



Screening of bacteria strains with abilities to decolorize synthetic dyes

Ewa ZABŁOCKA-GODLEWSKA¹, Wioletta PPRZYSTAŚ²,

¹ Silesian University of Technology, Akademicka 2A, tel.: +48 32 237 2855, e-mail: ewa.zablocka-godlewska@polsl.pl

² Silesian University of Technology, Akademicka 2A, tel.: +48 32 237 2855, e-mail: wioletta.przystas@polsl.pl

Abstract

Synthetic dyes are commonly used in different branches of economy. Their common use and insufficiently effective wastewater treatment technologies cause the penetration of these substances into the environment, especially to aquatic ecosystems. Occurrence of dyes pose a serious ecological threat. Works connected with the improvement of biological methods of elimination of these pollutants are based, among others, on the search of strains of bacteria effective in decolorization processes. The aim of the study was to conduct a screening of bacterial strains isolated from municipal wastewater for possible removal of synthetic dyes. The material for isolation was taken from two Upper Silesia sewage treatment plant. Screening was carried out with using disazo dyes, triphenylmethanes and fluorene dyes. It has been shown that municipal wastewaters can be a valuable source of bacteria strains with high decolorization potential. There were isolated 41 strains, with the various abilities of dyes removal which depends on their chemical structure.

Keywords: bacteria, decolorization, synthetic dyes, disazo dyes, triphenylmethane dyes, fluorene dyes.

Streszczenie

Badania screeningowe bakterii wykazujących zdolność do dekoloryzacji barwników syntetycznych

Barwniki syntetyczne są substancjami powszechnie wykorzystywanymi w licznych działach gospodarki. Powszechność ich stosowania oraz niewystarczająco efektywne technologie ich usuwania przyczyniają się do przenikania tych substancji do środowiska, zwłaszcza do ekosystemów wodnych, co stanowi poważne zagrożenie ekologiczne. Prowadzone prace nad doskonaleniem biologicznych metod eliminacji tych zanieczyszczeń opierają się m.in. na poszukiwaniu szczepów bakteryjnych, efektywnych w dekoloryzacji. Celem badań było przeprowadzenie screeningu szczepów bakteryjnych wyizolowanych ze ścieków komunalnych pod kątem możliwości usuwania barwników syntetycznych. Materiał do izolacji pobrano z dwóch górnośląskich oczyszczalni ścieków. Screening przeprowadzono z użyciem barwników disazowych, tryfenylometanowych oraz fluorenowych. Wykazano, że ścieki komunalne mogą stanowić cenne źródło pozyskiwania szczepów bakteryjnych o dużym potencjale dekoloryzacyjnym. Wyizolowano 41 szczepów, wykazujących bardzo różnicowane możliwości usuwania barwników syntetycznych w zależności od ich struktury chemicznej.

Słowa kluczowe: bakterie, dekoloryzacja, barwniki syntetyczne, barwniki disazowe, barwniki tryfenylometanowe, barwniki fluorenowe.

1. Wstęp

Barwniki syntetyczne są powszechnie stosowane w licznych branżach gospodarki, można pokusić się o stwierdzenie, że trudno znaleźć dzisiaj dział gospodarki, w którym te substancje nie znajdowałyby zastosowania. Wzrastające wymagania współczesnego konsumenta, dotyczące estetyki produktu jak i trwałości jego barwy przyczyniają się do wzrastającego z roku na rok zapotrzebowania na te substancje, jak również produkcji barwników trwałych, odpornych na działanie czynników środowiskowych, zarówno fizykochemicznych, jak i

