

LEONARD KOPÍŃSKI
JOANNA DARMOFALSKA

Wydział Technologii i Inżynierii Chemicznej, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Bydgoszcz

Zastosowanie podłoża po uprawie owocników bocznika ostrogowatego do odbarwiania roztworów wybranych barwników

Wprowadzenie

Bocznik ostrogowaty (*Pleurotus ostreatus*) należy do najczęściej uprawianych wielkoowocnikowych grzybów jadalnych [1]. Podczas jego uprawy powstaje odpadowe podłoże poprawowe zawierające resztki substancji ligninocelulozowej, strzępki grzybni oraz różne metabolity. Najcenniejszym z nich jest lakaza mająca zdolność degradowania związków chemicznych o skomplikowanej strukturze [2]. Niska specyficzność lakazy oraz jej właściwości oksydacyjno-redukcyjne predysponują ją do rozkładu trudnodegradowalnych substancji oraz odbarwiania roztworów różnych barwników [3].

Wzrastająca produkcja owocników bocznika powoduje powstawanie coraz większych ilości odpadowego podłoża poprawowego, które trudno jest zagospodarować lub zutylizować. Obecnie podłoże takie stosuje się jako nawóz do wzbogacania gleb, jako dodatek do pasz zwierzęcych oraz jako substrat do produkcji humusu z wykorzystaniem dżdżownic. Lakaza obecna w tym podłożu umożliwia zastosowanie go do utylizowania bardzo uciążliwych dla środowiska odpadów, jakimi są ścieki zawierające różne barwniki. W prezentowanej pracy przedstawiono wyniki badań odbarwiania roztworów trzech wybranych barwników (*Acid Red 27*, *Reactive Blue 81* i *Acid Blue 62*) przepływających w sposób ciągły przez warstwę podłoża po uprawie owocników bocznika.

Materiały i metody

Podłożem stosowanym w badaniach była mieszanina pozostałości rozdrobnionej słomy pszennej ze strzępkami grzybni bocznika oraz wydzielonymi metabolitami. Podłoże to uzyskano w wyniku uprawy trwającej 76 dob, w czasie których zebrano 3 rzuty owocników. Grzybnia bocznika pochodziła z własnej kolekcji.

Odbarwianiu poddano wodne roztwory barwników *Acid Red 27* (AR 27) i *Reactive Blue 81* (RB 81) o stężeniu 0,2 g/l oraz *Acid Blue 62* (AB 62) o stężeniu 0,1 g/l. Proces odbarwiania prowadzono w przepływowym bioreaktorze o pojemności 250 ml, w którym znajdowało się podłoże poprawowe w ilości 50 g suchej masy. W pierwszej części eksperymentu, do badań użyto podłoże zawierające aktywną lakazę, a w drugiej podłoże zawierające lakazę zdezaktywowaną termicznie (termostatowane przez 30 min w komorze cieplnej w 105°C). W celu wyznaczenia aktywności lakazy próbkę podłoża o masie 7 g wytrząsano w kolbach *Erlenmayera* z dodatkiem buforu fosforanowego (pH 7,53) w ilości 13,93 g przez 2 h w wytrząsarce typu SHAKER 358 S pracującej z częstotliwością 135 Hz i amplitudą 9 cm. Uzyskaną zawiesinę filtrowano przez bibułę

MUNKTELL (Grade: 388), a przesącz wirowano w wirówce TYW W3 (ELPO, Wrocław) przy 6000 obr/min przez 20 min. Aktywność lakazy w uzyskanym przesączu oznaczano metodą *Leonowicza* i *Grzywnowicza*, stosując jako substrat syringaldazynę [4]. Do pomiarów spektrofotometrycznych używano spektrofotometru V 530 (JASCO, Japonia).

W pierwszym przypadku aktywność lakazy wyniosła 5,45 U/ml, natomiast w drugim przypadku enzym nie wykazywał żadnej aktywności.

Zastosowanie tych dwóch różnych podłoży miało na celu zbadanie wpływu fizycznej sorpcji oraz katalitycznego działania lakazy na przebieg procesu odbarwiania roztworów barwników. Aparaturę stosowaną do badań przedstawiono schematycznie na rys. 1.

