

Agnieszka Wolna-Maruwka*, Krzysztof Pilarski**

**WPŁYW WYBRANYCH PARAMETRÓW FIZYKOCHEMICZNYCH
NA LICZEBNOŚĆ MIKROORGANIZMÓW ORAZ AKTYWNOŚĆ
DEHYDROGENAZ W KOMPOŚCIE Z OSADU ŚCIEKOWEGO**

**INFLUENCE OF THE CHOOSE PHYSIOCHEMICAL PARAMETERS
ON THE NUMBER OF MICROORGANISMS AND DEHYDROGENASES
ACTIVITY IN COMPOST INCLUDE SEWAGE SLUDGE**

Słowa kluczowe: osad ściekowy, kompost, aktywność dehydrogenaz, liczebność mikroorganizmów.

Key words: sewage sludge, compost, dehydrogenases activity, the number of microorganisms.

Composting represents an oxygenic decomposition of organic matter with the participation of microorganisms. Heat released during the composting process causes an increase of temperature and thereby, it exerts an influence on the appearance of definite groups of microorganisms in the particular composting phases.

The presented work tries to define the dynamics of changes in the number of selected microorganisms groups including microorganisms from Enterobacteriaceae family, depending on the depth of sampling, on changes in the pH value and temperature in the sewage sludges subject to the composting process. The experiment was carried out in field conditions.

Microbiological analyses consisted in the determination by plate method on selective media of the numbers of mesophilic, thermophilic bacteria, bacteria from Enterobacteriaceae family. Furthermore, in the experiment, the activity levels of dehydrogenase were determined using 1 % triphenyltetrazole chloride as substratum.

On the basis of statistical analysis, it was found that temperature exerted an influence on changes in the number of the analysed groups of microorganisms. It was also found that

* *Dr Agnieszka Wolna-Maruwka – Katedra Mikrobiologii Ogólnej i Środowiskowej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Szydlowska 50, 60-656 Poznań; kontakt: tel. 61 846 67 24, e-mail: amaruwka@up.poznan.pl*

** *Dr inż. Krzysztof Pilarski – Instytut Inżynierii Rolniczej, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu, ul. Wojska Polskiego 50, 60-656 Poznań.*

both the changes in the pH and in the depth of sampling exerted an influence on the number of microorganisms in the composted material.

It was found that there existed a positive correlation between the number of estimated microorganisms groups and the activity of dehydrogenases in the samples taken from the depth of 20 and 50 cm.

Moreover, it was found The composting process didn't contribute to the total elimination of the Enterobacteriaceae bacteria. The composts didn't met the sanitary standards, according to Commission Regulations (EC) No 185/2007, from 20 February 2007, amending Regulations (EC) No 809/2003 and (EC) No 110/2003 as regards extension of the validity of the transitional measures for composting and biogas plants under Regulation (EC) No 1774/2002 of the European Parliament and Council and according to the Directive of the Minister of Agriculture and Rural Development (2008).

1. WPROWADZENIE

Biologiczne metody przeróbki odpadów bazują na rozkładzie substancji organicznych przez zespoły mikroorganizmów. Rozkład ten prowadzi do zmniejszenia pierwotnej ilości substancji organicznych i może następować z doprowadzeniem powietrza lub bez jego udziału [Bilitewski i in. 2006].

Kompostowanie jest metodą zagospodarowania osadów ściekowych i ich ponownego wykorzystania, alternatywną do metod takich, jak spalanie czy składowanie na wysypiskach [Wong, Fang 2000]. W Polsce działa kilkadziesiąt kompostowni. W kompostowaniu odpadów organicznych wykorzystuje się różne technologie – ekstensywne (w pryzmach, stosach) i intensywne (w kontenerach, komorach, wieżach i bębnach) [Błaszczuk 2007].

Zasada pryzmowego kompostowania osadów ściekowych, zarówno z różnymi dodatkami, jak i bez nich, polega na odpowiednim pokierowaniu procesami biotermicznymi. Kompostowana w pryzmie masa osadów powinna być co pewien czas przemieszana w celu umożliwienia dostępu powietrza i przyspieszenia procesu mikrobiologicznej mineralizacji masy organicznej [Czekała i in. 2006].

Ważnym czynnikiem wpływającym na wydajność procesu kompostowania jest temperatura, od której zależy także aktywność i różnorodność mikroorganizmów [Finstein i in. 1986]. Monitorowanie jej zmian jest dobrym narzędziem kontroli procesu kompostowania. W odpowiedniej temperaturze zachodzi bowiem maksymalna dekompozycja materii organicznej przez odpowiednie gatunki mikroorganizmów, a końcowy produkt – humus – jest wolny od patogenów, organizmów niepożądanych i nasion chwastów [Błaszczuk, Fit 2004].