biologicznych [1-5]. Nie trudno się domyślić, że taka sytuacja generuje liczne problemy środowiskowe. Wynikają one m.in. z niedoskonałości procesów barwienia (niepełne wiązanie porcji zastosowanego barwnika i przechodzenie znacznej jego ilości do ścieków), jak również niedoskonałości stosowanych fizykochemicznych i biologicznych technologii oczyszczania ścieków barwnych (m.in. niewystarczająca efektywność usuwania, wysokie koszty, generowanie niebezpiecznych osadów poprocesowych i inne) [5-11]. Niedoczyszczone ścieki barwne, zrzucane do wód powierzchniowych, jak również trafiające do gleb osady ściekowe, zawierające zasorbowane barwniki syntetyczne, wnoszą do tych środowisk ładunek barwnych ksenobiotyków, stabilnych chemicznie, o skomplikowanej strukturze i ogromnej różnorodności. Słaba podatność znaczącej części tych substancji na działanie czynników fizycznych, chemicznych i biologicznych, stwarza zagrożenie kumulowania barwników syntetycznych w środowisku. Obecność tych ksenobiotyków w środowisku, a głównie w wodach powierzchniowych, powoduje drastyczną zmianę warunków siedliskowych. Wizualnym efektem jest zmiana kolorytu wody, już w przypadku małych stężeń barwników. Znacznie groźniejszym efektem w wodach jest ograniczenie przenikalności światła, co się z tym wiąże poziomu produkcji pierwotnej, a w konsekwencji zwiększenie deficytu tlenu (zarówno w wyniku ograniczenia poziomu fotosyntezy jak zwiększonej intensywności tlenowych procesów biologicznych przemian). Barwniki mogą wywoływać ostre efekty toksyczne, kancerogenne i mutagenne u organizmów ekspozowanych na ich obecność [1, 7-9, 10, 12-14]. Potrzeba opracowania technologii oczyszczania ścieków barwnych, bardziej efektywnych od stosowanych obecnie, stanowi wciąż poważne wyzwanie. Szczególna uwaga skierowana jest na biologiczne procesy dekoloryzacji, które uznawane są za bezpieczne dla środowiska i ekonomicznie atrakcyjniejsze. Podstawą wysokiej efektywności metod biologicznych jest wykorzystanie odpowiednio wyselekcjonowanych mikroorganizmów, wykazujących wysoki potencjał degradacyjny, przejawiający się zarówno w efektywności usuwania konkretnej substancji, jak również szerokiego spektrum substancji rozkładanych, charakteryzujących się zróżnicowaniem struktury chemicznej, co jest szczególnie ważne ze względu na charakter ścieków barwnych. Liczne badania skoncentrowane są obecnie nad udoskonaleniem tanich, przyjaznych dla środowiska, biologicznych metod odbarwiania. Jednym z wytyczonych zadań jest odpowiednio przeprowadzony screening środowiska w celu pozyskiwania organizmów efektywnie usuwających zanieczyszczenia barwne [1, 7-9, 12-13, 15-17]. Celem badań prezentowanych w niniejszej publikacji był screening próbek ścieków pobranych z dwóch górnośląskich oczyszczalni ścieków komunalnych pod kątem wyizolowania szczepów bakterii wykazujących wysoki potencjał dekoloryzacyjny. Badania screeningowe przeprowadzono z użyciem barwników azowych (grupy będącej liderem jeżeli chodzi o różnorodność jak również skalę zastosowania i roczną globalną produkcję) oraz często stosowanych barwników trifenylometanowych i nieco rzadziej stosowanych fluorenowych.

2. Metodyka badań

2.1. Charakterystyka użytych w badaniach barwników syntetycznych

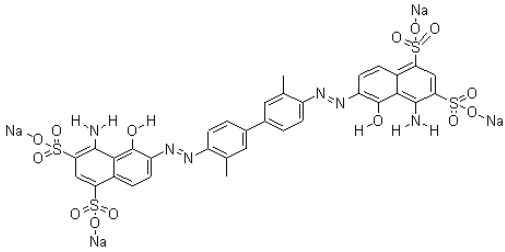
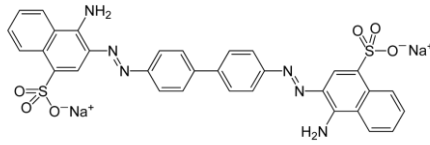
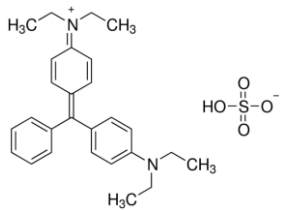
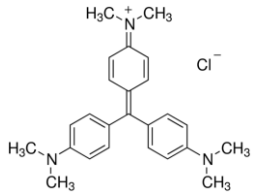
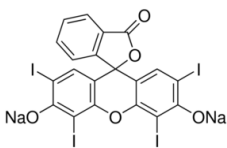
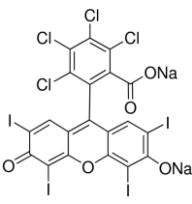
W badaniach screeningowych szczepów bakterii użyto sześć barwników syntetycznych należących do różnych grup:

- disazowe (AZ) – błękit Evansa (BE), czerwień Kongo (Sigma-Aldrich);
- trifenylometanowe (TPM) – zieleń brylantowa (ZB) (Sigma-Aldrich), fiolet krystaliczny (FK) (POCH);
- fluorenowe (FL) – erytrozyna (ER) (Sigma-Aldrich), róż bengalski (RB) (Aldrich).

Wzory strukturalne i sumaryczne barwników oraz wyznaczone doświadczalnie (spektrofotometr UV-VIS Hitachi 1900) długości fal, odpowiadające ich maksymalnej absorpcji przedstawiono w tabeli 2.1.

