

Wpłynęło 16.10.2012 r.  
Zrecenzowano 28.11.2012 r.  
Zaakceptowano 14.01.2013 r.

A – koncepcja  
B – zestawienie danych  
C – analizy statystyczne  
D – interpretacja wyników  
E – przygotowanie maszynopisu  
F – przegląd literatury

# CHARAKTERYSTYKA MIKROORGANIZMÓW ZDOLNYCH DO USUWANIA ODOROWYCH ZWIĄZKÓW LOTNYCH Z POMIOTU KURZEGO

**Katarzyna MATUSIAK**<sup>ABCDEF</sup>, **Beata GUTAROWSKA**<sup>ABCDEF</sup>,  
**Sebastian BOROWSKI**<sup>ABCDEF</sup>

Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii

## Streszczenie

W pracy przedstawiono charakterystykę morfologiczną, fizjologiczną i uzdolnień enzymatycznych drobnoustrojów (*Bacillus subtilis subsp. spizizenii*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas* sp., *Psychrobacter faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptomyces violaceoruber*, *Candida inconspicua*) wyizolowanych z różnych środowisk – gleby, kiszzonek i pomiotu kurzego, zdolnych do usuwania z pomiotu kurzego związków odorowych, takich jak kwas izomasłowy, siarkowodór oraz di- i trimetyloamina. Badane mikroorganizmy należą do różnych grup morfologicznych, charakteryzują się wzrostem w dużym zakresie temperatury (od 10 do 44°C) oraz w różnych warunkach tlenowych, mają zdolność do ograniczenia koncentracji wielu węglowodanów i białek oraz innych związków, których obecność może przyczynić się do powstawania odorów. Z pomiotu kurzego mikroorganizmy usuwają związki zawierające azot organiczny. Efektywność eliminacji rzeczywistej związków odorowych z pomiotu kurzego przez drobnoustroje sięga od 11 do 52%, w zależności od badanego związku, czasu deodoryzacji oraz szczepu. Największą aktywność wykazują one w 2. dobie w stosunku do kwasu izomasłowego, najsłabiej usuwają trimetyloaminę.

**Słowa kluczowe:** aktywna mikrobiota, charakterystyka szczepów, lotne związki odorowe

## WSTĘP

Procesom rozkładu odpadów organicznych towarzyszy powstawanie uciążliwych dla środowiska związków odorowych. Związki te są wytwarzane przeważnie

---

**Do cytowania For citation:** Matusiak K., Gutarowska B., Borowski S. 2013. Charakterystyka mikroorganizmów zdolnych do usuwania odorowych związków lotnych z pomiotu kurzego. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie. T. 13. Z. 1(41) s. 89–101.

przez bakterie beztlenowe w warunkach niedoboru tlenu, w których nie dochodzi do pełnej redukcji związków organicznych, zwłaszcza białek i węglowodanów [KURODA i in. 1996; RAPPERT, MULLER 2005a; ZHU 2000].

Fermy drobiu emitują do atmosfery największe ilości zanieczyszczeń w postaci gazów, mikroorganizmów i pyłów [TYMCZYNA, MAIŃSKA 1999]. Stosowanie do upraw rolnych pomiotu ptasiego jako nawozu ma negatywne strony, niesie ryzyko związane ze zbyt dużą koncentracją mikroorganizmów oraz wydzielaniem lotnych związków odorowych w dużym stężeniu [EL JALIL i in. 2001]. Szczególnie uciążliwe zapachowo są związki siarki i azotu oraz lotne kwasy tłuszczowe zawarte w pomociu kurzym.

Wśród metod usuwania związków odorowych z różnych środowisk coraz szersze uznanie zyskuje metoda biologiczna z wykorzystaniem zestawu odpowiednio dobranych drobnoustrojów [RAPPERT, MULLER 2005a]. Mikroorganizmy mogą przekształcić niemal każdy organiczny związek wytworzony przez człowieka lub naturalnie występujący w środowisku, jeśli warunki są odpowiednie i związek nie jest toksyczny dla drobnoustroju [LEWANDOWSKI, DEFILIPPI 1998; RAPPERT, MULLER 2005b].

Wstępne badania skryningowe metodą spektrofotometryczną wykazały dużą efektywność drobnoustrojów wyselekcjonowanych ze środowiska gleby, kiszzonek, kompostu i pomiotu kurzego w usuwaniu związków odorowych, wynoszącą do 80% w zależności od badanego związku i szczepu [GUTAROWSKA i in. 2009]. Wytypowane szczepy nie oddziaływały antagonistycznie wobec siebie i współdziałały w postaci kompozytu w eliminacji związków odorowych ze środowiska [BOROWSKI i in. 2010; DURKA i in. 2010]. Obecne badania są kontynuacją tych eksperymentów i mają na celu charakterystykę mikroorganizmów: *Bacillus subtilis subsp. spizizenii*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas* sp., *Psychrobacter faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptomyces violaceoruber*, *Candida inconspicua* pod kątem morfologii, fizjologii, uzdolnień enzymatycznych oraz szczegółową ocenę efektywności eliminacji odorowych związków lotnych, jak również usuwania azotu organicznego z pomiotu kurzego.

