

ESTIMATION OF THE INACTIVATION RATE OF PATHOGENIC BACTERIA IN SEWAGE SLUDGE GIVEN THE COMPOSTING PROCESS IN CYBERNETIC BIOREACTOR

Summary

The paper presents microbiological characteristics of the sewage sludge from the sewage treatment plant, in controlled conditions with biowastes (straw, sawdust, bark, hemp). In experiment the material was mixed in the appropriate weight proportions and located in bioreactor chambers with the constant air flow. The performed composting process aimed at the determination of the development dynamics and survival of pathogenic microorganism in sewage sludge, composed with different additions in a cybernetic bioreactor. Compost samples were taken for laboratory analysis with reference to the same temperature value. Microbiological analyses were carried out on selective medium using the plate method, and the number of pathogenic bacteria from the *Salmonella* genus, the *Clostridium perfringens* and the *Enterobacteriaceae* family were determined. In additions, egg of *Ascaris* spp., *Trichuris* spp., *Toxocara* spp., parasites were isolated using the floatation method. The results of both experiments have shown, that sewage sludge did not contain bacteria from *Salmonella* genus and ATT parasite eggs. The composting process entirely reduced the number of the *Enterobacteriaceae* bacteria, however it didn't contribute to the total elimination of the *Clostridium perfringens* bacteria. On the basis of presented analysis it was shown that reduction of the studies groups microorganisms was connected with temperature increase in all composts and it was shifted in time. The composts 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.

OKREŚLANIE TEMPA INAKTYWACJI BAKTERII CHOROBTWÓRCZYCH W OSADACH ŚCIEKOWYCH PODDAWANYCH PROCESOWI KOMPOSTOWANIA Z RÓŻNYMI DODATKAMI W BIOREAKTORZE CYBERNETYCZNYM

Streszczenie

Praca przedstawia charakterystykę mikrobiologiczną osadu ściekowego kompostowanego w warunkach kontrolowanych wraz z bioodpadami (słoma, trociny, kora, konopie). Przeprowadzono doświadczenie, w którym wymieszano materiał w odpowiednim stosunku wagowym, a następnie umieszczono w komorach bioreaktora o stałym przepływie powietrza. Przeprowadzony proces kompostowania miał na celu określenie dynamiki rozwoju oraz przeżywalności drobnoustrojów chorobotwórczych w osadzie ściekowym kompostowanym z różnymi dodatkami w cybernetycznym bioreaktorze. Próbkę kompostu pobierano do analizy laboratoryjnej, w odniesieniu do tej samej wartości temperaturowej. Analizy mikrobiologiczne przeprowadzono na wybiórczych podłożach, metodą płytkową, oznaczając liczebność bakterii chorobotwórczych z rodzaju *Salmonella*, *Clostridium perfringens*, jak również z rodziny *Enterobacteriaceae*. W doświadczeniach oznaczano również metodą flotacyjną obecność żywych jaj pasożytów jelitowych *Ascaris* spp., *Trichuris* spp., *Toxocara* spp.. Uzyskane rezultaty badań wykazały, że osad ściekowy nie zawierał bakterii *Salmonella* spp. oraz żywych jaj pasożytów jelitowych ATT. Proces kompostowania całkowicie zredukował liczebność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, natomiast nie przyczynił się do eliminacji bakterii *Clostridium perfringens*. Na podstawie uzyskanych wyników badań stwierdzono, że redukcja badanych grup mikroorganizmów we wszystkich kompostach następowała wraz ze wzrostem temperatury i była przesunięta w czasie. Uzyskane komposty spełniały normy sanitarne, zgodne z Przepisem 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 oraz zgodne z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi dla nawozów organicznych (2007).

1. Wstęp

Podczas oczyszczania ścieków w oczyszczalniach powstają znaczne ilości osadów ściekowych. Stanowią one różnorodną mieszaninę mikroorganizmów żywych i martwych oraz składników organicznych i mineralnych. Składniki organiczne stanowią mogą nawet 50% masy odwodnionych osadów. Głównie są to węglowodany, białka i tłuszcze [21]. Biorąc pod uwagę właściwości

sanitarne osadów ściekowych można stwierdzić, że mogą one być materiałem niebezpiecznym. Osady zawierają często bowiem bakterie chorobotwórcze, głównie *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium perfringens*. Oprócz bakterii osady mogą posiadać także robaki pasożytnicze, takie jak *Ascaris* spp., *Trichuris* spp., *Toxocara* spp. [9, 15, 22].

