



## Ocena aktywności biodegradacyjnej wybranych szczepów bakterii lipolitycznych

Adam Latała, Sławomir Wierzba

Katedra Biologii Stosowanej i Eksperymentalnej, Uniwersytet Opolski,  
Opole

### Assessment of biodegradation activity of selected strains of lipolytic bacteria

#### Summary

The existing experience point out to the fact that the application of microbiological methods to degrade fat contained in organic waste is the most effective method of their biodegradation. The efficacy of this method depends on the rational screening of fat biodegrading microorganisms. The examination assesses the lipolytic activity and the efficacy of waste oil biodegradation by selected lipolytic bacteria. The examination was carried out in laboratory conditions and it assessed such values as lipolytic activity, total bacteria count including lipolytic bacteria and the amount of fatty substances. Both archived strains and strains isolated from organic waste were used in the examination. The highest lipolytic activity was manifested by the bacteria of the *Bacillus* and *Pseudomonas* strains, including *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas fragi*. For those strains, the fatty substance reduction after 7 days of culturing was between 50 and 60%.

#### Key words:

lipolytic activity, biodegradation, fatty waste.

#### Adres do korespondencji

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

### 1. Wstęp

Konsekwencją rozwoju gospodarczego, wzrostu liczby ludności i masowej produkcji dóbr konsumpcyjnych jest powstawanie dużych ilości odpadów przemysłowych i gospodarczych. Unieszkodliwianie wzrastającej systematycznie masy odpadów,

szczególnie w obszarach przemysłowych i zurbanizowanych, stanowi ważny problem w ochronie środowiska. W naszym kraju na składowiskach zgromadzonych jest około 10 mln ton odpadów organicznych, z czego ponad połowę stanowią odpady przemysłu spożywczego, m. in. tłuszczowego (1). Problem ich utylizacji i zagospodarowania nabiera coraz większego znaczenia. Z dotychczasowych doświadczeń wynika, że zastosowanie metod mikrobiologicznych do rozkładu substancji tłuszczowych zawartych w odpadach organicznych stanowi najbardziej racjonalny sposób ich utylizacji (2-10). Aby można było takie metody wykorzystać, trzeba przede wszystkim dysponować odpowiednimi, specjalnie do tego celu wyselekcjonowanymi zestawami drobnoustrojów oraz ustalić czynniki determinujące ich skuteczne i bezpieczne użycie w warunkach naturalnych. Rozkładem wielkocząsteczkowych związków tłuszczu zajmuje się specyficzna grupa bakterii lipolitycznych. Drobnoustroje te wytwarzają lipazy (hydrolazy acyloglicerolowe – HAG) katalizujące reakcje estryfikacji, transestryfikacji, syntezy oraz przede wszystkim hydrolizy substancji tłuszczowych (11,12).

Celem prowadzonych badań była ocena aktywności lipolitycznej i skuteczności biodegradacji tłuszczu odpadowego przez wybrane szczepy bakterii lipolitycznych, pochodzące z kolekcji i izolowane z odpadów organicznych.

## **2. Materiał i metody badań**

### **2.1. Odpady gospodarcze**

Odpady gospodarcze, o średniej zawartości substancji tłuszczowych od 10 do 15%, pochodziły z gospodarstw rolnych i zakładów przetwórstwa spożywczego z okolic Opola.

### **2.2. Izolacja bakterii autochtonicznych**

Izolację mikroflory autochtonicznej przeprowadzono metodą pasażowania (3,13,14) na pożywce mineralnej (PM) o składzie:  $(\text{NH}_4)\text{SO}_4$  – 0,2%,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 0,3%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,2%,  $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  – 0,05%, pH podłoża ok. 7,0. Do podłoża dodawano substancji tłuszczowych wyekstrahowanych z odpadów metodą Soxleta (15), w formie zemulgowanej z dodatkiem 1% Tween 80. Ze sporządzonego wyciągu wodnego odpadów gospodarczych w płynie fizjologicznym, inkubowanego przez 72 h (w warunkach głodowych w stosunku do mikroflory przypadkowej), pobrano 10 ml przesącza, którym zaszczepiono 90 ml PM z dodatkiem 0,1% substancji tłuszczowych. Co 7 dni dokonywano pasażu hodowli na PM z większym stężeniem tłuszczu, kolejno – 1, 2, 3, 4 i 5%. Wszystkie hodowle napowietrzano i wytrząsano

w temp. 30°C. Dla zaadaptowanej do 5% stężenia substancji tłuszczowych hodowli przeprowadzono jakościowe badania bakteriologiczne (2.5).

