

Usuwanie cynku z roztworów wodnych i ścieków z zastosowaniem immobilizowanej i nie immobilizowanej biomasy *Aspergillus niger*

Ewa Karwowska, Maria Łebkowska,
Leszek Pielach, Marek ApolinarSKI
Politechnika Warszawska

1. Wstęp

W ciągu ostatnich lat prowadzone są liczne badania nad wykorzystaniem materiałów pochodzenia biologicznego do usuwania metali ciężkich ze ścieków. Udowodniono, że metoda sorpcji metali ciężkich w biomacie może stanowić korzystną alternatywę dla tradycyjnych metod fizycznych i chemicznych, zwłaszcza w przypadku ścieków zawierających metale w stężeniu poniżej 100 mg/l [1, 10, 13].

Jako biosorbenty wykorzystywane są substancje pochodzenia zwierzęcego (chityna, chitozan), roślinnego (celuloza, odpady z przemysłu spożywczego, produkcji antybiotyków, substancje uzyskiwane z wodorostów morskich – alginiany i karrageniany) [1, 8÷11]. Najczęściej jednak w procesach biosorpcji stosuje się mikroorganizmy – bakterie, grzyby mikroskopowe oraz glony.

Proces biosorpcji jonów metali zachodzi bardzo szybko – praktycznie w ciągu pierwszych kilku minut kontaktu ścieków z biosorbentem [1, 3, 7], przy efektywności przekraczającej niejednokrotnie 90% [10]. Wysoka jest też wydajność wiązania metali w przeliczeniu na gram suchej masy biosorbenta, przykładowo, pleśń *Mucor rouxii* akumulują ołów w ilości 769 mg Pb/g biomasy, bakterie *Bacillus firmus* usuwają ołów, miedź i cynk z roztworu w ilości odpowiednio 467 mg Pb/g, 381 mg Cu/g i 418 mg Zn/g biosorbentu, natomiast cyjanobakterie *Oscillatoria angustissima* wiążą cynk w ilości 640 mg Zn/g biomasy [1]. Grzyby z rodzaju *Cladosporium* wykazują zdolność do kumulacji do 100 mg Au/gram sorbentu, zaś bakterie *Bacillus licheniformis* – do 225 mg Pd/g biomasy [12]. Według Kapoor i Viraraghavan [5] pleśń

Aspergillus niger wiąże złoto w ilości 170 mg/g natomiast uran – 215 mg/g. Wydajność wiązania cynku przez grzyby pleśniowe jest znacznie niższa i kształtuje się na poziomie 17,6 mg/g dla *Aspergillus oryzae*, 20 mg/g dla *Rhizopus arrhizus* i 23 mg/g w przypadku *Penicillium notatum* [5].

Usuwanie jonów metali przy udziale biomasy możliwe jest dzięki dwu rodzajom procesów: niezależnej od metabolizmu komórkowego biosorpcji oraz aktywnemu transportowi metali do wnętrza komórek. W pierwszym przypadku za wiązanie jonów metali odpowiedzialne są odpowiednie grupy funkcyjne (karboksylowe, hydroksylowe, aminowe, fosforanowe, sulfhydrylowe, tioeterowe, karbonylowe, imidazolowe, siarczanowe, sulfonianowe), występujące na powierzchni ściany komórkowej, błony komórkowej lub w obrębie wytwarzanych przez komórki egzopolimerów [10], zaś sam proces przyłączania jonów metali zachodzi dzięki zjawiskom wymiany jonowej, kompleksowania, chelatowania oraz oddziaływań o charakterze elektrostatycznym [12]. W drodze chemicznej modyfikacji biomasy możliwe jest wytworzenie dodatkowych grup karboksylowych lub etylodiaminowych [2], co zwiększa jej zdolności sorpcyjne.

W ramach aktywnego transportu jonów do wnętrza komórek wykorzystywane są często mechanizmy służące komórce do pobierania niezbędnych jej mikroelementów (specyficzne kanały błonowe i systemy transportowe wymagające nakładów energetycznych).

