

Testowanie *in vitro* biopreparatów dostępnych komercyjnie:

- NSH 611.013 (EKOB-TBA)
- BIO ACTIV HGS 28 (EKOB-TBA)

Celem przetestowania biopreparatów wykonano rozcieńczenia w wodzie/rozpuszczalnikach organicznych związków ropopochodnych, pestycydów, resztek poźniwnych (roztarte wcześniej w moździerzu) w stosunku 1:1, 1:2, 1:3, 1:5, 1:8. Ponadto, wykonano mieszaniny zanieczyszczeń: związki ropopochodne + pestycydy, związki ropopochodne + resztki poźniwne, resztki poźniwne + pestycydy, związki ropopochodne + resztki poźniwne + pestycydy w rozcieńczeniach 1:1, 1:8. Na jałowe płytki z agarem naniesiono 1 ml roztworu zanieczyszczenia lub mieszaniny zanieczyszczeń, po czym rozprowadzić przy użyciu głaszczki. Po upływie 5 minut nakropiono po 4 x 50 µl odpowiedniego biopreparatu. Szalki inkubowano w inkubatorze mikrobiologicznym w temperaturze 30°C przez 7 dni.

Wyniki:

Na podstawie obserwacji wzrostu kolonii mikroorganizmów (przykłady w załączniku) określono:

- selektywność biopreparatów wobec danego zanieczyszczenia:

Tab.1. Selektywność biopreparatów w stosunku do zanieczyszczeń

zanieczyszczenie	Selektywność preparatu	
	BIO ACTIV HGS 28	NSH 611.013
smar	+++	-
pestycyd	+	-
resztki poźniwne	++++	-

Oznaczenia selektywności dokonano na podstawie poniższej skali:

- + ++ +++ ++++



- nie biodegradowujący zanieczyszczenia lub poniżej 5%,
- + - biodegradowujący zanieczyszczenie do 25%,
- ++ - biodegradowujący zanieczyszczenie do 50%,
- +++ - biodegradowujący zanieczyszczenie do 75%,
- ++++ - biodegradowujący zanieczyszczenie w przedziale 95 - 100%,

Najintensywniejszy wzrost mikroorganizmów wykazano na podłożu z dodatkiem resztek poźniwnych, co wskazuje na dużą zdolność, w przedziale 95 - 100%, do biodegradacji tych zanieczyszczeń z zastosowaniem preparatu **BIO ACTIV HGS 28**. Dodatek smaru do podłoża spowodował słabszy wzrost mikroorganizmów, co pozwala oszacować zdolności do biodegradacji związków ropopochodnych (np. smaru) na poziomie do 75%. Najniższą zdolność do biodegradacji – do 25% wykazano w przypadku zanieczyszczenia pestycydem. Test z użyciem **NSH 611.013** wykazał brak biodegradacji lub biodegradację poniżej 5% w przypadku wszystkich badanych zanieczyszczeń (Tab.1).

- swoistości degradacji zanieczyszczeń mieszanych

Tab.2. Selektywność biopreparatów w stosunku do zanieczyszczeń mieszanych

zanieczyszczenie	Selektywność preparatu	
	BIO ACTIV HGS 28	NSH 611.013
Smar + pestycyd	+	-
Smar + resztki poźniwne	++++	-
Resztki poźniwne + pestycyd	+++	-
Smar + resztki poźniwne + pestycyd	+	-

Dodatkowo wykonano test z wykorzystaniem zanieczyszczeń mieszanych. W przypadku zastosowania **BIO ACTIV HGS 28** wyniki pozwoliły wykazać, iż dodatek pestycydu działa toksycznie na wzrost mikroorganizmów odpowiedzialnych za biodegradację resztek poźniwnych zmniejszając zdolność do ich rozkładu z 95 - 100% do < 75%. Zaobserwowano również obniżenie stopnia biodegradacji smaru poprzez dodatek pestycydu z < 75% do < 25%. Nie

wykazano natomiast wpływu dodatku smaru na biodegradację resztek poźniwnych, zdolność do biodegradacji utrzymywała się na poziomie 95 - 100%. Test z użyciem **NSH 611.013** wykazał brak biodegradacji lub biodegradację poniżej 5% w każdym analizowanym przypadku (Tab.2).

- szereg zanieczyszczeń biodegradowalnych dla poszczególnych biopreparatów.

