

<b>RAPORT ROCZNY ZA ROK 2011</b>		
<b>z realizacji Projektu w ramach Programu „LIDER”</b>		
<b>ZA OKRES</b>	<b>OD 01.11.2011</b>	<b>DO 31.12.2011</b>

<b>1. DANE O PROJEKCIE</b>			
<b>Tytuł projektu</b>	Opracowanie innowacyjnego preparatu do optymalizacji procesu fermentacji metanowej		
<b>Nr umowy</b>	LIDER/24/48/I-2/10/NCBiR/2011 z dnia 09.08.2011		
Data rozpoczęcia realizacji Projektu (zgodnie z umową)	01.11.2012	Data zakończenia realizacji Projektu (zgodnie z umową)	31.10.2014
<b>Słowa kluczowe</b>	Biopreparat, fermentacja metanowa, mikroorganizmy, osady ścieków mleczarskich, unieszkodliwianie odpadów		
<b>Klasyfikacja wg OECD</b>	4.4. Biotechnologia rolnicza		

<b>2. DANE KONTAKTOWE KIEROWNIKA PROJEKTU I JEDNOSTKI</b>			
<b>Imię i nazwisko Kierownika Projektu</b>	<b>Magdalena Frąc</b>		
<b>Telefon</b>	81 744 50 61 wew. 156	<b>e-mail</b>	m.frac@ipan.lublin.pl
<b>Nazwa Jednostki</b>	<b>Instytut Agrofizyki im. B. Dobrzańskiego Polskiej Akademii Nauk</b>		
<b>Adres</b>	ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27		

## 6. SPRAWOZDANIE MERYTORYCZNE – PODSUMOWANIE OSIĄGNIĘTYCH WYNIKÓW

### 6.1 Sumaryczny opis rezultatów osiągniętych w Projekcie (w podziale na zadania) – od początku realizacji Projektu

#### Zadanie nr 1

Nazwa zadania 1. Charakterystyka potencjalnych substratów do procesu fermentacji metanowej – odpadów z produkcji owoców oraz osadów z oczyszczalni ścieków mleczarskich

Status zadania: w trakcie realizacji

#### Opis rezultatów

Wymienione zadanie jest zadaniem „bezkosztowym”, na które składają się 4 podzadania. W związku z powyższym w ramach wymienionego zadania rozpoczęto realizację podzadań 1.1.-1.4. wymienionych i opisanych poniżej, w dalszej części raportu jako zadania o numerach 2-5.

#### Zadanie nr 2

Nazwa zadania 1.1. Pozyskiwanie substratu z przemysłu mleczarskiego oraz przetwórstwa owoców, w tym osadów ściekowych

Status zadania: w trakcie realizacji

#### Opis rezultatów

Na podstawie rozeznania rynku oraz przeglądu dostępnej literatury do badań wytypowano 6 substratów, które są potencjalnie łatwo dostępnymi substratami na terenie Lubelszczyzny, jak również są dostępne w innych regionach kraju. Do badań zostały wybrane substraty główne zaplanowane w projekcie oraz potencjalne ko-substraty, które są dostępne na terenie Polski oraz stanowią odpady również w skali Europy i świata. Substraty do badań pozyskano z OSM w Krasnymstawie - osady pochodzące z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz Zakładów przetwórstwa owoców zlokalizowanych na terenie Lubelszczyzny - owocowe wyłtki poprodukcyjne. Jako ko-substraty do badań wybrane zostały: wywar gorzelniany, kiszonka z kukurydzy, kiszonka z trawy, osad z oczyszczalni ścieków komunalnych. Osad z oczyszczalni ścieków komunalnych pozyskano z Nałęczowa, natomiast pozostałe odpady będą dostarczane przez Laboratorium Biotechnologiczne Biogaz Zeneris oraz producentów rolnych.