Przed wprowadzeniem barwników do podłoża hodowlanych przygotowano jałowe ich roztwory o odpowiednim stężeniu. Roztwory jałowiono mechanicznie przy użyciu filtrów strzykawkowych celulozowych, o średnicy porów 0,2 µm (Whatman).

Tabela 2.1. Barwniki wykorzystane w badaniach – charakterystyka (opracowane na podstawie [18])

Barwniki disazowe					
Błękit Evansa			Czerwień Kongo		
					
Wzór sumaryczny: $C_{34}H_{24}N_6Na_4O_{14}S_4$	Nr C.I.: 23860	λ max.[nm]: 606	Wzór sumaryczny: $C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$	Nr CAS.: 573-58-0	λ max.[nm]: 490
	Masa molowa: 960.79 g/mol			Masa molowa: 696.67 g/mol	
Barwniki tryfenylometanowe					
Zieleń brylantowa			Fiolet krystaliczny		
					
Wzór sumaryczny: $C_{27}H_{34}N_2O_4S$	Nr C.I.: 42040	λ max.[nm]: 624	Wzór sumaryczny: $C_{25}H_{30}N_3Cl$	Nr C.I.: 42555	λ max.[nm]: 590
	Masa molowa: 482.63 g/mol			Masa molowa: 407.98 g/mol	
Barwniki fluorenowe					
Erytrozyna			Róż bengalski		
					
Wzór sumaryczny: $C_{20}H_6I_4Na_2O_5$	Nr C.I.: 45430	λ max.[nm]: 527	Wzór sumaryczny: $C_{20}H_2Cl_4I_4Na_2O_5$	Nr C.I.: 45440	λ max.[nm]: 548
	Masa molowa: 879.84 g/mol			Masa molowa: 1017.64 g/mol	

2.2. Zastosowane podłoża hodowlane

W badaniach wykorzystano podłoże mikrobiologiczne Kimury w postaci stałej i płynnej (skład g/dm³: 20 g glukozy, 5g peptonu, 2g ekstraktu drożdżowego, 1g KH₂PO₄, 0,5g MgSO₄×7H₂O). Odczyn podłoży ustalono na poziomie pH 6,8-7,0. W celu uzyskania podłoża stałego dodano agaru bakteriologicznego (BTL) w ilości 18 g/dm³.

Do wykonywania rozcieńczeń materiału oraz przygotowania zawiesin bakteryjnych wykorzystano jałową sól fizjologiczną (0,85% wodny roztwór NaCl).

W celu przechowywania szczepów i namnażania ich biomasy przygotowano skosy agarowe z agaru odżywczego (BTL).

2.3. Izolacja szczepów bakteryjnych

Pierwszy etap screeningu przeprowadzono na podłożu stałym Kimury wzbogaconym w wybrane barwniki syntetyczne (zieleń brylantowa i błękit Evansa) w stężeniu 0,1 g/dm³. W etapie tym dokonano izolacji szczepów bakterii wykazujących zdolność wzrostu w obecności barwników syntetycznych oraz ich dekoloryzacji. Materiałem wykorzystanym do izolacji bakterii były ścieki pozyskane z dwóch oczyszczalni ścieków komunalnych (w Katowicach i Tychach). Ścieki pobierano na dopływie i z komór napowietrzania. Materiał wyjściowy rozcieńczono w soli fizjologicznej w zakresie 10⁻¹-10⁻⁶. Rozcieńczone roztwory posiano metodą płytek tartych na podłoża zawierające barwniki. Próby inkubowano przez 96h w temp. 26°C. Szczepy bakterii, wokół których obserwowano wyraźne strefy odbarwienia podłoża przepasażowano na sterylne podłoża hodowlane i poddano procedurze oczyszczania w celu uzyskania czystych kultur bakteryjnych. Wyizolowano 41 szczepów, których biomasę następnie namnożyono na skosach agarowych w celu wykorzystania w drugim etapie screeningu.

2.4. Badania screeningowe w celu wykazania potencjału dekoloryzacyjnego badanych szczepów

W celu określania potencjału dekoloryzacyjnego wyizolowanych szczepów założono hodowle płynne (probówkowe). Namnożoną na skosach agarowych, 48-godziną biomasę szczepów, splukiwano jałową solą fizjologiczną, a następnie wszystkie zawiesiny doprowadzono do mętności na poziomie 5 w skali Mc Farlanda (~15*10⁸ CFU/cm³). Inokula wykorzystano do zaszczepiania podłoży płynnych Kimury. Do probówek zawierających po 10 cm³ płynnego podłoża Kimury wprowadzano 0.1 cm³ odpowiedniej zawiesiny bakteryjnej. W celu namnożenia biomasy, próby inkubowano w temp. 26°C przez 48 godzin (do uzyskania stacjonarnej fazy wzrostu). Po tym czasie do hodowli wprowadzono jałowe roztwory badanych barwników (fiolet krystaliczny, zieleń brylantową, błękit Evansa, czerwień Kongo, erytrozynę, róż bengalski). Stężenie początkowe barwników w próbkach było na poziomie 0,1 g/dm³. Próbkę inkubowano przez 6 dni w temp. 26°C. Test wykonano w trzech powtórzeniach. Sporządzono również kontrole barwnikowe, nie zawierające biomasy bakteryjnej.

