Biološko uklanjanje fenola iz otpadnih voda

Janton, Nikolina

Undergraduate thesis / Završni rad

2015

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:363402

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE
SVEUČILIŠNI PREDDIPLOMSKI STUDIJ

Nikolina Janton

BIOLOŠKO UKLANJANJE FENOLA IZ OTPADNIH VODA

ZAVRŠNI RAD

Voditelj rada: izv. prof. dr. sc. Marija Vuković Domanovac

Članovi ispitnog povjerenstva:
Izv. prof. dr. sc. Marija Vuković Domanovac
Dr. sc. Dajana Kučić, znan. sur.
Doc. dr. sc. Miroslav Jerković

Zagreb, srpanj 2015.

Zahvaljujem se svojoj mentorici izv. prof. dr.sc. Mariji Vuković Domanovac na susretljivosti, motivaciji, stručnom vodstvu te brojnim korisnim savjetima pri izradi završnog rada.

Zahvaljujem se znanstvenoj suradnici dr. sc. Dajani Kučić na strpljenju, susretljivosti i pruženoj pomoći pri eksperimentalnom i samom pisanom dijelu rada. Zahvaljujem i svim djelatnicima Zavoda za industrijsku ekologiju na stručnim savjetima i ugodnom radnom okruženju.

Zahvaljujem se svim dragim i bliskim ljudima koji su mi pružali podršku. Posebno se zahvaljujem roditeljima koji su moja najveća inspiracija i podrška u dosadašnjem školovanju.

SAŽETAK

U današnje vrijeme konstantan porast emisija industrijskih otpadnih voda predstavlja sve veći problem. Posebno opasnima smatraju se fenolni spojevi, koje većinom sadržavaju otpadne vode nastale na području Mediterana. Jedna od prihvatljivijih obrada otpadnih voda je biološka obrada zbog svoje učinkovitosti te jednostavnosti u primjeni i ekonomskoj isplativosti. Za uklanjanje fenolnih spojeva sve više se koriste kvasci, koji su se pokazali vrlo uspješnima. U ovome radu proveden je proces biorazgradnje fenola *Candidom tropicalis* 193 u šaržnim uvjetima. U pokusu prilagodbe *C. tropicalis* 193 početne koncentracije fenola iznosile su 300-600 mg dm^{-3}, a u pokusu uklanjanja fenola 60-220 mg dm^{-3}. Tijekom pokusa određivane su koncentracije biomase i koncentracije fenola. Kvasac *C. tropicalis* 193 je u svim pokusima pokazao visoku učinkovitost u razgradnji fenola na koncentracije niže od 10 mg dm^{-3}.

Ključne riječi: otpadna voda, fenoli, biorazgradnja, *Candida tropicalis* 193

SUMMARY

Constant growth of an industrial wastewater emission represents an increasing problem nowadays. Phenolic compounds, which are mostly contained in wastewaters generated in the Mediterranean area, are especially hazardous. One of acceptable wastewater treatment is biological treatment due to its effectiveness and simplicity in application and economic feasibility. Yeasts are increasingly used in phenolic compounds removal because they have been proven very successful. In this thesis, a process of biodegradation of phenols with *Candida tropicalis* 193 in batch conditions has been conducted. In the adjustment experiment of *C. tropicalis* 193, concentrations of phenols 300-600 mg dm^{-3} were used, and the concentrations of phenols 60-220 mg dm^{-3} were used in removal of phenols. During the experiments, the biomass and phenol concentrations were determined. In all experiments the yeast *C. tropicalis* 193 showed a high efficiency in phenol biodegradation with concentrations lower than 10 mg dm^{-3}.

Key words: wastewater, phenol, biodegradation, *Candida tropicalis* 193

SADRŽAJ

1. UVOD 1
2. OPĆI DIO 2
2.1. OTPADNE VODE 2
2.1.1. Komunalne otpadne vode 2
2.1.2. Industrijske otpadne vode 3
2.1.3. Oborinske otpadne vode 3
2.2. OBRADA INDUSTRIJSKIH OTPADNIH VODA 4
2.2.1. Obrada industrijskih otpadnih voda onečišćenih fenolima 6
2.2.2. Biološka obrada industrijskih otpadnih voda onečišćenih fenolima 7
2.4. FENOLI 8
3. EKSPERIMENTALNI DIO 11
3.1. MATERIJALI 11
3.1.1. Kvasac *Candida tropicalis* 193 11
3.1.2. Standardna otopina fenola 11
3.2. MJERNI INSTRUMENTI I OPREMA 12
3.3. METODE RADA 12
3.3.1. Proces biorazgradnje fenola 12
3.3.1.1. Prilagodba *Candide tropicalis* 193 na fenole 13
3.3.1.2. Uklanjanje fenola pomoću *Candide tropicalis* 193 13
3.3.2. Određivanje koncentracije biomase 13
3.3.3. Određivanje koncentracije fenola 13
4. REZULTATI 14
4.1. BAŽDARNI DIJAGRAMI ZA BIOMASU I FENOL 14
4.2. PROCES BIORAZGRADNJE FENOLA 15
4.2.1. Proces prilagodbe *Candide tropicalis* 193 15
4.2.2. Proces uklanjanja fenola *Candidom tropicalis* 193 17
5. RASPRAVA 22
5.1. BAŽDARNI DIJAGRAMI ZA BIOMASU I FENOL 22
5.2. PROCES BIORAZGRADNJE FENOLA 22
5.2.1. Proces prilagodbe *Candide tropicalis* 193 22
5.2.2. Proces uklanjanja fenola *Candidom tropicalis* 193 24
6. ZAKLJUČAK 27
7. LITERATURA 28

1. UVOD

Sredozemno more je najveće poluzatvoreno europsko more, na čijim obalnim gradovima danas živi preko 82 milijuna stanovnika. Iako rast populacije usporava, to još uvijek znači da raste i pritisak na okoliš u neposrednoj budućnosti, pogotovo jer se rast stanovništva koncentrira u zemljama južnog i istočnog Mediterana. Ljudska aktivnost u obalnim područjima dovodi do ozbiljnih problema onečišćenja, zbog proizvodnje velikih količina industrijskog i komunalnog otpada. Veliko opterećenje predstavljaju i turisti koji u sve većem broju posjećuju obalu Mediterana, a očekuje se da će se taj broj udvostručiti do 2025. godine. Zbog navedenih razloga ta područja najviše pate zbog nestašice vode uz onečišćenje slatkovodnih resursa. Procjenjuje se da 30 milijuna ljudi u Mediteranu živi bez pristupa čistoj i pitkoj vodi. U budućnosti se očekuje da će nestašicom vode najviše biti pogođeni: Egipat, Izrael, Libija, palestinska područja, na španjolskom Mediteranu slivna područja te Malta, Sirija i Tunis. Taj problem ima izravan utjecaj na građane i gospodarski sektor koji ovisi o vodi. Suša ima i šire posljedice na prirodne resurse u cjelini kroz negativne nuspojave na biološku raznolikost, povećana opasnost od šumskih požara i osiromašenje tla.[1-3]

Sve zemlje kao najveći problem navode otpadne vode nastale u industriji. Većinu prijetnji predstavljaju naftna industrija, kemijska industrija te proizvodnja maslinovog i eteričnog ulja. Učinci industrija zajedno sa urbanizacijom i turizmom dovode do pogoršanja situacije. To bi moglo potaknuti razmišljanja da se u budućnosti sve više provode brojne politike koje se temelje na boljem upravljanju vodama s povećanjem njihove kvalitete. Najbolje bi bilo spriječiti nastajanje otpadnih voda brojnim poboljšanim proizvodnim procesima, a neizbježno nastali otpad zbrinuti na što ekološki prihvatljiviji način. Zato danas postoje mnogi načini obrade tih voda kako bi one bile pogodne za ponovno korištenje ili za ispuštanje u prirodne vodotoke na način da negativno ne utječu na vodeni ekosustav kao i na druge sastavnice okoliša. Primjer onečišćenih voda su industrijske otpadne vode nastale u proizvodnji maslinovog ulja. Toksičnost ovakvih otpadnih voda potječe upravo od fenolnih spojeva. Danas se otpadne vode nastale u proizvodnji maslinovog ulja smatraju jednim od najvećih onečišćivača na području Mediterana upravo zbog visokih koncentracija toksičnih tvari, prije svega fenola.[4-12]

U ovome radu ispitana je učinkovitost kvasca *Candide tropicalis* pri razgradnji fenola u vodenoj otopini.

2. OPĆI DIO

2.1. OTPADNE VODE

Otpadne vode nastaju uporabom vode iz raznovrsnih vodoopskrbnih sustava za određene namjene, pri čemu dolazi do promjena njenih prvobitnih značajki: fizikalnih, kemijskih i mikrobioloških. Prema svom porijeklu mogu se podijeliti na:[3]

- *Komunalne otpadne vode* - upotrijebljene otpadne vode iz kućanstva, ustanova, škola, bolnica, ugostiteljstva,
- *Industrijske otpadne vode* - upotrijebljene vode iz industrijskih pogona,
- *Oborinske otpadne vode* - nastale od oborina koje se više ili manje onečišćuju u doticaju s nižim slojevima atmosfere, površinama tla, krovovima.

2.1.1. Komunalne otpadne vode

Komunalne otpadne vode podrazumijevaju sve otpadne vode koje nastaju zbog kućanskih aktivnosti, za zadovoljavanje životnih funkcija, sanitarnih potreba te čišćenja prometnica. Kada govorimo o podjeli kućanskih otpadnih voda, razlikujemo:[4]

- *sive vode* - predstavljaju otpadne vode iz kupaonica, praonica i bazena; ne sadržavaju puno krutih tvari i postoji mogućnost prenamjene ako postoji razdjelni sustav odvodnje kućanskih otpadnih voda, mogu se koristiti za zalijevanje vrtova.
- *crne vode* - predstavljaju otpadne vode iz kuhinja i sanitarnih čvorova.

Temperatura kućanskih otpadnih voda povišena je u usporedbi s vodom iz vodoopskrbnog sustava zbog uporabe tople vode u kuhinjama i kupaonicama, te u kanalizacijskom sustavu zbog popratnog procesa biorazgradnje. Gradske vode neugodna su izgleda, boje i mirisa, što uzrokuje dodatno onečišćenje prijemnika u estetskom smislu.[4] Povećanjem broja turista u Mediteranskim zemljama i samim time razvojem tercijarnog sektora (uslužne djelatnosti) proporcionalno raste količina komunalnih otpadnih voda. Bez obzira na to, odgovarajućim postupcima za obradu otpadnih voda, taj problem se može riješiti.

2.1.2. Industrijske otpadne vode

Industrijske otpadne vode predstavljaju sve veći problem općenito u svijetu, posebice na Mediteranu. Različiti tehnološki procesi u industrijama uvjetuju i različite sastave otpadnih voda i prema tome imamo dvije osnovne grupe:[5]

- *biološki razgradive* - one koje se mogu miješati s gradskim otpadnim vodama, odnosno odvoditi zajedničkom kanalizacijom (npr. iz nekih prehrambenih industrija).
- *biološki nerazgradive* - one koje se moraju podvrgnuti prethodnom postupku obrade prije miješanja s gradskom otpadnom vodom (npr. iz kemijske, metalne industrije).

Industrijske otpadne vode se mogu podjeliti[5] na onečišćene vode i uvjetno čiste, pri čemu se u uvjetno čiste vode ubrajaju one vode koje uporabom nisu pretrpjele značajne fizikalno i kemijske promjene te se mogu bez predobrade ispustiti u kanalizaciju ili prijemnik. Većina industrija upotrebljava znatne količine vode koje na ispustu imaju povišenu temperaturu, što za posljedicu ima toplinsko onečišćenje prirodnih prijemnika. Različite industrije imaju problem zbog sastava otpadne vode, jer mogu sadržavati sastojke koji su toksični ili teško razgradivi te ugroziti okoliš. Tu spadaju teški metali, kiseline, lužine, nafta i naftni derivati, masti i mineralna ulja, radioaktivni izotopi, sintetski kemijski spojevi, odnosno sastojci koje ne sadržavaju prirodne vode.[5,6] Industrijska otpadna voda je u većini slučajeva opterećena visokim sadržajem tvari organskog i/ili anorganskog podrijetla, visokim ili niskim pH-vrijednostima, policikličkim aromatskim spojevima, fenolima, organometalnim spojevima i pesticidima koji predstavljaju sve veću opasnost i veliki problem. Potrebno je naći odgovarajući način obrade otpadne vode kako bi se koncentracije onečišćujućih tvari spustile na maksimalno dozvoljene vrijednosti.