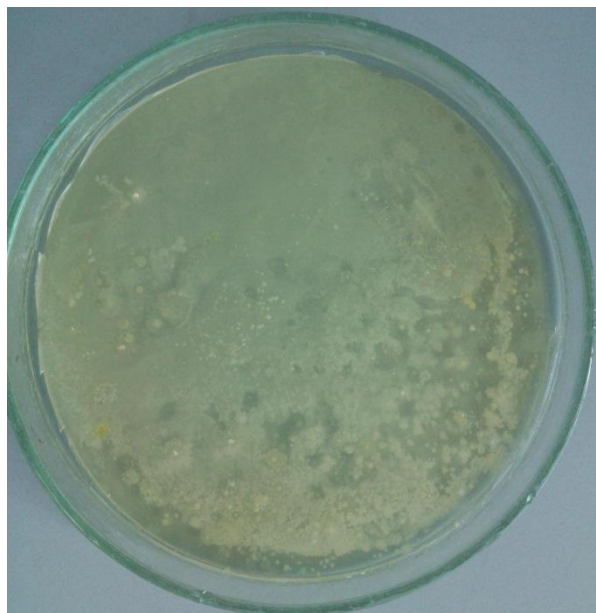
Na podstawie obserwacji wzrostu mikroorganizmów wykonano szereg zanieczyszczeń biodegradowalnych. Preparat **BIO ACTIV HGS 28** najłatwiej rozkłada resztki poźniwne, a następnie smar i pestycyd. **Resztki poźniwne > smar > pestycyd**. W przypadku preparatu **NSH 611.013** nie stwierdzono wzrostu mikroorganizmów w żadnej kombinacji, co uniemożliwiło stworzenie szeregu zanieczyszczeń biodegradowalnych dla tego preparatu.

Wnioski:

1. Testując biopreparat **BIO ACTIV HGS 28** stwierdzono wzrost mikroorganizmów na podłożu z dodatkiem wszystkich badanych zanieczyszczeń (smar, pestycyd, resztki poźniwne) oraz ich mieszanek.
2. Testując biopreparat **NSH 611.013** nie stwierdzono wzrostu mikroorganizmów na podłożu z dodatkiem badanych zanieczyszczeń (smar, pestycyd, resztki poźniwne) oraz ich mieszanek.
3. Uzyskane wyniki pozwoliły określić szereg zanieczyszczeń biodegradowalnych dla preparatu **BIO ACTIV HGS 28: resztki poźniwne > smar > pestycyd**.

Załącznik

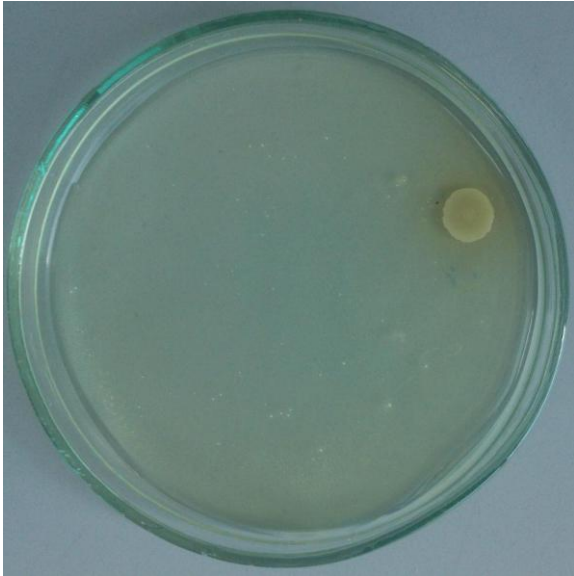
Wzrost mikroorganizmów na podłożu agarowym z dodatkiem różnych zanieczyszczeń i **BIO ACTIV HGS 28**.



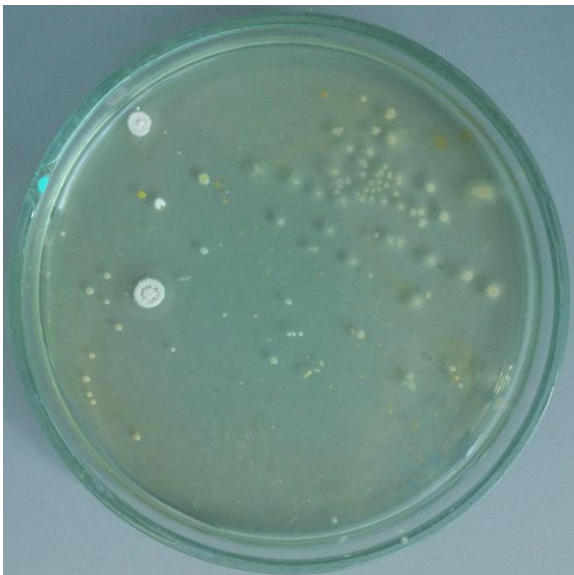
Rys.1. Wzrost kolonii mikroorganizmów na podłożu z dodatkiem resztek poźniwnych.



Rys.2. Wzrost kolonii mikroorganizmów na podłożu z dodatkiem smaru.



Rys.3. Wzrost kolonii mikroorganizmów na podłożu z dodatkiem pestycydu.



Rys.4. Wzrost kolonii mikroorganizmów na podłożu z dodatkiem resztek poźniwnych i pestycydu.



Rys.5. Wzrost kolonii mikroorganizmów na podłożu z dodatkiem smaru, resztek poźniwnych i pestycydu.

Opracowano przez studentów Biotechnologii Katolickiego Uniwersytetu Lubelskiego Jana Pawła II na zajęciach z *Technik bioremediacji z udziałem bakterii*. Prowadzący: dr Agnieszka Wolińska, dr Agnieszka Kuźniar, mgr Weronika Goraj.