#### Zadanie nr 3

Nazwa zadania 1.2. Zbadanie właściwości fizyko-chemicznych substratów

Status zadania: w trakcie realizacji

#### Opis rezultatów:

Celem przeprowadzonych badań była ocena parametrów chemicznych odpadów przeznaczonych do utylizacji w procesie fermentacji metanowej. W okresie sprawozdawczym przeprowadzono badania dotyczące zawartości węgla całkowitego, organicznego i nieorganicznego oraz zawartości azotu w substratach tj.: osadzie z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz odpadach z przetwórstwa owoców. Wstępne badania wskazują, że zawartość C-całkowitego i organicznego w badanych substratach kształtowała się na poziomie 43% w osadzie z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz 56% w wyłtkach odpadowych po produkcji owoców. W badanych substratach nie stwierdzono obecności form węgla nieorganicznego. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że osad ścieków mleczarskich charakteryzował się większą zawartością azotu w porównaniu do wartości stwierdzonych w przebadanych odpadach owocowych. Na podstawie uzyskanych wyników badań wyliczono stosunek C:N, który jest jednym z istotnych parametrów decydujących o prawidłowym przebiegu fermentacji metanowej. Przeprowadzone badania wykazały, że znacznie szerszym stosunkiem C:N, kształtującym się na poziomie 22

charakteryzowały się odpady z przetwórstwa owoców, w porównaniu do osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich, w którym stosunek C:N wynosił 10.

W okresie sprawozdawczym wykonano analizy substratów obejmujące oznaczenie zawartości P, K, Ca, Mg oraz metali ciężkich: Cd, Zn, Cu, Pb, Ni, Cr, Hg w wytypowanych substratach oraz oznaczono pH, zawartość suchej masy i suchej masy organicznej. Osad ścieków mleczarskich charakteryzował się odczynem lekko kwaśnym (pH 6,3), natomiast w odpadach owocowych stwierdzono odczyn kwaśny (pH 3,2). Zawartość suchej masy kształtowała się na poziomie 16,49% w osadzie z oczyszczalni ścieków mleczarskich i 11,76% w odpadach owocowych. Wyższą zawartość suchej masy organicznej stwierdzono w odpadach owocowych. Badania chemiczne substratów przeznaczonych do procesu fermentacji metanowej są istotne, z uwagi na obecność w nich potencjalnych inhibitorów procesu fermentacji metanowej. Zawartość P, K, Ca, Mg kształtowała się na wyższym poziomie w odpadach owocowych niż osadzie z oczyszczalni ścieków mleczarskich. Zawartość metali ciężkich, z uwagi na możliwość ich hamującego oddziaływania na przebieg procesu fermentacji metanowej, jest ważnym parametrem charakteryzującym potencjalne substraty przeznaczone do utylizacji. W wyniku przeprowadzonych badań nie stwierdzono dużych zawartości metali ciężkich w badanych substratach. W zależności od rodzaju metali ciężkich (Cd, Zn, Cu, Pb, Ni, Cr, Hg) ich zawartość w substratach poddanych analizom kształtowała się na poziomie 0-22 mg kg<sup>-1</sup> badanego odpadu. W świetle uzyskanych wyników można stwierdzić, że zarówno osad z oczyszczalni ścieków mleczarskich, jak też odpady z przetwórstwa owoców mogłyby być wykorzystywane jako potencjalne substraty do procesu fermentacji metanowej.

Zadanie jest w trakcie realizacji i będzie obejmowało badania chemiczne kolejnych odpadów – potencjalnych substratów do procesu fermentacji metanowej. Z uwagi na fakt, iż zadanie rozpoczęło się 01.11.2011 roku i jest obecnie w trakcie realizacji, nie możemy jednoznacznie podsumować otrzymanych wyników badań.