W dalszej kolejności metale mogą ulegać związaniu bądź przez specyficzne białka – tak zwane metalotioneiny, lub też w granulach polifosforanowych [2, 10]. Dodatkowymi mechanizmami mogącymi znaleźć zastosowanie w procesach eliminacji metali ciężkich ze ścieków są: strącanie metali w postaci nierozpuszczalnych związków w obrębie biomasy oraz przekształcanie w drodze procesów enzymatycznych przy udziale enzymów oksydoredukcyjnych drobnoustrojów [14]. Podawane są liczne przykłady uwarunkowań na poziomie molekularnym, umożliwiających oporność drobnoustrojów na toksyczne oddziaływanie jonów metali ciężkich [10].

Eliminacja metali ze ścieków możliwa jest również w przypadku obecności substancji toksycznych. Wykazano, iż komórki glonów i grzybów wiązały złoto z roztworu, w którym ten metal występował w postaci kompleksów cyjankowych [2]. W przypadku ścieków o wysokim stopniu toksyczności, w skrajnych warunkach temperatury oraz przy bardzo wysokich stężeniach metali stosuje się zazwyczaj biosorbent w postaci martwej biomasy [1]. W procesach usuwania jonów metali wykorzystywano między innymi martwą biomasę grzybów immobilizowaną w żelu poliakrylamidowym, alginianie, polisulfonianach i nośnikach nieorganicznych [6].

Grzyby pleśniowe, stosowane w licznych procesach fermentacyjnych prowadzonych na skalę przemysłową i zdolne do wzrostu z wykorzystaniem

substratów odpadowych, mogą stanowić tanie i łatwo dostępne źródło biomasy w procesach biosorpcji [4].

Celem pracy było porównanie efektywności eliminacji cynku z roztworów wodnych oraz ze ścieków syntetycznych z wykorzystaniem biomasy pleśni *Aspergillus niger*, zarówno bez immobilizacji jak i immobilizowanej na nośniku syntetycznym.

2. Metodyka badań

Roztwory cynku uzyskiwano poprzez rozpuszczenie $ZnCl_2$ cz.d.a. w wodzie wodociągowej lub ściekach syntetycznych wg Weinbergera (o składzie wg PN-87/C-04616/10), w celu uzyskania stężenia cynku w roztworze wodnym odpowiednio 20 mg/l i 40 mg/l, natomiast w ściekach – 30 mg/l.

Hodowlę pleśni *Aspergillus niger* prowadzono w podłożu płynnym zawierającym 40 g glukozy i 10 g peptonu w 1 l wody destylowanej, w warunkach wytrząsania przy 120 rpm, w temperaturze $25\div 26^\circ C$. Czas namnażania biomasy wynosił 4÷5 dni. Immobilizację biomasy prowadzono w ten sposób, że do podłoża oprócz zaszczepienia wprowadzano naważkę nośnika w postaci kształtek z tworzywa sztucznego. W ciągu 4÷5 dni następowało zasiedlenie nośnika biomasą.

Układ doświadczalny do badań nad biosorpcją w warunkach dynamicznych składał się ze szklanego reaktora przepływowego, wewnątrz którego zainstalowano koszyczki stalowe, wypełnione biomasą *Aspergillus niger* bez immobilizacji lub immobilizowaną na kształtkach.

Proces biosorpcji prowadzono, przez 3 lub 7 dni, w zależności od wariantu doświadczenia. Roztwór zawierający cynk dozowano w sposób ciągły za pomocą pompy perystaltycznej w górnej części reaktora, tak, aby omywał biomasę w koszyczkach. Obciążenie biomasy ładunkiem metalu kształtowało się na poziomie 26,90 mg/g s.m. d – 53,81 mg/g s.m. d w przypadku biomasy bez immobilizacji oraz 27,87 mg/g s.m. d – 55,76 mg/g s.m. d dla biomasy immobilizowanej. Zawartość w reaktorze biomasy nie immobilizowanej wynosiła 1,93 g natomiast immobilizowanej – 1,65 g. Parametry poszczególnych doświadczeń przedstawia tabela 1.

Próbki do analizy zawartości metalu pobierano raz dziennie z odpływu z reaktora. Oznaczenia wykonywano metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej.

