

(19) REPUBLIKA SRBIJA

(12) Patentni spis (11) 64153 B1



(51) Int. Cl.

C02F 1/72 (2006.01)

C02F 3/02 (2006.01)

ZAVOD ZA
INTELEKTUALNU SVOJINU
B E O G R A D

(21) Broj prijave:	P-2020/1145
(22) Datum podnošenja prijave:	23.09.2020.
(43) Datum objavljivanja prijave:	31.03.2022.
(45) Datum objavljivanja patenta:	31.05.2023.

(73) Nositac patenta:
**TEHNOLOŠKO-METALURŠKI FAKULTET,
UNIVERZITET U BEOGRADU**
Karnegijeva 4
11120 Beograd, RS

(72) Pronalazači:
MIJIN, Dušan, dr;
SVETOZAREVIĆ, Milica;
ŠEKULJICA, Nataša, dr;
KNEŽEVIĆ-JUGOVIĆ, Zorica, dr;
DAJIĆ, Ana, dr;
MIHAJLOVIĆ, Marina, dr;
JOVANOVIĆ, Mića, dr

(54) Naziv: **NOVI POSTUPAK ZA BIODEGRADACIJU ANTRAHINONSKIH BOJA U KONTINUALNOM MIKROREAKTORSKOM SISTEMU PEROKSIDAZOM IZOLOVANOM IZ POLJOPRIVREDNOG OTPADA**

(57) Apstrakt:

Predmetni pronalazak se odnosi na postupak biodegradacije antrahinonske boje Acid Violet 109 peroksidazom, izolovanom iz poljoprivrednog otpada u kontinualnom mikroreaktorskom sistemu. Postupak se sastoji od ekstrakcije enzima i biodegradacije boje u mikroreaktoru. Koncentracija boje treba da bude do 450 mg/L, enzimski ekstrakt aktivnosti 1 U/mL i vodonik-peroksid koncentracije do 1 mM, da bi se postigao najveći stepen biodegradacije. Na ovaj način dobija se visoko efikasan postupak biodegradacije antrahinonskih boja (~97 %) koji je održiv, ekološki i ekonomski opravdan.

RS 64153 B1

OBLAST TEHNIKE NA KOJU SE PRONALAZAK ODNOŠI

Predmetni pronalazak odnosi se na postupak kojim se tretira otpadna voda u kontinualnom mikroreaktorskom sistemu enzimskim putem. Predmetni pronalazak spada u oblast hemijske tehnologije, a naročito u oblast obrade otpadnih voda.

TEHNIČKI PROBLEM

Voda se koristi u svim životnim aktivnostima i gotovo svim fazama procesa u industriji i napušta sistem opterećena brojnim zagađujućim materijama. Prirodni depoi vode se naglo iscrpljuju i postaju sve vise ugroženi na račun intenzivnog razvoja industrije koja predstavlja neiscrpan izvor otpadne vode. Suočeni sa sve većom potražnjom, otpadne vode uzimaju maha kao pouzdani, alternativni izvor vode, pomerajući paradigmu upravljanja otpadnim vodama iz „tretman i odlaganje“ u „ponovna upotreba, recikliranje i oporavak resursa“. Shodno tome, nameće se potreba da se voda iskorišćena u industrijskom procesu prevede u stepen čistoće regulisan pravilnikom, tačnije da se granične vrednosti emisije zagađujućih materija u vodi nalaze u dozvoljenim granicama. Vrste zagađujućih materija koje se mogu nad u otpadnim vodama su različite, međutim sintetičke boje koje se koriste u svakom proizvodnom procesu izazivaju najveću zabrinutost jer su lako vidljive za oko i izuzetno su rezistentne na degradaciju. Evidentno je da obojene otpadne vode predstavljaju ozbiljan problem za životnu sredinu i čoveka i da je neophodno razvijati i usvojiti izvesne tehnologije koje će smanjiti toksičnost efluenta na dozvoljene vrednosti. U tom cilju, razvijeni su različiti postupci za uklanjanje boja iz otpadnih voda fizičkim, hemijskim i biološkim metodama. Glavni nedostaci fizičkih i hemijskih metoda su veliki utrošak reagenasa, mala efikasnost, formiranje proizvoda koji su isto, a u pojedinim slučajevima štetniji i toksičniji od polaznih otpadnih voda ili čvrst otpad koji je potrebno deponovati. Biotehnologija je visoko pozicionirana i u oblasti tretmana otpadnih voda i obuhvata primenu mikroorganizama i enzima poreklom iz mikroorganizama i biljaka. Mikroorganizmi i njihovi enzimi su uključeni direktno u lanac razgradnje organskog materijala u otpadnim vodama i smatraju se univerzalnim katalizatorima nosiocima ekoloških transformacija. Korišćenje mikroorganizama za bilo koje industrijske procese zahteva vreme i resurse za njihovo gajenje i proizvodnju biomase. Zapravo, mikroorganizmi sintetišu enzime koji učestvuju u reakciji, a njihovo izlučivanje vremenom opada. Često se dešava da su reakcije

