



Biodegradacja odpadów gospodarczych przy użyciu szczepów bakterii lipolitycznych, proteolitycznych i celulozowych

Adam Latała, Sławomir Wierzba, Teresa Farbiszewska,
Beata Polaczek, Ewa Boniewska

Katedra Biologii Stosowanej i Eksperymentalnej, Uniwersytet Opolski,
Opole

Biodegradation of industrial waste with the application of lipolytic, proteolytic and cellulolytic bacteria

Summary

The intensive civilization growth has lead to an increase in the amount of industrial waste. One of the ways to reduce the amount of waste is biodegradation. This paper presents the process of industrial waste biodegradation with the use of lipolytic, proteolytic and cellulolytic bacteria. Due to the complex composition of the waste, the degradation of fat, protein and carbohydrates. The biodegradation was carried out with the use of both archived and field bacteria. The aforementioned strains were also used in their genetically modified forms. The examination proved that genetically modified bacteria manifested much better biodegradation capacity than unmodified strains, and that the former reduced 89-94% of fat, 90-95% of protein and 90-96% of carbohydrates after 4 weeks of examination. In the case of unmodified strains, the reduction rates were lower by a few or more percent respectively, regardless of the substrate applied. In all the variations of the examination of reduction of fat, protein and carbohydrates the count of microorganisms was growing. Also, a close dependence between the oxidation and the intensity of the processes examined was noticed.

Key words:

biodegradation, industrial waste, bacterial composite, lipolytic activity, fatty waste.

Adres do korespondencji

Adam Latała,
Katedra Biologii
Stosowanej
i Eksperymentalnej,
Uniwersytet Opolski,
ul. Kard. B. Kominka 4,
45-035 Opole.

1. Wstęp

W miarę rozwoju cywilizacyjnego narastają problemy z utylizacją odpadów bytowo-gospodarczych, których ilość z roku na rok rośnie, przy równoczesnym braku nowych miejsc ich składowania. Zwykle odpady te zawierają znaczne ilości substancji organicznej głównie w postaci białek, tłuszczów i węglowodanów. Jedną z metod utylizacji odpadów bytowo-gospodarczych jest ich degradacja z udziałem mikroorganizmów. O skuteczności tej metody decyduje odpowiednia selekcja szczepów zdolnych do rozkładu substancji organicznej zawartej w odpadach. Oczywiście nie można zakładać całkowitej biodegradacji odpadu, który może zawierać związki nieulegające rozkładowi, np. skleroproteidy czy hemiceluloza, ale biodegradacja większości białek, tłuszczów i węglowodanów zawartych w odpadach bytowo-gospodarczych, jak się wydaje, jest możliwa (1).

Celem prowadzonych badań była ocena biodegradacji odpadów gospodarczych przez kompozyty bakteryjne zawierające wybrane szczepy bakterii lipolitycznych, proteolitycznych i celulolitycznych, pochodzących z kolekcji oraz izolowanych z odpadów.

2. Materiał i metody badań

2.1. Odpady gospodarcze

Materiał badawczy stanowiły: tłuszcz odpadowy pochodzenia roślinnego i zwierzęcego, białko zwierzęce pochodzenia kurzego, suszone jabłka i liście oraz drewno.

2.2. Szczepy stosowane do badań

Przy przygotowywaniu kompozytów mikrobiologicznych wykorzystano wcześniej wyselekcjonowane i przetestowane w kierunku rozkładu tłuszczu, białek i węglowodanów bakterie pochodzące z kolekcji (muzealne) i izolowane z odpadów gospodarczych.

2.2.1. Bakterie lipolityczne

Spośród szczepów pochodzących z kolekcji wybrano: *Pseudomonas fragi*, *Bacillus subtilis*, *B. macerans*, *B. coagulans*, natomiast z bakterii izolowanych z odpadów: *Pseudomonas fluorescens*, *Klebsiella* sp. i *Acinetobacter junii*. Ponadto w skład kompozytów wchodziły również te same szczepy poddane wcześniej modyfikacjom genetycznym.