### 2.3. Szczepy pochodzące z kolekcji

Szczepy z kolekcji dobierano pod względem zdolności produkcji lipaz na podstawie danych literaturowych (16,17). Z kolekcji własnej Katedry Biologii Stosowanej i Eksperymentalnej wybrano 9 szczepów bakterii: *Pseudomonas fluorescens*, *P. fragi*, *P. putida*, *Bacillus subtilis*, *B. coagulans*, *B. macerans*, *B. megaterium*, *Streptococcus* sp. i *Micrococcus luteus*.

### 2.4. Ilościowe badania bakteriologiczne

Ogólną liczbę bakterii (OLB) oznaczano metodą hodowlano-płytkową według normy PN-75/C-04615 (18).

### 2.5. Jakościowe badania bakteriologiczne

Diagnostykę bakterii przeprowadzono z uwzględnieniem cech hodowlanych, morfologicznych oraz biochemicznych. Testy biochemiczne wykonywano metodą tradycyjną oraz z wykorzystaniem mikroanalizatora mini API. Identyfikację wybranych grup bakterii przeprowadzono opierając się na metodzie Holta i Kriega (16).

### 2.6. Określenie aktywności lipolitycznej metodą dyfuzyjną wg Lawrence'a (19)

Oznaczenie przeprowadzono na podłożu z tributyriną (20) o pH 7,0, z dodatkiem 1% Tween 80 i 0,1% CaCl<sub>2</sub> (21). Badane szczepy namnażano na PM z dodatkiem 1% substancji tłuszczowych, 0,1% glukozy i 0,1% ekstraktu drożdżowego w temp. 30°C do gęstości 10<sup>7</sup> jtk/ml. Następnie na powierzchni podłoża wycinano studzienkę o promieniu 5,0 mm ( $r$ ), do której wprowadzano 0,5 ml zawiesiny badanego szczepu. Inkubację prowadzono w temp. 30°C przez 48 h – bakterie i 72 h – drożdże. Miarą aktywności lipolitycznej był promień strefy rozjaśnienia podłoża ( $R$ ) wyrażony w mm. Oceny uzdolnień enzymatycznych dokonano wg Ionita i wsp. (21) na podstawie wartości obliczonego współczynnika  $R/r$  ( $R$  – promień strefy rozjaśnienia podłoża,  $r$  – promień studzienki). Wysoką aktywnością charakteryzowały się szczepy dla których  $R/r > 2,0$ , średnią –  $1,0 < R/r < 2,0$ , a niską –  $R/r < 1,0$ .

## 2.7. Oznaczenie ilościowe substancji tłuszczowych

Oznaczenie polegało na wagowym określeniu w badanych próbach zawartości substancji tłuszczowych poprzez ekstrakcje eterem naftowym w oparciu na PN-76R-64753 (15).

## 2.8. Ocena biodegradacji substancji tłuszczowych

Wybrane szczepy autochtoniczne i pochodzące z kolekcji namnażano na PM z dodatkiem 0,1% substancji tłuszczowych, 1g/l glukozy i 1g/l ekstraktu drożdżowego przez 48 h w temp. 30°C do gęstości  $10^7$  jtk/ml. Następnie hodowlą każdego szczepu szczepiono 50 ml PM zawierającej kolejno 1, 2, 3, 4, 5 i 6% tłuszczu. Równocześnie nastawiono próbę kontrolną z tymolem bez bakterii. Hodowle prowadzono w kolbach o pojemności 300 cm<sup>3</sup>, które napowietrzano i wytrząsano w temp. 30°C. Po 7 dniach inkubacji dla każdej hodowli oznaczano OLB (2.4) i ilość substancji tłuszczowych (2.7).