katalizovane mikroorganizmima manje efikasne jer sa povećanjem koncentracije ispitivanog zagađivača, dolazi do inhibicije rasta mikroorganizma. Dakle, glavni nedostatak korišćenja mikroorganizama je izuzetno teška kontrola rasta i nastanak velike količine aktivnog mulja koji zahteva adekvatan tretman i skladištenje. Enzimski tretman prevazilazi ove probleme. Enzimi poreklom iz različitih izvora kao što su mikroorganizmi i biljke se mogu koristiti u ovom postupku. Istovremeno kao glavni ograničavajući faktori enzimskih metoda su visoka cena ukoliko se koriste komercijalni enzimski preparati njihova nestabilnost u sistemu. Navedeni ograničavajući faktori se mogu prevazići razvojem odgovarajuće tehnike imobilizacije pri čemu se povećava njihova stabilnost i ponovna upotreba, a cena koštanja postupka se značajno smanjuje. Enzimi su veoma efikasan biološki alat za uklanjanje sintetičkih boja iz otpadnih voda, ali samo u slučaju kada je snažan inhibitorni uticaj boja na enzim eliminisan, što dalje znači da je izuzetno važno optimizovati sve parametre enzimski katalizovanog procesa uklanjanja sintetičkih boja.

Tehnički problem koji se rešava predmetnim pronalaskom je pronađenje novog enzimskog postupka za biodegradaciju antrahinonskih boja visoke koncentracije u obojenim otpadnim vodama, u kome se obezbeđuje veći procenat obezbojavanja za kraći vremenski period i korišćenje alternativnih, jeftinih i ekološki prihvatljivih izvora enzima. Postupak se izvodi u kontinualnom mikroreaktorskom sistemu.

STANJE TEHNIKE

Sintetičke boje predstavljaju veliki hazard za životnu sredinu i čoveka. Predstavljaju grupu jedinjenja koja su veoma stabilna pa ukoliko se ispuštaju u okolne vodotokove mogu se zadržati dug vremenski period gde ispoljavaju akutne i hronične efekte na vodene organizme, sprečavaju proces fotosinteze i rast i razvoj vodenih organizama. Zahvaljujući svojoj postojanosti, otpornosti na degradaciju i širokom spektru boja koje su dostupne i mogu se nad u vodenim tokovima i dalje ne postoji univerzalno i efikasno rešenje za ovaj globalni ekološki problem. Veoma često je potrebna kombinacija različitih tretmana a isto tako često se ni na taj način ne postižu zadovoljavajući rezultati.

Tradicionalne metode prečišćavanja koje se najčešće primenjuju su fizičke metode, koje podrazumevaju upotrebu fizičkih sila (gravitacija, elektrostatičko privlačenje, fizičke barijere) za uklanjanje zagađujućih materija iz otpadnih voda (Woodard & Curran, Industrial waste treatment handbook, 2nd ed., Butterworth Heinemann, United Kingdom, 2011). Najčešća fizička metoda za uklanjanje sintetičkih boja koja se koristi u industrijskim postrojenjima za prečišćavanje voda je adsorpcija. Adsorpcija je efikasan postupak uklanjanja sintetičkih boja i podrazumeva pravilan izbor adsorbenta na koji se boja vezuje u visokom procentu i ima mogućnost regeneracije. Tako je na primer

