



MAISTO ATLIEKŲ AEROBINIO FERMENTAVIMO PANAUDOJANT BAKTERIJAS (BACILLUS SUBTILIS, LACTOBACILLUS SALIVARIUS, BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS) IR JUODOSIOS PLOKŠČIAMUSĖS (HERMETIA ILLUCENS) LERVAS TYRIMAS

Luka Šarmaitytė¹, Aušra Zigmontienė², Domantas Tracevičius³

Aplinkos apsaugos ir vandens inžinerijos katedra

E-paštas: ¹luka.sarmaityte@stud.vgtu.lt; ²ausra.zigmontiene@vgtu.lt; ³domantas@insectum.eu

Anotacija. Lietuvoje kasmet susidaro daugiau kaip 100 tūkst. tonų maisto atliekų, kurių didžioji dalis patenka į sąvartynus – labiausiai vengtinus atliekų tvarkymo įrenginius. ES šalyse pramonėje ir individualiuose namuose siekiama įdiegti žiedinės ekonomikos standartus atitinkančias kompostavimo technologijas. Viena iš jų – aerobinė fermentacija mikroorganizmais. Tyrimų tikslas – įvertinti trijų bakterijų rūšių įtaką juodosios plokščiamusės lervų prieaugiui aerobiškai fermentuojant augalinės kilmės maisto atliekas. Tyrimo objektai – *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus salivarius*, *Bacillus amyloliquefaciens* bakterijos, *Hermetia illucens* lervos ir augalinės kilmės maisto atliekos. Eksperimentiniai tyrimai atlikti VGTU Aplinkos apsaugos ir vandens inžinerijos katedros laboratorijose naudojant termostata, kai fermentacijos trukmė – 7 paros. Tyrimai parodė, kad *Bacillus amyloliquefaciens* yra tinkamiausia bakterija atlikti augalinės kilmės maisto atliekų aerobinę fermentaciją, nes išgyveno 96,0 vnt. lervų, kurių prieaugis siekė 2,422 g. Mėginiai su *Lactobacillus salivarius* bakterija parodė prasčiausius rezultatus: vidutiniškai išgyveno 95,7 vnt. lervų, kurių prieaugis buvo 1,599 g. Drėgmės tyrimas parodė, kad lervų išgyvenamumas yra geresnis mažesnės drėgmės terpės mėginiuose (59,29 % – 487 vnt.).

Reikšminiai žodžiai: aerobinė fermentacija, juodosios plokščiamusės lerva (*Hermetia illucens*), maisto atliekos, bakterijos, prieaugis.

Įvadas

Jungtinių Tautų maisto ir žemės ūkio organizacija (MŽŪO, angl. *FAO – The Food and Agriculture Organization of the United Nations*) maisto atliekas apibūdino kaip sveiką maistą, skirtą žmonių vartojimui, susidaranti bet kuriame maisto grandinės (angl. *food supply chain*) etape (Gustavsson, Cederberg, Sonesson, Otterdijk ir Meybeck, 2011). Tristanas Stuaras papildė MŽŪO apibrėžtį, teigdamas, kad maisto atliekos taip pat turi apimti valgomą medžiagą, kuri yra apgalvotai šeriama gyvūnams arba yra šalutinis produktas maisto perdirbimo grandinėje (Stuart, 2009). Tačiau XXI a. maisto atliekos apibūdinamos kaip atliekos, atsirandančios maisto gamybos, platinimo ir vartojimo etapuose (Stenmarck, Jensen, Quedstedt ir Moates, 2016).

Lietuvoje kasmet susidaro daugiau kaip 100 tūkst. tonų maisto atliekų. LR Aplinkos apsaugos agentūros duomenimis, 2012 m. jų buvo surinkta apie 138,4 tūkst. t, 2013 m. – apie 107 tūkst. t, 2014 m. – apie 102,7 tūkst. t (LR Aplinkos ministerija, 2016).

Didžioji dalis susidariusių maisto atliekų patenka į sąvartynus. Juose, Lietuvos regioninių atliekų tvarkymo centrų duomenimis, 2012 m. pašalinta apie 111,4 tūkst. t, 2013 m. – apie 89,9 tūkst. t, 2014 m. – apie 82,8 tūkst. t maisto atliekų (LR Aplinkos ministerija, 2016). Pagal atliekų hierarchijos principą, sąvartynai yra mažiausiai skatinamas (netgi vengtinus) atliekų tvarkymo būdas.

Pagrindinis atliekų tvarkymo tikslas – mažinti susidarantių atliekų kiekį, užtikrinant saugų žmonių sveikatai ir aplinkai atliekų tvarkymą, atliekų medžiaginio ir energetinio potencialo išnaudojimą, taip mažinant gamtos ir kitų išteklių naudojimą ir atliekų šalinimą sąvartynuose (VAATC, 2015).

Atliekose esamos vertingos maistinės medžiagos (C, N, P, K, Ca, Mg bei kt.) gali būti gražinamos atgal į dirvožemį, jį praturtinant. Kadangi Lietuvoje, kaip ir kitose ES šalyse, didėja komposto iš maisto BSA fermentavimo gamybos įmonių, labai svarbu, kad būtų diegiamos tinkamos

kompostavimo technologijos ne tik pramonėje, bet ir individualiuose namuose.

Siekiant tiek kokybinių, tiek kiekybinių BSA tvarkymo tikslų, aerobinio fermentavimo metu nustatyti mikroorganizmai, efektyviausiai skaidantys maisto atliekas, gali būti pasiūlyti perdirbimo įmonėms kaip labiausiai atsipirkantios investicijos į verslą bei aplinkos apsaugą.