## 3. Wyniki i omówienie wyników

Wśród bakterii wyizolowanych z odpadów gospodarczych, zidentyfikowano m. in. *Acinetobacter junii*, *Serratia liquefaciens*, *Pseudomonas fluorescens*, *E. coli*, *Hafnia alvei*, *Enterobacter amnigenus*, *Enterobacter gergoviea*, *Klebsiella* sp., *Aeromonas hydrophila*. Ocenę aktywności lipolitycznej przeprowadzono dla 6 wybranych szczepów autochtonicznych: *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella* sp., *E. coli*, *Aeromonas hydrophila*, *Acinetobacter junii*, charakteryzujących się dobrym wzrostem na podłożu z tributyriną oraz 8 szczepów pochodzących z kolekcji (tab. 1 i 2).

Tabela 1

Aktywność lipolityczna szczepów autochtonicznych

Rodzaj szczepu	Aktywność lipolity (mm)	R/r <sup>1</sup>	Ocena aktywności lipolity <sup>2</sup>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	13	2,6	wysoka
<i>Serratia liquefaciens</i>	11	2,2	wysoka
<i>Klebsiella</i> sp.	10	2,0	wysoka
<i>E. coli</i>	6	1,2	średnia
<i>Aeromonas hydrophila</i>	11	2,2	wysoka
<i>Acinetobacter junii</i>	7	1,4	średnia

Tabela 2

## Aktywność lipolityczna szczepów z kolekcji

Rodzaj szczepu	Aktywność lipolity (mm)	R/r <sup>1</sup>	Ocena aktywności lipolity <sup>2</sup>
<i>Pseudomonas fragi</i>	12	2,4	wysoka
<i>Pseudomonas putida</i>	8	1,6	średnia
<i>Bacillus subtilis</i>	12	2,4	wysoka
<i>Bacillus megaterium</i>	11	2,2	wysoka
<i>Bacillus coagulans</i>	9	1,8	średnia
<i>Bacillus macerans</i>	11	2,2	wysoka
<i>Proteus vulgaris</i>	5	1,0	niska
<i>Micrococcus luteus</i>	4	0,8	niska

<sup>1</sup> R/r – współczynnik aktywności lipolitycznej, gdzie: R – promień strefy rozjaśnienia podłoża, r – promień studzienki (5 mm); <sup>2</sup> oceny aktywności lipolitycznej dokonano w oparciu na wartości współczynnika R/r, R/r > 2,0 – wysoka, 1,0 < R/r < 2,0 – średnia, R/r < 1,0 – niska.

Z oznaczeń wykonanych metodą dyfuzyjną wg Lawrence'a (19) wynika, że spośród bakterii autochtonicznych wysoką zdolnością do wytwarzania hydrolaz acyloglicerolowych (HAG) charakteryzowały się: *Pseudomonas fluorescens* (wartość współczynnika R/r – 2,6), *Serratia liquefaciens* (2,2), *Aeromonas hydrophila* (2,2) i *Klebsiella* sp. (2,0). U drobnoustrojów pochodzących z kolekcji wysoką zdolność do syntezy HAG stwierdzono dla *Pseudomonas fragi* (2,4), *Bacillus subtilis* (2,4), *B. megaterium* (2,2) i *B. macerans* (2,2), niską natomiast dla *Proteus vulgaris* (1,0) i *Micrococcus luteus* (0,8). Aktywność enzymatyczna pozostałych szczepów, zarówno autochtonicznych, jak i pochodzących z kolekcji kształtowała się na średnim poziomie (tab. 1 i 2).

Wysoką aktywność lipolityczną bakterii z rodzaju *Bacillus* i *Pseudomonas* podkreślają badania wielu autorów (6,12,17,22-26), tylko w nielicznych doniesieniach wskazuje się na możliwość syntezy lipaz przez *Proteus vulgaris* i *Micrococcus luteus* (25,27). Skuteczność działania enzymów lipolitycznych uzależniona jest od wielu czynników zewnętrznych, z których największy wpływ mają pH i temperatura (11,28). Lipazy, mimo że są aktywne w szerokim zakresie pH i temperatury, to jednak maksymalną wydajność osiągają dla określonych wartości tych parametrów (11,24,29). Z badań licznych autorów wynika (11,28,29), że temperatura hodowli i pH pożywki optymalne dla wzrostu drobnoustrojów nie zawsze pokrywają się z wartościami odpowiednimi dla biosyntezy enzymów. Według licznych autorów (12,17,24,29) lipazy efektywniej prowadzą hydrolizę tłuszczów, a następnie lepiej je przyswajają w układach emulsyjnych, otrzymanych za pomocą metod mechanicznych lub przez dodatek emulgatorów takich jak Tween 80. W badaniach własnych warunki hodowli: pH 7,0, temperatura 30°C, dodatek Tween 80 były jednakowe dla wszystkich testowanych szczepów, co mogło być przyczyną pewnych różnic w ocenie ich aktywności lipolitycznej, w stosunku do danych literaturowych (6,12,17,22-27).

