



Inštitut za celulozo in papir
Pulp and paper Institute

UČINEK BIOLOŠKE OBDELAVE ODPADKOV Z GLIVAMI

Dr. Mija Sežun



Varstvo okolja v papirniški industriji

- papirna industrija spada med največje porabnike tehnološke vode na tono končnega proizvoda na svetu
- tehnološka voda je del krogotoka naravnih in industrijskih voda v papirništvu
- poraba vode praktično pri vseh procesih
- obremenjevanje okolja ter vedno višje dajatve za obremenjevanje okolja, kar močno draži proizvodnjo papirja



- izločanje trdnih in raztopljenih snovi
- nujna obdelava pred iztokom v naravni tokokrog

NAMEN OBDELAVE tehnoloških vod je izločanje nečistoč, za katere je značilno da **NEGATIVNO VPLIVAJO NA OKOLJE**



ČISTE TEHNOLOGIJE ne obstajajo

Čistejša tehnologija je tista, ki ima čim manjši negativen vpliv na OKOLJE (Vuk, 2000)



TEHNOLOŠKA ODPADNA VODA,

po uporabi v industrijski, obrtni ali kateri drugi gospodarski dejavnosti vsebuje naslednje snovi:

- snovi, ki se oksidirajo, izražene kot KPK (kemijska potreba po kisiku)
- fosfor
- dušik
- organske halogenske spojine kot absorbirani organsko vezani halogeni
- živo srebro in njegove spojine
- kadmij in njegove spojine
- nikelj in njegove spojine
- svinec in njegove spojine
- baker in njegove spojine
- strupene snovi – vodne bolhe





GLAVNI PARAMETRI, ki karakterizirajo odpadne vode:

- pH
- temperatura
- usedljivi delci
- KPK (kemijska potreba po kisiku)
- BPK₅ (biološka potreba po kisiku)
- radioaktivnost
- strupenost
- TOC (totalni organski ogljik)
- kovine



Trdni odpadki v papirniški industriji

Trdni odpadki, so rezultat velike porabe tehnološke vode in energije, obenem pa nastajajo pri obdelavi vhodnih surovin

V papirniški industriji nastajajo naslednje vrste trdnih odpadkov:

- PRIMARNI MULJI
- SEKUNDARNI MULJI
- LESNI OSTANEK
- PEPEL



Možnosti uporabe gliv v biotehnologiji (Wainwright, 1992):

- proizvodnja biokemikalij - organske kisline, industrijski alkoholi, polisaharidi,
- encimi, lipidi, vitamini, aminokisline...,
- medicinska biotehnologija (antibiotiki, farmakološka sredstva...),
- papirna industrija, biosorpcija ionov težkih kovin,
- prehrambena industrija (užitne gobe, barvila za hrano, živilska tehnologija...),
- kmetijstvo,
- lesarstvo (razstrupljanje zaščitenega lesa, miko les, lepljenje, kompostiranje...);
- okoljevarstvena biotehnologija (razgradnja pesticidov, bioremediacija, itd.)



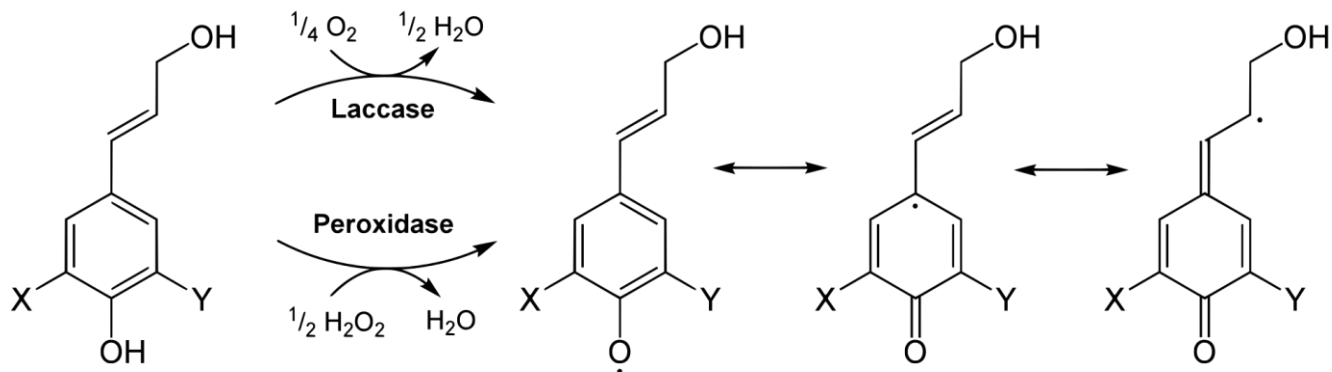
Uporaba gliv bele trohnobe v papirniški industriji