#### **Zadanie nr 4**

Nazwa zadania 1.3. Zbadanie stanu mikrobiologicznego substratów

Status zadania: w trakcie realizacji

#### **Opis rezultatów:**

Celem badań przeprowadzonych w ramach niniejszego zadania była ocena jakości i parametrów mikrobiologicznych odpadów stanowiących substraty do procesu fermentacji metanowej. W okresie sprawozdawczym badaniami objęto osad z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz odpady pochodzące z przetwórstwa owoców. Pierwszy, rozpoczęty w okresie sprawozdawczym etap badań obejmował przeprowadzenie charakterystyki mikrobiologicznej odpadów i porównanie ich mikroflory. Oceniono ogólną liczebność bakterii i grzybów oraz przeprowadzono analizę sanitarną odpadów, obejmującą określenie obecności bakterii z rodzaju *Salmonella* oraz jaj pasożytów przewodu pokarmowego *Ascaris* sp., *Trichuris* sp. i *Toxocara* sp.. Z badanych substratów wyizolowano bakterie i grzyby w celu stworzenia kolekcji mikroorganizmów, które będą następnie testowane w aspekcie ich przydatności do zastosowania w opracowaniu preparatu do optymalizacji fermentacji metanowej, zwłaszcza I fazy – hydrolitycznej tego procesu. Kolejne etapy badań będą obejmowały identyfikację wyodrębnionych mikroorganizmów pod względem przynależności gatunkowej oraz ocenę ich właściwości enzymatycznych i uzdolnień katabolicznych. W okresie sprawozdawczym sporządzono również szereg selektywnych podłoży mikrobiologicznych, w celu wyodrębnienia i pozyskania mikroorganizmów o uzdolnieniach amylolitycznych, proteolitycznych, pektynolitycznych i celulolitycznych.

W badaniach zastosowano następujące metody mikrobiologiczne:

- oznaczenie ogólnej liczebności bakterii przeprowadzono na podłożu z K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> i wyciągiem osadowym, w przypadku osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich lub wyciągiem owocowym dla odpadów z przetwórstwa owoców;
- oznaczenie ogólnej liczebności grzybów wykonano na podłożu z różem bengalskim (Biocorp), stosując dodatkowo, w celu ograniczenia wzrostu bakterii, antybiotyki: chlorotetracyklinę i streptomycynę;

-oznaczenie liczebności bakterii i grzybów o uzdolnieniach proteolitycznych, amylolitycznych, celulolitycznych i pektynolitycznych przeprowadzono na podłożach minimalnych z 2% dodatkiem odpowiednio: żelatyny, skrobi, celulozy i pektyny;

-obecność bakterii chorobotwórczych z rodzaju *Salmonella* przeprowadzono metodą hodowli na podłożach namnażających i różnicująco-selektywnych oraz potwierdzano wyniki badaniami biochemicznymi z zastosowaniem testów API20E,

-obecność żywych jaj pasożytów jelitowych oznaczano poprzez wstrząsanie oraz płukanie odpadów, z zastosowaniem wirowania, a następnie wykonywano obserwacje mikroskopowe.

Izolację szczepów bakterii i grzybów przeprowadzono poprzez kilkakrotne pasażowanie na podłożu PCA (Biocorp), w przypadku bakterii oraz 2% malt extract agar (Emapol), w przypadku grzybów. Tak oczyszczone kolonie przeszczepiono na skosy agarowe z uniwersalną pożywką bulionową dla bakterii oraz skosy agarowe z pożywką ziemniaczaną (PDA – Biocorp) i brzeczką agarową dla grzybów. Hodowle czystych kultur prowadzono w temperaturze 26°C przez 7-14 dni.

Na podstawie uzyskanych wyników badań oceniono jakość mikrobiologiczną substratów oraz stworzono wstępną kolekcję kultur mikroorganizmów. Wyodrębnione mikroorganizmy będą testowane pod kątem możliwości ich użycia do sporządzenia preparatu do optymalizacji fermentacji metanowej, zwłaszcza I fazy hydrolitycznej tego procesu. Założona kolekcja szczepów o potencjalnych właściwościach wspomagających proces fermentacji metanowej będzie sukcesywnie wzbogacana o szczepy wyizolowane z kolejnych badanych substratów.