Oceny biodegradacji substancji tłuszczowych wyekstrahowanych z odpadów gospodarczych przez testowane szczepy, dokonano na podstawie badań ilościowych tłuszczu i określenia ogólnej liczby bakterii (OLB), w hodowlach 7-dniowych (tab. 3-6). W badaniach wielu autorów (30-32) wzmożona aktywność życiowa drobnoustrojów występowała zwłaszcza w początkowym etapie trwania hodowli. Bieszkiewicz i wsp. (30) w trakcie pierwszych 7 dni inkubacji zaobserwowali rozkład olejów wynoszący 30-50%. Również Marty i wsp. (32) w procesie bakteryjnego rozkładu kwasów tłuszczowych i steroli odnotowali 75-90% redukcję już po pierwszym tygodniu badań.

W badaniach własnych obserwowano pozytywny wpływ zwiększających się stężeń substratu tłuszczowego na zdolność do jego biodegradacji i wzrost liczebności wszystkich testowanych szczepów. W przypadku pałeczek, zarówno izolowanych z odpadów, jak i pochodzących z kolekcji, OLB i redukcja tłuszczu rosła w zakresie stężeń od 1 do 4%. Po 7 dniach biodegradacji najwyższy spadek ilości tłuszczu, przy 4% jego udziale w pożywce, obserwowano dla szczepów: *Pseudomonas fluorescens* – 62,1% i *Pseudomonas fragi* – 61,5%, przy wzroście ich liczebności do wartości odpowiednio  $8,49 \times 10^7$  jtk/ml i  $8,87 \times 10^7$  jtk/ml. W identycznych warunkach hodowlanych o około 10% niższą redukcją substancji tłuszczowych charakteryzowały się spośród bakterii autochtonicznych: *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella* sp. i *Aeromonas hydrophila*, natomiast spośród szczepów z kolekcji – *Pseudomonas putida*. Adekwatny do uzyskanych niższych wyników redukcji tłuszczu był również spadek OLB dla wymienionych bakterii (tab. 3-6).

Tabela 3

## Biodegradacja substancji tłuszczowych przez szczepy autochtoniczne

Rodzaj szczepu	Redukcja substancji tłuszczowych (%)					
	Zawartość substancji tłuszczowych w pożywce (%)					
	1	2	3	4	5	6
kontrola	5,7	4,0	5,3	5,3	5,1	4,7
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	44,1	48,0	53,2	62,1	46,8	39,6
<i>Serratia liquefaciens</i>	39,4	43,1	47,5	54,4	43,2	38,1
<i>Klebsiella</i> sp.	38,6	44,2	48,5	53,0	42,3	36,5
<i>E. coli</i>	31,6	33,5	36,5	40,2	35,8	33,1
<i>Aeromonas hydrophila</i>	37,9	42,4	46,7	49,8	44,2	38,6
<i>Acinetobacter junii</i>	32,4	35,6	39,1	43,1	42,2	37,9

Tabela 4

## Biodegradacja substancji tłuszczowych przez szczepy z kolekcji

Rodzaj szczepu	Redukcja substancji tłuszczowych (%)					
	Zawartość substancji tłuszczowych w pożywce (%)					
	1	2	3	4	5	6
kontrola	5,7	4,0	5,3	5,3	5,1	4,7
<i>Pseudomonas fragi</i>	45,6	47,8	52,4	61,5	48,3	37,8
<i>Pseudomonas putida</i>	36,9	38,6	42,1	48,8	44,8	38,3
<i>Bacillus subtilis</i>	34,2	39,9	43,8	48,9	52,9	54,4
<i>Bacillus megaterium</i>	33,1	37,9	42,0	47,2	50,7	52,4
<i>Bacillus coagulans</i>	30,1	37,2	40,5	44,2	48,2	48,6
<i>Bacillus macerans</i>	32,6	38,1	42,9	44,5	48,9	50,1
<i>Proteus vulgaris</i>	15,6	19,8	22,3	26,1	24,6	22,1
<i>Micrococcus luteus</i>	10,2	14,3	18,6	19,1	17,4	13,8

