

Lidia NIEKRAŚ\*

## **UDZIAŁ GRZYBÓW Z RODZAJU *TRICHODERMA* SP. W ROZKŁADZIE BIODEGRADOWALNYCH OPAKOWAŃ FOLIOWYCH**

W przeprowadzonym doświadczeniu badano możliwość udziału grzybów z rodzaju *Trichoderma* w procesie rozkładania biodegradowalnych opakowań foliowych. W tym celu, w szalkach Petriego, na odpowiednio zróżnicowanych pożywkach, umieszczono niewielkie fragmenty pociętych worków, których kompostowalność potwierdzona była przez producenta odpowiednim certyfikatem. Do tak przygotowanych 10 próbek wprowadzono inokulum grzyba *Trichoderma* sp. i obserwowano jego wzrost i rozwój. Zauważono, że niezależnie od składu pożywki rozrastająca się grzybnia *Trichoderma* sp. nie tylko nie traktuje worka jako potencjalnego źródła węgla, ale wyraźnie go unika. Wyniki te sugerują niezdolność *Trichoderma* sp. do aktywnego uczestniczenia w procesie kompostowania biodegradowalnych worków foliowych albo brak deklarowanej przez producenta biodegradowalności samego worka.

### **1. WPROWADZENIE**

W grudniu 2008 roku Polska ratyfikowała unijną dyrektywę o odpadach, której główną idą jest tworzenie środków prawnych promujących zasadę „społeczeństwa recyklingu” zmierzającego w swych działaniach do redukcjonowania produkcji odpadów i ponownego ich użycia [17]. W związku z tym w polskich gminach od kilku lat wprowadza się liczne zmiany dotyczące składowania i odbierania odpadów komunalnych oraz gospodarowania nimi. Zjawisko to, nazywane również kolokwialnie „rewolucją śmieciową”, poza wymiernym zyskiem, wynikającym m.in. z powtórnego wykorzystania posegregowanych śmieci, odgrywa także kluczową rolę w podnoszeniu świadomości ekologicznej konsumentów.

---

\* Uniwersytet Opolski, Wydział Przyrodniczo-Techniczny, ul Kominka 6a, 45-032 Opole, lniekras@wp.pl.

Unijna dyrektywa o odpadach zawiera szczegółowe regulacje dotyczące zasad postępowania z określonymi kategoriami odpadów, w tym również z bioodpadami, o których wiadomo, że stanowią szczególne zagrożenie dla środowiska [7, 17]. W dyrektywie nr 1999/31WE wyznaczono w tej kwestii szczegółowy cel – zobowiązanie Polski i innych krajów unijnych do sukcesywnego obniżania odprowadzania odpadów łatwo degradowanych na składowiska o 25% do 2010, następnie o 50% do 2013 i 65% do 2020 r. w stosunku do poziomu masy odpadowej wytworzonej w 1995 r. [13]. Osiągnięcie takiego spadku wydaje się trudne. Jeśli jednak w większości gospodarstw domowych prowadzona będzie selektywna zbiórki bioodpadów, a następnie odpady te będą składowane w przydomowym lub domowym kompostowniku do czasu uzyskania sfermentowanej biomasy, realizacja założonego w dyrektywie poziomu wydaje się możliwa.

#### 1.1. OPAKOWANIA BIODEGRADOWALNE W DOMOWYM KOMPOSTOWNIKU

Od pewnego czasu można zakupić na rynku plastikowe pudła przeznaczone na kompostownik. Są one dostępne w różnej wielkości i charakteryzuje je obecność licznych otworów, niezbędnych do właściwego przewietrzania zgromadzonej wewnątrz przyzmy. Wyłożenie folią pojemnika od wewnątrz powoduje, że składowanie w nim m.in. bioodpadów kuchennych, takich jak obierki, torebki od herbaty czy skorupki jaj, wydaje się higieniczne. Worek uniemożliwia wypłynięcie potencjalnych odcieków, zaś ażurowa konstrukcja zapewnia odpowiedni dopływ tlenu i minimalizuje wydzielanie do pomieszczenia przykrego zapachu. Obserwacje ilości zanieczyszczeń z bioodpadów, w zależności od wielkości zastosowanego biopojemnika, dowodzą tymczasem, że zamiana biopojemnika z większego na mniejszy wpływa korzystnie na zmniejszenie ilości bioodpadów odprowadzanych na składowiska [8]. W jednym z powiatów niemieckich ograniczenie udziału tych zanieczyszczeń w następstwie zmiany pojemnika z objętości 1100 l na 240 l spowodowało spadek ilości odprowadzanych na składowiska bioodpadów z poziomu 5,8 % do 2,7% [12].