2.1.3. Oborinske otpadne vode

Oborinske otpadne vode smatraju se uvjetno čistim vodama, jer ispiru atmosferu i otapaju ili prema površini Zemlje prenose sve sastojke koji se na određenom području ispuštaju u atmosferu ili pak pod utjecajem vjetrova dolaze iz drugih, znatno udaljenijih krajeva. Primjer za to su kisele kiše koje ugrožavaju šume,

građevine i slično, te crvene ili žute kiše koje nastaju kao posljedica ispiranja pustinjske prašine koja dopire čak od Afrike.

U skupinu oborinskih otpadnih voda možemo svrstati i vode koje nastaju topljenjem snijega. Posebno su onečišćeni oni dotoci koji se javljaju pri naglom zatopljenju, i to u fazama završnog topljenja snijega kada sva nečistoća prikupljena tijekom razdoblja niskih temperatura dospijeva u kanalizaciju.[3,5]

2.2. OBRADA INDUSTRIJSKIH OTPADNIH VODA

Izbor postupka obrade otpadne vode, prije nego se ispusti u prirodni recipijent, ovisi prvenstveno o količini i sastavu otpadne vode, kao i o zahtijevanoj kakvoći vode na mjestu ispuštanja. Obično je riječ o kombinaciji niza postupaka kako bi učinak svakog od pojedinih postupaka i njihova kombinacija dali što bolje krajnje rezultate.

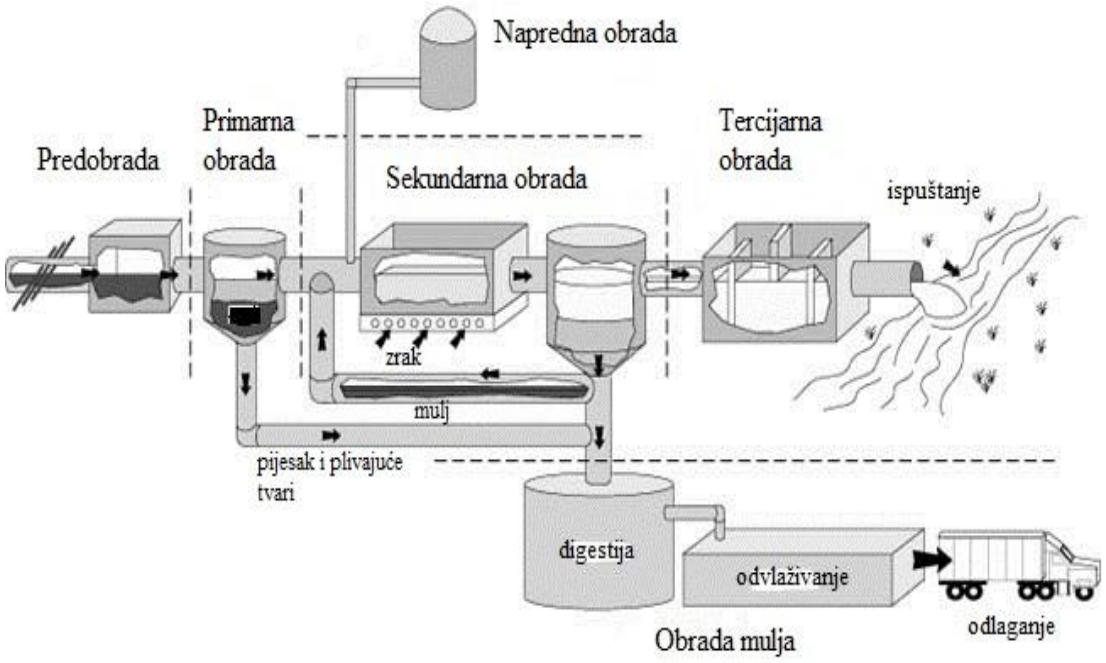
Postupci obrade otpadne vode mogu biti fizikalni, kemijski i biološki,a dijele se najčešće na faze:[3]

- Mehanička ili primarna obrada
- Biološka ili sekundarna obrada
- Fizikalno-kemijska ili tercijarna obrada

Mehanička obrada podrazumijeva obradu s ciljem uklanjanja grubih i plivajućih tvari koje bi mogle smetati u daljnjim procesima obrade. Zato se i ovi postupci nazivaju primarnim.

Sekundarna obrada iskorištava aktivnost mikroorganizama, najčešće bakterija u razgradnji organske tvari. Procesi se mogu se podijeliti na aerobne i anaerobne. Aerobni proces odvija se uz prisustvo kisika, a učinkovit je kada su koncentracije hranjivih tvari niže, odnosno kada vrijednost kemijske potrošnje kisika, KPK, iznosi do 1,0 g dm^{-3}.[7] Obradom otpadnih voda koje imaju visoke vrijednosti KPK nastaju velike količine aktivnog mulja koji se mora izdvojiti iz sustava obrade otpadne vode u svrhu uklanjanja viška žive i mrtve organske i anorganske tvari kako bi se proces mogao kontinuirano izvoditi i održavati. Nakon što se izdvoji iz sustava mulj se mora stabilizirati pri čemu se uništavaju patogeni mikroorganizmi. Najčešće upotrebljavani proces stabilizacije je anaerobna digestija tokom kojeg se stvaraju plinovi metan i ugljikov dioksid, te se nakon toga vrši odvlaživanje mulja kako bi se on dalje mogao pravilno zbrinuti. Daljnje zbrinjavanje aktivnog mulja je poseban problem na čijem se

rješenju radi. Takav mulj opet s druge strane pokazuje veliku adsorpcijsku moć i na njega se mogu adsorbirati biološki teško razgradive i toksične tvari te s njime zajedno izdvojiti iz sustava obrade.[8,9] Anaerobni procesi se sastoje od niza mikrobioloških procesa, koji razgrađuju organske spojeve sve do metana i ugljikovog dioksida bez prisustva kisika. U prvome stadiju razgrađuju se velike organske molekule hidrolizom, kao što su polisaharidi i polifenoli, do njihovih monomera. Zatim se te molekule dalje razgrađuju do organskih kiselina acetogenim bakterijama i na kraju uz metanogene bakterije, kiseline prelaze u metan i ugljikov dioksid. Oba navedena procesa mogu biti i individualna, ali mogu biti i dio sustava obrade (Slika 2.1.). Nakon bioloških procesa potrebna je još dodatna obrada industrijskih otpadnih voda.[10]



Slika 2.1. Sustav obrade industrijskih otpadnih voda.

Tercijarna obrada (slika 2.1.) uključuje fizikalne procese: adsorpcija na čvrsti adsorbens, ozračivanje, reverzna osmoza i destilacija; te kemijske: neutralizacija, flokulacija, koagulacija, kemijska precipitacija, ionska izmjena i oksidacija. Navedeni procesi mogu se također kombinirati u sustavima za obradu otpadnih voda.[3,5]

2.2.1. Obrada industrijskih otpadnih voda onečišćenih fenolima

Potrebno je naći alternativne postupke koji bi bili djelotvorni pri obradi voda onečišćenih koncentriranim i/ili toksičnim te biološki nerazgradivim organskim tvarima poput fenola. Najbolji primjer za takve onečišćene vode su industrijske otpadne vode nastale u proizvodnji maslinovog ulja. Toksičnost ovakvih otpadnih voda potječe upravo od fenolnih spojeva. Identificirano je trideset različitih vrsta fenola prisutnih u vegetativnim vodama kao što su: monociklične aromatske molekule - hidroksitirosol, tirosol, katehol, metilkatehol i spojevi sa većim molekularnim masama dobiveni polimerizacijom jednostavnijih spojeva.[11]

Danas se otpadne vode nastale u proizvodnji maslinovog ulja smatraju jednim od najvećih onečišćivača na području Mediterana upravo zbog visokih koncentracija toksičnih tvari, prije svega fenola. Efluenti iz drugih industrijskih pogona također mogu sadržavati fenole u svom sastavu, no ipak ne u tolikim količinama kao vegetativne vode (Tablica 2.1.).[11,12]

Tablica 2.1. Koncentracija fenola u otpadnim vodama nekih industrijskih procesa.

Industrijski procesi	**γ (fenoli) / g dm $^{-3}$**
Proizvodnja plastičnih masa	0,6 - 2
Petrokemijska industrija	0,05 - 0,6
Industrija papira i celuloze	0,01
Pogoni za obradu drveta	0,15
Proizvodnja maslinovog ulja	9,2 - 80

Posljednjih godina predložen je niz načina obrade ovakvih otpadnih voda pomoću fizikalno-kemijskih procesa (ultrafiltracija, reverzna osmoza, adsorpcija, flokulacija), procesa ekstrakcije, naprednih procesa oksidacije, kompostiranje. Do sada najučinkovitijom pokazala se biološka obrada. Razlog je što ne zahtijeva velika financijska ulaganja i ne utječe štetno na okoliš te ne zahtijeva dodatna ulaganja oko zbrinjavanja nastalog otpada.[13,14]

2.2.2. Biološka obrada industrijskih otpadnih voda onečišćenih fenolima

Kao što je ranije spomenuto, biološki proces može biti aeroban ili anaeroban. Pri anaerobnom procesu pojavljuje se problem pri uklanjanju fenola većih molekularnih masa te je potreban duži period prilagodbe mikroorganizama u odnosu na aerobnu razgradnju pri kojoj ne dolazi do takvih problema. Ranija istraživanja fokusirala su se na specifične bakterijske vrste kao što su *Pseudomonas putida*[15], *Bacillus pumilus, Arthrobacter* sp., *Azobacter vinelandii* i mnoge druge, te su pokazala da aerobne bakterije uspješno razgrađuju fenole niskih molekularnih masa, ali su neučinkovite kod razgradnje kompleksnijih fenolnih spojeva koji su odgovorni za tamno obojenje otpadne vode[16].

Veliki kapacitet pri uklanjanju fenola pokazale su plijesni[17]. Istraživano je mnogo plijesni, a neke od njih su *Phanerochaete chrysosporium*[18] , *Aspergillus niger* i *Aspergillus terreus*[19]. Plijesni su se pokazale učinkovitijima od bakterija u razgradnji fenola, a naročito plijesni bijele truleži. Njihova visoka učinkovitost oslanja se na strukturu aromatskih spojeva prisutnih u vegetativnim vodama koji su analogni onima iz mnogih monomera lignina, samo nekoliko mikroorganizama je u mogućnosti razgraditi lignin proizvodeći pritom lignolitičke enzime. Primjena plijesni za obradu otpadnih voda nije praktična, jer nastaju vlaknasti peleti i miceliji koji mogu stvarati razne tehničke poteškoće u sustavima za obradu voda te je teže ukloniti višak nastale biomase kako bi se proces održao kontinuiranim.[16]

Kako bi se nadišla ova ograničenja provodila su se daljnja istraživanja sa kvascima. Kvasci su brzo adaptirajući i rezistentni na visoke koncentracije fenola i niske pH-vrijednosti vegetativnih voda.[16] Također su prevladavajući mikroorganizmi u otpadnim vodama iz proizvodnje maslinovog ulja, pa su zbog toga već prilagođeni na uvjete i mogu brže početi sa razgradnjom. Pokazalo se da u kratkom vremenu mogu razgraditi većinu fenolnih spojeva u uzorcima otpadnih voda. Kvasac *Candida tropicalis* uspješno razgrađuje fenole. Prema literaturnim podacima može ukloniti 51,7 % prisutnih polifenola u otpadnoj vodi. Također je zabilježeno da je kvasac razgradio 2 g dm^{-3} fenola u mineralnom mediju u vremenu od 66 sati[20]. Kvasci na kojima su se još provodila istraživanja su *Geotrichum* sp.[19], *Saccharomyces* sp.[20], *Trichosporon* sp. i *Yarrowia* sp.[21] Preliminarni rezultati istraživanja provedena sa kvascima vrlo su obečavajući i otvaraju vrata daljnjim razmatranjima te postoji

mogućnost da se potencijalno mogu koristiti u procesu obrade otpadanih voda nastalih u procesu prerade maslina i ostalih industrijskih otpadnih voda sličnog sastava.