razvijen kontinualni sistemi za prečišćavanje otpadnih voda bazirani na adsorpciji boje od strane M.E. Gonzalez-Lopez i saradnika (M.E. Gonzalez-Lopez, J.R.R. Ortiz, D. Rodrigue, A.A.P. Fonseca, Highly porous lignin composites for dye removal in batch and continuous-flow systems, Materials Letters, 2020), kao i F. Ferrero (F. Ferrero, Dye removal from aqueous solution using coal fly ash for continuous flow adsorption, Clean Technology and Environmental Policy, 2015). Kao adsorbent su koristili polimerni lignin kompozit za uklanjanje tiazinske boje. Postignut stepen obezbojavanja je 77 % za vreme od 5 h. F. Ferrero je koristio leteći pepeo za adsorpciju antrahinonske boje, monoazo i tiazinske boje. U kontinualnom sistemu su postigli 58 - 99 % adsorpcije boje tokom 30 - 55min i koncentracije boja 5 - 20 mg/L. Međutim, glavni nedostatak ove metode je otežano regenerisanje adsorbenta, visoka cena, mala efikasnost i velike količine aktivnog mulja (T. Robinson, G. McMullan, R. Marchant, P. Nigam, Remediation of dyes in textile effluents: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative, Bioresource Technology, 2001).

Pored fizičkih metoda, razvijene su i hemijske metode tretmana sintetičkih boja iz otpadnih voda koje se zasnivaju na interakciji zagađujućih materija i hemikalija koje se dodaju u otpadne vode sa ciljem izdvajanja štetnih materija ili neutralizacije štetnih efekata koje one u njoj izazivaju. Hemijske metode se uglavnom primenjuju u kombinaciji sa fizičkim metodama i obuhvataju neutralizaciju, precipitaciju, dezinfekciju, oksidaciju/redukciju (S. L. Prabu, T. N. K. Suriyaprakash, J. A. Kumar, Wastewater Treatment Technologies: A review, Pharma Times 43 2011). Patent US6319412B1 (C. Reyna, Wastewater treatment process, 2001) odnosi se na prečišćavanje otpadnih voda hemijskim tretmanom u kontinualnim i šaržnim sistemima. Patent obuhvata dodavanje smeše magnezijum-hidroksida, aluminijum-hidroksida, kalcijum-karbonata, magnezijum-ortofosfata, gvožđe-sulfata, natrijum-hidrogenkarbonata i aktivnog uglja. Aktivnim ugljem uklanja se boja, a ostale komponente smeše se koriste za taloženje neorganskih materija. Nakon hemijskog tretmana, obavezan korak je uklanjanje sekundarnih proizvoda filtracijom i sl.

A. Dajić i saradnici su ispitivali uklanjanje boja hemijskim tretmanom u kontinualnom mikroreaktorskom sistemu. Koristili su natrijum-hipohlorit u cilju uklanjanje azo boja. Postignut je 70-90 % stepen obezbojavanja pri koncentraciji boja 80 mg/L (A. Dajić, M. Mihajlović, S. Mandić-Rajčević, D. Mijin, M. Jovanović, J. Jovanović, Improvement of the Textile Industry Wastewater Decolorization Process Using Capillary Microreactor Technology, International Journal of Environmental Research, 2019).

U postupcima hemijskog tretmana otpadnih voda nastaju i sporedni proizvodi, najčešće u formi čvrstog otpada. Iz tog razloga prečišćena voda podvrgava se postupcima u

kojima se ovaj novonastali otpadni materijal, koji je isto štetan, izdvaja i dalje tretira zahtevnim metodama ili odlaže na deponije.

Uzimajući u obzir prednosti biotehnologije, poslednjih nekoliko decenija istraživači su naročito fokusirani na izučavanje svojstava enzima mikrobnog i biljnog porekla i mogućnosti primene u uklanjanju sintetičkih boja. Enzimski tretmani obojenih otpadnih voda privlače sve više pažnje iz razloga što su jeftiniji, ekološki prihvatljiviji i efikasniji u poređenju sa tradicionalnim metodama. Iako se boje karakterišu velikom raznolikošću u strukturi, do sada je poznato samo nekoliko enzima koji mogu da ih razgrađuju. Zajednička odlika ovih biokatalizatora je da su to redoks-aktivni biokatalizatori koji imaju svojstvo široke specifičnosti prema supstratu. Enzimi koji katalizuju uklanjanje sintetičkih boja su: azo-reduktaze, lakaze, lignin-peroksidaze, polifenol-oksidaze, peroksidaze iz rena i soje. Mikroorganizmi producenti enzima koji se koriste u uklanjanju boja imaju ograničenu primenu. Enzimska degradacija je metod izbora kada je u pitanju uklanjanje boja koje inhibiraju rast mikroorganizama (Šekuljica, N., Doktorska disertacija, Beograd, 2016).