Dostępne w sprzedaży worki służące do wykładania wnętrza kompostownika to według deklaracji producentów worki biodegradowalne. Wykorzystywanie ich do tego celu wydaje się jak najbardziej słuszne, ponieważ wykonanie ich z tworzyw opartych m.in. na skrobi, kwasie polimlekowym, celulozie czy ligninie powinno skutkować szybkim ich rozkładem pod wpływem czynników fizycznych i biologicznych występujących w środowisku kompostownika [6, 8].

Rozkład biodegradowalnych opakowań odbywa się w dwóch etapach: w pierwszym materiał powinien stracić swoją wytrzymałość fizyczną i ulec fragmentacji, a w drugim odpowiednie mikroorganizmy, metabolizując pozostałe cząsteczki, powinny doprowadzić do zjawiska mineralizacji (procesu przetwarzania materii organicznej na formy nieorganiczne) [4]. Produktem końcowym takiej biodegradacji powinna być biomasa, CO<sub>2</sub> i woda [4, 8]. Należy tu jednak zwrócić uwagę na fakt, iż

warunki i czas trwania procesu biodegradacji nie są określone, w przeciwieństwie do procesu kompostowania. Dla niego zarówno jedno, jak i drugie odgrywa istotną rolę [6]. Stąd też tworzywa kompostowalne są jednocześnie biodegradowalne, ale już tworzywa biodegradowalne nie zawsze będą kompostowalne. Aby dany materiał został poddany procesowi kompostowania, musi spełniać wymogi normy BS-EN 13432, w której m.in. czas przeznaczony na rozpad materiału to 12 tygodni, zaś okres na proces mineralizacji to 6 miesięcy [6]. Świadome operowanie pojęciami kompostowalność i biodegradowalność ma zasadnicze znaczenie dla sposobu utylizacji odpadów, których bezpieczne usuwanie ma bezpośredni wpływ na środowisko naturalne.

Dlatego też ważnym wydaje się ustalenie, czy worki na śmieci, deklarowane przez producenta jako biodegradowalne i wykorzystywane jako „wyściółka” w domowym kompostowniku, są de facto kompostowalne czy tylko biodegradowalne. Czy podatność ich na ten proces ogranicza się tylko do rozkładu w przemysłowym reaktorze? Istnieje bowiem zasadnicza różnica między domowym a przemysłowym kompostowaniem [6] i wyroby ulegające rozkładowi w przemysłowym reaktorze najprawdopodobniej nigdy nie ulegną rozkładowi w domowym czy przydomowym kompostowniku, wobec czego osiągnięcie założonego w dyrektywie poziomu wydaje się niemożliwe.

## 1.2. UDZIAŁ GRZYBÓW Z RODZAJU *TRICHODERMA* SP. W PROCESIE KOMPOSTOWANIA

Spośród mikroorganizmów uczestniczących w procesie kompostowania wymienia się grzyby z rodzaju *Trichoderma* [2, 9, 16, 17]. Cechą, która spowodowała, że organizmy te mają zastosowanie jako mikrobiologiczne preparaty optymalizujące proces kompostowania, jest ich zdolność do produkcji licznych enzymów [2, 17, 19]. Prowadzone na przestrzeni kilkudziesięciu lat badania wykazały, że grzyby te produkują takie enzymy jak: proteazy, fosfatazy, celulazy, ksylanaza, lipazy oraz amylazy, [2, 15], pektynazy czy hemicelulazy [16]. Zespół Bari N. M, prowadzący w 2007 roku badania nad oceną liczebności i efektywności wybranych gatunków mikroorganizmów w procesie degradacji materii organicznej pochodzącej z odpadów kuchennych, wykazał, że *T. harzianum* jest tym gatunkiem, którego obecność najmocniej wpłynęła na ubytek kompostowanej biomasy [1]. Z kolei w innym doświadczeniu udowodniono skuteczność *Trichoderma* sp. w ograniczaniu rozwoju patogenów glebowych, co znalazło zastosowanie w produkcji komercyjnych biopreparatów w uprawach polowych [9, 17]. Również w trakcie realizacji projektu badawczego: Polskie szczepy *Trichoderma* w ochronie roślin i zagospodarowaniu odpadów organicznych, opracowano kilka technologii zastosowania tych grzybów w produkcji rolniczej i wytwarzaniu kompostu [16, 17].