Najpogostejše uporabljene glive bele trohnobe:



Glive bele trohnobe proizvajajo naslednje vrste encimov (Reddy, 1995):

- Lignin peroksidaze (LiP)
- Mangan peroksidaze (MnP)
- Lakaze (Lac)
- istočasno proizvajajo celulaze in hemicelulaze





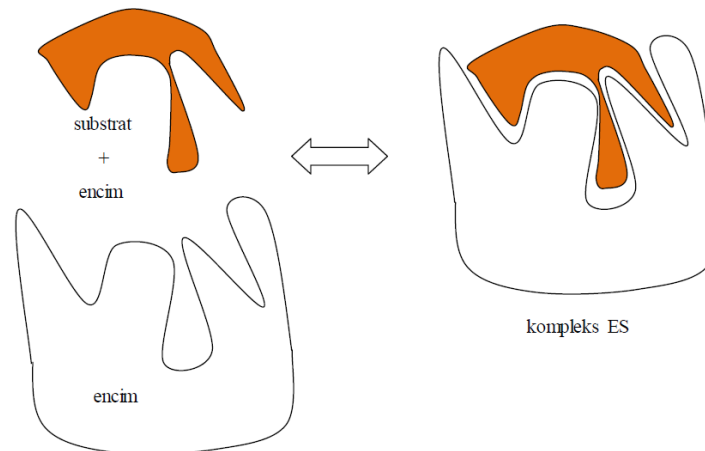
Mehanizem delovanja gliv bele trohnobe

- pri doseganju popolne razgradnje lignina in velikega števila okoljskih onesnaževal se uporabljajo različni mehanizmi
- GLIVE proizvajajo peroksidaze, ki povzročajo oksidacijo različnih spojin
- peroksidaze lahko katalizirajo redukcijo z elektronskimi donorji, s katerimi se lahko ustvarijo redukcijski radikali
- membranski potencial je prav tako zelo pomemben, saj reducira številne kemikalije, kot npr. TNT

Mehanizem delovanja encimov

- **encimi** so proteini ali proteinski kompleksi, ki katalizirajo biokemične reakcije v živih ali neživih celicah, kar pomeni, da uravnavajo hitrost ali smer teh reakcij, pri čemer se sami ne porabljajo in se ne spremenijo
- **molekula substrata**, ki je običajno manjša od molekule encima, se veže na posebno področje na encimski molekuli, ki se imenuje aktivno mesto (ES).

model ključa in ključavnice





Uporaba gliv bele trohnobe v papirniški industriji

SPOSOBNOST RAZBARVANJA IN RAZSTRUPLJANJA

- sposobnost razgradnje lignina in ostalih spojin npr. razgradijo poliaromatske ogljikovodike (PAH), klorirane aromatske ogljikovodike (CAHs), policiklične aromate, poliklorirane bifenile, poliklorirane dibenzodioksine, pesticide, DDT in lindan, nekatera barvila, itd.