Obezbojavanje obojene otpadne vode iz tekstilne industrije, industrije boja i proizvodnje papira korišćenjem mikroorganizama je opisano u patentnu W02006059348A1 (C. R. Kumar, D. T. S. Ticlo, A novel process for decolorization of colored effluents, 2006). Korišćene su gljive izazivači bele truleži gde nakon pripreme medijuma potrebno je 6-12 dana za proizvodnju fungalne biomase. Zatim sledi prečišćavanje biomase vakuum filtracijom ili centrifugiranjem, pa imobilizacija gljivica.

U radu N. Šekuljice i saradnika, korišćena je peroksidaza iz rena kao komercijalni enzimski preparat ali i kao neprečišćen enzim izolovan iz sirovog ekstrakta korena rena za uklanjanje antrahinonske boje. Postigli su 94 % obezbojavanje u toku 15 min. Koncentracija boje je bila 30 mg/L (N.Ž. Šekuljica, N.Ž. Prlainović, A.B. Stefanović, M.G. Žuža, D.Z. Čičkarić, D.Ž. Mijin, Z. K. Jugović, Decolorization of anthraquinonic dyes from textile effluent using horseradish peroxidase: optimization and kinetic study. The Scientific World Journal, 2015)

Glavno ograničenje za primenu enzima u procesima industrijskih razmera su kao što je navedeno njihova visoka cena i nestabilnost. Međutim, ova dva nedostatka je moguće prevazići: 1) korišćenjem enzimskih preparata manje čistoće i 2) razvojem imobilisanih enzimskih sistema koji omogućavaju izvođenje procesa u kontinualnom režimu. Poljoprivredni otpad je neiscrpan izvor brojnih korisnih jedinjenja, a među njima su i enzimi. Izolovanje enzima iz poljoprivrednog otpada jednostavnim metodama ekstrakcije i primena neprečišćenih enzimskih preparata u tretmanu obojenih otpadnih voda je tema istraživanja brojnih istraživačkih grupa. Zatim, kontinualan režim rada u

industrijskim postrojenjima koja obraduju velike zapremine otpadnih voda je prihvativije rešenje od šaržnog režima. Takođe, bolja efikasnost procesa postiže se tretmanom u posebnom kontinualnom mikroreaktorskom sistemu čije karakteristike obezbeđuju poboljšan prenos mase i energije. Mikroreaktori predstavljaju kontinualne reaktore čiji su prečnici manji od 1 mm. Male dimenzije mikroreaktora osiguravaju višestruke prednosti u poređenju sa klasičnim makroreaktorskim sistemima. Zbog malog prečnika kanala strujanje fluida je laminarno, ostvaruje se izrazito veliki kontakt međufazne površine i zapremine reaktora, zbog čega je prenos mase i topote efikasniji, a količina i broj otpadnih procesnih struja znatno smanjena. Primena mikroreaktora omogućava preciznu regulaciju procesa te upotrebu malih količina reaktanata i katalizatora. Upotrebom mikroreaktora prenos u veće razmere znatno je pojednostavljen, jer se izvodi povezivanjem procesnih jedinica, čime su uklonjeni visoki troškovi projektovanja i skraćeno je vreme potrebno za prenošenje iz laboratorijskih razmara na industrijsku primenu (A. Šalić, B. Želić, Synergy of microtechnology and biotechnology: microreactors as an effective tool for biotransformation processes, Food Technology and Biotechnology, 2018).

Predmetni postupak poboljšava stepen obezbojavanja, uz visoku ekonomičnost, poštujući sve principe zelene hemije pri čemu nastaju proizvodi koji su manje štetni i toksični. Mikroreaktorski sistem olakšava kontrolu i upravljanje procesa kao i homogenost reakcione smeše i konzistentni stepen obezbojavanja.

IZLAGANJE SUŠTINA PRONALASKA

U ovom pronalasku, postupak biodegradacije obojenog efluenta, konkretno biodegradacije antrahinonske boje Acid Violet 109, enzimskim putem u kontinualnom sistemu, obuhvata sledeće korake:

- 1) Vodena ekstrakcija peroksidaze iz poljoprivrednog otpada: krompirove ljuške ili sojinih ljuspica,
- 2) Biodegradacija antrahinonske boje u mikroreaktoru pomoću sirovog ekstrakta enzima.