Duże znaczenie ma także utrzymanie właściwej wartości pH – zapewnia dogodne warunki do rozwoju mikroorganizmów oraz zabezpiecza masę kompostową przed stratami

azotu. Może być także dobrym wskaźnikiem przebiegu procesu dojrzewania kompostu [Piotrowska-Cyplik i in. 2008].

Celem przeprowadzonych badań było określenie dynamiki zmian liczebności oraz czasu przeżywalności wybranych grup mikroorganizmów, w tym drobnoustrojów chorobotwórczych z rodziny *Enterobacteriaceae*, oraz poziomu aktywności dehydrogenaz, w zależności od głębokości pobierania próbek, zmian wartości pH i temperatury w osadzie ściekowym kompostowanym z różnymi dodatkami.

2. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Doświadczenie założono w 2008 r., na terenie składowiska odpadów komunalnych miasta Czarnkowo. Do sporządzenia kompostu użyto następujących surowców: 8,3% słomy pszennej (94% s.m.), 6,7% konopi (52,25% s.m.), 39,2% zrębków drewna (42,25% s.m.) i 45,8% osadu ściekowego (14,68% s.m.), pochodzącego z oczyszczalni ścieków w Czarnkowie. Z dokładnie rozdrobnionego i wymieszanego materiału usypano pryzmę długości 10 m i szerokości 2,30 m. Próbki kompostu, niezbędne do przeprowadzenia analiz mikrobiologicznych i biochemicznych, pobierano z pryzmy z dwóch głębokości: K1 – 20 cm i K2 – 50 cm, w pięciu terminach, w zależności od aktualnej, średniej temperatury: termin I – założenie doświadczenia (15°C), II – po 12 dniach (55,6°C), III – po 22 dniach (65,5°C), IV – po 63 dniach (36°C), V – po 125 dniach (26°C).

Analizę mikrobiologiczną oraz fizykochemiczną zastosowanych w doświadczeniu bioodpadów przedstawiono w tabelach 1 i 2.

Na mikrobiologicznych podłożach wybiórczych, metodą płytkową, oznaczano liczebność jednostek tworzących kolonie (jtk) heterotroficznych bakterii mezo- i termofilnych, mezo- i termofilnych grzybów pleśniowych, bakterii z rodzaju *Salmonella* oraz bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*.

Tabela 1. Liczebność drobnoustrojów (jtk·10⁵·g⁻¹·s.m.) oraz aktywność dehydrogenaz w bioodpadach (μmol TPF·g⁻¹·s.m. materiału·5h⁻¹) zastosowanych w doświadczeniu

Table 1. The number of microorganisms (cfu·10⁵·g⁻¹·d.m.) and dehydrogenases activity (μmol TPF·g⁻¹·d.m. of material·5h⁻¹) in biowastes used in experiment

Biodopady	Aktywność dehydrogenaz	Bakterie termofilne	Bakterie mezofilne	Grzyby termofilne	Grzyby mezofilne	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Salmonella</i>
Osad ściekowy	0,11	6,00	64,42	16,00	1,24	94,43	0,00
Słoma	0,006	24,00	10,00	10,00	3573,33	2,33	0,00
Konopie	0,006	1753,56	59,66	2568,09	156,93	64,20	0,00
Drewno	0,01	1177,17	0,06	83033,03	224,47	138,13	0,00

Tabela 2. Właściwości fizykochemiczne bioodpadów.

Table 2. Physicochemical properties of biowastes.

Bioodpady	Masa kg s.m.	Zawartość g·kg ⁻¹ s.m.	
		C	N
Osad ściekowy	1560	402,2	63,2
Słoma	504	415,4	99,34
Konopie	230	397,6	22,45
Drewno	1335	402,2	–

Liczebność bakterii mezofilnych oznaczano na agarze odżywczym, zwykłym, inkubując płytki w temperaturze 26°C przez 48 h [Kańska i in. 2001]. Bakterie termofilne oznaczano na 3% agarze odżywczym. Płytki inkubowano przez 24 h w temperaturze 55°C [Kańska i in. 2001]. Grzyby pleśniowe oznaczano na pożywce Martina po 5-dniowej inkubacji [Martin 1950], mezofilne – w temperaturze 24°C, termofilne zaś – w temperaturze 55°C. *Salmonella* sp. oznaczano na podłożu XLT 4 firmy Merck po 18-24 h, w temperaturze 35°C [Miller, Tate 1990]. W celu potwierdzenia obecności bakterii z rodzaju *Salmonella* sp. postępowano zgodnie z PN-Z-19000-1, wykonując identyfikację potwierdzającą.

W celu oznaczenia liczebności bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* posłużono się wybiórczym podłożem firmy Merck – Chromocult®Coliform Agar. Płytki inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 godziny [Manafi, Kneifel 1989].

Ponadto, posługując się metodą spektrofotometryczną, w pobranych próbkach kompostowanego materiału oznaczano aktywność dehydrogenaz, używając jako substratu 1% TTC (chlorek trójfenylotetrazolu), po 5-godzinnej inkubacji w temperaturze 30°C, przy długości fal 485 nm. Aktywność enzymu wyrażano w $\mu\text{mol TPF}\cdot\text{g}^{-1}\text{s.m. kompostu}\cdot 5\text{h}^{-1}$ [Thalmann 1968].