2.2.2. Bakterie proteolityczne

Zastosowane do badań szczepy muzealne, to: *Pseudomonas fragi*, *Bacillus subtilis*, *B. megaterium* i *Serratia marcescens*, natomiast spośród szczepów autochtonicznych wybrano: *Acinetobacter Iwoffii*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter gergoriae* i *Serratia liquefaciens*. Ponadto wykorzystano również szczepy pochodzące z kolekcji poddane modyfikacjom genetycznym.

2.2.3. Bakterie celulolityczne

Zastosowano 3 mieszaniny szczepów wyizolowane z odpadów gospodarczych, należące do grupy Cytophaga Like Bacteria (CLB) (2).

2.3. Modyfikacja genetyczna szczepów

Szczepy bakteryjne poddawano mutagenizacji bromkiem etydy o stężeniu 0,25 µg/ml i akryflawiną o stężeniu 0,01% według metody Słonimskiego (3). Hodowlę szczepów prowadzono przez 48 h, w temp. 37°C, z napowietrzaniem, w bulionie odżywczym z dodatkiem czynników mutagennych, bez dostępu światła. Następnie hodowlę rozcieńczono i wysiewano na podłoża selekcyjne.

2.4. Przygotowanie kompozytów mikrobiologicznych

Wszystkie szczepy namnażano w bulionie wzbogaconym w hodowlach wstrząsanych, w temp. 25°C do gęstości ok. 10^8 jtk/ml, a następnie mieszano ze sobą odpowiednio ustalając skład jakościowy kompozytów. Przygotowano 13 kompozytów mikrobiologicznych zawierających:

A. Szczepy lipolityczne:

- L-A – autochtoniczne,
- L-M – muzealne,
- L-AM – autochtoniczne modyfikowane genetycznie,
- L-MM – muzealne modyfikowane genetycznie,
- L-A+M – autochtoniczne + muzealne,
- L-A+MM – autochtoniczne + muzealne modyfikowane genetycznie.

B. Szczepy proteolityczne:

- P-A – autochtoniczne,
- P-M – muzealne,
- P-MM – muzealne modyfikowane genetycznie,
- P-A+M – autochtoniczne + muzealne,

- P-A+MM – autochtoniczne + muzealne modyfikowane genetycznie,
- P-A+M+MM – autochtoniczne + muzealne + muzealne modyfikowane genetycznie.

C. Szczepy celulolityczne:

- mieszanina szczepów autochtonicznych Cytophaga Like Bacteria (CLB).

2.5. Układ prowadzonych doświadczeń

Proces biodegradacji prowadzono w kolbach stożkowych o pojemności 300 cm³. W badaniach rozkładu tłuszczu i białka użyto 90 ml pożywki mineralnej (PM) o składzie: (NH₄)SO₄ – 2 g/l, K₂HPO₄ – 3 g/l, KH₂PO₄ – 2 g/l, MgSO₄ × 7 H₂O – 0,5 g/l, 5 ml odpowiedniego kompozytu bakteryjnego oraz 5 g odpowiednio: substancji tłuszczowych i białka jaja kurzego w postaci zdenaturowanej. Biodegradację suszonych jabłek i liści oraz drewna (5 g) przez mieszaninę szczepów CLB (5 ml) prowadzono na pożywcę Winogradskiego (4) (90 ml). Równolegle dla wszystkich prób przygotowano układy kontrolne, które nie zawierały kompozytów mikrobiologicznych. Ponadto wybrane warianty badawcze przygotowano podwójnie – część kolb intensywnie napowietrzano, a pozostałych nie mieszano. Biodegradację tłuszczów i białek prowadzono przez 28 dni, w temperaturze 25°C, co 7 dni przeprowadzając ilościowe badania bakteriologiczne i chemiczne, natomiast pozostałe odpady biodegradowano przez 56 dni, co 14 dokonując analiz chemicznych.

2.6. Badania bakteriologiczne

Ogólną liczbę bakterii (OLB) oznaczano metodą hodowlano-płytkową według normy PN-75/C-04615 (5).

