

OCENA EFEKTYWNOŚCI USUWANIA ZWIĄZKÓW ODOROWYCH Z KOMPOSTU PRZEZ AKTYWNE BAKTERIE

**Katarzyna DURKA¹⁾, Beata GUTAROWSKA¹⁾,
Katarzyna PIELECH-PRZYBYLSKA¹⁾, Sebastian BOROWSKI¹⁾,
Zbigniew IŻYNIĘC²⁾, Zbigniew PALUSZAK³⁾, Janusz HERMANN⁴⁾**

¹⁾ Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii

²⁾ Politechnika Łódzka, Instytut Chemicznej Technologii Żywności

³⁾ Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, Katedra Mikrobiologii

⁴⁾ Uniwersytet Technologiczno Przyrodniczy w Bydgoszczy, Katedra Chemii Środowiska

Słowa kluczowe: aktywne bakterie, biopreparat, kompost, odory, związki lotne

Streszczenie

W pracy opisano zdolność bakterii do usuwania odorów ze środowiska kompostu. Spośród 19 badanych drobnoustrojów wytypowano 6 szczepów najefektywniej usuwających lotne związki odorowe. Należały do nich: *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus delbrueckii*. Z powyższych mikroorganizmów stworzono aktywny biopreparat w postaci zawiesiny wodnej i liofilizatu. Zbadano eliminację związków odorowych z kompostu przez monokultury oraz zestaw drobnoustrojów metodą spektrofotometryczną (lotne kwasy tłuszczowe, siarczki) i GLC (kwas izomasłowy, siarkowódor, amoniak, dwumetyloaminę, trójmetyloaminę). Wykazano wysoki poziom eliminacji wszystkich badanych związków lotnych przez testowane monokultury (od 7,5 do 53,1%), niższy przez biopreparat w postaci zawiesiny płynnej (od 17,7 do 27,7%) oraz niski przez liofilizowany preparat (od 8,7 do 15,1% w przypadku dwu- i trójmetyloaminy oraz siarkowodoru). Stwierdzono, że biopreparat w formie zawiesiny płynnej może mieć zastosowanie do usuwania związków odorowych z kompostu.

WSTĘP

Priorytetowym czynnikiem oceny środowiska jest jakość powietrza [MICIŃSKA, 2007]. Oddychanie powietrzem zanieczyszczonym odorami niekorzystnie wpływa na zdrowie i zagraża życiu [FOROWICZ, 2007]. Odory są wskazywane przez społeczeństwo jako jedne z najbardziej dotkliwych uciążliwości [BORKOWSKA, NEUMANN, 2003]. Niezadowolenie społeczeństwa z powodu emisji przykrych zapachów ma związek z procesami naturalnymi oraz różnymi dziedzinami działalności człowieka, np. kompostowaniem [BŁASZCZYK, 2007]. Związki odorotwórcze są nieodłącznym elementem procesów, które zachodzą w środowisku naturalnym, a także w środowisku pracy. Ich emisja na skutek procesów naturalnych nie zagraża otoczeniu, natomiast w procesach, które realizuje człowiek, ilości tworzonych odorów są wielokrotnie większe niż możliwości regeneracyjne biosfery, a powstałe ich nadmiary doprowadzają do wywoływania zjawiska dyskomfortu bytowego człowieka [MAKLES, GALWAS-ZAKRZEWSKA, 2005]. Najlepszym sposobem ograniczenia uciążliwości zapachowej byłoby zlikwidowanie źródła emisji lub zapobieganie tej emisji. Jest to jednak trudne do zrealizowania.

Próba rozwiązania tego problemu, jakim jest ograniczenie emisji odorotwórczych gazów z kompostu, stała się celem prezentowanej pracy badawczej. Cel ten został zrealizowany poprzez sporządzenie preparatu, składającego się z bakterii efektywnie usuwających złozone związki zawarte w kompoście, takie jak: amoniak, dwumetyloamina, trójmetyloamina, siarkowodór oraz kwas izomasłowy.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

MIKROORGANIZMY

Wykorzystane w badaniach bakterie zostały wyizolowane z gleby (g), kompostu (k) oraz pomiotu kurzego (p) i oznaczone do gatunku: *Pseudomonas aeruginosa* (g), *Pseudomonas* sp. (g), *Pseudomonas fluorescens* (g), *Bacillus subtilis* (g), *Bacillus licheniformis* (g), *Corynebacterium glutamicum* (k), *Flavobacterium* sp. (k), *Achromobacter* sp. (g), *Aeromonas* sp. (g), *Lactobacillus brevis* (k), *Staphylococcus intermedius* (k), *Staphylococcus hominis* (k), *Staphylococcus lentus* (k), *Streptomyces* (g), *Micrococcus* ssp. (p), *Bacillus brevis* (p). Gatunki: *Leuconostoc mesenteroides*, *Bacillus megaterium* oraz *Lactobacillus delbrueckii* pochodziły z Kolekcji Czystych Kultur ŁOCK 105. W doświadczeniach zastosowano bakterie w postaci monokultur oraz zestawu, zwanego „biopreparatem”, w formie zawiesiny z liofilizatów monokultur i zawiesiny wodnej z hodowli. Ogólna liczba komórek w zawiesinach inokulacyjnych, stosowanych do kompostu, wynosiła zawsze $2,6-3,0 \cdot 10^9$ jtk \cdot cm $^{-3}$ (ustalano metodą hodowlaną).

