



## Biologiczne procesy oczyszczania barwnych ścieków włókienniczych

Monika Solecka<sup>1</sup>, Stanisław Ledakowicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Politechnika Łódzka, Łódź

<sup>2</sup> Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, Politechnika Łódzka, Łódź

### Biological treatment of coloured textile wastewater

#### Summary

The survey of biological methods for treatment of coloured textile wastewater is presented in the paper. Advantages and disadvantages of aerobic, anaerobic and anaerobic-aerobic processes of textile wastewater biodegradation are discussed. Special attention is given to the problems of removal of synthetic dyes from wastewater in conventional biological treatment systems. Alternative methods of decolourisation of textile wastewater based on natural ability of microorganisms (bacteria, fungi, algae) present in the environment are discussed.

#### Key words:

textile wastewater, synthetic dyestuffs, biodegradation, mixed microbial cultures, single microbial cultures.

### 1. Wstęp

W krajach wysoko rozwiniętych podstawowym celem coraz bardziej upowszechniającej się koncepcji zrównoważonego rozwoju społeczno-gospodarczego (tzw. ekorozwoju) w przemyśle jest minimalizacja ilości wytwarzanych zanieczyszczeń. W zakładach przemysłu włókienniczego realizacja koncepcji ekorozwoju ma polegać na kontrolowaniu zużycia wody w procesach wykończalniczych, wykorzystywaniu aparatury pozwalającej na optymalizację stężeń związków chemicznych mających zastosowanie w tych procesach, odzyskiwaniu z powstających ścieków

#### Adres do korespondencji

Monika Solecka,  
Instytut Technologii  
Fermentacji  
i Mikrobiologii,  
Politechnika Łódzka,  
ul. Wólczańska 171/173,  
90-924 Łódź.

---

**biotechnologia**

2 (69) 103–124 2005

niektórych zanieczyszczeń oraz eliminowaniu z procesów technologicznych substancji toksycznych i niepodatnych na rozkład biologiczny. W przypadku zanieczyszczeń, których powstawaniu nie można zapobiec, zalecane jest stosowanie wysoko efektywnych technologii ich unieszkodliwiania. W proponowanych rozwiązaniach technicznych szczególnie nacisk kładzie się na możliwość tworzenia zamkniętych obiegów wody, przy jednoczesnej minimalizacji wytwarzanych osadów, stąd do oczyszczania ścieków włókienniczych proponuje się wykorzystywać adsorpcję na węglu aktywnym, utlenianie chemiczne, ultrafiltrację, nanofiltrację i wymianę jonową. Metody te można łączyć ze sobą w wieloetapowe systemy oczyszczania, pozwalające osiągnąć kilkakrotnie wyższy stopień obniżenia ładunku zanieczyszczeń obciążającego ścieki w porównaniu z wydajnością uzyskiwaną, gdy każdy z procesów stosowany jest oddzielnie. Wadą tych technologii jest znaczna energochłonność, dlatego poszukuje się takich rozwiązań technicznych, które pozwoliłyby na obniżenie zarówno kosztów inwestycyjnych, jak i eksploatacyjnych oczyszczania barwnych ścieków włókienniczych. Prowadzone obecnie na świecie badania z zakresu tej tematyki rozwijają się w trzech kierunkach: a) włączania do systemu oczyszczania działającego w oparciu na metodach fizyczno-chemicznych stosunkowo tanich procesów biologicznych; b) integracji procesów biologicznej redukcji i biologicznego utleniania ścieków barwnych oraz c) poszukiwania gatunków (głównie bakterii, glonów i grzybów) występujących w środowisku naturalnym i posiadających informację genetyczną niezbędną do syntezy enzymów katalizujących reakcje rozkładu specyficznych zanieczyszczeń zawartych w ściekach.

## 2. Charakterystyka barwnych ścieków włókienniczych

Włókiennictwo należy do jednych z bardziej wodochłonnych gałęzi przemysłu. Dobowe zużycie wody w przemyśle włókienniczym wynosi około 500 tys. m<sup>3</sup>, z czego ponad 80% jest wykorzystywane w procesach wykończalniczych [1]. Z wodochłonnością przemysłu włókienniczego wiąże się odprowadzanie znacznych ilości silnie zanieczyszczonych ścieków, odpowiadających swym składem jakościowym ściekom przemysłu chemicznego. Ich zasadniczym źródłem są tzw. procesy mokre, obejmujące odklejanie, pranie, maceryzację, bielenie, barwienie, drukowanie i wykończanie uszlachetniające włókien naturalnych i syntetycznych. Od 10 do 30% BZT<sub>5</sub> w całkowitym obciążeniu ścieków odprowadzanych z wykończalni włókienniczych stanowią zanieczyszczenia pochodzące z farbiarni i drukarni. Skład jakościowy ścieków powstających w procesach barwienia i drukowania jest następujący [2]:

### a) barwienie

– zanieczyszczenia nieorganiczne (Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Cr<sup>+3</sup>, K<sup>+</sup>, Sb<sup>+3</sup>, Al<sup>+3</sup>, Cu<sup>+2</sup>, Fe<sup>+3</sup>, SO<sub>4</sub><sup>-2</sup>, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>3</sub><sup>-2</sup>, CO<sub>3</sub><sup>-2</sup>, S<sub>2</sub>O<sub>4</sub><sup>-2</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SiO<sub>3</sub><sup>-2</sup>, S<sup>-2</sup>, Fe(CN)<sub>6</sub><sup>-4</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, S<sub>4</sub>O<sub>6</sub><sup>-2</sup>, ClO<sup>-</sup>);

– zanieczyszczenia organiczne (barwniki syntetyczne, formaldehyd, środki powierzchniowo czynne, octany, winiany, mrówczany, mocznik, chloraminy, związki fenolo-



we, nitrozoaminy, oleje mineralne, tlenki etylenu, środki dyspergujące, środki elektrostatyczne, aminy aromatyczne, tanina,  $\beta$ -naftol);

b) drukowanie

– *zanieczyszczenia nieorganiczne* ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cr}^{+3}$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{S}_2\text{O}_4^{-2}$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{CO}_3^{-2}$ ,  $\text{PO}_4^{-3}$ ,  $\text{ClO}_3^-$ );

– *zanieczyszczenia organiczne* (barwniki syntetyczne, środki powierzchniowo czynne, formaldehyd, skrobia, gumy roślinne, karboksymetyloceluloza, octany, winiany, szczawiany, glikol, poliglikol, mocznik, rozpuszczalniki naftowe).

Wymienione związki, w tym przede wszystkim barwniki syntetyczne i środki pomocnicze, mają zasadniczy wpływ na zmienność składu jakościowego ścieków odprowadzanych z zakładów włókienniczych. Decyduje o tym ich bogaty asortyment wykorzystywany we włókiennictwie (kilkadziesiąt tysięcy rodzajów barwników i kilka tysięcy rodzajów środków pomocniczych) oraz wysokie zużycie; ocenia się, że światowy przemysł włókienniczy zużywa rocznie około 540 tys. ton barwników i 1,5 mln ton substancji pomocniczych [3].

Proces trwającej w polskim przemyśle włókienniczym recesji gospodarczej, a przede wszystkim załamanie się produkcji w pierwszej połowie lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku, wpłynęły na zmniejszenie się ilości powstających ścieków włókienniczych. Obecnie najbardziej typowe w Polsce są zakłady włókiennicze odprowadzające ścieki w ilości 300-350  $\text{m}^3\text{d}^{-1}$  oraz niewielka grupa dużych przedsiębiorstw, w których ilości powstających ścieków wahają się w przedziale 750-1500  $\text{m}^3\text{d}^{-1}$  (w porównaniu z 6000-18 000  $\text{m}^3\text{d}^{-1}$  wytwarzanych przez jeden zakład włókienniczy w latach siedemdziesiątych i osiemdziesiątych ubiegłego wieku) [4].

### 3. Biodegradacja w warunkach tlenowych

Tlenowymi metodami biologicznymi jest oczyszczane około 15% wytwarzanych w ciągu roku barwnych ścieków włókienniczych w Polsce, przy czym najczęściej wykorzystuje się do tego celu złoża zraszane oraz technologię osadu czynnego [5].

Wydajność metod tlenowych jest uzależniona od wielkości ładunku zanieczyszczeń w ściekach, czasu ich zatrzymania w systemie biologicznym oraz parametrów technologicznych procesu oczyszczania. Oczyszczając ścieki włókiennicze na średnio obciążonych złożach zraszanych można osiągnąć 50-60% odbarwienie przy 75% zmniejszeniu ładunku zanieczyszczeń [6]. Przy niskim obciążeniu substratowym złoż biologicznych i osadu czynnego usuwanie zanieczyszczeń ze ścieków włókienniczych jest zbliżone do uzyskiwanego podczas oczyszczania ścieków miejskich. Waha się ono w granicach 75-95% [7], jednak jego osiągnięcie wymaga odpowiednio długiego czasu retencji ścieków [8]. Na przykład wydłużając czas zatrzymania ścieków (o parametrach wyjściowych:  $\text{BZT}_5 = 180 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3}$ ,  $\text{ChZT} = 1300 \text{ mg O}_2 \text{ dm}^{-3}$ , zawiesiny  $38 \text{ mg dm}^{-3}$ ) w komorze osadu czynnego z 8 do 20 godzin można uzyskać eliminację barwy i zanieczyszczeń pozwalającą na zrzut ścieków do wód powierzch-



niowych [8]. W przypadku ścieków bardziej stężonych 12-godzinny czas retencji w komorze osadu czynnego pozwala na 84, 41 i 22% obniżenie BZT<sub>5</sub>, ChZT i barwy, podczas gdy po 48-godzinnym zatrzymaniu ścieków wartości tych parametrów obniżają się odpowiednio o 92, 74 i 50% [8].