2.4. FENOLI

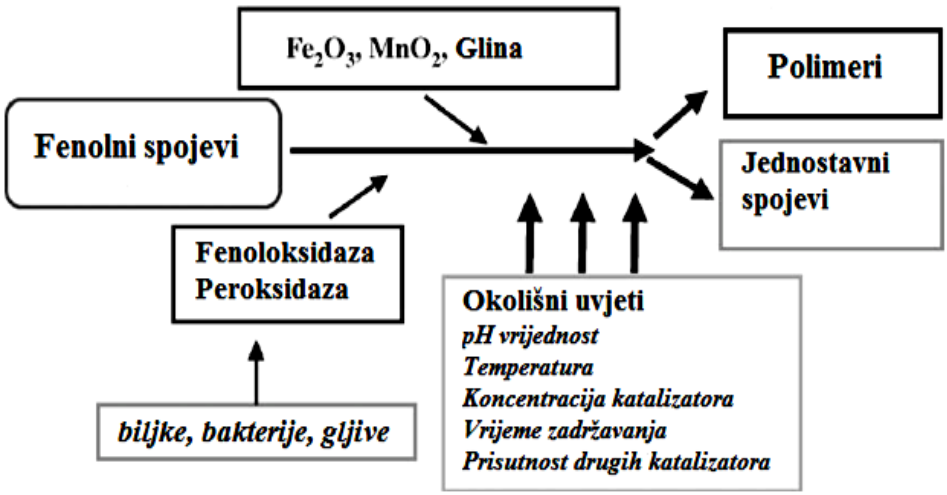
Fenoli su skupina spojeva koji se sastoje od hidroksilne skupine (-OH) vezane izravno na aromatski ugljikovodik. Iako se fenoli najčešće spominju kao spojevi s fenolnim prstenom oni su zapravo veoma raznolika skupina sekundarnih metabolita zbog čega su u literaturi prisutni mnogi načini njihove klasifikacije: prema strukturi, na temelju broja ugljikovih atoma u molekuli i biološke aktivnosti, biosintetskog puta i sl.[22] Jedna su od osnovnih strukturnih jedinica za različite sinteze orgnaskih spojeva uključujući poljoprivredne kemikalije i pesticide. Prirodno se nalaze u raspadajućim organskim tvarima kao što je trulo povrće i ugljen. Na sobnoj temperaturi, fenol je prozirna, bezbojna kristalična masa, bijeli prah ili sirupasta tekućina nakon miješanja s vodom. Kristali su higroskopnih svojstava, a na zraku mogu promijeniti boju od roze do crvene. Prepoznatljiv je po intenzivnom katranastom mirisu, te je topljiv u alkoholu, glicerolu, nafti i vodi. Fenol se može dobiti frakcijskom destilacijom ugljenih katrana, oksidacijom toluena, fuzijom natrijevog benzensulfonata s natrijevim hidroksidom ili grijanjem monoklorbenzena s natrijevim hidroksidom pod visokim tlakom.[23]

Potkraj 19. stoljeća fenoli su se primjenjivali u sintezi boja, aspirina, a jedno od najvećih otkrića je pikrinska kiselina. Njezine soli s metalima, pikrati, vrlo su osjetljive na udarce i rabe se kao eksplozivi. Pikratima se nazivaju i molekularni kompleksi pikrinske kiseline s aromatskim ugljikovodicima, koji se koriste u pročišćavanju i identifikaciji aromatskih ugljikovodika.[24] Također je otkriveno da se fenoli mogu kondenzirati s aldehidima za dobivanje smolastih spojeva pa se taj proces još i danas koristi. Formaldehidne smole su temelj najstarijih plastika i dalje su u uporabi za izradu jeftinih duromera koji se koriste u izradi električne opreme. Ove smole se također mogu pronaći u izradi proizvoda od drva.[23]

Fenoli štetno djeluju na ljudsko zdravlje. Toksični su i uzrokuju razne zdravstvene tegobe. Izloženost fenolima na bilo koji način može uzrokovati sustavno trovanje. Djeluju nagrizajuće i uzrokuju kemijske opekline u kontaktu sa stanicama, a svojom izloženošću koži uzrokuju nekrozu. Simptomi sustavnog trovanja uključuju prolazne CNS (centralni živčani sustav) stimulacije, a zatim se brzo može pojaviti i

CNS depresija. Napadaji se mogu pojaviti u roku od nekoliko minuta ili mogu biti odgođeni do 18 sati nakon izlaganja. Ostali simptomi uključuju mučninu, methemoglobinemiju, hemolitičku anemiju, obilno znojenje, aritmiju, plućni edem i tahikardiju. Osim što štetno djeluju na ljudsko zdravlje nakupljanjem u okolišu mogu također izazvati niz problema za sve sastavnice okoliša.[23] Onečišćuju zrak, vodu i tlo na način da dovode do promjena kemijskih i bioloških svojstava, ciklusa hrane, te mikrobiološke i enzimske aktivnosti u vodi i tlu.

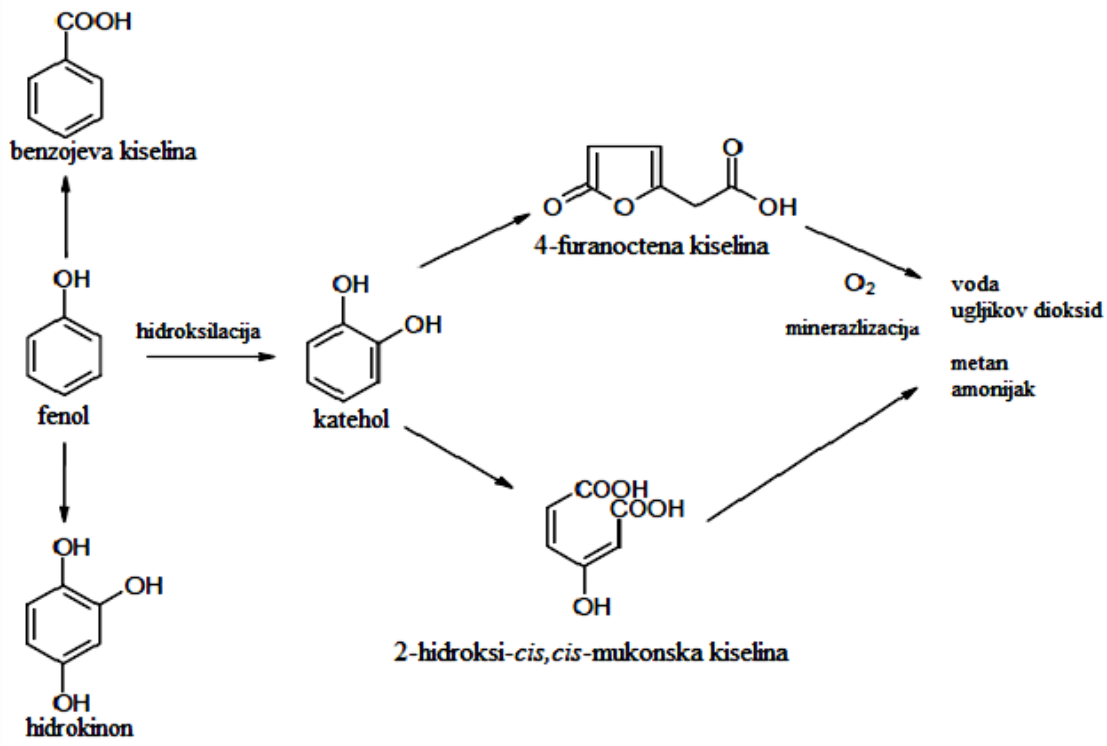
Jednom ispušteni u prirodne prijemnike mogu biti biorazgrađeni, bioakumulirani, netransformirani te blokirani na način da se vežu u tlu i sudjeluju u nekim nebiološkim transformacijama ili fizikalnim procesima. Ako su u okolišu prisutni Fe_2O_3, MnO_2 i glina kao abiotički katalizatori, ili enzim fenoloksidaza kao biotički katalizator proizveden od biljaka, bakterija i gljiva, fenoli se mogu pretvoriti u polimerne ili jednostavnije spojeve (Slika 2.2.).[25] Točnije, transformiraju se u benzojevu kiselinu, hidrokinon ili katehol. Katehol se dalje prevodi do 4-furanoctene kiseline ili 2-hidroksi-*cis,cis*-mukonske kiseline pa sve do krajnjih produkata: vode, ugljikovog dioksida, metana i amonijaka (Slika 2.3.).[26]



Slika 2.2. Biotičke i abiotičke katalitičke transformacije fenolnih spojeva u okolišu.

Na oba procesa, biotički i abiotički, mogu dodatno utjecati pH-vrijednost, temperatura, prisutnost drugih katalizatora, vrijeme zadržavanja i koncentracija katalizatora. Tako razgrađeni fenolni spojevi mnogim kvascima, bakterijama i plijesnima služe kao bogat izvor ugljika i energije.[22] Okoliš je, dakle, sam sposoban

razgraditi fenole, no za to je potrebno preklapanje više uvjeta kako bi do te transformacije uopće došlo i ona je moguća kod niskih koncentracija fenola.



Slika 2.3. Razgradnja fenola u okolišu do krajnjih produkata.

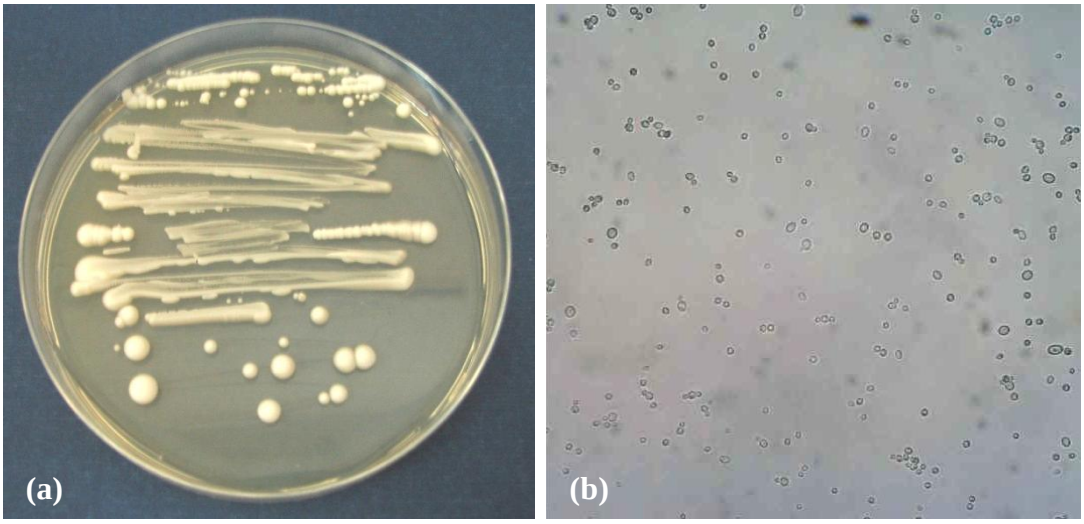
Otpadna voda se ne smije bez prethodne obrade ispustiti, jer nekontrolirano ispuštanje može uzrokovati velike probleme u okolišu i na ljudsko zdravlje. Stoga je kvaliteta obrađene industrijske otpadne vode u odnosu maksimalno dozvoljene količine onečišćujućih tvari u vodama regulirane zakonskim propisima. Tako se Pravilnikom o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda[27] propisuju granične vrijednosti emisija u otpadnim vodama prije njihova ispuštanja u građevine javne odvodnje ili u septičke ili sabirne jame i u svim obrađenim ili neobrađenim otpadnim vodama koje se ispuštaju. Granične vrijednosti emisija otpadnih voda koje se ispuštaju u površinske vode ili u sustav javne odvodnje, utvrđuju se dozvoljenim koncentracijama onečišćujućih tvari i/ili opterećenjima u otpadnim vodama. Kako bi se voda mogla ispustiti u sustav javne odvodnje mora se zadovoljiti granična vrijednost koncentracije fenola od 10 mg dm^{-3}, a za ispuštanje u površinske vode propisana je granična vrijednost od 0,1 mg dm^{-3}.