FORMA DROBNOUSTROJÓW

Zawiesina wodna z hodowli. Hodowlę bakterii prowadzono na podłożu TSB metodą wgłębną w temperaturze 27°C przez 24 godziny. Następnie oddzielono komórki drobnoustrojów od podłoża (wirowanie $g = 8000$, 10 min) i zawieszono w sterylnej wodzie destylowanej.

Zawiesina wodna liofilizatu. Liofilizację przeprowadzono w czasie 24 godzin w następujących warunkach: suszenie główne (temperatura 40°C, ciśnienie 0,42 mBa), dosuszanie (temperatura 50°C, ciśnienie 0,5 mBa). Następnie odważono po 0,1 g liofilizatu każdej monokultury i sporządzono z nich zawiesinę w 300 cm³ sterylnej wody destylowanej.

USUWANIE ZWIĄZKÓW ODOROWYCH Z KOMPOSTU

Kompost użyty do badań pochodził z Miejskiej Kompostowni Łódzkiego Zakładu Usług Komunalnych i składał się z odpadów zielonych (trawa, liście oraz ściółka).

Skryning drobnoustrojów. Przeprowadzono skryningowe doświadczenie, które miało na celu określenie aktywności bakterii, biorących udział w usuwaniu związków lotnych obecnych w kompoście. Do hodowli bakterii użyto sterylnego podłoża, składającego się z 37 g kompostu, 4 g glukozy, uzupełnionego do 100 cm³ wodą destylowaną. Przygotowane podłoże zaszczepiono 1 cm³ zawiesiny inokulacyjnej testowanych drobnoustrojów i hodowano w warunkach wgłębnych (200 obr.·min.⁻¹) w temperaturze 25–30°C przez 21 dni. Próbkę do analizy pobierano co 2 dni. W kolejnych dobach hodowli pobierano próbki do oznaczenia ogólnej zawartości siarczków i lotnych kwasów tłuszczowych metodą spektrofotometryczną. Przeprowadzono również badania kontrolne na podłożu bez drobnoustrojów.

Metoda oznaczenia lotnych kwasów tłuszczowych polegała na estryfikacji obecnych kwasów karboksylowych i oznaczeniu estrów w reakcji z solą żelazową kwasu hydroksamowego. Wszystkie lotne kwasy organiczne były wyrażane jako odpowiednik CH₃COOH (mg·dm⁻³). Pomiary wykonano z użyciem spektrofotometru HACH DR/2000.

Do oznaczania ogólnej zawartości siarczków metodą spektrofotometryczną (HACH DR/2000) wykorzystywano powstawanie błękitu metylowego w reakcji siarkowodoru z N, N-dimetylo-p-fenyldiaminą w środowisku kwaśnym i w obecności dwuchromianu potasu. Intensywność zabarwienia powstałego błękitu metylowego była proporcjonalna do stężenia siarczków (mg·dm⁻³).

Po wykonaniu skryningowych badań spośród 19 badanych mikroorganizmów wybrano 6 najbardziej aktywnych szczepów bakterii w celu utworzenia zestawu mikroorganizmów zdolnych do usuwania związków odorowych ze środowiska kompostu: *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Bacillus megaterium*, *Staphylo-*

coccus lentus, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus delbrueckii*. Dalsze badania prowadzono z zastosowaniem wytypowanych szczepów.

OZNACZENIA ZWIĄZKÓW LOTNYCH

Metodą chromatografii gazowej (GLC) oznaczono za pomocą chromatografu Varian następujące związki lotne: siarkowodór, amoniak, kwas izomasłowy, dwumetyloaminę i trójmetyloaminę. Oznaczanie siarkowodoru i amoniaku przeprowadzono w następujących warunkach: detektor TDC, gaz nośny: hel $15 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, kolumna: Hayesep T $0,5 \text{ m} \cdot 13 \cdot 1,8''$, temperatura pracy: $40\text{--}90^\circ\text{C}$. Oznaczenie kwasu izomasłowego, dwumetyloaminy i trójmetyloaminy przeprowadzono w warunkach: detektor FID, gaz nośny: powietrze sprężone $30 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, wodór $30 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, azot $15 \text{ cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$, kolumna: Hayesep Q $0,5 \cdot 13 \cdot 1,8''$, temperatura pracy: $60\text{--}140^\circ\text{C}$. Krzywe wzorcowe wykonano na wyżej wymienionych kolumnach. Otrzymało je, wprowadzając roztwory badanych związków do dwusiarczku węgla.

