

DEKOLORIZACE SYNTETICKÝCH BARVIV V IMOBILIZOVANÝCH KULTURÁCH HOUBY *IRPEX LACTEUS*

Pavlna Šlosarčíková¹, Hana Mikesková²

¹*Katedra biologie a ekologie, Přírodovědecká fakulta, Ostravská univerzita v Ostravě, Chittussiho 10, 710 00 Ostrava, slosarcikova.pavlna@seznam.cz*

²*Mikrobiologický ústav AV ČR, Laboratoř environmentální biotechnologie, Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4 - Krč, mikeskova@biomed.cas.cz*

Abstrakt

Houby bílé hniloby, řadící se mezi ligninolytické houby, jsou dobře známy především pro svou schopnost rozrušení fenolových složek ligninu a ligninových derivátů. Toho je využíváno pro biodekolorizaci odpadních vod intenzivně znečištěných průmyslovými barvivy [1.]. Jejich biodegradační schopnosti jsou založeny na produkci extracelulárních enzymů. Jedná se o mangan-dependentní peroxidázu (MnP), lakázu (Lac) a ligninperoxidázu (LIP) [3.].

Pro biodegradace se využívají různé kmeny ligninolytických hub, které mají taktéž různé požadavky pro růst. V této práci byl použit houbový kmen *Irpex lacteus*, který se vyznačuje vysokou biodegradační účinností. Testovala se dekolorizace trifenylmetanového a ftalocyaninového barviva, při odlišných hodnotách pH média a při koncentracích barviv 100 a 300 ppm. Během pokusu byla sledována i hladina glukózy v médiu, která houbě slouží jako zdroj uhlíku. Z výsledků vyplývá, že houba *Irpex lacteus* je za daných podmínek schopna jen částečné dekolorizace obou typů barviv. Pakliže ale má k dispozici dostatek glukózy, začne barvivo degradovat účinněji.

Klíčová slova: *Irpex lacteus*; dekolorizace; ligninolytické houby

Úvod

Znečištění životního prostředí nebezpečnými odpady je v současné době jeden z významných ekologických problémů. Přestože jsou v přírodě některé odpady úspěšně rozkládány, stále existuje řada sloučenin, které vykazují vysokou odolnost vůči rozkladu. Patří mezi ně především syntetická barviva unikající do prostředí v odpadních vodách, ale také polychlorované bifenyly, pesticidy nebo polycyklické aromatické uhlovodíky [5.]. A právě ligninolytické houby mají významnou schopnost efektivně degradovat tyto organopolutanty.

Ligninolytické houby jsou uměle vytvořenou skupinou zahrnující na 17 000 druhů, které spojuje stejná vlastnost: schopnost degradace heterogenního polyfenolického biopolymeru – ligninu. Mezi tyto jedinečné houby se řadí také *Irpex lacteus*, který byl studován v této práci. Jedná se o kosmopolitně rozšířenou houbu, v přírodě vázanou na mrtvé dřevo listnatých stromů [4.]. Ve stacionárních tekutých kulturách byla prokázána jeho velmi dobrá schopnost degradace azo, antrachinonových, ftalocyaninových i trifenylmetanových barviv [2.]. V porovnání s jinými houbami bílé hniloby se *Irpex lacteus* jeví jako velmi účinný degradátor ligninu [4.].

Cílem této práce bylo pozorovat a zdokumentovat schopnost *Irpexu lacteus* dekolorizovat trifenylmetanové a ftalocyaninové barvivo. Zároveň byly měřeny hodnoty ligninolytických enzymů a hladina glukózy v médiu.

Materiál a metody

Pro experiment byl použit houbový kmen *Irpex lacteus*, získaný ze sbírky basidiomycetů Mikrobiologického ústavu AV ČR, v.v.i. v Praze. Houba byla kultivována na malt extrakt

glukózovém médiu (MEG) při hodnotě pH 5 a 6. Byly zvoleny dva typy barviv: Trifenylmetanové barvivo Bromophenol Blue (BPB) a ftalocyaninové barvivo Copper phthalocyanine (CuP) v koncentracích 100 a 300 ppm.

Experiment byl prováděn ve sterilních 250 ml Erlenmayerových baňkách, do kterých byla umístěna polyamidová drátěnka, sloužící houbě jako pevný podklad pro její růst. Dále bylo přidáno 50 ml MEG média o daném pH, 10 ml homogenní houbové kultury a barvivo.