Jedną z metod ich utylizacji jest rolnicze wykorzystanie osadów ściekowych [10, 24]. Żeby jednak osady mogły być w ten sposób wykorzystane, muszą spełniać określone normy, ustanowione m.in. w Rozporządzeniu Ministra Środowiska i Rozwoju Wsi z dnia 19 października 2004 [20]. W powyższym dokumencie określone są dopuszczalne w osadach ilości organizmów chorobotwórczych oraz metali ciężkich.

Jedną z najważniejszych metod zagospodarowania osadów ściekowych, będącą formą przyrodniczego wykorzystania, a zarazem skuteczną metodą unieszkodliwiania osadów, jest poddanie ich procesowi kompostowania [7, 26]. Jest to proces przetwarzania substancji w kontrolowanych warunkach w obecności tlenu (powietrza), w odpowiedniej temperaturze i wilgotności. Proces prowadzony jest przez liczne mikroorganizmy. Finalnym produktem kompostowania jest kompost, będący cennym nawozem organicznym, zawierającym próchnicę oraz mikroelementy [6, 23]. Dobrze przygotowany kompost jest wolny od drobnoustrojów chorobotwórczych i metali ciężkich, może więc być wykorzystany rolniczo.

Celem planowanych badań było określenie dynamiki rozwoju oraz przeżywalności drobnoustrojów chorobotwórczych w zależności od rodzaju strukturotwórczych dodatków (słoma, trociny, kora, konopie) kompostowanych wraz z osadem ściekowym w cybernetycznym bioreaktorze.

2. Materiał i metody

Doświadczenie założono w warunkach laboratoryjnych w 2007 roku. Badania zostały przeprowadzone w czterech bioreaktorach o pojemności 125 dm³, charakteryzujących się oprzyrządowaniem w czujniki elektroniczne do stałej rejestracji niektórych parametrów procesu (temperatury, dwutlenku węgla, metanu, amoniaku i tlenu). Materiały do badań zostały dokładnie wymieszane w pojemniku.

Stosunek wagowy bioodpadów ustalono, w zależności od ich suchej masy. Mikrobiologiczną oraz chemiczną analizę zastosowanych w doświadczeniu bioodpadów przedstawiono w tab. 1 i 2.

Materiał w bioreaktorach kompostowano przez 2686 h, próbki do badań mikrobiologicznych pobierano ze wszystkich komór jednocześnie, w zależności od temperatury panującej w kompostach. Założono, że próbki materiałów pobierane będą z bioreaktorów w zakresach temperatur odpowiadających kolejnym fazom kompostowania, tj. faza psychrofilna, mezofilna, termofilna, schładzania i dojrzewania kompostu.

Na mikrobiologicznych podłożach wybiórczych, metodą płytkową oznaczano liczebność jednostek tworzących kolonie (jtk) bakterii z rodzaju *Salmonella*, gatunku *Clostridium perfringens* oraz z rodziny *Enterobacteriaceae*.

Salmonella ssp. oznaczano na podłożu XLT 4 firmy Merck po 18-24 godzinach w temperaturze 35°C [2]. W celu upewnienia się, że są to bakterie z rodzaju *Salmonella* ssp. postępowano zgodnie z Polską Normą PN-Z-19000-1 wykonując identyfikację potwierdzającą [19].

Clostridium perfringens oznaczano na podłożu agar TSC z tryptozą, siarczanem i cykloseryną, inkubując płytki w termostacie o 22% zawartości CO₂, w temperaturze 44°C przez 24 godziny [1]. W celu oznaczenia liczebności bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* posłużono się wybiórczym podłożem firmy Merck. Płytki inkubowano w temperaturze 37°C przez 24 godziny [16]. Ponadto, podjęto próby izolowania metodą flotacyjną z zastosowanego w doświadczeniu osadu ściekowego jaj pasożytów z rodzaju: *Ascaris* ssp., *Trichuris* ssp. i *Toxocara* ssp. [9].

Zastosowane w doświadczeniu analizy statystyczne, polegające na obliczeniu średniej liczby drobnoustrojów w danym kompoście i terminie analiz, odchylenia standardowego oraz NIR przeprowadzono w oparciu o program Statistica 8.0.