## 1.3. CEL BADAŃ

Celem badań była wstępna weryfikacja hipotezy zakładającej, że worki biodegradowalne, zgodnie z deklaracją producenta, ulegną rozkładowi do dwutlenku węgla i biomasy w ciągu ok. 45–60 dni. Badania przeprowadzono z udziałem grzybów z rodzaju *Trichoderma*.

## 2. MATERIAŁY I METODY

Wstępną ocenę udziału grzybów z rodzaju *Trichoderma* sp. w rozkładzie opakowań biodegradowalnych przeprowadzono z wykorzystaniem worków firmy BioBag. Worki te, na podstawie opinii producenta, są wolne od polietylenu i zgodnie z normą EN 13432:2002, powinny rozkładać się do dwutlenku węgla i biomasy w ciągu ok. 45–60 dni [20].

Tabela 1. Skład podłoży użytych w badaniu możliwości utylizowania worków BioBag przez *Trichoderma* sp.

Nr próbki	Skład procentowy podłoży [% obj.]				
	pożywka PDA [%]	sól fizjologiczna [%]	pepton [%]	dotatkowa woda [%]	worki
1. (kontrola A)	100	-	-	-	-
2. (kontrola B)	80	20	-	-	-
3. (kontrola C)	50	25	25	-	-
4.	100	-	-	-	tak
5.	50	-	-	50	tak
6.	40	10	-	50	tak
7.	25	12,5	12,5	50	tak
8.	-	25	25	50	tak
9.	-	50	-	50	tak
10.	-	-	-	100	tak

Podstawą składu podłoży próbek badawczych była sproszkowana żywka PDA (BioCorp) używana zgodnie z zaleceniem producenta. W zależności od wariantu doświadczenia żywkę wzbogacano o sól fizjologiczną, pepton i dodatek folii firmy BioBag. PDA zaspokajała wstępne zapotrzebowanie rozwijającej się grzybni na węgiel, zaś pepton miał stanowić źródło N i innych podstawowych aminokwasów koniecznych do budowy białka. Aby zachować stałą objętość żywki, dodano wodę (tab. 1). Hodowle kontrolne stanowiły próby bez dodatku worków, za to w celu oceny wzrostu i rozwoju *Trichoderma* sp. w warunkach zmniejszającej się ilości węgla w podłożu, w hodowlach tych obniżono procentową zawartość PDA (tab. 1, próbki

B i C). Składy pożywek hodowli doświadczalnych skomponowano analogicznie do pożywek z hodowli kontrolnych z tą różnicą, że wzbogacono je o dodatek folii firmy BioBag, zakładając, że to ona będzie stopniowo zastępowała źródło węgla z pożywki PDA (tab. 1). Worki przed wyłożeniem w szalkach pocięto na fragmenty o tej samej wielkości, a następnie poddano je powierzchniowemu, kilkukrotnemu przepłukaniu w sterylnej, demineralizowanej wodzie. Celowo zrezygnowano z innej, np. termicznej formy sterylizacji wykorzystanej do doświadczenia folii, aby nie zmieniać jej właściwości fizycznych i w ten sposób obserwować rozwój *Trichoderma* sp. w otoczeniu worka wykorzystywanego do wyłożenia domowego kompostownika. Efektem ubocznym tego było jednak pojawienie się w hodowlach doświadczalnych pospolitego mikroorganizmu, jakim jest *Penicillium*, którego płukanie najprawdopodobniej nie wyeliminowało z powierzchni worka. Tak przygotowane podłoża inokulowano centralnie krążkiem tygodniowej grzybni *Trichoderma* sp. o średnicy 5 mm, pochodzącej z kolekcji Katedry Biotechnologii Uniwersytetu Opolskiego. Doświadczenie przeprowadzono na szalkach Petriego, w 10 wariantach doświadczalnych, każdy w 4 powtórzeniach. Inkubację prowadzono w ciemności w temperaturze pokojowej. W trakcie doświadczenia obserwowano kolor i wielkość grzybni oraz termin i intensywność jej zarodnikowania.