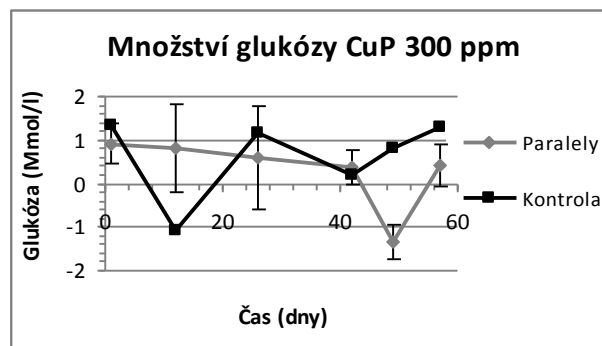
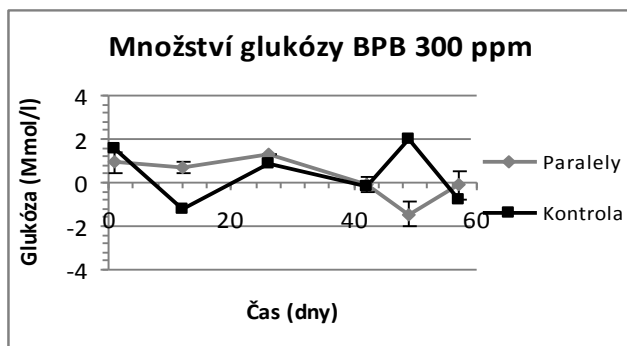
V prvním pokusu bylo použito pH média 6 a koncentrace obou typů barviv byla 300 ppm. Ve druhém pokusu pak bylo pH upraveno na hodnotu 5 a koncentrace barviv byla snížena na 100 ppm. U obou experimentů byla pro každé barvivo použita sada 5 Erlenmayerových baněk, z nichž 4 byly vždy paralelní - obsahující houbu i dané barvivo, a 1 byla kontrolní obsahující pouze houbovou kulturu.

V průběhu experimentu byla vždy jednou týdně spektrofotometricky měřena enzymová aktivita houbové kultury, míra dekolorizace barviva a množství glukózy obsažené v médiu.

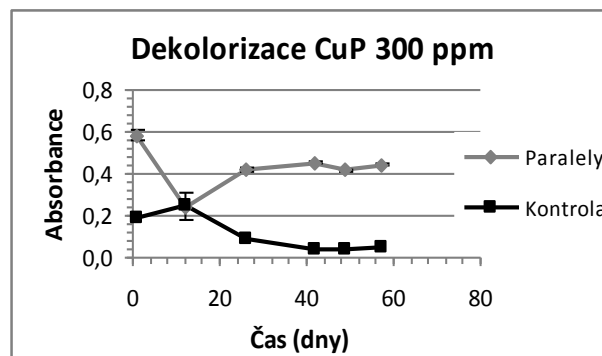
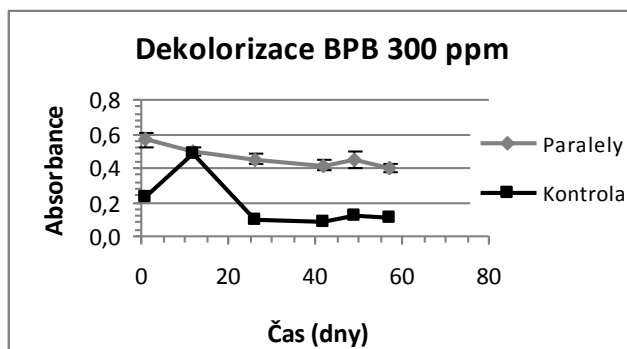
Výsledky a diskuze

Zjištěné výsledky slouží jako podklad pro další studium dekolorizace trifenylmetanového a ftalocyaninového barviva.