## MATERIAŁ I METODY BADAŃ

**Pomiot kurzy** pochodził z fermy drobiarskiej w Zgierzu (50 000 kur niosek, chów klatkowy, bezściółkowy).

**Materiał biologiczny – drobnoustroje.** Wykorzystane w badaniach drobnoustroje zostały wyizolowane z gleby (g), pomiotu kurzego (p) lub kiszzonek (k): *Bacillus subtilis subsp. spizizenii* (g), *Bacillus megaterium* (g), *Pseudomonas* sp. (g), *Psychrobacter faecalis* (p), *Leuconostoc mesenteroides* (k), *Streptomyces violaceoruber* (g), *Candida inconspicua* (g). Drobnoustroje zidentyfikowano na podstawie morfologicznych i biologicznych właściwości z użyciem testów API z podo-

bieństwem 99% (oprócz *Pseudomonas* sp. z podobieństwem 74,1%). Przynależność gatunkowa mikroorganizmów została potwierdzona również z zastosowaniem techniki PCR (Polymerase Chain Reaction) sekwencjonowania genów 16SrRNA z 98–100-procentowym podobieństwem do szczepów z NCBI database (National Center for Biotechnology Information).

**Zawiesina mikroorganizmów do procesu deodoryzacji.** Prowadzono wglębne hodowle drobnoustrojów w podłożu TSB (ang. „tryptic soy broth”) przez 24 h w temperaturze  $27\pm 1^\circ\text{C}$ ; MRS z glukozą (de Man, Rogosa i Sharpe Broth) (*L. mesenteroides*) przez 24 h w temperaturze  $37\pm 1^\circ\text{C}$  oraz YPG (Yeast, Peptone, Glucose) (*S. violaceoruber*, *C. inconspicua*) przez 48 h w temperaturze  $27\pm 1^\circ\text{C}$  w warunkach dynamicznych (wytrząsarka). Po inkubacji podłoże hodowlane wirowano w warunkach:  $g = 8000$ , 10 minut. Otrzymaną biomasę zawieszono w 300 ml sterylnej wody destylowanej. Przygotowano również zestaw mikroorganizmów (biopreparat) osadzonych na nośniku mineralnym (P393863) [BOROWSKI i in. 2011].

**Analiza morfologiczna, fizjologiczna i biochemiczna szczepów.** W celu określenia charakteru wzrostu drobnoustroje hodowano na pożywkach stałych i płynnych TSA, TSB (ang. „tryptic soy agar”, „tryptic soy broth”) (*Pseudomonas* sp., *B. subtilis* subsp. *spizizenii*, *B. megaterium*, *P. faecalis*) przez 24 h w temperaturze  $27\pm 1^\circ\text{C}$ ; MRS z glukozą (de Man, Rogosa i Sharpe Broth, de Man, Rogosa i Sharpe Agar) (*L. mesenteroides*) przez 24 h w temperaturze  $37\pm 1^\circ\text{C}$  oraz YPG (Yeast, Peptone, Glucose) (*S. violaceoruber*, *C. inconspicua*) przez 48 h w temperaturze  $27\pm 1^\circ\text{C}$ . Aby wyznaczyć zakres temperatury optymalnej do wzrostu mikroorganizmów, hodowano je w podłożach płynnych jw. w różnej temperaturze (10, 20, 30, 37, 44,  $55^\circ\text{C}$ ). Wykonano preparaty mikroskopowe bezpośrednie oraz barwione metodą Grama w celu określenia kształtu komórek, ugrupowań, a także wytwarzania przetrwalników.

Przeprowadzono ocenę zdolności drobnoustrojów do tworzenia katalazy, oksydazy cytochromowej (test Microbiologie Bactident Oxidase) oraz fermentacji lub utleniania glukozy na podłożu Hugh-Leifsona (test O-F). Oznaczano ponadto aktywność rozkładu cukrów i alkoholi, redukcję azotanów (V) do azotanów (III) i azotanów (III) do azotu, rozkład mocznika, argininy. Te cechy biochemiczne badano metodą probówkową na odpowiednich podłożach mikrobiologicznych oraz z użyciem testów API CHB, API CHL, API E, API NE, API STAPH, API C AUX [BURBIANKA, PLISZKA 1983; KĘDZIA 1990]. Określono również spektrum wytwarzanych przez drobnoustroje enzymów w podłożu z dodatkiem pomiotu kurzego i glukozy (37 g pomiotu kurzego + 4 g glukozy na 1000 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ; sterylizacja: temperatura  $121^\circ\text{C}$ , czas 25 min., ciśnienie 1 atm.), po 3 dniach inkubacji w temperaturze  $27\text{--}37^\circ\text{C}$  w zależności od szczepu. Do oznaczeń profilu tworzonych enzymów zastosowano test API ZYM.