### 3. WYNIKI I DYSKUSJA

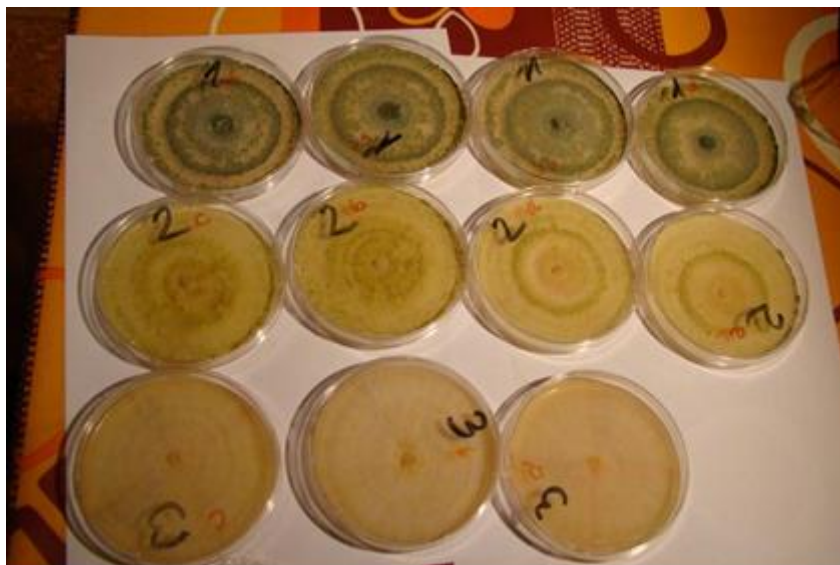
Analiza porównawcza w obrębie samych próbek kontrolnych wykazała, że największy wzrost, a przede wszystkim najszybsze zarodnikowanie osiągnęła grzybnia wzrastająca na 100% pożywce PDA. Dodatek do PDA 20% soli fizjologicznej wzrost ten spowalnia i dodatkowo opóźnia proces zarodnikowania o kilka dni. Natomiast dodanie 25% peptonu do 50% PDA i 25% soli fizjologicznej nie dość, że istotnie spowolniło rozrost grzybni, to całkowicie uniemożliwiło zarodnikowanie (rys. 1).

Wynik uzyskany z hodowli doświadczalnych był zaskakujący, ponieważ bez względu na skład pożywki, na każdej z szalek obserwowano zjawisko unikania przez grzybnię wyłożonego na pożywkę worka, zarówno przez *Trichoderma* sp., jak i przez, *Penicillium* które również rozwijały się na płytkach (rys. 2). Wynik ten może sugerować: albo brak możliwości zakładanych zdolności do rozkładania przez *Trichoderma* sp. tworzyw biodegradowalnych, albo brak biodegradowalności samego worka. To ostatnie sugerować może fakt, że według Okoth i innych [11] liczebność grzybów z rodzaju *Trichoderma* maleje wraz ze wzrostem ilości substancji nieorganicznej w kompostowanych odpadach, co również potwierdziły przeprowadzone obserwacje, zaś dostępność materii organicznej *de facto* decyduje o jej zagęszczeniu. W wyniku rozkładu tworzyw biodegradowalnych z założenia do środowiska wydzielane powinny

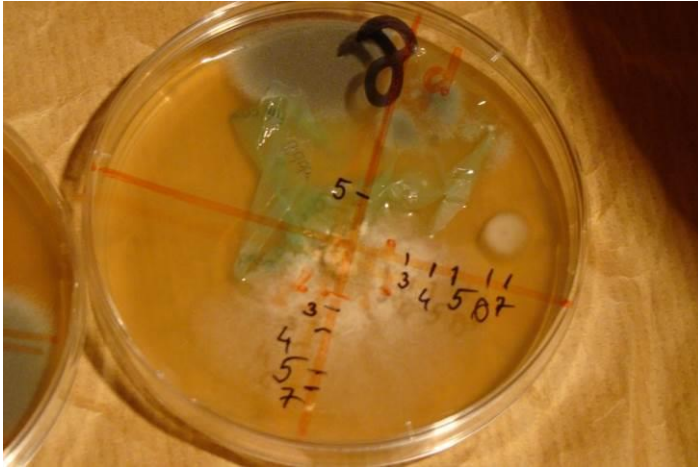
być związki organiczne i woda [4, 11]. Skoro więc *Trichoderma* sp. nie rozwijał się zgodnie z oczekiwaniem, może to sugerować brak tych związków w otoczeniu.

