

Akik megeszik az ehetetlen

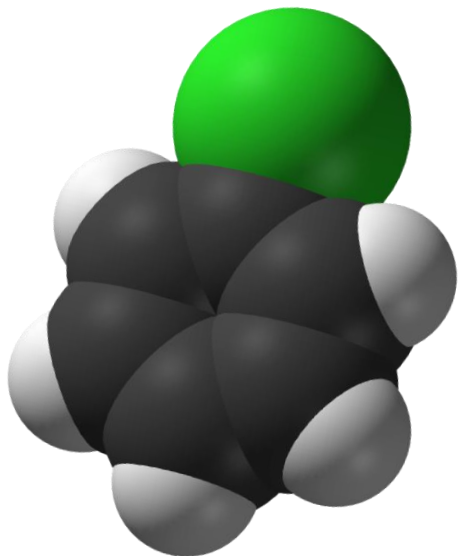
Dr. Perei Katalin
(egyetemi adjunktus)

SZTE Környezettudományi Doktori Iskola
Nyári Iskola, Aggtelek
2012. 07. 12.

TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0012

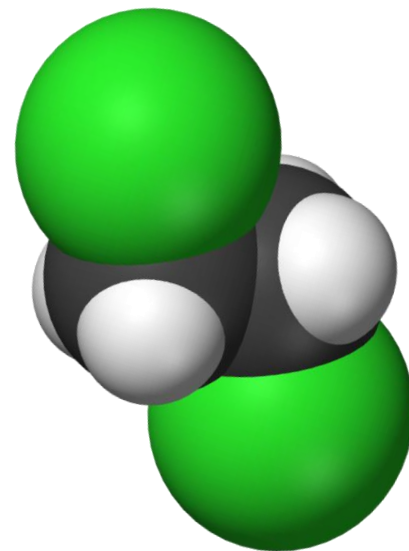


Klórozott vegyületeket tartalmazó talajvíz bioremediációja



Klór-benzol

Perzisztensek
Karcinogének
Toxikusak
Talajvízben feldúsulnak



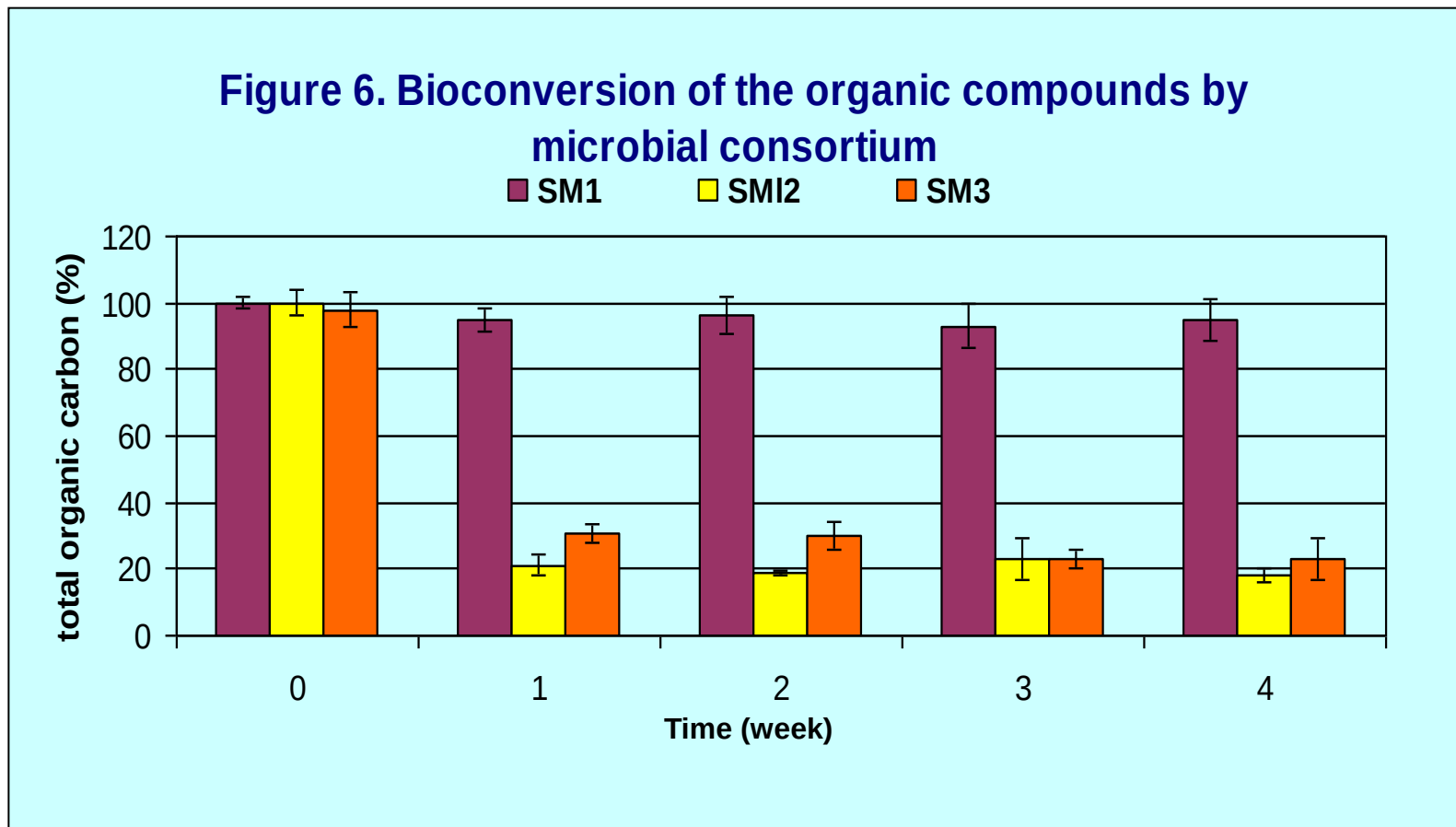
1,2 diklór-etán

Biodegradációhoz szelektált mikroorganizmusok

- *Pseudomonas* fajok
 - *P. marginalis*, *P. stutzeri*, *P. putida*, *P. aurantiaca*
 - Gram negatív
 - Rhamnolipid felületaktívanyag
 - oxigenázok
- *Rhodococcus* sp.
 - *Rhodococcus erythropolis* MK1
 - Gram negatív
 - Trehalolipid felületaktívanyag
 - oxigenázok

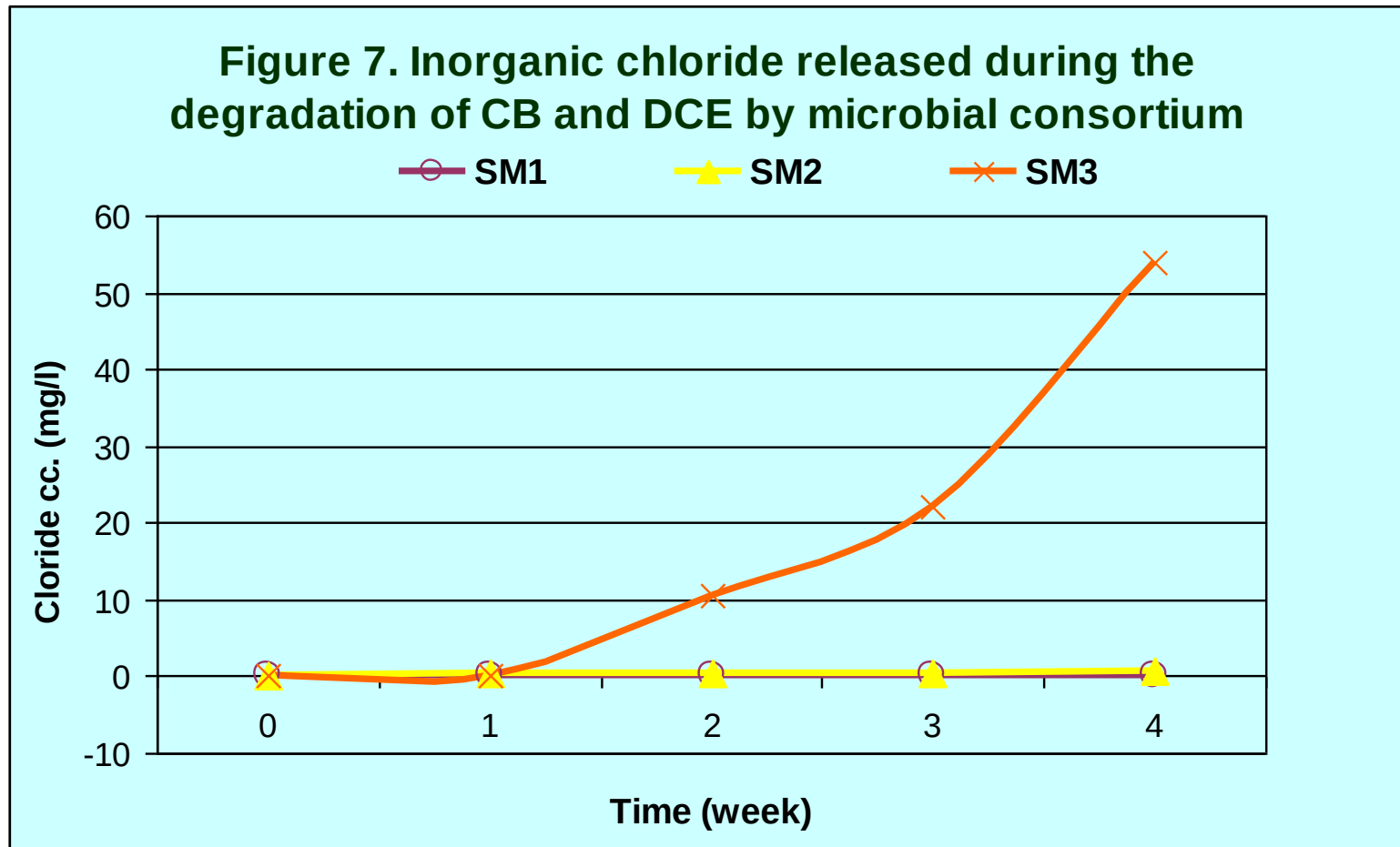


Klórozott vegyületek mikrobiális konverziója



	SM1	SM2	SM3
Consortium	-	+	+
1 mM CB and 1 mM DCE	+	-	+
10 mM Na-citrate	+	+	+

Klórozott vegyületek mikrobiális konverziója



Teoretikus Cl⁻: 105 mg/l

Mért Cl⁻: 54 mg/l (4 hét után)