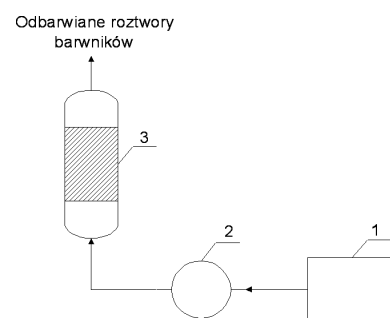
Roztwory barwników przepływały przez warstwę podłoża poprawowego przez 48 h dwoma różnymi strumieniami objętości: $V_1 = 0,71$ ml/min i $V_2 = 1,55$ ml/min w temperaturze 25°C. Z roztworów wypływających z bioreaktora pobierano próbki (w określonych odstępach czasu), w których po odwirowaniu oznaczano spektrofotometrycznie stężenie zawartych w nich barwników. Poszczególne roztwory barwników badano przy różnych długościach fali światła [5]:

- dla AB 62 $\lambda = 638$ nm,
- dla AR 27 $\lambda = 520$ nm,
- dla RB 81 $\lambda = 584$ nm.

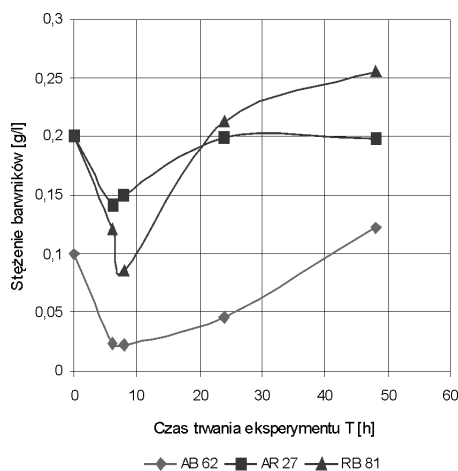
Wyniki i dyskusja

Na rys. 2 i 3 przedstawiono zmianę stężenia barwników w ich roztworach podczas odbarwiania w podłożu zawierającym aktywną lakazę. Natomiast na rys. 4 i 5 pokazany jest przebieg odbarwiania tych samych barwników przez podłoże zawierające zdezaktywowaną termicznie lakazę.

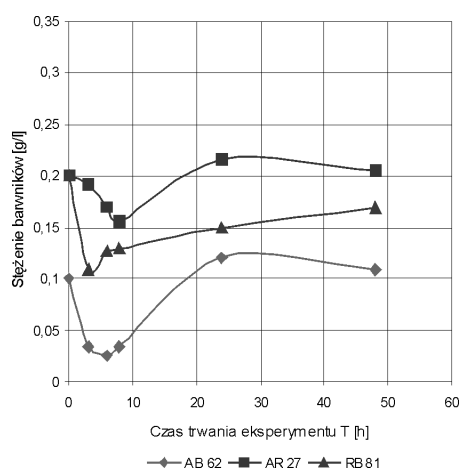
Analiza wyników przeprowadzonych badań wskazuje, że na proces odbarwiania wpływ mają dwa zjawiska. Pierwsze z nich, fizyczne, związane jest z sorpcją cząsteczek barwnika



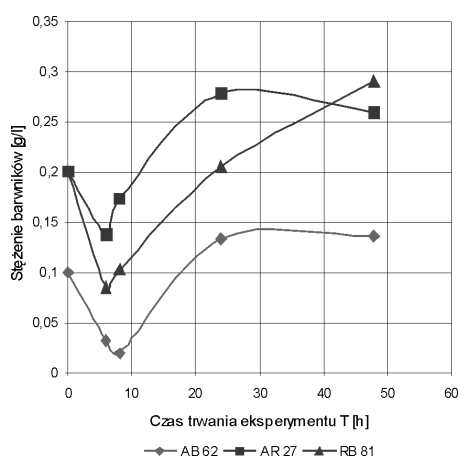
Rys. 1. Aparatura stosowana do badań odbarwiania roztworów wybranych barwników za pomocą podłoża po uprawie owocników bocznika: 1 – zbiornik z roztworem barwnika, 2 – pompa perystaltyczna, 3 – bioreaktor kolumnowy



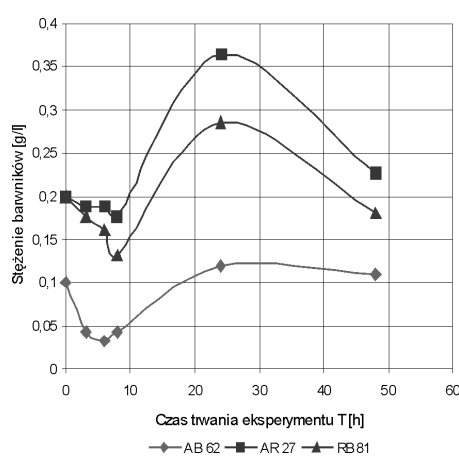
Rys. 2. Zmiana stężenia barwników w roztworach przepływających przez podłoże z aktywną lakazą strumieniem objętości $V_1 = 0,71$ ml/min



Rys. 3. Zmiana stężenia barwników w roztworach przepływających przez podłoże z aktywną lakazą strumieniem objętości $V_2 = 1,55$ ml/min



Rys. 4. Zmiana stężenia barwników w roztworach przepływających przez podłoże ze zdeaktywowaną lakazą strumieniem objętości $V_1 = 0,71$ ml/min



Rys. 5. Zmiana stężenia barwników w roztworach przepływających przez podłoże ze zdeaktywowaną lakazą strumieniem objętości $V_2 = 1,55$ ml/min

na powierzchni strzępek grzybni i pozostałości nierozłożonej słomy. Drugie natomiast, enzymatyczne, jest efektem katalitycznego działania lakazy.

