

# Spis treści

Wprowadzenie (J. Długoński) / 11

Wstęp do wydania podręcznika *Biotechnologia mikrobiologiczna. Ćwiczenia i pracownie specjalistyczne* z 1997 roku (J. Długoński) / 15

## 1. Metody pozyskiwania, hodowli, doskonalenia i przechowywania drobnoustrojów o znaczeniu przemysłowym / 17

- 1.1. Ogólna charakterystyka drobnoustrojów wykorzystywanych w procesach biotechnologicznych (J. Długoński) / 19
- 1.2. Pozyskiwanie drobnoustrojów przydatnych w procesach mikrobiologicznych (J. Długoński, K. Lisowska, N. Wrońska, K. Zawadzka, A. Felczak) / 21
  - 1.2.1. Przydatność różnych środowisk do izolacji drobnoustrojów wykorzystywanych w procesach przemysłowych / 21
  - 1.2.2. Gleba jako źródło potencjalnych producentów związków biologicznie aktywnych / 23
  - 1.2.3. Skrining drobnoustrojów / 25
  - 1.2.4. Gleba środowisk zanieczyszczonych jako źródło drobnoustrojów wykorzystywanych w procesach ochrony środowiska / 28
- 1.3. Metody hodowli oraz stabilizacji drobnoustrojów w warunkach tlenowych (z uwzględnieniem bioreaktorów i immobilizacji w żelach) (J. Długoński, P. Bernat, K. Lisowska, S. Walisch) / 35
  - 1.3.1. Hodowla okresowa / 36
  - 1.3.2. Hodowla półciągła – okresowa z ciągłym dozowaniem pożywki do fermentora (ang. *fed-batch culture*) / 39
  - 1.3.3. Hodowle ciągłe (ang. *continous culture*) / 39
  - 1.3.4. Bioreaktory do hodowli węgłbnych / 42
  - 1.3.5. Stabilizacja drobnoustrojów na drodze immobilizacji / 44
- 1.4. Hodowla drobnoustrojów w warunkach beztlenowych (M. Krupiński) / 49
- 1.5. Protoplasty grzybów: otrzymywanie, właściwości, zastosowanie (J. Długoński, K. Pałaszewicz, M. Staba, K. Milczarek) / 56
- 1.6. Doskonalenie szczepów – mutageneza, fuzja i elektroporacja protoplastów (J. Długoński, D. Wilmańska, S. Różalska, K. Lisowska, K. Milczarek) / 61
- 1.7. Sposoby przechowywania szczepów przemysłowych (K. Zawadzka, N. Wrońska, S. Walisch, K. Milczarek, D. Wilmańska) / 77

Literatura / 84

## 2. Podstawy nowoczesnych technik wykorzystywanych w biotechnologii mikrobiologicznej i naukach pokrewnych / 89

- 2.1. Mikroskopia konfokalna, fluorescencyjna i spektrofлуorymetria (*S. Różalska*) / 91
  - 2.1.1. Zjawisko fluorescencji / 91
  - 2.1.2. Spektrofлуorymetria / 93
  - 2.1.3. Mikroskopia fluorescencyjna i konfokalna – porównanie / 93
  - 2.1.4. Autofluorescencja i znaczniki fluorescencyjne / 95
  - 2.1.5. Białka fluorescencyjne / 95
- 2.2. Techniki izotopowe (izotopy promieniotwórcze) (*J. Długoński, S. Różalska*) / 100
- 2.3. Chromatografia (*R. Szewczyk*) / 103
  - 2.3.1. Podstawowe wielkości mierzone w chromatografii / 103
  - 2.3.2. Chromatografia cieczowa / 108
  - 2.3.3. Chromatografia gazowa / 114
- 2.4. Spektrometria mas (*R. Szewczyk*) / 116
  - 2.4.1. Zasada działania spektrometru masowego / 117
  - 2.4.2. Źródła jonów i rodzaje jonów w spektrometrii mas / 118
  - 2.4.3. Analizatory masowe / 121
  - 2.4.4. Podstawowe tryby skanowania / 124
  - 2.4.5. Detekcja jonów / 126
  - 2.4.6. Zastosowanie spektrometrii mas / 127
- 2.5. Absorpcyjna spektrometria atomowa (*M. Słaba*) / 127
- 2.6. Nowoczesne techniki cyfrowe stosowane do rejestrowania zmian zachodzących w środowisku (*A. Długoński*) / 132
  - 2.6.1. Obrazowanie terenu za pomocą systemu GIS / 132
  - 2.6.2. Zasady działania systemów detekcji (NDVI, UAV, ALS) / 136
- Literatura / 140