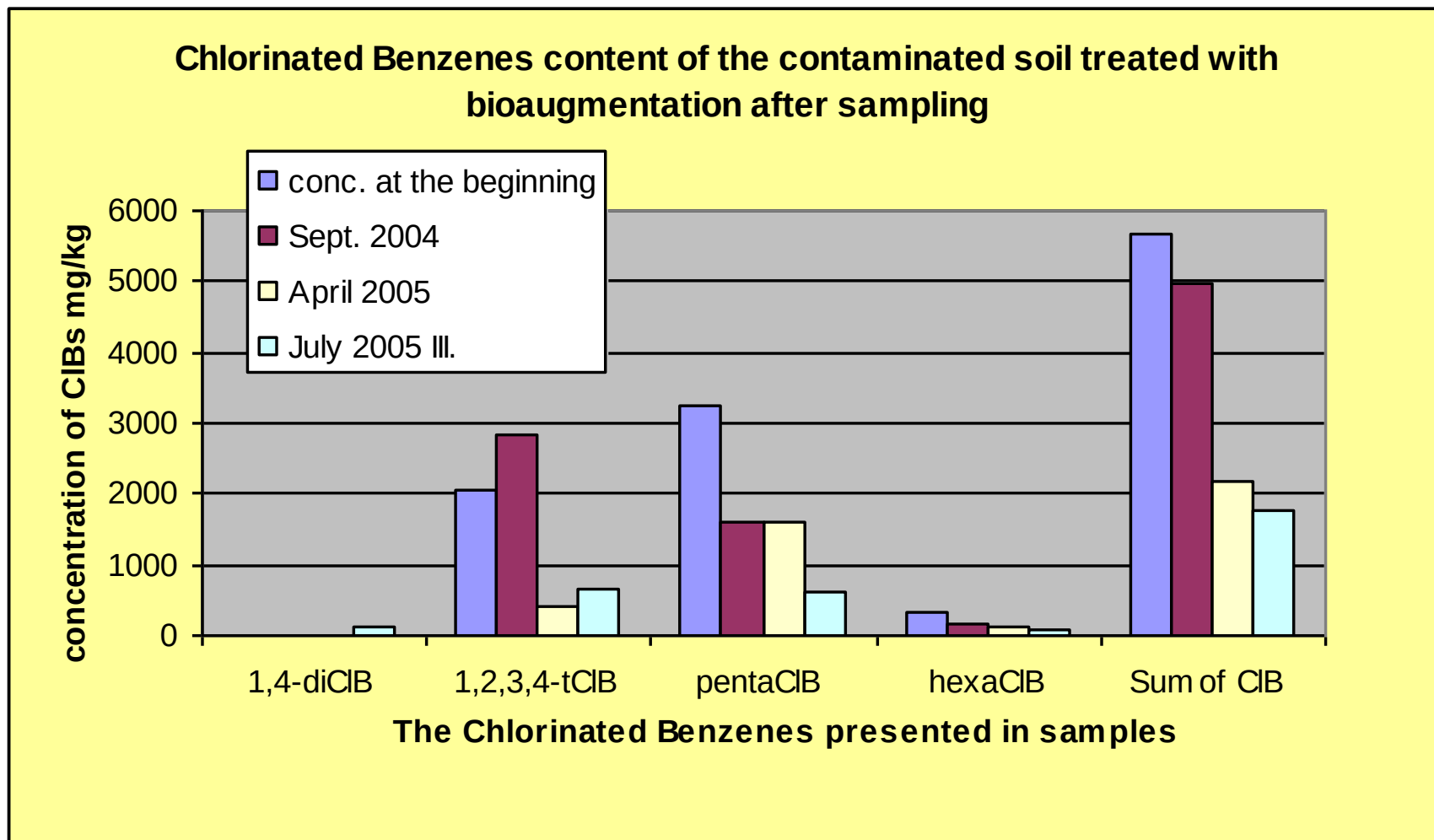
Garé és a BVM

1979-ben kezdtek hordókat lerakni, csak elvinni elfelejtették

A bíróság jogerősen arra kötelezte a Budapesti Vegyiműveket, hogy 2012-ig tüntesse el a telep tetraklór-benzonnal átitatott, több mint százezer tonnányi, szennyezett földjét, az már biztos, hogy a BVM ezt nem teszi meg, mert csődöt jelentett.



Tetra-, pentaklórbenzol szennyezett talaj bioremediációja

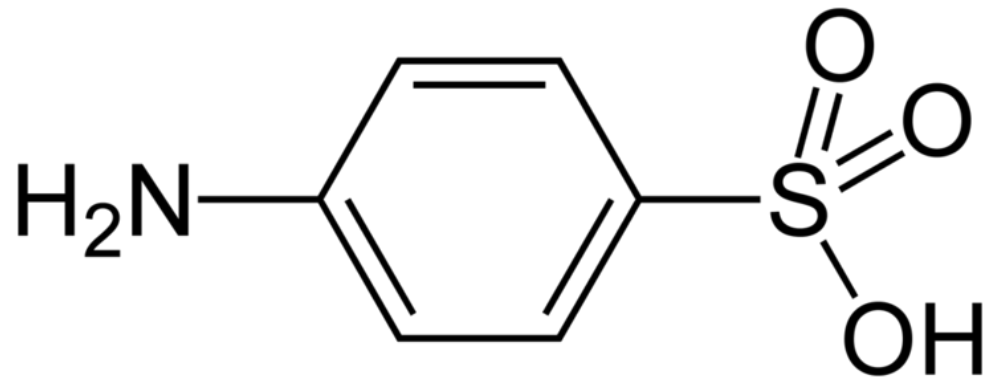


A klorid koncentráció alakulása a szennyezett talajban a bioaugmentációt követően

ClBs	sample	Initial inorganic Cl ⁻ conc. (µg/ml)	Inorganic Cl ⁻ conc. after 1 week (µg/ml)
tClB	Bacterium free control	224	228
	<i>Pseudomonas sp. isolated from contaminated soil</i>	224	199
pClB	Bacterium free control	224	216
	<i>Pseudomonas sp. isolated from contaminated soil</i>	224	262

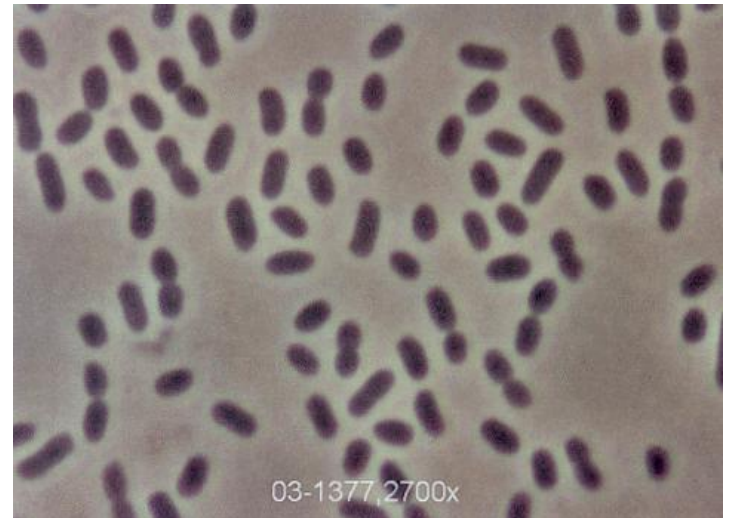
Szulfanilsav

- anilin közvetlen szulfonálásával nyerhető xenobiotikum
- vízben rosszul, alkoholban nem oldódó vegyület
- ásványi savakkal nem elegyedik, lúgokkal sót képez, ami vízben jól oldódik
- fiziológiás körülmények között teljesen disszociál. Az így képződő erősen negatív töltésű molekulát a sejtek nehezen veszik fel, ami megnehezíti lebontásukat
- hasznosítása: azofestékek, növényvédőszerek, szulfonamid gyógyszerek



Sphingomonas subarctica SA1

- Balatonfüzfői Nitrokémia Rt. szennyvizéből izoláltuk
- Gram negatív
- aerob
- membránjában glikoszfingolipidek
- gellán exopoliszaharid
- Oxigenáz enzimek

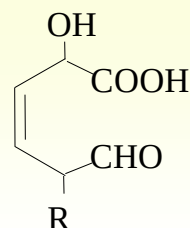
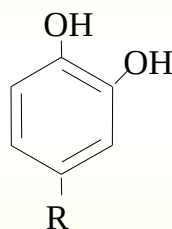


Dioxigenáz enzimek

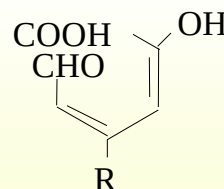
Két fő csoportjuk:

- az aromás gyűrűre hidroxilcsoportot építő dioxigenázok
- az aromás gyűrűt hasító dioxigenázok

meta(extradiol)hasító dioxigenázok

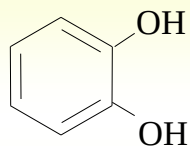


proximális-extradiol hasító
2,3-dioxigenázok



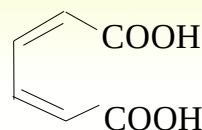
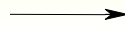
disztális-extradiol hasító
4,5-dioxigenázok

orto(intradiol)hasító dioxigenázok



katekol

+ O₂

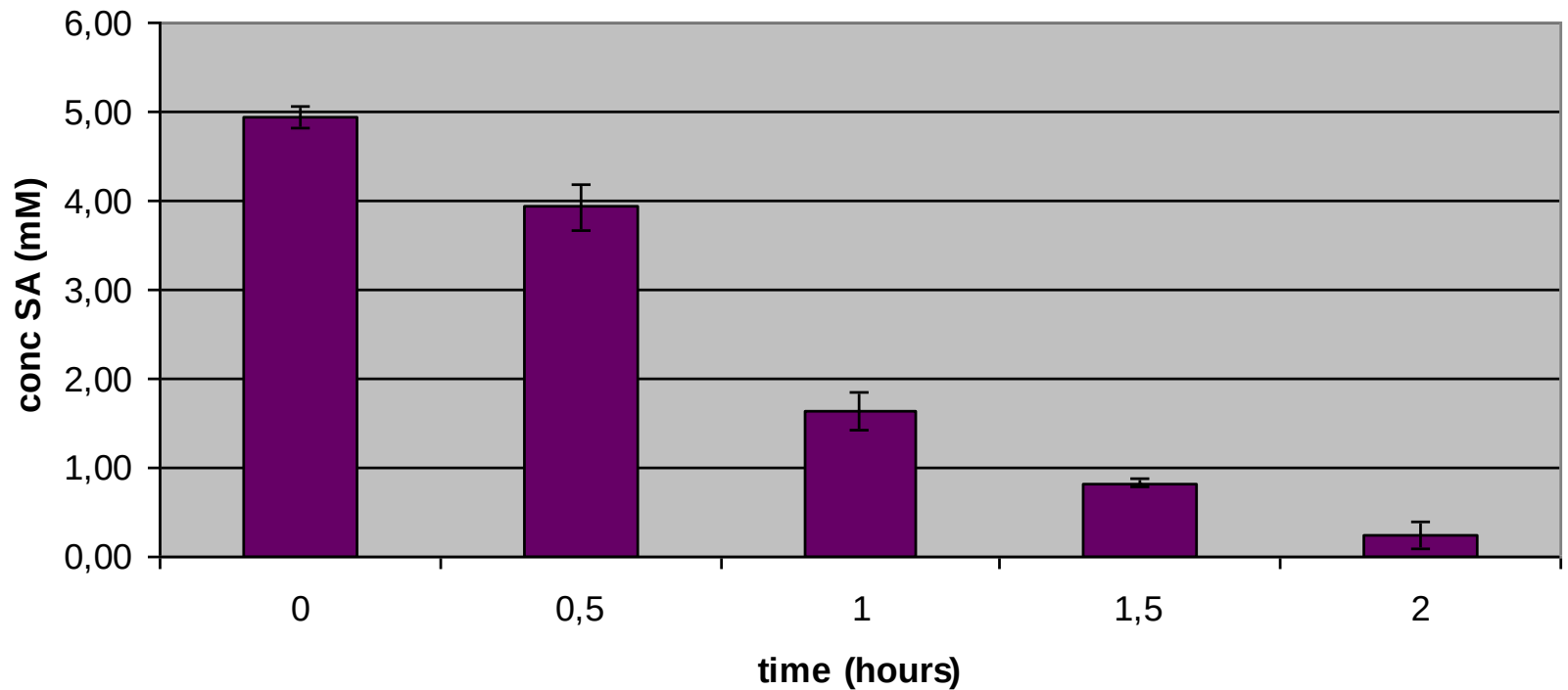


mukonsav

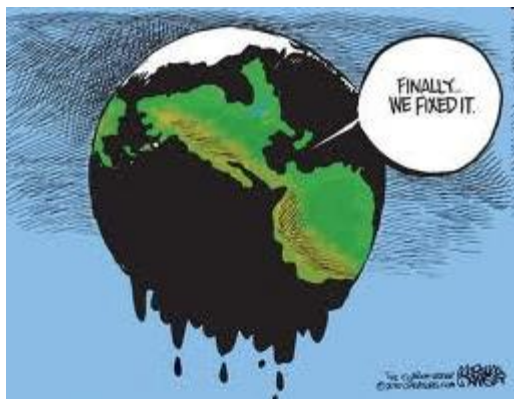
katekol 1,2-dioxigenáz

Szulfanilsav biodegradáció

Biodegradation of 5 mM SA by *Sphingomonas subarctica* SA1
(OD₆₀₀=2,5) at laboratory conditions



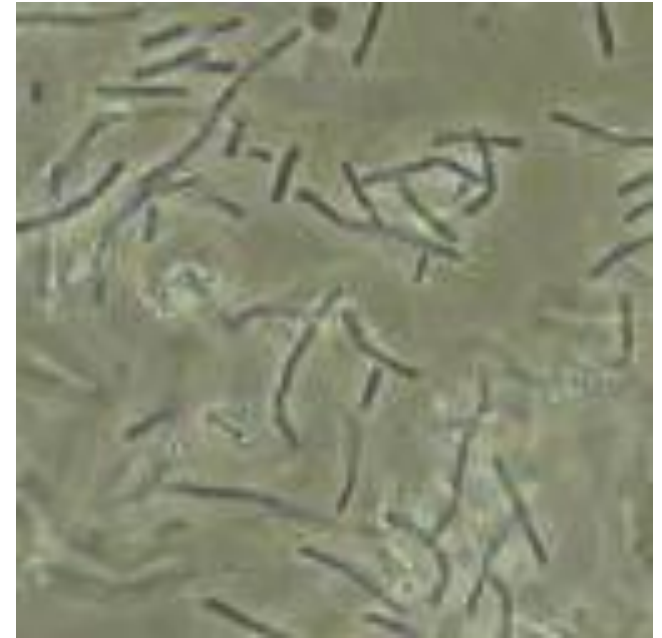
Régi a história aktuális a probléma



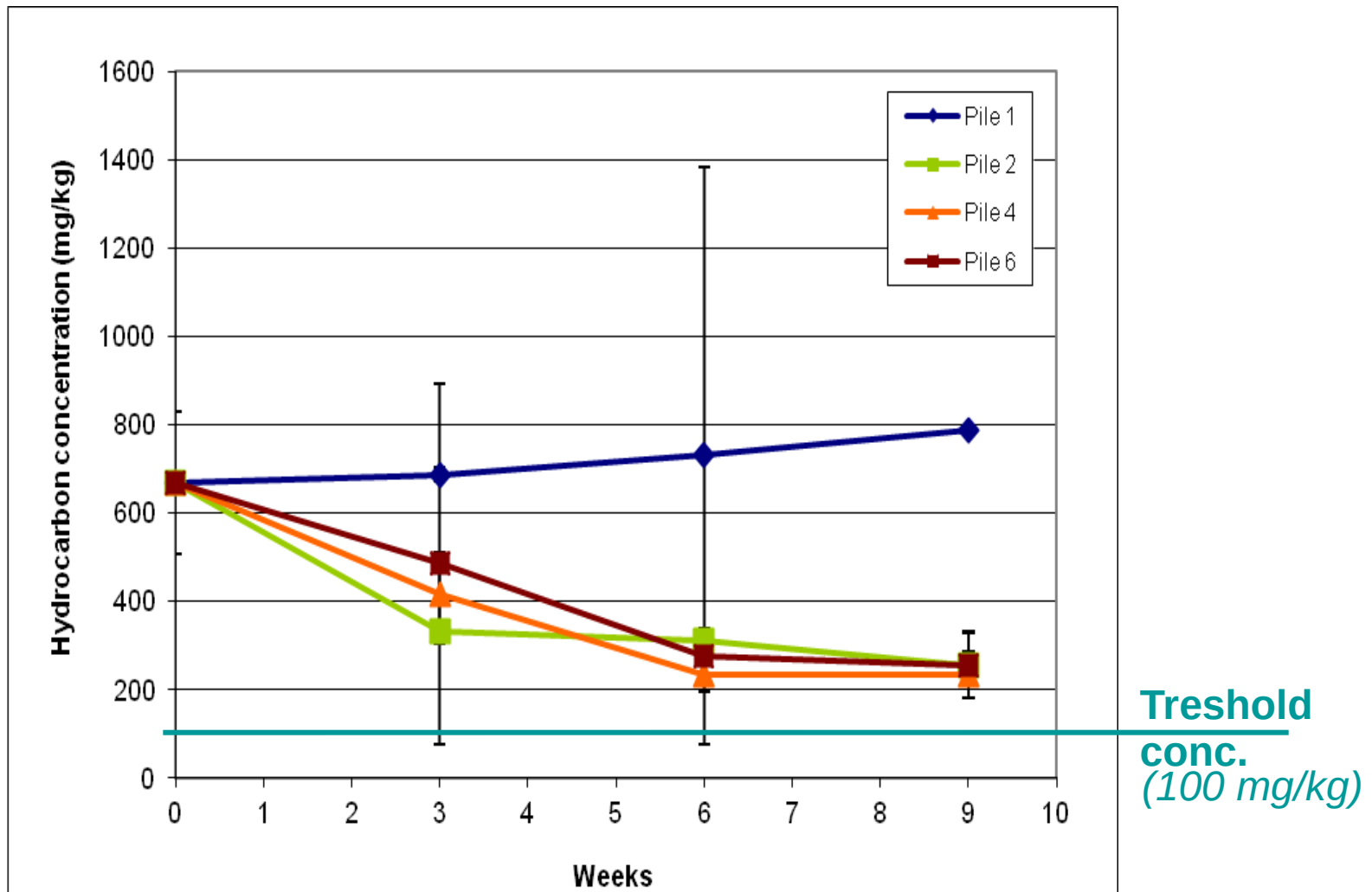


Hatékony szénhidrogénbontó mikroorganizmusok

- *Rhodococcus* fajok
 - Gram pozitív, aerob baktériumok
 - Előfordulnak talajban, természetes vizekben
 - Felületaktívanyag termelők!
 - Szaporításuk, kezelésük egyszerű
 - Oxigenáz enzimeket szintetizálnak