Zastosowane w doświadczeniu analizy statystyczne przeprowadzono w programie Statistica 8.0 [Ott 1984].

3. WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Liczebność bakterii mezofilnych tuż po ułożeniu pryzm kompostowanego materiału była bardzo duża i wynosiła 12389,38 jtk·10⁵·g⁻¹s.m. w materiale pobranym z głębokości 20 cm (K1) oraz 6793,32 jtk·10⁵·g⁻¹s.m. w materiale pobranym z głębokości 50 cm (K2) (tab. 3).

Zdaniem Wolnej-Maruwki i Sawickiej [2008] przyczyną silnego rozwoju drobnoustrojów w początkowym etapie procesu kompostowania jest dostęp do łatwo rozkładalnej materii organicznej. Można przypuszczać, że duża liczebność bakterii mezofilnych w górnej warstwie kompostowanego materiału (K1) była związana z większym dostępem powietrza, co stworzyło dogodne warunki dla ich wzrostu i rozwoju.

Tabela 3. Liczebność bakterii mezofilnych i termofilnych w kompostach**Table 3.** The number of mesophilic and thermophilic bacteria in composts

Rodzaj kompostu	Bakterie mezofilne jtk·10 ⁵ ·g ⁻¹ ·s.m.	Odchylenie standardowe	Bakterie termofilne jtk·10 ⁵ ·g ⁻¹ ·s.m	Odchylenie standardowe
I TERMIN – 15°C				
K1	12389,38	3857,43	508,85	22,12
K2	6793,32	1772,57	511,23	64,72
NIR _{0,05}	7972,25	–	114,92	–
NIR _{0,01}	12097,04	–	174,39	–
II TERMIN – 55,6°C				
K1	187,43	156,48	59,33	11,68
K2	20,95	10,63	19,85	9,92
NIR _{0,05}	294,54	–	62,93	–
NIR _{0,01}	446,93	–	95,50	–
III TERMIN – 65,5°C				
K1	98,46	12,66	877,34	32,49
K2	3,22	0,41	2000,00	8871,20
NIR _{0,05}	23,93	–	16659,72	–
NIR _{0,01}	36,10	–	25279,31	–
IV TERMIN – 36°C				
K1	132,19	47,30	123,12	42,87
K2	69,49	25,60	36,17	14,37
NIR _{0,05}	100,99	–	147,52	–
NIR _{0,01}	153,25	–	223,85	–
V TERMIN – 26°C				
K1	133,95	53,69	1037,55	163,15
K2	144,53	14,78	380,69	156,46
NIR _{0,05}	104,58	–	1028,17	–
NIR _{0,01}	158,70	–	1560,14	–

Objaśnienia: K1, K2 – głębokość pobierania próbek przyzmy kompostu, odpowiednio 20 i 50 cm, – nie dotyczy.

W II terminie analiz doszło do znacznego zmniejszenia liczebności omawianych bakterii, zarówno w materiale K1, jak i K2. Najprawdopodobniej było to związane ze wzrostem temperatury do wartości 55,6°C. Dalszy wzrost temperatury do 65,5°C (termin III) przyczynił się do jeszcze większej eliminacji omawianych drobnoustrojów.

Zdaniem Wielanda i Sawickiej [2000] wzrost temperatury w kompostowanym materiale do wartości ponad 60°C powoduje spowolnienie procesów biochemicznych, zaś w temperaturze 65°C procesy te praktycznie ustają.

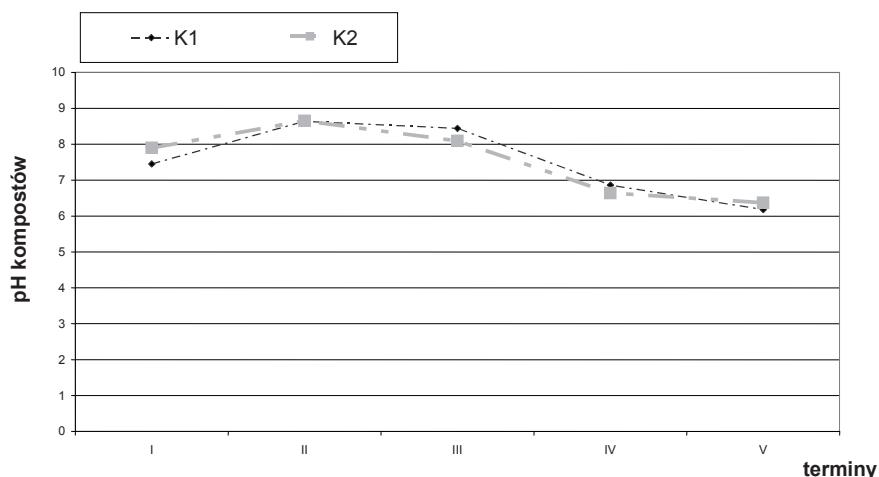
Kiedy temperatura w kompostowanym materiale uległa obniżeniu do wartości 36°C (termin IV) i tym samym rozpoczęła się faza schładzania kompostowanego materiału, zaobserwowano ponowne zwiększenie liczebności omawianych bakterii. Zwiększenie namnażania się bakterii mezofilnych w IV i V terminie było najprawdopodobniej związane ze spadkiem temperatury, a także z obecnością nierozłożonej jeszcze materii organicznej