Wadą tlenowych metod biologicznych jest ich wrażliwość na zmienny skład ścieków włókienniczych, dlatego przed biodegradacją powinno dokonywać się wyrównania składu ścieków (np. w zbiornikach przepływowych). Wzrost wydajności osiąga się również przez mieszanie ścieków włókienniczych z bytowo-gospodarczymi [9]. Dodanie ścieków socjalno-bytowych do ścieków przemysłowych wpływa na zmniejszenie toksyczności tych ostatnich, zwiększa też możliwości wykorzystania (jako substratów pokarmowych przez drobnoustroje) zanieczyszczeń trudno ulegających rozkładowi na drodze enzymatycznej. W tabeli 1 zestawiono wartości parametrów kinetycznych równania Monoda wyznaczone (na podstawie badań własnych [10]) dla ścieków włókienniczych i ich mieszaniny z pożywką syntetyczną o charakterze ścieków bytowo-gospodarczych. Po dodaniu pożywki uzyskuje się wzrost podatności ścieków włókienniczych na biodegradację, o czym świadczy znacznie niższa wartość stałej Monoda ( $K_S$ ), w porównaniu ze stałą  $K_S$  dla ścieków bez dodatku pożywki. Obserwuje się również większy przyrost biomasy osadu czynnego w roztworze ( $Y_{X/S}$  – stała wydajności przyrostu biomasy) oraz wyższą maksymalną szybkość usuwania zanieczyszczeń ze ścieków (stała  $q_{max}$ ).

Tabela 1

Parametry kinetyczne równania Monoda wyznaczone dla ścieków włókienniczych oraz ich mieszaniny ze ściekami bytowo-gospodarczymi [10]

Badane ścieki	s.m.o. <sub>0</sub> [mg dm <sup>-3</sup> ]	ChZT <sub>0</sub> [mg O <sub>2</sub> dm <sup>-3</sup> ]	$Y_{X/S}$ [mg s.m.o. mg <sup>-1</sup> O <sub>2</sub> ]	$q_{max}$ [mg O <sub>2</sub> (mg s.m.o. h) <sup>-1</sup> ]	$K_S$ [mg O <sub>2</sub> dm <sup>-3</sup> ]
ścieki włókiennicze	1080	1465	0,5	0,04	3378
ścieki włókiennicze + ścieki socjalno-bytowe	960	1481	0,55	0,16	1407

Do innych czynników zakłócających przebieg biologicznego oczyszczania barwnych ścieków włókienniczych w warunkach tlenowych można zaliczyć:

- znaczne zasolenie ścieków (zanieczyszczenia mineralne przyczyniają się m.in. do deflokulacji osadu czynnego [11]);
- związki organiczne o różnorodnej budowie chemicznej, których stężenie w ściekach zależne jest od aktualnie stosowanych w zakładach procesów technologicznych (są to często zanieczyszczenia toksyczne i/lub trudno ulegające rozkładowi na drodze biologicznej) (tab. 2) [12];
- sporadyczne pojawianie się w ściekach niektórych trudno rozkładalnych zanieczyszczeń organicznych, co dodatkowo utrudnia przebieg biodegradacji [13].



Tabela 2

## Podatność związków zawartych w ściekach włókienniczych na biodegradację [12]

Podatność na rozkład biologiczny	Rodzaj zanieczyszczeń
substancje o wysokim BZT ulegające rozkładowi biologicznemu	klejunki skrobiowe, tłuszcze, woski, kwasy organiczne, niektóre SPC (prostofaruchowe ASPC, krótkofaruchowe produkty przyłączenia tlenu etylenu)
substancje o średnim BZT trudno ulegające rozkładowi biologicznemu	alkohol poliwinylowy, estry skrobiowe, większość SPC, środki zmiękczające, natłuski przedziałnicze
substancje o niskim BZT trudno ulegające rozkładowi biologicznemu	barwniki syntetyczne, rozjaśniacze optyczne, klejunki poliakrylowe, silikon, syntetyczne polimery do wykończeń szlachetnych
substancje o niskim BZT nie ulegające rozkładowi biologicznemu	chlorowane rozpuszczalniki i przenośniki, biocydy, środki wiążące jony metali, metale ciężkie, reaktanty N-metylowe

### 3.1. Barwniki syntetyczne jako inhibitory tlenowej biodegradacji ścieków włókienniczych

Do grupy zanieczyszczeń organicznych, przyczyniających się do obniżania wydajności tlenowych, biologicznych systemów oczyszczania ścieków włókienniczych, zalicza się m.in. barwniki syntetyczne [10,12,13]. Związki te charakteryzują się z reguły złożoną i niejednokrotnie kompleksową budową cząsteczek. Ich stężenie w ściekach przemysłu włókienniczego waha się w zakresie od 10 do 100 mg dm<sup>-3</sup> (wyjątek stanowią ścieki stężone, w których koncentracja barwników wynosi >100 mg dm<sup>-3</sup>) [12,14].

Barwniki syntetyczne hamują zarówno wzrost, jak i aktywność enzymatyczną mikroorganizmów tworzących kłaczkę osadu czynnego i błonę biologiczną złóż [15]. Toksyczność barwników jest uzależniona od: budowy chemicznej związku i jego stężenia w ściekach, składu gatunkowego biocenozy oraz stopnia zaadaptowania biomasy do rozkładu barwników występujących w ściekach [15,16]. Za silne inhibitory wzrostu i aktywności enzymatycznej drobnoustrojów biologicznych systemów oczyszczania uznawane są głównie barwniki azowe [16].

Częstym objawem działania barwników syntetycznych (np. barwników zasadowych, kwasowych, bezpośrednich) jest puchnięcie osadu czynnego, spowodowane zwiększeniem się sumarycznej długości nitki mikroorganizmów nitkowatych, powyżej 10<sup>-7</sup> μm cm<sup>-3</sup> osadu [13,15]. Związki te mogą przyczyniać się także do zmniejszenia bioróżnorodności mikrofauny w osadzie czynnym i błonie biologicznej złóż [17] oraz powodować różnego typu deformacje komórek drobnoustrojów [18].

Dopuszczalne stężenia barwników, przy których biodegradacja ścieków włókienniczych przebiega prawidłowo, zawierają się w przedziale od kilku μmoli do kil-



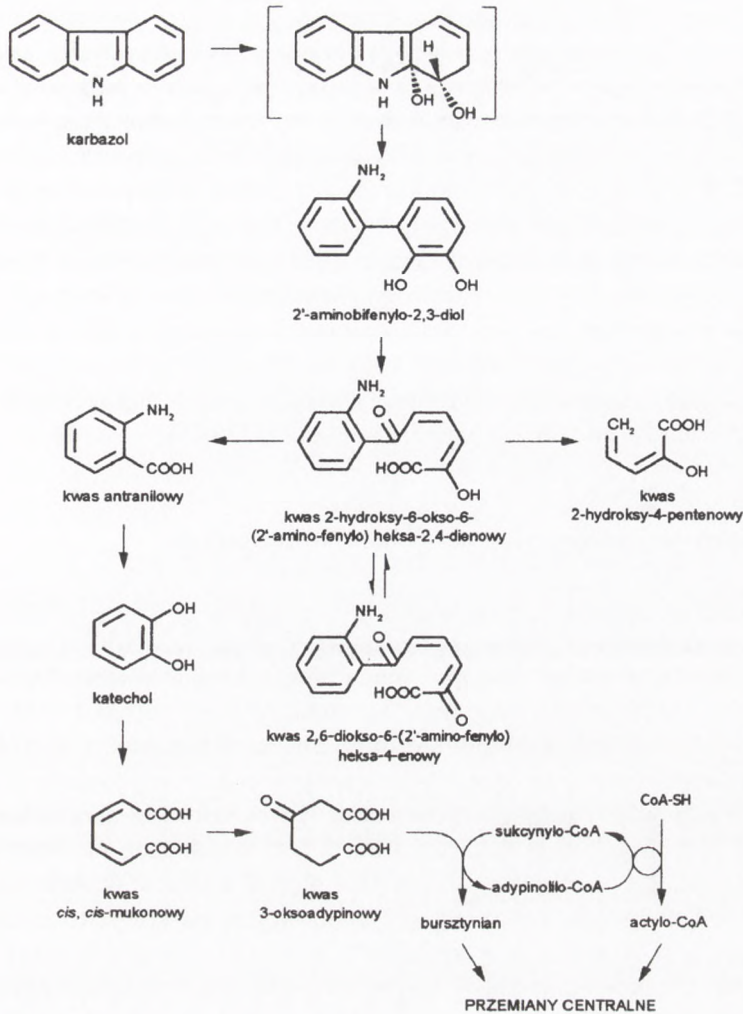
ku tysięcy  $\text{mg dm}^{-3}$  [13,19]. Na przykład czerń kwasowa D i czerń kwasowa Z już przy zawartości 0,3-0,5  $\text{mg dm}^{-3}$  hamują proces nityfikacji ścieków, a w stężeniach 10-50  $\text{mg dm}^{-3}$  hamują proces biodegradacji [20]. Niektóre inne barwniki kwasowe są inhibitorami wzrostu mikroorganizmów osadu czynnego w stężeniach wyższych od 25  $\text{mg dm}^{-3}$  [9,20]. Dopuszczalna zawartość czerwieni kongo, zieleni malachitowej, zieleni kadziowej 3 i turkusy anilinowego w ściekach również wynosi 25  $\text{mg dm}^{-3}$  [9,20]. Dla niektórych barwników siarkowych stężenia dopuszczalne określono na poziomie 400  $\text{mg dm}^{-3}$  [20].