Bacillus subtilis – išskiria polimerus, tokius kaip baltymai, krakmolai ir pektinas, todėl manoma, kad ji yra svarbi anglies ir azoto ciklų susidarymui. Taip pat ši rūšis geba virškinti baltymus ir organinį fosforą bei turi teigiamą įtaką juodosios plokščiamusės (*Hermetia illucens*) lervos vystymuisi (Yu ir kt., 2011).

Lactobacillus salivarius – iš angliavandenių gamina organines rūgštis, tokias kaip pieno ar acto rūgštys, kurios padeda suskaidyti atliekas, neleidžiant daugintis kenksmingiems mikroorganizmams (Chen ir kt., 2012).

Bacillus amyloliquefaciens – apsaugo augalus nuo parazitinių kenkėjų ir sugeba virškinti fosforą. Taip pat ji yra randama augaluose, pvz., gyvena simbiozėje su pupinių augalų šaknimis, dėl to aktyvina laisvojo atmosferos azoto fiksaciją ir užtikrina augalo aprūpinimą azotu (Wu ir kt., 2014).

Juodosios plokščiamusės kompostas yra palyginti lengva valdymo sistema, kurioje organinės medžiagos yra konvertuojamos į didelės vertės baltymus ir organines trąšas. Dėl šios lervos judėjimo medžiaga yra aeruojama, todėl išvengiama anaerobinių sąlygų susidarymo. Taip pat susidaro mažiau riebalų rūgščių junginių ir sumažėja skleidžiamo kvapo intensyvumas. Ši lerva sudaryta iš 40 % baltymų ir 30 % riebalų, priklausomai nuo substrato, kurį ji vartoja, ir apima esmines amino ir riebalų rūgštis. Vienas iš pagrindinių šio fermentavimo pranašumų yra tai, kad tai yra decentralizuota sistema, kuri daugiau ar mažiau galėtų būti įgyvendinta mažų ir vidutinių pajamų šalyse (Li ir kt., 2011).

Hermetia illucens yra naudojama organinių atliekų biokonversijai į pašarą, skirtą ūkiniams gyvūnams ir akvakultūrai, ir tai yra ekonomiškai vienas iš svarbiausių auginamųjų vabzdžių pasaulyje. Lervos gali būti maitinamos žemės ūkio atliekomis ir net skystu mėšlu, turinčiu neprognozuojamą ir aukštą patogenų lygį. Juodosios plokščiamusės lervos turi ypatingai platų spektrą antimikrobinių peptidų (AMP), kurie ima veikti, kuomet lervos maitinamos daug patogenų turinčiu maitinimu. Didžiausias skaičius AMP ir jų veiksmingumo išraiška nustatyta lervoms duodant baltymų arba saulėgražų aliejų. Nuo maitinimo tipo priklausančių AMP išraiška iš lervų persiduoda į pašarus, kurie turi inhibitorinį poveikį prieš platus bakterijų

spektrą (Vogel, Müller, Heckel, Gutzeit ir Vilcinskas, 2018).

Šio darbo tikslas – maisto atliekų aerobinės fermentacijos tyrimo metu palyginti *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus salivarius* ir *Bacillus amyloliquefaciens* bakterijų įtaką *Hermetia illucens* lervų prieaugiui ir išsiaiškinti, kuri bakterija yra efektyviausia atliekų aerobinei fermentacijai vykdyti.

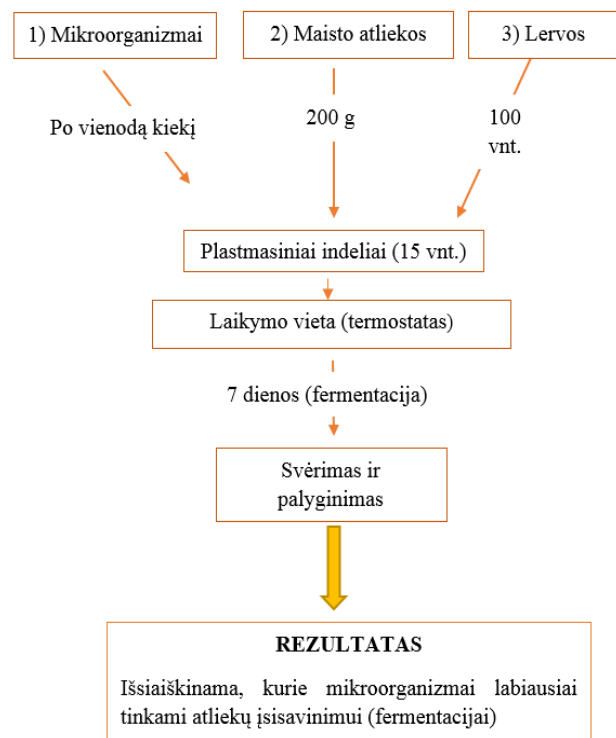
Metodika

Tyrimai atlikti Vilniaus Gedimino technikos universiteto (VGTU) Aplinkos apsaugos ir vandens inžinerijos katedros laboratorijose. Naudotas termostatas (*modelis: Incubator S.I.60*) ir džiovavimo spinta.

Tyrimams atlikti naudojamos trys pagrindinės komponentės:

- 1) Mikroorganizmai (*Lactobacillus salivarius*, *Bacillus subtilis* ir *Bacillus amyloliquefaciens*);
- 2) Augalinės kilmės maisto atliekos (50 % – daržovės, 50 % – grūdinės kilmės atliekos);
- 3) Juodosios plokščiamusės (*Hermetia illucens*) lervos.

