

## MIKROBIOLOGICZNE, PYŁOWE I ODOROWE ZAGROŻENIA NA FERMACH DROBIU ORAZ BIOLOGICZNA METODA ELIMINACJI

Katarzyna Matusiak<sup>1</sup>, Justyna Skóra<sup>1</sup>, Sebastian Borowski<sup>1</sup>, Katarzyna Pielech-Przybylska<sup>1</sup>,  
Adriana Nowak<sup>1</sup>, Piotr Wojewódzki<sup>2</sup>, Janusz Herman<sup>2</sup>, Małgorzata Okrasa<sup>3</sup>, Beata Gutarowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Politechnika Łódzka, Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, ul. Wólczańska 171/173, 90-924 Łódź, e-mail: katarzyna.matusiak@p.lodz.pl

<sup>2</sup> Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy w Bydgoszczy, Katedra Chemii Środowiska, ul. Bernardyńska 6, 85-029 Bydgoszcz

<sup>3</sup> Zakład Ochron Osobistych, Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy, ul. Wierzbowa 48, 90-133 Łódź

### STRESZCZENIE

Celem badań była ocena zagrożeń mikrobiologicznych, odorowych i pyłowych w pomieszczeniach inwentarskich na fermach drobiu. Ponadto określono skuteczność biopreparatu i ekstraktu roślinnego *Yucca schidigera* w obniżeniu stężenia wybranych związków odorowych generowanych przez pomiot drobiowy oraz w higienizacji pomiotu. W pomieszczeniach inwentarskich zapylenie powietrza było wysokie i kształtowało się na poziomie 1,44 mg/m<sup>3</sup>; dominowała frakcja pyłu PM<sub>10</sub>. Zarówno w pomiocie drobiowym oraz w osiadłym stwierdzono wysoką liczebność bakterii i grzybów na poziomie 10<sup>6</sup>–10<sup>10</sup> jtk/g. Na fermie drobiu nie odnotowano przekroczenia limitu dotyczącego liczby bakterii i grzybów w powietrzu. Odnotowane stężenia frakcji PM<sub>2,5</sub> i PM<sub>10</sub> były 18–20 razy wyższe niż dopuszczalne dla 24-godzinnej ekspozycji określone przez Światową Organizację Zdrowia. Wśród odorowych związków lotnych na fermach drobiu dominowały: amoniak, akroleina, metyloamina, kwas octowy, aldehyd octowy i formaldehyd. Ich stężenia były zmienne w zależności od rodzaju fermy i etapu cyklu produkcyjnego. Dopuszczalne stężenie amoniaku w powietrzu zostało przekroczone na fermie kur niosek I i II, natomiast stężenie dwutlenku węgla przekroczyło dopuszczalną wartość w trzecim etapie cyklu produkcyjnego na fermie brojlerów III i było zbliżone do limitu na fermie niosek I. Cytotoksyczność mieszaniny związków odorowych wobec komórek kurzych LMH maksymalnie wynosiła 45,7%, potwierdzono ją zmianami morfologicznymi komórek po działaniu związków odorowych (amoniaku, di- i trimetyloaminy). Biopreparat mineralno-mikrobiologiczny wraz z ekstraktem *Yucca schidigera* zmniejszał ogólną liczbę drobnoustrojów o około 1 rząd wielkości w pomiocie drobiowym i obniżał stężenie związków odorowych o 37–70% w zależności od związku. Zastosowanie kolejno ekstraktu *Y. schidigera*, a następnie po 2 dniach biopreparatu może być skutecznym sposobem ograniczania zagrożeń mikrobiologicznych i odorowych na fermach drobiu.

**Słowa kluczowe:** dezodoryzacja, pomiot drobiowy, biopreparat

## THREATS/RISKS IN POULTRY FARMS: MICROBIOLOGICAL CONTAMINANTS, DUST, ODOURS AND BIOLOGICAL METHOD FOR ELIMINATION

### SUMMARY

The aim of the study was to evaluate the microbiological contamination, odour and dust concentration in poultry farms. In addition, the effectiveness of biopreparation and *Yucca schidigera* plant extract in manure hygienisation and selected odorous compounds removal was determined. The airborne total dust concentration at poultry production premises averaged 1.44 mg/m<sup>3</sup> with a high percentage of the PM<sub>10</sub> fraction. High number of bacteria and fungi at 10<sup>6</sup>–10<sup>10</sup> CFU / g. was determined in both poultry manure and settled dust. Poultry farm's air limits of the bacteria and fungi number have not been exceeded. Reported concentrations of PM<sub>2,5</sub> and PM<sub>10</sub> fractions were 18–20 times higher than acceptable for a 24-hour exposure determined by the World Health Organization. Volatile odorous compounds dominant in poultry farms were: ammonia, acrolein, methyl amine, acetic acid, acetaldehyde and formaldehyde. The concentrations are variable depending on the farm type and stage of the cycle production.

The permissible concentration/ exposure limits of ammonia in the air has been exceeded in the laying hens farms I and II, while the concentration of carbon dioxide exceeded the limit value in the third stage of the cycle production on broiler farm III and was close to the limit for laying hens farm I. The maximum cytotoxicity of odorous compounds mixture tested on chick liver hepatocellular carcinoma cell line LMH was 45.7%. It was confirmed by cells morphologic changes after the odorous compounds treatment (ammonia, di-, and trimethylamine). Mineral-microbial biopreparation with *Yucca schidigera* extract reduced the total number of microorganisms by 1 logarithmic unit in poultry manure and decreased concentration of odorous compounds by 37–70% depending on the compound. The use in sequence *Y. schidigera* extract, and then after 2 days biopreparation can be an effective way to reduce microbiological and odorous hazards on poultry farms.