Tab. 1. Liczebność drobnoustrojów (jtk·g⁻¹ s.m.) oraz jaj helmintów (szt.·kg⁻¹ s.m.) w bioodpadach zastosowanych w doświadczeniu

Tab. 1. The number of microorganisms (cfu·g⁻¹ d.m.) and helminth eggs (piece kg⁻¹ d.m.) in biowastes used in experiment

Materiał wyjściowy <i>Initial material</i>	<i>Salmonella</i> ssp.		<i>Enterobacteriaceae</i>		<i>Clostridium perfringens</i>	
	jtk cfu	odch. stand. SD	jtk cfu	odch. stand. SD	jtk cfu	odch. stand. SD
Osad / <i>sewage sludge</i>	0	0	84,65 10 ⁵	6,00	95, 00 10 ³	51,79
Słoma / <i>straw</i>	0	0	0,00	0,00	0,00	0,00
Trociny / <i>sawdust</i>	0	0	0,25 10 ⁵	0,002	0,00	0,00
Kora / <i>bark</i>	0	0	3,54 10 ⁵	0,16	0,10 10 ³	0,02
Konopie / <i>hemp</i>	0	0	8,05 10 ⁵	0,60	0,40 10 ³	0,55
Komora / <i>Chamber</i>	<i>Ascaris</i> ssp.		<i>Trichuris</i> ssp.		<i>Toxocara</i> ssp.	
	ilość szt. kg ⁻¹ s.m.	odch. stand. SD	ilość szt. kg ⁻¹ s.m.	odch. stand. SD	ilość szt. kg ⁻¹ s.m number	odch. stand. SD

	number piece kg ⁻¹ d.m.		number piece kg ⁻¹ d.m.		piece kg ⁻¹ d.m.	
Osad / sewage sludge	0	0	0	0	0	0

Tab. 2. Zawartość bioodpadów w kompostach

Tab. 2. The contents of biowastes in composts

Komora Chamber	Osad sewage sludge	słoma straw	trociny sawdust	kora bark	konopie hemp	C/N początkowe initial	C/N końcowe final
K1	40%	-	35%	25%	-	19,3	12,71
K2	40%	-	10%	50%	-	18,7	12,16
K3	40%	5%	15%	40%	-	20,8	10,93
K4	40%	-	-	10%	50%	18,4	9,39

3. Wyniki i dyskusja

W celu oceny stanu sanitarnego bioodpadów zastosowanych w przeprowadzonym doświadczeniu poddano je analizom pod kątem wykrycia bakterii z rodzaju *Salmonella* ssp oraz jaj helminatów z rodzaju *Ascaris*, *Trichuris* i *Toxocara*. Przeprowadzona analiza mikrobiologiczna osadu ściekowego oraz materiałów strukturotwórczych (słoma, trociny, konopie, kora) wykazały, że były one wolne od organizmów z tego rodzaju (tab. 1). W przypadku osadu ściekowego powyższy wynik był zadowalający, bowiem najmniejsza liczba bakterii z rodzaju *Salmonella* ssp., czy obecność ATT dyskwalifikowałaby użycie osadu jako nawozu do celów rolniczych [20].

Ponadto przebadano zastosowane w doświadczeniu bioodpady pod kątem obecności bakterii *Enterobacteriaceae* (tab. 1). Wykrywanie powyższych bakterii w stosowanych materiałach jest niezwykle istotne, bowiem uznawane są one za wskaźniki zanieczyszczenia fekaliami danego materiału. Do rodziny *Enterobacteriaceae* należy rodzaj *Salmonella*, *Escherichia*, *Enterobacter*, są to bakterie wykazujące zdolność do fermentacji glukozy [4].

Stwierdzono, iż osad ściekowy nie spełniał pod tym względem norm obowiązujących w Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi dla nawozów organicznych [20], zgodnie z którym liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, określona na podstawie liczby bakterii tlenowych, powinna wynosić mniej niż 1 000 jednostek tworzących kolonie (jtk) · gram⁻¹ nawozu. Planowany proces kompostowania był więc niezbędny, w celu eliminacji lub redukcji omawianych bakterii.