Po okresie inkubacji wszystkie próby odwirowano (5000 rpm/10 min). W uzyskanym supernatancie zmierzono absorbancję roztworów (spektrofotometr UV Vis – Hitachi U -1900), przy długościach fal określonych eksperymentalnie, odpowiadających wartościom maksymalnych absorbancji barwników (fiolet krystaliczny lub gencjany (590 nm); zieleń brylantowa (624 nm); błękit Evansa (606 nm); czerwień Kongo (490 nm); erytrozyna (527 nm); róż bengalski (548 nm)). Na podstawie wyników absorbancji określono zawartości barwników w próbach, których stężenie określono w oparciu o krzywe wzorcowe. Ubytek barwników w próbach obliczano według podanego poniżej wzoru (wzór 2.1):

$$U[\%] = ((K-B)/K)*100\% \quad (2.1)$$

gdzie:

U – usunięcie barwnika [%]

K – stężenie barwnika w kontroli [g/dm³],

B – pozostałość (stężenie) barwnika w próbce z biomasą [g/dm³].

3. Omówienie i dyskusja wyników badań

Trudności i ograniczenia związane z usuwaniem zanieczyszczeń barwnych ze ścieków, wynikają m.in. z niewystarczającej efektywności stosowanych technologii, wysokich ich kosztów czy produkcji kłopotliwych odpadów poprocesowych. Obecnie znaczną uwagę poświęca się poszukiwaniu organizmów różnych poziomów ewolucyjnych, które mogłyby stanowić skuteczne narzędzie w tym aspekcie. Szczególną atencją cieszą się mikroorganizmy, zwłaszcza bakterie i grzyby. Najczęściej wymienianym źródłem pozyskiwania szczepów mikroorganizmów aktywnych w dekoloryzacji są ścieki, m.in. przemysłu włókienniczego, komunalne, jak również osady poprodukcyjne czy środowiska skażone. Taki wybór źródeł podyktowany jest spodziewaną w nich obecnością mikroorganizmów naturalnie zaadaptowanych do obecności różnorodnych zanieczyszczeń, w tym barwników syntetycznych [17, 19-27].

Badania screeningowe pod kątem możliwości dekoloryzacyjnych bakterii przeprowadzono na 41 szczepach wyizolowanych ze ścieków komunalnych, pobranych na dopływie i z komór napowietrzania dwóch Górnośląskich oczyszczalni ścieków (14 szczepów z oczyszczalni w Tychach i 27 z Katowic). Potencjał dekoloryzacyjny mikroorganizmów oceniono na podstawie efektów dekoloryzacji sześciu barwników syntetycznych należących do trzech różnych grup: disazowej (błękit Evansa, czerwień Kongo), trifenylometanowej (zieleń brylantowa, fiolet krystaliczny), fluorenowej (róż bengalski, erytrozyna). Badane grupy barwników (zwłaszcza barwniki azowe) należą do najczęściej stosowanych w licznych gałęziach gospodarki. Wyniki przeprowadzonego screeningu przedstawiono w tabeli 3.1.

Ze ścieków oczyszczalni w Tychach wyizolowano 14 szczepów wykazujących możliwości dekoloryzacji barwników, co stanowiło 34% badanych mikroorganizmów, podczas gdy ze ścieków katowickich wyizolowano 27 szczepów (66%). Na jakościowo-ilościowy skład mikroflory obecnej w ściekach mają wpływ liczne czynniki takie jak skład ścieków czy warunki meteorologiczne (m.in. temperatura, opady). Na podstawie jednorazowo pobranych prób nie należy zatem wnioskować, która oczyszczalnia stanowi bardziej wartościowe źródło pozyskiwania bakterii aktywnych w usuwaniu barwników.

