

BIODEGRADACE TEXTILNÍCH BARVIV V ROTAČNÍM DISKOVÉM REAKTROFU VE VSÁDKOVÉM A KONTINUÁLNÍM REŽIMU

Veronika Dorňáková¹

¹*Katedra biologie a ekologie, Přírodovědecká fakulta, Ostravská univerzita v Ostravě, Chittussiho 10, 710 00 Ostrava, Dornakova@seznam.cz*

Abstrakt

Houby bílé hniloby jsou schopny rovnoměrně rozkládat všechny složky buněčné stěny (lignin, hemicelulóza, celulóza) za použití extracelulárních ligninolytických enzymů [1,2]. Jejich nízká substrátová specifita související s nepravidelnou strukturou molekuly ligninu jako substrátu, dodává ligninolytickým enzymům široký biodegradační potenciál [3], který se dá využít například pro biodegradaci syntetických barviv.

Cílem práce je prověřit účinnost biodegradace průmyslových barviv v rotačním diskovém reaktoru ve vsádkovém a kontinuálním režimu. Byly provedeny první srovnávací pokusy s kulturou *Trametes suaveolens* a syntetickým barvivem RBBR. Z dosavadních výsledků vyplývá, že v kontinuálním režimu probíhá dekolorizace barviva účinněji.

Klíčová slova: biodegradace; bioreaktor; houby bílé hniloby; syntetická barviva.

Úvod

Rodriguez-Couto (2013) uvádí, že textilní průmysl produkuje obrovské objemy odpadních vod s vysokými koncentracemi barviv a další polutantů. Vypouštění těchto odpadních vod do životního prostředí bez vhodných postupů čištění vod je vážným ohrožením ekosystému. Složení odpadní vod je velmi variabilní a komplexní, což činí jejich čištění obtížným.

Tradiční technologie čištění odpadních vod zahrnující fyzikální a chemické metody ve spojení s biologickým ošetřením ve formě aktivovaného kalu. Tyto metody jsou obvykle neefektivní při odstraňování barviv a je k nim třeba přidávat ještě další jako pokročilé oxidační postupy, které jsou ovšem nákladné a ne vždy sniží toxicitu polutantů. Z těchto důvodů se výzkum stále zabývá hledáním vhodných postupů čištění odpadních vod za využití právě enzymů hub bílé hniloby (HBH). Stejný mechanismus, který dává těmto houbám schopnost degradovat lignin, jim také umožňuje rozkládat širokou řadu sloučenin s ligninu podobnou chemickou strukturou, jako mají například syntetická barviva [4].

Podmínky v reaktorech typu rotačního biologického kontaktoru (RBC) jak ve vsádkovém, tak i v kontinuálním režimu jsou vhodné pro využití HBH k biodegradaci polutantů. Výhody RBC zahrnují jednoduchou konstrukci, velký povrch podkladu na jednotku objemu a nízké energetické nároky [5].

Kontinuální uspořádání reaktorů má oproti vsádkovému uspořádání výhodu v několika směrech. Interpretace výsledků je ve vsádkovém režimu komplikovanější kvůli měnícím se koncentracím produktů a reaktantů, hodnotám pH a hromadění mrtvé biomasy. Při kontinuálním uspořádání tyto problémy ve větší míře odpadají díky přirozenému udržování dynamické rovnováhy v protékajícím roztoku [6].

Materiál a metody

Pro sledování dekolorizace barviva RBBR byla použita kultura houby *Trametes suaveolens*, jejíž zásobní kultura byla kultivována na tuhém Malt Extrakt Glukózovém (MEG) médiu po dobu jednoho týdne v termostatu při teplotě 28 °C. Poté proběhla kultivace houbové

kultury v tekutém MEG médiu. Kultivace opět probíhala cca týden v termostatu při teplotě 28 °C. Složení MEG médií bylo následující: na objem 1000 ml připadlo 5 g Malt Extrakt Brothu, 10 g bezvodé dextrózy a v případě tuhého média ještě 20 g agarového prášku, po smíchání látek bylo upraveno pH médií na hodnotu 5,5. Média byla vždy před použitím vysterilizována v autoklávu při teplotě 120 °C po dobu 21 min a při tlaku 200 kPa.

Následně byla houbová kultura v tekutém médiu homogenizována a nanesena v objemu 10 ml na polyuretanové disky v již sestaveném a vyaotoklávovaném reaktoru. Nanášení kultury houby probíhalo ve flowboxu. Opět probíhala kultivace houbové kultury po dobu cca jednoho týdne v samotném reaktoru. Následně bylo přidáno tekuté médium s rozpuštěným barvivem o koncentraci 50 ppm.