**Keywords:** deodorization, poultry manure, biopreparation

## WSTĘP

Od wielu lat, obserwuje się na świecie znaczący wzrost spożycia drobiu oraz produktów pochodzenia drobiowego. Prowadzi to do intensyfikacji hodowli, a tym samym generowania coraz większych ilości odpadów głównie pomiotu drobiowego, który może oddziaływać na zdrowie człowieka i zwierząt oraz pogarszać jakość życia ze względu na generowanie lotnych związków odorowych oraz mikroorganizmów.

Z pomiotu drobiowego izolowano gatunki, które zgodnie z Dyrektywą 2000/54/EC [2000] sklasyfikowane są do grupy 3 zagrożenia zdrowotnego: *Bacillus anthracis*, *Chlamydia ornitocyti*, *Salmonella choleraesuis* var. Typhi, wirus H5N1 oraz gatunki z grupy 2: *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Listeria monocytogenes*, *Mycoplasma* sp. *Staphylococcus* sp. *Streptococcus* sp. i inne [Dutkiewicz i in. 2007, Lugauskas i in. 2004].

Ocenia się, iż powietrze odprowadzane z drobiowych ferm hodowlanych może składać się z ponad 160 związków chemicznych (m.in. amoniak i lotne aminy, siarkowodor i tiole, indole oraz lotne kwasy tłuszczowe) [Yan i in. 2013]. Gazy te mogą powodować u ludzi podrażnienie dróg oddechowych, alergię, astmę, rozdrażnienie, chroniczne bóle głowy, nudności. W przypadku zwierząt mogą zwiększać podatność na choroby, przez co zmniejsza się wydajność produkcji. Są one jednocześnie powodem uciążliwości zapachowej dla ludzi mieszkających w pobliżu ferm drobiu [Rappert i Müller 2005].

W pomieszczeniach inwentarskich na fermach drobiu występuje wysokie zapylenie powietrza. Pył zawieszony oraz osiadły w tego typu pomieszczeniach zawiera fragmenty ściółki, resztki paszy, złuszczone naskórek zwierząt oraz mikroorganizmy dostające się do powietrza z odchodów zwierząt. Powietrze i pył w pomieszczeniach inwentarskich do hodowli drobiu może zawierać drobnoustroje, w stężeniach

w zakresie  $10^4 - 10^7$  jtk w  $1 \text{ m}^3$  powietrza lub  $1 \text{ g}$  pyłu [Nimmermark i in. 2009, Rimac i in. 2010], w tym gatunki alergenne i toksynotwórcze m.in. pleśnie z rodzaju *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium* wraz z wytwarzanymi przez nie metabolitami wtórnymi. Dane literaturowe wskazują, że stężenie pyłu organicznego na fermach drobiu jest znacznie większe niż w pomieszczeniach do hodowli trzody chlewnej i bydła [Herron i in. 2015]. Donham i wsp. [2000], odnotowali przewlekłe objawy ze strony układu oddechowego, zaburzenia czynności płuc, nieżyt nosa i egzemę wśród pracowników ferm drobiu po 5 latach narażenia zawodowego.

W celu ograniczenia uciążliwości zapachowej oraz higienizacji pomieszczeń inwentarskich stosować można wiele metod fizykochemicznych i biologicznych np. utlenianie katalityczne i fotokatalityczne, ozonowanie i jonizację ujemną, naświetlanie promieniami UV, płuczki chemiczne, transmembranową chemisorpcję, biofiltry, biopłuczki [Oleksy i in. 2015], wieloszczepowe probiotyki [Zhang i Kim 2014] lub dodatki do pasz o właściwościach antydrobnoustrojowych [Varel 2002]. Wykazano, iż dodatek do paszy *Yucca schidigera* wykazuje działanie przeciwdrobnoustrojowe oraz poprawia metabolizm azotu u drobiu, co może mieć wpływ na obniżenie koncentracji emitowanych podczas hodowli odorów. Wynika to z zawartości w ekstraktach *Yucca* saponin, licznych enzymów, przeciwutleniaczy i resweratrolu [Wang i in. 2001, Cheeke i Otero 2005, Piacente i in. 2005]. Obecnie dużym zainteresowaniem cieszy się wykorzystanie biopreparatów zawierających mikroorganizmy zmniejszające stężenie lotnych związków odorowych [Powers 1991, Dumont i in. 2014, Jaber i in. 2014]. Nie wymagają one wykorzystania specjalistycznej instalacji i aparatury. Ponadto są bezpieczne i łatwe w praktycznym stosowaniu, nie powodują korozji metali oraz nie niszczą ceramiki i tworzyw sztucznych, zapobiegają nadmiernemu rozwojowi drobnoustrojów, przyczyniają się

do odtworzenia naturalnej mikroflory, wiążą jony niektórych metali ciężkich oraz przyczyniają się do higienizacji ściółki.

Badania prezentowane w tej publikacji miały na celu ocenę zagrożeń mikrobiologicznych odorowych i pyłowych w pomieszczeniach inwentarskich na fermach drobiu. Ponadto określono skuteczność biopreparatu i ekstraktu roślinnego *Yucca schidigera* w obniżaniu stężenia wybranych związków odorowych generowanych przez pomiot drobiowy oraz w higienizacji pomiotu.