Opublikowane w 2011 roku badania Dach J. i inni, w których autorzy ci wstępnie oceniali stopień rozkładu jednorazowych, biodegradowalnych opakowań w procesie kompostowania i fermentacji, także wskazywały na brak efektów biodegradowalności mierzonych procentowym ubytkiem masy kompostowanego opakowania [5]. Tymczasem w przeciwieństwie do tego rozkład opakowań papierowych, nawet tych zanieczyszczonych, jest w podobnych warunkach prawie całkowity. Stąd też korzystniejsze dla procesu domowego kompostowania wydaje się wykładanie kompostownika od wewnątrz workiem papierowym, bowiem papier ulega częściowej biodegradacji i nie stanowi zanieczyszczenia bioodpadów [5, 8].

Natomiast fakt „uciekania” *Trichoderma* sp. od worka może być spowodowana jego negatywnym oddziaływaniem na procesy rozwojowe grzybni poprzez zaburzenie równowagi środowiska, niezbędnej dla prawidłowego ich przebiegu. Proces kompostowania to proces, w którym biorą udział różnorodne drobnoustroje pochodzące z materiału kompostowanego, wobec tego może ich brak powoduje „ucieczkę” szczepu grzyba od materiału foliowego. Zweryfikowanie dwóch powyższych hipotez stanowi obecnie przedmiot naszych kolejnych doświadczeń.



Rys. 1. Obraz tygodniowych grzybni wzrastających w warunkach kontrolnych (fot. L. Niekraś)



Rys. 2. Obraz tygodniowej grzybni wzrastającej w warunkach obecności biodegradowalnego worka – jasna grzybnia położona centralnie (fot. L. Niekraś)

#### LITERATURA

- [1] BARI M., BEGUM M., SARKER K., RAHMAN M., KABIR A., ALAM M., *Mode of action of Trichoderma spp. on organic waste for bioconversion*, Plant Environment Development, 2007, No. 1, 61–66.
- [2] BENITEZ T., RINCON A.M., LIMON M.C., CODON A.C., *Biocontrol mechanism of Trichoderma strains*, International Microbiology, 2004, No. 7, 249–260.
- [3] BŁASZCZYK K., SIWULSKI M., SOBIERALSK K., LISIECKA J., JĘDRYCZKA M., *Trichoderma spp. – application and prospects for use in organic farming and industry*, Journal of Plant Protection Research, 2014, Vol. 54, No. 4.
- [4] BORUSZKO D., *Badania i ocena wartości nawozowej kompostów i wermikompostów*, Rocznik Ochrona Środowiska, Annual Set The Environment Protection, 2011, No. 13, 1417–1428.
- [5] DACH J., PILARSKI K., MARCINKOWSKA A., ANDRZEJEWSKA E., *Preliminary estimation of degradation level of non-returnable packings offered by trading networks in the composting and fermentation processes*, Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering, 2011, Vol. 56, No. 2, 32–36.
- [6] EMBLEM A., EMBLEM H., *Opakowannictwo z zrównoważony rozwój*, [w:] Technika opakowań, pod red. A. Emblem, H. Emblem, PWN, Warszawa 2014, 88–117.
- [7] GÓRSKI M., *Zasady postępowania z odpadami...czyli nowa dyrektywa ramowa w sprawie odpadów*, [http://www.ekoskop.rzeszow.pl/abecadlosmieciadlo/CD/index\\_pliki/Page380.htm](http://www.ekoskop.rzeszow.pl/abecadlosmieciadlo/CD/index_pliki/Page380.htm) [data dostępu 29.10.2015].
- [8] JĘDRCZAK A., *Biologiczne przetwarzanie odpadów*, PWN, Warszawa 2007.
- [9] KOSICKA D., WOLNA-MURAWKA A., TRZECIAK M., *Aspekty stosowania Trichoderma sp. W ochronie roślin i rozkładzie materii organicznej*, Kosmos, 2014, Vol. 63, No. 4, 635–642.
- [10] maw/PAP, *Koniec foliowych torebek w Unii? Newsweek Polska*, 18.11.2014, <http://biznes.newsweek.pl/koniec-foliowych-torebek-w-unii-europejskiej-newsweek-pl,artykuly,352048,1.html> [data dostępu: 29.10.2015].