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Kvasac *Candida tropicalis* 193

Za provedbu pokusa odabran je kvasac *Candida tropicalis* 193 (slika 3.1.). Navedeni mikroorganizam je pohranjen u „Zbirci mikroorganizama Fakulteta kemijskog inženjerstva i tehnologije“ gdje se čuva u hladnjaku pri +4 ^{o}C.



Slika 3.1. Kvasac *Candida tropicalis* 193 (a) fotografski snimak izrasle kulture na sladnom agaru, (b) mikrofotografija stanica, P = 400×.

Za uzgoj kvasca priređena je hranjiva podloga sladni agar (Biolife Manual, Second Edition, Ingraf, Milano, Italija, 1991). Kvasac je uzgojen nacjepljivanjem na sladni agar u Petrijevim zdjelicama koje su inkubirane pri 28°C, 3-5 dana (slika 3.1.).

3.1.2. Standardna otopina fenola

Standardna otopina priređena je otapanjem 1 g fenola u 1 dm^3 deionizirane vode. Razrjeđivanjem standardne otopine priređene su različite početne koncentracije fenola, γ_0 (fenoli), korištene u procesu biorazgradnje.

3.2. MJERNI INSTRUMENTI I OPREMA

U radu je korištena rotacijska termostatirana tresilica Heidolph unimax 1010, Njemačka, za provedbu pokusa biorazgradnje. Za sterilizaciju hranjivih podloga, čistog i nečistog staklenog posuđa korišten je autoklav Sutjeska, Jugoslavija. Za homogeniziranje priređenih razrjeđenja uporabljen je homogenizator REAX top, Heidolph, Njemačka. Kvasac je uzgajan u termostatu EBT-Termomedicinski aparati, Bodalec i Havoić, Hrvatska. Vrijednosti pH određivane su pH-metrom Sentix® 940, Multi 3430, WTW, Njemačka. Optička gustoća određivana je spektrofotometrijski, Hach, Model DR/2400, USA. Sušionik Termomedicinski aparati (TMA), Bodalec i Bodalec, Hrvatska, korišten je za određivanje biomase. Za precizno vaganje uporabljena je vaga Sartorius BP 210, Njemačka.

3.3. METODE RADA

3.3.1. Proces biorazgradnje fenola

U ovom radu provedena je biorazgradnja fenola pomoću kvasca *Candide tropicalis* 193. Pokusi su provedeni u šaržnim uvjetima na rotacijskoj tresilici pri 160 o min^{-1}, temperaturi od 30 °C i pH-vrijednosti 4,0 ± 0,1. Provedene su dvije serije pokusa S1 i S2 (tablica 3.1.). U S1 provedena je prilagodba *C. tropicalis* 193 na fenole, P1-P3. U S2 provedeno je uklanjanje fenola pomoću *C. tropicalis* 193, P4-P8.

Tablica 3.1. Provedba procesa biorazgradnje.

Pokus #	S1			S2				
	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
γ_0 (fenoli) / mg dm^{-3}	500	300	600	60	80	120	160	220
OG / λ=600 nm	2,20	3,50	3,60	1,27	1,32	1,24	1,33	1,10
γ_0 (biomasa) / mg dm^{-3}	607	958	976	341	359	334	355	302
t / h	22	22	48	5	7	8	24	24
V (otopine) / cm^3	300			100				

3.3.1.1. Prilagodba *Candide tropicalis* 193 na fenole

Prilagodba kvasca *C. tropicalis* 193 provedena je Erlenmeyerovim tikvicama od 500 cm^3 koje su sadržavale po 300 cm^3 suspenzije stanica *C. tropicalis* 193 optičke gustoće 3,1 ± 0,8 i otopine fenola početnih koncentracija od 300 do 600 mg dm^{-3} u P1-P3. Stanice kvasca iz pokusa P1 korištene su kao inokulat u P2, a iz P2 u P3. U uzorcima su određivane koncentracije fenola i biomase tijekom 22-48 sati za S1.

3.3.1.2. Uklanjanje fenola pomoću *Candide tropicalis* 193

Uklanjanje fenola iz vodene otopine provedeno je pomoću kvasca *C. tropicalis* 193. Pokusi su provedeni u Erlenmeyerovim tikvicama od 250 cm^3 koje su sadržavale po 100 cm^3 suspenzije *C. tropicalis* 193 optičke gustoće 1,2 ± 0,1 i otopine fenola različitih početnih koncentracija od 60 do 220 mg dm^{-3} u P4-P8 (tablica 3.1). Početna koncentracija biomase u prosjeku je iznosila 300 ± 0,1 mg dm^{-3}. Uzorci su izuzimani svakih 0,5 do 1,0 sat po 0,5 mL. U uzorcima su određivane koncentracije fenola i biomase te pH vrijednost tijekom 5-24 sata za S2.

3.3.2. Određivanje koncentracije biomase

Od uzgojene kulture *C. tropicalis* 193 u tikvici od 250 cm^3 priređeno je 100 cm^3 suspenzije. Razrjeđenjem suspenzije priređene su različite početne koncentracije biomase čije su optičke gustoće, OG, određivane pri λ = 600 nm[28]. Koncentracija biomase, γ (biomasa), određivana je prema standardnoj metodi[29] filtriranjem po 10 cm^3 priređenih suspenzija kroz membranski filtar veličine pora 0,45 μm te osušen pri 105 ^oC do konstantne mase. Ukupan broj stanica kvasca, CFU, određivan je brojanjem u Thominoj komorici[30] pri povećanju od 400×. Iz ovisnosti optičke gustoće i γ(biomasa) i CFU-a izrađen je baždarni dijagram.

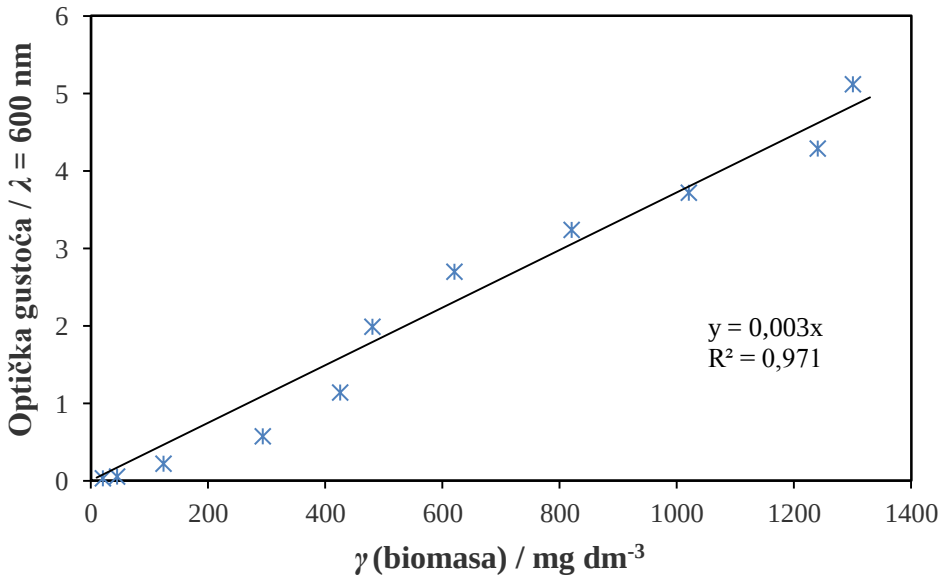
3.3.3. Određivanje koncentracije fenola

Koncentracija fenola određivana je spektrofotometrijski pri valnoj duljini od 500 nm prema standardnoj metodi[29] 4-aminoantipirinom.

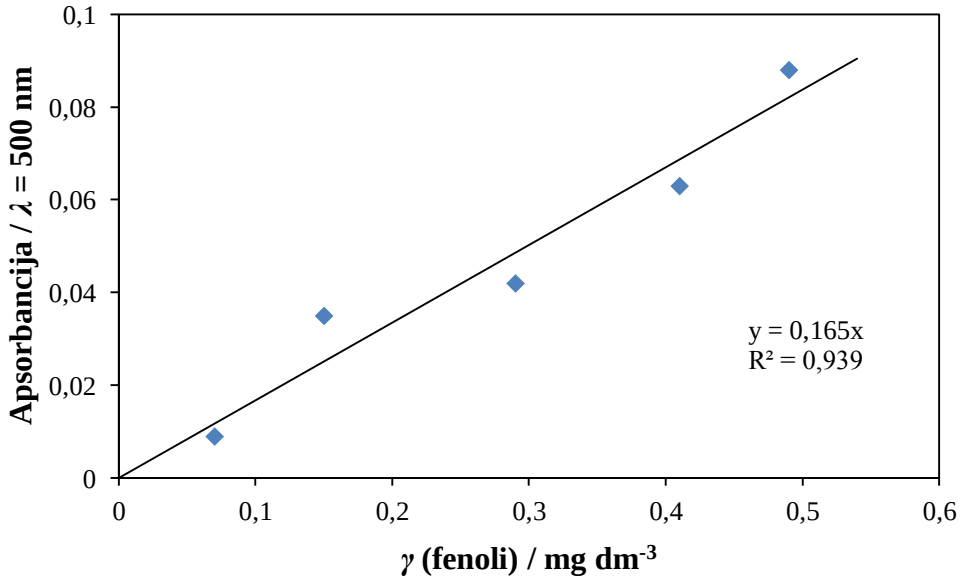
4. REZULTATI

4.1. BAŽDARNI DIJAGRAMI ZA BIOMASU I FENOL

Postupkom opisanim u poglavljima 3.3.2. i 3.3.3. izrađeni su baždarni dijagrami za određivanje koncentracija biomase i fenola. Rezultati su prikazani slikama 4.1. i 4.2.



Slika 4.1. Baždarni dijagram za određivanje koncentracije biomase.



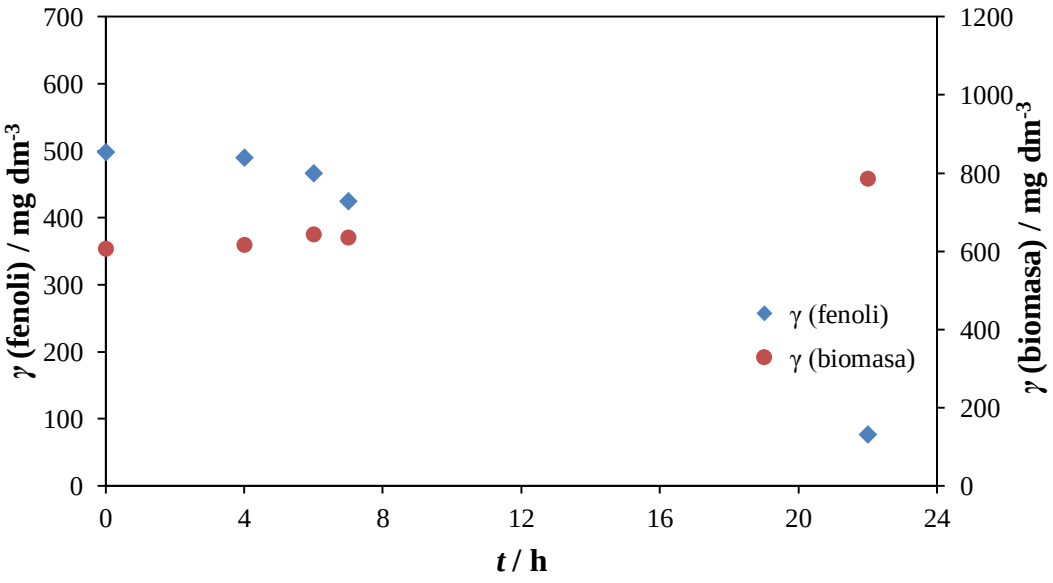
Slika 4.2. Baždarni dijagram za određivanje koncentracije fenola.