kompostu. W badaniach Wonga i Fanga [2000] również zaobserwowano, że bakterie mezofilne giną w fazie termofilnej procesu kompostowania, ale po spadku temperatury poniżej 45°C ponownie się pojawiają.

Analizując liczebność bakterii termofilnych w kompostowanym materiale (tab. 3) stwierdzono, że w dniu założenia doświadczenia największa liczba bakterii termofilnych występowała w materiale K2. W II terminie odnotowano zmniejszenie liczebności tych bakterii, mimo wzrostu temperatury do 55,6°C. Powodem tego zjawiska mogło być zbyt wysokie pH, które zwiększyło się wówczas do wartości ok. 8,6 (rys. 1). Alkaliczacja środowiska wewnątrz pryzmy była najprawdopodobniej spowodowana utylizacją kwasów organicznych przez mikroorganizmy i wydzieleniem jonów alkalicznych oraz amonu z kompostowanego materiału [Błaszczuk 2007]. Przyczyną słabej dynamiki rozwoju omawianych bakterii na początku fazy termofilnej mogła być również obecność w kompoście substancji pochodzących z rozkładu związków organicznych, przeprowadzonego przez mezofile. Metabolity te mogły hamować rozwój bakterii termofilnych.

Dalszy wzrost temperatury w pryzmie, do średniej wartości 65,5°C w III terminie badań, przyczynił się do silnego namnażania się termofili, zarówno w próbce kompostu pobieranej z głębokości 20 cm (K1), jak i w próbce pobieranej z głębokości 50 cm (K2). Według Błaszczyka i Fit [2004] wysoka temperatura w trakcie procesu kompostowania z jednej strony powoduje inaktywację, pozostanie w stadiach spoczynkowych lub śmierć mikroorganizmów mezofilnych, nieprzetrwalnikujących, z drugiej zaś – stymuluje wzrost i aktywność mikroorganizmów termofilnych.

Wraz z rozpoczęciem się fazy schładzania (termin IV) zarówno w materiale K1, jak i K2 odnotowano gwałtowne zmniejszenie liczebności omawianych bakterii. W V terminie analiz,



Rys. 1. Zmiany pH w bioodpadach podczas procesu kompostowania

Fig. 1. The changes of pH in biowastes during composting process

po obniżeniu się temperatury w pryzmie do 26°C, zaobserwowano ponowne namnażanie się bakterii termofilnych, co mogło być związane z obecnością jeszcze łatwo degradowalnej materii organicznej kompostowanego materiału.

Rozpatrując liczebność grzybów mezofilnych w analizowanych próbkach kompostów (tab. 4), w I terminie badań największą liczebność grzybów mezofilnych odnotowano w materiale K1. Większa liczebność tych mikroorganizmów w górnej warstwie kompostu (K1) spowodowana była najprawdopodobniej większym dostępem tlenu.

Tabela 4. Liczebność grzybów mezofilnych i termofilnych w kompostach

Table 4. The number of mesophilic and thermophilic fungi in composts

Rodzaj kompostu	Grzyby mezofilne jtk·10 ⁵ ·g ⁻¹ ·s.m.	Odchylenie standardowe	Grzyby termofilne jtk·10 ⁵ ·g ⁻¹ ·s.m	Odchylenie standardowe
I TERMIN – 15°C				
K1	4188,79	3146,98	2654,86	176,99
K2	3200,92	558,40	2629,82	62,30
NIR _{0,05}	6002,18	–	352,37	–
NIR _{0,01}	9107,65	–	534,68	–
II TERMIN – 55,6°C				
K1	9,43	3,14	0,28	0,14
K2	0,99	0,57	0,07	0,09
NIR _{0,05}	5,99	–	0,32	–
NIR _{0,01}	9,10	–	0,49	–
III TERMIN – 65,5°C				
K1	20,44	15,43	5,41	2,34
K2	29,48	5,87	14,74	2,93
NIR _{0,05}	31,01	–	7,05	–
NIR _{0,01}	47,06	–	10,71	–
IV TERMIN – 36°C				
K1	21,74	5,43	109,51	1,12
K2	5,05	1,42	25,22	9,29
NIR _{0,05}	10,54	–	17,57	–
NIR _{0,01}	16,00	–	26,66	–
V TERMIN – 26°C				
K1	40,26	9,38	231,51	104,15
K2	13,55	3,87	101,94	12,59
NIR _{0,05}	19,07	–	197,01	–
NIR _{0,01}	28,93	–	298,94	–

Objaśnienia: K1, K2 – głębokość pobierania próbek z pryzmy kompostu, odpowiednio 20 i 50 cm, – nie dotyczy.