Analizując wyniki przedstawione w tab. 4 stwierdzono, iż proces kompostowania przyczynił się do całkowitej eliminacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*. W momencie założenia doświadczenia (termin I) największa liczba bakterii występowała w kompoście K4 – 9627,0 jtk · 10³ · g⁻¹ s.m., a najmniejsza w kompoście K3 – 1637,9 jtk · 10³ · g⁻¹ s.m. kompostu. Tak duża różnica w liczebności bakterii w poszczególnych kompostach mogła być związana z użyciem konopi, jako materiału strukturotwórczego w komorze K4. Bowiem już w materiale wyjściowym w konopiach zauważono wysoką liczebność *Enterobacteriaceae* (tab. 1). Wartość pH w momencie założenia doświadczenia była optymalna do

rozwoju omawianych bakterii, bowiem kształtowała się w granicach 6,81-7,66 (tab. 3).

Dwudziesto-godzinny proces kompostowania spowodował wzrost temperatury do wartości 37-40°C w komorach oraz zwiększenie namnażania się liczebności bakterii we wszystkich kompostach. Największy wzrost odnotowano w komorze K3, gdzie ich liczba z 1637,9 jtk · 10³ · g⁻¹ s.m. wzrasta do wartości 133531,2 jtk · 10³ · g⁻¹ s.m. kompostu. Jednakże w terminie III, po 42,5 godzinach zaobserwowano zmniejszenie namnażania się *Enterobacteriaceae* we wszystkich kompostowanych materiałach, związane najprawdopodobniej z dalszym wzrostem temperatury. Najbardziej widoczna redukcja nastąpiła wówczas w kompoście K3, przy wzroście temperatury do wartości 62°C.

Wysoka temperatura, charakterystyczna dla fazy termofilnej okazała się więc w przypadku omawianej rodziny bakterii być czynnikiem ograniczającym ich rozwój. Zdaniem Anusz [3] optymalna temperatura dla wzrostu większości *Enterobacteriaceae* wynosi 37°C, a pH ok. 7,2-7,4.

Analizując dynamikę rozwoju omawianych bakterii w kolejnych terminach analiz, stwierdzono, iż dalszy przyrost temperatury przyczynił się do całkowitej redukcji *Enterobacteriaceae*. W kompostach K1, K3, K4 ich eliminację zaobserwowano już w terminie IV, w temperaturze 71-78°C, kompoście K2 28 h później (termin V) w temperaturze 75°C.

Na podstawie uzyskanych wyników badań można stwierdzić, iż głównymi czynnikami przyczyniającymi się do eliminacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* były temperatura, która w fazie termofilnej osiągnęła wartość wyższą od 70°C oraz pH, które wzrosło w fazie termofilnej do wartości ok. 8-9.

O hamującym wpływie wysokiej temperatury uzyskiwanej w fazie termofilnej, w stosunku do bakterii należących do rodziny *Enterobacteriaceae* informują również Hassen i in. [11]. Z badań Bustamanate i in. [4] wynika z kolei, iż proces kompostowania nie przyczynił się do redukcji bakterii *Enterobacteriaceae*. Zdaniem Jones [13] przeżywalność patogenów w kompostowanym materiale uzależniona jest od zawartości materii stałej. Im kompostowane bioodpady zawierają jej więcej, tym dłużej patogeny przeżywają.

Analiza liczebności bakterii *Clostridium perfringens* przeprowadzona w doświadczeniu (tab. 5) jest ważna nie tylko ze względu na ich patogenny charakter, ale również z

powodu tego, że ich obecność świadczyć może o występowaniu innych chorobotwórczych mikroorganizmów [5].

Rozpatrując wyniki analiz mikrobiologicznych przedstawionych w tabeli 5 stwierdzono, że w momencie założenia doświadczenia (termin I) najmniejsza liczba bakterii *Clostridium perfringens* występowała w kompoście K3, największa natomiast w kompoście K2. Po 20 godzinach procesu kompostowania (termin II) odnotowano zmniejszenie liczebności bakterii *Clostridium perfringens* we wszystkich rodzajach kompostu (K1 – K4). Największe zmniejszenie namnażania się omawianych bakterii zaobserwowano w komorach K1 i K2.

Biorąc pod uwagę wartości temperatury panującej w omawianym terminie w kompostach (27-28°C) (tab. 3), można domniemywać, że nie była ona czynnikiem ograniczającym rozwój bakterii. Najprawdopodobniej przyczyną powyższego zjawiska była konkurencja o pokarm z innymi mikroorganizmami, bądź obecność substancji antybiotycznych produkowanych przez promieniowce, czy grzyby, toksycznie działające na wzrost i rozwój omawianego patogena [25].