Do grupy drobnoustrojów wrażliwych na obecność barwników syntetycznych w ściekach należą m.in. bakterie. Mechanizm działania tych związków na komórki bakteryjne nie został jeszcze dokładnie poznany. Prawdopodobnie niektóre barwniki (tak, jak i inne związki aromatyczne) wykazują duże powinowactwo do błony komórkowej bakterii, wnikają do jej obszaru lipofilowego i ograniczają ruchy łańcuchów acylowych kwasów tłuszczowych [21]. Akumulacja tych związków w błonie prowadzi do zaburzenia jej integralnej struktury, zwiększenia przepuszczalności, a w konsekwencji do wzrostu jej płynności. Powoduje to zmianę potencjału błonowego, usuwanie białek i lipidów z błony, wypływ jonów i substancji niskocząsteczkowych z komórek oraz hamowanie wzrostu i oddychania bakterii. Szczególnie szkodliwe są związki aromatyczne z podstawnikami hydrofobowymi, gdyż stosunkowo łatwo rozpuszczają się w warstwie lipidowej błony i wskutek tego są bardziej toksyczne w porównaniu z innymi związkami organicznymi. W ostatnio przeprowadzonych badaniach [21] dowodzi się, że bakterie w obecności związków aromatycznych wykazują pewne zdolności adaptacyjne, polegające m.in. na zmianie składu i chemicznych modyfikacjach kwasów tłuszczowych wchodzących w skład lipidów budujących błony komórkowe. Mechanizmy te obserwowano u gatunków bakterii z rodzaju *Pseudomonas* sp., *Rhodococcus* sp., *Vibrio* sp. oraz u licznych szczepów *Escherichia coli*.

Niektóre barwniki, np. zasadowe są inhibitorami wzrostu bakterii gramododatnich [22,23], natomiast barwniki akrydynowe, czy anilinowe działają zarówno na bakterie gramododatnie, jak i gramujemne [23]. Związki te wykazują również właściwości mutagenne [22]. Mogą być też inhibitorami biosyntezy ściany komórkowej bakterii [22].

### 3.2. Biodegradacja barwników syntetycznych w warunkach tlenowych

Rozkładowi biologicznemu w warunkach tlenowych ulegają tylko niektóre barwniki syntetyczne. Z reguły pierścienie aromatyczne i łańcuchy boczne cząsteczek tych związków nie są rozkładane przez mikroorganizmy osadu czynnego i złóż biologicznych. Wykazano [8,24], że drobnoustroje obecne w biologicznych systemach oczyszczania są zdolne do degradacji tylko tych barwników, które zawierają w swojej budowie takie grupy funkcyjne, jak hydroksylowa, aminowa, karboksylowa, czy



Rys. 1. Szlak degradacji karbazolu [26,27].

karbonylowa. Obecność grup sulfonowych i nitrowych, przyczyniających się do wzrostu rozpuszczalności tych związków, hamuje tlenową biodegradację barwnych ścieków włókienniczych. Występowanie w cząsteczce barwnika kilku tych grup uniemożliwia rozkład enzymatyczny związku, nawet w obecności podstawników ułatwiających biodegradację. Ponadto nieznaczne odbarwienie roztworów barwników podatnych na rozkład na drodze biologicznej (np. niektórych dyspersyjnych barwników antrachinonowych, czy reaktywnych barwników winylosulfonowych) w urządzeniach laboratoryjnych symulujących komory osadu czynnego obserwuje się zazwyczaj dopiero po 30-60 dniach trwania procesu [8].



Rozszczepienie pierścienia aromatycznego w cząsteczce barwnika często, lecz nie zawsze, poprzedzone jest usunięciem z niego grup funkcyjnych i zastąpieniem ich grupami hydroksylowymi [25]. Alifatyczne łańcuchy boczne mogą być różnie modyfikowane i skracane lub pozostają nietknięte. Hydroksylacja ma na celu przekształcenie pierścieni aromatycznych do struktury katecholu lub kwasu protokatechowego. W wyniku dalszego *orto*- lub *meta*-rozszczenia pierścienia (w trakcie którego wbudowywany jest tlen cząsteczkowy) powstaje dwukarboksylowy kwas *cis*, *cis*-mukonowy lub semialdehyd kwasu 2-hydroksymukonowego. Powstałe produkty rozszczepienia pierścienia aromatycznego, przez szereg kolejnych przemian pośrednich, ulegają dalszym przekształceniom i wchodzą do szlaków metabolizmu pośredniego drobnoustrojów. Według tego mechanizmu rozkładany jest m.in. karbazol – związek o wysokiej toksyczności i właściwościach mutagennych, wykorzystywany do syntezy niektórych barwników (rys. 1) [26,27].

### 3.3. Właściwości adsorpcyjne barwników syntetycznych

W tlenowych systemach biologicznego oczyszczania ścieków jednym z podstawowych mechanizmów usuwania zanieczyszczeń ze ścieków włókienniczych może być adsorpcja na biomasie. Adsorpcji mogą ulegać środki powierzchniowo czynne [28], klejonki [13] i przede wszystkim barwniki syntetyczne [20,24,28].

Adsorpcję barwników na biomasie obserwowali m.in. Shaul i in. [24], badając losy 18 azowych barwników kwasowych i bezpośrednich w procesie oczyszczania ścieków metodą osadu czynnego. Stwierdzono, że 4 spośród 18 przebadanych związków ulegało adsorpcji na kłaczkach osadu, 3 były rozkładane na drodze enzymatycznej, natomiast 11 w ogóle nie zostało usuniętych ze ścieków. Anielak [20] analizując wpływ barwników helaktynowych, anilinowych, siarkowych i bezpośrednich na osad czynny stwierdziła, że tylko jeden z sześciu przebadanych przez nią związków – zielen bezpośrednia GB – ulegał biodegradacji, natomiast pozostałe były usuwane ze ścieków w wyniku adsorpcji. W badaniach wykonanych przez amerykańską Agencję Ochrony Środowiska (EPA) [8] dla rozpuszczalnego w wodzie barwnika błękitu dyspersyjnego 79 (dodawanego w ilości  $5 \text{ mg dm}^{-3}$  do ścieków bytowo-gospodarczych oczyszczanych następnie metodą osadu czynnego) wykazano, że 20,4% tego związku pozostaje w ściekach po oczyszczeniu biologicznym, a 79,6% ulega związaniu przez osad czynny. Ponieważ nie wykryto w ściekach produktów mogących świadczyć o biodegradacji błękitu dyspersyjnego 79 stwierdzono, że usuwanie zabarwienia ścieków było spowodowane adsorpcją cząsteczek barwnika na kłaczkach osadu. Według innych badaczy [20], w zależności od zastosowanej technologii oczyszczania, w wyniku adsorpcji barwników na osadzie czynnym można uzyskać 30-70% usunięcie zabarwienia ścieków włókienniczych.