W II terminie analiz, wraz ze wzrostem temperatury do wartości 55,6°C, odnotowano nagle zmniejszenie liczebności grzybów mezofilnych do 9,43 jtk·10⁵·g⁻¹·s.m. w próbce pobieranej z głębokości K1 oraz do 0,99 jtk·10⁵·g⁻¹·s.m. w K2.

Pomimo dalszego wzrostu temperatury do wartości 65,5°C, w III terminie analiz zaobserwowano nieznaczne zwiększenie liczebności grzybów mezofilnych. Wyniki te są rozbież-

ne z obserwacjami Ryckeboyer i in. [2003], którzy informują o zmniejszaniu się liczebności grzybów w temperaturach wyższych niż 50°C i ponownym jej zwiększaniu po ochłodzeniu się kompostu.

W IV terminie analiz liczebność grzybów w próbce z warstwy K1 utrzymywała się na podobnym poziomie, w K2 zaś uległa obniżeniu. Ponowne namnażanie się omawianych mikroorganizmów w materiałach K1 i K2 odnotowano dopiero w ostatnim terminie badań (V). Zdaniem Wielanda i Sawickiej [2000] wraz ze spadkiem temperatury następuje silny rozwój licznych gatunków grzybów pleśniowych, które oprócz dalszego rozkładu materii organicznej, produkują także substancje antybiotyczne naturalnie dezynfekujące kompost. Również Wolna-Maruwka [2009] wykazała, w swoich badaniach, że optymalny rozwój mezofilnych grzybów pleśniowych następuje w temperaturach poniżej 45°C, natomiast w temperaturze powyżej 50°C intensywność ich namnażania się jest niewielka.

Zdaniem Wolnej-Maruwki i Sawickiej [2008] w fazie schładzania i dojrzewania kompostu dominującą mikroflorę stanowią grzyby pleśniowe i promieniowce, degradujące polimery organiczne i produkujące enzymy niezbędne do syntezy odpowiednich frakcji humusu.

Analogicznie, jak w przypadku grzybów mezofilnych, liczebność grzybów termofilnych w I terminie badań była największa w materiale K1 (tab. 4). W kolejnym terminie analiz (II), wraz z rozpoczęciem się fazy termofilnej, odnotowano bardzo intensywne zmniejszenie namnażania się omawianych drobnoustrojów. W kompostowanym materiale pobranym z głębokości 20 cm (K1) liczba grzybów uległa wówczas zmniejszeniu do wartości $0,28 \text{ jtk} \cdot 10^5 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{s} \cdot \text{m}$, a w K2 – do $0,07 \text{ jtk} \cdot 10^5 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{s} \cdot \text{m}$. Można przypuszczać, że powodem słabego namnażania się tych mikroorganizmów w kompoście, obok wysokiej temperatury, mogło być zbyt duże pH (rys. 1), które w terminach II i III wyniosło 8,09 – 8,65. W momencie wzrostu temperatury do 65°C (termin III) w pryzmie kompostu zaobserwowano niewielkie zwiększenie namnażania się grzybów termofilnych.

Przyczyną słabej dynamiki rozwoju omawianych mikroorganizmów w fazie termofilnej mogła być obecność w podłożu substancji pochodzących z mikrobiologicznego rozkładu związków organicznych, wykazujących inhibicyjne działanie na ich wzrost.

Zdaniem Błaszczyka [2007] w zakresie temperatur rzędu 55–60°C liczba grzybów maleje, a prawie kompletnie zanika w temperaturze równej 65°C. Według Błaszczyka i Fit [2004] w wysokich temperaturach, powyżej 55,6°C, tylko nieliczne gatunki wykazują zdolności rozwoju: *Aspergillus fumigatus*, *Chaetomium thermophilum*, *Talaromyces thermophilus*, *Thermoascus aurantiacus*, *Scytalidium thermophilum*. Duży udział w fazie termofilnej mają grzyby termotolerancyjne, które najlepiej wzrastają w temperaturze niższej niż 50°C.

Obniżanie temperatury do wartości 26-36°C w terminach IV i V pociągnęło za sobą zwiększanie się liczebności grzybów termofilnych. Przyczyną tego zjawiska mogła być wartość pH, która uległa wówczas obniżeniu do 6,2-6,9 (rys. 1).

Kompostowanie bioodpadów przyczyniło się do zmniejszenia liczebności bakterii *Ente-*

robacteriaceae (tab. 5).