Wszystkie wyizolowane szczepy wykazywały właściwości dekoloryzacyjne względem testowanych barwników. Wyniki efektywności odbarwiania roztworów były bardzo zróżnicowane w zależności od badanego szczepu jak i barwnika. Na 246 wyników tylko 12 prezentuje poziom dekoloryzacji poniżej 20%. Jako kryterium zadowalającej efektywności dekoloryzacji przyjęto usunięcie barwnika na poziomie $\geq 75\%$. Spośród testowanych sześciu barwników najefektywniej usuwana była fluorenowa erytrozyna. Wśród badanych 41 szczepów usunięcie tego barwnika powyżej 75% stwierdzono w przypadku 25 z nich. Drugim w kolejności barwnikiem była trifenylometanowa zieleń brylantowa (usunięcie powyżej 75% w przypadku 22 szczepów). Na kolejnych pozycjach plasowały się: disazowy błękit Evansa (14 szczepów), fluorenowy róż bengalski (12 szczepów), trifenylometanowy fiolet krystaliczny (7 szczepów) i jako ostatnia czerwień Kongo (4 szczepy). Prostsza budowa cząsteczkowa fluorenowej erytrozyny i trifenylometanowej zieleni brylantowej była prawdopodobnie powodem większej podatności tych barwników na biologiczną dekoloryzację aniżeli fluorenowego różu bengalskiego i trifenylometanowego fioleto krystalicznego (tab. 2.1.).

Wydajność biologicznych procesów odbarwiania zależy od złożoności struktury chemicznej barwnika. Im większa jest liczba pierścieni aromatycznych w cząsteczce tym podatność na biodegradację mniejsza. Istotna jest również obecność oraz rodzaj i liczba grup funkcyjnych [25, 27-34]. An i wsp. (2002) w badaniach z użyciem *Citrobacter* sp., wykazali wpływ struktury chemicznej barwnika na efektywność jego biologicznej dekoloryzacji. Badana monoazowa czerwień metylowa usuwana była w 100% przy stężeniach od 5-30 $\mu\text{M}/\text{dm}^3$, natomiast przy stężeniu 2000 $\mu\text{M}/\text{dm}^3$ było to już tylko 41%. Usunięcie disazowej czerwieni Kongo przy stężeniu 5 $\mu\text{M}/\text{dm}^3$ było na poziomie 65%, natomiast przy stężeniu 2000 $\mu\text{M}/\text{dm}^3$ nie stwierdzono dekoloryzacji. Sani i Banerjee (1999) do dekoloryzacji barwników trifenylometanowych (stężenie początkowe w próbach - 10 $\mu\text{M}/\text{dm}^3$) wykorzystali szczep *Kurthia* sp.. Po 30 min. inkubacji stwierdzili 8% redukcję barwy skomplikowanego strukturalnie fioleto etylowego oraz 100% usunięcie prostszej strukturalnie zieleni brylantowej.

Tabela 3.1. Wyniki procentowej redukcji barwy przez testowane szczepy bakterii po 6 dniach prowadzenia procesu (kolorem szarym zaznaczono próby, w których usunięcie barwników było $\geq 75\%$ %)