STANOWISKO BADAWCZE

W procesie usuwania związków odorowych wykorzystano stworzone stanowisko badawcze, składające się z 2 komór, w których umieszczano kompost. Zawartość pierwszej komory stanowiła próbkę kontrolną (tylko kompost, bez dodatku zawiesiny mikroorganizmów), natomiast w kolejnej komorze umieszczano kompost, który – w zależności od przeprowadzanego eksperymentu – zalewano wodną zawiesiną liofilizatów lub zawiesiną hodowlaną drobnoustrojów. Natlenienie kontrolowano za pomocą zainstalowanego rotametu i pompy membranowej (analyzer TSI CA-Calc 6000), utrzymując je na stałym poziomie ($2 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$). Gazy odorowe, zmieszane z doprowadzonym powietrzem, były odprowadzane do przewodów wentylacyjnych.

POBIERANIE PRÓBEK DO ANALIZY GAZÓW

Pobieranie próbki polegało na przepuszczaniu powietrza przez szklane biurety gazowe o pojemności $0,5 \text{ dm}^3$ każda w czasie 15 minut. Proces usuwania związków odorowych z pomiotu kurzego przez drobnoustroje prowadzono przez 4 doby. Analizy metodą GLC dokonano w momencie startu, 2. i 4. dobie.

OBLICZENIA

Obliczono procent eliminacji związków odorowych w kolejnych dobach procesu w próbkach właściwych i kontrolnych dla danego drobnoustroju wg wzoru:

$$R = 100 - \frac{C}{C_0} \cdot 100$$

gdzie:

- R – rzeczywista eliminacja związków lotnych, %;
- C – stężenie związku odorowego w poszczególnych dobach procesu w próbkach właściwych lub kontrolnych;
- C_0 – stężenie związku w czasie „0” w próbce właściwej lub kontrolnej.

Rzeczywisty procent eliminacji związków odorowych obliczono na podstawie różnicy procentowej w próbce właściwej i próbce kontrolnej.

WYNIKI BADAŃ

Badania skryningowe, prowadzone metodą spektrofotometryczną, wykazały brak aktywności testowanych bakterii w usuwaniu siarczków z podłoża zawierającego kompost. Stwierdzono, że zawartość tych związków w trakcie hodowli na podłożu z dodatkiem kompostu zwiększała się w miarę upływu czasu i była na wyższym poziomie niż w próbce kontrolnej bez drobnoustrojów. Aktywność badanych bakterii w usuwaniu kwasów lotnych z podłoża zawierającego kompost przedstawiono w tabeli 1. Wszystkie testowane drobnoustroje miały zdolność do eliminacji lotnych kwasów tłuszczowych z podłoża, zawierającego kompost, na poziomie od 7 do 52%. Maksymalną eliminację kwasów lotnych z podłoża z dodatkiem kompostu stwierdzono między 6. a 8. dniem hodowli, 3 szczepy usuwały kwasy lotne dopiero w 21. dobie hodowli. Najwyższą aktywność w usuwaniu lotnych kwasów tłuszczowych w środowisku kompostu wykazały bakterie: *Pseudomonas* sp. (52,3%), *Flavobacterium* sp. (44,3%), *Bacillus megaterium* (40,3%), *Staphylococcus lentus* (40,3%), *Bacillus licheniformis* (39,9%), *Lactobacillus delbrueckii* (37,6%). Dalszym badaniom poddano wybrane monokultury mikroorganizmów i prowadzono je przez krótszy czas (do 4. doby).

Analizowano zmiany stężenia związków odorowych w kompoście, mierzone metodą GLC, oraz maksymalny stopień eliminacji związków z udziałem najbardziej aktywnej mikroflory (na podstawie badań metodą spektrofotometryczną – tab. 2). Na podstawie uzyskanych wyników stężenia obliczono rzeczywisty stopień eliminacji związków odorowych po 2. i 4. dobie procesu. W każdym przypadku stosowania monokultur bakterii odnotowano zmniejszenie stężenia lotnych związków odorowych w kompoście. Zaobserwowano, że drobnoustroje najlepiej usuwały dwumetyloaminę (na poziomie 15–53%). Najlepiej usuwały dwumetyloaminę z kompostu szczepy *Lactobacillus delbrueckii* (53,1%) i *Pseudomonas* sp. (39,8%). Najgorsze efekty w usuwaniu dwumetyloaminy z kompostu uzyskano po zastosowaniu szczepu *Flavobacterium* sp. (15,5%). Trójmetyloamina była eliminowana na poziomie 14–48%, podobnie jak siarkowodór (15–48%). Najlepsze efekty w usu-

Tabela 1. Aktywność drobnoustrojów w usuwaniu lotnych kwasów tłuszczowych z podłoża zawierającego kompost – badania metodą spektrofotometryczną

Table 1. Reduction of volatile fatty acids by various microorganisms in compost – spectrophotometric method