Tabela 5. Liczebność bakterii *Enterobacteriaceae* w kompostach

Table 5. The number of *Enterobacteriaceae* bacteria in composts

Rodzaj kompostu	jtk · 10 ⁵ · g ⁻¹ · s.m.	Odchylenie standardowe
I TERMIN – 15°C		
K1	572,27	271,37
K2	1390,90	235,02
NIR _{0,05}	674,17	–
NIR _{0,01}	1022,98	
II TERMIN – 55,6°C		
K1	0,054	0,02
K2	0,033	0
NIR _{0,05}	0,04	–
NIR _{0,01}	0,06	
III TERMIN – 65,5°C		
K1	12,71	4,20
K2	238,46	10,17
NIR _{0,05}	20,67	–
NIR _{0,01}	31,37	
IV TERMIN – 36°C		
K1	91,36	28,23
K2	0,86	0,28
NIR _{0,05}	53,03	–
NIR _{0,01}	80,47	
V TERMIN – 26°C		
K1	90,59	16,26
K2	9,35	2,43
NIR _{0,05}	30,87	–
NIR _{0,01}	46,85	

Objaśnienia: K1, K2 – głębokość pobierania próbek z pryzmy kompostu, odpowiednio 20 i 50 cm, – nie dotyczy.

Największą liczbę omawianych mikroorganizmów odnotowano w I terminie analiz, zwłaszcza w materiale pobranym z głębokości 50 cm (K2). W II terminie badań, wraz ze wzrostem temperatury do 55,6°C, odnotowano gwałtowne zmniejszenie liczebności bakterii, największe w próbkach kompostu pobranego z głębokości 50 cm (K2). W badaniach Paluszaka i Bauzy-Kaszewskiej [2003] dotyczących kompostowania osadów ściekowych zaobserwowano, że temperatura generowana w trakcie procesu kompostowania zasadniczo wpływa na prawidłowy przebieg mineralizacji kompostowanych osadów oraz na inaktywację znajdujących się w nich mikroorganizmów, w tym patogenów.

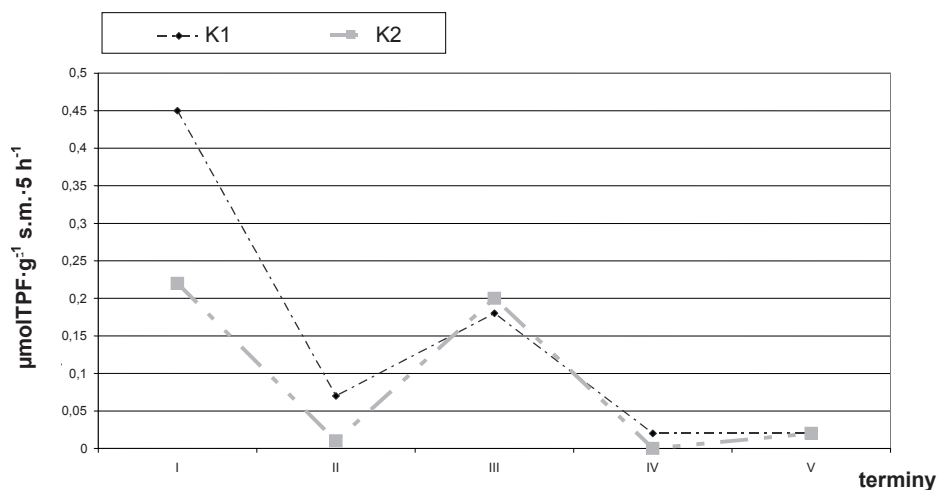
Pomimo dalszego wzrostu temperatury do wartości 65,5°C w III terminie analiz nie obserwowano dalszej eliminacji omawianych drobnoustrojów. Odmienne wyniki uzyskali w swoich badaniach Wolna-Maruwka i Dach [2009]. Zdaniem wyżej wymienionych autorów wzrost temperatury do wartości 62°C w kompostowanych odpadach organicznych prowadził do całkowitej eliminacji tych bakterii. Paluszak i in. [2006] są zdania, że szybkość elimi-

nacji bakterii wskaźnikowych zależy od głębokości pobierania próbek. W górnej warstwie pryzmy proces ten następuje szybciej, natomiast w dolnej – przebiega najwolniej. W badaniach własnych odnotowano jednak zjawisko odwrotne – w ostatnim (V) terminie analiz w próbce K2 liczebność bakterii *Enterobacteriaceae* była dziesięciokrotnie mniejsza niż w materiale pobranym z głębokości K1. Można przypuszczać, że przyczyną tego zjawiska była wyższa temperatura panująca wewnątrz pryzmy w fazie termofilnej.

Po zakończonym procesie kompostowania, pomimo znacznego zmniejszenia liczebności bakterii *Enterobacteriaceae*, wyprodukowany kompost nie spełniał norm ustalonych w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju wsi z dnia 18 czerwca 2008 r., zgodnie z którym liczba jtk *Enterobacteriaceae* w 1g nawozu nie może być większa niż 1000.

