Použití houby *Dichomitus squalens* k degradaci barviv v reaktoru typu rotačního biologického kontaktoru

Veronika Dorňáková[1]
[1]*Katedra biologie a ekologie, Přírodovědecká fakulta, Ostravská univerzita v Ostravě, Chittussiho 10, 710 00 Ostrava, Dornakova@seznam.cz*

Abstrakt

Po celém světě roste obava ze znečištění prostředí způsobeným průmyslovými odpadními vodami. Použití hub pro odstranění odpadů je známo již po staletí. Většina našich znalostí o interakci mezi houbami a odpadem je založena na studiích provedených v laboratořích. Nicméně během posledních deseti let byla stanovena role hub při bioremediaci různých škodlivých a toxických látek v půdě a vodách [1].

Cílem práce je vyzkoušet chování houby *Dichomitus squalens* v podmínkách bioreaktoru typu rotačního biologického kontaktoru a schopnost a účinnost dekolorizace barviva *Disperse blue 3* (DB3).

Klíčová slova: *biodegradace; Dichomitus squalens; bioreaktor; syntetická barviva*

Řada druhů stopkovýtrusných hub svou enzymatickou činností rozkládá celulózu nebo lignin – jsou nazývány dřevokazné houby. Ty se mohou dělit na houby hnědé hniloby a bílé hniloby. Houby hnědé hniloby, které rostou hlavně na měkkém dřevu, rozkládají jen celulózní složku dřeva a reprezentují pouze 7% dřevokazných hub. Houby bílé hniloby rovnoměrně rozkládají všechny složky buněčné stěny (lignin, hemicelulóza, celulóza) za použití extracelulárních ligninolytických enzymů. [2,3].

Ligninolytický systém dřevokazných hub se skládá ze tří hlavních skupin enzymů, jmenovitě lignin peroxidázy (Lip), mangan-dependentní peroxidázy (MnP) a lakázy (lac) [4]. Jsou to oxidativní, povětšinou extracelulárně produkované enzymy. Nízká substrátová specifita související s nepravidelnou strukturou molekuly ligninu jako substrátu, dodává ligninolytickým enzymům široký biodegradační potenciál [5].

Bioreaktory představují zařízení, které mají umožnit: 1) chemickou reakci nebo soubor reakcí katalyzovaných enzymy nebo buňkami, 2) kultivaci mikroorganismů, rostlinných nebo živočišných buněk nebo jejich částí za účelem výroby produktů jejich metabolismu nebo vlastní buněčné hmoty při optimálních podmínkách [6]. V mé bakalářské práci byl použit bioreaktor typu rotačního biologického kontaktoru, který se v praxi běžně využívá pro procesy čištění odpadních vod [1].

Pro sledování dekolorizace barviva DB3 byla použita houba *Dichomitus squalens*, jejíž zásobní kultura byla kultivována na tuhém Malt Extrakt Glukózovém (MEG) médiu po dobu jednoho týdne v termostatu při teplotě 28 ˚C. Poté byla uchovávána v ledničce při teplotě 4 ˚C. Poté proběhla kultivace houbové kultury v tekutém MEG médiu. Kultivace opět probíhala cca týden v termostatu při teplotě 28 ˚C. Složení MEG médií bylo následující: na objem 1000 ml připadlo 5 g Malt Extrakt Brothu, 10 g bezvodé dextrózy a v případě tuhého média ještě 20 g agarového prášku, po smíchání látek bylo upraveno pH médií na hodnotu 5,5. Média byla vždy před použitím vysterilizována v autoklávu při teplotě 120 ˚C po dobu 21 min a při tlaku 200 kPa.

Následně byla houbová kultura v tekutém médiu homogenizována a nanesena v objemu 4 ml spolu dalšími 20 ml tekutého MEG média na molitany v skleněných Petriho

miskách. Opět probíhala kultivace houbové kultury po dobu cca dvou týdnů v termostatu při teplotě 28 ˚C. Následně byly molitanové disky přendány na teflonové disky, ty byly nasazeny na osu bioreaktoru. Do bioreaktoru byla nalita směs tekutého MEG média s barvivem DB3 o objemu 1500 ml a koncentraci 150 ppm. Celé skládání bioreaktoru probíhalo ve flowboxu, aby nedošlo ke kontaminaci bioreaktoru, který byl předtím vysterilizován v autoklávu po dobu 21 min při teplotě 120 ˚C a tlaku 200 kPa. Po konečném sestavení bioreaktoru a zapojení motorku a kompresoru, zajišťující aeraci vnitřního prostředí bioreaktoru, byl experiment spuštěn.

Dekolorizace barviva byla sledována spektrofotometricky pomocí měření změn absorbance absorpčních maxim při vlnových délkách 505 nm a 645 nm. Odebírání vzorků probíhalo do doby, kdy vykazovala absorbance pár dnů po sobě stejné hodnoty, poté byl pokus ukončen. Před experimentem i po něm proběhlo vážení teflonových i molitanových disků (po experimentu byly molitanové disky porostlé houbovou kulturou) kvůli stanovení sušiny biomasy houbové kultury.

Po 25 dnech vykazovala kultura při vlnové délce 645 nm 97,52 % dekolorizaci barviva DB3. Celková hmotnost houbové biomasy (stanovená po vysušení do konstantní váhy) byla 5,9791 g. Tekuté i tuhé kultury *D. squalens* prokázaly schopnost rozkládat množství polutantů, PAHs, syntetická barviva a další. Tento výsledek naznačuje, že kromě barviv Remazol Brilliant Blue R, Azure B a Methylen Blue [7] je *D. squalens* schopen dekolorizovat i barvivo DB3.

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala svému vedoucímu práce Váženému panu doc. RNDr. Čeněk Novotný, CSc., dále Vážené paní prof. RNDr. Kateřině Malachové, CSc. a bc. Romanu Pořízkovi za cenné rady, připomínky a pomoc při práci v laboratoři.

Literatura

[1] Singh, H. *Mycoremediation: Fungal Bioremediation*. Wiley-tnterscience, John Wiley and Sons, Inc. Publication, 2006, Hoboken, New Jersey, ISBN-10: 0-471-75501-X.

[2] Martínez, Á., T., Speranza, M., Ruiz-Dueñas, F., J., Ferreira, P., Camarero, S., Guillén, F., Martínez, M., J., Gutiérrez, A., del Río J., C., *Biodegradation of lignocellulosics: microbial, chemical, and enzymatic aspects of the fungal attack of lignin*, International Microbiology, 2005, 8: 195 - 204.

[3] Kalina, T., Váňa, J., *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*, Univerzita Karlova v Praze, Karolinum, 2010, Praha, ISBN 978-80-246-1036-8.

[4] Ohkuma, M., Maeda, Y., Johjima, T., Kudo, T., *Lignin degradation and roles of white rot fungi: Study on an efficient symbiotic system in fungus-growing termites and its application to bioremediation*. RIKEN Review No. 42, 2001, p: 39 - 42.

[5] Šušla, M., Svobodová, K., *Ligninolytické enzymy jako účinné nástroje pro biodegradaci*. Chemické Listy 100, 2006, s: 889 − 895.

[6] Kaštánek, F., *Bioinženýrství*, 1. vydání, Academia, 2001, Praha, ISBN 80-200-0768-7.

[7] Novotný, Č., Trošt, N., Šušla, M., Svobodová, K., Mikesková, H., Valková, H., Malachová, K., Pavko, A., *The use of the fungus Dichomitus squalens for degradation in rotating biological contactor conditions*, Biosource technology 114, 2012, p: 241 – 246.