**Oznaczanie związków lotnych.** Usuwanie odorowych związków lotnych: kwasu izomasłowego, di-, trimetyloaminy oraz siarkowodoru z pomiotu kurzego zbadano metodą GLC, oznaczeń dokonywano na chromatografie Varian (USA).

Nastrzyk próbki powietrza następował metodą wzorca zewnętrznego do pętli dozowniczej. Krzywe wzorcowe zostały wykonane na kolumnach Hayesep Q, Hayesep T. Otrzymano je, wprowadzając roztwory badanych związków do dwusiarczku węgla lub w przypadku gazów mieszanek gazową wzorców gazowych o określonym stężeniu.

**Ocena aktywności drobnoustrojów w usuwaniu odorowych związków lotnych z pomiotu kurzego.** Stanowisko badawcze składało się z czterech komór laboratoryjnych, sondy do pomiaru tlenu, rotametrów oraz dmuchawy membranowej do stałej kontroli przepływu powietrza wprowadzanego do komór. W każdej z komór laboratoryjnych umieszczono 1 kg badanego pomiotu kurzego. Zawartość pierwszej komory stanowiła próbę kontrolną (tylko pomiot, bez dodatku mikroorganizmów), w pozostałych komorach umieszczony był materiał właściwy, czyli z dodatkiem zawiesiny poszczególnych drobnoustrojów. Komory szczelnie zamknięto. Następnie przez komory przepuszczano powietrze ( $2 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$ ), pobierając badane próbki gazów, po 15 minutach pracy oraz po dwóch i czterech dobach napowietrzania.

Na podstawie stężenia odorantów w próbie kontrolnej (nie zawierającej drobnoustrojów) i stężenia w próbie właściwej w porównaniu z próbą „0” sprzed procesu obliczono stopień eliminacji odorowych związków lotnych, wartości podano w procentach.

**Oznaczenie suchej masy, suchej masy organicznej i azotu Kjeldahla ( $N_{\text{org}} + N_{\text{NH}_4}$ ) w próbkach pomiotu kurzego przed i po procesie deodoryzacji.** W pomiole kurzym przed i po deodoryzacji z zastosowaniem biopreparatu (P393863) oznaczono: suchą masę, suchą masę organiczną i azot ogólny Kjeldahla. Suchą masę oznaczono metodą wagową wg [PN-75/C-04616.01]. Po otrzymaniu zawartości popiołu (temp.  $550^\circ\text{C}$ ) suchą masę organiczną obliczono na podstawie różnicy suchej masy i zawartości popiołu. Azot ogólny Kjeldahla oznaczano metodą spektrofotometryczną, po wcześniejszej mineralizacji próbki [HERMANOWICZ i in. 1999]. Oznaczenie wykonano w trzech powtórzeniach i wynik podano w  $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$  azotu TKN („Total Kjeldahl Nitrogen”) z uwzględnieniem rozcieńczenia.

## WYNIKI BADAŃ

Wśród badanych drobnoustrojów pięć gatunków należało do bakterii, wśród których oznaczono gram (+): laseczki (2 gatunki), ziarniaki (1) i promieniowiec (1), gram (–) pałeczki (2), oraz oznaczono grzyb drożdżopodobny (I) – tabela 1. Trzy gatunki miały zdolność do ruchu (*B. subtilis*, *B. megaterium*, *Pseudomonas* sp.), dwa z rodzaju *Bacillus* wytwarzały formy przetrwalne, jeden tworzył śluz pozakomórkowo (*L. mesenteroides*).

Większość mikroorganizmów była zdolna do wzrostu w obecności tlenu (tab. 2), jeden gatunek należał do względnych beztlenowców (*L. mesenteroides*). Tem-

peratura optymalna wzrostu drobnoustrojów wynosiła 20–37°C, pięć gatunków było zdolnych do wzrostu również w wyższej temperaturze (44°C). Zdolność do utleniania glukozy z wytworzeniem kwasów w warunkach tlenowych miał *Pseudomonas* sp., szczep *S. violaceoruber* utleniał glukozę bez wytworzenia kwasów, fermentację glukozy w warunkach tlenowych i beztlenowych prowadziły cztery gatunki: *B. subtilis*, *B. megaterium*, *P. faecalis* i *C. inconspicua*, natomiast *L. mesenteroides* fermentował glukozę w warunkach beztlenowych. Wszystkie drobnoustroje wytwarzały katalazę; zdolność do wytwarzania oksydazy miały cztery szczepy.

Scharakteryzowano aktywność biochemiczną wybranych drobnoustrojów do redukcji cukrów, alkoholi, argininy, mocznika i związków azotu (tab. 3). Szczep z rodzaju *Pseudomonas* sp. aktywnie rozkładał cukry, pochodne alkoholi i związki azotu (azotany (III) do azotu oraz argininę). Bakterie z rodzaju *Bacillus* wykazywały wysoką aktywność biochemiczną do rozkładu cukrów i alkoholi, szczep *P. faecalis* wykazał się zdolnością do redukcji azotanów (V) do azotanów (III) oraz argininy, grzyb drożdżopodobny był aktywny w rozkładzie cukrów oraz redukcji argininy, zaś promieniowiec – w rozkładzie mocznika.