Po 42,5 h (termin III) przy wzroście temperatury do wartości 42°C zaobserwowano ponowny, niewielki wzrost liczby laseczek *Clostridium* w kompostach K1, K2 oraz dalsze zmniejszanie się liczebności omawianych bakterii w K3 i K4.

Powyższe zjawisko związane było najprawdopodobniej z różnym tempem wzrostu temperatury w kompostach, bowiem w komorze K3 i K4 w terminie III panowały już warunki wysoce termofilne.

Po upływie 68,5 h (termin IV) procesu kompostowania, przy wzroście temperatury do wartości 74-78°C oraz pH do 8,5 – 9,0 (tab. 3), w kompoście K3 i K4 odnotowano całkowitą eliminację omawianych bakterii. W komorze K1 pomimo wzrostu temperatury powyżej 70°C odnotowano jedynie redukcje liczebności bakterii. Natomiast w kompoście K2, gdzie temperatura wynosiła 69°C zaobserwowano nieznaczny wzrost ich liczby.

Zdaniem Jones i in. [12] oraz Jandy i Falkowskiego [13] na wzrost i rozwój mikroorganizmów w warunkach wysokich temperatur ma duży wpływ skład chemiczny podłoża i odpowiednie pH.

Dalsze utrzymywanie się warunków termofilnych w kompostach przyczyniło się do całkowitej redukcji bakterii *Clostridium perfringens* w kolejnym terminie (V).

Również Juteau i in. [14] podczas swoich doświadczeń prowadzonych w bioreaktorach wykazali, że temperatura około 60°C eliminuje formy vegetatywne *Clostridium*.

W miarę trwania doświadczenia wartość temperatury w analizowanych kompostach ponownie obniżyła się w kolejnych terminach, osiągając wartość 14-17°C w terminie VIII, ostatnim.

Obniżenie temperatury w kompostowanych materiałach ponownie przyczyniło się do silnego namnażania się komórek *Clostridium perfringens*, zwłaszcza w kompostach K2 i K3. Tak intensywny i ponowny wzrost liczebności związany był zapewne z rozwojem laseczek *Clostridium perfringens* z form przetrwanych, które nie wyginęły pod wpływem wysokich temperatur. Zdaniem Payment [18] bakterie z rodzaju *Clostridium* są bardzo odporne na różne zmiany środowiskowe, w tym na zmiany temperatury. Z badań Misterlich i Marth [17] wynika, iż spory bakterii

Clostridium przeżywają w temperaturze 100°C i pH 6,0 – 7,4 ponad 110 minut, pomimo, że ich formy vegetatywne mają podobne właściwości do innych bakterii. Zdaniem Gbolagade [8] kompostowanie nie jest tylko i wyłącznie procesem tlenowym, dlatego beztlenowe mikroorganizmy nie są wyeliminowane podczas tego procesu.

Na podstawie przeprowadzonych analiz mikrobiologicznych stwierdzono, iż liczebność bakterii *Clostridium perfringens* w doświadczeniu nie została zredukowana. Jedynie w fazie termofilnej nie odnotowano obecności ich form vegetatywnych. Jednakże zdolność omawianych bakterii do wytwarzania endospor (form przetrwanych) przyczyniła się do ponownego namnożenia się bakterii po ustaniu warunków termofilnych.

Analogiczne obserwacje odnotowane zostały w badaniach Bustamanate i in. [5].

Tab. 3. Zmiany pH podczas procesu kompostowania

Tab. 3. The changes of pH during composting process

Rodzaj kompostu <i>Kind of compost</i>	Temperatura (C °) <i>Temperture (C °)</i>	pH kompostu <i>pH of compost</i>
---	--	-------------------------------------