2.7. Badania chemiczne

2.7.1. Oznaczenie ilości substancji tłuszczowych

Oznaczenie polegało na wagowym określeniu w badanych próbach zawartości substancji tłuszczowych poprzez ekstrakcję eterem naftowym w oparciu na PN-76R-64753 (6).

2.7.2. Oznaczenie masy białka, suszonych jabłek i liści oraz drewna

Próby sączono na sączkach z bibuły filtracyjnej, następnie suszono i ważono określając suchą masę odpadu.

2.7.3. Oznaczenie białka w roztworze metodą Lowry'ego (7)

Białko oznaczano spektrofotometrycznie, przez pomiar ekstynkcji przy długości fali 750 nm. Ilość białka w mg odczytywano na podstawie krzywej wzorcowej dla albuminy.

2.7.4. Oznaczenie węglowodanów w roztworze

Oznaczenie prowadzono kolorymetrycznie metodą antronową (7).

3. Wyniki i omówienie wyników

3.1. Biodegradacja substancji tłuszczowych

Wyniki redukcji substancji tłuszczowych w trakcie trwania procesu biodegradacji przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Redukcja substancji tłuszczowych w trakcie biodegradacji

Kompozyt mikrobiologiczny	Redukcja substancji tłuszczowych (%)							
	Czas trwania doświadczenia							
	7 dni		14 dni		21 dni		28 dni	
	TR ¹	TZ ²	TR	TZ	TR	TZ	TR	TZ
kontrola	25,80	22,32	26,32	32,40	34,20	39,40	47,40	48,12
L-A	52,80	60,32	59,60	78,08	64,24	92,60	86,92	95,00
L-M	41,68	39,52	57,80	50,48	68,40	69,72	82,12	72,12
L-AM	23,16	24,80	29,12	59,40	47,88	64,76	52,08	67,44
L-MM	55,28	35,88	75,76	67,20	78,12	74,16	85,64	83,40
L-A+M	20,92	22,52	73,24	38,33	75,52	39,96	91,76	65,96
L-A+MM	48,20	51,72	60,34	65,20	73,80	82,20	89,80	94,60

¹TR – tłuszcz pochodzenia roślinnego; ²TZ – tłuszcz pochodzenia zwierzęcego

Na podstawie uzyskanych wyników największy spadek ilości tłuszczu pochodzenia roślinnego, po 28 dniach doświadczenia, zaobserwowano w wariancie z kompo-

zytem L-A+M (szczepy autochtoniczne i muzealne) – 91,76%. Nieznacznie gorsze wyniki (89,80%) odnotowano po zastosowaniu kompozytu L-A+MM (szczepy autochtoniczne i muzealne modyfikowane genetycznie). Najmniejszy ubytek substratu – 52,08%, stwierdzono po wprowadzeniu kompozytu L-AM (szczepy autochtoniczne modyfikowane genetycznie), a uzyskana redukcja tłuszczu roślinnego była tylko nieznacznie wyższa niż w próbie kontrolnej (tab. 1).

Gdy substratem był tłuszcz pochodzenia zwierzęcego, największy spadek jego ilości, w ostatnim dniu biodegradacji, stwierdzono w wariantach: L-A – 95,00% i L-A+MM – 94,60%. Wyniki uzyskane dla pozostałych układów były już znacznie gorsze, redukcja wahała się od 65,96% (L-A+M) do 83,40% (L-MM) (tab. 1).

Na podstawie uzyskanych wyników redukcji substancji tłuszczowych w trakcie trwania procesu biodegradacji wskazuje się, że wysoce efektywny rozkład substratu, zarówno pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego, zachodził przy udziale kompozytu L-A+MM. Już po 7 dniach ubytek tłuszczu kształtował się na poziomie ok. 50%. Podobnie w badaniach Latały i wsp. (8,9) oraz Wierzby i wsp. (10) blisko połowa tłuszczu została rozłożona w pierwszych dwóch tygodniach biodegradacji po zastosowaniu mieszaniny szczepów autochtonicznych i muzealnych. Prawidłowość tę potwierdzają również doniesienia innych autorów (11-14). Redukcja w wariantach kontrolnych wahała się w przedziale od 22,32 do 48,12% i była spowodowana najprawdopodobniej mikroflorą wprowadzoną wraz z tłuszczem odpadowym (tab. 1).