Šie komponentai sudėti į 15 plastmasinių indelių. Kiekvieną tyrimo mėginį sudarė vienodas bakterijų kiekis, kuris buvo sudėtas į 200 g maistinės kilmės atliekų su 100 vnt. juodosios plokščiamusės (*Hermetia illucens*) lervų plastmasinį indelį (1 paveikslas).



1 paveikslas. Tyrimo eigos schema

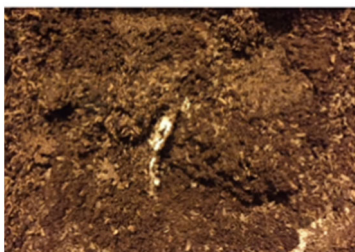
Visi 15 tyrimo mėginių buvo sudėti į termostatą (šilumos spintą), kuriame nustatytos palankios sąlygos bakterijų gyvimui ir lervų vystymuisi (aerobinei fermentacijai): +27,0–28,5 °C laipsnių temperatūra ir 70–80 % oro drėgmė. Tyrimo trukmė – 7 paros. Rezultatai gauti nustačius lervų prieaugį svėrimo ir palyginimo metu. Statistinės analizės metu išsiaiškinta, kurie mikroorganizmai labiausiai tinkami atliekoms pasisavinti, t. y. aerobinei fermentacijai.

Indelių paruošimas

Eksperimentui naudota 15 vnt. skaidrių, sterilių plastikinių indelių (10,5×8×10 cm) su dangčiais. Remiantis N. K. Bonso (2013) tyrimu, visuose dangteliuose žirklėmis padarytos 5 skylutės, kurių skersmuo siekė 2 cm. Jos skirtos deguonies patekimui į maisto atliekas, kuris yra reikalingas lervų kvėpavimui. Tokiu būdu užtikrintos palankios aerobinės sąlygos. Kadangi juodosios plokščiamusės lervos (*Hermetia illucens*) linkusios šliaužti į viršų, tarp dangtelių ir plastikinių dubenėlių uždėtas tinklelis – medvilninė marlė (tankumas 1 mm), kaip priemonė, skirta vabzdžių įsibrovimui / išsibrovimui kontroliuoti (pagal Diener, Zurbrügg ir Tockner, 2009). Marlės galai palikti išsikišę virš kraštų apie 1 cm, kad būtų galima lengviau atidaryti ir patikrinti lervų gyvybingumą.

Lervų paruošimas

Lervos surinktos iš jų auginimo vietų, t. y. specialių dėžių su maistine medžiaga. Lervų atrinkimui naudotos šios priemonės: pincetas, plastikinė lėkštė ir svarstyklės.



2 paveikslas. Dėžės su juodosios plokščiamusės (*Hermetia illucens*) lervomis

Ranka (su vienkartinėmis pirštinėmis) pamaišytas substratas su lervomis, siekiant į viršų iškelti lervas, kurioms būdinga kauptis Gilesniuose sluoksniuose (3–5 cm substrate), nes joms reikalinga tamsa ir šiluma. Tokiu būdu nustatyta vieta dėžėje, kurioje yra didžiausias kiekis judančių ir gyvybingų organizmų. 2 paveiksle pavaizduotos dėžės su juodosios plokščiamusės lervomis.

Substratas paimtas viena sauja kartu su lervomis ir padėtas / išsklaidytas ant vienkartinės lėkštės. Pincetu suskaičiuota po 100 lervų vienetų (Iš viso: 1500 vienetų) (4–6 dienų amžiaus) ir pasverta 0,001 g tikslumu elektroninėmis svarstyklėmis (*modelis: 20 g/0.001 g Mini Digital Scale*).

Maisto atliekų paruošimas

Maisto atliekų sudėtis: daržovės (50 %), miltai, bakalėja (50 %) ir vanduo. Maisto atliekų paruošimui naudotos priemonės: svarstyklės, šaukštas, indeliai. Maisto atliekos pasvertos svarstyklėmis 1 g tikslumu (*modelis: Silver Crest, version: 09/2017, IAN 292004*). Kiekvienam mėginiui pasverta po 200 g atliekų substrato. Iš viso: 3 kg = 3000 g maisto atliekų.

Maisto atliekomis pripildytas 1/3 indelio tūris. Visi mėginiai sudėti į termostatą sušilti nuo 22 °C laipsnių iki 27,0–28,5 °C laipsnių.

Bakterijų paruošimas

Bakterijų paruošimui reikia: 2 ml distiliuoto vandens, indelio ir metalinės mentelės. Remiantis G. Yu ir bendraautorų straipsnyje (2011) aprašyta metodika, bakterijų kiekis pasvertas, subertas į indelį su 2 ml distiliuoto vandens ir išmaišytas metaline mentele.

Bacillus subtilis. Įdėtas tikslus bakterijų kiekis į 2 ml distiliuoto vandens, kuriame bakterijų koncentracija būtų 10^8 kfv/ml (Yu ir kt., 2011). Apsiskaičiuotas bakterijų kiekis gramais. Bakterijų įpakavimas: 90 kapsulių – 45 g. Vienoje kapsulėje yra 109 bakterijų. 1 kapsulė 0,5 g – 10^9 . Paimta x g, kad būtų 2×10^8 bakterijų.

$$X = \frac{0,5g \times 2 \times 10^8}{10^9} = \frac{10^8}{10^9} = 0,1g, \quad (1)$$

Į 2 ml distiliuoto vandens įberta 0,1 g arba į 10 ml 1 kapsulė *Bacillus subtilis* bakterijų. Analogiškai, remiantis pavyzdžiu su *Bacillus subtilis* bakterijų kiekio koncentracijos nustatymu (Yu ir kt., 2011), perskaičiuotas reikiamas kiekis ir kitoms bakterijoms.