Zakres badań obejmował: ocenę stężenia pyłu zawieszonego w powietrzu na fermach drobiu, liczby mikroorganizmów w pomioście drobiowym, pyłe osiadłym i powietrzu pomieszczeń inwentarskich, oraz oznaczanie lotnych związków odorowych obecnych w powietrzu hal hodowlanych i określenie cytotoksyczności związków odorowych wobec komórek hepatocytów kurzych LMH (Leghorn Male Hepatoma), jak również ustalenie efektywności biopreparatu i ekstraktu *Yucca schidigera* w dezodoryzacji pomiotu drobiowego.

## MATERIAŁY I METODY

### Charakterystyka badanych ferm

Badania prowadzone były w 3 halach hodowlanych: Fermy Drobiu I i II (obsada kur niosek dla obu ferm wynosiła 8 000 utrzymywanych w systemie bezklatkowym, ściółkowym z gniazdami) oraz Ferma Drobiu III (obsada brojlerów 24 500, system bezklatkowy ściółkowy), gdzie badania przeprowadzono w trzech etapach cyklu chowu brojlerów kurzych: Etap I: przed obsadzeniem hali, Etap II: po 20 dniach od obsadzenia, Etap III: po 35 dniach od obsadzenia. Badania na fermie I i II wykonano na koniec cyklu produkcyjnego kur niosek – w 57 tygodniu.

### Pył zawieszony i osiadły

Wykonano pomiar pyłu zawieszonego w powietrzu pomieszczeń inwentarskich (DustTrak™ DRX Aerosol Monitor 8533 TSI, USA).

Pył osiadły (cząstki stałe opadłe z powietrza na powierzchnię) pobierano w trakcie cyklu produkcyjnego brojlerów kurzych na metalowe tace zawieszane na wysokości około 1,6 m w obu końcach i na środku każdej hali produkcyjnej (3 powtórzenia w jednym pomieszczeniu). Tace

zostały wprowadzone do pomieszczeń inwentarskich przed rozpoczęciem cyklu produkcyjnego, a zebrane po jego zakończeniu.

### Mikrobiologiczna ocena powietrza, pyłu i pomiotu kurzego

Czystość mikrobiologiczną powietrza oznaczano metodą zderzeniową używając próbnika. Próby powietrza o objętości 50dm<sup>3</sup> i 100dm<sup>3</sup> pobrano na płytki Petriego z odpowiednią pożywką: TSA z nystatyną (Tryptic Soy Agar, Merck, Niemcy) w celu oznaczenia ogólnej liczby bakterii oraz MEA z chloramfenikolem (Malt Extract Agar, Merck, Niemcy) w celu oznaczenia ogólnej liczby grzybów.

Analizę pyłu osiadłego i pomiotu kurzego wykonano metodą seryjnych rozcieńczeń. Reprezentatywną naważkę 1 g badanego materiału zawieszono w 90 ml sterylnej soli fizjologicznej (0,85% NaCl) i wykonano wysiewy z rozcieńczeń 10<sup>-1</sup> – 10<sup>-8</sup> na płytki Petriego zalewane pożywkami TSA i MEA z antybiotykami odpowiednio dla bakterii i grzybów. Płytki z wysiewami inkubowano w temperaturze 27±2°C dla oznaczenia ogólnej liczby bakterii przez 1–2 dni oraz przez 5–7 dni dla określenia ogólnej liczby grzybów. Po inkubacji policzono wyrosłe kolonie, a uzyskany wynik przeliczono na jednostki tworzące kolonie w 1 m<sup>3</sup> powietrza (jtk/m<sup>3</sup>) lub w 1 gramie pyłu i pomiotu (jtk/g). Wszystkie pomiary wykonano w 3 powtórzeniach.

### Analiza wybranych odorowych związków lotnych

W pomieszczeniu inwentarskim do hodowli drobiu oraz w próbach z komór laboratoryjnych wykonano oznaczenie stężenia: amoniaku, dime-tyloaminy, trimetyloaminy, kwasu izomasłowego, siarkowodoru, formaldehydu, aldehydu octowego, metyloaminy, merkaptanu metylowego, merkaptanu etylowego, merkaptanu propylowego, tlenku węgla, butylu, dwutlenku węgla, tlenu, całkowitego węgla organicznego, akroleiny, kwasu mrówkowego i kwasu octowego.

Powietrze (0,02–0,06 m<sup>3</sup>) było pobierane do worków tedlarowych z użyciem aspiratora EAS 1203 (Emio, Polska) i analizowane przy użyciu chromatografu gazowego ze spektrometrem masowym (GC-MS; Perkin Elmer, USA i Bruker Daltonics Inc., USA) z użyciem kolumny RTX – 1, detektorów: FPD, TCD i FID oraz gazów

nośnych azotu i helu zgodnie z polskimi normami (ZBES/PB/17; ZBES/PB/32; PB GE 18; ZBES/PB/16; PB GE 22; PN-88/Z-04196.02) z wykorzystaniem mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej (SPME). Wyniki analiz przeliczono dla parametrów powietrza: ciśnienie: 1013 hPa; temperatura: 293 K.