Termin I – założenie doświadczenia

I date – beginning of experiment

K1	15	6,81
K2	18	6,97
K3	17	7,13
K4	18	7,66

Termin II – po 20 h II date – after 20 h

K1	27	7,11
K2	28	7,11
K3	30	7,43
K4	40	7,03

Termin III – po 42,5 h III date – after 42,5 h

K1	42	7,47
K2	42	7,15
K3	62	8,23
K4	78	8,68

Termin IV – po 68,5 h IV date – after 68,5h

K1	71	7,80
K2	69	7,84
K3	74	8,48
K4	78	9,07

Termin V – po 93,5 h V date – after 93,5 h

K1	64	8,17
K2	75	8,03
K3	66	8,66
K4	74	9,06

Termin VI – po 117,5 h VI date – after 117,5 h

K1	47	8,54
K2	36	8,23
K3	50	8,84

K3	45	9,06
-----------	----	------

Termin VII – po 790 h VII date – after 790 h

K1	47	8,14
K2	36	7,85
K3	50	8,67
K4	45	8,75

Termin VIII – po 2686 h VIII date – after 2686 h

K1	14	7,41
K2	17	6,90
K3	16	7,96
K4	17	7,67

Tab. 4. Dynamika zmian liczebności *Enterobacteriaceae* w kompostach

Tab. 4. The dynamic of changes of *Enterobacteriaceae* number in composts

Rodzaj kompostu <i>Kind of compost</i>	Temperatura kompostu (C°) <i>Temperture of compost (C°)</i>	Bakterie <i>Bacteria</i>	
		jtk·10 ³ ·g ⁻¹ s.m cfu·10 ³ ·g ⁻¹ s.m	Odchylenie standardowe SD

Termin I – założenie doświadczenia

I date– beginning of experiment

K1	15	3498,30	1657,35
K2	18	2336,50	354,12
K3	17	1637,90	809,71
K4	18	9627,00	1513,61

NIR_{0,05} (LSD_{0,05}) = 2532,85 NIR_{0,01} (LSD_{0,01}) = 3316,83

Termin II – po 20 h II date– after 20 h

K1	27	58015,90	5910,45
K2	28	10115,20	3916,30
K3	30	133531,20	30932,73
K4	40	116086,20	12695,82

NIR_{0,05} (LSD_{0,05}) = 35889,25 NIR_{0,01} (LSD_{0,01}) = 46997,83

Termin III – po 42,5 h III date – after 42,5 h

K1	42	6527,50	1616,46
K2	42	2319,80	262,46
K3	62	354,10	64,25
K4	78	104562,00	53792,55

NIR_{0,05} (LSD_{0,05}) = 56508,39 NIR_{0,01} (LSD_{0,01}) = 73999,08

Termin IV – po 68,5 h IV date – after 68,5h

K1	71	0,00	0,00
K2	69	50,20	5,32
K3	74	0,00	0,00
K4	78	0,00	0,00

Termin V – po 93,5 h V date – after 93,5 h

K1	64	0,00	0,00
K2	75	0,00	0,00
K3	66	0,00	0,00
K4	74	0,00	0,00

Termin VI - po 117,5 h VI date – after 117,5 h

K1	47	0,00	0,00
K2	36	0,00	0,00
K3	50	0,00	0,00
K4	45	0,00	0,00

Termin VII - po 790 h VII date – after 790 h

K1	47	0,00	0,00
K2	36	0,00	0,00
K3	50	0,00	0,00
K4	45	0,00	0,00

Termin VIII - po 2686 h VIII date – after 2686 h

K1	14	0,00	0,00
K2	17	0,00	0,00
K3	16	0,00	0,00
K4	17	0,00	0,00

Tab. 5. Dynamika zmian liczebności *Clostridium perfringens* w kompostach

Tab. 5. The dynamic of changes of *Clostridium perfringens* number in composts

Rodzaj kompostu <i>Kind of compost</i>	Temperatura kompostu (C°) <i>Temperture of compost (C°)</i>	Bakterie <i>Bacteria</i>	
		jtk·10 ³ ·g ⁻¹ s.m cfu·10 ³ ·g ⁻¹ s.m	Odchylenie standardowe SD