## 3. Określanie przynależności taksonomicznej drobnoustrojów / 143

- 3.1. Genotypowe techniki różnicowania i identyfikacji bakterii (*M. Krupiński*) / 145
  - 3.1.1. Izolacja z gleby i identyfikacja beztlenowców metodą multiplex PCR / 149
  - 3.1.2. Określenie przynależności gatunkowej promieniowców z rodzaju *Streptomyces* w oparciu o metodę PCR 16s rRNA / 155
- 3.2. Grzyby należące do Mucoromycota, Ascomycota i Basidiomycota – cechy morfologiczne, biochemiczne i analiza genetyczna (*M. Słaba, S. Różalska*) / 163
  - 3.2.1. Mucoromycota / 168
  - 3.2.2. Ascomycota (workowce) / 169
  - 3.2.3. Basidiomycota (podstawczaki) / 172
  - 3.2.4. Identyfikacja molekularna grzybów strzępkowych / 175
  - 3.2.5. Drożdże / 179
- 3.3. Biotypowanie drobnoustrojów metodami LC-MS/MS i MALDI-TOF/TOF (*R. Szewczyk*) / 183
  - 3.3.1. Biotypowanie LC-MS/MS na przykładzie szczepów *Mycobacterium* / 185
  - 3.3.2. Biotypowanie MALDI-TOF i MALDI-TOF/TOF / 191
- Literatura / 197

#### 4. Przemysłowe wykorzystanie drobnoustrojów / 201

- 4.1. Procesy biosyntezy (J. Długoński) / 203
  - 4.1.1. Otrzymywanie i wykorzystanie biomasy drobnoustrojów (P. Bernat) / 204
  - 4.1.2. Biosurfaktanty – mikrobiologiczne związki powierzchniowo czynne. Skrining bakterii z rodzaju *Bacillus*, zdolnych do produkcji biosurfaktantów o budowie cyklicznych lipopeptydów (K. Paraszkiwicz, A. Walaszczyk) / 208
  - 4.1.3. Mikrobiologiczna produkcja enzymów z grupy hydrolaz (J. Długoński, K. Paraszkiwicz, A. Jasińska, K. Milczarek) / 220
  - 4.1.4. Biosynteza wielocukrów (J. Długoński, S. Różalska) / 231
  - 4.1.5. Biosynteza antybiotyków na przykładzie tetracyklin (J. Długoński, P. Bernat) / 242
  - 4.1.6. Otrzymywanie lipopeptydów bakteryjnych z użyciem bioreaktora (P. Bernat) / 249
  - 4.1.7. Biosynteza kwasu cytrynowego (S. Walisch, P. Bernat, K. Paraszkiwicz) / 252
- 4.2. Procesy fermentacji (J. Długoński) / 257
  - 4.2.1. Winiarstwo i browarnictwo (S. Walisch, P. Bernat, K. Paraszkiwicz) / 258
  - 4.2.2. Praktyczne wykorzystanie bakterii fermentacji mlekowej (S. Walisch, P. Bernat, K. Paraszkiwicz) / 265
  - 4.2.3. Wykorzystanie drobnoustrojów w przemyśle piekarniczym oraz do produkcji fermentowanych produktów mięsnych i warzywnych (K. Paraszkiwicz, A. Jasińska, A. Góralczyk-Bińkowska) / 271
  - 4.2.4. Żywność azjatycka otrzymywana przy udziale drobnoustrojów (A. Jasińska, A. Góralczyk-Bińkowska, K. Paraszkiwicz) / 285
- 4.3. Procesy biotransformacji (J. Długoński) / 292
  - 4.3.1. Biotransformacja etanolu i sorbitolu (J. Długoński, S. Walisch) / 293
  - 4.3.2. Biotransformacja steroidów (J. Długoński) / 298
- Literatura / 304