Próbki powietrza zebrano także w płucze, przy szybkości przepływu 0,6 m<sup>3</sup>/godz. amoniak i kwas mrówkowy oznaczano za pomocą spektrofotometru (CFA SAN, SKALAR, Holandia), zgodnie z normą (PN-EN ISO 11732:2007).

Całkowity węgiel organiczny oznaczano zgodnie z normą (PN-EN 13526:2005 ; PN-EN 12619:2002), przy użyciu przenośnego analizatora węglowodorów OVF-3000 (J.U.M.® Engineering G.m.b.H., Niemcy).

### Cytotoksyczność związków odorowych

Sprawdzono cytotoksyczność mieszaniny związków odorowych (pochodzących bezpośrednio z kurników przewietrzanego i nieprzewietrzanego) występujących w pomieszczeniu drobiowym na komórki hepatocytów kurzych LMH (Leghorn Male Hepatoma). Badano stężenia mieszaniny odorów od 0,8 do 25% (6 stężeń) po 48-godzinnej ekspozycji komórek LMH.

Do badań wykorzystano hepatocyty z wątroby kurczaka (CLS, Niemcy, nr 601411-714SF). Komórki hodowano w naczyniach opłaszczonych kolagenem (Roux) w pożywce (Waymouyh's Medium) zawierającej 7,5% dwuwęglanu sodu, 10% inaktywowanej termicznie płodowej surowicy bydłowej, 25 mM buforu HEPES, 100 IU/mL penicyliny i 100 µg/mL streptomycyny. Komórki inkubowano w atmosferze 5% CO<sub>2</sub> w 37°C aż do osiągnięcia 80% konfluencji, a następnie odklejano z zastosowaniem TrypLE™ Express i zawieszano w sterylnym PBS o pH 7,2. Komórki wirowano (182 x g przez 5 min) i zawieszano w świeżym medium hodowlanym. Żywotność komórek sprawdzano z użyciem błękitu trypanu.

Cytotoksyczność mieszaniny odorów badano z zastosowaniem testu WST-1 z wykorzystaniem czytnika mikroplątek (TriStar<sup>2</sup> LB 942, Berthold Technologies, Germany). W tym celu 1 x 10<sup>4</sup> komórek LMH umieszczano w każdym dołku płytki 96-dołkowej opłaszczonej kolagenem w 100 µL medium hodowlanego. Komórki inkubowano przez noc w 37°C w atmosferze 5% CO<sub>2</sub>. Następnego dnia pożywkę usuwano

i dodawano 180 µL każdego ze stężeń odorów (w 8 powtórzeniach każde). Próby kontrolne zawierały komórki bez odorów. Próby inkubowano w atmosferze 5% CO<sub>2</sub> w 37°C przez 48h. Po inkubacji do każdego dołka naniesiono po 20 µL WST-1, a następnie inkubowano w 37°C w atmosferze 5% CO<sub>2</sub> przez 4h. Absorbancję mierzono przy długości fali 450 nm stosując filtr referencyjny 620 nm. Absorbancja kontroli stanowiła 100% żywotności komórek. Żywotność komórek po ekspozycji na odory obliczano jako (%): [OD próby/OD kontroli] x 100%; cytotoksyczność jako (%): 100 – żywotność (%). Rezultaty zaprezentowano jako średnia ± SD.

Ponieważ dominującymi składnikami w mieszaninie badanych odorów były amoniak, dime-tyloamina i trimetyloamina, sprawdzono również wpływ czystych związków (w stężeniu 0,063%) na morfologię komórek LMH metodą mikroskopową po barwieniu metodą Giemsa – May-Grünwalda. Komórki obserwowano w mikroskopie kontrastowo-fazowym (Nikon) sprzężonym z kamerą (Nikon Digital Sight DS-U3) i programem analizy obrazu NIS-elements BR 3.0.

### Ekstrakt Roślinny *Yucca schidigera*

W badaniach wykorzystano wodny ekstrakt roślinny *Yucca schidigera* („Melisa”, Brzeziny, Polska) o stężeniu 5% ustalonym na podstawie wcześniejszych badań [Matusiak i in. 2015].

### Biopreparat

Proces dezodoryzacji pomiotu drobiowego został przeprowadzony z użyciem biopreparatu [Gutarowska i in. 2014] opracowanego w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii, PŁ. Biopreparat składa się z sześciu szczepów: *Pseudomonas fluorescens* (0961), *Bacillus subtilis* (0962), *Bacillus megaterium* (0963), *Leuconostoc mesenteroides* (0964), *Enterococcus faecium* (0965) oraz *Streptomyces rutgersensis* (0967), które zostały zdeponowane w Kolekcji Czystych Kultur ŁOCK 105 ITFM PŁ, a ich sekwencje nukleotydowe genu 16S rRNA zdeponowano w GenBanku NCBI pod numerami KJ: 919967–919972. Drobnoustroje zostały zmieszane w stosunku 1: 1 (v/v) i osadzone na nośnikach mineralnych: perlit i bentonit (20:80 w/w). Procedura osadzania mikroorganizmów jest chroniona patentem (nr. P393863) [Matusiak i in. 2016].

