związki pośrednie o małej masie cząsteczkowej za pośrednictwem działania hydrolaz pozakomórkowych. Związki o małej masie cząsteczkowej są z kolei asymilowane przez komórki i wykorzystywane jako źródło energii i węgla. Stopniowa depolimeryzacja (hydroliza) substratów polimerycznych jest najczęściej pierwszym i całkowitym etapem ograniczania szybkości mineralizacji materii organicznej w osadzie czynnym i beztlenowych systemach oczyszczania ścieków przez osady mikroorganizmów beztlenowych. Wszystkie opracowane modele oczyszczania ścieków wykorzystują parametry kinetyczne oparte na początkowej szybkości rozkładu ścieków poprzez hydrolizę prowadzoną przez enzymy pozakomórkowe. Takim przykładem jest szeroko stosowany model osadu czynnego. Kolejne modele oczyszczania ścieków włączały usuwanie fosforu i azotu.

1.2. Ektoenzymy i egzoenzymy zewnątrzkomórkowe

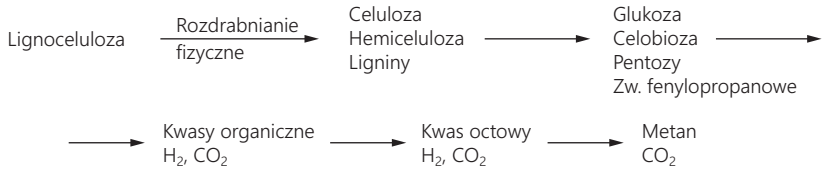
Egzoenzymy, takie jak lipazy, glikozydazy, proteazy, fosfatazy i inne, mogą pochodzić z jednego z trzech kluczowych źródeł, a mianowicie: 1) z dopływających ścieków, 2) z autolizy komórek osadu czynnego i/lub 3) jako enzymy aktywnie wydzielane przez komórki mikroorganizmów (Burgess i Pletschke 2008). Ponadto, egzoenzymy są albo związane z powierzchnią komórki (ektoenzymy), w postaci wolnej (egzoenzymy) w ściekach lub adsorbowane w pozakomórkowych substancjach polimerycznych (EPS) matriks osadu. W beztlenowych osadach ściekowych wyróżniono dwie klasy enzymów pozakomórkowych: wolne od komórki enzymy rozproszone w ściekach oraz enzymy komórkowe związane z powierzchnią komórek mikroorganizmów. Na przykład α-amylaza związana z komórkami jest odpowiedzialna za hydrolizę osadu. Uważa się, że ilość egzoenzymów rozpuszczonych w ściekach jest nieistotna. Hydrolazy w osadach są głównie związane z komórkami bakteryjnymi lub związane z kłaczkami osadu osadzonymi w matriks EPS. Aktywność proteolityczna w kłaczkach osadu czynnego jest stwierdzana głównie w EPS, natomiast aktywność glikolityczna jest związana z organiczną frakcją koloidalną ścieków. Aktywność enzymów proteaz i fosfataz jest związana głównie z cząstkami organicznej materii osadów.

Aktywność egzoenzymów w warunkach beztlenowych ogranicza się do hydrolaz, głównie lipaz, fosfataz, glikozydaz i proteaz. Stężenie tych hydrolaz oraz ich kontakt z hydrolizowanymi substratami posłużyły do rozwiązań modelowych dotyczących substratów drobnoziarnistych w czasie „trawienia" tlenowego i beztlenowego. Spadek aktywności glikozydaz jest związany z gromadzeniem materiału polisacharydowego w EPS. Dodawanie enzymów do hydrolizowanych substancji w ściekach znacznie poprawia efektywność procesu, głównie lipaz. Jednakże, w ogólnym bilansie ze względu na skład ścieków, bogatych w białka i węglowodany, proteazy i glikozydazy odgrywają zasadniczą rolę w procesie oczyszczania ścieków.

1.3. Fermentacje węglowodanów

Organizmy fermentacyjne są substratowo bardzo wszechstronne i stanowią pierwszą część beztlenowego łańcucha pokarmowego. Polimery, takie jak polisacharydy (celuloza, sacharoza, skrobia, chityna, mannany, ksylany, chitozan, mureina, dekstran, laminaryna), białka, DNA i lipidy są atakowane przez enzymy zewnątrzkomórkowe i rozbijane na mniejsze jednostki, które są pobierane przez liczne mikroorganizmy fermentacyjne. Monomery poddawane fermentacjom obejmują cukry (heksozy, pentozy), poliole, kwasy organiczne, długołańcuchowe kwasy tłuszczowe, aminokwasy, puryny i pirymidyny. Oprócz tych klasycznych substratów, są również fermentowane takie substraty, jak cytrynian, glioksalan, bursztynian, szczawian i malonian. Nawet związki aromatyczne resorcynol i floroglucynol są fermentowane przez pojedyncze szczepy. W ostatnich latach stwierdzono możliwości fermentacji węglowodorów aromatycznych w hodowlach czystych szczepów, ale efektywniej zachodzi ona z zastosowaniem konsorcjów wielu mikroorganizmów. W ściekach pochodzących z bioprzemysłu (szeroko pojęty przemysł spożywczy) znajdują się znaczące ilości węglowodanów, głównie skrobia, sacharoza oraz cukry proste (heksozy i pentozy). Pewne ilości tych węglowodanów znajdują się w ściekach komunalnych.

Pierwszy etap fermentacji glikolitycznych to powstawanie pirogronianu, u większości bakterii przebiega według szlaku EMP (szlak Embdena–Meyerhofa–Parnasa), szlaku HMP (szlak heksozomonofosforanowy), szlaku PP (szlak pentozofosforanowy, szlak Warburga–Dickensa–Horeckera), a niektóre bakterie degradują szlakiem ED (Endnera–Doudoroffa). Kluczowy metabolit, jakim jest kwas pirogronowy, ulega kolejnym przemianom w procesie różnych fermentacji z udziałem różnych bakterii (Rys. 1.1).



Rys. 1.1. Schemat mikrobiologicznej degradacji węglowodanów w warunkach beztlenowych do metanu i ditlenku węgla

Wyróżnia się następujące typy fermentacji glikolitycznych, nazywanych od głównych produktów oraz dwie fermentacje nieglikolityczne:

1) **fermentacja alkoholowa**, prowadzona przez drożdże *Sacharomyces cerevisiae* lub bakterie *Zymomonas mobilis*, przebiega zgodnie ze schematem reakcji:

$$\text{glukoza} \rightarrow \text{etanol} + CO_2$$