Tabela 1. Parametry technologiczne procesu biosorpcji w poszczególnych wariantach doświadczeń; I – biomasa immobilizowana, NI – biomasa nie immobilizowana

Table 1. Technological parameters of biosorption process in individual variants of experiments; I – immobilised biomass, NI – non immobilised biomass

Wariant doświadczenia	Stężenie cynku w roztworze (mg/l)	Zawartość biomasy w reaktorze (g s.m.)		Obciążenie biomasy ładunkiem metalu (mg/g s.m.·d)		Całkowita ilość cynku wprowadzona do reaktora (mg)	Czas trwania doświadczenia (d)
		NI	I	NI	I		
Sorpacja z roztworu wodnego	20	1,93	1,65	26,90	27,87	363,41* (NI) 321,93* (I)	7
	40			53,81	55,76	311,56 (NI) 276,01 (I)	3
Sorpacja ze ścieków syntetycznych	30			37,99	39,37	219,97 (NI) 194,88 (I)	3

* z czego w pierwszych trzech dniach eksperymentu wprowadzono do reaktora odpowiednio 155,75 mg Zn dla biomasy nie immobilizowanej oraz 137,97 mg Zn dla biomasy immobilizowanej.

3. Wyniki

Pierwszy etap badań dotyczył eliminacji cynku z roztworu wodnego o stężeniu 20 mg Zn/l, przy użyciu immobilizowanej i nie immobilizowanej biomasy *Aspergillus niger*. Uzyskaną wydajność eliminacji metalu z roztworu wodnego oraz ilość metalu związaną w biomacie w kolejnych dobach trwania eksperymentu przedstawiają tabele 2 i 3.

Tabela 2. Usuwanie cynku z roztworu wodnego o stężeniu 20 mg Zn/l, z wykorzystaniem nie immobilizowanej biomasy *Aspergillus Niger*

Table 2. Zinc removal from water solution with concentration 20 mg Zn/l, with application of immobilised *Aspergillus Niger* biomass

Czas trwania doświadczenia (d)	Eliminacja metalu z roztworu (mg/d)	Ilość metalu związanego w biomacie (mg/g s.m. d)
1	20,13	12,20
2	25,39	15,39
3	21,22	12,86
4	21,29	12,96
5	27,93	16,93
6	24,65	14,94
7	20,19	12,24

Łącznie z 363,41 mg cynku doprowadzonego do reaktora, związaniu w biomacie nie immobilizowanej uległo 160,9 mg, co daje efektywność biosorpcji 44%. Całkowita ilość metalu zaadsorbowana w biomacie wynosiła 97,52 mg/g suchej masy biosorbenta.

Z 321,93 mg cynku wprowadzonego do reaktora, biosorpcji w biomacie immobilizowanej na kształtkach z tworzywa sztucznego uległo 199,29 mg (efektywność biosorpcji 62%), przy całkowitej ilości metalu związanego w biomacie na poziomie 103,26 mg/g s.m.

W kolejnym etapie doświadczeń przeprowadzono biosorpcję cynku w biomacie w czterech równoległych wariantach, obejmujących usuwanie metalu z roztworu wodnego o stężeniu 40 mg/l oraz ze ścieków syntetycznych zawierających cynk w stężeniu 30 mg/l przez biomasę nie immobilizowaną lub immobilizowaną. Wyniki przedstawiono w tabelach 4÷7.

Tabela 3. Usuwanie cynku z roztworu wodnego o stężeniu 20 mg Zn/l, z wykorzystaniem immobilizowanej biomasy *Aspergillus niger*

Table 3. Zinc removal from water solution with concentration 20 mg Zn/l, with application of immobilised *Aspergillus Niger* biomass

Czas trwania doświadczenia (d)	Eliminacja metalu z roztworu (mg/d)	Ilość metalu związanego w biomacie (mg/g s.m. d)
1	28,56	14,80
2	25,18	13,05
3	26,67	13,81
4	28,74	14,89
5	30,05	15,57
6	30,70	15,91
7	29,39	15,23

Tabela 4. Eliminacja cynku z roztworu wodnego o stężeniu 40 mg Zn/l przy użyciu nie immobilizowanej biomasy *Aspergillus niger*

Table 4. Zinc removal from water solution with concentration 40 mg Zn/l, with application of not immobilised *Aspergillus Niger* biomass

Czas trwania doświadczenia (d)	Eliminacja metalu z roztworu (mg/d)	Ilość metalu związanego w biomacie (mg/g s.m. d)
1	27,27	16,53
2	35,53	21,53
3	32,69	19,81