## Dezodoryzacja pomiotu drobiowego

Pomiot drobiowy (0,5 kg) umieszczano w komorach laboratoryjnych o objętości roboczej około 0,8l. Próbę kontrolną stanowił pomiot drobiowy, a próbę badaną pomiot poddany działaniu biopreparatu (o objętości 50 ml) lub/i ekstraktu z *Y. schidigera* (25 ml o stężeniu 5%). Komory zamknięto i napowietrzano przez 5 minut (z szybkością przepływu 2 l/min) w celu zapewnienia warunków tlenowych drobnoustrojom. W tak przygotowanych komorach do dezodoryzacji rozpoczęto proces [Matusiak i in. 2016]. Następnie powietrze pobierano do worków teklarowych i analizowano metodą chromatografii gazowej zgodnie z punktem 2.4.

## WYNIKI I DYSKUSJA

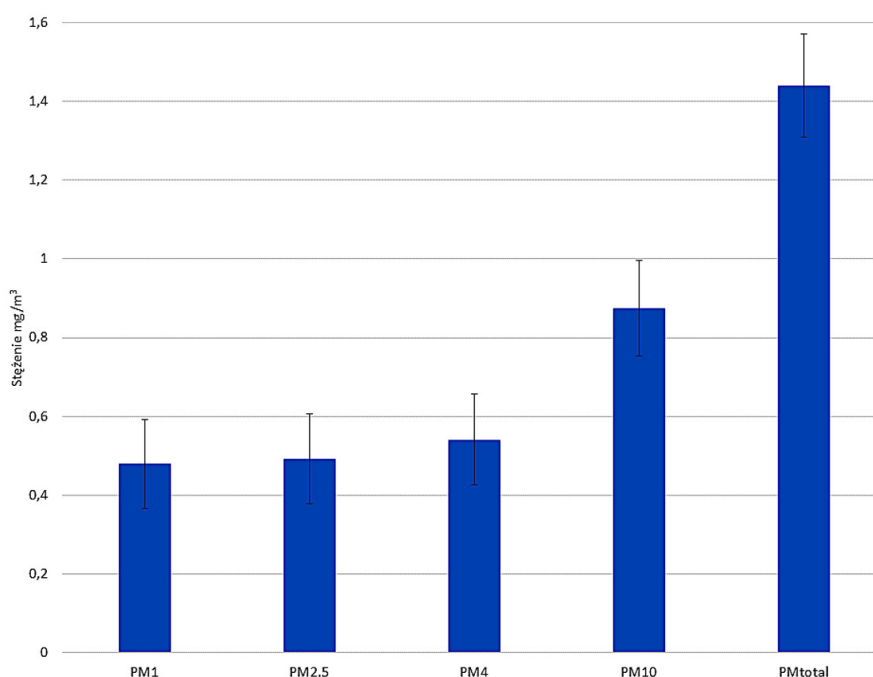
Podczas realizacji badań określono stężenie pyłu na fermach drobiu. Najwyższe stężenie pyłu w powietrzu stwierdzono dla frakcji pyłu zawieszonego w powietrzu  $PM_{10}$  (0,875  $mg/m^3$ ) (rysunek 1). Cząstki pyłu o niższych średnicach  $PM_1$ ,  $PM_{2,5}$ ,  $PM_4$  występowały na poziomie 0,480 – 0,541  $mg/m^3$ . Stężenie pyłu w powietrzu może zależeć od wielu czynników np.: rodzaju ptactwa, etapu cyklu produkcyjnego, systemu wentylacji na fermie [Gutarowska i in. 2014].

Warto podkreślić, iż odnotowane stężenia frakcji  $PM_{2,5}$  i  $PM_{10}$  były 18–20 razy wyższe niż dopuszczalne stężenia dla 24-godzinnej ekspozycji określone przez Światową Organizację Zdrowia [WHO 2005].

W tabeli 1 przedstawiono zanieczyszczenia mikrobiologiczne w powietrzu na fermie drobiu, pomioście drobiowym i pyle osiadłym.

Ogólną liczbę grzybów w powietrzu na fermie drobiu oznaczono na poziomie:  $3,60 \times 10^4$  jtk/ $m^3$ , natomiast ogólna liczba bakterii wynosiła:  $5,85 \times 10^4$  jtk/ $m^3$ . Powietrze atmosferyczne stanowiło próbę odniesienia, w której stwierdzono, iż ogólna liczba grzybów kształtuje się na niskim poziomie:  $3,80 \times 10^2$  jtk/ $m^3$ , podobnie jak ogólna liczba bakterii:  $2,70 \times 10^2$  jtk/ $m^3$ . W powietrzu na fermie drobiu stężenie grzybów w powietrzu było zbliżone do dopuszczalnego limitu ( $5,0 \times 10^4$  jtk/ $m^3$ ) proponowanego dla stanowisk pracy zanieczyszczonych pyłem organicznym przez Zespołu Ekspertów ds. Czynników Biologicznych Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy. Nie odnotowano przekroczenia limitu dotyczącego liczby bakterii ( $1,0 \times 10^5$  jtk/ $m^3$ ) w powietrzu na fermie drobiu [Skowroń i Górny 2014].