Analizując wyniki badań biochemicznych zaobserwowano, że najwyższa aktywność dehydrogenaz występowała w chwili założenia doświadczenia (termin I) w próbce kompostu pobieranej z głębokości 20 cm (K1) (rys. 2). W momencie wzrostu temperatury do 55,6°C (termin II), a tym samym rozpoczęcia się fazy termofilnej, odnotowano gwałtowny spadek poziomu aktywności dehydrogenaz w materiałach K1 i K2. Dalszy wzrost temperatury do 65,5°C (termin III) spowodował zwiększenie aktywności omawianych enzymów na obu głębokościach. W dwóch ostatnich terminach badań (IV i V) aktywność dehydrogenaz utrzymywała się na zbliżonym, niskim poziomie, zarówno na głębokości K1, jak i K2. Zdaniem Piotrowskiej-Cyplik i in. [2007] niski poziom aktywności dehydrogenaz w końcowym etapie procesu kompostowania jest najprawdopodobniej związany z wyczerpywaniem się substancji organicznych w kompostach.

Zdaniem Wolnej-Marutki i Sawickiej [2008] najwyższa aktywność metaboliczna



Rys. 2. Zmiany aktywności dehydrogenaz w bioodpadach podczas procesu kompostowania

Fig. 2. The changes of dehydrogenases activity in biowastes during composting process

drobnoustrojów w procesie kompostowania występuje w niższych temperaturach, mieszczących się zakresie 25–45°C, natomiast w fazie termofilnej – gwałtownie spada, by ponownie wzrosnąć w momencie pojawienia się warunków mezofilnych. Z kolei Błaszczuk [2007] donosi, że najwyższa aktywność metaboliczna mikroorganizmów występuje w temperaturze optymalnej dla większości mikroorganizmów termofilnych, bliskiej 60°C. Aktywność ta jest przypisana kilku gatunkom grzybów termofilnych, które są odpowiedzialne za degradację lignocelulozy, hemicelulozy i pentoz. Z przeglądu literatury [Tiquia i in. 2002, Wolna-Maruwka 2009] wynika, że aktywność dehydrogenaz może korelować, dodatnio bądź ujemnie, z liczebnością bakterii oraz grzybów, a tym samym być wskaźnikiem aktywności mikroorganizmów oraz dynamiki przebiegu procesu kompostowania bioodpadów.

Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej (tab. 6) zaobserwowano, że w materiale pobieranym z głębokości (K1) występowała silna korelacja między aktywnością dehydrogenaz a liczebnością omawianych grup mikroorganizmów. W materiale K2 związek ten był słabszy.

Tabela 6. Współczynnik korelacji liniowej Pearsona między liczebnością wybranych grup drobnoustrojów ($\text{jtk} \cdot \text{g}^{-1}$ s.m. materiału) a aktywnością dehydrogenaz ($\mu\text{mol TPF} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s.m. materiału} \cdot 5\text{h}^{-1}$) w kompostach

Table 6. Pearson correlation coefficient between the number of chosen groups of microorganisms ($\text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ d.m. of compost) and dehydrogenases activity ($\mu\text{mol TPF} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d.m. of material} \cdot 5\text{h}^{-1}$) in composts

Poziom	Współczynnik korelacji				
	bakterie mezofilne	bakterie termofilne	grzyby mezofilne	grzyby termofilne	<i>Enterobacteriaceae</i>
K1	0,92	0,90	0,93	0,90	0,87
K2	0,66	0,70	0,66	0,65	0,77

Objaśnienia: K1, K2 – głębokość pobierania próbek z przyzmy kompostu, odpowiednio 20 i 50 cm.

4. WNIOSKI

1. Stwierdzono, że jednym z głównych czynników wpływających na dynamikę rozwoju bakterii i grzybów obok wartości pH była temperatura.
2. W górnych warstwach przyzmy kompostowanego materiału (K1) odnotowano słabsze zmniejszanie się liczebności bakterii z rodzaju *Enterobacteriaceae* niż w warstwach dolnych (K2).
3. Liczba bakterii *Enterobacteriaceae* w próbkach K1 i K2, po zakończonym procesie kompostowania, nie spełniała norm ustalonych w rozporządzeniu Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 czerwca 2008 r. oraz w rozporządzeniu Komisji (WE) nr 185/2007

z dnia 20 lutego 2007r.

4. Stwierdzono występowanie dodatniej korelacji liniowej Pearsona między liczebnością omawianych grup mikroorganizmów a aktywnością dehydrogenaz, zarówno w próbkach kompostu pobieranego z głębokości 20 cm (K1), jak i 50 cm (K2).