Postupak prema prikazanom pronalasku rešava gore definisani problem korišćenjem peroksidaze iz poljoprivrednog otpada i njeno minimalno prečišćavanje. S ovim, nađeno je održivo rešenje kao izvor enzima.

Mikroreaktor kao kontinualni sistem doprinosi intenzivnjem mešanju i boljem kontaktu reaktanata, što doprinosi većoj efikasnosti reakcije i povećanju stepena biodegradacije. Istovremeno, skraćuje se reakciono vreme za željeni stepen biodegradacije. Sve

prednosti mikroreaktora dozvoljavaju da koncentracija boje bude znatno veća u odnosu na šaržni sistem, a pri tom da ne dolazi do inhibitorskog efekta.

Prednost pronalaska je jednostavna izolacija enzima iz izvora koji su lako dostupni i ekonomični. U cilju povećanja ekonomičnosti procesa kroz ponovnu upotrebu enzima česta je primena postupka imobilizacije enzima. U takvom jednom postupku mora se koristiti prečišćeni enzim kako ostale komponente neprečišćenog rastvora ne bi ometale proces imobilizacije. To znači da bi imobilizacija enzima dodatno otežala i poskupela proces. Ovim pronalaskom omogućava se upotreba jednog tipa otpada za tretman drugog. Zahtevni koraci prečišćavanja i imobilizacije enzima nisu prisutni, jer sirov ekstrakt enzima ne sadrži komponente koje nisu bezbedne, a imobilizacija se ne vrši.

OPISSLIKA PRONALASKA

Slika 1 predstavlja šematski prikaz kontinualnog mikroreaktorskog sistema

Slika 2 predstavlja uticaj koncentracije vodonik-peroksida na stepen biodegradacije u zavisnosti od vremena zadržavanja

Slika 3 predstavlja uticaj koncentracije boje na stepen biodegradacije u zavisnosti od vremena zadržavanja.

DETAUAN OPIS PRONALASKA

Postupak predmetnog pronalaska sastoјi se iz dve osnovne faze: priprema enzima i izvođenje reakcije.

Enzim je poželjno izolovati iz otpadnog materijala kao što su krompirove ljske i sojinih ljspica, kore pomorandže i limuna, ali može se izolovati i iz: rena, brokolija, paradajza, smokve, kivija i papaje.

Pripremu enzima čini vlažno mlevenje otpadnog materijala, ekstrakcija destilovanom vodom u odnosu 1:4 tokom 5 h. Nakon ekstrakcije, smeša se filtrira gazom i filtrat se zagreva 3 min na 65 . Dobijeni rastvor je sirov enzimski ekstrakt.

Reakcija se izvodi u kontinualnom, mikroreaktorskom sistemu prikazanom na slici 1. Mikroreaktor se sastoјi od tri ulazne struje koje pomoću klipne pumpe dospevaju do reaktora. Pre ulaza u sam reaktor postavljena su dva miksera, gde se u prvom mešaju rastvor boje (pumpa A) i enzima (pumpa C), a u drugi mikser ulazi vodonik-peroksid (pumpa D). Reakciona smeša zatim prolazi kroz mikroreaktor u kome se odvija biodegradacija.

Za optimalan stepen obezbojavanja, poželjno je koristiti enzimski ekstrakt aktivnosti 0,1 - 2 U/mL, povoljnije 0,6 - 1 U/mL, najpovoljnije 0,8 U/mL za peroksidazu iz krompirove ljske. Reakcija se odvija pri pH 3 - 4, najpovoljnije pH 4. Poželjno je da koncentracija vodonik-peroksida bude u opsegu 0,04 - 10 mM, povoljnije 0,2 - 2 mM, a najpovoljnije 1 mM. Imajući u vidu da je sistem konstruisan sa tri ulazne struje, dolazi do razređivanje boje, pa inicijalni rastvor boje može biti sa koncentracijom do 450 mg/L bez inhibitorskog uticaja na enzim. Poželjno je da se kao mikroreaktor koriste PTFE kapilarna creva dužine 3 - 30 m, povoljnije 5 - 15 m, a najpovoljnije 6 m i prečnika 0,18 - 0,8 mm, povoljnije 0,25 - 0,5 mm, a najpovoljnije 0,5 mm. Temperatura reakcije je poželjno da bude 15 - 60, povoljnije 20 - 50, a najpovoljnije 25. Pod optimalnim uslovima, postignut je stepen obezbojavanja 74 %, za vreme od 2,3 min.