Pomiot drobiowy stanowił środowisko o największej liczbie drobnoustrojów, liczba bakterii wynosiła  $1,00 \times 10^{10}$  jtk/g, zaś liczba grzybów



Rys. 1. Średnie stężenie pyłu na fermach drobiu  
Fig. 1. The average dust concentration in poultry farms

**Tabela 1.** Zanieczyszczenie mikrobiologiczne w badanych środowiskach**Table 1.** Microbial contamination in the tested sites

Badane środowisko	Liczba drobnoustrojów [jtk/m <sup>3</sup> ] / [jtk/g]	
	Ogólna liczba grzybów	Ogólna liczba bakterii
Pył osiadły	$1,20 \times 10^6 \pm 1,10 \times 10^6$	$3,20 \times 10^9 \pm 5,00 \times 10^9$
Pomiot drobiowy	$1,00 \times 10^9 \pm 5,00 \times 10^7$	$1,00 \times 10^{10} \pm 4,00 \times 10^8$
Powietrze w hali produkcyjnej na fermie	$3,60 \times 10^4 \pm 1,00 \times 10^3$	$5,85 \times 10^4 \pm 3,23 \times 10^3$
Powietrze atmosferyczne	$3,80 \times 10^2 \pm 2,25 \times 10^3$	$2,70 \times 10^2 \pm 2,30 \times 10^3$

$1,00 \times 10^9$  jtk/g. Stwierdzono, iż pomiot drobiowy jest środowiskiem sprzyjającym namnażaniu się drobnoustrojów. W pyłe osiadłym oznaczono liczbę bakterii na poziomie  $3,20 \times 10^9$  jtk/g, zaś liczbę grzybów na poziomie  $1,20 \times 10^6$  jtk/g.

W tabeli 2 zamieszczono stężenia związków odorowych w powietrzu analizowanych pomieszczeń. Stwierdzono, iż stężenia takich związków jak: dimetyloamina, trimetyloamina, etyloamina, dietyloamina, trietyloamina, siarkowodór, tlenek węgla, merkaptan metylowy, merkaptan etylowy, merkaptan propylowy, merkaptan butylowy, całkowity węgiel organiczny (VOC), kwas mrówkowy, były poniżej progu wykrywalności.

Wśród lotnych związków odorowych obecnych w powietrzu pomieszczeń produkcyjnych wykryto: amoniak, akroleinę, metyloaminę, kwas octowy, aldehyd octowy i formaldehyd. Zaobserwowano zmienność stężeń poszczególnych związków w zależności od rodzaju fermi i etapu cyklu produkcyjnego. Stężenia amoniaku w hodowli kur niosek na fermie I i II były wysokie na koniec cyklu i wynosiły: 16,8–66,7 mg/m<sup>3</sup>. Z porównania wartości stężeń związków złowonnych przed oraz po obsadzeniu hali na Fermie III wynika, iż stężenie amoniaku, dwutlenku węgla, acetaldehydu oraz kwasu octowego zwiększyło się po obsadzeniu hali (po 20 dniach od obsadzenia). Stężenie akroleiny uległo obniżeniu, podczas

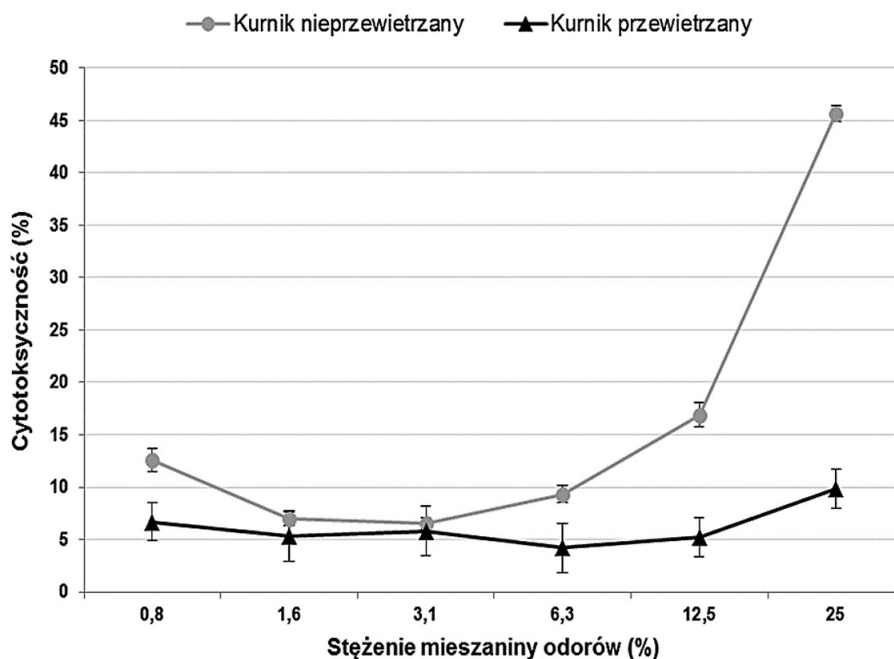
chowu drobiu. Zgodnie z wymogami Dyrektywy Rady Europejskiej 2007/43/EC [2007], maksymalne dopuszczalne stężenie amoniaku wynoszące 20 ppm, ~ 14 mg/m<sup>3</sup> w warunkach 1013 hPa i 293 K, nie zostało przekroczone wyłącznie na Fermie III. Natomiast stężenie dwutlenku węgla przekroczyło dopuszczalną wartość 3000 ppm (~ 5490 mg/m<sup>3</sup> w warunkach 1013 hPa i 293 K) w trzecim etapie cyklu produkcyjnego na fermie drobiu III i było zbliżone do limitu na Fermie I.