Pokus první



Obrázek 1. a 2. Množství glukózy v médiu v přítomnosti obou barviv v konc.300 ppm, pH 6

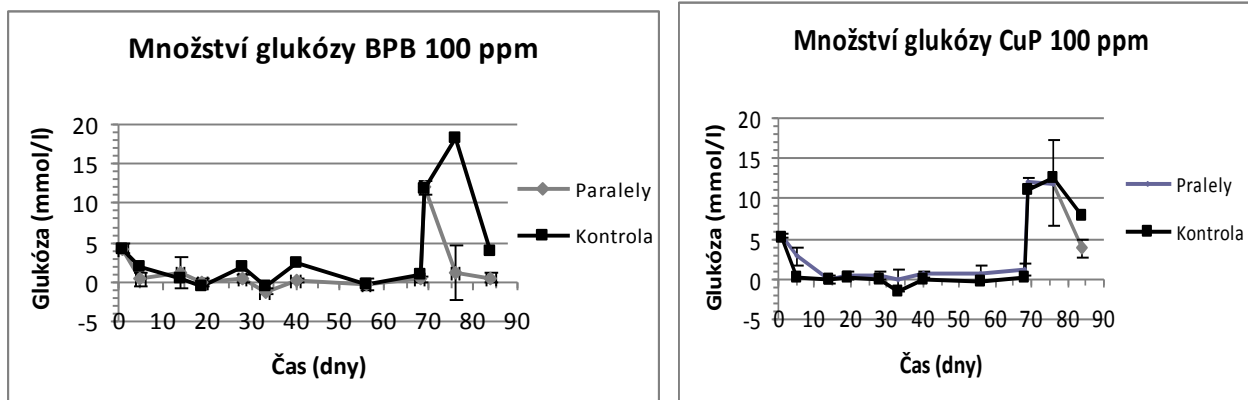


Obrázek 3. a 4. Dekolorizace obou typů barviv v koncentraci 300 ppm, pH média 6

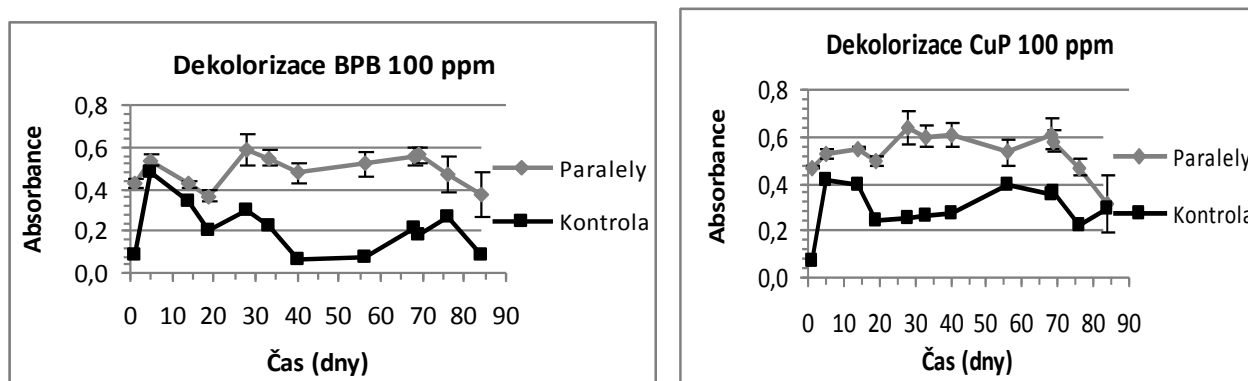
Na Obrázku 1. a 2. vidíme, že koncentrace glukózy, která byla součástí MEG média, byla na počátku experimentu 1 mmol/l. K vyčerpání glukózy došlo u barviva BPB kolem 40. dne a u barviva CuP kolem 45. dne kultivace.

Jak lze vyčíst z příložených Obrázků 3. a 4., použitá houbová kultura *Irpex lacteus* byla za celou dobu měření schopná dekolorizace obou typů barviv pouze ze 30%.

Pokus druhý



Obrázek 5. a 6. Množství glukózy v médiu v přítomnosti obou barviv v konc.100 ppm, pH 5



Obrázek 7. a 8. Dekolorizace obou typů barviv v koncentraci 100 ppm, pH média 5

Vzhledem k nízké schopnosti houby *Irpex lacteus* odbarvovat obě barviva v podmínkách prvního experimentu, jsme se pokusili stimulovat rychlost a míru dekolorizace snížením hodnoty pH použitého média a zvýšením koncentrace glukózy v médiu od počátku experimentu a jejím dalším přidáním v průběhu experimentu. Jak můžeme vidět na Obrázcích 5. a 6., počáteční hodnota glukózy byla vyšší ve srovnání s prvním pokusem a glukóza byla znovu přidána 69. den kultivace. Průběh křivek před přidáním glukózy vykazuje poměrně rychlé vyčerpání glukózy z média, aniž by došlo k dekolorizaci barviva. Po přidání zdroje uhlíku hodnoty glukózy strmě vzrostly a poté můžeme pozorovat jejich rychlý pokles.