Lactobacillus salivarius. Įdėtas tikslus bakterijų kiekis į 2 ml distiliuoto vandens, kurių koncentracija būtų

2×10^9 kfv/ml. Tuomet apskaičiuotas bakterijų kiekis gramais. Bakterijų įpakavimas: 25 g. Visoje pakuotėje yra 25 g – 2×10^8 . Paimta x g, kad būtų 4×10^9 bakterijų ($2 \times 2 \times 10^9$).

$$X = \frac{25 \text{ g} \times 4 \times 10^9}{2 \times 10^8} = \frac{10^{11}}{10^8} = 0,001 \text{ g}, \quad (2)$$

Į 2 ml distiliuoto vandens įberta 0,001 g *Lactobacillus salivarius* rūšies bakterijų.

Bacillus amyloliquefaciens. Tikslus kiekis nustatytas pagal proporciją, kuri rekomenduota ant atsisiųstos pakuotės:

$$\begin{aligned} 0,15 \text{ g} - 1000 \text{ ml}, \\ X - 2 \text{ ml}, \\ X = 0,003 \text{ g}. \end{aligned} \quad (3)$$

Į 2 ml distiliuoto vandens įberta 0,003 g *Bacillus amyloliquefaciens* rūšies bakterijų.

Priimta prielaida, kad kiekviena bakterija suformavo koloniją.

Terpės drėgmės nustatymas

Ant popierinio filtro vienodu sluoksniu paskleista 5 g ($\pm 0,6$ mg) bandinio (3 paveikslas). Filtras su turiniu pasvertas 0,001 g tikslumu (W_1).

Paruošti mėginiai džiovinti 105 °C temperatūroje periodiškai pasveriant, kol pavyzdžio masė nebekis (± 2 mg). Džiovinimo laikas: 3,5 h.

Drėgmės kiekis apskaičiuotas procentais pagal 4 formulę:

$$W_1 = \frac{w_1 - w_2}{w_1} \times 100, \quad (4)$$

kur:

W – analizuojamo produkto pavyzdžio drėgmė %,

W_1 – analizuojamo produkto pavyzdžio masė gramais prieš džiovinimą,

W_2 – analizuojamo produkto pavyzdžio masė gramais po džiovinimo.

Aritmetinis vidurkis apskaičiuotas pagal trijų mėginių rezultatus (Paulauskienė, 2012).

Tyrimo eiga

Visi trys paruošti komponentai (maisto atliekos, bakterijos ir lervos) sudėtos į tyrimo indelius. Pirmiausia įdėta 200 g maisto atliekų, tuomet supiltos bakterijos, kurios gerai išmaišytos metaline mentele (po kiekvienos bakterijos rūšies mentelė nuplauta distiliuotu vandeniu) ir subertos juodo-

sios plokščiamusės (*Hermetia illucens*) lervos. Indeliai uždengti marlės medžiaga ir plastmasiniu dangteliu su skylėmis.

Paruošti mėginiai (15 vnt.) sudėti į įkaitintą iki 27,0–28,5 °C laipsnių termostatą (modelis: *Incubator S.1.60*) ir laikyti 7 paras. Į įrenginį įstatytos metalinės grotelės, po kuriomis padėtas dubenėlis su vandeniu, o virš jo sudėti plastmasiniai indeliai. Vanduo keistas 1 kartą (po 3 dienų), kad būtų galima palaikyti pastovią 70–80 % oro drėgmę. Į vidų įdėtas termometras ir higrometras (modelis: *SENCOR SW 1500 RD*), kurie rodė momentinę oro temperatūrą ir drėgmę (3 paveikslas).



3 paveikslas. 15 mėginių termostate (modelis: *Incubator S.1.60*)



4 paveikslas. Juodosios plokščiamusės (*Hermetia illucens*) lervų paruošimas svėrimui po aerobinės fermentacijos: lervų išrinkimas iš substrato ir nuplovimas vandeniu

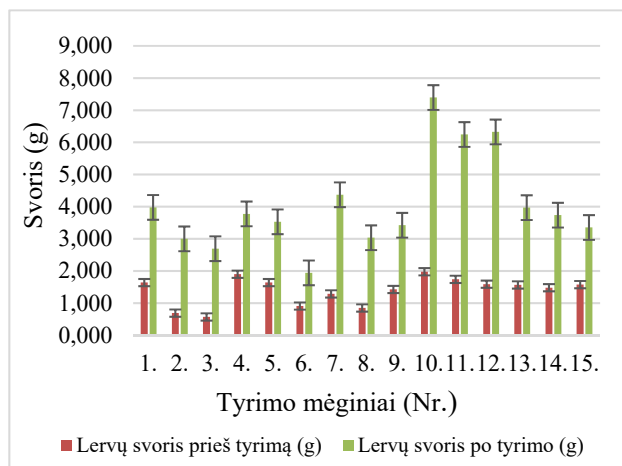
Kiekvieną tyrimo dieną vizualiai vertintas lervų gyvybingumas: 9:00 h ir 20:00 h. Visi mėginiai atidaryti ir metaline mentele apžiūrėti, įvertinant lervų gyvybingumą gilesniuose sluoksniuose (paviršiuje jų nematoma). Po 7

parų mėginiai išimti ir suskaičiuotas priaugusių lervų svoris. Kiekvieno indelio turinys subertas ant plastikinės lėkštės ir pincetu atrinktos gyvos ir neišgyvenusios lervos. Po to jos sudėtos į atskirus indelius ir nuplautos vandeniu per sietelį (maisto atliekų pašalinimas). Tuomet juodosios plokščiamusės lervos suskaičiuotos, nusausintos popieriniu rankšluosčiu ir pasvertos ant svarstyklių (tų pačių kaip ir prieš tyrimą, modelis: 20 g/0.001 g Mini Digital Scale) (4 paveikslas).