Bakterie Bacteria	Doba hodowli ¹⁾ Day of bacterial culture ¹⁾	Rzeczywista maksymalna eliminacja lotnych kwasów tłuszczowych ²⁾ , % Real maximum elimination of volatile fatty acids ²⁾ , %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	26,5
<i>Pseudomonas sp.</i>	8	52,3
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	13	32,1
<i>Bacillus subtilis</i>	6	8,8
<i>Bacillus licheniformis</i>	13	39,9
<i>Bacillus megaterium</i>	21	40,3
<i>Corynebacterium sp.</i>	6	30,4
<i>Flavobacterium sp.</i>	13	44,3
<i>Achromobacter sp.</i>	13	20,1
<i>Aeromonans sp.</i>	13	20,3
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	8	27,0
<i>Lactobacillus brevis</i>	8	21,3
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	8	37,6
<i>Staphylococcus intermedius</i>	8	7,2
<i>Staphylococcus hominis</i>	6	17,2
<i>Staphylococcus lentus</i>	6	40,3
<i>Streptomyces</i>	21	16,9
<i>Micrococcus ssp.</i>	21	19,3
<i>Bacillus brevis</i>	21	8,0

¹⁾ Doba, w której eliminacja lotnych kwasów tłuszczowych osiągnęła maksimum.

²⁾ Obliczona na podstawie średniego stężenia odoranta w próbce.

¹⁾ Day of maximum elimination of volatile fatty acids.

²⁾ Calculated from average odorant concentration.

waniu tego związku z kompostu stwierdzono w przypadku stosowania szczepów *Lactobacillus delbrueckii* (48,3%), *Pseudomonas sp.* (37,8%), a najgorsze, gdy stosowano *Flavobacterium sp.* (14,4%). Wyniki wskazują, że siarkowodór został najefektywniej usunięty przez *Pseudomonas sp.* (48,4%). Dobrze usuwały ten związek również szczepy *Lactobacillus delbrueckii* (38,2%) oraz *Bacillus licheniformis* (35,6%). Kwas izomasłowy po 2. dobie był usuwany w 7,5–40,6%. Stopień jego eliminacji określono po 2. dobie prowadzenia procesu, ponieważ w 4. dobie jego stężenie było zbyt małe – poniżej granicy wyczuwalności metody. Najwyższy rzeczywisty stopień eliminacji kwasu izomasłowego w kompoście zaobserwowano w przypadku stosowania *Pseudomonas sp.* (40,6%) oraz *Lactobacillus delbrueckii* (28,6%). Najniższą aktywność w usuwaniu kwasu izomasłowego wykazała monokultura *Flavobacterium sp.* (7,5%).

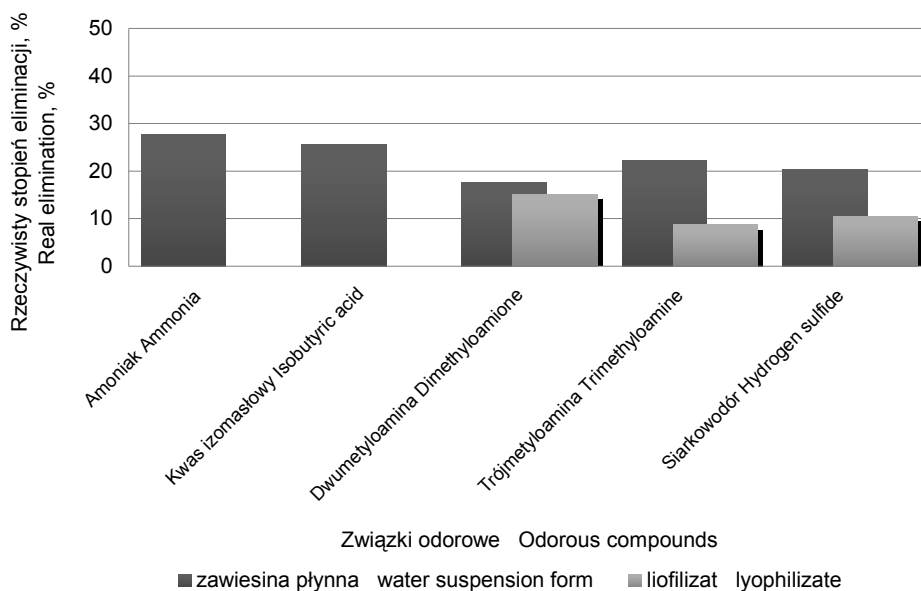
Tabela 2. Eliminacja związków odorowych z kompostu w wyniku aktywności wybranych drobnoustrojów – mierzona metodą GLC
Table 2. Reduction of volatile odorous compounds by various microorganisms in compost – GLC method