Wyniki ilościowych badań bakteriologicznych zostały przedstawione w tabeli 2. Uzyskane wyniki wskazują na blisko 100-krotny wzrost OLB w pierwszym tygodniu biodegradacji po zastosowaniu kompozytów L-AM i L-A+MM, niezależnie od rodzaju użytego substratu tłuszczowego, do poziomu ok. 10^9 jtk/ml. Niewielki spadek OLB odnotowano w wariantach L-A, L-M i L-A+M, gdy substratem był tłuszcz pochodzenia roślinnego. W kolejnych dniach trwania biodegradacji wyraźną tendencję spadkową OLB obserwowano w wariantach L-MM i L-A+M (z tłuszczem roślinnym). Dla pozostałych układów badawczych liczebność bakterii wahała się w granicach ok. 10^8 - 10^9 jtk/ml. Po 28 dniach najwyższą OLB stwierdzono w wariantach L-A+MM i wynosiła ona $2,12 \times 10^9$ jtk/ml i $8,21 \times 10^9$ jtk/ml, gdy substratem był odpowiednio tłuszcz roślinny i zwierzęcy (tab. 2).

Tabela 2

Ogólna liczba bakterii w trakcie biodegradacji substancji tłuszczowych

Kompozyt mikro-biologiczny	OLB (jtk/ml)									
	Czas trwania doświadczenia									
	1 dzień		7 dni		14 dni		21 dni		28 dni	
	TR ¹	TZ ²	TR	TZ	TR	TZ	TR	TZ	TR	TZ
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
kontrola	$4,60 \times 10^4$	$4,60 \times 10^4$	$1,33 \times 10^5$	$1,00 \times 10^2$	$2,19 \times 10^3$	$3,63 \times 10^3$	$1,00 \times 10^3$	$1,00 \times 10^3$	$1,00 \times 10^3$	$1,00 \times 10^3$
L-A	$1,40 \times 10^8$	$1,40 \times 10^8$	$5,20 \times 10^7$	$5,37 \times 10^9$	$7,36 \times 10^7$	$4,07 \times 10^9$	$1,00 \times 10^7$	$1,16 \times 10^9$	$2,35 \times 10^9$	$3,17 \times 10^9$
L-M	$9,83 \times 10^7$	$9,83 \times 10^7$	$7,56 \times 10^7$	$2,45 \times 10^8$	$3,07 \times 10^8$	$1,22 \times 10^9$	$8,56 \times 10^7$	$3,66 \times 10^8$	$2,78 \times 10^8$	$9,55 \times 10^8$

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
L-AM	$3,79 \times 10^7$	$3,79 \times 10^7$	$5,65 \times 10^9$	$5,92 \times 10^9$	$6,63 \times 10^8$	$4,29 \times 10^8$	$7,95 \times 10^8$	$4,95 \times 10^9$	$9,17 \times 10^7$	$1,75 \times 10^9$
L-MM	$3,62 \times 10^7$	$3,55 \times 10^7$	$4,77 \times 10^8$	$4,47 \times 10^{10}$	$3,11 \times 10^7$	$1,17 \times 10^{10}$	$5,19 \times 10^6$	$4,06 \times 10^9$	$2,13 \times 10^6$	$6,55 \times 10^8$
L-A+M	$9,60 \times 10^7$	$9,60 \times 10^7$	$8,27 \times 10^7$	$4,11 \times 10^9$	$2,20 \times 10^8$	$1,35 \times 10^9$	$3,25 \times 10^6$	$8,43 \times 10^8$	$4,59 \times 10^6$	$1,00 \times 10^6$
L-A+MM	$7,85 \times 10^7$	$7,85 \times 10^7$	$1,12 \times 10^9$	$9,71 \times 10^9$	$9,78 \times 10^8$	$4,21 \times 10^9$	$1,87 \times 10^9$	$6,25 \times 10^9$	$2,12 \times 10^9$	$8,21 \times 10^9$