Užrašytas pakitęs bendras ir atskirai išgyvenusių bei žuvusių lervų svoris, taip pat suskaičiuotas išgyvenusių ir supuvusių (nerastų) lervų kiekis vienetais.

Rezultatai ir jų aptarimas

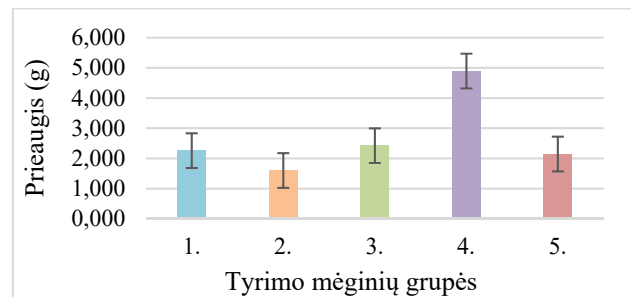
5 paveiksle pavaizduotas 15-os tyrimo mėginių lervų svoris prieš ir po maisto atliekų aerobinės fermentacijos. Didžiausias lervų svoris nustatytas visuose humuso tyrimo mėginiuose: Nr. 10 – 7,394 g, Nr. 12 – 6,325 g., Nr. 11 – 6,244 g.



5 paveikslas. Lervų svoris (g) prieš ir po aerobinės fermentacijos 15-oje tyrimo mėginių: Nr. 1, Nr. 2, Nr. 3 – *Bacillus subtilis*; Nr. 4, Nr. 5, Nr. 6 – *Lactobacillus salivarius*; Nr. 7, Nr. 8, Nr. 9 – *Bacillus amyloliquefaciens*; Nr. 10, Nr. 11, Nr. 12 – humusas; Nr. 13, Nr. 14, Nr. 15 – kontrolė

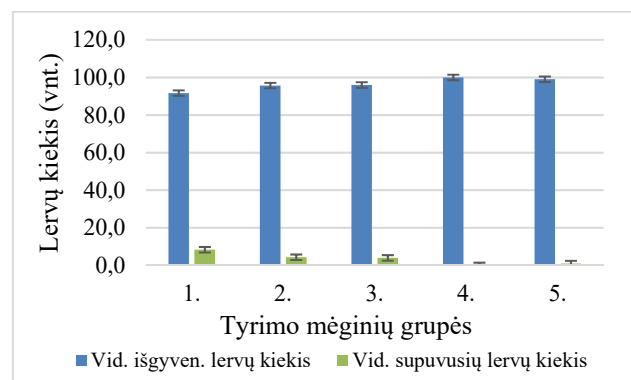
Taip pat didelis lervų svoris nustatytas *Bacillus amyloliquefaciens* Nr. 7 mėginyje – 4,372 g. Mažesnis lervų svoris nustatytas *Bacillus subtilis* Nr. 1 mėginyje – 3,977 g, kontrolės mėginyje Nr. 13 – 3,970 g, *Lactobacillus salivarius* mėginyje Nr. 4 – 3,775 g, kontrolės mėginyje Nr. 14 – 3,736 g, *Lactobacillus salivarius* mėginyje Nr. 5 – 3,530 g, kontrolės mėginyje Nr. 15 – 3,352 g, *Bacillus amyloliquefaciens* mėginiuose Nr. 9 – 3,423 g ir Nr. 8 – 3,034 g. Mažiausiai padidėjęs lervų svoris užfiksuotas dvejuose *Bacillus subtilis* ir viename *Lactobacillus salivarius* mėginiuose: Nr. 2 – 3,000 g, Nr. 2 – 2,693 g, Nr. 6 – 1,942 g.

Didžiausias vidutinis lervų priaugis po maisto atliekų aerobinės fermentacijos 5-iose skirtinguose mėginiuose pavaizduotas 6 paveikslo diagramoje. Didžiausias vidutinis lervų priaugis nustatytas humuso mėginiuose – 4,895 g. Antroje vietoje pagal vidutinį priaugį yra *Bacillus amyloliquefaciens* mėginiai – 2,422 g. Trečioje vietoje – *Bacillus subtilis* mėginiai, kuriuose nustatytas 2,256 g vidutinis teigiamas lervų priaugis. Mažesnis vidutinis neigiamas lervų priaugis nustatytas kontrolės tyrimo mėginiuose – 2,145 g. Pats mažiausias vidutinis lervų priaugis užfiksuotas *Lactobacillus salivarius* mėginiuose – 1,599 g.



6 paveikslas. Vidutinis lervų priaugis (g) 5-iose tyrimo rūšyse: 1. – *Bacillus subtilis*, 2. – *Lactobacillus salivarius*, 3. – *Bacillus amyloliquefaciens*, 4. – humuse ir 5. – kontrolėje

Vidutinis išgyvenusių ir supuvusių lervų kiekis po maisto atliekų aerobinės fermentacijos 5-iose skirtingose tyrimo rūšyse pavaizduotas 7 paveikslo diagramoje. Didžiausias ir maksimalus vidutinis išgyvenusių lervų kiekis rastas humuso mėginiuose – 100 vnt. O mažiausias vidutinis išgyvenusių lervų kiekis *Bacillus subtilis* mėginiuose – 91,7 vnt. Didesnis vidutinis išgyvenusių lervų kiekis yra *Lactobacillus salivarius* ir *Bacillus amyloliquefaciens* mėginiuose – 95,7 vnt. ir – 96,0 vnt. Kontrolinėje grupėje nustatytas 99,0 vnt. vidutinis išgyvenusių lervų kiekis.