Stwierdzono, iż cytotoksyczność mieszaniny związków odorowych zmieniała się proporcjonalnie do ich stężenia (rysunek 2). Wyższą cytotoksyczność wykazywała mieszanina związków odorowych z kurnika nieprzewietrzanego, ponieważ po 48h ekspozycji komórek wynosiła  $45,7\% \pm 0,7\%$  dla 25% stężenia związków, podczas gdy  $9,8\% \pm 1,9\%$  dla związków odorowych pochodzących z kurnika przewietrzanego w tym samym stężeniu.

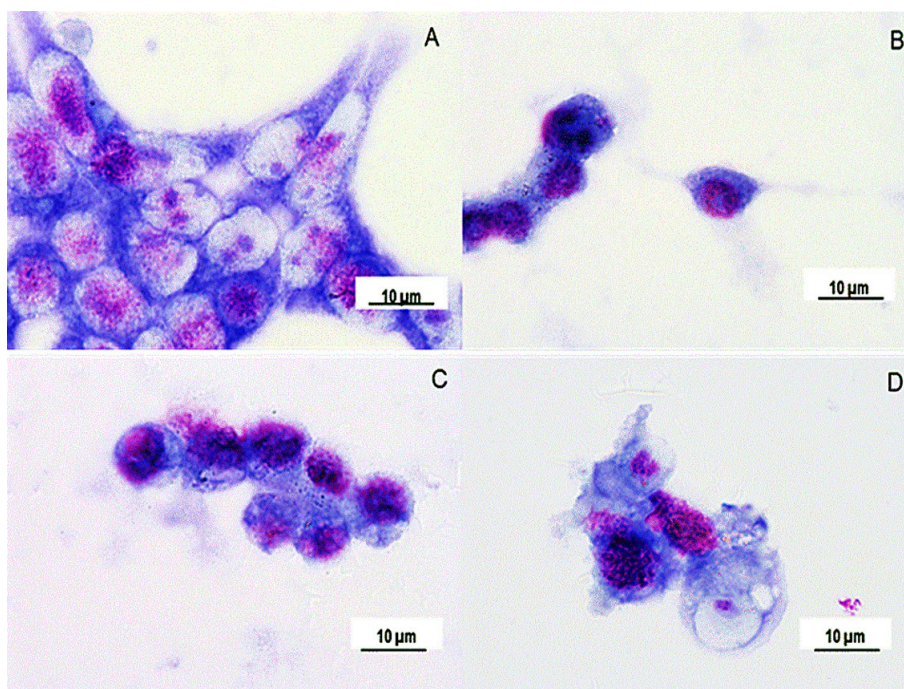
W obserwacjach mikroskopowych wykazano, że badane związki odorowe (amoniak, di-, trimetyloamina) powodowały zmniejszenie zagęszczenia komórek w hodowli, niszczenie monowarstwy, odklejanie się komórek oraz kondensację chromatyny i zmianę morfologii jąder komórkowych (rysunek 3). W obecności DMA oraz TMA zaobserwowano intensywną wakuolizację (rysunek 3C i D). Zmiany morfologiczne zacho-

**Tabela 2.** Stężenia odorowych związków lotnych na fermach I, II i III w czasie cyklu hodowlanego**Table 2.** Odorous volatile compounds concentrations in farms I, II and III during the breeding cycle

Nr	Związki odorowe	Stężenie [mg·m <sup>-3</sup> ]				
		Ferma drobiu I	Ferma drobiu II	Ferma drobiu III		
				Etap I	Etap II	Etap III
1	Amoniak	16.85	66.7	0.81	2.12	1.59
2	Metyloamina	< 0.66	< 0.66	< 0.68	0.82	< 0.66
3	Dwutlenek węgla	5464	4459	1039	4704	6564
4	Tlen	286147	305166	316512	304625	249871
5	Akroleina	< 0.017	0.135	0.145	< 0.017	< 0.017
6	Acetaldehyd	0.00449	0.00691	0.00437	0.00636	0.00760
7	Formaldehyd	0.07067	0.07577	0.08544	0.09168	0.06900
8	Kwas octowy	< 0.11	< 0.11	< 0.11	10.02	0.15



**Rys. 2.** Cytotoksyczność związków odorowych w teście WST-1 wobec komórek LMH w zależności od stężenia wyjściowego po 48 h ekspozycji. Przedstawione wyniki stanowią średnią z ośmiu pomiarów (każdy punkt)  $\pm$  SD  
**Fig. 2.** Cytotoxicity of odorous compounds WST-1 assay to LMH cells after 48 h exposure. The results are the average of eight measurements (each point)  $\pm$  SD



**Rys. 3.** Morfologia komórek LMH po 48 h inkubacji ze związkami odorowymi. Komórki utrwalone i wybarwione metodą Giemsa – May-Grünwalda (powiększenie 1000 x). A – kontrola; B, C, D – zmiany w chromatynie jądrowej odpowiednio w obecności amoniaku, dimetyloaminy i trimetyloaminy (0,063%); C, D – wakuolizacja cytoplazmy.

**Fig. 3.** LMH cells morphology after 48 h incubation with odorous compounds. The cells are fixed and stained by Giemsa – May-Grünwald method (enlargement 1000 x). A – control; B, C, D – changes in the nuclear chromatin, respectively, in the presence of ammonia, dimethylamine and trimethylamine (0.063%); C, D – vacuolation of the cytoplasm.