Enzymy wytwarzane przez badane drobnoustroje na pożywce z dodatkiem pomiotu kurzego przedstawiono w tabeli 4. Dobrymi właściwościami lipolitycznymi i proteolitycznymi charakteryzowały się: *L. mesenteroides* i *C. inconspicua*, zaś *Pseudomonas* sp. miał właściwości tylko lipolityczne. Mikroorganizmy aktywnie wykorzystujące cukry to: *P. faecalis*, *L. mesenteroides*, *C. inconspicua* i *S. violaceoruber*. Wśród badanych drobnoustrojów najwyższą aktywność w rozkładzie związków tłuszczowych, białkowych i cukrowych wykazywały *L. mesenteroides* i *C. inconspicua*.

Badane drobnoustroje charakteryzowały się wysoką efektywnością eliminacji odorowych związków lotnych zawartych w pomiole kurzym (kwasu izomasłowego, di-, trimetyloaminy oraz siarkowodoru), na poziomie od 11 do 52% (tab. 5); sześć gatunków było zdolnych do redukcji dimetyloaminy na poziomie powyżej 30%, sześć usuwało siarkowodór na poziomie powyżej 31%. Trimetyloaminę aktywnie usuwały wszystkie badane drobnoustroje, promieniowiec *S. violaceoruber* wykazał najwyższy stopień eliminacji tego związku (49%), natomiast pięć gatunków powodowało usuwanie kwasu izomasłowego w znacznym stopniu (36–50%).

Zawartość suchej masy podczas procesu deodoryzacji nie zmieniała się istotnie, natomiast zawartość suchej masy organicznej oraz azotu ogólnego Kjeldahla po procesie w próbie właściwej zmieniała się statystycznie istotnie w odniesieniu do próby kontrolnej. Wykazano istotny ubytek zawartości azotu Kjeldahla w próbie właściwej przed i po procesie deodoryzacji (tab. 6).

**Tabela 1.** Charakterystyka morfologiczna mikroorganizmów aktywnie redukujących lotne związki odorowe z pomiotu kurzego**Table 1.** Morphological characteristics of active microorganisms reducing volatile odorous compounds from poultry manure

Badana cecha Tested feature	Charakterystyka Characteristics						
	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Psychrobacter faecalis</i>	<i>Leutonoscoc mesenteroides</i>	<i>Streptomyces violaceoruber</i>	<i>Candida inconspicua</i>
1	2	3	4	5	6	7	8
Morfologia wzrostu na: podłożu stałym (s), podłożu płynnym (p) Growth requirements: solid medium (s), liquid medium (l)	(s): gładkie, wypukłe o błyszczącej powierzchni i nieregularnym brzegu kolonie (p): zmętnienie i osad (s): smooth, shiny surface, convex colonies with an irregular edge (l): turbidity and sediment	(s): chropowate, nieprzezroczyste, mętne, matowe rozgałęziające się kremowobiałe kolonie (p): osad i wspinająca się po ściankach błonka (s): rough, opaque, dull, creamy white branching colonies (l): sludge and film climbing up the walls of the tube	(s): duże, gładkie, błyszczące okrągłe, wypukłe, brzeg regularny, nierozgałęziające, białokremowe kolonie (p): zmętnienie i osad (s): large, smooth, shiny, round and convex colonies, regular margin, creamy white, not branching colonies (l): turbidity and sediment	(s): małe, beżowe, błyszczące, nieco wypukłe, gładkie kolonie, o brzegu regularnym, okrągłe (p): zmętnienie i osad (s): small, beige, shiny and smooth colonies with regular edge, round and slightly convex (l): turbidity and sediment	(s): białokremowe, małe lekko wypukłe grudkowate kolonie (p): zmętnienie i osad (s): white and creamy, slightly convex lumpy colonies (l): turbidity and sediment	(s): luźna struktura grzybni podstawowej wnikającej w głąb podłoża, struktura grzybni wtórnej (powietrznej) pofałdowana, nieregularna, bardzo zbita o zabarwieniu kremowobiałym (p): osad na dnie (s): loose structure of primary mycelium penetrating into the substrate, secondary mycelium (air) has undulating, irregular structure, very dense with creamy white color (l): sediment	(s): kolonie białe do białokremowych, kopulaste o gładkiej powierzchni, nieprzezroczyste (p): delikatny kożuch wspinający się po ściankach i osad (s): colonies white to creamy white, dome-shaped with a smooth surface, opaque (l): delicate scum climbing up the walls of the tube

