**Potenicijal primene sojevaroda *Pseudomonas* u bioremedijaciji zagađenih voda**

**Olgica Maksimović - Regionalni centar za talente Beograd II**

**Uvod**

Bioremedijacija predstavlja proces u kojem se koristi metabolički potencijal mikroorganizama za prečišćavanje kontaminiranih područja (1). Sintetičke boje za tkanine, koje se danas masovno koriste, su po strukturi fenolna jedinjenja, i veoma su toksične kada putem otpadnih voda dospeju u životnu sredinu (2). Lakaze, svestrani enzimi koji pripadaju oksidazama, se primenjuju u bioremedijaciji sredina zagađenih fenolnim jedinjenjima (3). Iz literature je poznato da se lakaze mogu naći i kod sojeva roda *Pseudomonas* (3)*.* Cilj ovog rada je bio da se ispita koji sojevi roda *Pseudomonas* (iz laboratorijske kolekcije) poseduju enzim lakazu i imaju sposobnost da oksiduju sintetičke boje.

**Metode rada**

Analizirana su 4 soja roda *Pseudomonas* iz laboratorijske kolekcije (F6, KT2440, CA3, MT2). Sojevi su gajeni u LB tečnoj podlozi (4). Bakterijske kulture gajene preko noći su tretirane lizozimom da bi se oslobodili svi proteini iz ćelija a zatim je određena koncentracija proteina pomoću spektrofotometra upotrebom Bradfordove metode (5). Aktivnost lakaza je određena lakaznim testom sa ABTS supstratom, koji je specifičan za ovaj enzim (6). U reakciju su za svaki uzorak dodavane iste koncentracije proteina (po 100µg). Reakcija se odvijala 30 minuta na 37ºC nakon čega je spektrofotometrom na 420nm izmerena apsorbanca produkta oksidacije ABTS-a. Najaktivniji sojevi su zatim zasejani u erlenmajere u LB medijum sa dodatim bojama u koncentraciji 0,05%. Korišćene su dve sintetičke boje: fenol red i rodamin B, kao i tekstilna boja i prehrambena boja za jaja. Aktivnost lakaze dovodi do promene boje medijuma što se može vizuelno uočiti.

**Rezultati**

Najveću lakaznu aktivnost pokazali su sojevi F6 i KT2440. Rezultati lakaznog testa se mogu videti na slici 1. Posle gajenja sa bojama, u četiri uzorka je došlo do oksidacije i promene boje medijuma. Sojevi F6 i KT2440 su oksidovali fenol red i tekstilnu boju. Kao što je i očekivano, prehrambena boja za jaja nije oksidovana, s obzirom da je drugačije hemijske strukture.

Slika 1 Lakazna aktivnost *Pseudomonas* sojeva

**Zaključak**

Od četiri soja roda *Pseudomonas*, dva soja su pokazala značajnu lakaznu aktivnost u testu sa ABTS-om - sojevi F6 i KT2440. Ta dva soja su korišćena u eksperimentu sa bojama. Oba soja su dobro oksidovala fenol red i tekstilnu boju, što pokazuje da imaju potencijal za primenu u bioremedijaciji voda zagađenih sintetičkim bojama. Buduća istraživanja bi trebalo fokusirati na ispitivanje sposobnosti ovih sojeva da oksiduju boje sa drugim pigmentima, kao i na uključivanje drugih *Pseudomonas* sojeva u studiju.

**Literatura**

1. *Raičević V. Mikroorganizmi u bioremedijaciji zemljišta i voda. Zaštita materijala 2007,   
   48: 49-52.*
2. *Kant R. Textile dyeing industry an environmental hazard. Natural Science 2012, 4: 22-26.*
3. *Muthukumarasamy NP and Murugan S. Production, Purification and Application of Bacterial Laccase: A Review. Biotechnology 2014, 13: 196-205.*
4. *Bertani G. Studies on lysogenesis. I. The mode of phage liberation by lysogenic Escherichia coli. Journal of Bacteriology 1951, 62: 293–300.*
5. *Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 1976, 72: 248-254.*
6. *Wang W, Zhang Z, Ni H, Yang X, Li Q, Li L. Decolorization of industrial synthetic dyes using engineered Pseudomonas putida cells with surface-immobilized bacterial laccase. Microbial Cell Factories 2012, 11:75. doi: 10.1186/1475-2859-11-75.*