Tabela 3

## Barwniki syntetyczne ulegające adsorpcji na osadzie czynnym [28,29]

Klasa barwników	Nazwa barwnika	Liczba grup sulfonowych w cząsteczce	Adsorpcja [%]
kwasowe	zieleni kwasowa 16	2	0
	błękit kwasowy 156	2	17
	czerwień kwasowa 27	3	10
	czerwień kwasowa 41	4	21
	błękit kwasowy 72	1	67-70
	błękit kwasowy 233	1	81-91
	błękit kwasowy 25	1	44-47
reaktywne	żółć reaktywna 37	2	0
	oranż reaktywny 4	3	0
	czerwień reaktywna 24	3	3
	czerwień reaktywna 35	2	0
	oranż reaktywny 13	3	0
bezpośrednie	czerwień bezpośrednia 81	2	76
	czerń bezpośrednia 22	3	66
	błękit bezpośredni 1	4	81
	czerwień bezpośrednia 239	4	90-94
	błękit bezpośredni 15	4	34
dyspersyjne	żółć dyspersyjna 199	–	73
	oranż dyspersyjny 31	–	75-85
	czerwień dyspersyjna 60	–	84
	błękit dyspersyjny 122	–	73-87
zasadowe	błękit zasadowy 47	–	100
	czerwień zasadowa 18	–	98
	fiolet zasadowy 9	–	100
	brąz zasadowy 1	–	64

Właściwości adsorpcyjne barwników syntetycznych zależą od przynależności tych związków do odpowiedniej klasy barwników oraz strukturalnych różnic pomiędzy ich cząsteczkami w obrębie każdej klasy [29]. W tabeli 3 zamieszczono wykaz barwników syntetycznych ulegających adsorpcji na biomacie w tlenowych biologicznych systemach oczyszczania ścieków [28,29]. Z zestawienia podanego w tabeli 3 wynika, że na adsorpcję na kłaczkach osadu czynnego i błonie biologicznej podatne są przede wszystkim barwniki zasadowe, dyspersyjne i bezpośrednie. Słabo adsorbujące się barwniki reaktywne przechodzą praktycznie nienaruszone przez biologiczne układy oczyszczania tlenowego. Podatność barwników kwasowych na adsorpcję na biomacie zależy z kolei od liczby grup sulfonowych w cząsteczce; zjawiska tego nie obserwuje się w innych klasach barwników. Mała liczba grup sulfonowych w budowie oraz wysokie ciężary cząsteczkowe niektórych barwników kwasowych sprzyjają adsorpcyjnym właściwościom tych związków.

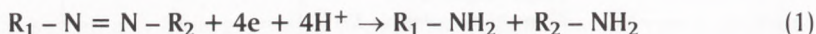
Do matematycznego opisu adsorpcji barwników syntetycznych na biomacie wykorzystuje się równania równowagi sorpcji Freundlicha [10] i Langmuira [30].

#### 4. Biodegradacja w warunkach beztlenowych

W przypadku ścieków włókienniczych zawierających znaczne ilości związków toksycznych i/lub niepodatnych na biodegradację tlenowe procesy biologiczne stosuje się zazwyczaj jako drugi stopień oczyszczania, po wstępnym oczyszczeniu ścieków w warunkach beztlenowych.

Biologiczne beztlenowe metody oczyszczania są wykorzystywane przede wszystkim do odbarwiania ścieków włókienniczych. Większość prowadzonych w tym zakresie badań dotyczy czystych roztworów barwników syntetycznych, ponieważ właśnie barwniki i produkty ich redukcji są uznawane za inhibitory procesu beztlenowego. W warunkach anaerobowych związki te mogą ulegać przekształceniom do odpowiednich amin aromatycznych, przy czym na szczególną uwagę zasługują barwniki azowe, ponieważ zarówno one, ich prekursorzy, jak i produkty biotransformacji mają właściwości kancerogenne [31].

Pierwszym etapem biologicznej redukcji barwników azowych jest rozrywanie wiązań dwuazowych -N=N- z udziałem azoreduktaz [8,32]:

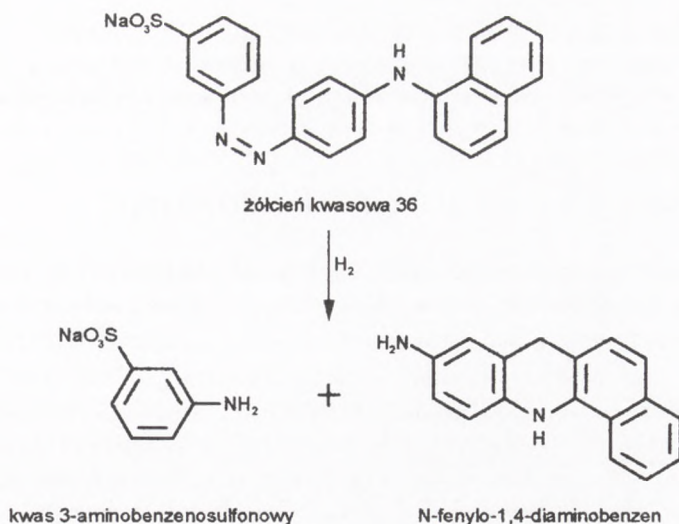


gdzie:  $R_1, R_2$  – podstawniki aromatyczne w cząsteczce barwnika.

Tworzące się w wyniku rozrywania wiązań dwuazowych aminy aromatyczne praktycznie nie są metabolizowane w warunkach beztlenowych [33]. Tylko nieliczne z nich, jak 2-aminofenol, 4-aminofenol, czy kwas 5-aminosalicylowy są substratami dla drobnoustrojów fermentacji metanowej [34,35]. Na przykład kwas 5-aminosalicylowy w obecności glukozy jest redukowany do  $CH_4$ ,  $CO_2$  i  $NH_3$ . Inne aminy aromatyczne, jak 1,4-fenyldwuamina nie ulegają dalszym przekształceniom w środowisku anaerobowym, są natomiast rozkładane w biologicznych tlenowych systemach oczyszczania. Na rysunku 2 przedstawiono schemat redukcji barwnika żółcieni kwasowej 36 do kwasu 3-aminobenzenosulfonowego i N-fenylo-1,4-diaminobenzenu, katalizowanej przez azoreduktazy [8].

Podobnie, jak w procesach tlenowych pozycja i rodzaj podstawników oraz ich wzajemne położenie względem siebie w pierścieniu aromatycznym barwnika decydują o jego dostępności jako substratu pokarmowego dla drobnoustrojów, a w konsekwencji wpływają na tempo beztlenowej biologicznej redukcji [36]. Wykazano [37], że grupy nitrowe są odpowiedzialne za toksyczność związków aromatycznych w stosunku do bakterii metanogennych. Obserwowano 200- i 2140-razy wyższą toksyczność zawierającego podstawniki nitrowe barwnika oranżu zaprawowego 1 w porównaniu z produktami jego rozszczepienia: kwasem 5-aminosalicylowym i 1,4-fenyldwuaminą. Szybkość procesu biologicznej redukcji barwników jest determinowana również obecnością odpowiednich kosubstratów jako uzupełniającego źródła węgla i energii, tj. glukoza, propioniany, octany [38]. Przy braku kosub-





Rys. 2. Rozkład żółcień kwasowej 36 w warunkach beztlenowych [8].

stratów niektóre barwniki (np. oranż zaprawowy 1) ulegają niepełnej redukcji do 4-nitroaniliny [16,39]. Nieliczne barwniki, tj. błękit kwasowy 80 mogą podlegać również strukturalnym przekształceniom w środowisku beztlenowym z utworzeniem nierozpuszczalnych w wodzie pigmentów, w związku z czym związki te nie są degradowane w tych warunkach [40].

#### 4.1. Wydajność procesu

Zwraca się powszechnie uwagę na wysoką efektywność procesu biologicznej redukcji barwników syntetycznych. W badaniach sponsorowanych przez ETAD (Ecological and Toxicological Association of the Dyestuffs Manufacturing Industry) [41], w których poddano analizie roztwory 14 tych związków (w tym barwniki kwasowe, bezpośrednie i zasadowe), uzyskano, w prawie wszystkich przypadkach, 90% odbarwienie. Równie wysoką skuteczność dekoloryzacji osiągnięto podczas oczyszczania w warunkach anaerobowych roztworów zawierających różne stężenia barwnika czerwieni kwasowej 88 [42]. Wśród produktów reakcji wykryto kwas naftoesowy i 1-amino-2-hydroksynaftalen oraz powstałe w wyniku początkowej redukcji utworzonych produktów 1,2-naftochinon, 2-hydroksynaftalen, izochinolinę i chinokrydon. Prawie całkowite odbarwienie roztworów uzyskiwano w ciągu 8 godzin trwania procesu, przy czym szybkość reakcji była największa podczas pierwszych 6 godzin. Idaka i Ogawa [43] przeprowadzili testy degradacji barwników w warunkach hodowli wstrząsanej i niewstrząsanej, wykorzystując jako zaszczepienie kultury beztlenowych bakterii wyizolowanych z osadów zalegających w kanałach odprowa-

dzających ścieki z zakładów produkujących barwniki. W hodowlach wstrząsanych stwierdzono bardzo szybką 50% eliminację zabarwienia, natomiast w hodowlach niewstrząsanych proces przebiegał wolniej, ale odbarwienie było prawie 100%.

## 5. Biodegradacja w warunkach beztlenowo-tlenowych

Oczyszczanie biologiczne barwnych ścieków włókienniczych w warunkach beztlenowych nie powoduje ich całkowitej degradacji, jednak uwalniane podczas tego procesu metabolity mogą być usuwane w środowisku tlenowym [41]. W nielicznie prowadzonych w tym zakresie badaniach koncentruje się przede wszystkim na wydajności etapu tlenowej biodegradacji produktów (głównie amin aromatycznych, ulegających w warunkach tlenowych hydroksylacji) powstających w wyniku biologicznej redukcji barwników. Uzyskiwane rezultaty są uzależnione od obciążenia ścieków ładunkiem zanieczyszczeń i ich specyficznych właściwości.