Bakterie Bacteria	Siarkowodor Hydrogen sulfide		Kwas izomasłowy Isobutyric acid		Dwumetyloamina Dimethylamine		Trójmetyloamina Trimethylamine	
	średnie stężenie siarkowodoru po 4. dobie prowadzenia procesu, mg·m ⁻³ mean hydrogen sulfide concentration after 4 days of process, mg·m ⁻³	rzeczywisty stopień eliminacji siarkowodoru, % real elimination of hydrogen sulfide, %	średnie stężenie kwasu izomasłowego po 2. dobie prowadzenia procesu ¹⁾ , μg·m ⁻³ mean isobutyric acid concentration after 2 days of process ¹⁾ , μg·m ⁻³	rzeczywisty stopień eliminacji kwasu izomasłowego, % real elimination of isobutyric acid, %	średnie stężenie dwumetyloaminy po 4. dobie prowadzenia procesu, μg·m ⁻¹ mean dimethylamine concentration after 4 days of process, μg·m ⁻¹	rzeczywisty stopień eliminacji dwumetyloaminy, % real elimination of dimethylamine, %	średnie stężenie trójmetyloaminy po 4. dobie prowadzenia procesu, μg·m ⁻³ mean trimethylamine concentration after 4 days of process, μg·m ⁻³	rzeczywisty stopień eliminacji trójmetyloaminy, % real elimination of trimethylamine, %
<i>Bacillus licheniformis</i>	0,8±0,35	35,6	5,7±0,53	13,5	1,3±0,42	23,4	2,7±0,59	31,3
<i>Bacillus megaterium</i>	1,6±0,35	15,3	5,3±0,53	19,6	1,5±0,42	19,9	3,4±0,59	22,2
<i>Flavobacterium</i> sp.	1,3±0,35	20,4	4,1±0,53	7,5	2,4±0,42	15,5	4,1±0,59	14,4
<i>Pseudomonas</i> sp.	0,3±0,35	48,4	3,9±0,53	40,6	0,6±0,42	39,8	2,2±0,59	37,9
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	0,6±0,35	38,2	2,7±0,53	28,6	0,7±0,42	53,1	1,5±0,59	48,3
<i>Staphylococcus lentus</i>	1,1±0,35	25,5	3,9±0,53	10,5	1,6±0,42	33,2	3,2±0,59	26,1

¹⁾ Stężenie kwasu izomasłowego w 4. dobie poniżej granicy wyczuwalności metody.

²⁾ Isobutyric acid concentration after 4 days of process below sensitivity limit.

Porównano skuteczność usuwania badanych związków odorowych z kompostu przez aktywny zestaw bakterii w postaci zawiesiny wodnej z hodowli oraz zawiesiny wodnej z liofilizatu (rys. 1). Skuteczniejszy okazał się zestaw bakterii w postaci zawiesiny wodnej z hodowli w stosunku do amoniaku (27,8%) i kwasu izomasłowego (25,6%). Dwumetyloaminę i trójmetyloaminę ten zestaw usuwał na poziomie 17,7–22,2%, natomiast siarkowodór – 20,4%. Zestaw mikroorganizmów w postaci liofilizatu lepiej eliminował dwumetyloaminę (15,1%), siarkowodór (10,5%) i trójmetyloaminę (8,7%). Na skutek zmniejszenia stężenia amoniaku i kwasu izomasłowego poniżej czułości metody nie obliczono skuteczności eliminacji tych związków.



Rys. 1. Eliminacja badanych związków odorowych w kompoście z zastosowaniem różnych preparatów mikrobiologicznych (stężenie amoniaku i kwasu izomasłowego traktowanych preparatem liofilizowanym zmniejszyło się poniżej czułości metody)

Fig. 1. Reduction of volatile odorous compounds in compost using various biopreparations (ammonia and isobutyric acid concentration in lyophilizate form dropped below sensitivity limit)

DYSKUSJA WYNIKÓW

Proces biologicznej neutralizacji odorów polega na ich utlenieniu przez bakterie zasiedlające odpowiednio przygotowane złożo [KOŚMIDER i in., 2002; ŚWI-SŁOWSKI, 2004]. Metoda ta bazuje na absorpcji szkodliwych składników gazów w roztworach wodnych i dalszej ich degradacji do CO₂, H₂O i związków mineralnych w wyniku działalności mikroorganizmów. Metoda biologiczna umożliwia

usunięcie głównie: siarkowodoru, amoniaku i substancji organicznych (aldehydy, ketony, niższe kwasy tłuszczowe, aminy, związki aromatyczne, związki siarki) [BURGESS i in., 2001; Podstawy..., 2007]. Coraz większe zainteresowanie zyskują metody biologicznego usuwania związków odorowych ze środowisk naturalnych, głównie odpadów organicznych. Wynika to z ich dużej skuteczności, opłacalności oraz małego zapotrzebowania na energię [RAPPERT, 2005; TSANG i in., 2008]. Koszty inwestycji i prowadzenia procesów biologicznego oczyszczania gazów są nieporównywalnie niższe od stosowania metod fizycznych czy chemicznych [KULIG, 2005; SCHLEGELMILCH i in., 2005]. Uważa się, że metody biologiczne są najlepszym sposobem oczyszczania powietrza i gazów lotnych, zawierających niewielkie ilości zanieczyszczeń o niskich progach węchowej wyczuwalności [KOSMIDER i in., 2002].