Ogólna liczebność bakterii w osadzie ścieków mleczarskich kształtowała się na poziomie od 114 do  $167 \cdot 10^6$  jtk  $\cdot$  g<sup>-1</sup> s.m. odpadu. Zgodnie z przewidywaniami, znacznie niższą ogólną liczebność bakterii, kształtującą się na poziomie od 115 do  $176 \cdot 10^2$  jtk  $\cdot$  g<sup>-1</sup> s.m. odpadu, stwierdzono w odpadach pochodzących z przetwórstwa owoców. Ogólna liczebność grzybów była znacznie wyższa w osadzie z oczyszczalni ścieków mleczarskich ( $83-101 \cdot 10^4$  jtk  $\cdot$  g<sup>-1</sup> s.m. odpadu) w porównaniu do odpadów z przetwórstwa owoców, w których stwierdzono ogólną liczebność grzybów na poziomie  $87-107 \cdot 10^3$  jtk  $\cdot$  g<sup>-1</sup> s.m. odpadu. Przebadane materiały odpadowe charakteryzowały się niską liczebnością bakterii i grzybów o uzdolnieniach proteolitycznych i pektynolitycznych oraz wyższą liczebnością bakterii i grzybów celulolitycznych. W badanych materiałach odpadowych nie stwierdzono obecności bakterii i grzybów amylolitycznych. W osadzie z oczyszczalni ścieków mleczarskich oraz odpadach owocowych nie stwierdzono również obecności bakterii z rodzaju *Salmonella* oraz jaj pasożytów przewodu pokarmowego ATT.

Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że osad z oczyszczalni ścieków mleczarskich charakteryzował się większą liczebnością mikroorganizmów oraz bardziej zróżnicowanym składem rodzajowym, w porównaniu do odpadów owocowych. Wykazano, że odpady nie były skażone pod względem sanitarnym. W ramach omawianego zadania zostaną przeprowadzone badania kolejnych substratów. Na obecnym etapie realizacji zadania, z uwagi na wstępne, cząstkowe wyniki badań nie możemy wyciągnąć wniosków końcowych podsumowujących zadanie. Podkreślić należy, że jest ono w trakcie realizacji, a wnioski będzie można sformułować po zakończeniu wszystkich analiz zaproponowanych w ramach niniejszego zadania.

#### **Zadanie nr 5**

Nazwa zadania 1.4. Przygotowanie substratów do procesu fermentacji. Badanie biogazodochodowości materiałów

Status zadania: w trakcie realizacji

#### **Opis rezultatów:**

Rozpoczęte w okresie sprawozdawczym badania, w ramach niniejszego zadania obejmowały ocenę biogazodochodowości odpadów, które będą unieszkodliwiane w procesie fermentacji metanowej. Celem badań było określenie podatności na rozkład beztlenowy i produktywności biogazu z substratów, takich jak odpady z przetwórstwa owoców oraz osad z oczyszczalni ścieków mleczarskich. Badania obejmowały odpowiednie przygotowanie substratów poprzez ich rozdrobnienie