¹TR – tłuszcz pochodzenia roślinnego; ²TZ – tłuszcz pochodzenia zwierzęcego

3.2. Biodegradacja białka

Na podstawie wyników redukcji białka przedstawionych w tabeli 3 można stwierdzić, że wysoko istotny wpływ na ilość białka miał sposób napowietrzania układów badawczych. Przy intensywnym wytrząsaniu uzyskana już po 7 dniach redukcja była bardzo wysoka i wahała się w granicach ok. 73-88%. W ostatnim dniu biodegradacji największy spadek ilości białka zaobserwowano w wariancie z kompozytem P-A (szczyepy autochtoniczne) – 92,30%, natomiast wyniki uzyskane dla pozostałych wariantów były tylko nieznacznie niższe (w granicach 5%) (tab. 3).

Tabela 3

Redukcja białka w trakcie trwania biodegradacji

Kompozyt mikrobiologiczny	Redukcja substancji tłuszczowych (%)							
	Czas trwania doświadczenia							
	7 dni		14 dni		21 dni		28 dni	
	U-W ¹	U-NW ²	U-W	U-NW	U-W	U-NW	U-W	U-NW
kontrola	22,97	15,34	31,27	19,97	36,02	25,21	37,85	27,31
P-A	87,69	34,95	88,33	37,42	90,79	45,98	92,30	55,25
P-M	76,86	25,36	84,08	40,26	86,01	40,68	88,40	40,28
P-MM	86,95	33,40	87,40	41,82	89,15	47,25	90,47	49,77
P-A+M	82,31	35,83	89,18	43,97	90,34	46,28	90,47	49,18
P-A+MM	75,42	33,52	85,45	38,67	88,65	46,82	90,77	48,65
P-A+M+MM	72,65	23,97	84,47	49,77	87,00	58,40	87,78	58,99

¹U-W – układy wytrząsane (intensywnie napowietrzane); ²U-NW – układy niewytrząsane

Przy braku intensywnego napowietrzania wariantów badawczych uzyskana redukcja substratu w trakcie trwania biodegradacji była wyraźnie mniejsza. Po 28 dniach doświadczenia największy ubytek białka stwierdzono w układzie z kompozytem P-A+M+MM (szczyepy autochtoniczne, muzealne i muzealne modyfikowane genetycznie) – 58,99%. Nieco niższy wynik – 55,25%, zaobserwowano po zastosowaniu kompozytu P-A. Dla pozostałych wariantów redukcja białka była już znacznie niższa, od ok. 10 do blisko 20%. W równoległym procesie bezbaterijnym redukcja białka wahała się od 23 do 38% i podobnie jak w przypadku degradacji tłuszczów

była spowodowana najprawdopodobniej mikroflorą wprowadzoną wraz z odpadem (tab. 3).

Wyniki analizy ilościowej białka w roztworze (układy napowietrzane) przedstawiono w tabeli 4. Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że stężenie białka w roztworze było niewielkie, a także, iż było to najprawdopodobniej białko pochodzenia bakteryjnego, o czym świadczy fakt, że zmiany jego ilości odpowiadały zmianom liczebności bakterii w trakcie trwania biodegradacji (tab. 4,5).

Tabela 4

Zmiana stężenia białka w roztworze w trakcie biodegradacji (układy napowietrzane)

Kompozyt mikrobiologiczny	Stężenie białka (mg/l)				
	Czas trwania doświadczenia				
	1 dzień	7 dni	14 dni	21 dni	28 dni
kontrola	3,0	3,0	3,0	3,0	3,0
P-A	4,8	5,2	7,4	10,4	13,2
P-M	4,4	18,4	5,8	17,2	5,6
P-MM	7,2	8,8	11,4	14,4	13,2
P-A+M	5,6	12,8	11,4	8,8	8,2
P-A+MM	1,6	10,2	9,8	13,8	7,2
P-A+M+MM	3,8	15,8	10,0	9,8	9,2

Tabela 5

Ogólna liczba bakterii w trakcie biodegradacji białka (układy napowietrzane)