„Öreg” szennyezés bioremediációja

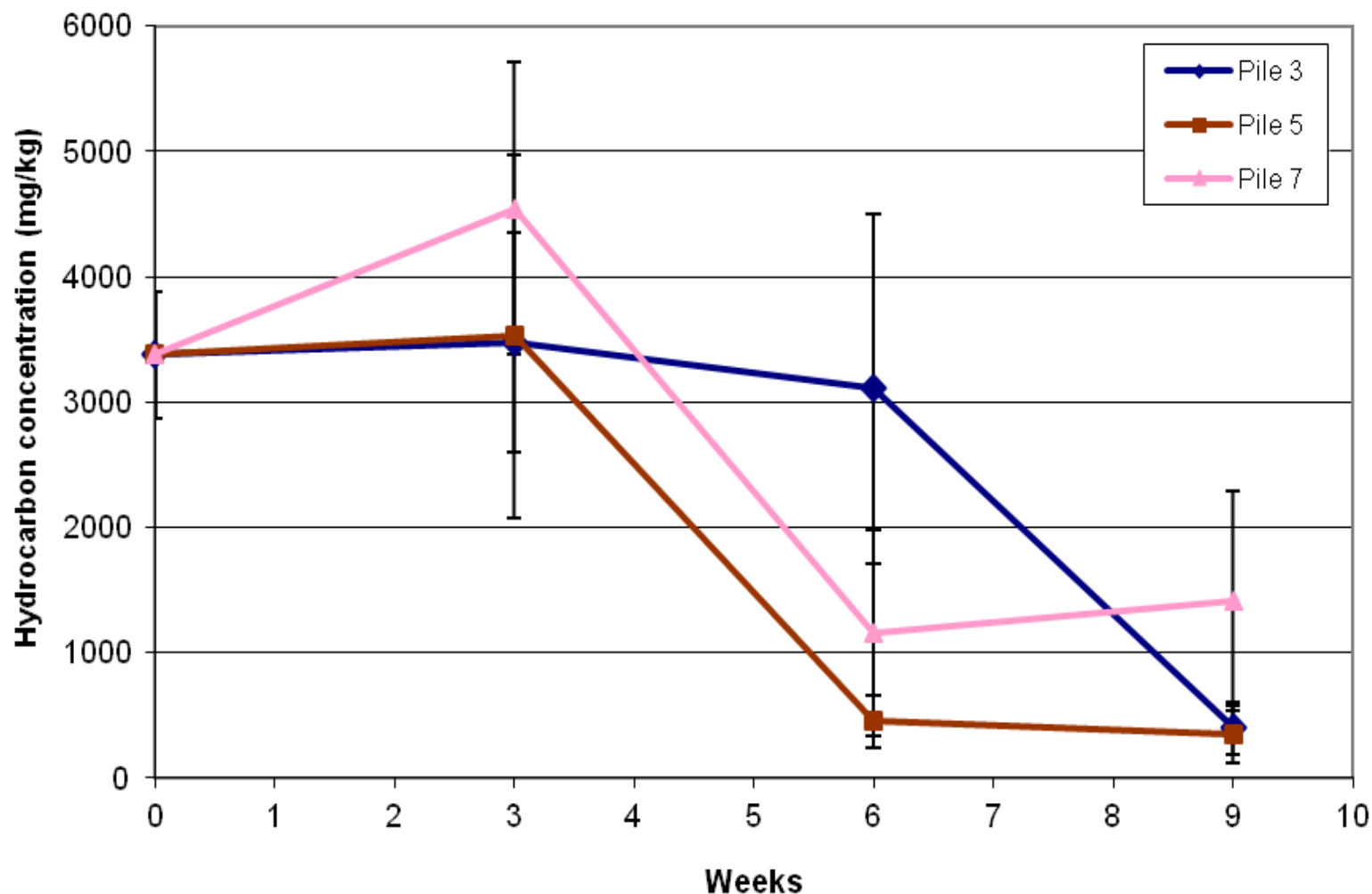


1. halom = kontrol

2. halom = biostimulált

4. és 6. halom = bioaugmentált

„Friss” szennyezés bioremediációja



3. halom = biostimulált

5. és 7. halom = bioaugmentált

Autók okozta olajfolt a kövezeten



Bioaugmentáció előtt



Bioaugmentáció után 5 hónappal
(*Rhodococcus* sp.)

**Hogyan készítsünk
hulladékból hasznos
„dolgokat”**













Hogyan lesz belőle hulladék?



Húsfeldolgozó üzemek hulladékai I.



?

Fehérje, mint hulladék

- Élelmiszer ipar fejlődésének eredményeként
- A fehérje alapú hulladékok nem toxikusak, de magas szervesanyag tartalmuk miatt veszélyes hulladéknak minősülnek
- Ált. nem hosszútávú probléma, kivétel vízben nem oldódó polimer formái, főleg keratin
- Naponta nagy mennyiségben keletkezik keratin alapú hulladék a baromfi- és húsfeldolgozó üzemekben (toll, szőr)
 - Kémiai megsemmisítés: savas hidrolízis
 - Biológiai megsemmisítés keratináz enzimmel
- Potenciális szerves tápanyag (biomassza) takarmányokba, fermentációs alapanyagként érdemes hasznosítani

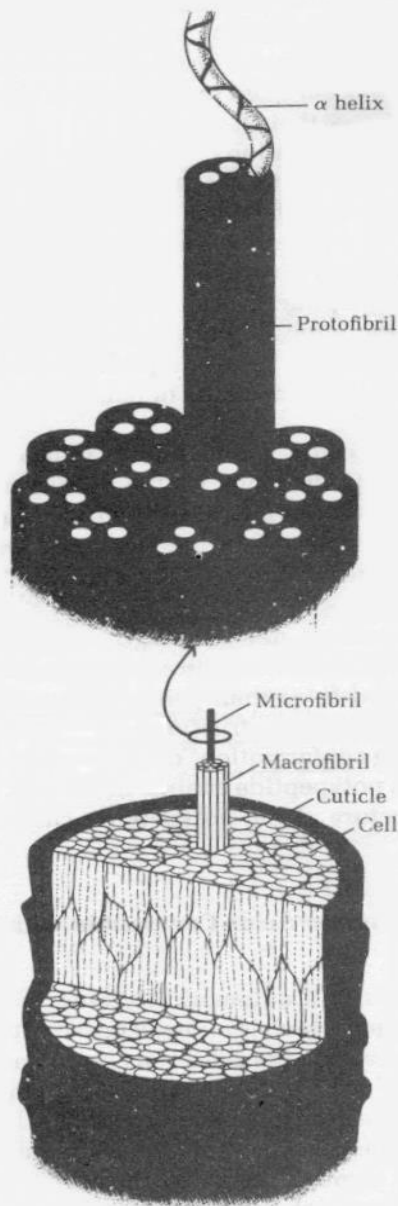


Toll, szőr



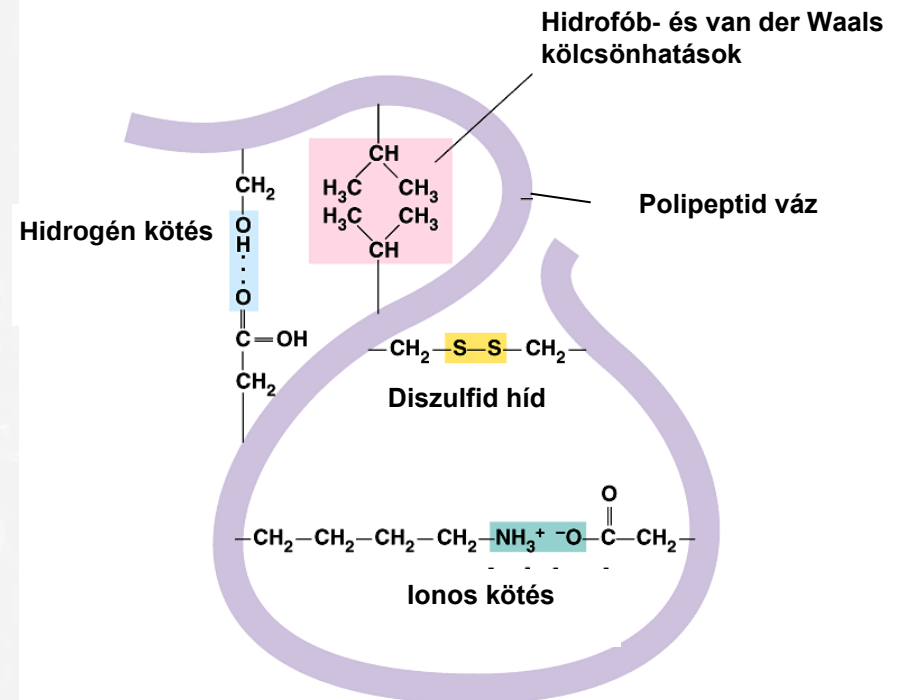
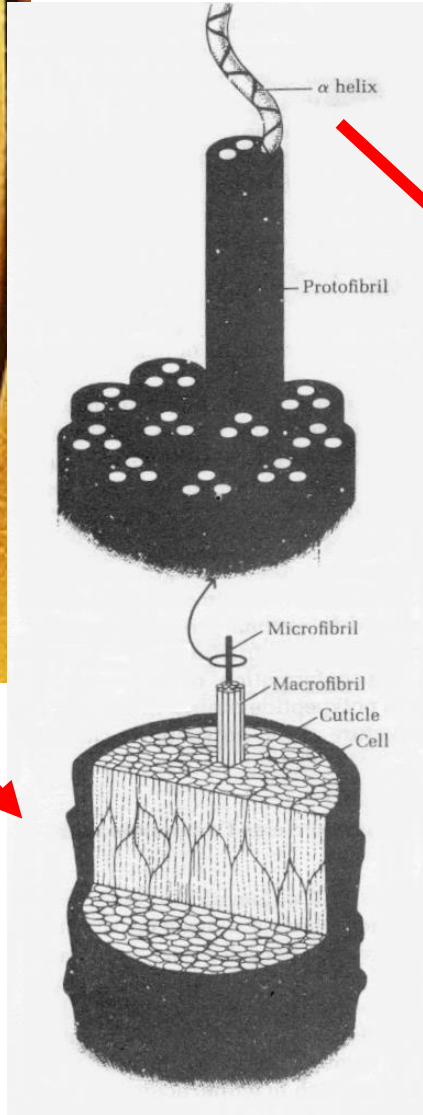
- A testsúly 5-7%-át is elérő mennyiségben jelenlévő, védő funkciót ellátó képletek
- szerkezetüknek stabilnak, ellenállónak kell lennie
- A toll, szőr, pata, szaru képletek speciális fehérjéit **keratinnak** nevezzük
- Biotechnológiai szempontból érdekesek és fontosak, mivel **potenciális tápanyagok**, hiszen fehérje, így aminosavak építik fel
- Hátrányuk, hogy nehezen emészthetők, valamint minimális mennyiségben van jelen bennük néhány esszenciális aminosav pl.: metionin, lizin, hisztidin és triptofán
- Az aminosav összetétel változik az állat korával

Keratin szerkezeti felépítése



- Vízben oldhatatlan fehérje, ellenálló a legtöbb proteolitikus (keratinolitikus) enzim-aktivitással szemben
- A fehérjékből felépülő filamentumok között, a nagyszámú **cisztein** aminosavaknak köszönhetően kénhidak jönnek létre.
- A polipeptidek között kialakuló hidrogén kötések és hidrofób kölcsönhatások, valamint a szupercsavart szerkezet stabilitása felelős a nagyfokú rezisztenciáért.

