

Erforschung des Mykoremediations-Potenzials von Pilzsubstraten als Biosorbentien zur Dekontaminierung von Schwermetallen aus Industrieabwasser

Investigation of the mycoremediation potential of fungal substrates as bio-sorbents for the decontamination of heavy metals from industrial wastewater

Projektleiterin:**Project leader:**

Natalie Rangno

Projektbearbeiter:**In-charge:**

Dr. Christiane Swaboda

Fördermittelgeber:**Co-funded by:**

BMWE

Projekträger:**Project management:**

EURONORM GmbH

Förderprogramm:**Funding programme:**

INNO-KOM

Förderkennzeichen:**Funding code:**

49VF220030

Laufzeit:**Term:**

01.01.2023 - 30.06.2025

ZIELSTELLUNG

Ziel von MykoMet war die Erforschung des Mykoremediationspotenzials von Pilzsubstraten als Biosorbentien zur Dekontaminierung von Schwermetallen in Industrieabwässern. Zudem sollten die Kenntnisse über Mechanismen und Prozesse der Mykoremediation erweitert, spezifische Marker und Parameter erforscht, Applikationen im Labor untersucht und neue Konzepte für praxisorientierte Forschungsprojekte abgeleitet werden.

VORGEHENSWEISE

Zu Projektbeginn wurden relevante Daten zur Schwermetallbelastung von Industrieabwässern in Deutschland auf Basis von Literaturrecherchen und des Austauschs mit Industriebetrieben erhoben. Zudem wurden kommunale Indirekteinleiter-Grenzwerte sowie branchenspezifische Anforderungen gemäß Abwasserverordnung (AbwV) ermittelt und zusammengeführt. Auf dieser Grundlage wurden 19 Industrieabwasserproben und 4 Flusswasserproben aus Sachsen gewonnen und untersucht. Zudem wurden künstliche Stammlösungen mit einzelnen Schwermetallen sowie Mischungen aus bis zu 14 Schwermetallen in unterschiedlichen Konzentrationen hergestellt.

Mit verschiedenen Pilzsubstraten und 169 Basidiomyceten-Stämmen erfolgten Wachs-

OBJECTIVE

The aim of MykoMet was to investigate the mycoremediation potential of fungal substrates as biosorbents for the decontamination of heavy metals in industrial wastewater. Further-more, the project sought to expand knowledge of the mechanisms and processes involved in mycoremediation, investigate specific markers and parameters, examine applications in the laboratory, and derive new concepts for practice-oriented research projects.

APPROACH

At the start of the project, relevant data on heavy metal contamination in industrial wastewater in Germany was collected based on literature reviews and discussions with industrial companies. Furthermore, municipal discharge limits for indirect dischargers and sector-specific requirements in accordance with the Wastewater Ordinance (AbwV) were identified and collated. On this basis, 19 industrial wastewater samples and 4 river water samples from Saxony were collected and analysed. Furthermore, artificial stock solutions containing individual heavy metals as well as mixtures of up to 14 heavy metals in varying concentrations were prepared.

Growth, tolerance and sorption tests were

Gefördert durch:



Bundesministerium
für Wirtschaft
und Energie

aufgrund eines Beschlusses
des Deutschen Bundestages

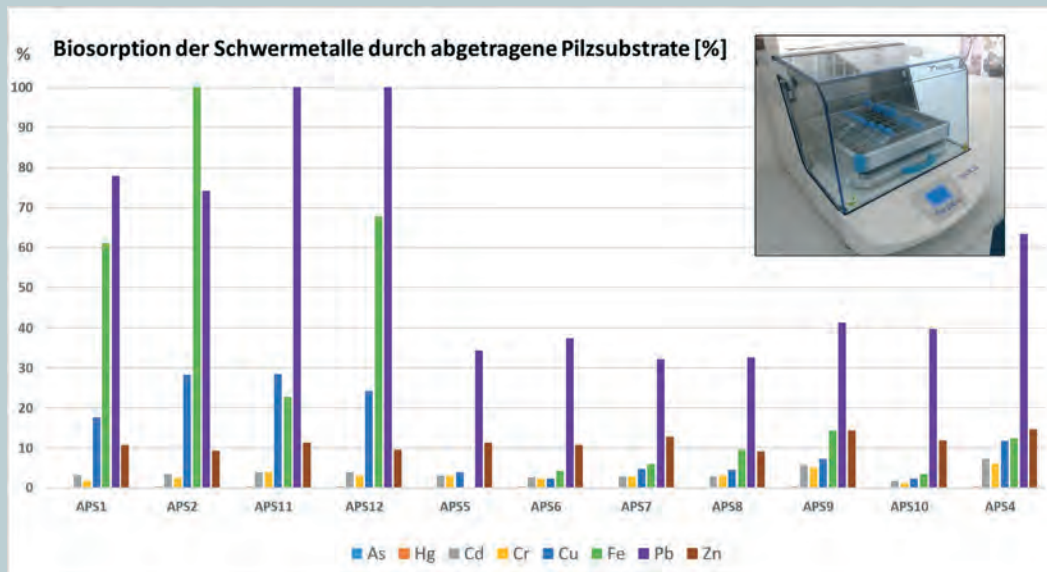


Abb. 1: Durch 11 verschiedene abgetragene Pilzsubstrate (APS) nach 24 h aufgenommene Menge [%] an acht Schwermetallen; kleines Bild: Laborschüttler (dort Inkubation der wässrigen Pilz-Schwermetall-Mischung bei 22 °C und 150 rpm).

Fig. 1: Amount [%] of eight heavy metals absorbed by 11 different spent mushroom substrates (APS) after 24 hours; small image: laboratory shaker (incubation of the aqueous mushroom-heavy metal mixture at 22 °C and 150 rpm).

tums-, Toleranz- sowie Sorptionsversuche. Die genetische Identifizierung erfolgte über rDNA-ITS-Analysen. Die Abwasser- und Pilzproben wurden physikalisch, chemisch und biologisch charakterisiert. Insgesamt wurden 73 Pilzsubstrate, 10 Rohstoffe, 23 Wasserproben und 12 Schwermetall-Lösungen untersucht.

ERGEBNISSE

Die Recherchen zeigten, dass Schwermetalle hauptsächlich aus 12 Quellen in Abwassersysteme gelangen, darunter Lederindustrie, Verkehr, Kläranlagen, Landwirtschaft sowie Bergaltlasten. Die Analyse der Abwasserproben bestätigte, dass einzelne Industrieproben deutliche Hotspots aufweisen, insbesondere für Cr in der Lederindustrie. Kläranlagenproben enthielten vor allem einzelne Metalle wie Zn und Al in relevanten Konzentrationen. Die höchste Zahl koloniebildender Einheiten (KBE) trat bei pH-Werten zwischen 7 und 8

carried out using various fungal substrates and 169 Basidiomycete strains. Genetic identification was performed via rDNA-ITS analyses. The wastewater and fungal samples were characterised physically, chemically and biologically. In total, 73 fungal substrates, 10 raw materials, 23 water samples and 12 heavy metal solutions were analysed.

RESULTS

The research showed that heavy metals enter wastewater systems mainly from 12 sources, including the leather industry, transport, sewage treatment plants, agriculture and historical mining contamination. Analysis of the wastewater samples confirmed that individual industrial samples exhibited significant hotspots, particularly for chromium (Cr) in the leather industry. Samples from sewage treatment plants mainly contained individual metals such as zinc (Zn) and aluminium (Al) in relevant concentrations. The highest number

auf, während extreme pH-Werte ($\leq 3,4$ bzw. $\geq 11,9$) zu keimfreien Proben führten. Abwasserproben aus der Lederindustrie wiesen im Vergleich zu denen aus Kläranlagen eine sehr geringere Keimbelastung auf.

Die Ergebnisse zeigen, dass die untersuchten Pilzsubstrate, insbesondere *Agaricus sp.* und *Pleurotus sp.*, zu der Entfernung von Schwermetallen (Hg, Fe, Pb, Cr, Cd) aus Abwässern beitragen können. Dies erfolgt durch Biosorption, überwiegend über Adsorption an die Zellwandkomponenten Chitin und Glucane, an Cellulose und Proteine der Pilzsubstrate oder durch reversible Adsorptionsvorgänge. Bei sauren Bedingungen kann jedoch gleichzeitig eine Freisetzung von Fe, Al und Zn aus der Pilzbiomasse auftreten. Solche Milieus sind charakteristisch für Abwässer aus Lederindustrie oder Bergbau. Die höchsten Absorptionsraten von Cu, Cr und Ni wurde bei einem pH-Wert von 2 bis 4, von Fe und Co bei einem pH-Wert von 7 beobachtet. Frische Pilzsubstrate absorbierten deutlich mehr als abgetragene oder getrocknete Substrate. Die Sorptionsleistung war stark abhängig von pH-Wert und Zusammensetzung der Substrate sowie von der Pilzart und dessen Zustand; die Keimbelastung spielte eine untergeordnete Rolle.