4.2. PROCES BIORAZGRADNJE FENOLA

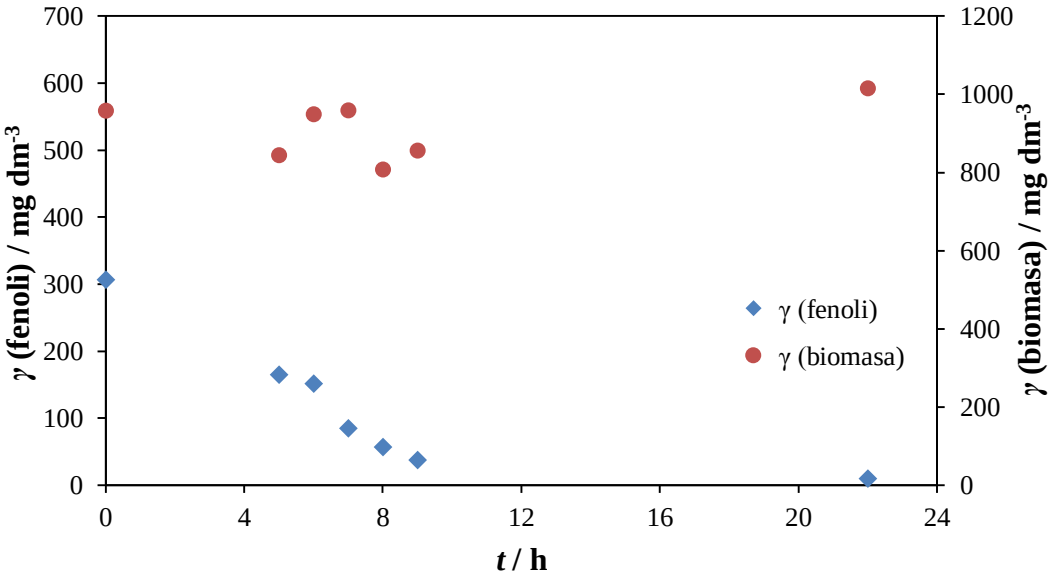
Postupkom opisanim u poglavljima 3.1.1.-3.3.3. proveden je proces biorazgradnje fenola pomoću kvasca *Candide tropicalis* 193. Provedene su dvije serije pokusa: prilagodba *C. tropicalis* 193 na fenole i uklanjanje fenola pomoću *C. tropicalis* 193.

4.2.1. Proces prilagodbe *Candide tropicalis* 193

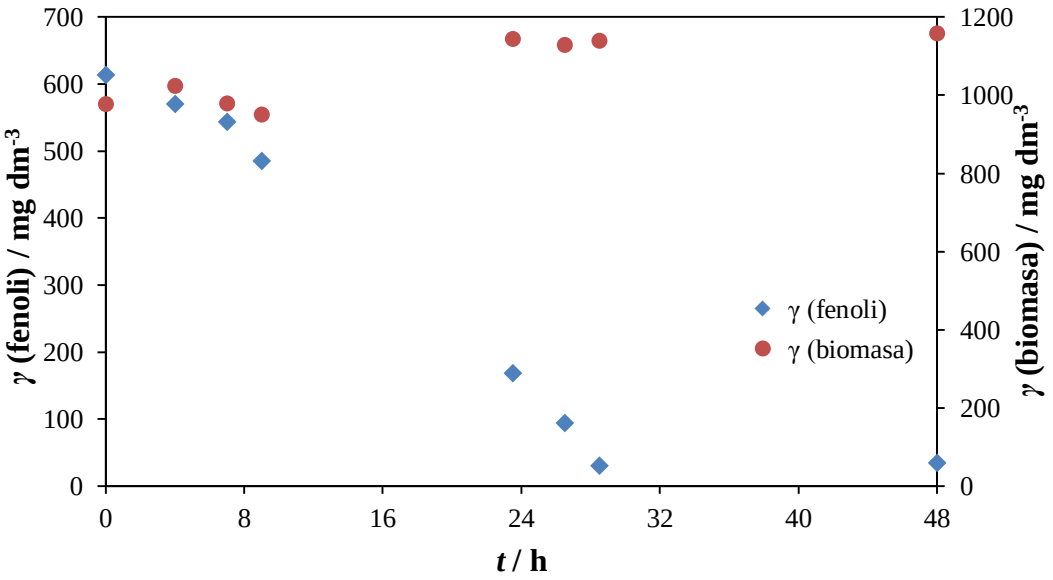
Postupkom opisanim u poglavlju 3.3.1.1. provedeni su pokusi prilagodbe kvasca *Candide tropicalis* 193 na fenole. Rezultati su prikazani slikama 4.3.-4.5.



Slika 4.3. Proces prilagodbe *C. tropicalis* 193 za γ_0 (fenoli) = 500 mg dm^{-3} i γ_0 (biomasa) = 607 mg dm^{-3} u pokusu P1.



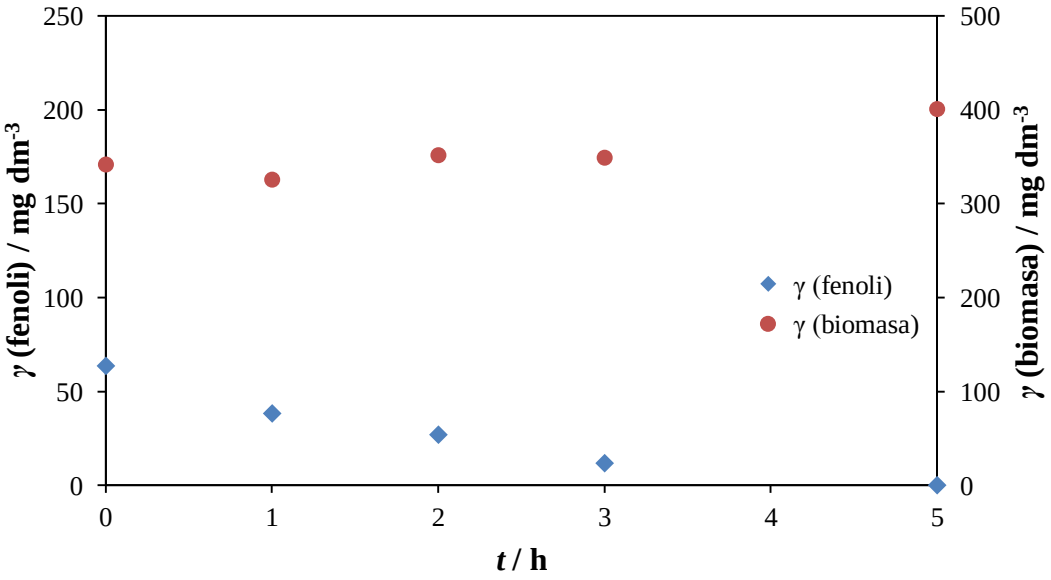
Slika 4.4. Proces prilagodbe *C. tropicalis* 193 za γ_0 (fenoli) = 300 mg dm^{-3} i γ_0 (biomasa) = 958 mg dm^{-3} u pokusu P2.



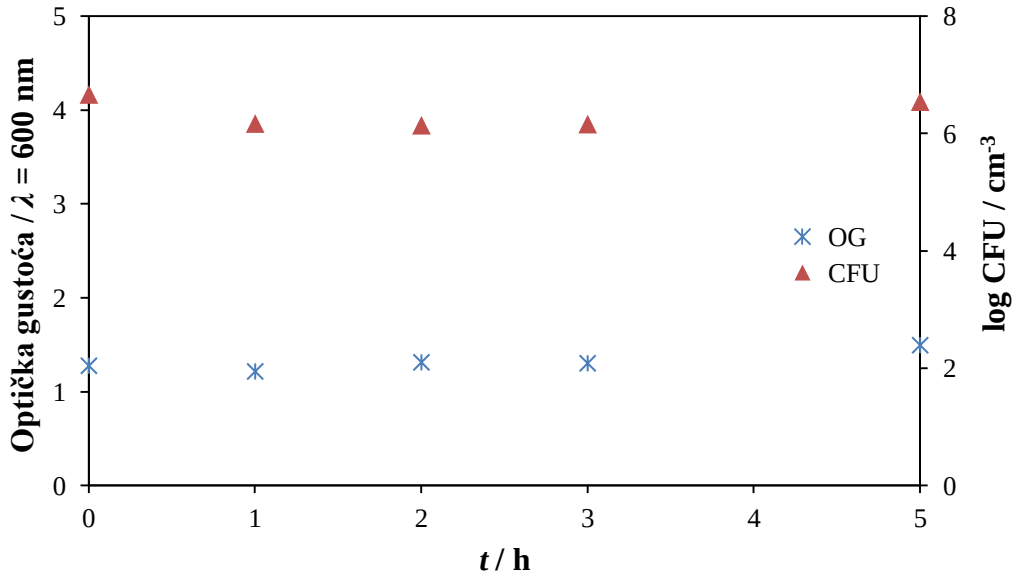
Slika 4.5. Proces prilagodbe *C. tropicalis* 193 za γ_0 (fenoli) = 600 mg dm^{-3} i γ_0 (biomasa) = 976 mg dm^{-3} u pokusu P3.

4.2.2. Proces uklanjanja fenola *Candidom tropicalis* 193

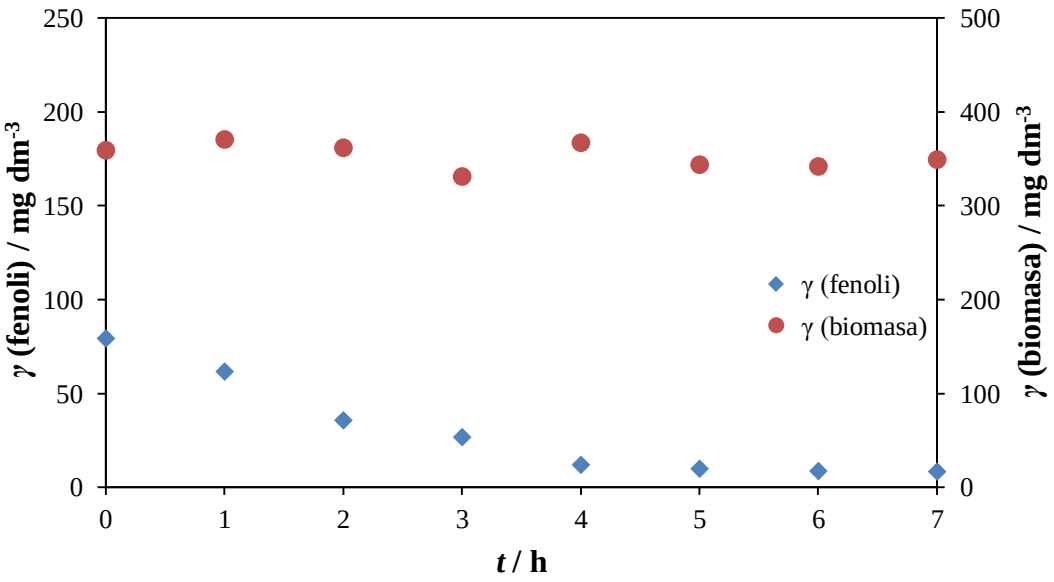
Postupkom opisanim u poglavlju 3.3.1.2. provedeni su pokusi uklanjanja fenola pomoću *Candide tropicalis* 193. Rezultati su prikazani slikama 4.6.-4.15.



