M.; Munir, M.; Ashfaq, M.; Rashid, N.; Nazar, M.F.; Danish, M.; Han, J.I. Adsorption of Brilliant Green Dye from Aqueous Solution onto Red Clay. *Chem. Eng. J.* **2013**, *228*, 54–62, doi:10.1016/j.cej.2013.04.094.
199. Akanda, M.R.; Sohrawordi, M.; Haque, M.A.; Shahrear, M.S.; Ahmed, N. Preparation of Novel Green Adsorbent (Tabernaemontana Divaricata Leaf Powder) and Evaluation of Its Dye (Malachite Green) Removal Capacity, Mechanism, Kinetics, and Phytotoxicity. *South African J. Chem. Eng.* **2024**, *49*, 178–188, doi:10.1016/j.sajce.2024.05.005.
200. Fadali, O.A. Effect of Gas Stirring on External Mass Transfer, Intraparticle Diffusion and Energy Consumption during Adsorption. *Adsorpt. Sci. Technol.* **2003**, *21*, 935–950, doi:10.1260/02636170360744371.
201. McKay, G.; Poots, V.J.P. Kinetics and Diffusion Processes in Colour Removal from Effluent Using Wood as an Adsorbent. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **1980**, *30*, 69, doi:https://doi.org/10.1002/jctb.503300134.
202. Chowdhury, S.; Saha, D.P. Biosorption Kinetics, Thermodynamics and Isothermic Heat of Sorption of Cu(II) onto Tamarindus Indica Seed Powder. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* **2011**, *88*, 697–705, doi:10.1016/j.colsurfb.2011.08.003.
203. Ezzi, A.; Rahman, A.A. Removal of Phenol by Expanded Bed Airlift Loop Reactor. *Iran. J. Chem. Chem. Eng.* **2022**, *41*, 154–162, doi:10.30492/ijcce.2021.120613.3941.
204. Nassar, M.; Farrag, T. Kinetics and Process Design for Adsorption of Maxilon Red Dye

- From Aqueous Solutions Using Gas Mixing. *Int. Conf. Chem. Environ. Eng.* **2012**, *6*, 1–13, doi:10.21608/iccee.2012.35794.
205. Zhu, Q.; Moggridge, G.D.; D'Agostino, C. Adsorption of Pyridine from Aqueous Solutions by Polymeric Adsorbents MN 200 and MN 500. Part 2: Kinetics and Diffusion Analysis. *Chem. Eng. J.* **2016**, *306*, 1223–1233, doi:10.1016/j.cej.2016.07.087.
206. McKay, G.; Otterburn, M.S.; Sweeney, A.G. The Removal of Colour from Effluent Using Various Adsorbents-III. Silica: Rate Processes. *Water Res.* **1980**, *14*, 15–20, doi:10.1016/0043-1354(80)90037-8.
207. Liu, G.; Sun, L.; Wu, X.; Zhang, W.; Feng, J.; Cui, Y.; Lu, Z.; Shen, J.; Liu, Z.; Yuan, S. Immobilization of Puerarin Glycosidase from *Microbacterium Oxydans* CGMCC 1788 Increases Puerarin Transformation Efficiency. *Brazilian J. Chem. Eng.* **2014**, *31*, 325–333, doi:10.1590/0104-6632.20140312s00002768.
208. Taheran, M.; Naghdi, M.; Brar, S.K.; Knystautas, E.J.; Verma, M.; Surampalli, R.Y. Degradation of Chlorotetracycline Using Immobilized Laccase on Polyacrylonitrile-Biochar Composite Nanofibrous Membrane. *Sci. Total Environ.* **2017**, *605–606*, 315–321, doi:10.1016/j.scitotenv.2017.06.185.
209. Yasmin, H.A.N.; Kunasundari, B.; Shuit, S.H.; Tompong, M.F. Paddy Straw Saccharification Using Immobilized Laccase on Magnetized Multiwall Carbon Nanotubes. *Biotechnol. Lett.* **2024**, *46*, 559–569, doi:10.1007/s10529-024-03494-z.
210. Lonappan, L.; Liu, Y.; Rouissi, T.; Pourcel, F.; Brar, S.K.; Verma, M.; Surampalli, R.Y. Covalent Immobilization of Laccase on Citric Acid Functionalized Micro-Biochars Derived from Different Feedstock and Removal of Diclofenac. *Chem. Eng. J.* **2018**, *351*, 985–994, doi:10.1016/j.cej.2018.06.157.
211. Lonappan, L.; Liu, Y.; Rouissi, T.; Brar, S.K.; Verma, M.; Surampalli, R.Y. Adsorptive Immobilization of Agro-Industrially Produced Crude Laccase on Various Micro-Biochars and Degradation of Diclofenac. *Sci. Total Environ.* **2018**, *640–641*, 1251–1258, doi:10.1016/j.scitotenv.2018.06.005.
212. Zhang, Y.; Piao, M.; He, L.; Yao, L.; Piao, T.; Liu, Z.; Piao, Y. Immobilization of Laccase on Magnetically Separable Biochar for Highly Efficient Removal of Bisphenol A in Water. *RSC Adv.* **2020**, *10*, 4795–4804, doi:10.1039/c9ra08800h.
213. Samui, A.; Sahu, S.K. One-Pot Synthesis of Microporous Nanoscale Metal Organic Frameworks Conjugated with Laccase as a Promising Biocatalyst. *New J. Chem.* **2018**, *42*, 4192–4200, doi:10.1039/c7nj03619a.
214. Chand, D. Comparative Study of Dye Decolorization Using Free and Alginate Gel Entrapped Laccase from *Cercospora* Sp. SPF-6. *Adv. Biotechnol. Microbiol.* **2018**, *11*, doi:10.19080/aibm.2018.11.555813.
215. Rajhans, G.; Barik, A.; Sen, S.K.; Raut, S. Degradation of Dyes by Fungi: An Insight into Mycoremediation. *Biotechnologia* **2021**, *102*, 445–455, doi:10.5114/BTA.2021.111109.
216. Alsaiari, N.S.; Amari, A.; Katubi, K.M.; Alzahrani, F.M.; Harharah, H.N.; Rebah, F. Ben; Tahoon, M.A. The Biocatalytic Degradation of Organic Dyes Using Laccase Immobilized Magnetic Nanoparticles. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, doi:10.3390/app11178216.
217. Doğaç, Y.I.; Çinar, M.; Teke, M. Improving of Catalase Stability Properties by Encapsulation in Alginate/Fe₃O₄ Magnetic Composite Beads for Enzymatic Removal of H₂O₂. *Prep. Biochem. Biotechnol.* **2015**, *45*, 144–157, doi:10.1080/10826068.2014.907178.