Dekolorizace barviva byla sledována spektrofotometricky pomocí úbytku absorbance v rozmezí vlnových délek 400 – 800 nm. Podle stanovené maximální vlnové délky se pak vypočítala účinnost dekolozace v %. Roztok média s rozpuštěným barvivem se při vsádkovém režimu měnil co 6 dní, u kontinuálního po 48 hod, 96 hod a 192 hod.

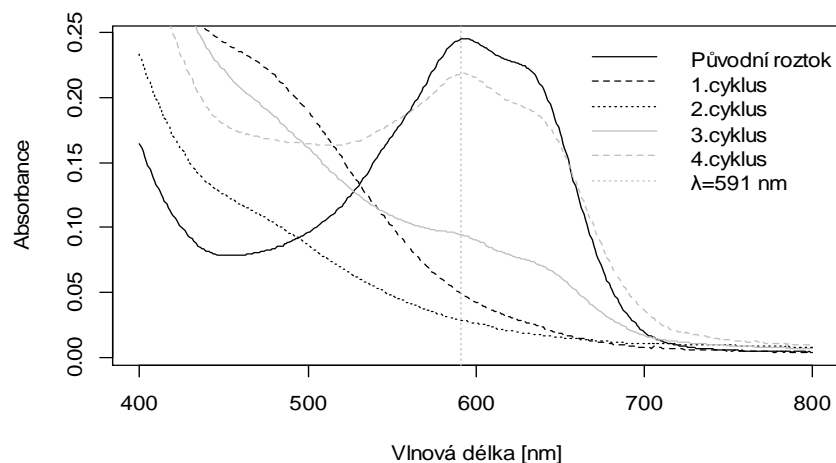
Výsledky a diskuse

Kultura houby *Trametes suaveolens* ve vsádkovém režimu byla schopna dekolozovat barvivo RBBR o koncentraci 50ppm až do 4. cyklu (tzn. po dobu 24 dní), kdy už ovšem dekolozace nebyla tak výrazná (viz Tabulka 1). Celkový objem odbarveného roztoku barviva byl stanoven na 5,5 l za 18 dní.

V kontinuálním režimu byla schopna dekolozovat roztok barviva o téže koncentraci do objemu 4,5 l za 8 dní. Průtok média s barvivem byl stanoven na 0,4 ml/min.

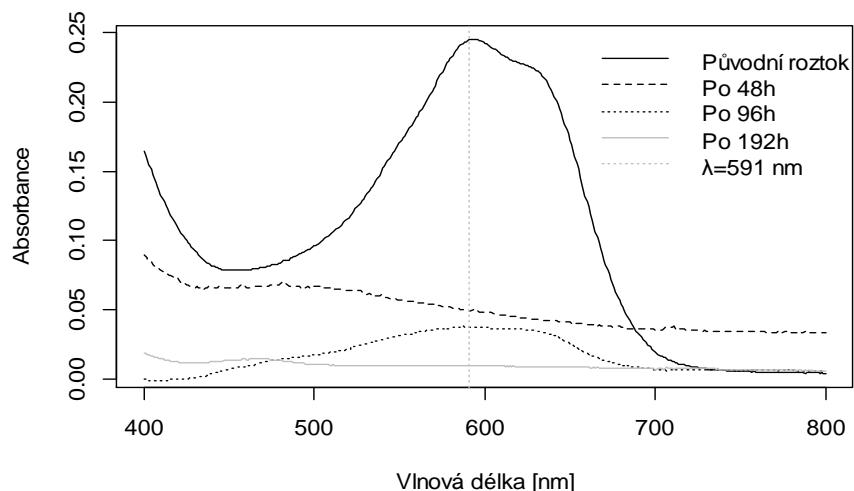
Při srovnání Obrázku 1 a 2 lze vidět, že při vsádkovém režimu mají křivky odlišný průběh a vykazují vyšší absorbanci v oblasti od 400 nm do 500 nm. To by mohlo být způsobeno hromaděním metabolismů vyprodukovaných organismem a případnou interakcí se sloučeninami vzniklých rozkladem barviva a média.

Experiment probíhající ve vsádkovém režimu byl ukončen kvůli nízké hodnotě dekolozace 11,43 % (Tabulka 1), to samé platilo i pro kontinuální režim.



Obrázek 1. Spektra změřena v průběhu dekolozace ve vsádkovém režimu reaktoru.

Legenda: Původní roztok – MEG médium s RBBR (50ppm); 1. cyklus – měření po 6 dnech; 2. cyklus – měření po 12 dnech; 3. cyklus – měření po 18 dnech; 4. cyklus – měření po 24 dnech; $\lambda = 591 \text{ nm}$ – absorpční maximum původního roztoku.