#### 5. Drobnoustroje w ochronie środowiska i zdrowia człowieka / 313

- 5.1. Rewitalizacja zdegradowanych terenów zieleni miast (A. Długoński) / 315
  - 5.1.1. Interdyscyplinarność badań w rewitalizacji miejskiej: etapy pracy / 316
  - 5.1.2. Badania terenowe z zakresu architektury krajobrazu i dyscyplin pokrewnych / 318
  - 5.1.3. Badania laboratoryjne z zakresu biotechnologii, mikrobiologii, chemii środowiskowej i dyscyplin pokrewnych / 320
  - 5.1.4. Łączna ocena i podsumowanie badań / 322
- 5.2. Analiza mikrobiologiczna skażonych środowisk – sekwencjonowanie nowej generacji (S. Różalska) / 329
- 5.3. Biologiczne oczyszczanie ścieków / 336
  - 5.3.1. Biologiczne metody oczyszczania ścieków w oczyszczalniach komunalnych (K. Lisowska, K. Zawadzka) / 338
  - 5.3.2. Oczyszczanie ścieków komunalno-przemysłowych (A. Długoński) / 340
  - 5.3.3. Oczyszczalnie ścieków w terenie o zabudowie rozproszonej – mała infrastruktura (A. Długoński) / 342
- 5.4. Kompostowanie odpadów (A. Długoński, K. Lisowska) / 345
  - 5.4.1. Kompostowanie odpadów w kompostowniach zakładów komunalnych / 345
  - 5.4.2. Lokalne wykorzystanie odpadów z terenów zieleni miejskiej / 347

- 5.5. Wykorzystanie odpadów zieleni miejskiej do produkcji energii w lokalnych biogazowniach i spalarniach oraz syntezy lakaz grzybowych (A. Długoński, A. Góralczyk-Bińkowska) / 350
  - 5.5.1. Produkcja energii / 350
  - 5.5.2. Wykorzystanie odpadów zieleni miejskiej do biosyntezy enzymów grzybowych na przykładzie lakaz / 352
- 5.6. Biodegradacja toksycznych ksenobiotyków (J. Długoński) / 355
  - 5.6.1. Bisfenol A (A. Jasińska) / 357
  - 5.6.2. Organiczne związki cyny (P. Bernat, A. Felczak, J. Długoński) / 362
  - 5.6.3. Zastosowanie drobnoustrojów do eliminacji pestycydów (P. Bernat) / 366
  - 5.6.4. Nonylofenol (J. Długoński, S. Różalska) / 370
  - 5.6.5. Jednoczesna eliminacja zanieczyszczeń pochodzenia organicznego i nieorganicznego na przykładzie alachloru i cynku (M. Słaba, J. Długoński) / 371
  - 5.6.6. Związki heterocykliczne (A. Felczak, N. Wrońska) / 375
  - 5.6.7. Barwniki (A. Jasińska, A. Góralczyk-Bińkowska) / 379
- 5.7. Mikrobiologiczna eliminacja metali ciężkich ze środowiska (M. Słaba, J. Nykiel-Szymańska) / 384
- 5.8. Procesy detoksykacji skażonych środowisk. Testy toksykologiczne (M. Krupiński) / 395
- 5.9. Wykorzystanie odpadów przemysłowych w biotechnologii mikrobiologicznej (K. Paraszkie-wicz, A. Góralczyk-Bińkowska, A. Jasińska) / 401
- 5.10. Biodeterioracja wywołana przez grzyby (S. Różalska, M. Słaba, A. Długoński) / 409
- 5.11. Charakterystyka i wykorzystanie enzymów ligninolitycznych produkowanych przez grzyby w ochronie środowiska, przemyśle i medycynie (A. Jasińska, A. Góralczyk-Bińkowska, A. Długoński) / 417
- 5.12. Określanie właściwości przeciwdrobnoustrojowych makromolekuł (dendrymery) i nowo syntetyzowanych związków srebra (A. Felczak, K. Zawadzka) / 424
- 5.13. Grzyby entomopatogenne i ich wykorzystanie w biokontroli (S. Różalska) / 429
- 5.14. Grzyby toksynotwórcze. Poszukiwanie i identyfikacja aflatoksyn (K. Paraszkie-wicz, M. Słaba, R. Szewczyk) / 434
- Literatura / 445

