

УДК 573.6.086.83: 577.15:628.353

## РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В СТОЧНЫХ ВОДАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММОБИЛИЗОВАННОГО МИЦЕЛИЯ Неманова Е.О.,

Русинова Т.В., Торшина Е.С., Бирюков В.В.  
(МГУИЭ, Москва, Россия)

В статье определены наиболее перспективные носители для иммобилизации штамма-продуцента лакказы *Trametes hirsuta* 56 (Wulfen.) Pilât (= *Coriolus hirsutus* 56) сем. Polyporaceae, относящегося к экологической группе ксилотрофных базидиомицетов. Экспериментально установлен наиболее эффективный метод иммобилизации культуры продуцента лакказы. Показана возможность проведения эффективного процесса биодegradации ксенобиотиков в сточных водах с использованием иммобилизованного мицелия.

Размещение промышленных объектов в крупных городах влечет за собой образование и скопление в мегаполисах огромного количества токсичных и нетоксичных отходов. Многие из этих соединений характеризуются высокой устойчивостью к химическому и биологическому разложению, они способны сохраняться в окружающей среде в течение десятков лет и переноситься по пищевым цепям. В связи с этим возникает острая необходимость в разработке методов degradation так называемых ксенобиотиков.

Одним из наиболее перспективных направлений в области degradation ксенобиотиков является использование микроорганизмов, в частности ксилотрофных базидиомицетов, продуцирующих комплекс внеклеточных лигнолитических ферментов, таких как лигнинпероксидаза, Mn-пероксидаза и лакказы. Данные ферменты катализируют окисление широкого круга органических и неорганических субстратов, включая орто- и парадифенолы, полифенолы, аминифенолы и лигниноподобные соединения.

Лакказа обладает широкой субстратной специфичностью по отношению к различным соединениям, характеризуется высокой активностью и стабильностью, что делает возможным ее использование для практических целей, в частности, для очистки сточных вод.

Наиболее эффективным и экологичным способом биодegradации загрязняющих веществ с использованием базидиальных грибов является применение методов, включающих иммобилизацию мицелия на различных носителях.

С целью разработки способов биотрансформации токсических веществ в сточных водах были проведены исследования по изучению процесса иммобилизации мицелия на различных носителях.

Для проведения исследований был использован промышленный штамм-продуцент лакказы *Trametes hirsuta* 56 (Wulfen.) Pilât (= *Coriolus hirsutus* 56) сем. Polyporaceae, относящийся к экологической группе ксилотрофных базидиомицетов.

Активность лакказы определяли спектрофотометрически при 410 нм с использованием в качестве субстрата пирокатехина ( $10^{-2}$  М) в 0,1 М цитратно-фосфатном буфере (рН 4,5).

Эффективность биодegradации определяли спектрофотометрически при 470 нм.

В качестве носителей для иммобилизации базидиального гриба *Trametes hirsuta* 56 наиболее интересным является применение лигноцеллюлозных отходов, так как они не требуют специальных методов утилизации и могут быть использованы как удобрение. Кроме того, данные отходы являются индукторами лакказы, и их применение будет оказывать положительное влияние на эффективность биодegradации.

В опыте сравнивали дубовые опилки, костру льна, стальные губки и растительную губку люфу. Перед использованием все носители были стерилизованы в автоклаве в течение 20 мин при температуре 121 °С. Процесс иммобилизации осуществляли в колбах Эрленмейера объемом 750 мл на круговой качалке.

Проведенные опыты показали, что наиболее эффективно процесс иммобилизации базидиального гриба *Trametes hirsuta* 56 осуществляется на стальных губках и растительной губке люфе, о чем свидетельствует отсутствие биомассы гриба в культуральной жидкости. При этом максимальная активность лакказы была отмечена при иммобилизации продуцента на стальных губках, которая достигалась на 7 сутки эксперимента.

В результате проведения экспериментов было установлено, что для наиболее эффективной иммобилизации культуры продуцента лакказы необходим носитель, имеющий пористую воздухопроницаемую структуру. Наиболее предпочтительным вариантом засева носителя является внесение посевного материала, полученного методом глубинного культивирования.

Были проведены опыты по изучению процесса биodeградации токсических веществ, содержащихся в промышленных стоках. Для этих целей было специально подобрано модельное соединение - краситель MethylOrange, относящийся к классу азокрасителей. Краситель вносился в колбы с мицелием гриба, иммобилизованным на стальных губках, в период максимальной активности лакказы в концентрации 0,015%. В результате проведенных экспериментов было установлено, что биodeградация достигает 100 % уже на первые сутки эксперимента. Эффективность процесса биodeградации красителя была подтверждена спектрофотометрически.

Таким образом, была показана возможность проведения эффективного процесса биodeградации ксенобиотиков в сточных водах с использованием иммобилизованного мицелия.

#### **Список литературы:**

1. Rodriguez Couto S, Sanroman M.A., Hofer D., Gubitz G.M., 2004. Stainless steel sponge: a novel carrier for the immobilisation of the white-rot fungus *Trametes hirsuta* for decolourization of textile dyes. *Biores. Technol.* 95, 67-72.

2. Iqbal M, Saeed A, Edyvean RG, O'Sullivan B, Styring P., 2005. Production of fungal biomass immobilized loofa sponge (FBILS)-discs for the removal of heavy metal ions and chlorinated compounds from aqueous solution. *BiotechnolLett.* 27(17):1319-23.

3. Susla M, Novotny C, Svobodova K., 2007. The implication of *Dichomitussqualens* laccase isoenzymes in dye decolorization by immobilized fungal cultures. *Bioresour Technol.* 98(11):2109-15.

4. Ortega-Clemente A., Caffarel-Mendez S., Ponce-Noyola M.T., Barrera-Cortes J., Poggi-Valardo H.M., 2009. Fungal post-treatment of pulp mill effluents for the removal of recalcitrant pollutants. *Bioresour Technol.* 100(6):1885-94.

5. Lu Y., Yan L., Wang Y., Zhou S., Fu J., Zhang J., 2009. Biodegradation of phenolic compounds from coking wastewater by immobilized white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *J Hazard Mater.* 165(1-3):1091-7