Wykonane zostały m.in. analizy ścieków pochodzących z farbiarni i wykończalni przemysłu włókienniczego, które poddano oczyszczaniu w okresowym reaktorze sekwencyjnym typu SBR [13]. Uzyskano 66-80% usunięcie ładunku zanieczyszczeń w ściekach, przy początkowym obciążeniu osadu  $0,8 \text{ kg ChZT m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ . Zwiększenie obciążenia osadu spowodowało spadek redukcji ładunku zanieczyszczeń w ściekach do około 50%. Wydajność odbarwienia wynosiła 65-70%. Lloyd i in. [44] określili stopień eliminacji barwy ścieków zawierających objętościowo 75% ścieków włókienniczych i 25% ścieków bytowo-gospodarczych. Proces prowadzono w reaktorze SBR wypełnionym zaadaptowanym osadem beztlenowym, pobranym z komory fermentacji. Co 7 dni dokonywano pomiarów barwy ścieków. Wykazano, że zależnie od stężenia początkowego barwników dekoloryzacja ścieków waha się w zakresie od 31 do 86%, przy czym w bardziej stężonych roztworach odbarwienie jest mniejsze i przebiega wolniej. Stwierdzono, że prawdopodobnie zbyt duże stężenie barwników w ściekach lub gromadzące się w środowisku metabolity mogą w znacznym stopniu hamować proces oczyszczania. Podobne efekty obserwował Kremer [42], chociaż w przeprowadzonych przez niego badaniach tworzące się produkty hamowały proces redukcji biologicznej, niezależnie od zawartości barwników w ściekach.

W przypadku niektórych stężonych ścieków włókienniczych usunięcie zabarwienia w procesie tlenowym może wynosić tylko 28%, podczas gdy w układzie beztlenowo-tlenowym aż 88%. Inne parametry charakteryzujące stopień zanieczyszczenia ścieków ulegają obniżeniu w granicach 63% (ChZT) i 84% (BZT<sub>5</sub>), niezależnie od tego czy oczyszczanie biologiczne przeprowadza się w układzie jedno-, czy dwustopniowym [44]. W rozcieńczonych ściekach włókienniczych 35% eliminację barwy osiąga się już w pierwszych minutach trwania oczyszczania beztlenowego. Podobnie jak w przypadku ścieków stężonych usunięcie ładunku zanieczyszczeń (mierzonego wartościami ChZT i BZT<sub>5</sub>) jest tylko o 4-10% wyższe w układzie beztlenowym, niż w jednostopniowym procesie tlenowym [44].



W przeprowadzonych w skali pilotowej badaniach ścieków po osadniku wstępnym, zawierających 75% domieszkę ścieków włókienniczych wykazano, że na stopień ich odbarwienia ma wpływ czas zatrzymania w systemie anaerobowym [45]. Przy dłuższym czasie retencji można uzyskać w całym beztlenowo-tlenowym systemie oczyszczania 65-70% usunięcie barwy (przy czy w samym etapie beztlenowym wynosi ona 55%). Krótkie czasy zatrzymania ścieków pozwalają osiągnąć tylko 15-20% ich odbarwienie.

Nowym rozwiązaniem technicznym wykorzystywanym do oczyszczania barwnych ścieków włókienniczych jest zaproponowane przez Willmotta i in. [32] złożo zatopione napowietrzane pracujące w warunkach beztlenowo-tlenowych. W urządzeniach tego typu materiał tworzący wypełnienie, z rozwiniętą na swojej powierzchni błoną biologiczną, jest stale zatopiony w omywających go ściekach i napowietrzany. Wydajność złoża zatopionych napowietrzanych jest bardzo wysoka i wynosi  $8 \text{ kg BZT}_5 \text{ m}^{-3} \text{ d}^{-1}$ , w porównaniu do  $0,6 \text{ kg BZT}_5 \text{ m}^{-3}$  usuwanego w ciągu doby przez osad czynny i  $0,4 \text{ kg BZT}_5 \text{ m}^{-3}$  usuwanego przez biologiczne złożo zraszane. Wadą tych urządzeń jest jednak duże zmętnienie ścieków oczyszczonych, spowodowane znaczną zawartością wypłukanych z filtru komórek drobnoustrojów. Z tego powodu ścieki po oczyszczeniu biologicznym poddaje się filtracji. Trudności w usunięciu biomasy ze ścieków wynikają m.in. z obecności w ściekach metanu wydzielanego w procesach beztlenowych i powodującego dodatkowo flotację komórek.

## 6. Organizmy wykorzystywane do odbarwiania ścieków zawierających barwniki syntetyczne

Willmott i in. [32], Robinson i in. [46] oraz Pearce i in. [47] uważają, że w większości systemów biologicznych istnieje konieczność wzbogacania istniejących populacji mikroorganizmów specjalnie wyselekcjonowanymi gatunkami, co znacznie ułatwi biodegradację barwnych ścieków włókienniczych.

### 6.1. Bakterie

Do tej pory wyizolowano wiele szczepów bakterii zdolnych do przeprowadzania dekoloryzacji roztworów barwników syntetycznych (tab. 4). Najwięcej badań z zakresu tej tematyki poświęconych jest biodegradacji barwników azowych.

Biologiczny rozkład barwników azowych może zachodzić zarówno w środowisku tlenowym, beztlenowym, jak i beztlenowo-tlenowym. Najprostszym mechanizmem odbarwiania roztworów barwników syntetycznych przez bakterie jest adsorpcja cząsteczek tych związków na biomacie [47]. Biosorpcja, czyli osadzanie się barwników na komórkach bakteryjnych, jest też pierwszym etapem biologicznego odbarwiania roztworów barwników azowych. Bakterie przeprowadzające dekolory-

zając tej grupy barwników w warunkach tlenowych (np. niektóre szczepy *Pseudomonas* sp.) wymagają wcześniejszej, długotrwałej adaptacji do prostych związków azowych, w trakcie której syntetyzowany jest w cytoplazmie enzym – azoreduktaza [47]. W kontrolowanych warunkach enzym ten może redukcyjnie rozrywać wiązania dwuazowe w obecności tlenu. Niektóre gatunki bakterii (np. szczep *Sphingomonas* sp. BN6) posiadają, obok azoreduktazy znajdującej się w cytoplazmie, także azoreduktazę związaną z błoną komórkową [48]. Kulla [49] wykazał, że zależnie od rodzaju barwnika w roztworze bakterie mogą syntetyzować azoreduktazy o różnej specyficzności. Na przykład oranż I – azoreduktaza redukuje grupy azowe w barwniku oranż I i jego pochodnych, podstawionych grupami hydroksylowymi w pozycji *para*. Inny enzym oranż II – azoreduktaza redukuje barwnik oranż II i jego pochodne, podstawione grupami hydroksylowymi w pozycji *orto*.

Tabela 4

## Bakterie zdolne do odbarwiania roztworów barwników syntetycznych [47]

Gatunek	Barwnik	Efektywność odbarwiania
1	2	3
<i>Alcaligenes faecalis</i> <i>Commomonas acidovorans</i> <i>Aeromonas hydrophila</i>	barwniki reaktywne, dyspersyjne, azowe <i>p</i> -hydroksyazobenzen, żółcień dimetylowa, aminobenzen	100% odbarwienie w warunkach beztlenowych w 48 h 54-90% redukcja barwy zależna od budowy barwnika
<i>Pseudomonas pseudomallei</i> 13NA	<i>p</i> -aminoazobenzen	80% odbarwienie w obecności kosubstratów
<i>Pseudomonas cepacia</i> 13NA	oranż kwasowy 12	90% odbarwienie w 68 h; wzrost bakterii jest hamowany przez wysokie stężenia barwnika
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	barwniki azowe, pochodne aminoazobenzenu i naftalenoazobenzenu	80-90% redukcja barwy uzyskiwana w ciągu 20 min
<i>Pseudomonas luteola</i>	reaktywne barwniki azowe	37-93% odbarwienie po 42 h; redukcja barwy wyższa w warunkach hodowli statycznej
<i>Bacteroides fragilis</i>	amarant (barwnik azowy zawierający grupy sulfonowe), oranż II, tartrazyna	amarant – 80%, oranż II – 50% i tartrazyna – 20% odbarwienie w 8 h w warunkach beztlenowych
<i>Shewanella putrefaciens</i>	Remazol Black B i inne barwniki reaktywne, barwniki antrachinonowe, ścieki przemysłowe	95% odbarwienie roztworów barwników reaktywnych; adsorbowanie barwników antrachinonowych; 84% odbarwienie ścieków przemysłowych; największy stopień redukcji barwy w pH=8; odbarwienie hamowane przez wysokie stężenie soli
<i>Clostridium perfringens</i>	amarant, oranż II, tartrazyna, 4-hydrokazyobenzen, oranż metylowy	wszystkie barwniki ulegają redukcji poniżej poziomu detekcji w 50 min, w warunkach beztlenowych