1	2	3	4	5	6	7	8
Morfologia komórki; kształt; gram +/-; ruch; przetrwalniki; inne cechy Cell morphology; shape; gram (+/-); movement; spores; other features	pałeczki gram(-); zdolne do ruchu rod-shaped; gram-negative; motile bacteria	laseczki gram(+), tworzące łańcuszki; zdolne do ruchu; przetrwalniki o kształcie owalnym bądź cylindrycznym o średnicy mniejszej niż komórka vegetatywna gram-positive bacilli forming chains; motile; oval or cylindrical spores with a diameter smaller than the vegetative cells	laseczki gram(+) tworzące łańcuszki; zdolne do ruchu; przetrwalniki o kształcie owalnym o średnicy mniejszej niż komórka macierzysta gram-positive bacilli forming chains; motile; oval spores with a diameter smaller than the vegetative cells	pałeczki gram(-) lub coccopaleczki; brak ruchu; nie wytwarzają przetrwalników; kuliste komórki tworzą układy (dwoinki) gram-negative rod-shaped or coco sticks; spherical cells form diplococci; non motile; not forming spores	ziarniaki gram(+) o okrągłym kształcie lub lekko wydłużonym; brak ruchu, nie wytwarzają przetrwalników; wytwarzają śluz; zgrupowane w dwoinkach lub krótkich łańcuszkach gram-positive cocci of spherical or slightly elongated shape; non motile; not forming spores; they produce mucus; grouped in diplococci or in short chains	tworzą pseudogrybnię (komórki przypominające splecione, rozgałęzione strzępki), gram(+); brak ruchu; nie wytwarzają przetrwalników; wytwarzają geosminę form pseudomycelium (cells resembling branched hyphae); gram-positive; non motile; not forming spores; geosmin producer	grzyby drożdżopodobne; komórki elipsoidalne występują pojedynczo lub w zgrupowaniach; tworzą czasami cienką pseudogrybnię; brak ruchu; nie wytwarzają przetrwalników; brak zarodników; brak rozmnażania płciowego; pączkowanie yeast-like fungi; ellipsoidal cells occur singly or in clusters; form a thin pseudomycelium; non motile; not forming spores; no endospores; lack of generative reproduction, budding

Objaśnienia: s – podłoże stałym, p – podłoże płynne. Explanations: s – solid medium, l – liquid medium.

Źródło: opracowanie własne. Source: own results.

**Tabela 2.** Charakterystyka fizjologiczna mikroorganizmów aktywnie eliminujących lotne związki odorowe z pomiotu kurzego**Table 2.** Physiological characteristics of microorganisms actively reducing volatile odorous compounds from poultry manure

Badana cecha Tested feature	Charakterystyka Characteristics						
	<i>Pseudomonas sp.</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>P. faecalis</i>	<i>L. mesenteroides</i>	<i>S. violaceoruber</i>	<i>C. inconspicua</i>
Stosunek do tlenu Oxygen demand	tlenowce aerobes	tlenowce aerobes	tlenowce aerobes	tlenowce aerobes	względne beztlenowce facultative anaerobes	tlenowce aerobes	tlenowce aerobes
Katalaza Catalase	obecna present	obecna present	obecna present	obecna present	obecna present	obecna present	obecna present
Oksydaza Oxidase	obecna present	obecna present	nieobecna absent	obecna present	nieobecna absent	nieobecna absent	obecna present
Metabolizm glukozy <sup>1)</sup> Glucose metabolism <sup>1)</sup>	utlenianie z wytwo- rzeniem kwasów w warunkach tlenowych oxidation with acids formation in aerobic conditions	fermentacja w warunkach tlenowych i beztlenowych aerobic and anaerobic fermentation	fermentacja w warunkach tlenowych i beztlenowych aerobic and anaerobic fermentation	fermentacja w warunkach tlenowych i beztlenowych aerobic and anaerobic fermentation	fermentacja w warunkach beztlenowych anaerobic fermentation	utlenianie bez wytworzenia kwasów oxidation without acids formation	fermentacja w warunkach tlenowych i beztlenowych aerobic and anaerobic fermentation
Wzrost w temperatu- rze <sup>2)</sup> :	10°C – 20°C ++ 30°C ++	– +++ +++	– + +	+ ++ ++	– + ++	– + ++	+ + +++
Growth at a temperatu- re <sup>2)</sup>	37°C – 44°C – 55°C –	++ + –	++ + –	++ + –	++ – –	++ + –	++ + –

<sup>1)</sup> Na podłożu H – L. <sup>2)</sup> Ocena wzrostu: – brak, + niewielki, ++ średni, +++ intensywny. <sup>1)</sup> On H – L medium. <sup>2)</sup> Growth: – non, + low, ++ medium, +++ intensive.

Źródło: opracowanie własne. Source: own results.