Průběh dekolorizace, který je znázorněn na Obrázku 7. a 8. byl u obou typů barviv velmi podobný. Houba *Irpex lacteus* nedokázala během první části pokusu výraznějším způsobem dekolorizovat přidané barvivo, avšak po přidavku glukózy 69. den experimentu začala houba obě barviva zřetelně dekolorizovat. Zjevně nedostatek zdroje uhlíku v průběhu kultivace byl příčinou

neschopnosti houbového organismu dekolorizovat oba typy barviv ve větší míře. Bohužel pokus musel být předčasně ukončen kvůli kontaminaci.

Závěr

Přestože je houba *Irpex lacteus* pokládána za schopnou účinně dekolorizovat různé typy barviv, byla schopna dekolorizovat oba typy barviv (BPB, CuP) v koncentraci 300 ppm při pH 6 pouze z 30%. Příčinou byly zřejmě nepříznivé podmínky degradace a relativně vysoká koncentrace obou barviv. Proto bylo ve druhém pokusu pH změněno na 5, které je bližší fyziologickému optimu houbového organismu, a koncentrace barviv byla snížena na 100 ppm. Zde se potenciál *Irpex lacteus* prokázal a byla rovněž prokázána potřeba přítomnosti relativně vysokých hladin využitelného zdroje uhlíku pro úspěšný průběh degradace.

Poděkování

Touto cestou mnohokrát děkuji vedoucímu a konzultantovi mé práce Doc. RNDr. Čeňkovi Novotnému, CSc. za jeho pomoc a metodické vedení v průběhu práce, dále Doc. RNDr. Kateřině Malachové, CSc. a Mgr. Jiřímu Červeňovi za pomoc a ochotu nejen při práci v laboratoři, ale i mimo ni.

Literatura

- [1.] CHANDLER, M., ARORA, D.S., (2007): *Evaluation of some white-rot fungi for their potential to decolourise industrial dyes*. Dyes and Pigments 72: 192 – 198.
- [2.] KASINATH, A., NOVOTNÝ, Č., SVOBODOVÁ, K., PATEL, K. C., ŠAŠEK, V., (2003): *Decolorization of synthetic dyes by Irpex lacteus in liquid cultures and packed-bed bioreactor*. Enzyme and Microbial Technology 32: 167 – 173.
- [3.] NOVOTNÝ, Č., SVOBODOVÁ, K., ERBANOVA, P., CAJTHAML, T., KASINATH, A., LANG, E., ŠAŠEK, V., (2004): *Ligninolytic fungi bioremediation: extracellular enzyme production and degradation rate*. Soil Biology & Biochemistry 36: 1545 – 1551.
- [4.] NOVOTNÝ, Č., CAJTHAML, T., SVOBODOVÁ, K., ŠUŠLA, M., ŠAŠEK, V., (2009): *Irpex lacteus, a White-Rot Fungus with Biotechnological Potential – review*. Folia Microbiol. 54: 375 – 390.
- [5.] ŠUŠLA, M., SVOBODOVÁ, K., (2006): *Ligninolytické enzymy jako účinné nástroje pro biodegradaci obtížně rozložitelných organopolutantů*. Chem. Listy 100: 889 – 895.

Abstract

White-rot fungi belonging to the group of ligninolytic fungi are well-known for their ability to degrade phenolic components and lignin derivatives. They are used for the capability of biodecolorization of wastewaters intensely polluted by industrial dyes. Their biodegradation ability is dependent on the production of extracellular enzymes, mainly mangan-dependent peroxidase (MnP), laccase (Lac) and lignin peroxidase (LIP).

Many different species of ligninolytic fungi have been used for biodegradation. A strain of *Irpex lacteus* was used in this work and decolorization of triphenylmethane and phthalocyanine dyes was measured under the following conditions: the concentrations of both dyes of 100 or 300 ppm, malt extract glucose medium pH 5 or 6. During the experiment the amount of glucose used as the sole carbon source was also measured. The results indicate that *Irpex lacteus* was able to partially decolorize the dyes under the given conditions. If the fungus had enough glucose in the medium available, its degradation ability increased.