1	2	3
<i>Hydrogenophaga palleroni</i> (szcep 5)	4-karboksy-4'-sulfoazobenzen	całkowita redukcja w 40 min, w warunkach tlenowych; produkty (w tym sulfo-katechol) uległy dalszej mineralizacji
<i>Kurtbia</i> sp.	barwniki trójfenylometanowe, barwne ścieki włókiennicze	98% odbarwienie roztworów barwników w 30 min i 56% odbarwienie ścieków w 90 h, w warunkach tlenowych
<i>Desulfovibrio desulfuricans</i>	oranz reaktywny 96	95% odbarwienie w 2 h, w warunkach beztlenowych, w obecności siarkowodoru; produktami redukcji są 2 aminy aromatyczne i siarka elementarna
<i>Paenibacillus azoreducens</i>	Remazol Black B	98% odbarwienie do 24 h

Istnieją prawdopodobnie 2 mechanizmy dekoloryzacji roztworów barwników azowych w systemach bakteryjnych [47]:

- bezpośrednie przekazanie elektronów ( $\bar{e}$ ) na barwniki azowe (jako końcowe akceptory  $\bar{e}$ ) w trakcie katabolizmu bakteryjnego, związane z magazynowaniem energii w postaci ATP;

- redukcja barwników azowych przez końcowe produkty katabolizmu bakterii, nie związana z syntezą ATP.

Barwniki azowe charakteryzują się zróżnicowaną podatnością na rozkład enzymatyczny. Związki o prostej budowie i niskiej masie cząsteczkowej są odbarwiane szybciej, niż te o budowie złożonej i wysokiej masie cząsteczkowej [46,47]. Nigam i in. [50] wykazali, że barwniki azowe podstawione grupami hydroksylowymi i aminowymi są bardziej podatne na biodegradację, niż związki zawierające w budowie grupy metylowe, sulfonowe i nitrowe. Szybkość dekoloryzacji prowadzonej przez bakterie związana jest też z liczbą wiązań azowych w cząsteczce barwnika [51]. Roztwory barwników monoazowych są odbarwiane szybciej, niż dwu- i trójazowych. Większość badaczy łączy jednak podatność barwników syntetycznych na rozkład na drodze biologicznej z klasą, do której należy dany związek, a nie z jego budową chemiczną. Hitz i in. [52] dokonali pod tym względem następującej klasyfikacji barwników:

- barwniki kwasowe – odbarwiają się słabo, zależnie do liczby grup sulfonowych w cząsteczce;

- barwniki bezpośrednie – odbarwiają się szybko, niezależnie od liczby grup sulfonowych w cząsteczce;

- barwniki reaktywne – odbarwiają się słabo.

Wpływ grup sulfonowych na odbarwanie zależy od mechanizmu, dzięki któremu barwa jest usuwana [47]. Jeżeli redukcja barwnika ma miejsce wewnątrz komórki bakteryjnej obecność grup sulfonowych przeszkadza w przenoszeniu cząsteczki barwnika przez błonę komórkową. Stopień redukcji barwy w tym przypadku obniża się ze wzrostem liczby grup sulfonowych w budowie barwnika. Jeżeli jednak reduk-



cja ma miejsce w środowisku pozakomórkowym to grupy sulfonowe mają nieznaczny wpływ na odbarwienie.

Biodegradacja ksenobiotyków (w tym barwników azowych) prowadzona jest nie tylko przez czyste kultury bakterii, wymaga też nieraz współdziałania kilku gatunków mikroorganizmów. Knackmuss [53] stwierdził, na przykład, że do degradacji naftaleno-2-sulfonianu są konieczne kultury 2 gatunków bakterii. Szczep *Sphingomonas* sp. BN6 przeprowadza rozkład naftaleno-2-sulfonianu do jonu salicylanowego, toksycznego dla tych mikroorganizmów. Dalsza mineralizacja naftaleno-2-sulfonianu może mieć miejsce jedynie w obecności innego, komplementarnego gatunku bakterii, potrafiącego degradować jon salicylanowy.

Bardzo skuteczne w usuwaniu zabarwienia ścieków są promieniowce, zwłaszcza szczepy z gatunku *Nocardia corallina* i *Nocardia globerula* [54]. 100% odbarwienie roztworów niektórych barwników z zastosowaniem tych drobnoustrojów uzyskuje się po 24 godzinach trwania procesu, a często wykrywanym produktem reakcji jest 4,4'-bisdimetyloaminobenzofenon (keton Michlersa). Biodegradacji przeprowadzanej przez promieniowce ulegają przede wszystkim barwniki trójfenylometanowe oraz azowe (zawierające w budowie Cu) [54,55]. Barwniki reaktywne są usuwane z roztworów w wyniku adsorpcji cząsteczek na komórkach tych mikroorganizmów [55].

## 6.2. Drożdże

Robinson i in. [46] wykazali, że drożdże z rodzaju *Candida* sp. powodują 93-98% odbarwienie roztworu barwnika syntetycznego procyon o stężeniu  $100 \text{ mg dm}^{-3}$ . Banat i inni [55] stwierdzili, że niektóre szczepy *Kluyveromyces marxianus* odbarwiają (w 78-98%) ścieki zawierające barwnik syntetyczny Remazol Black B. Wiadomo jest, że niektóre gatunki drożdży (np. *Candida maltosa*) wykorzystują proste związki aromatyczne, tj. fenol, *p*-krezol i kwas benzoesowy jako substraty wzrostowe i rozkładają je na drodze *orto*-rozszczepienia z udziałem mono- i dioksygenaz [56]. Związki aromatyczne podstawione grupami sulfonowymi i nitrowymi nie są natomiast substratami wzrostowymi dla drożdży, ale mogą być metabolizowane (ulegają silnemu utlenieniu) przez te drobnoustroje w obecności dodatkowych kosubstratów. Na przykład szczepy *Rhodotorula rubra* w obecności glukozy i peptonu powodują całkowite odbarwienie ścieków w ciągu 4 dni [57]. Podobnych uzdolnień nie wykazują drożdże piekarskie *Saccharomyces cerevisiae*, nawet po wydłużeniu czasu inkubacji do 30 dni [57]. W ostatnim przypadku usuwanie barwników syntetycznych z roztworów odbywa się najczęściej w wyniku adsorpcji ich cząsteczek na ścianach komórkowych drożdży.



### 6.3. Podstawczaki i grzyby niedoskonałe

Do najlepiej udokumentowanych w literaturze należą badania dotyczące mechanizmów biodegradacji barwników syntetycznych przez grzyby białej i brunatnej zgnilizny drewna, tj. *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Coriolus versicolor*, czy *Funalia trogii* (tab. 5). Obecnie wiadomo również, że inne grzyby (nie powodujące zgnilizny drewna), np. *Aspergillus niger*, *Rhizopus arrhizus* i *Rhizopus oryzae* są zdolne do odbarwiania wodnych roztworów tych związków (tab. 5).

Tabela 5

Grzyby (żywa biomasa) zdolne do odbarwiania roztworów barwników syntetycznych [58]

Gatunek	Barwnik	(%) odbarwienia/czas	Mechanizm
<i>Aspergillus foetidus</i>	Remazol Red	98,4 (2 d)	biosorpcja
<i>Aspergillus niger</i>	błękit zasadowy 9	1,17 (2 d)	biosorpcja
<i>Aspergillus sojae B-10</i>	amarant	97,8 (5 d)	brak danych
<i>Botrytis cinerea</i>	błękit reaktywny 19	13	biosorpcja
<i>Coriolus versicolor</i>	zieleń kwasowa 27	100	biodegradacja i adsorpcja
<i>Cyathus bulleri</i>	zieleń malachitowa	96,2 (2 d)	aktywność lakazy
<i>Endoibiella aggregata</i>	błękit reaktywny 5	44	biosorpcja
<i>Ganoderma sp.</i>	orańż II	28-77 (2 d)	biosorpcja
<i>Geotrichum fici</i>	błękit reaktywny 19	60	biosorpcja
<i>Merulius tremellosus</i>	ścieki z celulozowni	50 (14 d)	aktywność peroksydaz
<i>Myrobecium verrucaria</i>	orańż II	70 (5 h)	biosorpcja
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	czerwień kongo	70 (2 d)	aktywność LiP
<i>Pblebia radiata</i>	ścieki z celulozowni	76 (14 d)	aktywność peroksydaz
<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	ścieki zawierające pigmenty	90 (3 d)	zewnątrzkomórkowe oksydazy
<i>Rhizopus arrhizus</i>	kwasy humusowe	3-6,5 (2 h)	biodegradacja
<i>Rhizopus oryzae</i>	błękit reaktywny 5	99	biosorpcja
<i>Trametes versicolor</i>	czerni kwasowa 24	98 (9 d)	aktywność LiP
<i>Tremella fuciformis</i>	błękit reaktywny 5	92	biosorpcja
<i>Xeromyces bisporus</i>	błękit siarkowy 1	63	biosorpcja

Jako materiał zaszczepiający wykorzystuje się dwa typy grzybni: a) biomasę żywą, przeprowadzającą biodegradację i/lub biosorpcję barwników syntetycznych oraz b) biomasę martwą, zdolną jedynie do adsorbowania tych związków z roztworu [58].