Pobór materiału do izolacji	Szczep	Usunięcie % barwników po 6 dniach inkubacji (stężenie początkowe 0,1 g/dm ³)						
		Erytrozyna	Róż bengalski	Zieleń brylantowa	Fiolet krystaliczny	Czerwień Kongo	Błękit Evansa	
Oczyszczalnia ścieków Tychy	komora napowietrzania	T9	39,2±0,6	44,1±4,4	95,5±0,0	98,4±0,2	92,7±6,2	94,8±3,1
		T11	69,2±3,1	78,7±2,3	72,2±2,0	45,6±1,4	23,5±1,1	46,7±2,9
		T13	77,7±1,4	24,1±1,3	88,3±1,1	33,4±0,8	14,9±0,7	43,6±2,6
		T15	90,7±2,3	65,2±2,7	63,1±0,6	60,9±1,1	52,7±2,7	49,6±3,3
		T16	91,1±4,4	8,4±0,5	68,1±1,9	52,7±0,7	67,8±5,3	94,9±1,8
		T18	66,3±0,5	100±2,3	91,9±3,4	69,8±1,1	63,2±3,8	81,6±0,8
		T19	81,2±1,7	55,6±1,0	52,2±2,2	13,9±0,9	27,4±3,8	33,7±1,6
		T21	41,2±0,9	32,7±1,1	28,9±0,2	2,1±0,3	57,2±10,8	34,9±2,8
		T22	26,2±0,5	44,5±0,5	35,8±0,2	41,7±0,4	48,6±7,6	3,7±0,2
		T27	60,1±2,6	39,6±4,7	49,7±0,8	58,0±1,0	51,4±6,4	53,4±0,9
		T31	54,3±0,2	37,2±0,2	59,2±0,5	55,8±0,7	61,6±1,8	43,1±0,2
		T33	38,3±0,4	67,2±0,4	54,6±0,7	60,1±1,1	55,0±3,1	39,9±0,9
		T34	41,9±1,0	49,5±1,3	48,3±0,0	53,9±0,7	28,7±0,8	33,3±1,4
		T46	43,6±0,2	19,7±1,0	88,8±0,8	96,9±0,5	6,2±0,9	77,1±1,7
Oczyszczalnia ścieków Katowice	Dopływ (d) i komora napowietrzania (k)	Kdz2	75,0±0,5	39,1±0,2	62,4±0,0	48,4±0,3	26,0±1,5	7,9±1,1
		Kdz4	85,4±0,6	59,5±1,0	80,2±0,2	100±0,1	37,4±8,6	43,8±0,5
		Kdz5	66,6±0,3	95,2±3,2	100±0,0	59,1±1,9	44,0±0,7	26,8±0,1
		Kdz6	82,2±1,1	88,2±0,3	96,3±0,1	100±0,0	36,7±6,6	7,0±0,2
		Kdz7	71,6±2,8	88,4±4,3	100±0,0	100±0,0	58,3±1,9	27,7±1,3
		Kdz8	68,5±0,3	36,2±2,0	100±0,0	100±0,0	62,6±3,4	44,4±0,5
		Kdz11	91,6±0,4	51,1±3,2	94,8±0,1	66,2±0,1	88,0±5,3	73,3±1,6
		Kdz12	94,6±0,7	92,9±3,4	98,3±0,3	58,7±0,4	47,0±3,1	84,0±0,9
		Kdz13	92,3±0,0	50,9±0,6	80,3±0,2	57,2±0,2	38,3±2,2	31,8±0,4
		Kdz14	93,4±0,4	72,0±1,0	98,7±0,1	56,4±0,3	69,7±6,1	71,0±0,4
		Kdz15	93,2±3,7	1,7±0,2	88,2±0,4	53,5±0,4	49,3±1,8	62,7±0,6
		Kdz16	76,2±1,2	95,5±0,5	88,6±0,6	53,2±0,3	59,6±1,1	87,6±0,9
		Kdz17	81,7±0,2	91,9±0,2	77,5±0,2	56,7±0,4	55,0±1,6	77,1±0,9
		Kdz18	80,8±0,4	31,2±0,4	89,1±0,8	55,9±0,5	72,4±5,7	87,0±1,0
		Kkz1	92,2±0,0	68,3±0,3	93,6±0,5	64,9±1,1	27,6±0,9	47,5±1,5
		Kkz2	94,5±0,5	83,3±2,4	78,1±0,1	47,0±0,3	43,5±2,2	57,4±2,4
		Kkz3	73,9±0,1	98,2±0,1	87,6±0,3	79,1±0,2	59,2±4,1	74,5±1,0
		Kkz4	71,1±0,1	19,9±0,4	64,9±0,5	55,6±2,5	56,3±5,1	78,8±0,8
		Kkz5	34,2±0,2	0±0,0	70,0±0,4	51,1±0,6	18,3±2,2	10,2±0,3
		Kkz6	76,1±2,5	57,5±0,4	83,4±0,4	27,8±1,4	65,0±3,2	81,9±0,6
		Kkz7	79,9±0,6	33,7±0,6	62,3±0,3	46,5±0,1	78,2±1,8	55,8±1,2
Kkb1	89,1±0,4	80,6±2,0	63,3±0,6	59,7±0,8	88,0±3,8	86,4±0,6		
Kkb4	97,6±0,1	71,4±0,9	65,5±0,4	64,8±0,2	72,1±4,6	88,2±1,0		
Kkb5	76,2±1,4	60,0±1,0	59,1±0,3	56,6±0,7	56,0±2,2	79,3±0,3		
Kkb7	79,3±0,3	49,1±0,9	59,3±0,5	49,0±0,1	60,0±3,2	79,8±0,7		
Kkb8	95,4±0,4	83,3±1,3	79,1±0,8	50,2±1,1	35,3±0,9	57,9±0,9		
Kkb11	84,1±0,4	65,4±0,3	62,7±0,5	52,0±0,5	33,4±7,6	55,2±0,7		

Analizując udział szczepów w zależności od ich pochodzenia w efektywnej dekoloryzacji poszczególnych barwników, stwierdzono, że szczepy pozyskane ze ścieków katowickich wykazywały większy potencjał dekoloryzacyjny aniżeli szczepy pochodzące ze ścieków tyskich. Wśród szczepów katowickich usunięcie erytrozyny na poziomie powyżej 75% stwierdzono w przypadku 78% izolatów, zieleni brylantowej 67%, różu bengalskiego i błękitu Evansa w przypadku 37% szczepów, fioletu krystalicznego 19% i czerwieni Kongo 11% badanych szczepów bakterii. W przypadku szczepów tyskich wartości te były na poziomie odpowiednio: 29% (ER), 29% (ZB), 14% (RB), 29% (BE), 14% (FK) i 7% (CK) izolatów.