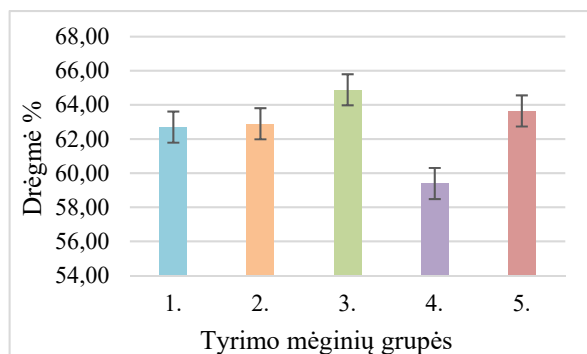


7 paveikslas. Vidutinis išgyvenusių ir supuvusių lervų kiekis (vnt.) 5-iose tyrimo rūšyse: 1. – *Bacillus subtilis*, 2. – *Lactobacillus salivarius*, 3. – *Bacillus amyloliquefaciens*, 4. – humuse ir 5. – kontrolėje

Didžiausias vidutinis supuvusių lervų kiekis (vizualiai nematomos) nustatytas *Bacillus subtilis* mėginiuose – 8,3 vnt. O mažiausias vidutinis supuvusių lervų kiekis yra suskaičiuotas *Bacillus amyloliquefaciens* mėginiuose – 4,0 vnt. Panašus vidutinis neišgyvenusių lervų kiekis yra *Lactobacillus salivarius* mėginiuose – 4,3 vnt. Supuvusių lervų nerasta Humuso ir kontrolės mėginiuose.

Didžiausia vidutinė drėgmė (%) po aerobinės fermentacijos 5-uose skirtinguose mėginiuose pavaizduota 8 paveikslu diagramoje. Didžiausia vidutinė drėgmė nustatyta *Bacillus amyloliquefaciens* mėginiuose – 64,89 %. Antroje vietoje pagal vidutinį drėgnumą yra kontrolės mėginiai – 63,64 %. Trečioje vietoje – *Lactobacillus salivarius* mėginiai, kuriuose nustatytas 62,89 % vidutinis drėgmės kiekis. Ketvirtoje vietoje – *Bacillus subtilis* mėginiai, kuriuose nustatytas 62,70 % vidutinė drėgmė O mažiausias vidutinis drėgnumas ištirtas humuso mėginiuose – 59,39 %.

Drėgmės kiekis (%) skirtingų tyrimo mėginių rūšyse parodė, kad 100 % vienodų reikšmių nėra nei vienoduose tyrimo mėginių indeliuose (po 3 vnt.), nei tarp skirtingų rūšių (5 tyrimo rūšys: *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus salivarius*, *Bacillus amyloliquefaciens*, humusas, kontrolė).



8 paveikslas. Vidutinis drėgmės kiekis (%) 5-uose rūšių mėginiuose: 1. – *Bacillus subtilis*, 2. – *Lactobacillus salivarius*, 3. – *Bacillus amyloliquefaciens*, 4. – humuse ir 5. – kontrolėje

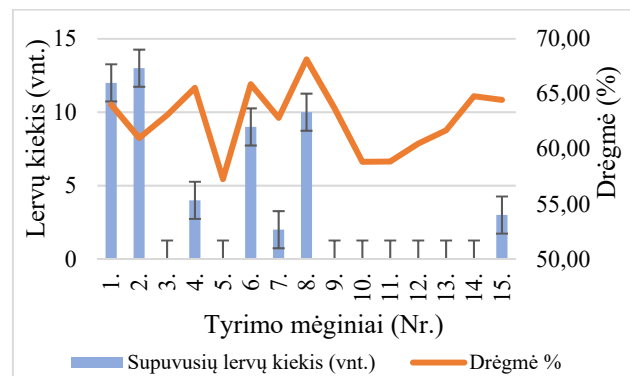
Po aerobinio fermentavimo išgyvenusių lervų kiekio (vnt.) priklausomybė nuo drėgmės (%) pavaizduota 1 lentelėje. Matoma, kad yra koreliacija tarp drėgmės ir išgyvenusių lervų kiekio bei prieaugio. Pvz., mėginiuose Nr. 5, Nr. 10, Nr. 11, Nr. 12 ir Nr. 2, kurių vid. drėgmė yra pati mažiausia, lyginant su likusiais mėginiais, pastebimas padidėjęs išgyvenusių lervų kiekis (487 vnt.) bei prieaugis (18,885 g). O mėginiuose Nr. 15, Nr. 14, Nr. 4, Nr. 6 ir Nr. 8, kurių vid. drėgmė yra pati mažiausia, lyginant su likusiais mėginiais, matomas mažiausias lervų išgyvenamumas (474 vnt.) ir prieaugis (9,123 g). Tokius rezultatus

pagrindė, kaip literatūroje minima, – išgyvenusių lervų judėjimas, kurio metu išsiskyrė šiluma, išgarinusi drėgmę. Kuo lervų kiekis didesnis, tuo mažesnė drėgmė po tyrimo.