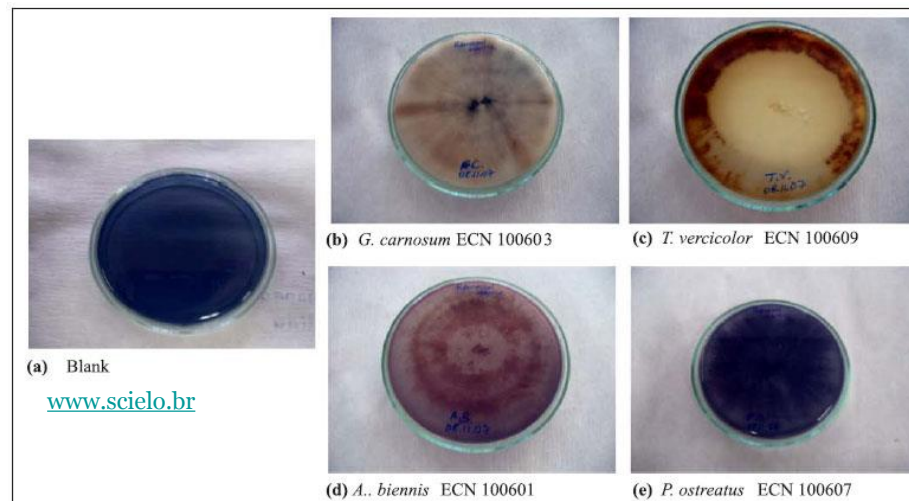




- potencial razstrupljanja in razbarvanja gliv bele trohnobe lahko pripišemo razvoju znanja iz področja fiziologije teh organizmov, kakor tudi lastnostim biokatalize ter stabilnosti njihovih encimov
- to znanje bi bilo smiselno uporabiti pri nadaljnjih raziskavah iz področja obdelave odpadkov
- v primerjavi z uporabo bakterij vzbujaajo glive bele trohnobe več pozornosti



- gojenje je nezahtevno, saj rastejo v širokem temperaturnem razponu, optimalna vlaga je 40-45%
- glive bele trohnobe so redki organizmi, sposobni oksidativne razgradnje sintetičnih barvil
- številne študije poročajo o zmanjšanju organske snovi v odpadni vodi





RAZISKOVALNO DELO

NAMEN DELA

DOSEGANJE OKOLJSKIH CILJEV

- zmanjšanje količine odpadkov- ZERO WASTE
- zmanjšanje stroškov ravnanja z odpadki
- ponovna uporaba odpadka
- pridobivanje produktov z dodano vrednostjo (encimi)
- uporaba encimov pridobljenih iz lastnega odpadka v proizvodnem procesu



PREGLED OBJAV

- glive bele trohnobe proizvajajo številne encime, uporabne v industriji (Lamar 1992, Vyas in sod., 1994)
- najpogosteje uporabljene glive pri razgradnji celuloze, hemiceluloze, lignina in številnih onesneževal so ravno glive bele trohnobe (Verdin in sod., 2004, Matsubara in sod., 2006)
- v primerjavi s tekočim gojiščem se je kultivacija gliv na trdem gojišču izkazala kot učinkovita (Holker in sod., 2004)
- celulaze so tretje na mestu po proizvodnji encimov na svetu
- papirna industrija uporablja v proizvodnem procesu encime (Šinkovec, 2012; Kenealy in Jeffries, 2003; Jacobs in sod., 2000), za katere je znano, da jih proizvajajo tudi glive bele trohnobe



Uporaba in vrste encimov v papirni industriji

encim	delovanje	uporaba
ksilanaza	razgradnja ksilana	- predbeljenje sulfatne celuloze za papirništvo
pektinaza	razgradnja pektina	- predobdelava bombaža in vlaknin za papirništvo pred beljenjem
proteaza	razgradnja beljakovin	- plemenitenje volne, svile in drugih vlaken živalskega izvora - odstranjevanje oblog na papirnih strojih
katalaza	razgradnja vodikovega peroksida	- odstranjevanje vodikovega peroksida po beljenju v tekstilstvu in papirnistvu
glukoza- oksidaza	proizvajanje vodikovega peroksida s pomočjo kisika	- beljenje vlaknin za tekstilstvo in papirništvo
lipaza	razgradnja maščob, olj in smol	- pomoč pri odstranjevanju mastnih madežev iz tekstila - odstranjevanje izločenih smol iz vlaknin na papirnih strojih
lakaza	razgradnja lignina	- razbarvanje barvila indigo - čiščenje odpadnih voda v tekstilni in papirni industriji - dodatek k beljenju s peroksidom
celulaza	razgradnja celuloze	- odstranjevanje nečistoč z vlaken in površinska obdelava tekstila (biopeskanje) - izboljšanje lastnosti vlaknin za papirništvo, izboljšanje učinka mletja in sušenja papirja, pomoč pri beljenju in razčimnjenju papirja
amilaza	razgradnja škroba	- razškrabljanje vlaken v tekstilstvu - znižanje viskoznosti procesnih voda v papirnistvu in odstranjevanje oblog
mangan- in lignin- peroksidaza	razgradnja lignina s pomočjo peroksida	- beljenje celuloznih vlaken v papirnistvu



MATERIALI IN METODE DELA

Karakterizacija substrata

Analiza pred in po kultivaciji, z namenom določanja uspešnosti izvedbe kultivacije ter kot podpora pri organizaciji nadaljnjega dela.