A toll, szőr stabilitása e szerkezetnek köszönhető



Keratin bontása mikroorganizmusokkal

- A mikrobiális lebontó folyamat lassú a természetben
- A nagy kéntartalom következtében csak kevés mikroorganizmus képes enzimatikusan támadni
 - dermatofita gombák szén- és nitrogénforrásként hasznosítják
 - számos mikroorganizmust azonosítottak, melyek hasznosítják a keratint: szaprofita- ill. parazita gombák, sugárgombák, baktériumok
- Az iparban nagy mennyiségben keletkező keratin alapú hulladék gyors eltávolítására szükség van (tárolási gondok)
- A fehérjék egyik leggyakoribb, és legfontosabb enzimátikus módosítása a peptidkötések proteolitikus hasítása, melyet **proteáz** enzimek katalizálnak

Van-e más megoldás a keratin hulladék mennyiségének csökkentésére?

„Kopasz csirke lesz a divat?

Sajnos - mint már említettem - ez a praktikus új fajta kifejezetten ronda lett. Ráadásul állandóan csipkedik a szúnyogok és a napsütéstől le is égnek. De lehet, hogy nem is lesznek életképesek, ugyanis tollazat nélkül a kakas nem képes megkapaszkodni a tyúk hátán, így elképzelhető, hogy gyors kihalásra lesznek ítélve.”

dr. Szentpéteri Zsolt (Terasz.hu enciklopédiája)





Rondák, könnyen megfáznak,
csípi őket is a szúnyogok,
ráadásul a párzás is nehezebb a
tollasoknál, mert nincs
kapaszkodója a kakasnak

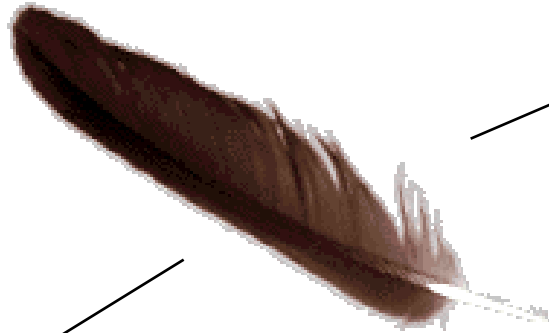


macska



Tengeri malac

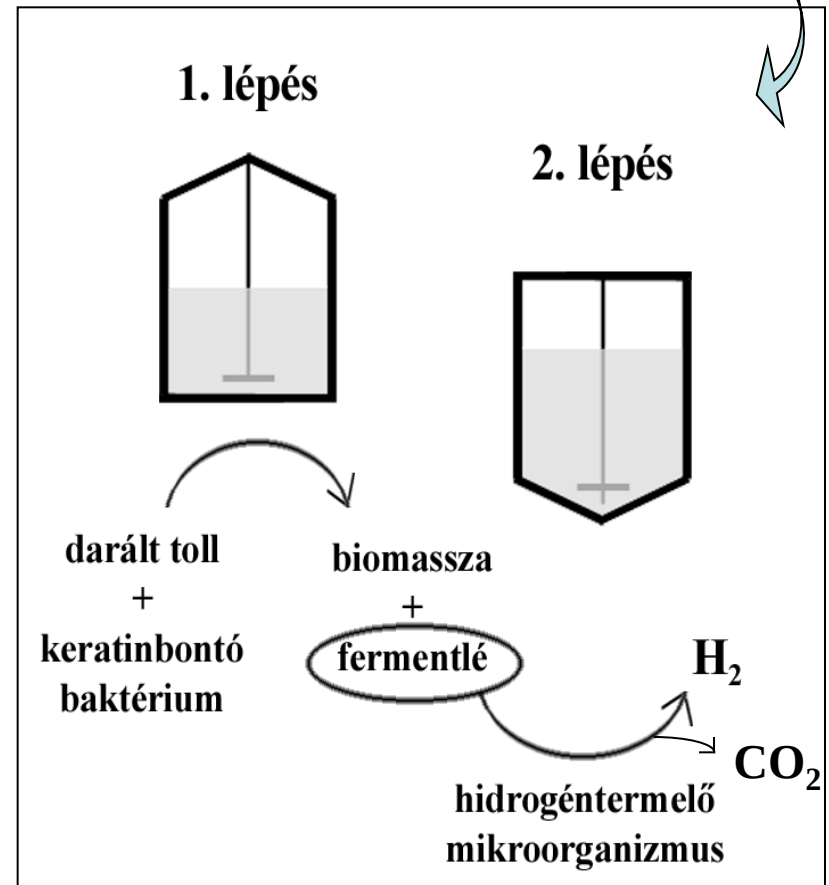
Kétlépéses, keratintartalmú hulladékot hasznosító hidrogéntermelő rendszer létrehozása.



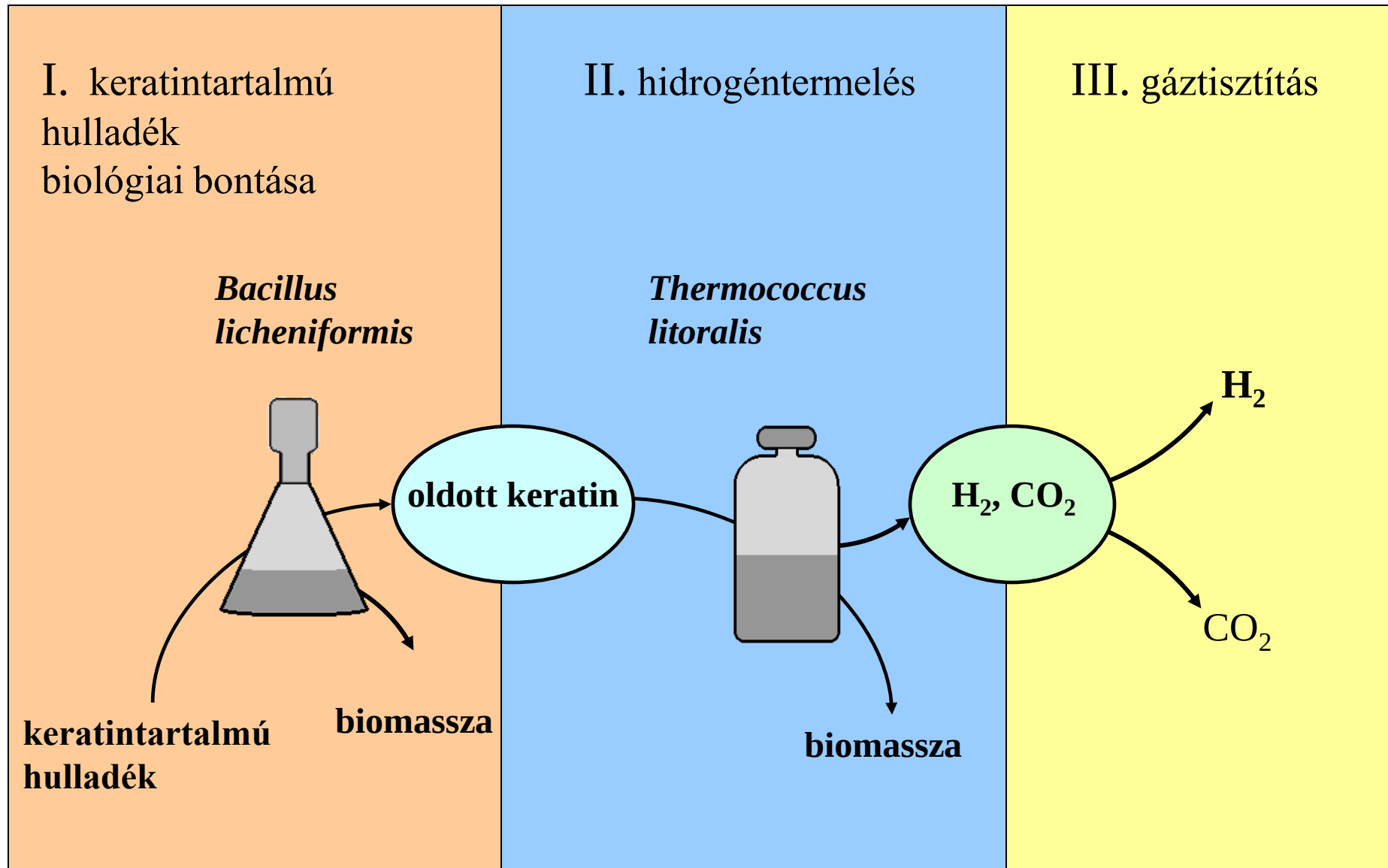
Fizikai megsemmisítés:
elégetés (nem környe-
zetbarát, körülményes,
drága)

Kémiai hidrolízis:
értéktelen végtermék

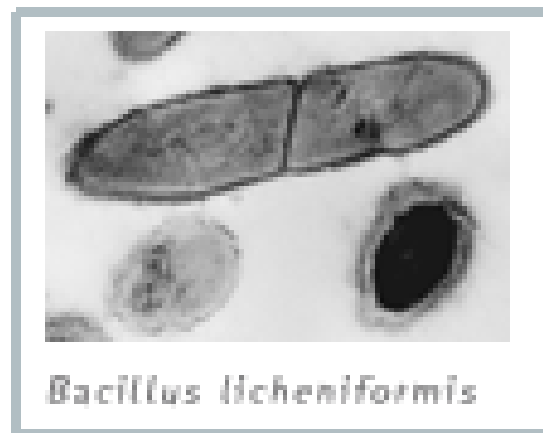
Biológiai lebontás (környezetbarát)
enzimatis bontás → peptidek,
aminosavak
+ **energianyerési lehetőség**