W pierwszym okresie trwania badań (0–8 h) stężenie wszystkich trzech barwników w roztworach szybko się zmniejszało. Jednocześnie było ono praktycznie niezależne ani od rodzaju stosowanego podłoża (z aktywną lakazą lub zdeaktywowaną) ani od wielkości strumienia przepływających roztworów. Świadczyło to o intensywnie przebiegających procesach sorpcji cząstek barwników na powierzchni podłoża. Jednocześnie następowało częściowe wmywanie lakazy z podłoża pouprawowego, co potwierdzają dane przedstawione na rys. 2 i 3. Stężenia barwników na wylocie z bioreaktora przy strumieniu ich przepływu $V_1 = 0,71$ ml/min były niższe niż wartości uzyskane przy przepływie $V_2 = 1,55$ ml/min. Oznacza to, że wzrost szybkości przepływu powoduje wzrost intensywności wypłukiwania lakazy. Podczas następnych 16 h trwania odbarwiania stężenie barwników w wypływających roztworach rosło, osiągając wartości zbliżone lub

wyższe od wyjściowych. W przypadku podłoża ze zdeaktywowaną lakazą stężenia barwników przekraczały bardzo znacznie ich początkowe wartości. Było to dowodem intensywnej desorpcji wcześniej unieruchomionych cząstek barwnika na powierzchni podłoża. Tak gwałtowna desorpcja barwników wynikała prawdopodobnie ze zmiany struktury powierzchni podłoża pouprawowego. Zmiana ta powodowana była znacznym pęcznieniem oraz rozluźnianiem cząstek podłoża w wyniku długotrwałego przepływu roztworów barwników. Skutkowało to zmniejszeniem ilości miejsc aktywnych i wielkości sił sorbujących barwniki. Efekt ten dodatkowo intensyfikowała szybkość przepływu roztworów (Rys. 4 i 5). Dalsze wydłużanie czasu odbarwiania zbliżało układ do osiągnięcia stanu równowagi z tendencją obniżania stężenia barwników w roztworach wpływających z podłoża.

Wnioski

Z przeprowadzonych badań wynika, że proces fizycznej sorpcji zachodził w przypadku wszystkich trzech barwników. Natomiast katalityczne działanie lakazy dotyczyło głównie tylko dwóch barwników (AB 62 i RB 81). Azowy barwnik AR 27 był bardzo oporny na enzymatyczne działanie lakazy. Potwierdziło to znane już wcześniej informacje o znacznie większej oporności barwników azowych na działanie lakazy niż antrachinonowych [6]. Skuteczność działania podłoża pouprawowego była wysoka tylko w pierwszych 8 h trwania procesu odbarwiania. Później efektywność odbarwiania bardzo

szybko się zmniejszała. Powodowane było to prawdopodobnie stosunkowo szybkim wmywaniem dużych ilości lakazy z podłoża i desorpcją barwników. Być może, mimo desorpcji, efekt odbarwiania można by zwiększyć zatrzymując w podłożu maksymalnie duże ilości lakazy. Można to osiągnąć przez dodanie odpowiednich stałych sorbentów, takich jak węgiel aktywny, ziemia okrzemkowa, bentonity itp.

LITERATURA

1. M. Gapiński, W. Woźniak, M. Ziombra: Bocznik, Poznań, PWRiL, 1992.
2. A. M. Mayer, R. C. Staples: *Phytochemistry*, **60**, 551, (2002).
3. M. Solecka, S. Ledakowicz: *Biotechnologia*, **69**, nr 2 105, (2005).
4. A. Leonowicz, K. Grzywnowicz: *Enzyme and Microbial Technol.*, **55**, nr 3, 27, (1981).
5. A. Michniewicz, S. Ledakowicz, T. Jamroz, A. Jarosz-Wilkolazka, A. Ledakowicz: *Biotechnologia*, **63**, nr 4, 194, (2003).
6. A. Jarosz-Wilkolazka, E. Malarczyk, T. Jamroz, S. Ledakowicz: *Inż. Ap. Chem.*, **41**, nr 3s, 59, (2002).