- [11] OKOTH S., ROIMEN H., MUTSOTSO B., MUYA E., KANHINDI J., OWINO J., OKHOT P., *Land use systems and distribution of Trichoderma species in Emburegion, Kenya*, Tropical and Subtropical Agroecosystems, 2007, Vol. 7, 105–112.
- [12] RUTHE K., *Aufkommen und Zusammensetzung biogener Siedlungsabfälle*, [w:] Müll – Handbuch. Kennzahl 1780, Erich Schmidt Verlag, Berlin 1998.
- [13] SMOLIŃSKA U., GOŁĘBIEWSKA E., KOWALSKA B., KOWALCZYK W., SZCZECH M., *Materiały odpadowe jako nośniki antagonistycznych grzybów Trichoderma*, Inżynieria i Ochrona Środowiska, 2014, Vol. 17, No. 1, 5–20.
- [14] ŠPRAJCAR M., HORVAT P., KRŽAN A., *Biopolimery i biotworzywa. Tworzywa zgodne z naturą*, 2012, [http://www.plastice.org/fileadmin/files/Polish\\_WEB.pdf](http://www.plastice.org/fileadmin/files/Polish_WEB.pdf) [data dostępu: 29.10.2015].
- [15] STRAKOWSKA J., BŁASZCZYK L., CHEŁKOWSKI J., *The significance of cellulolytic enzymes produced by Trichoderma in opportunistic lifestyle of this fungus*, Journal of Basic Microbiology, 2014, Vol. 54, No. 1, 2–13.
- [16] SZCZECH M., *Grzyby Trichoderma – dlaczego warto się nimi zainteresować?*, [http://trichoderma.inhort.pl/?d=informacje\\_o\\_trichoderma&id=117](http://trichoderma.inhort.pl/?d=informacje_o_trichoderma&id=117) [data dostępu: 29.10.2015].
- [17] SZCZECH M., *Trichoderma w uprawie roślin z zagospodarowaniu odpadów organicznych – badania i rezultaty projektu*, [http://trichoderma.inhort.pl/ufiles/file/materiały\\_konf\\_2014.pdf](http://trichoderma.inhort.pl/ufiles/file/materiały_konf_2014.pdf) [data dostępu: 29.10.2015].
- [18] VAVERKOVA M., ADAMCOVA D., KOTOVICOVA J., TOMAN T., *Evaluation of biodegradability of plastics bags in composting conditions*, Ecological Chemistry and Engineering, 2014, Vol. 21, No. 1, 45–57.
- [19] WOJTKOWIAK-GEBAROWSKA E., *Mechanizmy zwalczania fitopatogenów glebowych przez grzyby z rodzaju Trichoderma*, Postępy Mikrobiologii, 2006, Vol. 45, No. 4, 261–273.
- [20] [www.biobag.pl/](http://www.biobag.pl/), data dostępu: 21.01.2016.

#### TPRELIMINARY STUDIES ON THE USE OF TRICHODERMA SP. IN THE PROCESS OF DECOMPOSITION OF BIODEGRADABLE PACKAGING

Conducted experiment examined the possible participation of Trichoderma fungi in the process of dissolution of biodegradable plastic containers. Small cut pieces of plastic bags, with accordingly certified composting properties, were placed on Petri dish with diversified media. Trichoderma inoculum was implemented onto 10 samples. After that, growth and development of fungi was observed. Independently of media type, Trichoderma not only doesn't use the plastic bag as a potential source of carbon, but also avoids it. The findings may suggest either Trichoderma incapability of active participation in composting biodegradable plastic bags, or lack of declared by the producer biodegradable properties of the bag itself.