Termin I – założenie doświadczenia

I date– beginning of experiment

K1	15	18,10	3,93
K2	18	19,00	3,45
K3	17	1,60	1,29
K4	18	11,20	9,44

NIR_{0,05} = 11,41 NIR_{0,01} (LSD_{0,01}) = 14,95

Termin II – po 20 h II date– after 20 h

K1	27	0,60	0,16
K2	28	0,80	0,39
K3	30	0,70	0,43
K4	40	1,70	2,20

NIR_{0,05} (LSD_{0,05}) = 2,39 NIR_{0,01} (LSD_{0,01}) = 3,14

Termin III – po 42,5 h III date – after 42,5 h

K1	42	7,60	0,78
K2	42	12,70	3,15
K3	62	0,60	0,44
K4	78	1,10	0,31

NIR_{0,05} (LSD_{0,05}) = 3,46 NIR_{0,01} (LSD_{0,01}) = 4,53

Termin IV – po 68,5 h IV date – after 68,5h

K1	71	1,10	0,63
K2	69	18,50	6,44
K3	74	0,00	0,00
K4	78	0,00	0,00

NIR_{0,05} (LSD_{0,05}) = 6,81 NIR_{0,01} (LSD_{0,01}) = 8,92

Termin V – po 93,5 h V date – after 93,5 h

K1	64	0,00	0,00
K2	75	0,00	0,00
K3	66	0,00	0,00
K4	74	0,00	0,00

Termin VI - po 117,5 h VI date – after 117,5 h

K1	47	0,00	0,00
-----------	----	-------------	------

K2	36	831,40	1662,79
K3	50	8294,60	7541,57
K4	45	3814,00	2788,31
NIR _{0,05} (LSD _{0,05}) = 8621,19 NIR _{0,01} (LSD _{0,01}) = 11289,65			

Termin VII - po 790 h VII date – after 790 h

K1	47	101613,20	5511,33
K2	36	108585,40	51653,04
K3	50	25890,00	14712,17
K4	45	13505,40	5669,12
NIR _{0,05} (LSD _{0,05}) = 57000,57 NIR _{0,01} (LSD _{0,01}) = 74643,60			

Termin VIII – po 2686 h VIII date – after 2686 h

K1	14	38509,90	29308,11
K2	17	84770,10	53219,14
K3	16	40304,20	27821,41
K4	17	3765,80	2846,69
NIR _{0,05} (LSD _{0,05}) = 77625,65 NIR _{0,01} (LSD _{0,01}) = 101652,60			

4. Wnioski

1. W analizowanym osadzie ściekowym nie stwierdzono bakterii *Salmonella* ssp. oraz jaj pasożytów jelitowych ATT.
2. Liczba bakterii *Enterobacteriaceae* w 1 g osadu ściekowego zastosowanego w doświadczeniu była większej niż 1000 jtk. Osad ściekowy nie spełniał więc norm sanitarnych stawianych nawozom przeznaczonym do rolniczego zastosowania.
3. Najszybciej fazę termofilną w kompostowanych bioodpadach uzyskano w kompostach K3 (osad 40% + słoma 5% + 15% trociny + kora 40%) oraz K4 (osad 40% + kora 10% + konopie 50%).
4. W przypadku wszystkich kompostów stwierdzono, że proces kompostowania wyeliminował całkowicie bakterie *Enterobacteriaceae*. Inaktywacja omawianych bakterii w kompoście K2 (40% osad + 10% trociny + 50% kora) wystąpiła najpóźniej, była przesunięta w czasie o 28h.
5. Proces kompostowania w żadnej z zastosowanych kombinacji nie przyczynił się do redukcji *Clostridium perfringens*. Nie odnotowano również wpływu rodzaju zastosowanych do kompostowania bioodpadów na tempo inaktywacji form wegetatywnych bakterii.
6. Powstałe komposty mogą być wykorzystane rolniczo, bowiem spełniają normy sanitarne zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi dla nawozów organicznych (2004) oraz zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) nr 185/2007 z dnia 20 lutego 2007 r.

5. Literatura

- [1] American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods.-2nd ed, 1984.
- [2] American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological of foods.-3rd ed. 1-4, 1992.
- [3] Anusz Z.: Mikrobiologia i parazytologia lekarska. Podręcznik dla szkół medycznych. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1999.
- [4] Araujo M., Sueiro R.A., Gomez M.J., Garrido M.J.: Enumeration of *Clostridium perfringens* spores in groundwatre samples: comprasion of six culture media. J. Microbiol. Methods, 57: 175-180.
- [5] Bustamante M.A., Moral R., Paredes C., Vargas-Garcia M.C., Suarez-Estrella F., Moreno J. Evolution of the pathogen content

during co-composting of winery and distillery wastes. Bioresource Technology, 99: 729-7306, 2008.