Die Wachstumsversuche ergaben, dass Pilze aus den Ordnungen *Boletales* und *Polyporales* besonders schwermetalltolerant sind. Der Pilz *Fomitopsis sp.* zeigte eine hohe Toleranz (bis zu 120 mg/l) gegenüber Cu, Mg und Zn, während die Arten der Gattung *Pleurotus* deutlich geringere Toleranzen (bis zu 15 mg/l) aufwiesen. Speziell entwickelte, hanfbasierte Substrate mit fünf schwer-

of colony-forming units (CFU) occurred at pH values between 7 and 8, whilst extreme pH values (≤ 3.4 or ≥ 11.9) resulted in sterile samples. Wastewater samples from the leather industry exhibited a much lower bacterial load compared to those from sewage treatment plants.

The results show that the fungal substrates studied, in particular *Agaricus sp.* and *Pleurotus sp.*, can contribute to the removal of heavy metals (Hg, Fe, Pb, Cr, Cd) from wastewater. This occurs via biosorption, predominantly through absorption onto the cell wall components chitin and glucans, as well as cellulose and proteins in the fungal substrates – or through reversible adsorption processes. Under acidic conditions, however, the release of Fe, Al and Zn from the fungal biomass may occur simultaneously. Such environments are characteristic of wastewater from the leather industry or mining. The highest absorption rates for Cu, Cr and Ni were observed at a pH of 2 to 4, and for Fe and Co at a pH of 7. Fresh fungal substrates absorbed significantly more than weathered or dried substrates. The sorption capacity was highly dependent on the pH and composition of the substrates, as well as on the fungal species and its condition; the microbial load played a minor role.

The growth experiments showed that fungi from the orders *Boletales* and *Polyporales* are particularly tolerant to heavy metals. The fungus *Fomitopsis sp.* exhibited high tolerance (up to 120 mg/l) to Cu, Mg and Zn, whilst species of the genus *Pleurotus* showed significantly lower tolerances (up to 15 mg/l). Specially developed, hemp-based subst-

metalltoleranten Referenzpilzen und Mykomaterialien konnten Fe, Al, Pb und Ba gut aufnehmen. Allerdings ist die Herstellung solcher Substrate aufwendig.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Ergebnisse belegen das hohe Mykoremediationspotenzial von Pilzsubstraten zur Entfernung von Schwermetallen aus Abwässern. Es konnten biologische, physiologische und chemische Einflussfaktoren identifiziert werden, darunter Substratzustand, artspezifische Toleranz, pH-Wert sowie strukturelle Bestandteile wie Cellulose, Chitin und funktionelle OH-Gruppen.

Von besonderem wirtschaftlichem Interesse sind abgetragene Substrate aus dem Pilzanbau, von denen in Deutschland jährlich ca. 270.000 t anfallen. Diese bieten ein hohes Anwendungspotenzial sowohl als Düngemittel als auch als kostengünstige Biosorbentien (Abb. 1). Die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf industrielle Anwendungen soll in weiterführenden Projekten untersucht werden.

Eine wichtige Erkenntnis war, dass Champignons ein hohes Anreicherungsvermögen für die für Menschen essenziellen Metalle wie Zn und Fe aufweisen. Andererseits konnten kritische Schwermetalle wie Hg, Cr oder Pb durch Fruchtkörper gebunden werden. Auch dies soll Gegenstand zukünftiger Forschungsarbeiten sein.

rates containing five heavy-metal-tolerant reference fungi and mycomaterials were able to absorb Fe, Al, Pb and Ba effectively. However, the production of such substrates is complex.

SUMMARY

The results demonstrate the high mycoremediation potential of fungal substrates for the removal of heavy metals from wastewater. Biological, physiological and chemical factors influencing this process were identified, including substrate condition, species-specific tolerance, pH value, and structural components such as cellulose, chitin and functional OH groups.

Of particular economic interest are spent substrates from mushroom cultivation, of which approximately 270,000 tonnes are produced annually in Germany. These offer high potential for application both as fertilisers and as cost-effective biosorbents (Fig. 1). The transferability of the results to industrial applications is to be investigated in follow-up projects.

An important finding was that button mushrooms exhibit a high capacity to accumulate metals essential for humans, such as Zn and Fe. On the other hand, critical heavy metals such as Hg, Cr or Pb could be bound by the fruiting bodies. This too will be the subject of future research.