Tabela 5. Eliminacja cynku z roztworu wodnego o stężeniu 40 mg Zn/l przy użyciu biomasy *Aspergillus niger* immobilizowanej na kształtkach z tworzywa sztucznego

Table 5. Zinc removal from water solution with concentration 40 mg Zn/l, with application of *Aspergillus Niger* biomass immobilised on plastic shapes

Czas trwania doświadczenia (d)	Eliminacja metalu z roztworu (mg/d)	Ilość metalu związanego w biomacie (mg/g s.m. d)
1	40,21	20,83
2	49,73	25,77
3	50,34	26,08

Tabela 6. Eliminacja cynku ze ścieków syntetycznych przy użyciu nie immobilizowanej biomasy *Aspergillus niger*

Table 6. Zinc removal from synthetic wastewater with application of immobilised *Aspergillus Niger* biomass

Czas trwania doświadczenia (d)	Eliminacja metalu z roztworu (mg/d)	Ilość metalu związanego w biomacie (mg/g s.m. d)
1	16,72	10,13
2	10,96	6,64
3	10,96	6,64

Tabela 7. Eliminacja cynku ze ścieków syntetycznych przy użyciu biomasy *Aspergillus niger* immobilizowanej na kształtkach z tworzywa sztucznego

Table 7. Zinc removal from synthetic wastewater with application of *Aspergillus Niger* biomass immobilised on plastic shapes

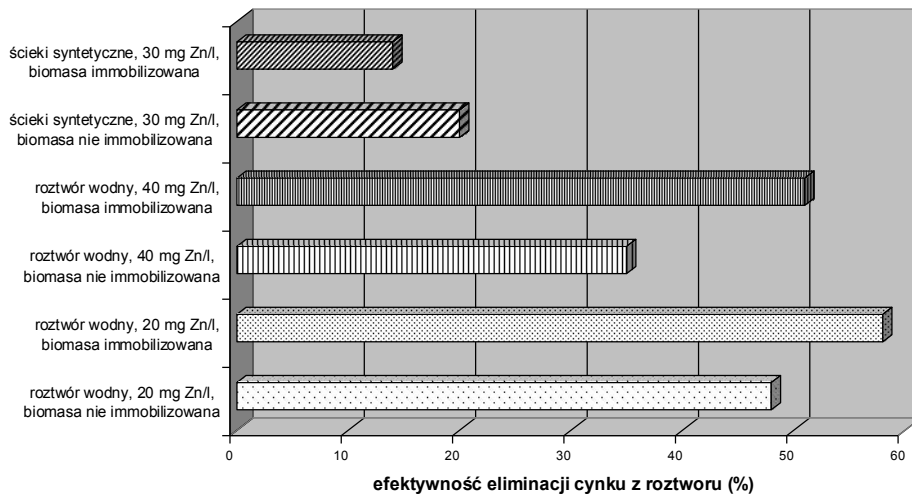
Czas trwania doświadczenia (d)	Eliminacja metalu z roztworu (mg/d)	Ilość metalu związanego w biomacie (mg/g s.m. d)
1	13,72	7,11
2	7,04	3,65
3	6,50	3,37

Wydajność eliminacji metalu z roztworu zawierającego 40 mg Zn/l przez nie immobilizowaną biomasę pleśni wyniosła 35%, zaś ilość zaadsorbowanego w biomacie cynku – 57,87 mg/ g s.m.

W przypadku grzybni immobilizowanej całkowita efektywność eliminacji metalu wyniosła 51%, zaś ilość metalu związanego w biomacie kształtowała się na poziomie 72,68 mg/ g s.m.