- [6] Caroll B. A., Caunt P., Cunliffe G.: Composting sewage sludge: basic and opportunities in the UK, Journal of the Institution of Water and Environment, 7(2): 175-181, 1993.
- [7] Commission regulation (EC) No 185/2007 of 20 February 2007 amending Regulations (EC) No 809/2003 and (EC) No 810/2003 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 of the Council.
- [8] Gbolagade J. S.: Bacteria associated with compost used for cultivation of Nigerian edible mushrooms *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Singer, and *Lentinus squarrosulus* (Berk.) African Journal of Biotechnology, 5 (4): 338-342, 2006.
- [9] Gundlach J.L., Sadzikowski A.B., Tomczuk K.: Zanieczyszczenie jajami *Toxocara* sp. wybranych środowisk miejskich i wiejskich, Medycyna Weterynaryjna, 52(6): 395-396, 1996.
- [10] Hall J. E.: Alternative uses for sewage sludge. Proceedings of a conference organised by WRc Manmenham and held at the University of York. Uk on 5-7 September 1989, 58, 1989.
- [11] Hassen A., Belguith K., Jedidi N., Cherif A., Cherif M., Boudabous A.: Microbial characterization during composting of municipal solid waste. Bioresource Technology, 80: 217-225, 2001.
- [12] Jones P.W.: The effect of temperature, solids content and pH on the survival of salomellas in cattle slurry. Br. Vet. J., 132: 284-293, 1976.
- [13] Janda K., Falkowski J.: Przystosowanie mikroorganizmów do wysokich temperatur. Advances of Agricultural Sciences Problem Issues , 429: 117-122, 2003.
- [14] Juteau P., Tremblay D., Cheikh-Baye Ould-Moulaye, Bisailon J.G., Beaudet R.: Swine waste treatment by self-heating aerobic thermophilic bioreactors. Water Research., 38: 539-546, 2004.
- [15] Kuczyńska I., Kluczeńska A.: Charakterystyka osadów ściekowych pod kątem kierunków ich wykorzystania. Materiały Ogólnopolskiej Konferencji Naukowo – Technicznej pt. „Charakterystyka i zagospodarowanie osadów ściekowych”, Gdańsk, 103, 2000.
- [16] Manafi M., Kneifel W.: A combined chromogenic-fluorogenic medium for simultaneous detection of total coilforms and *E.coli* in water. Zentralbl. Hyg., 189: 225-234, 1989.
- [17] Misterlich E., Marth E.H.: Microbial survival in the environment. Springer, Berlin.
- [18] Payment P.: Poor efficacy of residual chlorine disinfectant in drinking water to inactive waterborne pathogens in distribution system. Can. J. Microbiol., 45: 709-715, 1999.
- [19] Polski Komitet Normalizacyjny. Polska Norma PN-Z-19000-1. Ocena stanu sanitarnego gleby. Wykrywanie bakterii z rodzaju *Salmonella*, 2001.
- [20] Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi. Dz.U.04.236.2369, 2004.
- [21] Siuta J.: Sposoby i obiekty przyrodniczego użytkowania osadów ściekowych. Materiały Ogólnopolskiej Konferencji Naukowo– Technicznej pt. „Charakterystyka i zagospodarowanie osadów ściekowych”, Gdańsk, 7-8, 2000.
- [22] Szejniuk B.: Przeżywalność drobnoustrojów wskaźnikowych *Salmonella enteritidis* w procesie utylizacji odpadów komunalnych. Ekologia i Technika, IX, 1: 12-18, 2001.
- [23] Urbaniak M., Mokrzycka B.: Badania nad kompostowaniem osadów ściekowych jako element gospodarki osadowej dużej oczyszczalni. Zeszyty Naukowe Politechniki Łódzkiej, 756: 91-102, 1996.
- [24] Wasiak G.: Wytwarzanie, właściwości i gospodarka osadami ściekowymi w Polsce na tle Zachodniej Europy i USA. Cz. 1 i 2. Ekoinżynieria, 2(3): 15-19, 1995.
- [25] Wieland E., Sawicka A.: Przemiany mikrobiologiczne w osadach ściekowych w systemie SDE. Przegląd Komunalny, 12(11): 53-59, 2000.

- [26] Zielewicz-Madej E., Fukas-Płonka Ł.: Możliwości przyrodniczej utylizacji osadów ściekowych. „Osady ściekowe – odpad czy surowiec.” Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna, Częstochowa, 139-141, 1997.

Badania przeprowadzono w ramach grantu MNiSZW nr 2 PO6 005 29.