Biologiczny rozkład barwników przez grzyby uzależniony jest od ich uzdolnień enzymatycznych [46,55,58]. Większość gatunków grzybów białej i brunatnej zgnilizny drewna syntetyzuje niespecyficzne enzymy, tj. peroksydaza ligninowa (LiP), Mn-zależna peroksydaza (MnP), lakaza, fenolooksydaza, glukozo-1-oksydaza i glu-



kozy-2-oksydaza, katalizujące procesy rozkładu kompleksu lignino-celulozowego, zawierającego układy aromatyczne. Szerokie spektrum substratowe tych enzymów powoduje, że grzyby je wytwarzające są zdolne do degradacji i detoksykacji wielu złożonych związków organicznych, w tym także barwników syntetycznych.

Znaczenie poszczególnych enzymów w procesie odbarwiania jest zależne od gatunku grzyba. Większość szczepów *P. chrysosporium* wytwarza peroksydazy ligninowe, katalizujące reakcje: rozrywania wiązań C-C oraz hydroksylacji, o-odmetylowania, czy dimeryzacji fenoli [59]. LiP z wysoką efektywnością katalizują reakcje utleniania barwników azowych i trójfenylometanowych. Z reguły ze wzrostem stężenia enzymu liniowo zwiększa się stopień odbarwienia roztworów barwników. Na wydajność odbarwiania znaczny wpływ wywiera obecność induktorów peroksydaz ligninowych, do których zalicza się alkohol weratrylowy (3,4-dimetoksybenzyl) – produkt wtórnego metabolizmu grzybów i nadtlenek wodoru. Brak alkoholu weratrylowego w środowisku reakcji hamuje na przykład proces biodegradacji barwników trójfenylometanowych przez *P. chrysosporium* [60]. Z kolei niektóre szczepy *C. versicolor*, *F. trogii* i *Laetiporus sulphureus* odbarwiają wodne roztwory barwników tylko w obecności  $H_2O_2$  [59]. Young i Yu [61] wykazali, że także w przypadku *T. versicolor* 80% dekoloryzacja roztworów barwników azowych, antrachinonowych, metalokompleksowych i indygo jest związana z utlenianiem katalizowanym przez LiP. Vasdev i in. [62] obserwowali maksymalną aktywność lakazy w trakcie odbarwiania przeprowadzanego przez biomasę *Cyathus bulleri*. Zhang i in. [63] stwierdzili, że najważniejszą rolę w dekoloryzacji ścieków pochodzących z procesów bielenia barwny odgrywa Mn – zależna peroksydaza wytwarzana przez niezidentyfikowane do gatunku grzyby białej i brunatnej zgnilizny drewna.

W biodegradacji barwników przez żywą biomasę grzybów ważną rolę odgrywa biosorpcja, gdyż stanowi ona często pierwszy etap odbarwiania. Benito i in. [64] wykazali, że w dekoloryzacji roztworów niektórych barwników syntetycznych prowadzonej przez *T. versicolor* adsorpcja może stanowić 5-10% całkowitego odbarwienia. Bousaid [65] zastosował *Sagenomella striatispora* do odbarwiania ścieków pochodzących z celulozowni i stwierdził, że 12% w całkowitym 74% usuwaniu barwy spowodowane jest biosorpcją barwników na biomacie.

Zhou i Banks [66] wykazali, że adsorpcja zanieczyszczeń na martwych strzępkach grzybni *R. arrhizus* jest procesem 2-fazowym i ma charakter fizyczny. Przypuszcza się także, że aktywne miejsca dla adsorpcji barwników syntetycznych (podobnie jak dla kwasów humusowych) znajdują się na ścianach komórkowych *R. arrhizus* i składają się z komponentów chityna/chitozan [58,67].

Polman i Breckenridge [68] dokonali porównania pojemności adsorpcyjnej żywych i martwych kultur grzybów, drożdży i bakterii, które wykorzystano do odbarwiania roztworów barwników reaktywnych. Wśród 28 gatunków zdolnych do wiązania czerni reaktywnej 5 64% charakteryzowało się wyższą pojemnością adsorpcyjną w postaci biomasy martwej. Wśród 21 gatunków zdolnych do wiązania błękitu reaktywnego 19 71% również adsorbowało barwnik efektywniej w postaci biomasy mar-



twej. Autorzy sugerują, że jest to spowodowane wzrostem pojemności adsorpcyjnej komórek martwych (w stosunku do komórek żywych), gdyż ulegają one pękaniu w wyniku śmierci cieplnej. Jednak z 26 gatunków zdolnych do wiązania czerni siarkowej 65% charakteryzowało się wyższą pojemnością adsorpcyjną w postaci biomasy żywej. To wskazuje z kolei, że na biosorpcję barwników syntetycznych na żywych i martwych komórkach organizmów wpływa budowa chemiczna tych związków.

Czynniki oddziałujące na procesy biodegradacji i biosorpcji barwników syntetycznych przez grzyby związane są ze składem jakościowym i parametrami odbarwianych roztworów [58]. Do czynników tych można zaliczyć: rodzaj i stężenie barwnika, pH roztworu, zasolenie, zawartość jonów metali, czy obecność innych specyficznych zanieczyszczeń. Na przykład odbarwianie roztworów przez *T. versicolor* zależy od budowy barwnika – barwniki antrachinonowe są substratami dla lakazy, natomiast nie są barwniki azowe i indygo [69]. Spadaro i in. [70] obserwowali, że w przypadku *P. chrysosporium* pierścienie aromatyczne podstawione grupami hydroksylowymi, aminowymi i nitrowymi są mineralizowane efektywniej, niż pierścienie nie zawierające grup funkcyjnych. Szereg czynników środowiskowych (tj. stężenie pierwiastków biogennych – głównie C i N, czas inkubacji, temperatura, zawartość tlenu) wpływa przede wszystkim na wzrost grzybnia.

Biodegradacja barwników syntetycznych przez niektóre gatunki grzybów (tj. *Phellinus tremellia*, *Pycnoporus cinnabarinus*, *Cyathus strercoreus*) przeprowadzana jest jedynie w warunkach kometabolizmu, np. w obecności glukozy jako kosubstratu [58].

#### 6.4. Sinice i glony

Niektóre gatunki zielenic z rodzaju *Chlorella* sp. i sinic z rodzaju *Oscillatoria* sp. przeprowadzają degradację barwników azowych z udziałem azoreduktaz [55]. Produkty rozkładu – aminy aromatyczne są dalej mineralizowane przez te organizmy do prostych związków organicznych lub CO<sub>2</sub>. Nieliczne zielenice i sinice należące do rodzaju *Chlorella* sp. i *Oscillatoria* sp. są zdolne do wzrostu w środowisku, w którym barwniki azowe są jedynym źródłem węgla i azotu. Wykorzystanie glonów do odbarwiania ścieków wymaga wg Jinqui i Houtaina [71] zastosowania stawów stabilizacyjnych, gdyż mają one duże znaczenie w procesie usuwania amin aromatycznych.

#### 7. Podsumowanie

Biologiczne metody tlenowe wykorzystywane w skali technicznej do oczyszczania ścieków włókienniczych (tj. technologia osadu czynnego, czy złóż biologicznych) są z reguły nieskuteczne w usuwaniu ich zabarwienia. Ponadto znaczną reduk-



cję ładunku zanieczyszczeń obciążającego ścieki, z zastosowaniem wymienionych technologii, można uzyskać stosując bardzo długie czasy ich zatrzymania w układzie biologicznym. Biologiczne metody beztlenowe (tj. fermentacja metanowa) powodują prawie całkowite odbarwienie ścieków włókienniczych, są jednak źródłem toksycznych, mutagennych i kancerogennych amin aromatycznych, z których tylko nieliczne ulegają dalszej degradacji w środowisku anaerobowym. Biologiczne metody beztlenowo-tlenowe przyczyniają się do całkowitej mineralizacji barwników syntetycznych zawartych w ściekach, niemniej jednak redukcja ładunku zanieczyszczeń obciążającego ścieki jest praktycznie taka sama, jak w jednostopniowym procesie tlenowym. Istnieje zatem konieczność włączania metod biologicznych w systemy oczyszczania barwnych ścieków włókienniczych, działające na bazie procesów fizyczno-chemicznych (np. integracja biodegradacji z metodami pogłębionego utleniania – AOPs [72]). Innym rozwiązaniem technologicznym jest wzbogacanie wielogatunkowych biocenozy osadu czynnego i błony biologicznej specjalnie wyselekcjonowanymi gatunkami mikroorganizmów, posiadającymi naturalne zdolności rozkładu specyficznych zanieczyszczeń obecnych w ściekach. Można też łączyć metody biologiczne, działające w oparciu na czystych kulturach drobnoustrojów z procesami fizyczno-chemicznymi. W Irlandii Północnej funkcjonuje na przykład pierwsza w Europie, pracująca w skali pilotowej instalacja (tzw. system BICOL), łącząca ze sobą biodegradację barwnych ścieków włókienniczych prowadzoną przez bakterie *Shewanella putrefaciens* z adsorpcją zanieczyszczeń na węglu aktywnym [47].