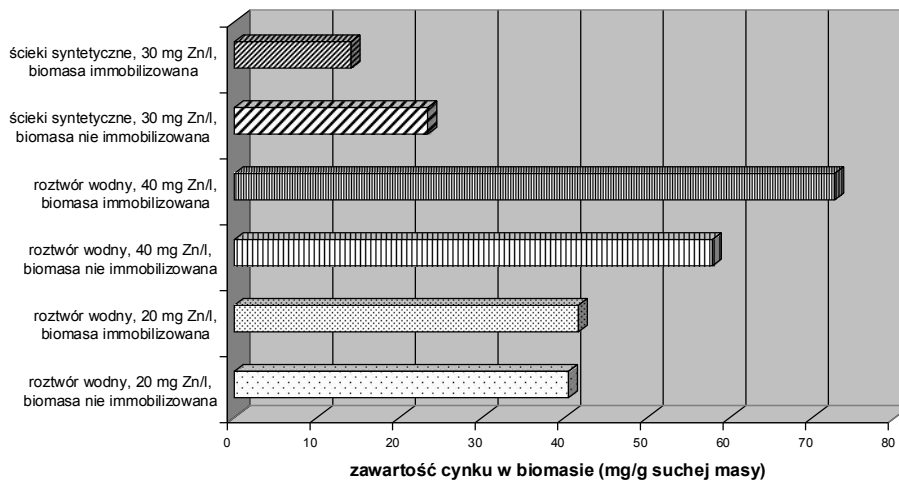
Usuwanie cynku ze ścieków syntetycznych, zarówno w przypadku biomasy nie immobilizowanej jak i immobilizowanej przebiegało z niewielką wydajnością. Całkowita wydajność eliminacji metalu w pierwszym przypadku wyniosła 20%, przy ilości zaadsorbowanego metalu równej 23,41 mg/ g s.m., zaś dla biomasy immobilizowanej – odpowiednio 14% i 14,13 mg/ g s.m.

W celu porównania wszystkich przeprowadzonych wariantów doświadczeń dokonano zestawienia danych odnośnie efektywności usunięcia cynku z roztworu oraz poziomu akumulacji cynku w biomacie w ciągu 3 dni trwania procesu biosorpcji. W przypadku doświadczenia dotyczącego biosorpcji cynku z roztworu wodnego o stężeniu 20 mg/l wykorzystano dane z pierwszych trzech dni biosorpcji. Wyniki przedstawiają wykresy na rysunkach 1 i 2.



Rys. 1. Efektywność usunięcia cynku z roztworu w poszczególnych wariantach doświadczenia

Fig. 1. Efficiency of zinc removal from solution in individual variants of experiment



Rys. 2. Poziom akumulacji cynku w biomacie w poszczególnych wariantach doświadczenia

Fig. 2. Level of zinc accumulation in biomass in individual variants of experiment

Stwierdzono, że biomasa immobilizowana charakteryzowała się wyższą efektywnością eliminacji cynku z roztworu wodnego (o 10÷14%) w porównaniu z biomasą nie immobilizowaną; nie zaobserwowano tego zjawiska w przypadku biosorpcji cynku ze ścieków syntetycznych. Poziom akumulacji w biomasie metalu z roztworu wodnego jonów cynku był również wyższy dla biomasy immobilizowanej. Ilość cynku związanego w biomasie była wyższa o 17÷30% w przypadku zastosowania roztworu o wyższym stężeniu metalu (40 mg/l), jednakże efektywność eliminacji metalu była o 7÷13% wyższa z roztworu o stężeniu cynku 20 mg/l.

Uzyskane w niniejszych badaniach ilości cynku zaadsorbowanego w biomasie grzybów pleśniowych (około 10% s.m.) były nawet pięciokrotnie wyższe od cytowanych w piśmiennictwie dla różnych gatunków pleśni.

Biosorpcja metali z roztworów wodnych była znacznie bardziej efektywna, aniżeli ze ścieków syntetycznych imitujących ścieki miejskie. Przyczyną mogło być kompleksowanie jonów cynku ze składnikami ścieków i ich kumulacja na zawiesinach.

4. Wnioski

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń stwierdzono, że:

- Biomasa pleśni *Aspergillus niger* może stanowić efektywny biosorbent cynku z roztworów wodnych, pozwalając na związanie w biomasie metalu w ilości powyżej 100 mg/g s.m. przy wydajności eliminacji metalu z roztworu przekraczającej 60%.
- Immobilizacja biomasy na powierzchni kształtek z tworzywa sztucznego ułatwiała znacznie prowadzenie procesu, powodując równocześnie około 10% wzrost wydajności eliminacji cynku z roztworu wodnego
- Usuwanie cynku ze ścieków syntetycznych imitujących ścieki miejskie zachodziło ze znacznie niższą wydajnością niż z roztworów wodnych; efektywność eliminacji metalu nie przekraczała 20%. Potwierdza to tezę, iż metale zawarte w ściekach przemysłowych powinny być usuwane w miejscu powstawania ścieków, a nie po zmieszaniu ze ściekami miejskimi.