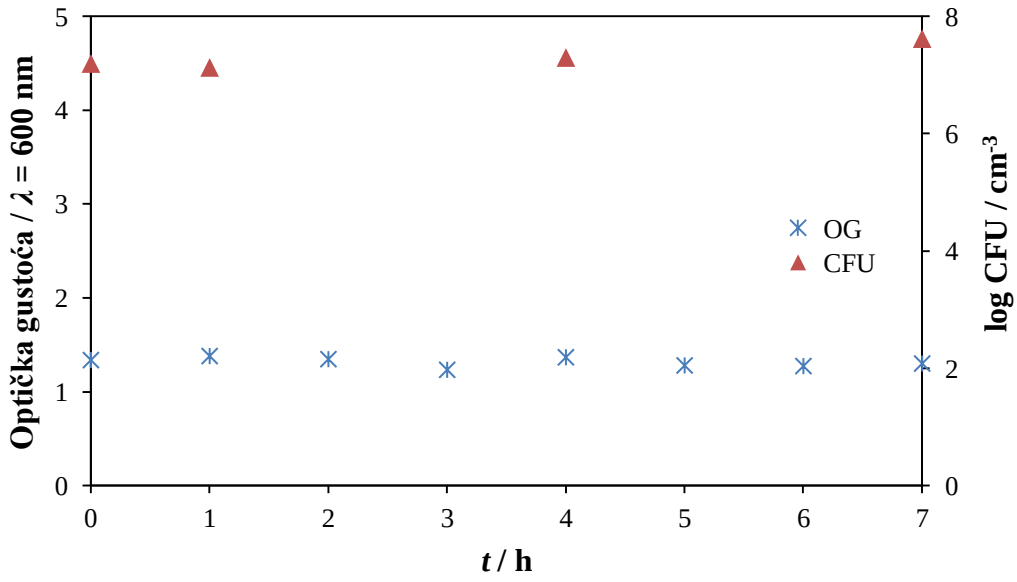
Slika 4.6. Biorazgradnja fenola *C. tropicalis* 193 za γ_0 (fenoli) = 60 mg dm^{-3} tijekom 5 sati u pokusu P4.



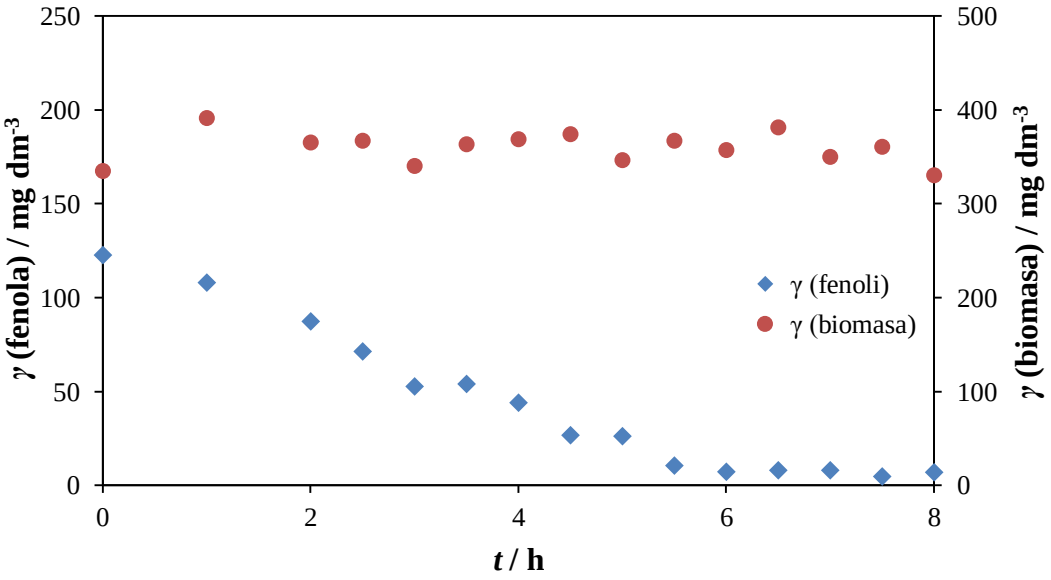
Slika 4.7. Promjena optičke gustoće i ukupnog broja živih stanica *C. tropicalis* 193 tijekom 5 sati u pokusu P4.



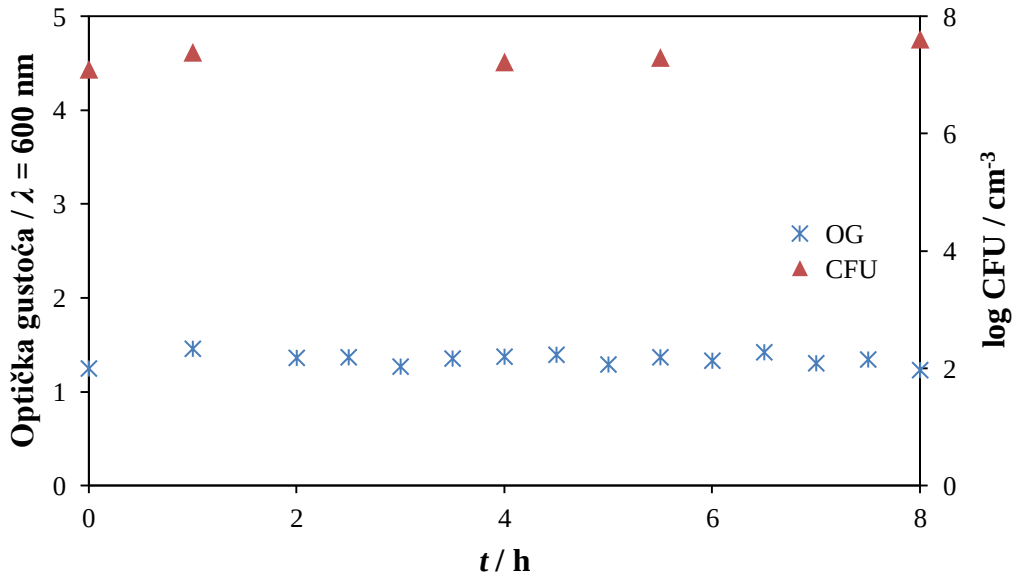
Slika 4.8. Biorazgradnja fenola *C. tropicalis* 193 za γ_0 (fenoli) = 80 mg dm^{-3} tijekom 7 sati u pokusu P5.



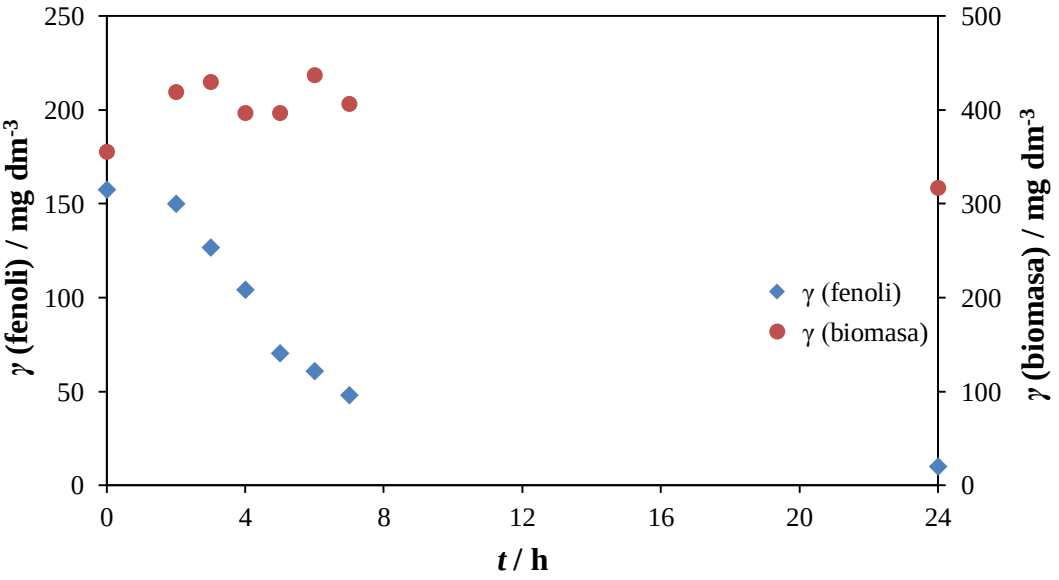
Slika 4.9. Promjena optičke gustoće i ukupnog broja stanica *C. tropicalis* 193 tijekom 7 sati u pokusu P5.



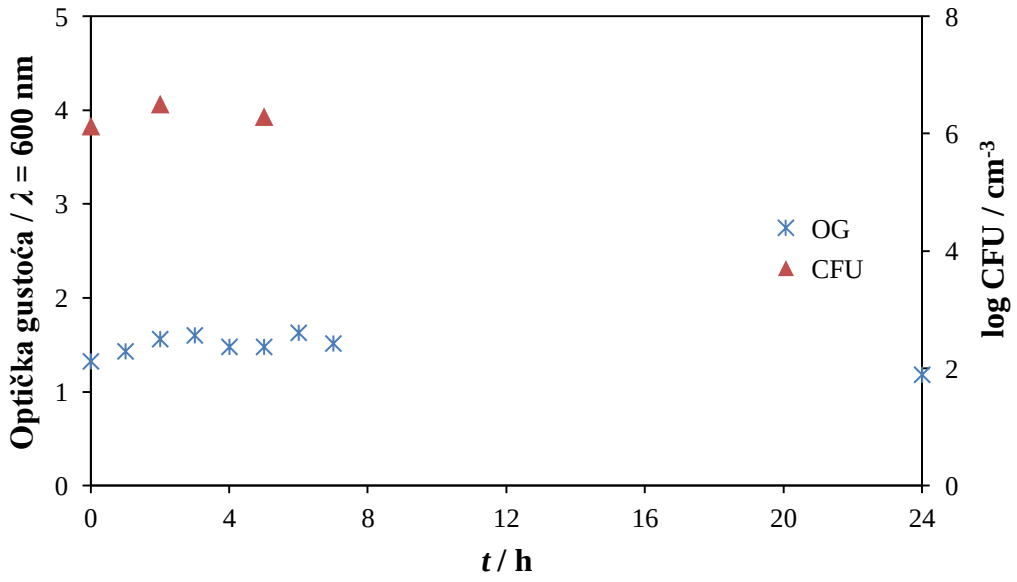
Slika 4.10. Biorazgradnja fenola *C. tropicalis* 193 za γ_0 (fenoli) = 120 mg dm^{-3} tijekom 8 sati u pokusu P6.



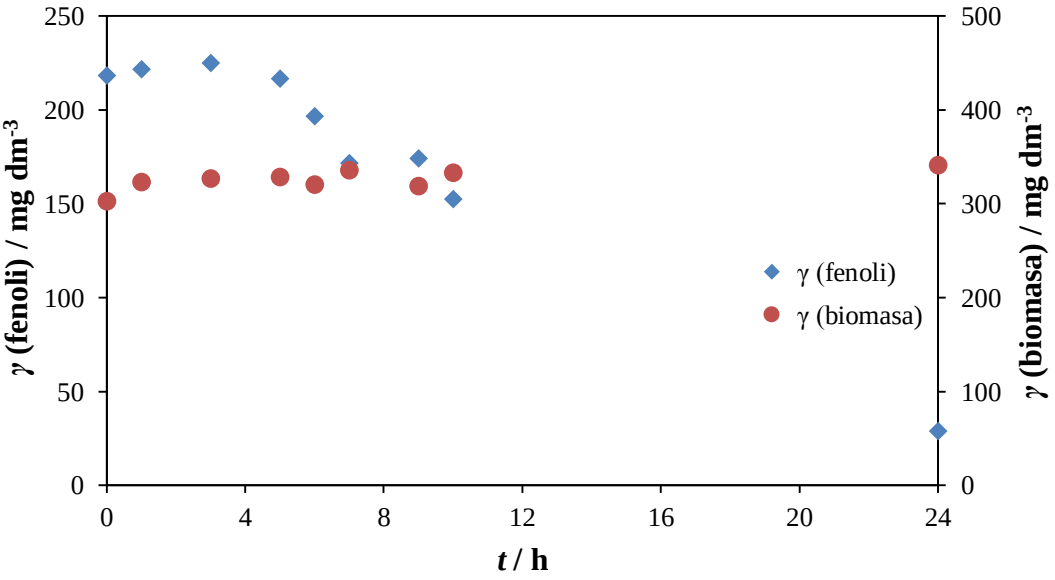
Slika 4.11. Promjena optičke gustoće i ukupnog broja stanica *C. tropicalis* 193 tijekom 8 sati u pokusu P6.