1 lentelė. Po aerobinio fermentavimo išgyvenusių lervų kiekio (vnt.) ir prieaugio (g) priklausomybė nuo drėgmės (%)

Mėginių Nr.	Vid. drėgmė, %	Išgyvenusių lervos (vnt.)	Prieaugis (g)
5,10,11,12,2	59,29	487	18,885
13,7,3,9,1	63,06	486	11,945
15,14,4,6,8	65,76	474	9,123

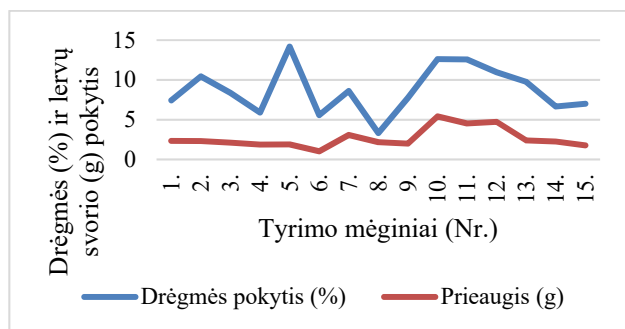
Po aerobinio fermentavimo supuvusių lervų kiekio (vnt.) priklausomybė nuo drėgmės (%) pavaizduota 9 paveiksle Matoma, kad yra koreliacija tarp drėgmės ir neišgyvenusių lervų kiekio. Pvz., mėginiuose Nr. 15, Nr. 14, Nr. 4, Nr. 6 ir Nr. 8, kurių drėgmė (64,45 %, 64,79 %, 65,54 %, 65,88 % ir 68,13 %) yra viena iš didžiausių, lyginant su likusiais mėginiais, pastebimas tam tikras neišgyvenusių lervų skaičiaus (12 vnt., 3 vnt., 4 vnt., 9 vnt. ir 10 vnt.). O mėginiuose Nr. 5, Nr. 10, Nr. 11, Nr. 12 ir Nr. 2, kurių drėgmė (57,26 %, 58,83 %, 58,87 %, 60,48 % ir 61,00 %) yra viena iš mažiausių, lyginant su likusiais mėginiais, išvis nepastebima nei vienos supuvusios lervos. Vadinasi, mažesnė drėgmė yra palankesnė lervų išgyvenimui.



9 paveikslas. Po aerobinio fermentavimo supuvusių (vnt.) priklausomybė nuo drėgmės (%)

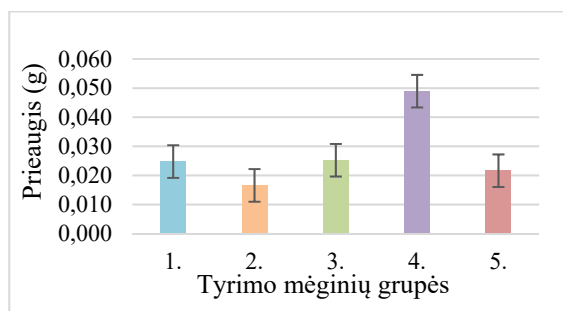
Esant didesniam prieaugiui, pastebėtas ir didesnis drėgmės pokytis: lervoms aktyviai maitinantis (aerobiškai fermentuojant maisto atliekas) yra suvartojamas didesnis drėgmės kiekis. Šis dėsniumas pavaizduotas 10 paveiksle.

Tinkamą fermentacijos procesą nulemia biomasės prieaugis. Kuo biomasės (lervų masė) prieaugis didesnis, tuo procesas efektyvesnis.



10 paveikslas. Po aerobinio fermentavimo lervų priaugis (g) priklausomybė nuo drėgmės pokyčio (%)

Pastebėta, kad didžiausias vidutinis vienos lervos priaugis yra humuso mėginiuose (0,049 g), kuris yra 2,2 karto didesnis, lyginant su kontrolės mėginiais (0,022 g) (11 paveikslas).



11 paveikslas. Po aerobinio fermentavimo vidutinis vienos lervos priaugis (g) 5-ose tyrimo mėginių rūšyse: 1. – *Bacillus subtilis*, 2. – *Lactobacillus salivarius*, 3. – *Bacillus amyloliquefaciens*, 4. – humuse ir 5. – kontrolėje

Vienodas – 0,003 g didesnis, lyginant su kontrolės mėginiais, vidutinis vienos lervos priaugis nustatytas *Bacillus subtilis* (0,025 g) ir *Bacillus amyloliquefaciens* (0,025 g) tyrimo mėginių rūšyse. Mažiausias vid. supuvusių lervų kiekis užfiksuotas *Lactobacillus salivarius* mėginiuose (0,017 g), kuris nuo kontrolės mėginių skyrėsi 0,005 g.

Išvados

1. Maisto atliekų aerobinės fermentacijos tyrimo metu naudotos trijų rūšių bakterijos atskleidė tokius rezultatus:

Lactobacillus salivarius (Nr. 4, Nr. 5, Nr. 6) – yra mažiausiai tinkama bakterija atlikti augalinės kilmės maisto atliekų aerobinę fermentaciją, nes vidutiniškai išgyveno 95,7 vnt. juodosios plokščiamusės lervų (*Hermetia illucens*), kurių priaugis buvo 1,599 g.

Bacillus subtilis (Nr. 1, Nr. 2, Nr. 3) – pasiekti tarpiniai rezultatai, nes vidutinis lervų išgyvenamumas siekė 95,7 vnt., kurių priaugis siekė 2,256 g.

Bacillus amyloliquefaciens (Nr. 7, Nr. 8, Nr. 9) – yra tinkamiausia bakterija atlikti augalinės kilmės maisto atliekų aerobinę fermentaciją, nes išgyveno 96,0 vnt. lervų, kurių priaugis buvo 2,422 g.