A kifejlesztett eljárás lényege

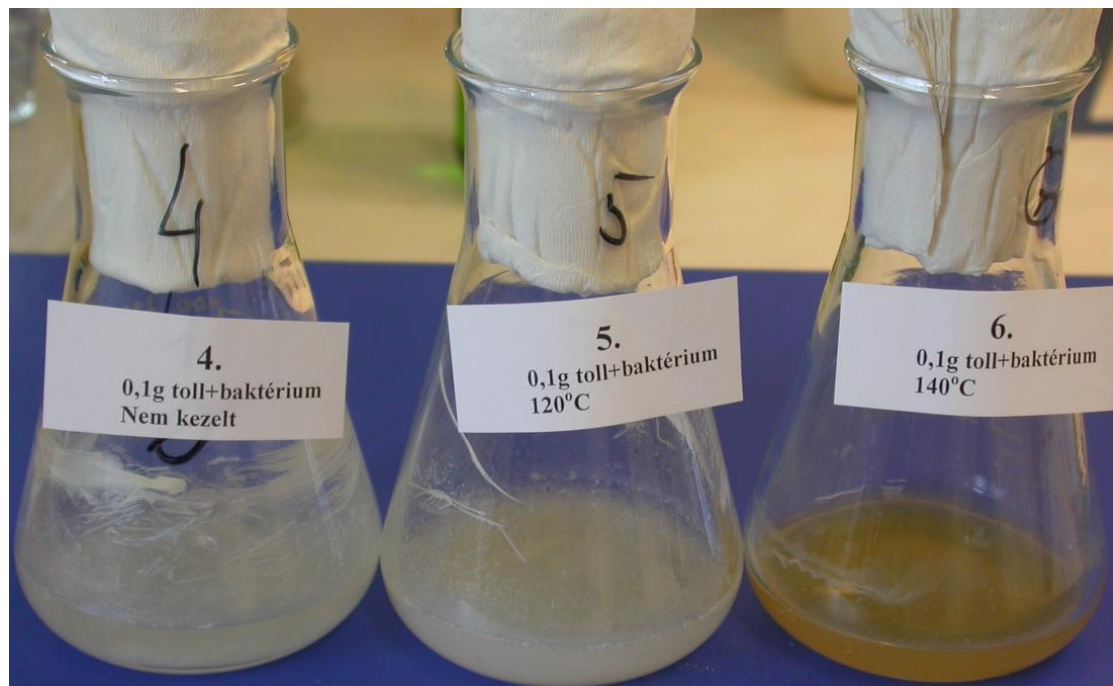
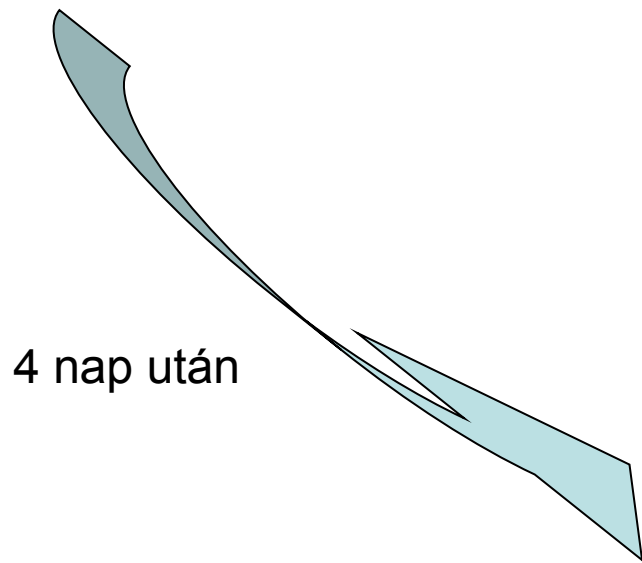


*A „nagy ász”,
a keratin bontó mikroorganizmus hogyan is
néz ki?*





*és honnan
tudjuk, hogy
bontja
a keratint?*



Húsfeldolgozó üzemek hulladékai II.



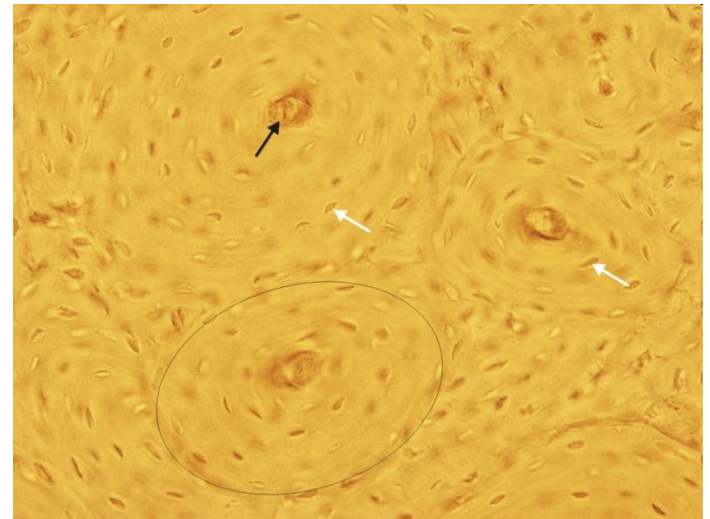
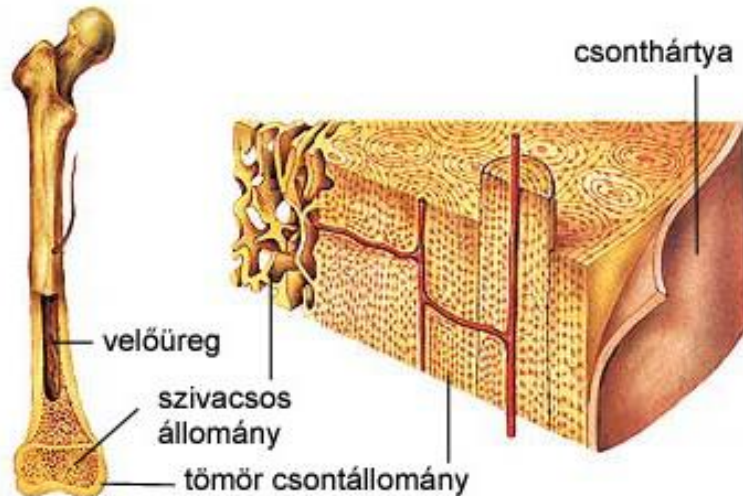
csonthulladék



csontszén

A csont szerkezete

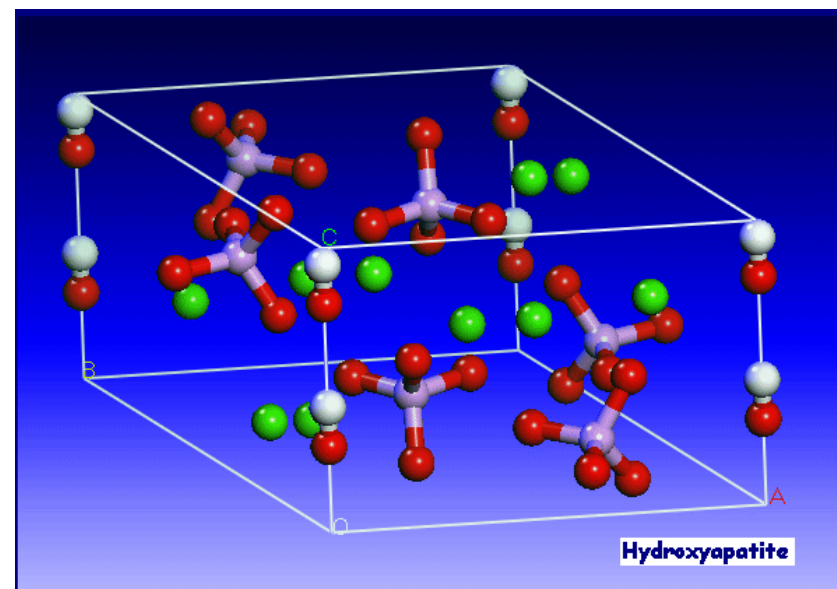
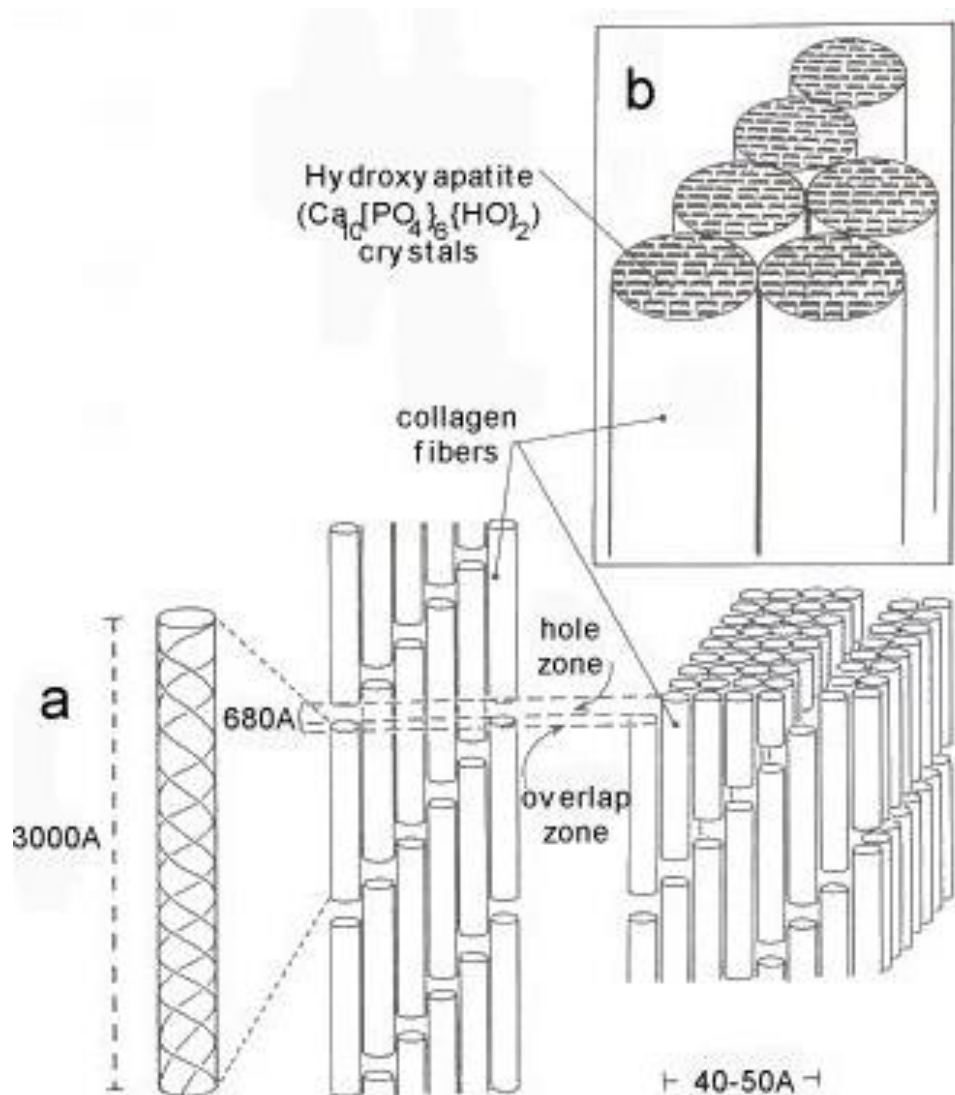
- Az egyes csontok egy külső tömör- és egy belső szivacsos részből állnak (ez szabad szemmel is látható)
- A csontszövet a szervezet legkeményebb szövete, a többi kötő- és támasztószövetekhez hasonlóan sejtekből és sejtközötti állományból épül fel. A csont sűrűségét és szilárdságát a benne lévő ásványi sók adják (erre a szövetre nézve egyedi, hogy a sejtközötti állomány mineralizálódik), a kalcium és a foszfor, így egy rendkívül kemény, ellenálló szövet jön létre.



