



Izolovanje, karakterizacija i identifikacija bakterija iz aktivnog mulja postrojenja za preradu industrijskih otpadnih voda



Isolation, characterization and identification of bacteria from activated sludge of the industrial waste water treatment plant

S. Bulatović¹, G. Gojgić-Cvijović², V. P. Bešković¹, J. Avdalović², S. Miletić², J. Milić², M. Ilić²

¹Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Studentski trg 12-16, Beograd, Srbija,

²Institut za hemiju, tehnologiju i metalurgiju - Centar za hemiju, Njegoševa 12, Beograd, Srbija

¹sandrulatic1990@hotmail.com

Uvod

Mikroorganizmi koji opstaju u zagađenoj životnoj sredini poseduju biohemijske mehanizme koji im omogućavaju preživljavanje, rast i razmnožavanje u odnosu na druge vrste. Pojedini mikroorganizmi ovakvih staništa sintetišu površinski aktivne supstance, antibiotike ili poseduju enzimске mehanizme koji im omogućavaju da zagađujuće supstance koriste kao jedini izvor ugljenikovih atoma ili elektrona.

Bioremedijacija je ekonomski isplativa, zelena tehnologija kojom se zagađujuće supstance biološkim putem transformišu u netoksična jedinjenja, ili se potpuno razgrađuju do ugljen-dioksida i vode. Glavni subjekti u procesu bioremedijacije su mikroorganizmi [1, 2].

Cilj

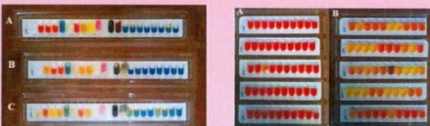
Cilj ovog eksperimenta je bio da se izoluju a zatim i okarakterišu bakterije iz aktivnog mulja postrojenja za preradu industrijskih otpadnih voda HIP Petrohemije u Pančevu.

Materijal i metode

Iz aktivnog mulja izolovane su, okarakterisane i identifikovane bakterijske kulture koje su rasle na mineralnim podlogama sa različitim izvorima ugljenika, kao što su dizel D2, fenantren, fenol i dibenzotiofen (DBT). Čiste bakterijske kulture dobijene su metodom iscrpljenja, trostrukim presejavanjem na hranljivi agar.

Pre eksperimenta biodegradacije naftnih ugljovodnika, izolovane čiste kulture su okarakterisane testovima za biohemijsku i mikrobiološku karakterizaciju, a to su: oksidaza test, katalaza test, antibiogram testovi (ispitivanje osetljivosti na antibiotike), rast na Simonsovoj citratnoj podlozi, rast na MacConkey agaru, *Bacillus* test, test za ispitivanje procesa oksidacija/fermentacija glukoze na Hugh Leifson podlozi, test temperature stabilnosti (praćenje rasta bakterija na 4, 28, 37 i 45 °C).

U cilju identifikacije izolovanih bakterijskih kultura korišćeni su komercijalni API BioMérieux testovi: API 20E (slika 1.) i API 50CH (slika 1.), API Coryne (slika 2.) kao i PCR metode.



Slika 1. Levo - Izgled Api E 20 pločica nakon inkubacije 24h i nakon dodatka odgovarajućih reagenasa u mini epruvete. Sojevi: A) 1, B) 5 i C) 9. Desno - Izgled pločica Api 50 CH nakon inkubacije 24h. Sojevi: A) 5, B) 9.



Slika 2. Izgled pločica Api Coryne nakon 24h inkubacije i dodatka odgovarajućih reagenasa u mini epruvete. Sojevi: A) 7, B) 8 i C) 14.

Rezultati i diskusija

Rezultati testova za biohemijsku karakterizaciju prikazani su u tabeli 1. Na osnovu ovih rezultata je zaključeno da su neki sojevi identični, tako da su identifikacioni API testovi, odnosno PCR metoda rađeni samo za jedanaest potencijalno različitih sojeva.

Tabela 1. Rezultati testova za biohemijsku karakterizaciju.

Soj	Katalaza	Oksidaza	Rast na MacConkey agaru	Rast na Simonsovoj citratnoj podlozi	<i>Bacillus</i>	O/F	Temperaturna stabilnost (°C)			
							4	28	37	45
1	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
2	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
3	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
4	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-
5	+	+	-	+	+	/	-	+	+	+
6	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+
7	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
8	+	+	-	-	-	/	-	+	+	+
9	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+
10	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+
11	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+
12	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+
13	+	+	-	-	+	-	-	+	+	+
14	+	-	-	-	-	/	-	+	+	+
15	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+

Na osnovu rezultata testova za biohemijsku karakterizaciju, odnosno identifikacionih API testova i PCR metode, identifikovani su rodovi kojima pripadaju bakterije izolovane iz aktivnog mulja. Rezultati identifikacije su prikazani u tabeli 2.

Tabela 2. Rezultati API i PCR identifikacije.

Soj	API identifikacija	PCR identifikacija
1, 2	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>
3, 4	/	/
5	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Lysinibacillus sp.</i>
6	<i>Corynebacterium sp.</i>	<i>Lysinibacillus sp.</i>
7, 8	<i>Arthrobacter sp.</i>	<i>Lysinibacillus sp.</i>
9	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>
10, 11, 12, 13	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>
14	<i>Arthrobacter sp.</i>	<i>Lysinibacillus sp.</i>
15	<i>Bacillus sp.</i>	<i>Bacillus sp.</i>

Zaključak

Bakterije izolovane iz aktivnog mulja postrojenja za preradu industrijskih otpadnih voda HIP Petrohemije u Pančevu okarakterisane su i identifikovane pomoću testova za biohemijsku karakterizaciju, identifikacionih API testova i PCR metode.

U ovom radu su izolovane i identifikovane bakterije koje pripadaju sledećim rodovima: *Rhodococcus sp.*, *Bacillus sp.* i *Lysinibacillus sp.*

Literatura

- Bešković, V.P., Gojgić-Cvijović, G.D., Milić, J.S., Ilić, M.V., Miletić, S.B., Jovančević B.S., Vrvic, M.M., Hem. Ind. 66 (2012) 275-289.
- Lješević, M., Kekez, B., Gojgić-Cvijović G., Bešković, V.P., Knjiga izdava 6. Simpozijum Hemija i zaštita životne sredine «Envirochem 2013», Srpsko hemijsko društvo, Vrsac, Srbija, (2013), 362-363.