

xBioremediace: Co nejvíce limituje aplikaci biotechnologií v praxi?

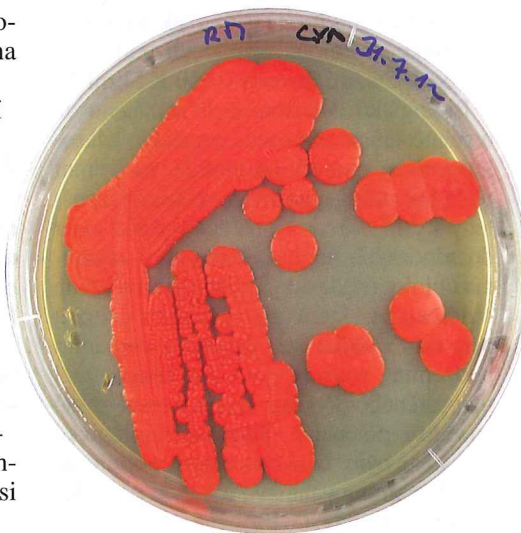
Mikroorganismy, především bakterie a archea, v menší míře i mikroskopické houby, jsou právem považovány za obdivuhodné katalyzátory chemických dějů v podzemních vodách a horninovém prostředí. Při troše zjednodušení můžeme říct, že bez živých organismů by neprobíhala většina chemických procesů, které se odehrávají v povrchové části zemské kůry. Různé variace tohoto tvrzení můžeme slyšet už řadu desetiletí. Je logické, že schopnosti mikroorganismů vybízejí k pokusům o jejich technologické využití.

Biotechnologie založené na mikroorganismech se v zásadě dělí na dvě skupiny.

První jsou procesy, které probíhají poměrně snadno samy od sebe, přičemž něco podobného běžně známe z přírody. Některé procesy, třeba výrobu alkoholu nebo sojové omáčky, zná lidstvo od nepaměti, jiné, například výrobu bioplynu nebo mikrobiální těžbu mědi, se lidé naučili využívat až relativně nedávno. Spojuje je ovšem to, že podobné děje může trochu poučený člověk provozovat prakticky i doma v kuchyni. Vědci pouze pomohli zvýšit efektivitu a rychlost těchto technologií. Pravda, někdy i řádově, což si zaslouží uznání.

Druhou skupinou jsou ty, které jsou teoreticky bezesporu možné, ale v přírodě na jejich obdobu zase tak často nenarazíme. Mezi ně patří například biologická těžba chudých rud uranu, anebo bioremediace některých obtížně rozložitelných kontaminátů. O těchto procesech už desetiletí čteme, že, až se to naučíme ovládat, bude to vysoce rentabilní a čistá technologie. Často jsou známy i organismy, které to v laboratorních podmínkách víceméně dokážou.

Kariéra řady světových mikrobiologických týmů stojí na objevování a charakterizaci bakterií nebo hub, které některý



Obrázek 1: Izolát konkrétního kmene

z těchto procesů katalyzují o něco lépe, než ty doposud známé. Ale kdyby se někdo zeptal na pověstnou otázku, jestli už „to bude stačit“, dostal by pořád zápornou odpověď. Ve sborníku Hornická Příbram z roku 1969 můžeme číst na téma biologické těžby chudých rud téměř doslova stejná tvrzení o nadějných výsledcích, které zbývá už jen převést do praxe, jako v nejnovější literatuře.

Kde může být problém? Tato otázka je samozřejmě extrémně složitá a úplné řešení by svému autorovi vyneslo nehybnou slávu. Kousek pravdy můžeme odhalit, když se zamyslíme, čím se vlastně ty snadno a obtížně zvladatelné procesy liší.

V případech těch technicky zvládnutých se téměř vesměs jedná o proces katalyzovaný jedním mikroorganismem, který navíc lze snadno kultivovat ve velkém objemu. Onen žádoucí proces je často jádrem jeho energetického metabolismu (např. veškeré fermentace, methanogeneze).

V jiných případech jde o tvorbu sekundárních metabolitů, které jsou produkovány jednou dobře definovanou metabolickou dráhou. Zpravidla jde o metabolické dráhy, které si bakterie předávají pomocí plazmidů, takže jsou evolučně optimalizované, aby byly robustní a kódované relativně malým počtem genů. Typická ukázka je biosyntéza různých antibiotik.

Naopak procesy, které snaze o umělé využití vzdorují, jsou běžně provozovány konsorciem mikroorganismů, z nichž žádný „neumí“ celou reakci. Jindy představují jakousi boční větev metabolismu, jejíž smysl leckdy není zcela jasný a kterou dotýčný mikroorganismus zapíná a vypíná podle nejasných zákonitostí. Tyto děje jsou tedy obecně složitější. Ale to pochopitelně není dostatečné vysvětlení.

Druhá polovina pravdy leží v samotné mikrobiologii, respektive její historii. Drtivá většina dřívějších úspěchů technické mikrobiologie stojí na důsledném využití kultivačních metod a přesně charakterizovaných produkčních kmenů mikroorganismů.

Typický pokus o rozšíření našeho biotechnologického repertoáru tudíž logicky začíná hledáním vhodných organismů.

Stejně tak při monitorování mikrobiálních procesů v životním prostředí je velmi často hlavním hodnotícím kritériem přítomnost a množství určitého námi



Obrázek 2: Lyofilizátor – uchování jednotlivých kmenů či konsorcií

vybraného druhu bakterie. Klíčová informace ovšem může vypadat úplně jinak.