Literatura

1. **Ahluwalia S.S., Goyal D.:** *Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater.* Bioresource Technology, 98, 2243-2257, 2007.
2. **Gadd G.M.:** *Bioremedial potential of microbial mechanisms of metal mobilization and immobilization.* Current Opinion in Biotechnology, 11, 271-279, 2000
3. **Hawari A.H., Mulligan C.N.:** *Biosorption of lead(II), cadmium(II), copper(II) and nickel(II) by anaerobic granular biomass.* Bioresource Technology, 97, 692-700, 2006.

4. **Kapoor A., Viraraghavan T., Cullimore D.R.:** *Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger**. *Bioresource Technology*, 70, 95-104, 1999.
5. **Kapoor A., Viraraghavan T.:** *Fungal biosorption – an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters: a review*. *Bioresource Technology*, 53, 195-206, 1995.
6. **Kapoor A., Viraraghavan T.:** *Removal of heavy metals from aqueous solutions using immobilized fungal biomass in continuous mode*. *Water Research*, 32, 6, 1968-1977, 1998.
7. **Karwowska E.:** *Usuwanie wybranych metali ciężkich ze ścieków przy zastosowaniu osadu czynnego*. Praca doktorska. Politechnika Warszawska, 2000.
8. **Klimiuk E., Kuczajowska-Zadrożna M.:** *The effect of Poly(vinyl Alcohol) on Cadmium Adsorption and Desorption from Alginate Adsorbents*. *Polish Journal of Environmental Studies*, 11, 4, 375-384, 2002.
9. **Klimiuk E., Łebkowska M.:** *Biotechnologia w ochronie środowiska*. PWN, Warszawa, 2003.
10. **Łebkowska M., Karwowska E.:** *Usuwanie metali ciężkich ze ścieków przemysłowych i z osadów ściekowych*. Seria Wodociągi i Kanalizacja. Wydawnictwo PZLiTS, Tom 10, Warszawa, 2003.
11. *Lister S.K., Line M.A.:* *Potential utilization of sewage sludge and paper mill waste for biosorption of metals from polluted waterways*. *Bioresource Technology*, 79, 35-39, 2001.
12. **Mack C., Wilhelmi B., Duncan J.R., Burgess J.E.:** *Biosorption of precious metals*. *Biotechnology Advances*, 25, 264-271, 2007.
13. **Senthilkumaar S., Bharathi S., Nithyanandhi D., Subburam V.:** *Biosorption of toxic heavy metals from aqueous solutions*. *Bioresource Technology*, 75, 163-165, 2000.
14. **Wong L.T.K., Henry J.G.:** *Bacterial leaching of heavy metals from anaerobically digested sludge*. W: *Biotreatment Systems*. CRC Press. ed. Donald Wise, 2, 126-169, 1986.

Zinc Removal from Solutions and Wastewater Using Immobilized and Non-immobilized *Aspergillus niger* Biomass

Abstract

Recent developments in the field of environmental biology include the experiments concerning the biomass application in heavy metals elimination from wastewater. An immobilization of the biosorbents appears as a promising technique to improve the process efficiency. An application of the biomass from fermentation industry allows to decrease costs of the process.

In this work the *Aspergillus niger* biomass was used as a zinc biosorbent. It was applied as a free mycelium and in form immobilized on plastic moulders. The zinc elimination effectiveness from water zinc solution and from synthetic wastewater as well as metal bioaccumulation level were estimated. The experiments were carried out in continuous flow reactor.

It was stated, that the zinc elimination efficiency was about 50-60% and the accumulation level exceeded 10% of the biosorbent dry weight. An immobilization of the biomass allowed to increase the bioaccumulation effect (by 30% during 3 days of the experiment), comparing with the non immobilized biosorbent. The zinc accumulation level was notably higher in case of immobilized *Aspergillus niger* mycelium. It was observed, that the zinc biosorption was 2-3 times more effective from water solution of the metal, comparing with its elimination from synthetic wastewater.