Analiza naslednjih parametrov:

- KPK (kemijska potreba po kisiku)
- TOC (skupni organski ogljik)
- fosfor
- dušik
- AOX (organske halogenske snovi)
- živo srebro in njegove spojine
- kadmij in njegove spojine
- šestvalentni krom in njegove spojine
- nikelj in njegove spojine
- svinec in njegove spojine
- Baker in njegove spojine





MATERIAL IN METODE DE LA

Kultivacija gliv bele trohnobe

- gojenje glive bukov ostrigar na papirniških odpadkih
- potekalo v sterilnih pogojih
- mulj smo sterilizirali in aseptično inokuirali s kulturo glive

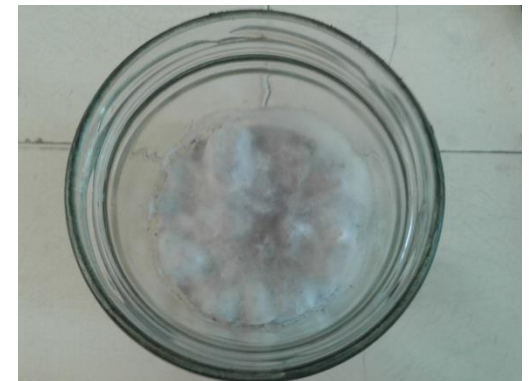




MATERIAL IN METODE DE LA

Kultivacija gliv bele trohnobe

- micelij je primarni mulj prerasel hitro
- tvoril celo trosnjake
- v večjem merilu in nesterilnih pogojih se je prav tako pojavila razrast micelija ter snovanje trosnjakov





MATERIAL IN METODE DELA

Določanje encimske aktivnosti

- homogenizacija substrata (Ultraturax)
- centrifugiranje
- dodajanje različnih ekstraktantov (acetatni, citratni ali fosfatni pufer), pH=5-7
- inkubiranje vzorcev s stresanjem (led)
- odpipetiranje supernatanta, ki predstavlja grobi encimski ekstrakt



MATERIAL IN METODE DELA

Določanje encimske aktivnosti

- encimsko aktivnost ekstraktov testiramo kvalitativno na sposobnost razgradnje substratov kot sta karboksimetilceluloza in bukov ksilan s testom na agaroznih ploščah (Marinšek-Logar, 1999)
- pozitivnim vzorcem kvantitativno določimo encimsko aktivnost z metodo določanja koncentracije proteinov po Lowry-ju in redukcijskih sladkorjev po Lever-ju (Lever, 1977)





... V NADALJEVANJU

- podrobnejša karakterizacija substrata (dodatni parametri)
- testiranje različnih substratov
- vključitev drugih substratov poleg papirniških muljev
- optimizacija procesa kultivacije gliv
- testiranje različnih vrst gliv
- optimiziranje metode za izolacijo in ekstrakcijo encimov
- optimiziranje metode za določanje aktivnosti encimov



... V NADALJEVANJU

- analiza stanja uporabe encimov v papirniški industriji
- testiranje pridobljenih encimov pri proizvodnji v papirniški industriji
- poiskati rešitev ponovne uporabe (sekundarna surovina) ostanka po kultivaciji gliv
- optimiziranje tehnološkega postopka (aplikacija)



HVALA ZA POZORNOST

Dr. Mija Sežun

INŠTITUT ZA CELULOZO IN PAPIR

Tel.: +386 1 200 28 18 , 051 603 237

Fax.: +386 1 426 56 39

E mail: mija.sezun@icp-lj.si

http: <http://www.icp-lj.si/>