Procesowi kompostowania towarzyszy zarówno emisja produktów niepełnego utleniania biomasy, jak i licznie występujących reakcji wtórnych. Wiele z substancji gazowych i ciekłych, powstających podczas kompostowania, ze względu na swój fizykochemiczny charakter, należy do grupy odorantów. Można wśród nich wymienić kwasy tłuszczowe, alkohol amyłowy, aldehydy, ketony, związki azotu, związki siarki oraz związki nieorganiczne, a wśród nich amoniak i siarkowodor [BŁASZCZYK, 2007].

W prezentowanej pracy przedstawiono badania, mające na celu ocenę aktywności wyselekcjonowanych bakterii w usuwaniu związków odorowych, zawartych w kompoście. Na podstawie badań skryningowych stwierdzono, że proces usuwania związków odorowych zależy od rodzaju drobnoustroju – skuteczność usuwania tych związków wynosiła od 7,2 do 52,3%. BŁASZCZYK [2007] również stwierdził, że rodzaj usuwanych zanieczyszczeń odorowych rzutował na selekcję poszczególnych grup drobnoustrojów w rozkładzie tych związków. Wymienił promieniowce i grzyby jako organizmy aktywne w tym procesie. Zgodnie z badaniami wstępnymi, prowadzonymi przez autorów niniejszej pracy, wyeliminowano grzyby strzępkowe z kolejnych eksperymentów, ponieważ okazały się mikroflorą działającą antagonistycznie wobec większości bakterii [GUTAROWSKA i in., 2009]. Badany promieniowiec (*Streptomyces* sp.) wykazał natomiast aktywność w usuwaniu lotnych kwasów tłuszczowych na poziomie 16,9%, nie była to wysoka skuteczność, dlatego do kolejnego etapu badań wybrano inne szczepy bakterii. Największą efektywność w usuwaniu związków odorowych (lotnych kwasów tłuszczowych) na podstawie badań skryningowych wykazały bakterie: *Pseudomonas* sp. (52,3%), *Flavobacterium* sp. (44,3%), *Bacillus megaterium* (40,3%), *Staphylococcus lentus* (40,3%), *Bacillus licheniformis* (39,9%) i *Lactobacillus delbrueckii* (37,6%).

Na podstawie badań szczegółowych metodą GLC w środowisku kompostu stwierdzono, że monokultury bakterii aktywnie usuwały takie związki odorowe, jak: siarkowodor, kwas izomasłowy, dimetyloamina czy trimetyloamina.

W prezentowanych badaniach szczepy z rodzaju *Bacillus* (*B. licheniformis* i *B. megaterium*) efektywnie usuwały kwas izomasłowy w 13,5–19,6%, najlepsze

wyniki w usuwaniu tego kwasu uzyskano, stosując bakterie *Pseudomonas* sp. (40,6%), również wysoką efektywność w usuwaniu kwasu izomasłowego miały szczepy *L. delbrueckii* (28,6%) i *S. lentus* (10,5%). Według HANAJIMA i in. [2008], bakterie *Bacillus subtilis* są dominującym przedstawicielem bakterii zdolnych do usuwania lotnych kwasów tłuszczowych. Prowadząc 6-dniowe badania nad zdolnością tych mikroorganizmów do usuwania organicznych związków z obornika świńskiego, ww. autorzy stwierdzili, że stężenie lotnych kwasów tłuszczowych zmniejszało się już po 4 dniach procesu degradacji. W badaniach prezentowanych w niniejszej pracy aktywność bakterii w usuwaniu odoranta stwierdzono już w 2. dobie trwania procesu.

Do usuwania związków siarki z wielu gałęzi przemysłu, takich jak: hodowla zwierząt, utylizacja ścieków czy kompostowanie, zastosowanie znalazły różne mikroorganizmy, m.in. *Thiobacillus*, *Acidithiobacillus* i *Hyphomicrobium*. Zwykle w bioreaktorach wykorzystuje się bakterie *Acidithiobacillus thiooxidans* [SERCU i in., 2005]. Mikroorganizmy takie, jak: *Pseudoxanthomonas*, *Dechlorosoma*, *Desulfotribrio*, *Agrobacterium*, *Methylocapsa*, *Rhodococcus*, *Sulfobacillus* mają zdolność do degradacji związków siarczanowych [MORALES i in., 2005]. Także bakterie tlenowe z rodzaju *Pseudomonas* są zdolne do usuwania siarkowodoru i organicznych związków siarki [SERCU i in., 2005]. Nasze badania skryningowe, prowadzone metodą spektrofotometryczną, wykazały brak aktywności testowanych bakterii w usuwaniu siarczków z podłoża zawierającego kompost. Stosując bardziej dokładną metodę GLC, stwierdzono natomiast, że wszystkie testowane bakterie zmniejszają zawartość siarkowodoru w kompoście w trakcie hodowli. Szczepy bakterii *Pseudomonas* sp. oraz *Lactobacillus delbrueckii* najefektywniej usuwały siarkowodor na poziomie 48 i 38%.