Kompozyt mikrobiologiczny	OLB (jtk/ml)				
	Czas trwania doświadczenia				
	1 dzień	7 dni	14 dni	21 dni	28 dni
kontrola	$2,00 \times 10^{11}$	$2,36 \times 10^{11}$	$3,26 \times 10^{11}$	$2,07 \times 10^{11}$	$2,46 \times 10^{11}$
P-A	$3,60 \times 10^{12}$	$1,12 \times 10^{13}$	$1,66 \times 10^{13}$	$2,13 \times 10^{13}$	$1,42 \times 10^{13}$
P-M	$6,10 \times 10^{12}$	$3,20 \times 10^{13}$	$1,57 \times 10^{13}$	$2,80 \times 10^{13}$	$1,20 \times 10^{13}$
P-MM	$1,01 \times 10^{13}$	$1,14 \times 10^{13}$	$1,44 \times 10^{13}$	$8,77 \times 10^{13}$	$1,00 \times 10^{13}$
P-A+M	$4,98 \times 10^{12}$	$2,29 \times 10^{13}$	$1,37 \times 10^{13}$	$1,30 \times 10^{13}$	$1,17 \times 10^{13}$
P-A+MM	$4,90 \times 10^{12}$	$3,31 \times 10^{13}$	$3,62 \times 10^{13}$	$3,82 \times 10^{13}$	$1,40 \times 10^{13}$
P-A+M+MM	$4,20 \times 10^{12}$	$6,61 \times 10^{13}$	$3,95 \times 10^{13}$	$2,95 \times 10^{13}$	$1,28 \times 10^{13}$

W trakcie trwania biodegradacji, ogólna liczba bakterii (OLB) kształtowała się na bardzo wysokim poziomie, przyjmując wartości od 10^{11} do 10^{13} jtk/ml. Wprowadzenie kompozytów mikrobiologicznych w sposób znaczący zwiększyło liczebności bakterii, średnio 100-krotnie w stosunku do próby kontrolnej. We wszystkich wariantach OLB wykazywała tendencję wzrostową, aż do 21. dnia biodegradacji, następnie obserwowano nieznaczny spadek ilości bakterii. Najwyższe wartości OLB w 7 i 14

dniu biodegradacji odnotowano dla wariantu P-A+M+MM i wynosiły one odpowiednio $6,61 \times 10^{13}$ jtk/ml i $3,95 \times 10^{13}$ jtk/ml. Najmniejsze ilości bakterii, w analogicznym okresie, stwierdzono w wariantach odpowiednio P-A i P-A+M (tab. 5).

Na podstawie wyników badań (15-18) dowodzi się, że większą wydajność procesu biodegradacji związków organicznych osiągnięto po zastosowaniu mieszaniny drobnoustrojów, niż pojedynczych szczepów. W badaniach Bieszkiewicz i wsp. (15) i Chingusa i wsp. (16) różnice te wynosiły od 10 do 30%. Podobnie w badaniach własnych najskuteczniejsze w rozkładzie tłuszczu, białek i węglowodanów okazały się kompozyty o zróżnicowanym składzie jakościowym, zawierające obok szczepów autochtonicznych również szczepy z kolekcji zmodyfikowanych genetycznie. Potwierdza to celowość adaptacji mikroflory w kierunku prowadzenia określonego procesu biotechnologicznego.

3.3. Biodegradacja suszonych jabłek i liści oraz drewna

W 56-dniowym procesie biodegradacji susz jabłkowy został zdegradowany całkowicie, najintensywniej proces ten przebiegał w pierwszych 14. dniach, i to zarówno w układzie bakteryjnym – 93,8%, jak i kontrolnym – 79,0%. Równocześnie w pierwszych 2 tygodniach doświadczenia znacznie wzrosło stężenie cukrów w obydwu roztworach. Należy zatem założyć, że w okresie tym do roztworu przeszły cukry proste i dwucukry zawarte w suszu jabłkowym. Ich intensywna biodegradacja nastąpiła dopiero po 4 tygodniach trwania procesu, o czym świadczy spadek zawartości cukrów w wariacie z kompozytem. W układzie kontrolnym ilość cukrów utrzymywała się w tym czasie na stałym poziomie. Zmiana stężenia cukrów prostych w fazie płynnej wynika z tego, że w momencie prawie całkowitego rozkładu polisacharydów, które bakterie CLB rozkładają znacznie intensywniej niż monosacharydy, następował rozkład mono- i disacharydów fazy płynnej (1,19) (tab. 6,7).