Korišćenjem peroksidaze iz sojine ljspice postiže se veći stepen obezbojavanja, s tim da inicijalni rastvor boje može biti 10 - 200 mg/L, povoljnije 30 - 120 mg/L, a najpovoljnije 30 mg/L. Povećavanjem koncentracije boje dolazi do smanjenje efikasnosti reakcije. Poželjno je da koncentracija enzima bude 0,1 - 2 U/mL, povoljnije 0,1 - 0,8, a najpovoljnije 0,2 U/mL. Poželjno je da koncentracija vodonik-peroksida bude 0,04 - 10 mM, povoljnije 0,1 - 0,5 mM, najpovoljnije 0,2 mM. Poželjno je i ovde da se kao mikroreaktor koriste PTFE kapilarna creva dužine 3 - 30 m, povoljnije 5 - 15 m, a najpovoljnije 6 m i prečnika 0,18 - 0,8 mm, povoljnije 0,25 - 0,5 mm, a najpovoljnije 0,5 mm. Temperatura reakcije je poželjno da bude 15 - 60, povoljnije 20 - 50, a najpovoljnije 25. Pod optimalnim uslovima postiže se 97% biodegradacije za 2 min.

Opis pronalaska je dat sa namerom da objasni koncept pronalaska. Pronalazak može da se menja u detaljima unutar područja patentnog zahteva. Na primer, umesto sojine ljspice i krompirove ljske može se uzeti ren kao izvor peroksidaze. Dalje, mogu da se koriste dve ulazne struje.

Primeri

Primer 1.

Biodegradacija Acid Violet 109 peroksidazom iz krompirove ljske u kontinualnom mikroreaktorskom sistemu

Vlažno mlevenje otpadnog biomaterijala- krompirove ljske se odvija u homogenizatoru, 5 min. Nakon toga, vrši se ekstrakcija destilovanom vodom u odnosu 1:4, 5h. Smeša se odvaja gazom, a filtrat se zagreva na 65,3 min. Smeša se hlađi u ledenom kupatilu. Meri se aktivnost enzima sirovog ekstrakta i priprema se rastvor enzima pH 4 (acetatni pufer 0,05 mM), aktivnosti 0,8 U/mL. Pripremaju se rastvori vodonik-peroksida koncentracije 0,1 mM, 0,2 mM, 1 mM, 2 mM. Pripremljeni rastvor boje je koncentracije 90 mg/L, pH 4.

Biodegradacija se vrši u mikroreaktoru. Mikroreaktor je kapilarno crevo izgrađeno od PTFE materijala, dužine 6 m i unutrašnjeg prečnika 0,5 mm. Stepen biodegradacije se prati u opsegu vremena zadržavanja 0-3 min (Slika 2).

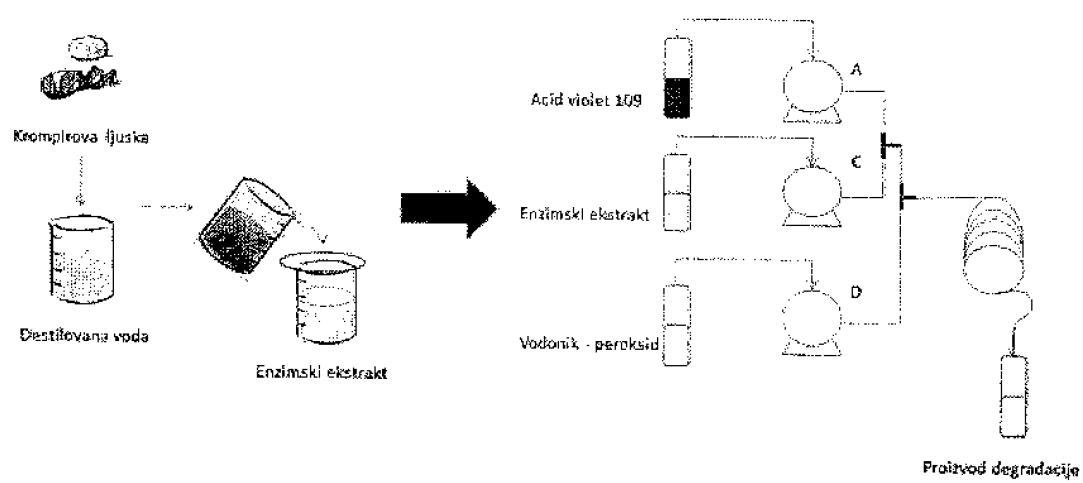
Primer 2.