W badaniach prezentowanych w tej pracy udowodniono, że najbardziej efektywne w usuwaniu dimetyloaminy są szczepy: *Lactobacillus delbrueckii* (53,1%), *Pseudomonas* sp. (39,8%) i *Staphylococcus lentus* (33,2%). SHIRKOT [1994] usuwał dimetyloaminę z wykorzystaniem szczepów *Pseudomonas* sp. W realizowanych przez autorów tej pracy badaniach opisano działanie szczepu *Pseudomonas* sp., zdolnego do usuwania dimetyloaminy z wysoką efektywnością – na poziomie 39,8%. Związek ten był usuwany również przez MYERSA i ZATMANNA [1971] oraz COLBIEGO i ZATMANNA [1975] z użyciem szczepów *Bacillus* sp. W prezentowanych doświadczeniach wykorzystano bakterie z rodzaju *B. licheniformis* oraz *B. megaterium*. Gatunki te wykazały aktywność w usuwaniu dimetyloaminy na poziomie 19,9–24,0%.

Priorytetem prowadzonych badań było sporządzenie preparatu, składającego się z bakterii efektywnie usuwających złozone związki, jak: siarkowodor, lotne kwasy tłuszczowe, dwumetyloamina, trójmetyloamina oraz amoniak, zawarte w kompoście. Preparat w postaci zawiesiny wodnej, sporządzony z sześciu najbardziej aktywnych drobnoustrojów, wykazywał aktywność w usuwaniu wszystkich badanych związków odorowych na poziomie 17–28%, nawet amoniaku (28%),

czego nie stwierdzono w badaniach z użyciem poszczególnych monokultur. Mniejszą skuteczność – od 9 do 15% oraz mniejszy zakres działania miał preparat w postaci liofilizatu. Uzyskane wyniki potwierdzają możliwość stosowania zestawu aktywnych drobnoustrojów w postaci zawiesiny wodnej do usuwania odorowych związków lotnych z kompostu.

PODSUMOWANIE

Badania skryningowe, prowadzone metodą spektrofotometryczną, wykazały wysoką aktywność w usuwaniu lotnych kwasów tłuszczowych przez 6 monokultur bakterii: *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus delbrueckii*.

W podłożu z dodatkiem kompostu wybrane szczepy usuwały kwasy lotne w 38–52%, nie usuwały natomiast siarczków. W szczegółowej analizie metodą GLC wykazano, że wybrane szczepy w środowisku kompostu eliminowały kwas izomasłowy na niższym poziomie – od 7,5 do 40%. Stwierdzono ponadto, że wybrane bakterie usuwają inne związki lotne, takie jak: trójmetyloaminę (w 14–48%), dwumetyloaminę (15–53%) i siarkowodór (15–48%). Przygotowano zestaw bakterii do usuwania związków odorowych z kompostu w postaci zawiesiny wodnej z hodowli i zawiesiny wodnej z liofilizatu. W usuwaniu związków lotnych wykazano większą aktywność preparatu w postaci zawiesiny płynnej. Zestaw bakterii w postaci płynnej eliminował amoniak w 27,8%, kwas izomasłowy – w 25,6%, dwumetyloaminę – w 17,7%, trójmetyloaminę – w 22,2%, a siarkowodór – w 20,4%. Zestaw bakterii w postaci liofilizatu zmniejszył ilość dwumetyloaminy (15,1%), siarkowodoru (10,5%) i trójmetyloaminy (8,7%), a stężenie amoniaku i kwasu izomasłowego zmniejszyło się poniżej czułości metody.

LITERATURA

- BŁASZCZYK M.K., 2007. Mikrobiologiczna dezodoryzacja emisji bioprzemysłowych i przemysłowych. Mikroorganizmy w ochronie środowiska. Warszawa: Wydaw. Nauk. PWN ss. 196.
- BORKOWSKA I., NEUMANN M., 2003. Określenie wielkości i zasięgu odorotwórczego oddziaływania na przykładzie wybranych źródeł zanieczyszczeń powietrza. Ochrona Powietrza i Problemy Odpadów 37 1–2 s. 15–16.
- BURGESS J., PARSON S., STUETZ R., 2001. Developments in odour control and waste gas treatment biotechnology: a review. Biotechnology Advances vol. 19 s. 35–63.
- COLBY J., ZATMANN L.J., 1975. Tricarboxylic acid-cycle and related enzymes in restrictive facultative methylotrophs. Biochemical Journal 148 s. 505–511.
- FOROWICZ K., 2007. Złowne gazy czyli odory. Środowisko 7 s. 33–35.
- GUTAROWSKA B., BOROWSKI S., DURKA K., KORCZYŃSKI M., KOŁACZ R., 2009. Selekcja drobnoustrojów zdolnych do usuwania związków odorowych z pomiotu kurzego. Przemysł Chemiczny 5 s. 2–7.