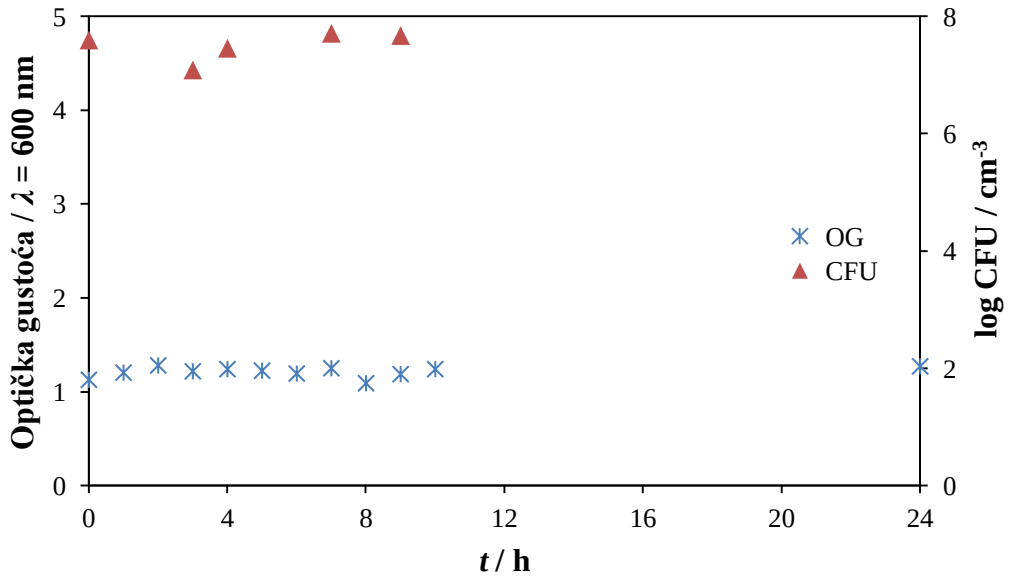
Slika 4.12. Biorazgradnja fenola *C. tropicalis* 193 za γ_0 (fenoli) = 160 mg dm^{-3} tijekom 24 sata u pokusu P7.



Slika 4.13. Promjena optičke gustoće i ukupnog broja stanica *C. tropicalis* 193 tijekom 24 sata u pokusu P7.



Slika 4.14. Biorazgradnja fenola *C. tropicalis* 193 za γ_0 (fenoli) = 220 mg dm^{-3} tijekom 24 sata u pokusu P8.



Slika 4.15. Promjena optičke gustoće i ukupnog broja stanica *C. tropicalis* 193 tijekom 24 sata u pokusu P8.

5. RASPRAVA

Fenoli iz otpadne vode mogu se ukloniti fizikalno-kemijskim, elektrokemijskim i biološkim postupcima. Biološko uklanjanje fenola je ekonomski isplativ i učinkovit postupak. Bakterije i gljive imaju sposobnost razgradnje fenola. Prema dosadašnjim istraživanjima[16] s kvascima se postižu najbolji rezultati.

U ovome radu ispitana je učinkovitost kvasca *Candide tropicalis* 193 pri razgradnji fenola u vodenoj otopini.

5.1. BAŽDARNI DIJAGRAMI ZA BIOMASU I FENOL

Baždarni dijagrami su izrađeni u svrhu bržeg određivanja koncentracije biomase *C. tropicalis* 193 i koncentracije fenola. Koncentracije biomase i fenola očitavaju se iz jednadžbe pravca, koja je prikazana u slikama 4.1. i 4.2. Jednadžbe su dobivene određivanjem optičke gustoće različitih početnih koncentracija (slika 4.1.) odnosno apsorbancije fenola različitih početnih koncentracija (slika 4.2).

5.2. PROCES BIORAZGRADNJE FENOLA

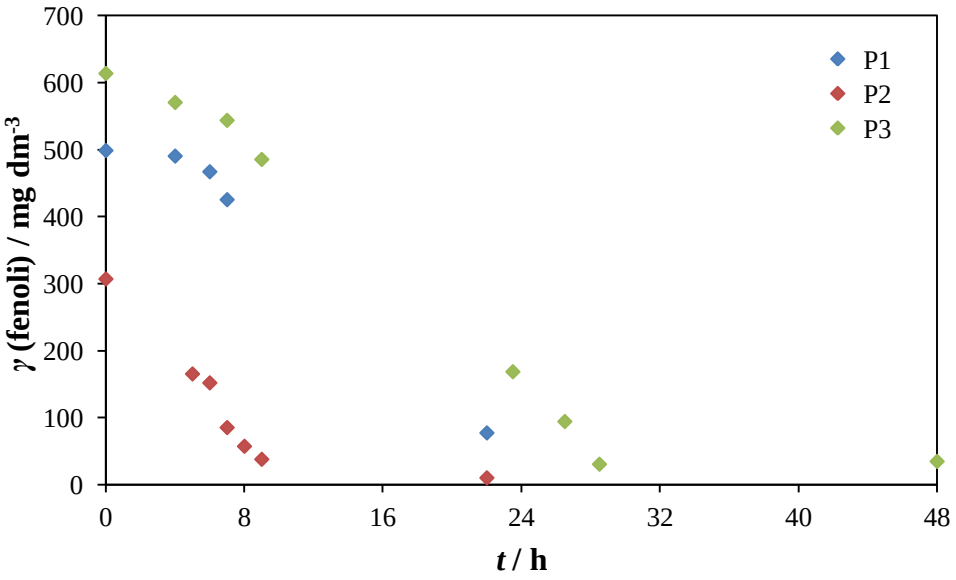
U ovom radu provedena je biorazgradnja fenola pomoću kvasca *Candide tropicalis* 193 u šaržnim uvjetima. Provedene su dvije serije pokusa S1 i S2 (tablica 3.1.). U S1 provedena je prilagodba *C. tropicalis* 193 na fenole. U S2 provedeno je uklanjanje fenola pomoću *C. tropicalis* 193.

5.2.1. Proces prilagodbe *Candide tropicalis* 193

Prilagodba *C. tropicalis* 193 provedena je inokulacijom stanica kvasca u priređenu otopinu fenola u svrhu povećanja učinkovitosti procesa biorazgradnje.

U slici 4.3. prikazana je promjena koncentracija fenola i biomase u fazi prilagodbe. Početne koncentracije iznosile su γ_0 (fenoli) = 500 mg dm^{-3} i γ_0 (biomasa) = 607 mg dm^{-3} u pokusu P1. Iz grafičkog prikaza se može vidjeti da se do 4. sata koncentracije fenola i biomase nisu značajno mijenjale. Iz navedenog se može zaključiti da je *C. tropicalis* 193 u fazi prilagodbe na novonastale uvjete. Nakon 6. do

22. sata koncentracija fenola se smanjila za 84,3 %, a koncentracija biomase se povećala za 21,5 %. Nakon 22. sata, kada se koncentracija fenola u pokusu P1 smanjila ispod 50 mg dm^{-3}, priređena je nova koncentracija fenola od 300 mg dm^{-3}. Stanice kvasca iz pokusa P1 korištene su kao inokulat u P2. Koncentracija biomase iznosila je 958 mg dm^{-3} u pokusu P2 (slika 4.4.). U prva dva sata koncentracija fenola je bila nepromijenjena, nakon četiri sata je došlo do ubrzane razgradnje fenola, a nakon 10 sati koncentracija se smanjila ispod 10 mg dm^{-3} odnosno uklonilo se 96,7 % fenola. Biomasa se u prvih 20 sati nije značajno mijenjala, tek u dvadeset i drugom satu se povećala do 1015 mg dm^{-3}. U pokusu prilagodbe P3, priređena je nova koncentracija fenola koja je iznosila 600 mg dm^{-3} (slika 4.5). Iz grafičkog prikaza se može vidjeti značajno smanjenje koncentracije fenola i potpuna razgradnja u 30. satu. Između 8 i 24 sata kada se i koncentracija fenola smanjila za 64,3 % zabilježen je najveći porast biomase od 14,6 %. Do kraja pokusa koncentracija biomase se nije značajnije mijenjala.



Slika 5.1. Prilagodba *C. tropicalis* 193 na fenole u pokusima P1, P2 i P3.

U slici 5.1. prikazana je usporedba prilagodbe *C. tropicalis* 193 na fenole u pokusima P1-P3. Iz slike se može vidjeti da je u pokusu P3 razgradnja fenola puno brža u odnosu na pokus P1, odnosno u 22. satu u pokusu P1 razgradilo se ukupno 84,5 % fenola, a u pokusima P2 i P3 96,7 i 94,4 %. U pokusima P2 i P3 došlo je do brže razgradnje fenola zbog toga što se biomasa *C. tropicalis* 193 prilagodila na fenole. U

istraživanjima[31], koja su provedena s koncentracijom fenola od 500 mg dm^{-3} i znatno nižom koncentracijom biomase u odnosu na P1-P3, za razgradnju fenola je bilo potrebno 72 sata. Dakle, koncentracija biomase utječe na brzinu razgradnje.

5.2.2. Proces uklanjanja fenola *Candidom tropicalis* 193

Uklanjanje fenola iz vodene otopine provedeno je pomoću prilagođene kulture *C. tropicalis* 193 dobivene u pokusima prilagodbe P1-P3.

U pokusu P4 praćena je razgradnja fenola početne koncentracije fenola od 60 mg dm^{-3} i početne koncentracije biomase od 341 mg dm^{-3} (slika 4.6.). Unutar sat vremena koncentracija fenola se smanjila za 39,8 %, a nakon 5 sati *C. tropicalis* 193 je u potpunosti razgradila fenole. Koncentracija biomase povećavala se kako se smanjivala koncentracija fenola te je nakon 5 sati iznosila je 400 mg dm^{-3}, odnosno povećala se za 14,7 %. Promjena optičke gustoće suspenzije i ukupnog broja stanica prikazana slikom 4.7. ukazuje kako se povećanjem optičke gustoće suspenzije, povećava se i ukupan broj stanica *C. tropicalis* 193, odnosno koncentracija biomase.

U pokusu P5 praćena je razgradnja fenola početne koncentracije fenola 80 mg dm^{-3} i početne koncentracije biomase 359 mg dm^{-3} (slika 4.8.). Iz slike se može vidjeti da se nakon 5 sati koncentracija fenola smanjila ispod granične vrijednosti od 10 mg dm^{-3}, koja je propisana Pravilnikom o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda[27]. Koncentracija biomase se tijekom razgradnje nije značajno mijenjala, što pokazuje i slika 4.9., u kojoj se vidi kako su vrijednosti broja stanica kvasca i optičke gustoće suspenzije ostale nepromijenjene.

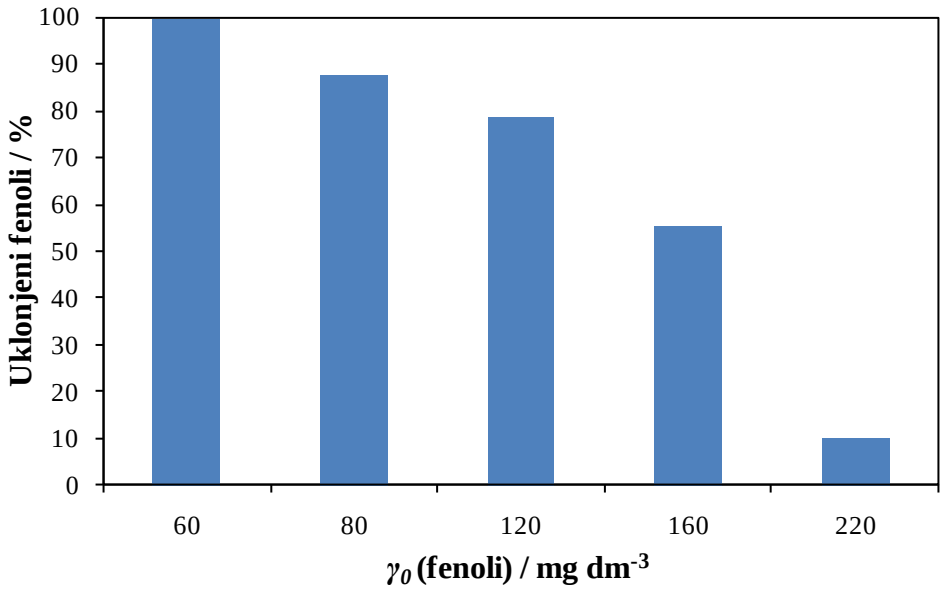
U pokusu P6 praćena je razgradnja fenola početne koncentracije od 120 mg dm^{-3} i početne koncentracije biomase 334 mg dm^{-3} (slika 4.10.). Iz slike se može vidjeti da je nakon 6 sati koncentracija fenola smanjila ispod 10 mg dm^{-3}, a koncentracija biomase se nije značajno mijenjala tijekom razgradnje. Nepromjenjivost koncentracije biomase vidi se u slici 4.11. Nadalje, u pokusu P6 bilo je potrebno sat vremena više za potpunu razgradnju fenola u odnosu na pokus P4, jer je koncentracija fenola bila veća za 50 %.