Tabela 5

## Liczebność szczepów autochtonicznych w trakcie biodegradacji

Rodzaj szczepu	Ogólna liczba komórek (jtk/ml)					
	Zawartość substancji tłuszczowych w pożywce (%)					
	1	2	3	4	5	6
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	$4,36 \times 10^7$	$5,42 \times 10^7$	$6,81 \times 10^7$	$8,49 \times 10^7$	$4,21 \times 10^7$	$2,36 \times 10^7$
<i>Serratia liquefaciens</i>	$2,95 \times 10^7$	$3,42 \times 10^7$	$3,99 \times 10^7$	$5,39 \times 10^7$	$4,01 \times 10^7$	$3,70 \times 10^7$
<i>Klebsiella</i> sp.	$3,51 \times 10^7$	$4,44 \times 10^7$	$5,19 \times 10^7$	$6,45 \times 10^7$	$3,65 \times 10^7$	$3,24 \times 10^7$
<i>E. coli</i>	$1,23 \times 10^7$	$2,57 \times 10^7$	$3,71 \times 10^7$	$4,14 \times 10^7$	$2,76 \times 10^7$	$1,02 \times 10^7$
<i>Aeromonas hydrophila</i>	$2,94 \times 10^7$	$3,21 \times 10^7$	$4,09 \times 10^7$	$4,78 \times 10^7$	$4,37 \times 10^7$	$3,13 \times 10^7$
<i>Acinetobacter junii</i>	$1,06 \times 10^7$	$2,92 \times 10^7$	$4,11 \times 10^7$	$4,48 \times 10^7$	$3,21 \times 10^7$	$2,96 \times 10^7$

Tabela 6

## Liczebność szczepów z kolekcji w trakcie biodegradacji

Rodzaj szczepu	Ogólna liczba komórek (jtk/ml)					
	Zawartość substancji tłuszczowych w pożywce (%)					
	1	2	3	4	5	6
<i>Pseudomonas fragi</i>	$4,51 \times 10^7$	$5,64 \times 10^7$	$6,29 \times 10^7$	$8,87 \times 10^7$	$5,55 \times 10^7$	$3,53 \times 10^7$
<i>Pseudomonas putida</i>	$3,43 \times 10^7$	$3,57 \times 10^7$	$4,51 \times 10^7$	$5,84 \times 10^7$	$3,96 \times 10^7$	$3,02 \times 10^7$
<i>Bacillus subtilis</i>	$3,31 \times 10^7$	$3,47 \times 10^7$	$4,29 \times 10^7$	$4,83 \times 10^7$	$5,17 \times 10^7$	$5,59 \times 10^7$
<i>Bacillus megaterium</i>	$3,01 \times 10^7$	$3,18 \times 10^7$	$3,79 \times 10^7$	$4,63 \times 10^7$	$5,02 \times 10^7$	$5,53 \times 10^7$
<i>Bacillus coagulans</i>	$3,09 \times 10^7$	$3,12 \times 10^7$	$3,66 \times 10^7$	$4,72 \times 10^7$	$4,93 \times 10^7$	$4,98 \times 10^7$
<i>Bacillus macerans</i>	$3,32 \times 10^7$	$3,34 \times 10^7$	$4,21 \times 10^7$	$4,92 \times 10^7$	$4,81 \times 10^7$	$5,23 \times 10^7$
<i>Proteus vulgaris</i>	$2,29 \times 10^6$	$4,12 \times 10^6$	$9,36 \times 10^6$	$1,02 \times 10^7$	$8,93 \times 10^6$	$5,25 \times 10^6$
<i>Micrococcus luteus</i>	$1,32 \times 10^6$	$2,44 \times 10^6$	$8,51 \times 10^6$	$9,94 \times 10^6$	$7,10 \times 10^6$	$3,28 \times 10^6$