Biodegradacija Acid Violet 109 peroksidazom iz sojinih ljuspica u kontinualnom mikroreaktorskom sistemu

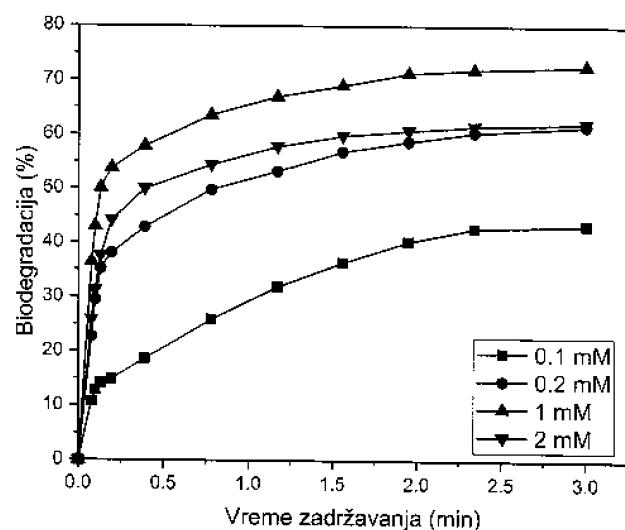
Postupak je isti kao u Primeru 1, s tim da se kao izvor peroksidaze koriste sojine ljuspice. Rastvor enzima je aktivnosti 0,2 U/mL, pH 4, koncentracija vodonik-peroksida 0,2 mM, a koncentracija boje je varirana u opsegu 30-360 mg/L. Stepen biodegradacije se prati u opsegu vremena zadržavanja 0-4 min (Slika 3).

PATENTNI ZAHTEVI

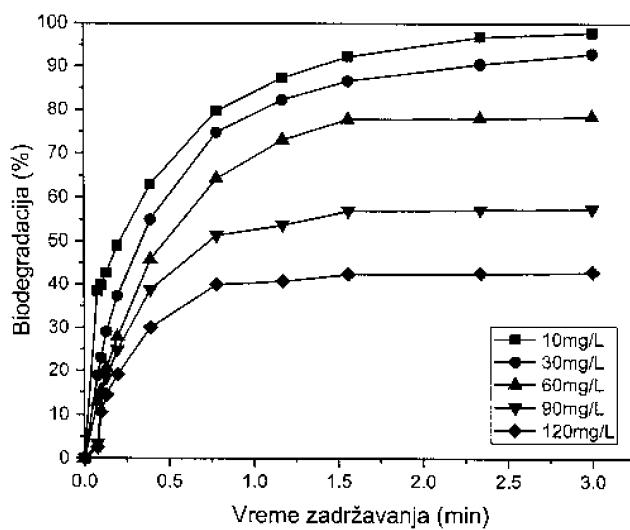
1. Postupak za biodegradaciju antrahinonskih boja na temperaturi od 25°C u cevnom mikroreaktoru izgrađen od PTFE dužinom u opsegu 3,0 -15 m i prečnikom 0,18 - 0,8 mm i koji se sastoji od struje enzima i struje boje koje se mešaju u prvom mikseru, a u drugom mikseru se mešaju sa strujom vodonik-peroksida, gde se biodegradacija vrši sirovom peroksidazom ekstrahovanom vodom iz poljoprivrednog otpada krompirove ljeske i sojinih ljeuspica i koja se koristi bez imobilizacije u koncentraciji 0,1 - 2,0 U/mL, za peroksidazu iz krompirove ljeske i 0,2 U/mL za peroksidazu iz sojinih ljeuspica, dok koncentracija vodonik-peroksida je u opsegu 0,04 - 10,0 mM, a inicijalna koncentracija boje do 450 mg/L, za peroksidazu iz krompirovih ljeski i 30 mg/L za peroksidazu iz sojinih ljeuspica.



Slika 1



Slika 2



Slika 3