Tabela 6

Biodegradacja suszonych jabłek i liści oraz drewna

Rodzaj odpadu	Kompozyt mikrobiologiczny	Redukcja odpadu (%)			
		Czas trwania doświadczenia			
		14 dni	28 dni	42 dni	56 dni
suszone jabłka	kontrola	79,0	82,1	84,4	88,0
	CLB ¹	93,8	97,5	99,2	100,0
suszone liście	kontrola	6,0	15,1	24,7	30,0
	CLB	18,9	24,2	30,3	58,6
drewno	kontrola	2,5	2,6	3,9	4,0
	CLB	2,5	6,4	14,7	17,0

¹CLB – *Cytophaga Like Bacteria* – szczepy autochtoniczne

Tabela 7

Zmiana ilości węglowodanów w roztworze podczas biodegradacji suszonych jabłek i liści oraz drewna

Rodzaj odpadu	Kompozyt mikrobiologiczny	Ilość węglowodanów (mg/100 cm ³)			
		Czas trwania doświadczenia			
		14 dni	28 dni	42 dni	56 dni
suszone jabłka	kontrola	180	225	260	220
	CLB ¹	220	270	110	90
suszone liście	kontrola	15	14	10	9
	CLB	15	100	20	2
drewno	kontrola	12	21	28	29
	CLB	22	30	33	21

¹CLB – *Cytophaga Like Bacteria* – szczepy autochtoniczne

Proces biodegradacji suszonych liści, w pierwszych 14. dniach przebiegał trzy razy szybciej w wariancie z kompozytem CLB i wynosił 18,9%, w porównaniu do układu kontrolnego – 6,0%. W okresie tym ilość cukrów w fazie płynnej nie uległa zmianie, zaczęła ona wzrastać od 14. dnia i była najwyższa w 28. dniu biodegradacji (tab. 6,7).

W pierwszych 2 tygodniach ubytek masy odpadu spowodowany był rozkładem cukrów prostych do CO₂ i H₂O i dlatego nie stwierdzono ich obecności w roztworze. W kolejnych 14. dniach dynamika zmiany masy odpadów była podobna, ale ilość cukrów w roztworze znacznie wzrosła. Prawdopodobnie nastąpił w tym okresie rozkład wielocukrów do cukrów prostych, lecz aktywność bakterii była na tyle słaba, że cukry proste nie ulegały dalszym przemianom. Dopiero w ostatnich 14. dniach doświadczenia aktywność biodegradacyjna szczepów CLB znacznie wzrosła i masa liści zmalała o 58,6%, a stężenie cukrów w roztworze spadło do 2,0%. W układzie kontrolnym redukcja odpadu wynosiła 30%, a ilość cukrów w roztworze utrzymywała się na stałym poziomie od 14. dnia biodegradacji (tab. 6,7).

Proces biodegradacji drewna przebiegał bardzo powoli. Początek tendencji spadkowej masy drewna obserwowano w wariancie z kompozytem między 14-21. dniem, natomiast w kontroli od 28. dnia biodegradacji. Po 56 dniach redukcja masy drewna wynosiła odpowiednio 17,0 i 4,0%. W drewnie celuloza stanowi ok. 50% masy reszta to hemiceluloza, ligniny, których nie rozkładają bakterie celulolityczne i dlatego też celuloza zawarta w drewnie uległa rozkładowi w ok. 30% (1). Zawartość cukrów prostych w fazie płynnej wykazywała tendencję wzrostową aż do 42. dnia trwania procesu, zarówno w wariancie z kompozytem, jak i w kontroli, po czym spadła w układzie z CLB. Proces ten związany był z wyflukiwaniem cukrów prostych z odpadu w początkowej fazie biodegradacji, a następnie ich rozkładem w układzie bakteryjnym (tab. 6).