Obrázek 2. Spektra změřena v průběhu dekolorizace v kontinuálním režimu reaktoru. Legenda: Původní roztok – médium s barvivem RBBR o koncentraci 50 ppm; měření po 48, 96 a 192 h od začátku experimentu; $\lambda = 591$ nm – absorpční maximum původního roztoku.

Tabulka 1. Srovnání účinnosti dekolorizace (%) ve vsádkovém a kontinuálním režimu reaktoru.

Vsádkový režim	Dekolorizace (%)
1. cyklus	80
2. cyklus	88,57
3. cyklus	61,63
4. cyklus	11,43
Kontinuální režim	
48 hod	80
96 hod	84,09
192 hod	95,92

Závěr

Z dosavadních výsledků vyplývá, že houba *Trametes suaveolens* je schopna v kontinuálním režimu dekolorizovat barvivo RBBR v koncentraci 50 ppm o 45,68 % rychleji než v režimu vsádkovém.

Do budoucna jsou naplánovány experimenty s vyššími hodnotami koncentrací barviv a s dalšími kulturami hub, u kterých bude srovnávána účinnost dekolorizace ve vsádkovém a kontinuálním režimu. Jednotlivá barviva a kultury budou vybrána na základě výsledků z probíhajícího experimentu na agarových plotnách s danými druhy toxických barviv (Disperse Blue 3, Bromphenol Blue, Reactive Black 5, Malachite Green) a třemi houbovými kulturami (dva kmeny, pracovníě označené jako F1 a F2 získané z kompostovací skládky v Belgii v rámci projektu BioClean, a *Dichomitus squalens*). Kultury z ploten vykazující nejvyšší dekolorizaci budou podrobeny testům v tekutém médiu s daným barvivem, kde se opět vyhodnotí výsledky dekolorizace, na jejichž základě bude nejúspěšnější kultura použita v reaktoru. Nakonec se bude

hodnotit schopnost dekolorizace dané houbové kultury v přítomnosti jiného mikroorganismu v podmínkách RBC.

Poděkování

Ráda bych poděkovala panu doc. Čěňku Novotnému a paní prof. Kateřině Malachové za příkladné vedení mé práce a dále pak panu doktoru Ashutoshovi Kumarovi Vermovi za výbornou spolupráci a při realizaci experimentů.

Literatura

- [1] Martínez, Á., T., Speranza, M., Ruiz-Dueñas, F., J., Ferreira, P., Camarero, S., Guillén, F., Martínez, M., J., Gutiérrez, A., del Río J., C., *Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin*, International Microbiology, 2005, 8: 195-204.
- [2] Kalina, T., Váňa, J., *Sinice, řasy, houby, mechorošty a podobné organismy v současné biologii*, Univerzita Karlova v Praze, Karolinum, 2010, Praha, ISBN 978-80-246-1036-8.
- [3] Šušla, M., Svobodová, K., *Ligninolytické enzymy jako účinné nástroje pro biodegradaci*. Chemické Listy 100, 2006, s. 889-895.
- [4] Rodriguez-Couto, S., *Treatment of Textile Wastewater by White-rot Fungi: Still a Far Away Reality*, Textiles and Light Industrial Science and Technology (TLIST), 2013, Vol. 2 Issue 3, pp. 113-119.
- [5] Novotný, Č., Trošt, N., Šušla, M., Svobodová, K., Mikesková, H., Valková, H., Malachová, K., Pavko, A., *The use of the fungus Dichomitus squalens for degradation in rotating biological contactor conditions*, Biosource technology 114, 2012, pp. 241-246.
- [6] Villadsen, J., Nielsen, J., Lidén, G., *Bioreaction Engineering Principles*, 2nd edition, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2003, New York, ISBN 0-306-47349-6.

Abstract

White-rot fungi are able to degrade each of the wood components (i.e. lignin, cellulose and hemicellulose). This property is due to the secretion of extracellular broad-specific ligninolytic enzymes, which are able to degrade the lignin polymer [2, 3]. The similar mechanism which gives these group of fungus the ability to degrade lignin also allows them to degrade a wide range of compounds structurally analogous to lignin such as synthetic dyes [5].

Our aim is to evaluate degradation performance of biofilm isolates of a selected WRF strain and evaluate the efficiency and behavior of the fungus under the conditions of RBC reactor in batch and countinuous mode. In this experiment we used WRF *Trametes suaveolens* and synthetic dye RBBR (50 ppm). Results from this work indicate that *Trametes suaveolens* can decolorizate RBBR in continuous mode more efficiently than in batch mode.