**Tabela 3.** Aktywność biochemiczna badanych drobnoustrojów ograniczenia ilości cukrów, alkoholi i związków azotu**Table 3.** Biochemical abilities of studied microorganisms to eliminate saccharides, alcohols and nitrogen compounds

Rozkładany lub redukowany związek Decomposed or reduced compound	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>B. subtilis</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>P. faecalis</i>	<i>L. mesenteroides</i>	<i>S. violaceoruber</i>	<i>C. inconspicua</i>
	zdolność do rozkładu lub redukcji ability to degrade or reduce						
Glukoza (fermentacja) Glucose (fermentation)	+/-	+	+	+	+	-	+
Glicerol Glycerol	+	+	+	-	-	-	-
2-ketoglukonian 2-ketogluconate	-	-	-	-	-	-	-
L-arabinoza L-arabinose	+	+	+	+	+	-	-
Azotany (V) do azotanów (III) Nitrates to nitrites	+/-	+	-	+	-	+	-
Azotany (III) do azotu Nitrite to nitrogen	+	+	-	+	-	-	+/-
Glukonian potasu Potassium gluconate	-	-	-	+	-	-	-
Rafinoza Raffinose	-	+	+	-	+	-	-
Maltoza Maltose	-	+	+	+	+	-	+
Inozytol Inositol	+	+	-	-	-	-	-
Sorbitol Sorbitol	-	+	+	+	-	-	-
Celobioza Cellobiose	-	+	-	+	-	+	+
Sacharoza Saccharose	-	+	+	-	+	-	+
Trehaloza Trehalose	-	+	+	+	+	-	+
Galaktoza Galactose	+	-	-	+	+	-	+
$\alpha$ -metylo-D-glukozyd $\alpha$ -methyl-D-glucoside	-	-	-	-	+	-	-
Mannoza Mannose	+	+	+	+	+	-	+
Mannitol Mannitol	+	+	+	+	-	-	-
Arginina Arginine	+	-	-	+	-	-	+
Mocznik Urea	-	-	-	-	-	+	-
N-acetyloglukozamina N-acetylglucosamine	-	-	+	+	+	-	+

Objaśnienia: + występowanie aktywności rozkładu/redukcji, – brak zdolności do rozkładu/redukcji.

Explanations: + degradation/reduction present, – inability to degrade/reduce.

Źródło: opracowanie własne. Source: own results.

**Tabela 4.** Profil enzymatyczny badanych mikroorganizmów na podłożu z dodatkiem pomiotu kurzego**Table 4.** Enzymatic profile of studied microorganisms on medium with the addition of poultry manure

Enzym Enzyme	<i>Pseudomonas</i> sp.	<i>B. subtilis</i>	<i>B. megaterium</i>	<i>P. faecalis</i>	<i>L. mesenteroides</i>	<i>S. violaceoruber</i>	<i>C. inconspicua</i>
Fosfataza alkaliczna Alkaline phosphatase	–	+	–	+	–	–	+
Esteraza (C4) Esterase (C4)	+	+	–	–	+	–	–
Esteraza lipaza (C8) Esterase lipase (C8)	+	+	–	–	+	+	+
Lipaza (C14) Lipase (C14)	+	–	–	–	+	–	+
Arylamidaza leucyny Leucine arylamidase	–	–	+	–	+	–	–
Arylamidaza waliny Valine arylamidase	–	–	–	+	+	–	+
Arylamidaza cystyny Cystine arylamidase	+	–	+	+	+	–	+
Trypsyna Trypsin	–	+	–	–	+	–	+
$\alpha$ -chymotrypsyna $\alpha$ -chymotrypsin	–	–	–	+	+	+	+
Kwaśna fosfataza Acid phosphatase	–	–	+	+	+	+	+
Fosfohydrolaza naftylo-AS-BI Naphtyl-AS-BI phosphohydrolase	+	–	+	+	–	+	+
$\alpha$ -galaktozydaza $\alpha$ -galactosidase	+	+	–	–	+	+	+
$\beta$ -galaktozydaza $\beta$ -galactosidase	–	–	–	+	+	+	–
$\beta$ -glukuronidaza $\beta$ -glucuronidase	–	+	+	–	–	+	+
$\alpha$ -glukozydaza $\alpha$ -glucosidase	+	–	–	+	–	+	+
$\beta$ -glukozydaza $\beta$ -glucosidase	+	–	–	–	+	+	+
N-acetylo- $\beta$ -glukozaminidaza	–	–	–	+	+	+	+
N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase	–	–	–	+	+	+	+
$\alpha$ -mannozydaza $\alpha$ -mannosidase	–	+	–	+	–	+	–
$\alpha$ -fruktozydaza $\alpha$ -fructosidase	+	+	+	+	+	+	+

Objaśnienia: + enzym obecny, – brak wytwarzania enzymu. Explanations: + enzyme present, – enzyme not produced.

Źródło: opracowanie własne. Source: own results.

**Tabela 5.** Zdolność mikroorganizmów do usuwania związków odorowych z pomiotu kurzego**Table 5.** Reduction of volatile odorous compounds in poultry manure due to active microorganisms

Szczep Strain	Stopień eliminacji związków odorowych, % Reduction of odorous compounds, %			
	dimetyloamina <sup>1)</sup> dimethylamine <sup>1)</sup>	trimetyloamina <sup>1)</sup> trimethylamine <sup>1)</sup>	siarkowodór <sup>1)</sup> hydrogen sulfide <sup>1)</sup>	kwas izomasłowy <sup>2)</sup> isobutyric acid <sup>2)</sup>
	<i>Pseudomonas sp.</i>	31,16	15,43	37,58
<i>B. subtilis</i>	34,00	21,04	31,79	49,58
<i>B. megaterium</i>	19,83	11,22	34,68	44,63
<i>P. faecalis</i>	36,83	25,25	34,79	26,42
<i>L. mesenteroides</i>	42,50	18,23	37,68	19,81
<i>S. violaceoruber</i>	48,16	49,09	52,18	38,01
<i>C. inconspicua</i>	42,50	28,05	26,09	36,36
Biopreparat Biopreparation	46,20 <sup>2)</sup>	36,80 <sup>2)</sup>	33,70 <sup>2)</sup>	49,50

<sup>1)</sup> Po czterech dobach procesu deodoryzacji. <sup>2)</sup> Po dwóch dobach procesu dezodoryzacji.