## Literatura

1. Bogusławski J., Dyrda J., (1986), *Technik Włókienniczy*, 12, 372.
2. OECD Programme on the Control of Specific Water Pollutants, Industrial Branch Strategies – Textile Finishing Industry, (1996), Paris, 124.
3. Brzeziński S., (1995), *Przegląd Włókienniczy*, 9, 22.
4. Perkowski J., Przybiński J., Ledakowicz S., Kos L., Sprawozdanie z grantu KBN T09C 01809.
5. Skrzypski J., (1997), Seminarium szkoleniowe nt. Ochrona środowiska w przemyśle włókienniczym, Stowarzyszenie Włókienników Polskich, Łódź.
6. Lebedowski M., Kosiński J., (1988), *Przegląd Włókienniczy*, 9, 440.
7. Wąsowski J., (1986), *Przegląd Włókienniczy*, 8, 326.
8. Dubrow S. F., Boardman G. D., Michelsen D. L., (1996), *Environmental Chemistry of Dyes and Pigments*, Eds. Reife A., Freeman H. S., Wiley J. & Sons, Inc., New York.
9. Anielak A. M., (1996), *Environment Protection Engineering*, 22(3-4), 71.
10. Ledakowicz S., Solecka M., (1999), *Inżynieria Chemiczna i Procesowa*, 20, 157.
11. Sosnowska B., (1994), *Gaz, Woda i Technika Sanitarna*, 3, 56.
12. Bartos K., (1994), *Przegląd Włókienniczy*, 4, 13.
13. Athanasopoulos N., (1991), *Biological Degradation of Wastes*, Ed. Martin A.M., Elsevier Applied Science, London.
14. Gniady J., Nowak D., (1995), *Przegląd Włókienniczy*, 10, 18.
15. Ogawa T., Idaka E., Yatome C., (1978), *Microbiology for Environmental Cleaning*, Ed. Arima K., Elsevier Applied Science, London.
16. Donlon B., Razo-Flores E., Lettinga G. F., Field J., Luijten M., Swarts H., (1997), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 47, 83.



17. Solecka M., (2000), *Wpływ procesów pogłębionego utleniania na biodegradację ścieków włókienniczych*, praca doktorska, Politechnika Łódzka, Łódź.
18. Ogawa T., Shibata M., Yatome C., Idaka E., (1988), *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 40, 545.
19. Yatome C., Yamada S., Ogawa T., Matsui M., (1993), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 38, 566.
20. Anielak A. M., (1993), *Biodegradacja wybranych barwników oraz ich wpływ na pracę osadu czynnego*, Monografia 49, Wyd. WSI w Koszalinie, Koszalin.
21. Mrozik A., Piotrowska-Seget Z., Łabuzek S., (2002), *Postępy Mikrobiologii*, 2, 185.
22. Różalski A., (1996), *Ćwiczenia z mikrobiologii ogólnej*, Skrypt dla studentów biologii, cz. I, Wyd. Uniwersytetu Łódzkiego, Łódź.
23. Adams E., (1977), *J. Pharm. Pharmac.*, 19, 821.
24. Shaul G. M., Dempsey C. R., Dostal K. A., (1987), *US EPA Water Engineering Research Laboratory*, Cincinnati, Ohio.
25. Schlegel H. G., (1996), *Mikrobiologia ogólna*, PWN, Warszawa.
26. Brzezińska-Rodak M., Peczyńska-Czoch W., (2000), *Biotechnologia*, 1(48), 102.
27. Chmiel A., (1998), *Biotechnologia. Podstawy mikrobiologiczne i biochemiczne*, PWN, Warszawa.
28. Pagga U., Brown D., (1986), *Chemosphere*, 15, 479.
29. Hitz H. R., Huber W., Reed R. H., (1978), *J. Soc. Dyers Colourists*, 2, 71.
30. Mohammad S., El-Geundi M., (1991), *Water Research*, 25(3), 271.
31. Longstaff E., (1983), *Dyes Pigments*, 4, 243.
32. Willmott N., Guthrie J., Nelson G., (1998), *Journal Society of Dyes and Colorist*, 114, 38.
33. Brown D., Laboureur P., (1983), *Chemosphere*, 12, 397.
34. O'Connor O. A., Young L. Y., (1993), *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 25, 285.
35. Razo-Flores E., Donlon B., Field J., Lettinga G., (1996), *Water Science and Technology*, 33, 47.
36. Walker R., Ryan J., (1986), *Biological Oxidation of Nitrogen for Organic Molecules*, Eds. Bridges J.W., Packe D.V., Halsted Press, New York.
37. Donlon B., Razo-Flores E., Field J., Lettinga G., (1995), *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 3889.
38. Chung K. T., Stevens S. E., Cerniglia C. E., (1992), *Crit. Rev. Microbiol.*, 18, 175.
39. Donlon B., Razo-Flores E., Lettinga G., Field J., (1996), *Biotechnol. Bioeng.*, 51, 439.
40. Brown D., Hamburger B., (1987), *Chemosphere*, 16, 1539.
41. ETAD, (1992), Information Notices no. 4 "Colorants and the Environment Guidance for the User".
42. Kremer F. V., (1987), Dissertation, Department of Civil and Environmental Engineering, University of Cincinnati.
43. Idaka E., Ogawa T., (1985), *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 35, 729.
44. Lloyd K. C., Boardman G. D., Michelsen D. L., (1992), 23<sup>th</sup> Mid-Atlantic Industrial Waste Conference, Morgantown, July 15-17.
45. Boe R. W., Boardman G. D., Dietrich A. M., Michelsen D. L., Pudali M., (1993), 25<sup>th</sup> Mid-Atlantic Industrial Waste Conference, Maryland, June 23-25.
46. Robinson T., McMullan G., Marchant R., Nigam P., (2001), *Bioresource Technology*, 77, 247.
47. Pearce C. I., Lloyd J. R., Guthrie J. T., (2003), *Dyes and Pigments*, 58, 179.
48. Kudlich K., Keck M. A., Klein J., Stolz A., (1997), *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 3691.
49. Kulla H. G., (1981), *Microbial degradation of xenobiotics and recalcitrant compounds*, Eds. Leisinger T., Hutter R., Cook A.M., Nuesch J., Academic Press, London.
50. Nigam P., Banat I. M., Singh D., Marchant R., (1996), *Process Biochemistry*, 31(5), 435.
51. Hu T. L., (2001), *Water Science and Technology*, 43(2), 261.
52. Hitz H. R., Huber W., Reed R. H., (1978), *Journal of the Society of Dyers and Colorists*, 94(2), 71.
53. Knackmuss H. J., (1996), *Journal of Biotechnology*, 51, 287.
54. Yatome C., Yamada S., Ogawa T., Matsui M., (1993), *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 38, 565.
55. Banat I. M., Nigam P., Singh D., Marchant R., (1996), *Bioresource Technology*, 58, 217.
56. Fritsche W., Hofrichter M., (2000), *Biotechnology*, Eds. Rehm H. J., Reed G., Wiley-VCH, Weinheim.
57. Kwaśniewska K., (1985), *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 34, 323.
58. Yuzhu F., Viraraghavan T., (2001), *Bioresource Technology*, 79, 251.
59. Yuxin W., Yu J., (1999), *Water Research*, 33(16), 3512.

60. Ollikka P., Alhonmaki K., Leppanen V. M., Glumoff T., Rajjola T., Suominen I., (1993), *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 4010.
61. Young L., Yu J., (1997), *Water Research*, 31(5), 1187.
62. Vasdev K., Kuhad R. C., Saxena R. K., (1995), *Current Microbiol.*, 30, 269.
63. Zhang F., Knapp J. S., Tapley K. N., (1999), *Water Research*, 33(4), 919.
64. Benito G. G., Miranda M. P., de Los Santos D. R., (1997), *Bioresource Technology*, 61, 33.
65. Boussaid A., (1995), Ph.D. Thesis, Oregon State University, USA.
66. Zhou J. L., Banks C. J., (1993), *Chemosphere*, 27(4), 607.
67. Banks C. J., Parinson M. E., (1992), *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 54, 192.
68. Polman J. K., Breckenridge C. R., (1996), *Textile Chemist and Colorist*, 28(4), 31.
69. Wong Y., Yu J., (1999), *Water Research*, 33(16), 3512.
70. Spadaro J. T., Gold M. H., Renganathan V., (1992), *Appl. Environ. Microbiol.*, 58(8), 2397.
71. Jinqi L., Houtian L., (1992), *Environ. Poll.*, 75, 273.
72. Ledakowicz S., Solecka M., Żyła R., (2001), *Journal of Biotechnology*, 89, 175.