U pokusu P7 praćena je razgradnja fenola početne koncentracije od 160 mg dm^{-3} i početne koncentracije biomase 355 mg dm^{-3} (slika 4.12.). U prvih osam sati se najviše fenola razgradilo, odnosno 75 %, što se vidi po laganom povećanju

koncentracije biomase i broja stanica kvasca (slika 4.13.). Nakon osam sati koncentracija fenola se lagano smanjivala te unutar 24 sata pala je ispod 10 mg dm^{-3}.

U pokusu P8 (slika 4.14.) praćena je razgradnja fenola početne koncentracije od 220 mg dm^{-3}, koja je za 72,3 % veća u odnosu na pokus P4. Početna koncentracija biomase iznosila je 302 mg dm^{-3}. Iz slike se može vidjeti da se u prvih 5 sati koncentracija fenola nije promijenila te da je intenzivnija razgradnja fenola počela nakon 5 sati što se vidi laganim porastom koncentracije biomase i ukupnog broja stanica kvasca (slika 4.15.). Nakon 24 sata postignuta je 100 %-tna razgradnja fenola. Fenolni spojevi se u vodenim otopinama razgrađuju, jer mnogim kvascima, bakterijama i plijesnima služe kao bogat izvor ugljika i energije.[22]

Iz pokusa P4 do P8 može se zaključiti kako povećanjem koncentracije fenola se povećava i vrijeme potrebno za razgradnju. Koncentracija biomase je u svim pokusima na početku bila približno ista, (tablica 3.1.), ali se tijekom procesa razgradnje mijenjala. Najveće povećanje biomase od 18,7 % bilo je u pokusu P7. Kvasac *Candida tropicalis* 193 učinkovito razgrađuje fenole, zbog svoje građe, odnosno zbog aromatske strukture koja je slična strukturi lignina stvarajući pritom enzime kao što su peroksidaza i lakaza.[32]



Slika 5.2. Učinkovitost uklanjanja fenola pomoću *C. tropicalis* 193 za 5 sati.

U slici 5.2. prikazan je postotak uklonjenih fenola *C. tropicalis* 193 u 5 sati pri različitim početnim koncentracijama fenola u pokusima P4 do P8. Iz slike se može

vidjeti da *C. tropicalis* 193 učinkovito uklanja koncentracije fenola do 120 mg dm^{-3}. Za koncentracijama fenola iznad 120 mg dm^{-3} potrebno duže vrijeme razgradnje. Brzina razgradnje se može povećati povećanjem koncentracije biomase.[13] Kvasac *Trichosporon montevideense*, početne koncentracije biomase 760 mg dm^{-3}, može u potpunosti razgraditi fenole početne koncentracije 1200 mg dm^{-3} u 18 sati[32], što potvrđuje činjenicu da su kvasci općenito vrlo brzi i učinkoviti u razgradnji većih koncentracija fenola. Bakterije su učinkovite, ali je njima potrebno puno više vremena[33] za razgradnju istih koncentracija fenola.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju provedenih istraživanja procesa biorazgradnje fenola *Candidom tropicalis* 193 u šaržnim uvjetima može se zaključiti:

1. Procesom prilagodbe kvasca *Candide tropicalis* 193 povećava se učinkovitost procesa biorazgradnje fenola. U pokusu P1 razgradilo se ukupno 84,5 % fenola, a u pokusima P2 i P3 96,7 i 94,4 %.
2. Potpuna razgradnja fenola postignuta je za koncentracije do 120 mg dm^{-3}. Vrijeme potrebno za razgradnju se povećava s povećanjem koncentracija fenola.
3. Na brzinu razgradnje fenola utječe koncentracija biomase. Najveće povećanje biomase od 18,7 % bilo je u pokusu P7.
4. Kvasac *Candida tropicalis* 193 učinkovito uklanja fenole te je otvorena mogućnost za daljnja istraživanja u procesima obrade otpadnih voda koje mogu sadržavati veće koncentracije fenola od istraživanih.
5. Kvaliteta vode ključna je za ljudsko zdravlje, ali i za staništa mnogih biljaka i životinja. Industrijski razvitak i rast životnoga standarda učinio je zaštitu voda jednim od najvažnijih pitanja vodne politike u Republici Hrvatskoj u 21. stoljeću.

7. LITERATURA

1. D. Barcelo´, M. Petrovic, Waste water treatment and reuse in the mediterranean region, The handbook of environmental chemistry, Springer, New York, 2011.
2. V. B. Punda, Uloga Europske unije u zaštiti i očuvanju Sredozemnog mora s osvrtom na neke pravne i strateške dokumente, Zbornik radova Pravnog fakulteta u Splitu, 45 (2008) 761-778
3. M. Perušina, Značajke i obrada industrijskih otpadnih voda, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Završni rad, Zagreb,2010.
4. Europska agencija za okoliš, Urban wastewater projects-a layperson's guide, Vodoprivredno- projektni biro d.d. Zagreb, 1999.
5. B. Tušar, Ispuštanje i pročišćavanje otpadne vode, Croatiaknjiga, Zagreb, 2004.
6. F. J. Cervantes, S. G. Pavlostathis, Strategies for industrial pollution control, Advanced biological treatment processes for industrial wastewater, IWA publishing, London, 2006.
7. E. Tsagaraki, H. N. Lazarides, K. B. Petrotos, Olive mill watsewater treatment, Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry, New York, 2007.
8. D. Ljubisavljević, A. Đukić, B. Babić, Prečišćavanje otpadnih voda, Građevinski fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, 2004.
9. C. P. Leslie Grady, G. T. Daigger, H. C. Lim, Aerobic digestion, Anaerobic processes, Biological wastewater treatment, Second edition, Marcel Dekker, Inc., New York, 1999.
10. D. Mantzavinos, N. Kalogerakis, Treatment of olive mill effluents: Part 1. Organic matter degradation by chemical and biological processes – an overwiev, Environmental international 31 (2005), 289-295.
11. L. Dragičević, M. Z. Hren, M. Gmajnić, S. Pelko, D. Kungulovski, I. Kungulovski, D. Čvek, J. Frece, K. Markov and F. Delaš, Biodegradation of olive mill wastewater by *Trichosporon cutaneum* and *Geotrichum candidum*, Yeast biodegradation of olive mill wastewater, 61 (2010) 399-405.
12. M. Bistrović, M. Ivančić, Utjecaj postsintetske obrade na aktivnost i stabilnost zeolitnih katalizatora, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Znanstveni rad, Sveučilište Zagreb, 2010.

13. S. Dermeche, M. Nadour, C. Larroche, F. Moulti-Mati, P. Michaud, Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies, Process biochemistry 48 (2013) 1532–1552.
14. P. Paraskeva, E. Diamadopoulos, Technologies for olive mill wastewater (OMW) treatment: a review, Journal of chemical technology and biotechnology, 81 (2006) 1475-1485.
15. D. Di Gioia, C. Barberio, S. Spagnesi, L. Marchetti, F. Fava, Characterization of four olive-mill-wastewater indigenous bacterial strains capable of aerobically degrading hydroxylated and methoxylated monocyclic aromatic compounds, Archives of microbiology, 178 (2002) 208–217.
16. A. Bevilacqua, L. Petruzzi, M. R. Corbo, M Sinigaglia, Bioremediation of olive mill wastewater by yeasts – A review of the criteria for the selection of promising strains, applied bioremediation – active and passive approaches 2013.
17. A. Dias, R. M. Bezerra, A. N. Periera, Activity and elution profile of laccase during biological decolorization and dephenolization of olive mill wastewaters, Bioresource technology, 91 (2004) 7-13.
18. M. Salman, N. Abu-Khalaf, B. Abu Rumaileh, M. Jawabreh, R. Abuamsha, Detoxification of olive mill wastewater using the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*, International journal of environment and sustainability, 3 (2014) 1-6.
19. I. Garcia Garcia, P. R. Jimenez Peña, J. L. Bonilla Venceslada, A. Martin Martin, M. A. Martin Santos, E. Ramos Gomez, Removal of phenol compounds from olive mill wastewater using *Phanerochaete chrysosporium*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus terreus* and *Geotrichum candidum*, Process biochemistry, 35 (2000) 751–758.
20. N. Fakharedine, M. Ouadghiri, M. Amar, P. Winterton, M. Hafidi, Y. Ouhdouch, Isolation and identification of a yeast strain involved in the degradation of Marrakech olive mill wastewater, Eurasian journal of biosciences, 5 (2011) 127-137.
21. C. Gonçalves, M. Lopes, J. P. Ferreira, I. Belo, Biological treatment of olive mill wastewater by non-conventional yeasts, Bioresource technology, 100 (2009) 3759–3763.

22. R. Tsao, Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. Nutrients, 2 (2010) 1231-1246.
23. K. Mahammedilyas Basha, A. Rajendran,V. Thangavelu, Recent advances in the biodegradation of phenol: A review,Asian journal of experimental biological science, 2 (2010) 219-234.
24. R. Read, Q&A: Picric acid, Chemistry in Australia, (2014) 20-21
25. L. Gianfreda, G. Iamarino, R. Scelza, M. A. Rao, Oxidative catalysts for the transformation of phenolic pollutants: a brief review, Biocatalysis and biotransformation, 24 (2006) 177-187.
26. J. Michalowicz, W. Duda, Phenols transformationsin the environment and living organisms, Current topics in biophysics, 30 (2007) 24-36.
27. Pravilnik o graničnim vrijednostima emisija otpadnih voda, Ministarstvo poljoprivrede, NN 80/2013.
28. S. C. Tsai, L. D. Tsai, Y. K. Li, An isolated *Candida albicans* TL3 of degrading phenol at large concentration, Bioscience, biotechnology and biochemistry, 69 (2005) 2358-2367.
29. Standard methods for the examination of waste and wastewater, American public health association, 1999.
30. M. Vuković Domanovac, Mikrobiologija – laboratorijske vježbe, Interna skripta, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije, Zagreb, 2013.
31. K. C. Chen, Y. H. Lin, W. H. Chen, Y. C. Liu, Degradation of phenol by PAA-immobilized *Candida tropicalis*, Enzyme and microbial technology, 31 (2002) 490–497.
32. H. Liu, Q. J. Yu, G. Wang, F. Ye, Y. Cong, Biodegradation of phenol at high concentration by novel yeast *Trichosporon montevideense* PHE1, Process biochemistry, 46 (2011) 1678-1681.
33. A. T. Adylova, T. N. Chernikova, A. A. Abdukarimov, Phenol biodegradation by a *Pseudomonas* sp. strain tagged with the gfp gene, Applied biochemistry and microbiology, 44 (2008) 276–281.

ŽIVOTOPIS

Nikolina Janton, rođena 1. svibnja 1993. godine u Zagrebu. U rujnu 2000. godine upisala je osnovnu školu "Jakovlje", u Jakovlju, koju je pohađala do lipnja 2008. godine. Svoje srednjoškolsko obrazovanje stekla je u općoj gimnaziji "Tituš Brežovački', u Zagrebu, u razdoblju od rujna 2008. godine do lipnja 2012. godine. Nakon polaganja ispita državne mature, u rujnu 2012. godine upisala je preddiplomski studij Ekoinženjerstvo na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije Sveučilišta u Zagrebu.