2. Maisto atliekų aerobinės fermentacijos tyrimo metu naudoti humuso mėginiai parodė geresnius rezultatus, negu mėginiai su bakterijomis. Tai įrodo vidutinis maksimalus lervų išgyvenamumas – 100 vnt., kurių priaugis siekė 4,895 g ir vid. vienos lervos priaugis (0,049 g), kuris yra 2,2 karto didesnis, lyginant su kontrolės mėginiais (0,022 g). Tai yra tirtina sritis, nes nedidelis humuso kiekis (20 %) ženkliai pagerina rezultatus, lyginant su kontrolės mėginiais.

3. Mėginių drėgmės tyrimas parodė, kad lervų išgyvenamumas yra geresnis mažesnės drėgmės terpės mėginiuose (59,29 % – 487 vnt.).

Literatūra

- Bonso, N. K. (2013). *Bioconversion of organic fraction of solid waste using the larvae of the black soldier fly (Hermetia Illucens)*. Kwame Nkrumah University of Science and Technology, Kumasi-Ghana, pp. 14-21.
- Chen, L. J., Tsai, H. T., Chen, W. J., Hsieh, C. Y., Wang, P. C., Chen, C. S., Wang, L., & Yang, C. C. (2012). In vitro antagonistic growth effects of *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus salivarius* and their fermentative broth on periodontal pathogens. *Brazilian Journal of Microbiology*, 43(4), 1376-1384. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400019>
- Diener, S., Zurbrugg, C., & Tockner, K. (2009). Conversion of organic material by black soldier fly larvae – Establishing optimal feeding rates. *Journal of Waste Management & Research*, 27(6), 603-610. <https://doi.org/10.1177/0734242X09103838>
- Gustavsson, J., Cederberg, C., Sonesson, U., Otterdijk, R., & Meybeck, A. (2011). *Global food losses and food waste: extent, causes and prevention*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, pp. 4-5.
- Yu, G., Cheng, P., Chen, Y., Li, Y., Yang, Z., Chen, Y., & Tomberlin, J. K. (2011). Inoculating poultry manure with companion bacteria influences growth and development of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae. *Journal of Environmental Entomology*, 40(1), 30-35. <https://doi.org/10.1603/EN10126>
- Li, Q., Zheng, L., Qiu, N., Cai, H., Tomberlin, J. K., & Yu, Z. (2011). Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production. *Journal of Waste Management*, 31(6), 1316-1320. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2011.01.005>
- LR Aplinkos ministerija. (2016). *Maisto atliekas rūšiuos ir gyventojai*. Prieiga per internetą: <http://alkas.lt/2016/11/05/maisto-atliekas-rusiuos-ir-gyventojai/>
- Paulauskienė, A. (2012). *Maisto chemija: Laboratorinių darbų aprašas*. Kaunas: Akademija, p. 6-7.

- Stenmarck, Å., Jensen, C., Quested, T., & Moates, G. (2016). *Estimates of European food waste levels*. Stockholm, pp. 12-19.
- Stuart, T. (2009). *Waste: Uncovering the global food scandal*. London, pp. 10-36.
- UAB „VAATC“. (2015). *Vilniaus apskrities regioninis 2014–2020 m. atliekų tvarkymo planas. Projektas*. Prieiga per internetą: https://www.vaatc.lt/wp-content/uploads/2016/08/20150414_Vilniaus-regiono-ATP.pdf
- Vogel, H., Müller, A., Heckel, D. H., Gutzeit, H., & Vilcinskis, A. (2018). Nutritional immunology: Diversification and diet-dependent expression of antimicrobial peptides in the black soldier fly *Hermetia illucens*. *Journal of Developmental and Comparative Immunology*, 78, 141-148. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2017.09.008>
- Wu, L., Wu, H., Chen, L., Lin, L., Borriss, R., & Gao, X. (2014). Bacilysin overproduction in *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42 markerless derivative strains FZBREP and FZBSPA enhances antibacterial activity. *Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(10), 4255-4263. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6251-0>

RESEARCH OF AEROBIC FOOD WASTE FERMENTATION WITH *BACILLUS SUBTILIS*, *LACTOBACILLUS SALIVARIUS*, *BACILLUS AMYLOLIQUEFACIENS* BACTERIA AND *HERMETIA ILLUCENS* LARVAE

L. Šarmaitytė, A. Zigmontienė, D. Tracevičius

Summary

Over 100,000 tons of food waste is generated in Lithuania annually, most of which ends up in landfill sites – the most avoidable waste management facilities. The EU countries are aimed at introducing the composting technologies that are in compliance with the standards of circular economy in industry sectors and individual homes. One of them is aerobic fermentation with microorganisms. The aim of studies is to evaluate the influence of three types of bacteria on the growth rate of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae in aerobic fermentation of food waste of vegetable origin. The objects of studies include *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus salivarius*, *Bacillus amyloliquefaciens* bacteria, *Hermetia illucens* larvae and food waste of vegetable origin. The experimental studies have been performed in the laboratories of the Department of Environmental Protection and Water Management Engineering of the VGTU by using a thermostat with the duration of fermentation being 7 days. As the studies have shown, *Bacillus amyloliquefaciens* is the most suitable bacterium for aerobic fragmentation of food waste of vegetable origin as it leads to the survival of 96.0 units of larvae the growth rate of which reached 2.422 g. The samples with *Lactobacillus salivarius* bacterium showed the lowest performance: 95.7 units of larvae survived on the average the growth rate of which was 1.599 g. According to the moisture test, the survival of larvae showed better performance in the samples with lower moisture medium content (59.29% – 487 units).

Keywords: aerobic fermentation, *Hermetia illucens* larvae, food waste, influence of bacteria, growth.