Szczególnie cenne są szczepy wykazujące wysoką efektywność dekoloryzacji barwników różnych grup. Możliwość usuwania przez jeden szczep co najmniej 3 barwników, czyli co najmniej 2 różnych strukturalnie grup tych substancji, z efektywnością przekraczającą 75% stwierdzono w przypadku 16 z 41 badanych izolatów (tab. 3.1). W grupie tej 81% stanowiły szczepy katowickie, pozostałe 19% to szczepy tyskie.

Efektywność mikrobiologicznej dekoloryzacji, jak również jej zakres są cechą indywidualną danego szczepu, determinowaną posiadanym aparatem enzymatycznym i mechanizmem procesu [1, 9, 12-13, 15-17, 19, 21-22, 29, 34-36].

3. Wnioski

Przeprowadzone badania potwierdziły, iż ścieki komunalne mogą stanowić dobre źródło pozyskiwania szczepów aktywnych w dekoloryzacji barwników syntetycznych. Wszystkie testowane barwniki były usuwane z roztworów na drodze biologicznej, lecz z różną efektywnością. Przeprowadzone badania screeningowe wykazały większą efektywność szczepów wyizolowanych ze ścieków katowickich. Potencjał dekoloryzacyjny (efektywność jak i zakres dekoloryzacji) poszczególnych szczepów były bardzo zróżnicowane. Badania screeningowe wykazały zależność efektywności usuwania barwników w obrębie danej grupy od złożoności ich struktury chemicznej. Barwnikiem najbardziej podatnym na efektywną dekoloryzację okazała się erytrozyna, a następnie w kolejności zmniejszającej się podatności na biologiczne przemiany: zieleń brylantowa, błękit Evansa, róż bengalski, fiolet krystaliczny i czerwien Kongo.

This research has been supported by the Ministry of Science and Higher Education grant (2007-2010) - research project number N N523 1785 33

Literatura

1. Ali H. (2010). Biodegradation of synthetic dyes – a review. *Water, Air, and Soil Pollution*. 213:251–273.
2. Leena R., Selva R.D. (2008). Bio-decolourization of textile effluent containing Reactive Black-B by effluent-adapted and non-adapted bacteria. *African Journal of Biotechnology*. 7(18):3309-13.
3. Diwanian S., Kharb D., Raghukumar C., Kuhad R.C. (2010). Decolorization of synthetic dyes and textile effluents by basidiomycetous fungi. *Water, Air and Soil Pollution*. 210:409-19.
4. Kalyani D.C., Telke A.A., Dhanve R.S., Jadhav J.P. (2009). Ecofriendly biodegradation and detoxification of Reactive Red 2 textile dye by newly isolated *Pseudomonas* sp. SUK1. *Journal of Hazardous Materials*. 163:735-742.
5. Couto S.R. (2009). Dye removal by immobilized fungi. *Biotechnology Advances*. 27:227–235.
6. Babu B.R., Parande A.K., Raghu S., Kumar T.P. (2007). Cotton textile processing : waste generation and effluent treatment. *J. Cotton Sci.* 11:141-53.
7. Pearce C.I., Lloyd J.R., Guthrie J.T. (2003). The removal of colour from textile wastewater using whole bacterial cells: a review. *Dyes and Pigments*. 58:179-196.
8. Forgacs E., Cserhati T., Oros G. (2004). Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. *Environmental International*. 30:953-971.
9. Saratale R.G., Saratale G.D., Chang J.S., Govindwar S.P. (2011). Bacterial decolourization and degradation of azo dyes: a review. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 42:138–157.