<sup>1)</sup> After four days of deodorization. <sup>2)</sup> After two day of deodorization.

Źródło: opracowanie własne. Source: own results.

**Tabela 6.** Zawartość suchej masy, suchej masy organicznej, azotu ogólnego Kjeldahla w próbach pomiotu kurzego przed i po czterech dniach deodoryzacji**Table 6.** The content of dry matter, dry organic matter, total Kjeldahl nitrogen in poultry manure before and after four days of deodorization

Oznaczenie Determination	Przed procesem deodoryzacji Before deodorization process		Po procesie deodoryzacji After deodorization process	
	Pk	Pw	Pk	Pw
	Średnia zawartość suchej masy, g·kg <sup>-1</sup> Mean content of dry matter, g·kg <sup>-1</sup>	240,51±8,23	240,75±13,36	234,98±6,66
Średnia zawartość suchej masy organicznej, g·kg <sup>-1</sup> Mean content of dry organic matter, g·kg <sup>-1</sup>	172,38±15,96	148,88±11,18	185,31±7,90	157,66±9,69 <sup>1)</sup>
Średnia zawartość azotu Kjeldahla TKN, g N·kg <sub>pmiotu</sub> <sup>-1</sup> Mean content of total Kjeldahl nitrogen, g N·kg <sub>pmiotu</sub> <sup>-1</sup>	17,45±0,76	17,08±0,23	18,31±0,27	15,75±0,36 <sup>1), 2)</sup>

<sup>1)</sup> Różnica statystycznie istotna pomiędzy Pk i Pw po procesie deodoryzacji.

<sup>2)</sup> Różnica statystycznie istotna pomiędzy Pw przed i po deodoryzacji.

<sup>1)</sup> Statistically significant difference between control sample and experimental sample after deodorization.

<sup>2)</sup> Statistically significant difference between experimental sample before and after deodorization.

Objaśnienia: Pk – próba kontrolna bez mikroorganizmów, Pw – próba właściwa zawierająca kompozyt mikroorganizmów.

Explanations: Pk – control sample without microorganisms, Pw – experimental sample with microorganisms.

## PODSUMOWANIE

Badane drobnoustroje mogą rozwijać się głównie w środowisku tlenowym. Szeroki zakres temperatury, występującej w kurniku oraz w samym pomiole kurzym, stwarza im warunki do przeżycia podczas procesu deodoryzacji.

Mikroorganizmy są zdolne do eliminacji wielu związków, np. cukrów, alkoholu, argininy, mocznika czy azotanów. Drobnoustroje te wytwarzają w środowisku pomiotu kurzego wiele enzymów. Stwierdzono, że dobre właściwości lipolityczne, proteolityczne i glikolityczne mają drobnoustroje *L. mesenteroides* i *C. inconspicua*. Zdolne do redukcji związków azotu są szczepy: *Pseudomonas sp.*, *B. subtilis*, *P. faecalis* i *S. violaceoruber*. Aktywny rozkład cukrów prowadziły: *B. subtilis*, *B. megaterium* i *C. inconspicua*.

Ustalono, że wszystkie mikroorganizmy aktywnie usuwają związki lotne (kwas izomasłowy, di- i trimetyloaminę oraz siarkowodór) zawarte w pomiole kurzym na poziomie od 11 do 52%.

W trakcie procesu usuwania związków odorowych obserwowano również zmniejszenie zawartości suchej masy organicznej oraz azotu ogólnego Kjeldahla w pomiole kurzym, co może świadczyć o wykorzystaniu tych związków przez zastosowane mikroorganizmy.

Na podstawie dokonanej charakterystyki fizjologicznej i biochemicznej drobnoustrojów oraz aktywności w usuwaniu odorowych związków lotnych z pomiotu kurzego można określić wymagania i uzdolnienia badanych szczepów, które mogą wchodzić w skład biopreparatu aktywnego w usuwaniu uciążliwości zapachowych. Wykonane badania przyczynią się do określenia roli poszczególnych mikroorganizmów w biopreparacie, jednakże konieczne są kolejne szczegółowe analizy.

Badania prowadzone w ramach projektów badawczych (PBZ-MEiN-5/2/2006-2009): „Nowe metody i technologie dezodoryzacji w produkcji przemysłowej, rolnej i gospodarce komunalnej” oraz NCN2011/01/N/NZ9/06603): „Mechanizm biologicznej deodoryzacji pomiotu kurzego”.