4. Wnioski

1. Najwyższą średnią (92,20%) redukcję substancji tłuszczowych (tłuszcz roślinny i zwierzęcy) stwierdzono po zastosowaniu kompozytu L-A+MM.

2. Kinetyka biodegradacji tłuszczów była współzależna do zmiany liczebności bakterii w wariantach badawczych.

3. W trakcie trwania procesu biodegradacji zarówno liczebność bakterii, jak i redukcja substancji tłuszczowych były wyższe w wariantach zawierających substrat pochodzenia zwierzęcego.

4. Silne napowietrzanie układów doświadczalnych w sposób znaczący zwiększyło intensywność procesu biodegradacji białka.

5. Najwyższą średnią redukcję białka (układy wytrząsane – 87,78% i niewytrząsane – 58,95%) odnotowano dla kompozytu P-A+M+MM.

6. Bakterie lipolityczne i proteolityczne najwyższą zdolność biodegradacyjną uzyskują w mieszaninie szczepów autochtonicznych i muzealnych modyfikowanych genetycznie.

7. Testowany kompozyt bakterii celulolitycznych rozkładał całkowicie susz jabłkowy, susz z liści w 58,6%, natomiast celulozę w ok. 30% po 8 tygodniach biodegradacji.

Literatura

1. Bujak S., Targoński Z., (1988), *Postępy Mikrobiologii*, 27(3), 211-241.
2. Holt J. G., Krieg N. R., (1984), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Williams & Wilkins, Baltimore.
3. Slonimski P., Perrodin G., Croft J., (1968), *Biochim. Biophys. Res. Comm.*, 30, 232-239.
4. Winogradski S., (1953), *Mikrobiologia gleby. Problemy i metody*, PWRiL, Warszawa.
5. PN-75C-04615. Badania mikrobiologiczne. Oznaczania ogólnej liczby bakterii metodą płytkową.
6. PN-76/R-64753. Oznaczanie zawartości tłuszczu surowego.
7. Mejbaun-Katzenellenbogen W., Mochnacka I., (1969), *Kurs praktyczny z biochemii*, PWN, Warszawa.
8. Latała A., Wierzba S., Latała B., (2000), *Biotechnologia*, 1(48), 124-134.
9. Latała A., Wierzba S., Latała B., (2001), Międzynarodowa konferencja naukowa – „Kształtowanie środowiska”, Olsztyn, 465-466.
10. Wierzba S., Latała A., Latała B., (2000) *Biotechnologia*, 3(50), 193-201.
11. Bernal M. P., Navarro A. F., Sanchez-Monedero M. A., Roig A., Cegarra J., (1998), *Soil Biol. Biochem.*, 30(3), 305-313.
12. Farbiszewska T., Farbiszewska-Bajer J., Sudol T., (1995), *Fizykochemiczne Problemy Mineralurgii*, 29, 151-156.
13. Kołżan B., Steininger M., (1996), International Conference on Analysis and Utilisation of Oily Wastes, AUZO'96, 299-304.
14. Riis V., Brandt M., Miethe D., Babel W., (2000), *Chemosphere*, 41, 1001-1006.
15. Bieszkiewicz E., Mycielski R., Boszczyk-Maleszak H., Wyszowska B., (1997), *Biotechnologia*, 1(36), 70-78.
16. Chigusa K., Hasegawa T., Yamamoto N., Watanabe Y., (1996), *Wat. Sci. Tech.*, 34(11), 51-58.
17. Cybulski Z., Dziurla E., Kaczorek E., Olszanowski A., Voelkel A., (1996), International Conference on Analysis and Utilisation of Oily Wastes, AUZO'96, 287-292.
18. Grulois P., Alric G., Brochon J. P., Bridoux G., Manem J., (1993), *Tech. Sci. Methodes.*, 5, 247-251.
19. Frąk M., El-Haj K. O., Russem S., (1998), *Zeszyty Naukowe Akademii Rolniczej we Wrocławiu*, 332, 121-129.