Uzyskane wyniki badań potwierdzili Becker i wsp. (2), którzy również odnotowali znaczną indukcję aktywności mikroflory lipolitycznej przez wzrastające stężenie substratu tłuszczowego (oliwa z oliwek) w przedziale od 1 do 4%. Również Cybulski i wsp. (31) w 7-dniowych hodowlach o niewielkim stężeniu węglowodorów (ok. 2%), największą redukcję odnotowali dla szczepów z rodzaju *Pseudomonas*, w tym: *P. areuginosa* (ok. 55%), *P. putida* (ok. 36%). OLB odnotowana dla tych bakterii wynosiła odpowiednio  $9,00 \times 10^7$  jtk/ml i  $7,00 \times 10^7$  jtk/ml. Z kolei Galas i wsp. (33) prowadząc skrining szczepów wyizolowanych ze ścieków petrochemicznych, stwierdzili wprost proporcjonalną zależność aktywności enzymatycznej bakterii z rodzaju *Pseudomonas* i *Bacillus* od zawartości oleju napędowego w pożywce, ale w znacznie większym zakresie od 2 do 12%.

Z tabel 4 i 6 wynika, że nieco inny przebieg biodegradacji substancji tłuszczowych obserwowano z użyciem laseczek tlenowych z rodzaju *Bacillus*, które lepiej tolerowały wyższe stężenia substratu. Przy 6% udziale tłuszczu w pożywce jego redukcja wahała się od 48,6 dla *Bacillus coagulans* do 54,4% dla *Bacillus subtilis*, a liczba komórek odpowiednio od  $4,98 \times 10^7$  jtk/ml do  $5,59 \times 10^7$  jtk/ml. Podobnie Galas i wsp. (33) najwyższe zużycie węglowodorów po 9 dniach inkubacji, przy ich 6% stężeniu w pożywce, uzyskali dla szczepów z rodzaju *Bacillus* – wyniki wahały się od 70 do 90%. Odnotowany przez autorów przyrost biomasy laseczek tlenowych był ponad 60% wyższy w hodowlach z 10% udziałem oleju, niż w próbach zawierających 2% substratu. Przystosowanie szczepów z rodzaju *Bacillus* do wysokich stężeń substratu mogło wynikać ze stosunkowo wysokiej zdolności tych bakterii do emulgowania nierozpuszczalnego w wodzie związku np. oleju, tłuszczu itp. W opinii Galasa i wsp. (33) słabsze właściwości pod tym względem wykazywały pałeczki z rodzaju *Pseudomonas*.

Najmniejszą aktywność biodegradacyjną stwierdzono dla szczepów pochodzących z kolekcji: *Proteus vulgaris* i *Micrococcus luteus* – maksymalny ubytek substancji tłuszczowych wynosił 26,1 i 19,1%. Również OLB była dla wymienionych mikroorganizmów blisko 10-krotnie niższa w stosunku do szczepów najaktywniejszych (tab. 4,6).

Odnotowana redukcja substancji tłuszczowych w układach kontrolnych (4,0-5,7%) wynikała z faktu, że lipidy mogły ulegać reakcjom autooksydacji, hydrolizy i polimeryzacji, również bez udziału enzymów syntetyzowanych przez drobnoustroje. Przemiany zachodzące pod wpływem tlenu atmosferycznego mogły być inicjowane, inhibowane lub zmieniane przez wiele czynników, tj. enzymy, antyprooksydanty, temperatura, światło, pH i metale, np. miedź, kobalt, żelazo, chrom (12,17) (tab. 3,4).

#### 4. Wnioski

1. Wśród testowanych szczepów najwyższą aktywnością lipolityczną charakteryzowały się bakterie z rodzajów *Bacillus* i *Pseudomonas* izolowane zarówno z odpadów gospodarczych, jak i pochodzące z kolekcji.



2. Optymalną aktywność biodegradacyjną pałeczki z rodzaju *Pseudomonas* uzyskiwały przy 4% stężeniu tłuszczu, natomiast laseczki tlenowe z rodzaju *Bacillus* przy jego 6% zawartości w pożywce.

3. W trakcie 7-dniowych hodowli ubytek substancji tłuszczowych był wprost proporcjonalny do liczebności bakterii, największe wartości tych parametrów stwierdzono dla: *Pseudomonas fluorescens* (szczep autochtoniczny) i *Pseudomonas fragi* (szczep z kolekcji).