## 6. Omics w biotechnologii drobnoustrojów / 457

- 6.1. Proteomika w analizie mikrobiologicznej degradacji ksenobiotyków (R. Szewczyk) / 459
  - 6.1.1. Izolacja i separacja białek / 460
  - 6.1.2. Identyfikacja białek / 464
- 6.2. Analiza metabolomiczna jako narzędzie służące do wielopoziomowej charakterystyki proce-su biodegradacji (R. Szewczyk) / 472
- 6.3. Zastosowanie lipidomiki w badaniu procesów detoksykacji u drobnoustrojów (P. Bernat) / 478
- 6.4. Poszukiwanie biomarkerów w przemyśle i medycynie (R. Szewczyk) / 485
  - 6.4.1. Metody analityczne / 486
  - 6.4.2. Charakterystyka i źródła biomarkerów / 487
- 6.5. Analiza ilościowa pestycydów – multimetody (R. Szewczyk) / 490
  - 6.5.1. Multimetody / 490
  - 6.5.2. Walidacja metody / 492

Literatura / 497

## 7. Podłoża, bufory (K. Milczarek, N. Wrońska, A. Felczak) / 499

7.1. Podłoża / 501

7.2. Bufory / 519

Literatura / 521

## 8. Zdjęcia makroskopowe i mikroskopowe szczepów grzybów stosowanych w badaniach i w dydaktyce Katedry Mikrobiologii Przemysłowej i Biotechnologii Uniwersytetu Łódzkiego / 523

8.1. Zdjęcia grzybów z hodowli prowadzonych w warunkach laboratoryjnych (K. Milczarek, S. Ró-  
żalska) / 525

8.1.1. *Aerobasidium pullulans* / 525

8.1.2. *Ashbya gossypii* / 526

8.1.3. *Aspergillus niger* / 527

8.1.4. *Aspergillus versicolor* IM2161 / 528

8.1.5. *Chaetomium globosum* / 529

8.1.6. *Cunninghamella echinulata* IM1785 21Gp (poprzednia nazwa *C. elegans*) / 530

8.1.7. *Curvularia lunata* IM2901 / 533

8.1.8. *Curvularia lunata* IM4417 / 536

8.1.9. *Exophiala* sp. / 537

8.1.10. *Kluyveromyces marxianus* / 538

8.1.11. *Metarhizium robertsii* IM2358 / 539

8.1.12. *Mucor ramosissimus* IM6203 / 540

8.1.13. *Myrothecium roridum* IM6482 / 542

8.1.14. *Nectriella pironii* IM6443 / 543

8.1.15. *Paecilomyces marquandii* IM6003 (obecna nazwa *Metarhizium marquandii*) / 544

8.1.16. *Phanerochaete chrysosporium* DSM1556 / 546

8.1.17. *Schizosacharomyces pombe* / 547

8.1.18. *Serpula himantoides* DSM6419 / 549

8.1.19. *Stachybotrys chartarum* DSM2144 / 550

8.1.20. *Trametes versicolor* / 551

8.1.21. *Trichoderma harzianum* QF10 / 553

8.1.22. *Trichoderma viride* IM6325 / 554

8.1.23. *Umbelopsis ramanniana* IM833 / 555

8.2. Fotografie drzew i drewna porażonych przez grzyby ligninolityczne (A. Długoński) / 556

8.2.1. *Pleurotus ostreatus* (bocznak ostrygowaty) / 556

8.2.2. *Trametes versicolor* (wrośniak różnobarwny) / 557

8.2.3. *Heterobasidion annosum* (korzeniowiec sosnowy) / 557

8.2.4. Brunatna zgnilizna drewna / 558

8.2.5. Biała zgnilizna drewna / 560

8.2.6. Szara zgnilizna drewna / 561

8.2.7. *Tremella mesenterica* (trzęsak pomarańczowożółty) / 562

8.2.8. *Phellinus pomaceus* (czyreń śliwowy) / 564

8.2.9. *Piptorus betulinus* (białoporek brzożowy, biała huba brzożowa) / 565

8.2.10. *Fomes fomentarius* (hubiak pospolity) / 566

8.2.11. Współdziałanie patogenów powodujących zgniliznę drzew / 567

8.2.12. *Schizophyllum commune* (rozszczepka pospolita) / 568

Literatura / 569

Autorzy / 571