A csont szerkezete

- A csont alapállományába kalcium-foszfát épül be, hidroxipapatit kristályok – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - formájában.
- A csontszövet mátrixát I-es típusú kollagén és alapállomány építi fel. Az alapállományt főleg proteoglikán molekulák építik fel.
- ásványi anyag raktár:
kalcium és foszfátionok raktározódnak el a csontokban, melyeket szükség esetén fel tudunk használni
 - A csontok, illetve a csontszövet 40%-a víz
 - a száraz anyagban szerves és a szerves alkotók egyaránt szerepelnek:
35% a szerves rész: osteokollagén rostok (I-es típusú kollagén), osteocalcin (glikoprotein) és sialoprotein.
 - **65%** a szerves rész:
 - ennek mintegy **85%-a hidroxipapatit**
 - kalcium-karbonát,
 - magnézium-karbonát,
 - kova (szilícium-dioxid),
 - alkáli sók stb.

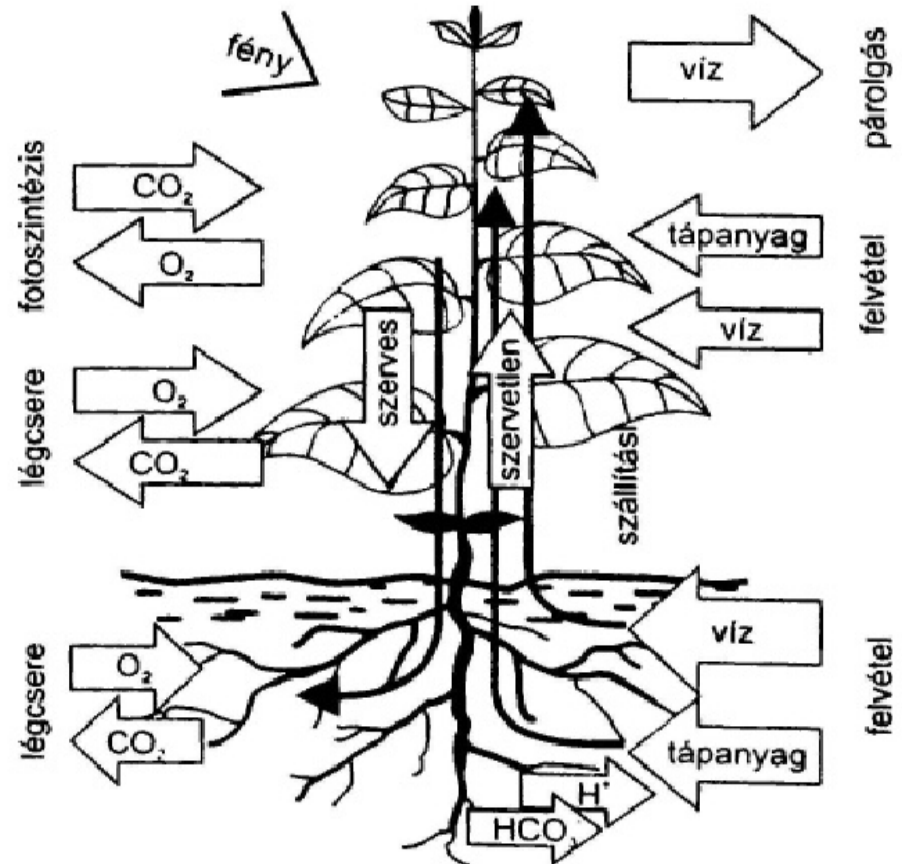
A molekuláris elrendeződése a kollagénnek és a hidroxiapatit kristályoknak a csontban



Zöld = kalcium
rózsaszín = foszfor
piros = oxigén
fehér = hidrogén

Növények tápanyagigénye

- Alapvető tápelemek a foszfor, nitrogén, kálium, magnézium, kalcium, nátrium, vas ...
- Mezőgazdasági területek gyorsan kimerülnek, ezért szükséges a műtrágyázás
 - Ennek szabályozása viszonylag problémás, eső könnyen kimossa ill bemossa a természetes vizekbe
- Növényeknek vízzoldékony foszfátra van szüksége
 - a talaj foszfortartalma 0,05 %, de ennek csak 0,1%-a elérhető a növények számára (H_2PO_4^- és HPO_4^{2-})



A foszforutánpótlás 2 lehetséges útja

Foszforhiányos növény



Egészséges növény

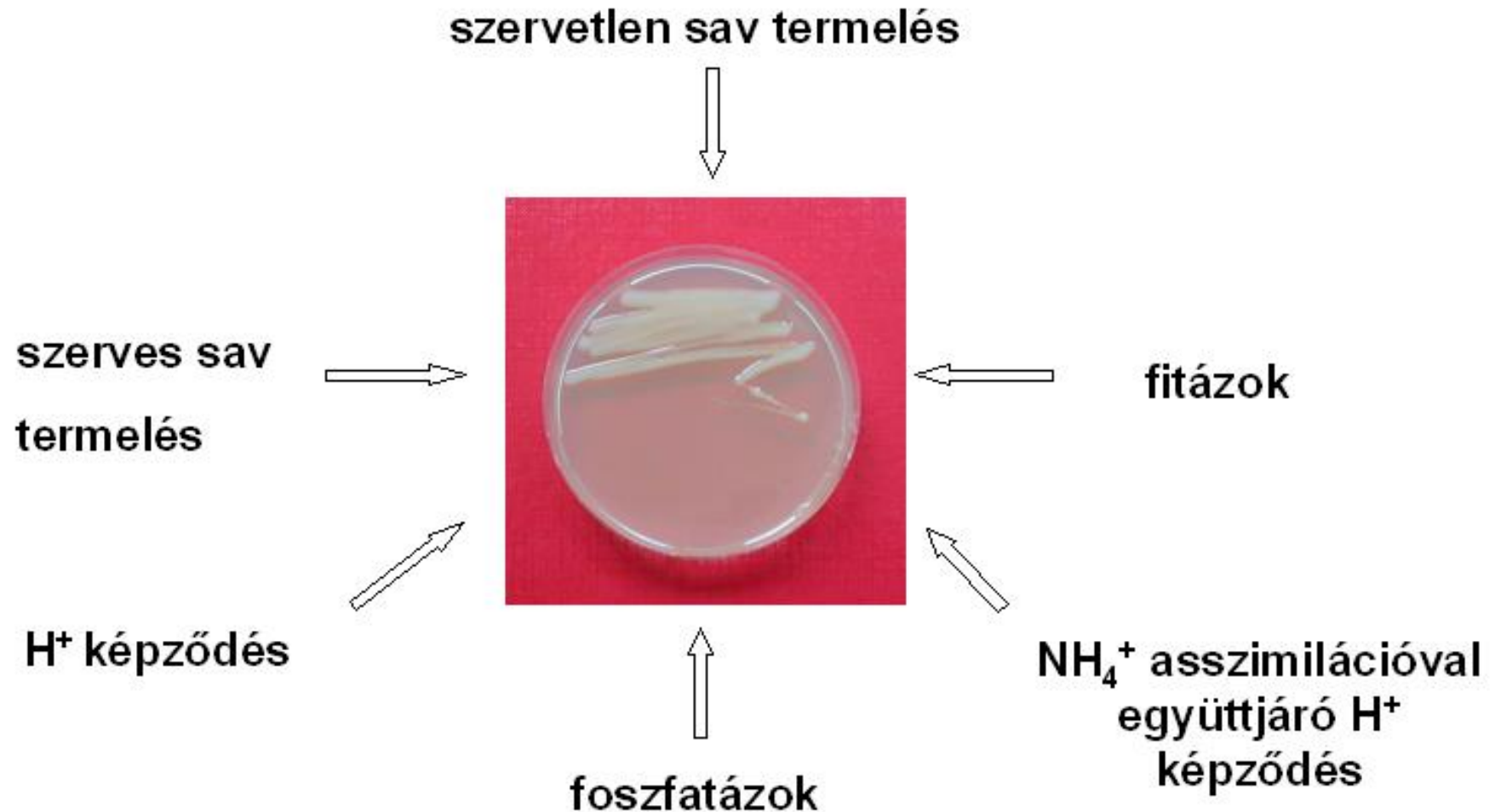


Környezetbarát megoldás!