## LITERATURA

- BOROWSKI S., GUTAROWSKA B., DURKA K., KORCZYŃSKI M., OPALIŃSKI S., KOŁACZ R. 2010. Dezodoryzacja nawozu organicznego metodą biologiczną. *Przemysł Chemiczny*. Z. 4 s. 318–322.
- BOROWSKI S., GUTAROWSKA B., BRYCKI B., KOŁACZ R. Sposób otrzymywania biopreparatu do dezodoryzacji odchodów drobiu. Polska. Zgłoszenie patentowe. P-393863. A61L 9/00; C12N 1/20. Data zgłoszenia: 07.02.2011.
- BURBIANKA M., PLISZKA A. 1983. *Mikrobiologia żywności*. Wyd. 5. Warszawa. PZWL. ISBN 83-200-0673-2 ss. 593.
- DURKA K., GUTAROWSKA B., BOROWKI S., PIELECH-PRZYBYLSKA K., IRZYNIEC Z., KORCZYŃSKI M., KOŁACZ R. 2010. Ocena efektywności usuwania związków odorowych z pomiotu kurzego przez aktywną mikroflorę. *Ekologia i Technika*. Nr 1 (104) s. 12–20.
- EL JALIL M.H., FAID M., ELYACHIOU M. 2001. A biotechnological process for treatment and recycling poultry wastes manure as a food ingredient. *Biomass and Bioenergy*. Vol. 21 s. 301–309.

- GUTAROWSKA B., BOROWSKI S., DURKA K., KORCZYŃSKI M., KOŁACZ R. 2009. Selekcja drobnoustrojów zdolnych do usuwania związków odorowych z pomiotu kurzego. *Przemysł Chemiczny*. Z. 5 s. 2–7.
- HERMANOWICZ W., DOJLIDO J., DOŻAŃSKA W., KOZIOROWSKI B., ZERBE J. 1999. Fizyczno-chemiczne badanie wody i ścieków. Warszawa. Arkady. ISBN 83-213-4067-9 ss. 558
- KĘDZIA W. 1990. Diagnostyka mikrobiologiczna w medycynie. Warszawa. PZWL. ISBN 83-200-1287-2 ss. 367.
- KURODA K., OSADA T., YONAGA M., KANEMATU A., NITTA T., MOURI S., KOJIMA T. 1996. Emissions of malodorous compounds and greenhouse gases from composting swine feces. *Bioresource Technology*. Vol. 56. Iss. 2–3 s. 265–271.
- LEWANDOWSKI G.A., DEFILIPPI L.J. 1998. Biological treatment of hazardous wastes. New York. Wiley. ISBN 0471048615 ss. 401.
- PN-75/C – 04616.01. Woda i ścieki. Badania specjalne osadów. Oznaczanie zawartości wody, suchej masy substancji organicznych i mineralnych w osadach ściekowych. Warszawa. PKNMiJ.
- RAPPERT S., MULLER R. 2005a. Microbial degradation of selected odorous substances. *Waste Management*. Vol. 25 s. 940–954.
- RAPPERT S., MULLER R. 2005b. Odor compounds in waste gas emission from agricultural operations and food industries. *Waste Management*. Vol. 25 s. 887–907.
- TYMCZYNA L., MAIŃSKA A. 1999. Lotne substancje toksyczne i odorotwórcze źródłem zanieczyszczenia środowiska atmosferycznego, *Ekologia i Technika*. Nr 6 s. 167–173.
- ZHU J. 2000. A review of microbiology in swine manure odor control. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. Vol. 78. Iss. 2 s. 93–106.

Katarzyna MATUSIAK, Beata GUTAROWSKA, Sebastian BOROWSKI

## CHARACTERISTICS OF MICROORGANISMS ABLE TO REMOVE VOLATILE ODOUR COMPOUNDS FROM POULTRY MANURE

**Key words:** active microbiota, strain characteristics, volatile odorous compounds

### Summary

Morphological and physiological characteristics and enzymatic profile of microorganisms (*Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii*, *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas* sp., *Psychrobacter faecalis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Streptomyces violaceoruber*, *Candida inconspicua*) isolated from various environments – soil, silage and poultry manure – were analysed in this study. The strains are able to remove odorous compounds such as isobutyric acid, di-, trimethylamine and hydrogen sulphide from poultry manure. Studied microorganisms belonged to different morphological groups. They grow in a wide range of temperatures (from 10°C to 44°C), at various oxygen condition and are able to reduce many carbohydrates, proteins and other compounds, whose presence may contribute to the formation of odours. Studied microorganisms remove organic nitrogen from poultry manure. The effectiveness of the reduction of volatile odorous compounds from poultry manure was found to range from 11% to 52%, depending on tested compound and the strain of microorganism. Studied microorganisms were most efficient in the removal of isobutyric acid and the least active in trimethylamine removal.

**Adres do korespondencji:** K. Matusiak, Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, ul. Wólcząńska 171/173, 90-924 Łódź; tel. + 48 503-140-868, e-mail: Katarzyna.Durka@o2.pl