oraz poddanie fermentacji okresowej, w celu zmierzenia maksymalnej ilości biogazu jaki można uzyskać z 1kg suchej masy organicznej danego substratu. Ponadto, oceniono skład biogazu otrzymanego w wyniku fermentacji odpadów owocowych oraz osadu z oczyszczalni ścieków mleczarskich. W oparciu o wyniki badań odpadów (m.in. zawartość suchej masy organicznej, pH, zawartość azotu ogólnego) dobrano początkowe obciążenie fermentora. Przeprowadzono 41 dniową fermentację tych substratów przy takim samym obciążeniu początkowym fermentora ( $\text{kg s.m.o.} \cdot \text{m}^{-3}$ ) i temperaturze fermentacji 37°C. Parametry takie jak – objętość biogazu jaką można otrzymać z 1 kg s.m.o. oraz procentowy udział metanu w biogazie – są wartościami charakterystycznymi dla danego rodzaju substratu i ściśle zależą od jego składu chemicznego i od podatności obecnych w nim związków organicznych na rozkład w warunkach beztlenowych. W okresie sprawozdawczym określono uśredniony skład biogazu, w zakresie:  $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ , i  $\text{NH}_3$  oraz wykreślono krzywe kinetyki produkcji biogazu (krzywe biogazodochodowości) dla dwóch substratów: odpadów owocowych i osadu ścieków mleczarskich. Uzyskane wyniki badań umożliwiły określenie maksymalnej wydajności i jakości (składu) biogazu powstałego w wyniku fermentacji okresowej danego typu substratu. W przypadku wsadu owocowego 90% biogazu powstało po 9 dniach od rozpoczęcia fermentacji, a w przypadku osadu ścieków mleczarskich po 12 dniach. Przeprowadzone badania wykazały, że z 1 kilograma suchej masy organicznej obydwu analizowanych substratów można otrzymać podobne objętości ( $\text{Ndm}^3$ ) biogazu, jednak nieznacznie wyższą wydajność produkcji odnotowano w przypadku odpadów owocowych. Oceniono również skład jakościowy biogazu. W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że wyższą zawartością metanu w biogazie charakteryzował się osad z oczyszczalni ścieków mleczarskich (76% metanu) w porównaniu do wartości otrzymanych dla odpadów z przetwórstwa owoców (69% metanu). Otrzymane w okresie sprawozdawczym wyniki są częściowymi danymi uzyskanymi w ramach niniejszego zadania. W kolejnych etapach badane będą również inne odpady (potencjalne ko-substraty) przeznaczone do utylizacji w procesie fermentacji metanowej. Zadanie jest w trakcie realizacji, w związku z tym szczegółowe podsumowanie będzie można sformułować w kolejnych etapach badań przewidzianych do wykonania w niniejszym zadaniu.

**Zadanie nr 17**

Nazwa zadania 4. Opracowanie wyników i przygotowanie publikacji

Status zadania: w trakcie realizacji

Opis rezultatów:

W okresie sprawozdawczym w ramach wymienionego zadania rozpoczęto opracowywanie wyników otrzymanych w wyniku realizacji w/w zadań badawczych. Opracowano również cząstkowe sprawozdania z przeprowadzonych badań. W okresie sprawozdawczym opracowano również pracę przeglądową, dotyczącą fermentacji metanowej i mikroorganizmów uczestniczących w tym procesie. Praca została złożona do recenzji w czasopiśmie o zasięgu międzynarodowym.

**6.2 Spis publikacji powstałych w ramach Projektu (tytuł, autorzy, wydawnictwo – nazwa, tom , rok)**

-

**6.3 Inne formy upowszechniania wyników badań (np. udział w konferencjach, sympozjach, wdrożenia), rok**

-

**6.4 Informacja o patentach, zgłoszeniach patentowych, licencjach, czy wdrożeniach będących wynikiem projektu, rok**

-

**6.5 Informacja o działaniach promocyjnych zgodnie z umową na wykonanie projektu**

(dotyczy: informowania opinii publicznej o tym, że realizacja Projektu została sfinansowana przez Centrum – podać datę i miejsce zamieszczenia informacji, sposób informowania)

W ramach działań promocyjnych ukazały się następujące informacje:

- 25.05.2011 r. - strona internetowa Instytutu Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk – informacja o rozstrzygnięciu konkursu w ramach Programu LIDER i finansowaniu projektu przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju

-31.05.2011 r. – Dziennik wschodni – informacja o projekcie realizowanym w ramach Programu LIDER, krótki wywiad dotyczący badań zaplanowanych w projekcie

-16.06.2011 r. – Agro Serwis – informacja o projektach realizowanych w ramach programu LIDER, w tym o niniejszym projekcie

- 18.07.2011 r. – strona internetowa Dziennika Wschodniego – informacja o realizacji projektu w ramach programu LIDER w zakładce „Nasi badają”

-01.10.2011 r. – Tablice informacyjne Instytutu Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk – na tablicy wywieszono zostały materiały prasowe dotyczące realizowanego projektu

- 09.12.2011 r. – strona internetowa Instytutu Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk – informacja o aktualnie realizowanych projektach badawczych – tytuł projektu, czas trwania projektu, jednostka i program, w ramach którego realizowany jest projekt