+ nem vízzoldékony
foszfátot tartalmazó
pl. hulladék

Foszfor mobilizálása mikroorganizmusokkal



2 hetes paradicsomnövényekkel indítottuk a kísérletet



**+ Kontrol
Foszfát tart-ú
tápanyaggal
locsolt**

**- Kontrol
Csak vízzel
locsoltuk**

**Foszfor mobilizáló
baktérium és
csontszén jelenlétében
Csak vízzel locsolva**

**Baktériummnetes
kontrol
csontszén jelenlétében
Csak vízzel locsolva**

2 hét után

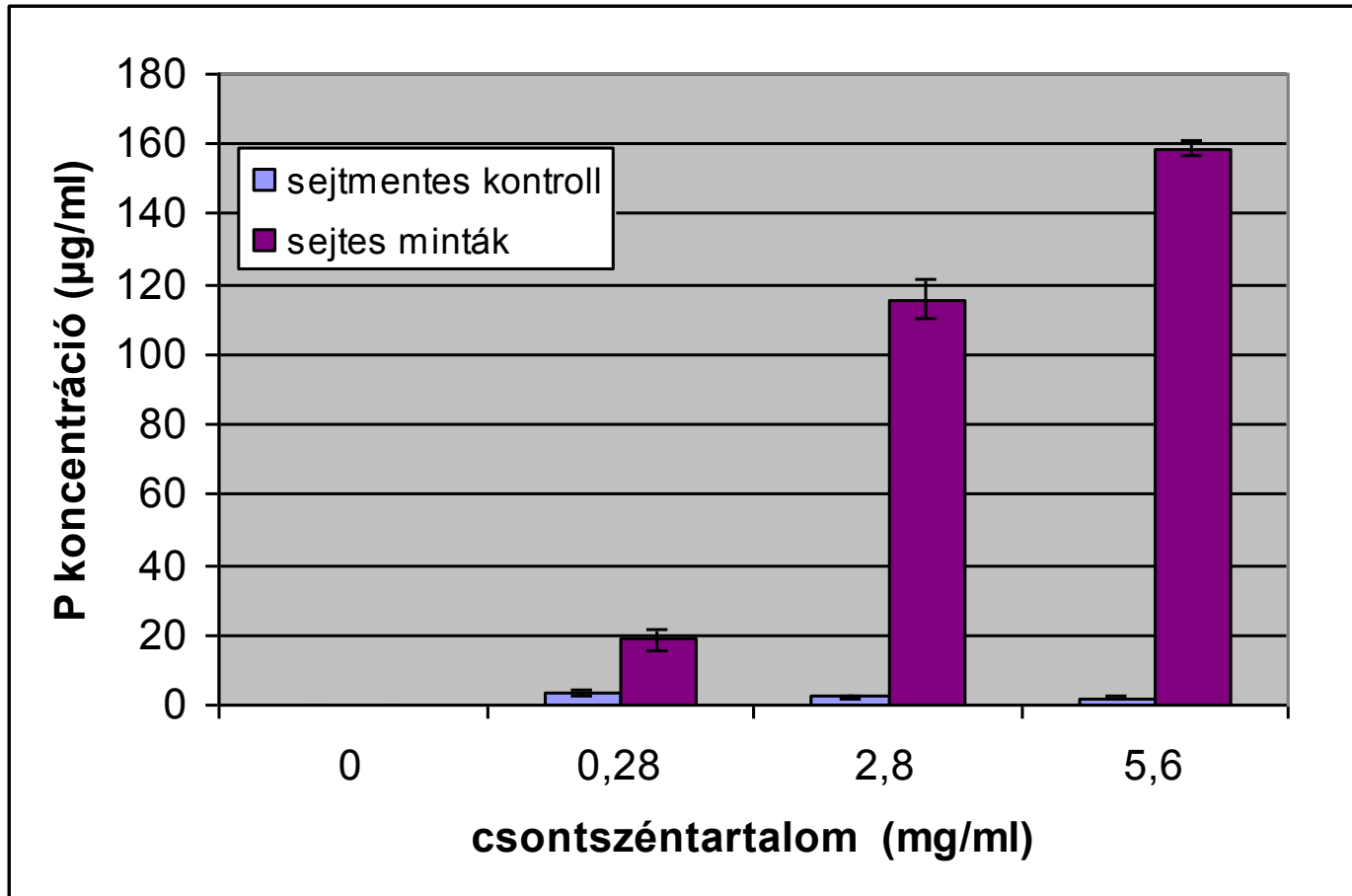
+ Kontrol
Foszfát tart-ú
tápanyaggal
locsolt

Foszfor mobilizáló
baktérium és
csontszén
jelenlétében
Csak vízzel locsolva

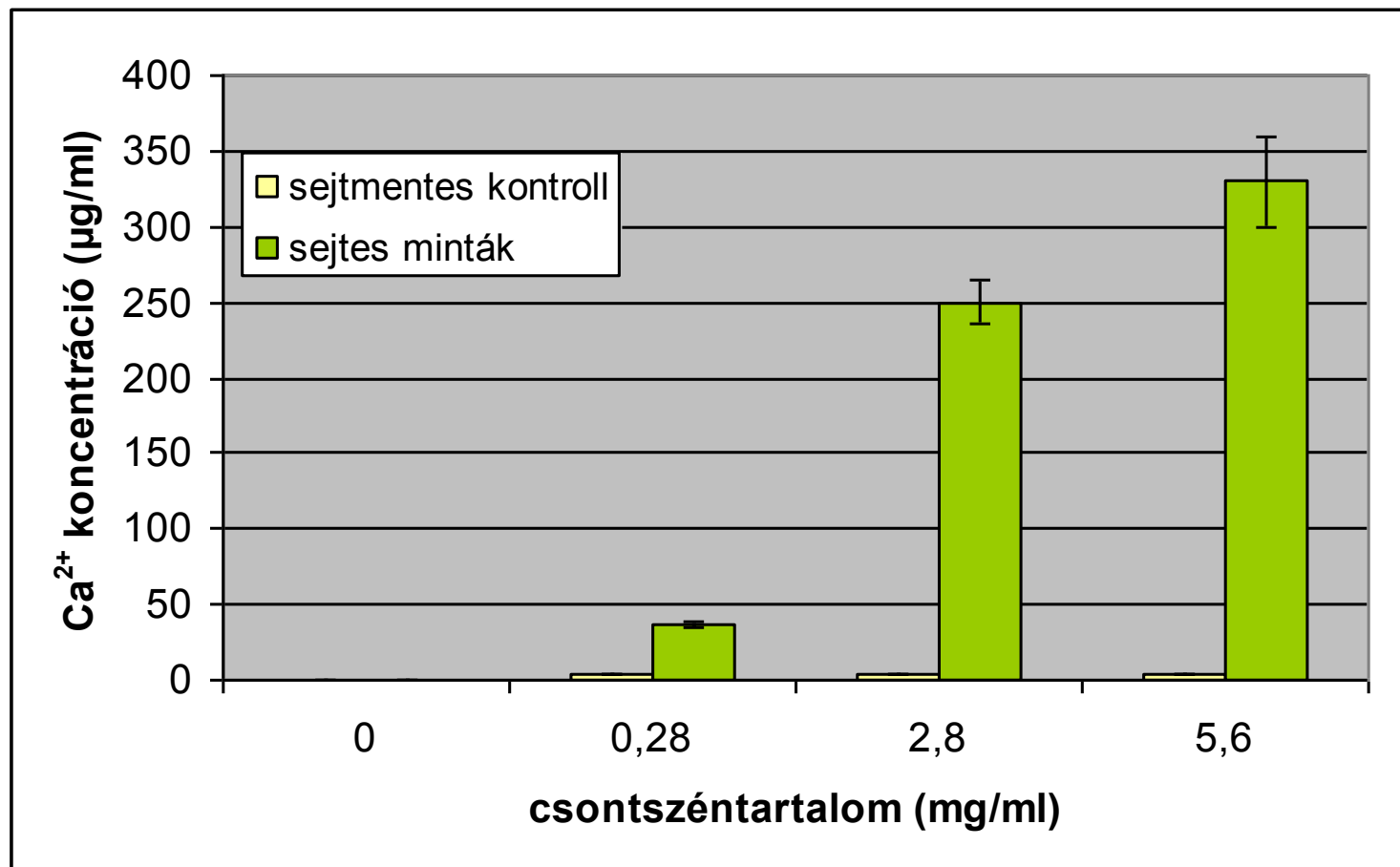
- Kontrol
Csak vízzel
locsoltuk

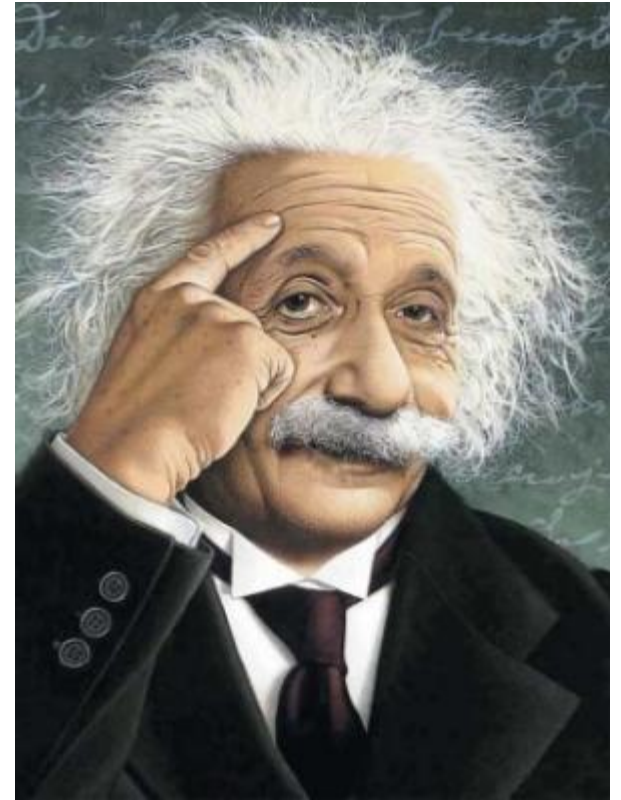
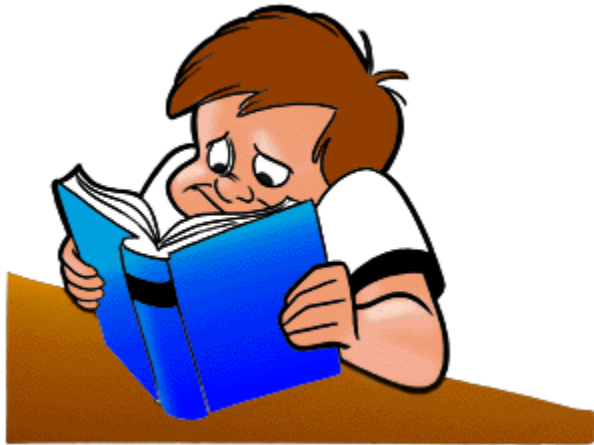
Baktériummentes
kontrol
csontszén
jelenlétében
Csak vízzel
locsolva

Mikrobiális foszformobilizáció csontszénből



Mikrobiális foszformobilizáció csontszénből





Köszönöm a figyelmet!