- HANAJIMA D., HARUTA S., HORI T., ISHII M., HAGA K., IGARASHI Y., 2008. Bacterial community dynamics during reduction of odorous compounds in aerated pig manure slurry. *Journal of Applied Microbiology* 106 s. 118–129.
- KOŚMIDER J., MAZUR-CHRZANOWSKA B., WYSZYŃSKI B., 2002. *Odory*. Warszawa: Wydaw. Nauk. PWN ss. 302.
- KULIG A., 2005. Aktualne zagadnienia w ocenach oddziaływania na otoczenie obiektów gospodarki ściekowej. Cz. 1. Ocena oddziaływań substancji zapachowych. *Inżynieria Środowiska* 2.
- MAKLES Z., GALWAS-ZAKRZEWSKA M., 2005. Złowne gazy w środowisku pracy. *Bezpieczeństwo Pracy* 9 s. 12–16.
- MICIŃSKA M., 2007. *Odory – kontrowersje wokół nowej regulacji prawnej*. *Środowisko* 14 s. 15–17.
- MORALES T.A., DOPSON M., ATHAR R., HERBERT R.B. JR., 2005. Analysis of bacterial diversity in acidic pond water and compost after treatment of artificial acid mine drainage for metal removal. *Biotechnology and Bioengineering* 90 s. 543–551.
- MYERS P.A., ZATMANN L.J., 1971. The metabolism of trimethylamine N-oxide by *Bacillus* PM6. *Biochemical Journal* 121 s. 10.
- Podstawy biotechnologii przemysłowej, 2007. Pr. zbior. Red. W. Bednarski, J. Fiedurek. Warszawa: WNT ss. 530.
- RAPPERT S., MÜLLER R., 2005. Microbial degradation of selected odor substances. *Waste Management* 25 s. 940–954.
- SCHLEGELMILCH M., STRESE J., STEGMANN R., 2005. Odor management and treatment: An overview. *Waste Management* 25 s. 928–939.
- SERCU B., NUNEZ D., VAN LANGENHOVE H., AROCA G., VERSTRAETE W., 2005. Operational and microbiological aspects of bioaugmented two-stage biotrickling filter removing hydrogen sulfide and dimethyl sulfide. *Biotechnology and Bioengineering* 90 s. 259–269.
- SHIRKOT C.K., SHIRKOT P., GUPTA K.G., 1994. Isolation from soil and growth characteristics of the tetramethylthiuram disulfide (TMTD) degrading strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Environmental Science and Health* 29 s. 605–614.
- ŚWISŁOWSKI M., 2004. Biofiltracja powietrza – skuteczny i tani sposób na eliminację odorów. *Forum Eksploatatora* 3–4 s. 17–18.
- TSANG Y.F., CHUA H., SIN S.N., CHAN S.Y., 2008. Treatment of odorous volatile fatty acids using a biotrickling filter. *Bioresource Technology* 99 s. 589–595.

*Katarzyna DURKA, Beata GUTAROWSKA, Katarzyna PIELECH-PRZYBYLSKA,
Sebastian BOROWSKI, Zbigniew IŻYNIĘC, Zbigniew PALUSZAK, Janusz HERMANN*

EFFECTIVENESS OF THE REMOVAL OF VOLATILE ODOROUS COMPOUNDS BY ACTIVE BACTERIA

Key words: active microorganisms, biopreparation, compost, odorous substances, volatile compounds

S u m m a r y

In this study the ability of microorganisms to remove selected odorous substances from compost was investigated. Six strains out of 19 selected bacteria were capable to remove volatile odorous substances: *Pseudomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Bacillus megaterium*, *Staphylococcus lentus*, *Bacillus licheniformis*, *Lactobacillus delbrueckii*. These organisms were then used to create biopreparation in a form of water suspension and lyophilizate. Spectrophotometric analysis was performed to calculate

the reduction of volatile fatty acids and sulfides. Moreover, di- and trimethylamine, ammonia, isobutyric acid and hydrogen sulfide were determined by chromatographic methods (GLC). All investigated odorous compounds were successfully (7.5–53.1%) reduced by monocultures of selected microorganisms. The biopreparations were less effective than monocultures as only 17.7–27.7% and 8.7–15.1% reduction by liquid suspension and lyophilizate, respectively, was noted. It was concluded that biopreparation in the form of suspension can be potentially applied for the removal of volatile odorous compounds from compost.

Recenzenci:

dr inż. Krzysztof Frączek

prof. dr hab. Stefan Russel

Praca wpłynęła do Redakcji 16.09.2009 r.