218. Jankowska, K.; Ciesielczyk, F.; Bachosz, K.; Zdarta, J.; Kaczorek, E.; Jesionowski, T. Laccase Immobilized onto Zirconia-Silica Hybrid Doped with Cu²⁺ as an Effective Biocatalytic System for Decolorization of Dyes. *Materials (Basel)*. **2019**, *12*, doi:10.3390/ma12081252.
219. Amari, A.; Alzahrani, F.M.; Alsaiari, N.S.; Katubi, K.M.; Rebah, F. Ben; Tahoona, M.A. Magnetic Metal Organic Framework Immobilized Laccase for Wastewater Decolorization. *Processes* **2021**, *9*, 1–14, doi:10.3390/pr9050774.
220. Teerapatsakul, C.; Parra, R.; Keshavarz, T.; Chitradon, L. Repeated Batch for Dye Degradation in an Airlift Bioreactor by Laccase Entrapped in Copper Alginate. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **2017**, *120*, 52–57, doi:10.1016/j.ibiod.2017.02.001.
221. Praveen, S.; Jegan, J.; Pushpa, T.B.; Gokulan, R. Artificial Neural Network Modelling for Biodecolorization of Basic Violet 03 from Aqueous Solution by Biochar Derived from Agro-Bio Waste of Groundnut Hull: Kinetics and Thermodynamics. *Chemosphere* **2021**, *276*, 130191, doi:10.1016/j.chemosphere.2021.130191.
222. Hamilton LC. *Modern Data Analysis: A First Course in Applied Statistics*. Technometrics, Vol. 33, Pacific Grove, CA, USA: Brooks/Cole Pub. Co.; 1991. **1991**, *33*, 1991.

Biografija autora

Anja (Velimir) Antanasković rođena je 24.02.1995. godine u Beogradu. Osnovnu i srednju Medicinsku školu (obrazovni profil – farmaceutski tehničar) završila je u Beogradu. Školske 2014/2015. godine upisala je osnovne akademske studije na Tehnološko-metalurškom fakultetu, Univerziteta u Beogradu, na studijskom programu Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija. Master akademske studije upisala je 2018. godine na istom fakultetu, na smeru Prehrambena tehnologija i 2019. godine odbranila master rad. Tokom studija volontirala je u kompaniji SAGAL-FOOD d.o.o. Beograd i u Muzeju nauke i tehnologije Univerziteta u Patrasu, u Grčkoj. Doktorske studije upisala je školske 2019/2020. godine na Tehnološko-metalurškom fakultetu, na smeru Biohemijско inženjerstvo i biotehnologija, i položila sve ispite predviđene studijskim programom sa prosečnom ocenom 9,83. Završni ispit na doktorskim studijama pod nazivom „Izbor materijala na bazi sporednih proizvoda prehrambene i agroindustrije za razvoj biosorbenata“ odbranila je sa ocenom 10, Septembra 2021. godine.