PIŚMIENICTWO I AKTY PRAWNE

- BILITEWSKI B., HÄRDITTE G., MAREK K. 2006. Podręcznik gospodarki odpadami. Teoria i praktyka. Wydanie II. Scidel – Przywecki, Warszawa: 716.
- BŁASZCZYK M.K. 2007. Mikroorganizmy w ochronie środowiska. PWN, Warszawa: 195
- BŁASZCZYK M., FIT M. 2004. Sukcesja mikroorganizmów w czasie kompostowania odpadów organicznych. Materiały VII Konferencji Naukowo-Technicznej. Woda-ścieki-odpady w środowisku. Biologiczne przetwarzanie stałych odpadów organicznych. Zielona Góra, 9-10 wrzesień: 5.
- CZEKAŁA J., DACH J., WOLNA-MARUWKA A. 2006. Wykorzystanie bioreaktora do badań modelowych kompostowania osadów ściekowych. Woda Środowisko Obszary Wiejskie t. 6, z. 2(18): 29–40.
- FINSTEIN M.S., MILLER F.C., STROM P.F. 1986. Waste Treatment Composting as a Controlled System. Biotechnology No 8: 363–398.
- KAŃSKA Z., GRABIŃSKA-ŁONIEWSKA A., ŁEBKOWSKA M., ŻECHOWSKA E. 2001. Ćwiczenia laboratoryjne z biologii sanitarnej. Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, Warszawa: 193.
- MANAFI M., KNEIFEL W. 1989. A combined chromogenic-fluorogenic medium for simultaneous detection of total coliforms and *E. coli* in water. Zentralbl. Hyg. No 189: 225–234.
- MARTIN J.P. 1950. Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. Soil Sci. No 69: 215–232.
- MILLER R.G., TATE C.R. 1990. XLT 4: A highly selective planting medium for the isolation of *Salmonella*. The Maryland Polutryman: 2–7.
- Ocena stanu sanitarnego gleby. Wykrywanie bakterii z rodzaju *Salmonella*.** Polska Norma PN-Z-19000-1.
- OTT L. 1984. An introduction to statistical methods and data analysis. PWS Publishers, Boston: 750.
- PIOTROWSKA-CYPLIK A., CYPLIK P., CZARNECKI Z. 2008. Measurement of dehydrogenase activity and traditional method of microorganisms Mount estimation as indicators of microorganisms activity in compost from municipal sewage sludge. Jour. Res. and Appl. in Agricul. Engineer. No 52(4): 22–26.
- PALUSZAK Z., BAUZA-KASZEWSKA J., LIGOCKA A. 2003. Przeżywalność pałeczek *Salmonella senftenberg* W775 w osadach pościekowych poddanych procesowi kompostowania. Medycyna Wet. No 59: 239–243.

- PALUSZAK Z., BAZELI M., HERMANN J., BAUZA-KASZEWSKA J. 2006. Mikrobiologiczne badania osadów pościekowych higienizowanych tlenkiem wapnia. *Medycyna Wet.* No 62(12): 1427–1430.
- Rozporządzenie Komisji (EC) Nr 185/2007 z 20 lutego 2007 r. zmieniające rozporządzenia (WE) nr 809/2003 oraz (WE) nr 810/2003 w zakresie przedłużenia okresu obowiązywania środków przejściowych dla kompostowni i wytwórni biogazu na mocy rozporządzenia (WE) nr 1774/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady.**
- Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 18 czerwca 2008 r. w sprawie wykonania niektórych przepisów ustawy o nawozach i nawożeniu.** (Dz. U. 2008 Nr 119 poz. 765).
- RYCKEBOYER J., MERGAERT J., VAES K., KLAMMER S., CLERCQ D., COOSEMANS J., INSAM H., SWINGS J. 2003. A survey of bacteria and fungi occurring during composting and self-heating processes. *Annals of Microbiol.* No 53 (4): 349–410.
- THALMANN A. 1968. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenase Aktivität in Boden Mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch. Forsch.* No 21: 249–258.
- TIQUIA S.M., WAN J.H.C., TAM N.F.Y. 2002. Microbial Population Dynamics and Enzyme Activities During Composting. *Compost Science and Utlization* No10(2): 150–161.
- WIELAND E., SAWICKA A. 2000. Przemiany mikrobiologiczne w Systemie SDE. *Przegląd Komunalny* z. 12(111): 53–59.
- WOLNA-MARUWKA A. 2009. Estimation of the Microbiological Status of Sewage Sludges Subject to Composting Process in Controlled Conditions. *Polish J. of Environ. Stud.* No 18(2): 279–288.
- WOLNA-MARUWKA A., DACH J. 2009. Effect of type and proportion of different structure-creating additions on the inactivation rate of pathogenic bacteria in sewage sludge composting in a cybernetic bioreactor. *Archives of Environmental Protection* No 35(3): 87–100.
- WOLNA-MARUWKA A., SAWICKA A. 2008. Ocena stanu mikrobiologicznego i biochemicznego osadu ściekowego poddanego procesowi kompostowania w warunkach kontrolowanych *Ekologia i Technika* z. XVI(5A): 190–194.
- WONG J.W.C., FANG M. 2000. Effects of lime addition on sewage sludge composting process, *Wat. Res.* No 34(15): 3691–3698.