Například na jisté lokalitě dochází k přirozené atenuaci arzeny v podzemní

spíš smetl ze stolu každý trochu soudný vedoucí laboratoře. Stačilo umístit kus dřeva z lokality, ale bez realgaru, do přefiltrované autochtonní vody. Nestalo se nic, pokud ovšem do vody nebyla přidána látka inhibující bakteriální růst, třeba vysoká koncentrace antibiotik. Pokud byly bakterie takto „mučeny“, realgar se najednou začal srážet. Důležité je, že při různých pokusech přežily různé navzájem nepříbuzné druhy bakterií, ale výsledek byl stejný.

Vysvětlení se nabízí: Při tvorbě realgaru opravdu stačí cokoli, co dokáže redukovat sírany. Ovšem to důležité je struktura prostředí. Mikrobiální děj musí být omezen na nepatrný objem biofilmu vzdorujícího toxickému okolí. Jedině tak je lokálně překročena kritická koncentrace sulfidů.

Pokud mohou stejné bakterie pracovat v celém objemu nádoby, vznikne jen trochu páchnoucí voda.

„SPOLEČNOST EPS, S. R. O. DÍKY TÝMU KVALITNÍCH VĚDCŮ A KOMPLEXNÍMU POHLEDU NA STUDOVANOU PROBLEMATIKU NEUSTÁLE ZLEPŠUJE A ZEFEKTIVŇUJE CESTY VEDOUcí K NÁPRAVĚ ZÁVADNÉHO STAVU ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ NEJEN PROSTŘEDNICTVÍM VYUŽITÍ BIOLOGICKÝCH ČINITELŮ, ALE ZEJMÉNA ZKOUMÁNÍM A POCHOPENÍM POTŘEBNÝCH SOUVISLOSTÍ.“

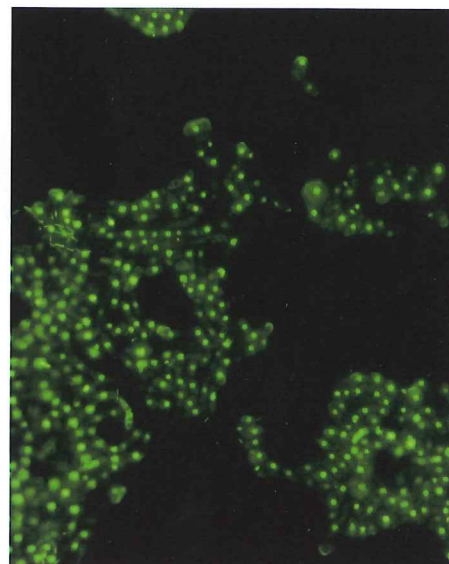
vodě tak, že se tam sráží sulfid arsenitý ve formě minerálu realgaru. Nebylo obtížné vydedukovat, že děj je mikrobiálně katalyzovaný. Následovaly pokusy o nalezení bakterie, která by toho byla schopná. Na lokalitě se však podařilo najít pouze běžnou půdní mikroflóru. Některé bakterie byly nejspíš schopné redukovat arzen, jiné síru, ovšem koncentrace redukovanych sloučenin byla ve všech vzorcích příliš nízká, než aby byla překročena termodynamická mez pro srážení krystalických sulfidů.

Cestu k řešení ukázal pokus tak jednoduchý, že by jej šlo provést ve školní praktiky, a po mikrobiologické stránce tak diletantsky navržený, že by ho nej-

Jaké poučení z toho plyne? Nejspíš to, že klíč k pochopení mikrobiálních procesů často neleží v drahých metodách ani v poctivém uplatnění toho nejlepšího, co zabralo minule. **Každý děj musíme myšlenkově rozebrat na prvočinitele a pokusit se identifikovat kritické či limitující faktory.** Nelze říci předem, které to jsou a která metoda je odhalí. Je nutné provádět pokusy, při nichž různé faktory cíleně dostáváme do okolností, kdy limitující nejsou. Rozhodně není od věci předpoklad, že jakmile najdeme vhodnou kombinaci podmínek, zkoumaný proces začne fungovat robustně a často i v dost jednoduchém experimentálním uspořádání.

V případě přirozených atenuací různých polutantů lze navíc přidat ještě jeden poznatek:

Neexistuje studna, kde by nebyly denitrifikační bakterie. Neexistuje mnoho půd, kde by nežilo nic, co umí štěpit



Obrázek 3: Epifluorescenční mikroskopie – dokumentace životaschopnosti kmenů z reálných vzorků

ropeň uhlovodíky. Neexistuje ani kontaminace třeba halogenovanými uhlovodíky, kam by se v průběhu času přirozeně nedostaly organismy, které je rozkládají. Ale běžně existují kontaminace, kde je aktivita bakterií omezená jednoduchým faktorem, například nedostatkem akceptoru elektronů, nebo fyzickým charakterem organické fáze (stačí, že tvoří spojitě makroskopické útvary, aby byla bakteriím téměř nedostupná).

Zkušenosti autorů lze shrnout do poznatku, že identifikace těchto faktorů má pro úspěšné řízení bioremediačních prací na lokalitě větší váhu než přesné určování přítomných mikroorganismů a ulpívání na konkrétních indikátorových organismech pro jednotlivé procesy.

AUTOŘI

Lukáš Falteisek, Petr Beneš,
Karel Waska, Ondřej Šnajdar,
Miroslav Minařík
EPS, s. r. o.