Od oktobra 2019. godine zaposlena je u Institutu za tehnologiju nuklearnih i drugih mineralnih sirovina, u Centru za zaštitu životne sredine u Beogradu. Tokom rada angažovana je na nekoliko značajnih projekata. Od oktobra 2019. godine angažovana je na projektu „Razvoj tehnologija i proizvoda na bazi mineralnih sirovina i otpadne biomase za zaštitu resursa za proizvodnju bezbedne hrane“ (TR31003), koji je finansiran od strane Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije. U periodu od 2023. do 2024. godine učestvovala je kao član tima na bilateralnom projektu saradnje sa Francuskom, pod nazivom „Biočad kao podrška cirkularnoj (bio)ekonomiji – sinteza materijala na bazi lignoceluloznog otpada sa multifunkcionalnom primenom: prečišćavanje voda, remedijacija i obogaćivanje zemljišta“, koji je finansiran od strane Ministarstva nauke, tehnološkog razvoja i inovacija Republike Srbije. Od 2023. godine angažovana je kao član tima na projektu „Od otpada do hrane i oplemenjivanja zemljišta – minimizacija otpada primenom principa cirkularne ekonomije u industriji prerade voća i povrća“ koji se realizuje u okviru programa PRIZMA (projekat br. 7439), finansiran od strane Fond za nauku Republike Srbije.

Autor i koautor je 8 radova u časopisima međunarodnog značaja (jedan rada u kategoriji M24, tri rada u kategoriji M23, tri rada u kategoriji M22 i jedan rad u kategoriji M21), 18 saopštenja sa međunarodnih konferencija štampanih u celini (M33), 24 saopštenja sa međunarodnih konferencija štampanih u izvodu (M34), 2 rada u domaćem novopokrenutom časopisu (M54), 5 saopštenja sa skupova nacionalnog značaja štampanih u celini (M63).

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора Ања Антанасковић

Број индекса 4006/2019

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

Синтеза, карактеризација и примена мултифункционалних биочађи на бази отпадне лигноцелулозне биомасе

- резултат сопственог истраживачког рада;
- да дисертација у целини ни у деловима није била предложена за стицање друге дипломе према студијским програмима других високошколских установа;
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис аутора

У Београду, 04.06.2025. године

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора Ања Антанасковић

Број индекса 4006/2019

Студијски програм Биохемијско инжењерство и биотехнологија

Наслов рада Синтеза, карактеризација и примена мултифункционалних биочађи на бази отпадне лигноцелулозне биомасе

Ментор др Милан Миливојевић и др Зорица Лопичић

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла ради похрањена у **Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду**.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског назива доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада.

Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама дигиталне библиотеке, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Београду.

Потпис аутора

У Београду, 04.06.2025. године

Изјава о коришћењу

Овлашћујем Универзитетску библиотеку „Светозар Марковић“ да у Дигитални репозиторијум Универзитета у Београду унесе моју докторску дисертацију под насловом:

Синтеза, карактеризација и примена мултифункционалних биочађи на бази отпадне лигноцелулозне биомасе

која је моје ауторско дело.

Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство (CC BY)
2. Ауторство – некомерцијално (CC BY-NC)
- ③ Ауторство – некомерцијално – без прерада (CC BY-NC-ND)
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима (CC BY-NC-SA)
5. Ауторство – без прерада (CC BY-ND)
6. Ауторство – делити под истим условима (CC BY-SA)

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци.
Кратак опис лиценци је саставни део ове изјаве).

Потпис аутора

У Београду, 04.06.2025.

1. **Ауторство.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.

2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.

3. **Ауторство – некомерцијално – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.

4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.

5. **Ауторство – без прерада.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.

6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољаваате умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.

ОЦЕНА ИЗВЕШТАЈА О ПРОВЕРИ ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

На основу Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду и налаза у извештају генерисаном од стране програма iThenticate којим је извршена провера оригиналности докторске дисертације „Синтеза, карактеризација и примена мултифункционалних биочађи на бази отпадне лигноцелулозне биомасе“ од 27.06.2025. године, аутора Ање Антанасковић, констатујемо да утврђено поклапање текста износи 12%. Овај степен подударности је последица преклапања у употреби стручних термина, назива коришћених метода и њихових скраћеница, као и личних имена, цитата и инструмената који су саставни део дисертације, што је у складу са чланом 9. Правилника. На основу свега изнетог, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, изјављујем да извештај указује на оригиналност докторске дисертације, те се прописани поступак припреме за њену одбрану може наставити.

30.06.2025. године

Ментори:

др Милан Миливојевић, ванредни професор
Универзитета у Београду, Технолошко-металуршки факултет

др Зорица Лопичић, виши научни сарадник
Институт за технологију нуклеарних и других минералних сировина