10. Oranusi N.A., Ogugbue C. (2005). Effect of cosubstrates on primary biodegradation of triphenylmethane dyes by *Pseudomonas*. *African Journal of Applied Zoology and Environmental Biology*. 7:38-44.
11. Rehman R., Mahmud T., Irum M. (2015) Brilliant green dye elimination from water using *Psidium guajava* leaves and *Solanum tuberosum* peels as adsorbents in environmentally benign way. *Journal of Chemistry*. Article ID 126036. 8 pages.
12. Solis M., Solis A., Perez H. I., Manjarrez N., Flores M. (2012). Microbial decolouration of azo dyes: A review. *Process Biochemistry*. 47:1723-48.
13. Rauf M.A., Ashraf S.S. (2012). Survey of recent trends in biochemically assisted degradation of dyes. *Review. Chemical Engineering Journal*. 209:520-30.
14. Mendez-Paz D., Omil F., Lema J. M. (2005). Anaerobic treatment of azo dye Acid Orange 7 under batch conditions. *Enzyme and Microbial Technology*. 36:264-272
15. Kuhad R.Ch., Gupta R., Khasa Y.P. (2012). Microbial decolourization of colored industrial effluents, [in] Satyanarayana T., Johri B. N., Prakash A. (eds.): *Microorganisms in Environmental Management - Microbes and Environment*. Springer, ch.35:787-815.
16. Pandey A., Singh P., Iyengar L. (2007). Bacterial decolourization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration and Biodegradation*. 59:73-84.
17. Srinivasan A., Viraraghavan T. (2010) Decolorization of dye wastewater by biosorbents: a review. *Journal of Environmental Management*. 91:1915-29.
18. <https://www.sigmaaldrich.com/poland.html> (27.11.2016)
19. Kandelbauer A., Guebitz G. M. (2005). Bioremediation for the decolorization of textile dyes – a review, [in] Lichtfouse E., Schwarzbauer J., Didier R. (eds): *Environmental Chemistry. Green Chemistry and Pollutants in Ecosystems*. Springer. 3(ch. 26):269-288.
20. Zabłocka-Godlewska E., Przystaś W., Grabińska-Sota E. (2012). Decolourization of diazo Evans blue by two strains of *Pseudomonas fluorescens* isolated from different wastewater treatment plants. *Water, Air, and Soil Pollution*. 223(8):5259-66.
21. Zabłocka-Godlewska E., Przystaś W., Grabińska-Sota E. (2014). Decolourisation of different dyes by two *Pseudomonas* strains under various growth conditions. *Water Air Soil Pollution*. 225:1846-59.
22. Zabłocka-Godlewska E., Przystaś W., Grabińska-Sota E. (2015). Dye decolourisation using two *Klebsiella* strains, *Water Air Soil Pollution*. 226:2249-63.
23. Wang J., Qiao M., Wei K., Ding J., Liu Z., Zhang K. Q., Huang X. (2011). Decolorizing activity of malachite green and its mechanism involved in dye biodegradation by *Achromobacter xylosoxidans* MG1. *J Mol Microbiol Biotechnol*. 20:220-227.
24. Tony B.D., Goyal D., Khanna S. (1999). Decolorization of textile azo dyes by aerobic bacterial consortium. *Int Biodeter Biodegr* 63:462-469.
25. Sani R.K., Banerjee U.C. (1999). Decolorization of triphenylmethane dyes and textile and dye-stuff effluent by *Kurthia* sp. *Enzyme and Microbial Technology*. 24:433-437.
26. Vijaykumar M.H., Vaishampayan P.A., Shouche Y.S., Karegoudar T.B. (2007). Decolourization of naphthalene-containing sulfonated azo dyes by *Kerstersia* sp. Strain VKY1. *Enzyme and Microbial Technology*. 40:204-211.
27. Sharma D.K., Saini H.S., Singh M., Chimni S.S., Chandha B.S. (2004). Isolation and characterization of microorganisms capable of decolorizing various triphenylmethane dyes. *Journal of Basic Microbiology*. 44(1):59-65.
28. An S.Y., Min S.K., Cha I.H., Choi, Y.L., Cho, Y.S., Kim, C.H., Lee, Y.C. (2002). Decolorization of triphenylmethane and azo dyes by *Citrobacter* sp. *Biotechnology Letters*. 24:1037-40.

29. Jang M.S., Lee Y.M., Kim Ch.H., Lee J.H., Kang D.W., Kim S.J., et al.(2005). Triphenylmethane reductase from *Citrobacter* sp. Strain KCTC 18061P: purification, characterization, gene cloning, and overexpression of functional protein in *Escherichia coli*. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(12):7955–60.
 30. Tychanowicz G.K., Zilly A., Marquez de Souza C.G., Peralta R.M. (2004). Decolorization of industrial dyes by solid-state cultures of *Pleurotus pulmonaris*. *Process Biochemistry*. 39:855–859.
 31. Hsueh C.C., Chen B.Y., Yen C.Y. (2009) Understanding effects of chemical structure on azo dye decolorization characteristics by *Aeromonas hydrophila*. *J Hazard Mater*. 167:995-1001.
 32. Tauber M.M., Gubitz G.M., Rehorek A. (2008). Degradation of azo dyes by oxidative processes: Laccase and ultrasound treatment. *Bioresour Technol*. 99:4213-20.
 33. Pricelius S., Held C., Sollner S., Deller S., Murkovic M., Ullrich R., Hofrichter M., Paulo A.C., Macheroux P., Guebitz G.M. (2007). Enzymatic reduction and oxidation of fibre-bound azo-dyes. *Enzyme Microb Technol*. 40:1732–38.
 34. Stolz A. (2001). Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 56:69-80.
 35. Santos A.B., Cervantes F.J., Lier J.B. (2007). Review paper on current technologies for decolourization of textile wastewaters: Perspectives for anaerobic biotechnology. *Bioresource Technology*. 98:2369-85.
 36. Vijayaraghavan K., Yun Y.S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. Research review paper. *Biotechnology Advances*. 26:266-291.
-