## Literatura

1. Patorczyk-Pytlik B., Spiak Z., Gediga K., (1999), *Fol. Univ. Agric. Stetin. 200 Agricultura*, 77, 311-316.
2. Becker P., Köster D., Popov M. N., Markossian S., Antranikian G., Markl H., (1999), *Wat. Res.*, 33(3), 653-660.
3. Chmiel A., (1998), *Biotechnologia leków*, PWN, Warszawa.
4. Grulois P., Alric G., Brochon J. P., Bridoux G., Manem J., (1993), *Tech. Sci. Methodes.*, 5, 247-251.
5. Gvozdyak P. I., Globa L. I., Dmytrenko G. M., (1996), *International Conference on Analysis and Utilization of Oily Wastes*, AUZO'96, 297-298.
6. Latała A., Wierzba S., Latała B., (2000), *Biotechnologia*, 1(48), 124-134.
7. Latała A., Wierzba S., Latała B., (2001), *Międzynarodowa Konferencja Naukowa – Kształtowanie Środowiska*, Olsztyn, 465-466.
8. Maes M., (1994), *L'Eau, L'Industrie, Les Nuisances*, 178, 25-28.
9. Mazur T., Malicki M., (1993), *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, 409, 77-82.
10. Mazur T., Mazur Z., Wojtas A., (1995), *Fol. Univ. Agric. Stetin. 200 Agricultura*, 77, 253-256.
11. Adamczak M., Bednarski W., (1994), *Biotechnologia*, 4(27), 140-153.
12. Arpigny J. L., Jaeger K.-E., (1999), *Biochem. J.*, 343, 177-183.
13. Clausen I. G., (1997), *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 3, 139-146.
14. Małachowska-Jutcz A., Mrozowska J., Kozielska M., Miksch K., (1997), *Biotechnologia*, 1(36), 79-91.
15. PN-76/R-64753. Oznaczanie zawartości tłuszczu surowego.
16. Holt J. G. Krieg N. R., (1984), *Bergey's manual of systematic bacteriology*, Williams & Wilkins, Baltimore.
17. Jaeger K.-E., Ransac S., Dijkstra B. W., Colson C., van Heuvel M., Misset O., (1994), *FEMS Microbiology Review.*, 15(1), 29-63.
18. PN-75C-04615. Badania mikrobiologiczne. Oznaczania ogólnej liczby bakterii metodą płytkową.
19. Lawrence R. C., Fryer T. F., Reiter B., (1967), *Nature*, 25.
20. Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H., (1983), *Mikrobiologia żywności*, PZWL, Warszawa.
21. Ionita A., Moscovici M., Popa C., Vamanu A., Popa O., Dinu L., (1997), *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.*, 3, 147-151.
22. Antai S. P., Mgbomo E., (1993), *West African Journal of Biological and Applied Chemistry*, 38(1-4), 16-20.
23. Ijah U. J. J., (1998), *Waste Management.*, 18, 293-299.
24. Jaeger K.-E., Schneideringer B., Roseanau F., Werner M., Lang D., Dijkstra B. W., Schimossek K., Zonta A., Reetz M. T., (1997), *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.*, 3, 3-12.
25. Lawrence R. C., Fryer T. F., Reiter B., (1967), *J. Gen. Microbiol.*, 48, 401-418.
26. Severina L. O., Bashkatova N. A., (1981), *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, 17(2), 181-196.
27. Kim H.-K., Lee J.-K., Kim H., Oh T.-K., (1996), *FEMS Microbiology Letters.*, 135, 117-121.
28. Trzmiel T., (1994), *Biotechnologia*, 2(25), 21-31.
29. Brockerhoff H., Jensen G. J., (1974), Academic Press, New York, San Francisco, 9-48.
30. Cieszkiewicz E., Mycielski R., Boszczyk-Maleszak H., Wyszowska B., (1997), *Biotechnologia*, 1(36), 70-78.
31. Bybulski Z., Dziurła E., Kaczorek E., Olszanowski A., Voelkel A., (1996), *International Conference on Analysis and Utilization of Oily Wastes*, AUZO'96, 287-292.
32. Marty Y., Quéméneur M., Aminot A., Le Corre P., (1996), *Wat. Res.*, 30(5), 1127-1136.
33. Galas E., Kwapisz E., Tarabasz-Szymańska Ł., Krystynowicz A., Antczak T., Oryńska A., (1997), *Biotechnologia*, 1(36), 145-157.