**Tabela 3.** Obniżanie stężenia związków lotnych nad pomiotem drobiowym po zastosowaniu kolejno: *Y. schidigera*, a następnie biopreparatu po 48 godz. dezodoryzacji

**Table 3.** Reducing the concentration of volatile compounds in the poultry manure after application in sequence: *Y. schidigera* and biopreparation after 48 hours. deodorization

Obniżanie stężenia związków lotnych [%]					
Próba badana	Amoniak	Dimetyloamina	Trimetyloamina	Kwas izomasłowy	Siarkowodor
Pomiot 48 godz.	40,0	38,0	39,0	32,6	21,0
Pomiot 144 godz.	54,1	59,5	54,3	42,7	34,7
Pomiot + <i>Yucca</i> 48 godz.	66,3	48,3	62,4	42,2	29,0
Pomiot + <i>Yucca</i> + biopreparat 144 godz.	72,5	72,3	70,7	56,3	37,7

dzące pod wpływem odorów potwierdziły ich cytotoksyczne działanie.

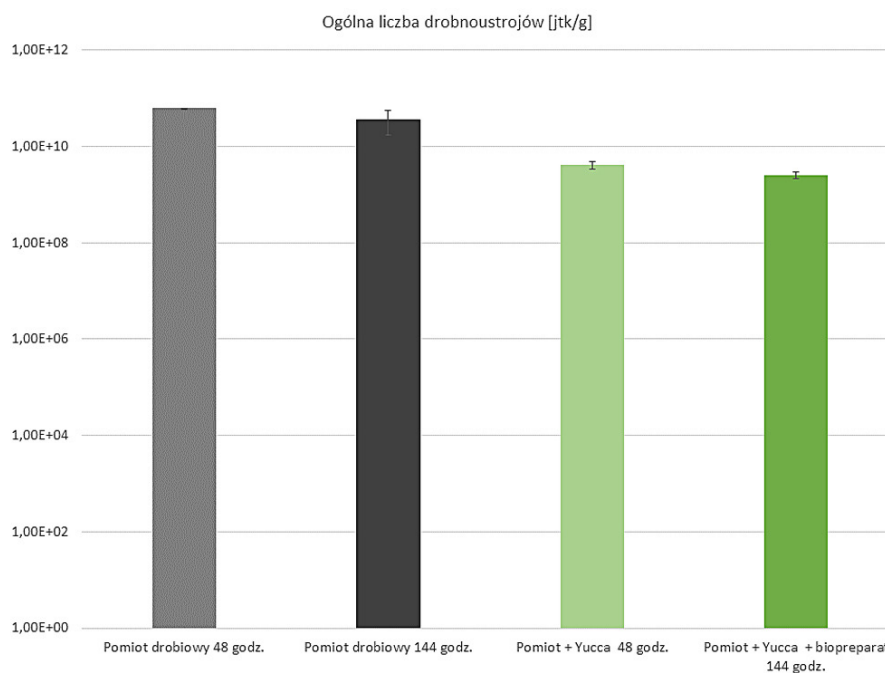
W tabeli 3 przedstawiono efektywność biopreparatu i ekstraktu roślinnego w obniżaniu stężenia wybranych związków lotnych.

Badanie stężenia lotnych związków odorowych nad pomiotem drobiowym wykazało, iż *Y. schidigera* posiada silne właściwości dezodoryzujące pomiot drobiowy. Obniżanie stężenia po zastosowaniu ekstraktu roślinnego (48 godzina procesu dezodoryzacji) dla amoniaku było na poziomie 66,3%, dimetyloaminy – 48,3%, trimetyloaminy – 62,4%, kwasu izomasłowego – 42,2%, a siarkowodoru – 29,%. Zastosowanie w kolejnym etapie – po 48 godz. biopreparatu do pomiotu drobiowego spowodowało zwiększenie efektu obniżania stężenia lotnych związków odorowych.

Procent obniżania stężenia amoniaku, trimetyloaminy oraz dimetyloaminy wynosił około 70%, natomiast kwasu izomasłowego 56%, a siarkowodoru 37% (144 godz.).

Na kolejnym wykresie przedstawiono wpływ *Y. schidigera* i biopreparatu na ogólną liczbę mikroorganizmów w pomiole drobiowym.

Badano wpływ ekstraktu roślinnego *Yucca schidigera* oraz biopreparatu zastosowanych w różnym czasie na obniżanie ogólnej liczby drobnoustrojów w pomiole drobiowym. Próbę kontrolną stanowiła mikroflora pomiotu drobiowego w komorze laboratoryjnej po 48 i 144 godzinach. Próby właściwe natomiast stanowił pomiot kur niosek po zastosowaniu ekstraktu *Yucca schidigera* po 48 godzinach oraz obu dodatków (biopreparatu i ekstraktu *Y. schidigera*). Ekstrakt



**Rys. 4.** Ogólna liczba drobnoustrojów w pomiole drobiowym po zastosowaniu biopreparatu i ekstraktu roślinnego *Yucca schidigera* po dezodoryzacji

**Fig. 4.** Total number of microorganisms in poultry manure after deodorization with biopreparation and plant extract *Yucca schidigera*



roślinny *Yucca schidigera* wpływał pozytywnie na higienizację pomiotu drobiowego zmniejszając ogólną liczbę drobnoustrojów o ponad 1 rząd wielkości z poziomu  $6,20 \times 10^{10}$  jtk/g do poziomu  $4,13 \times 10^9$  jtk/g. Następnie po 48 godzinach dodano biopreparat do komory laboratoryjnej, zastosowanie obu dodatków nie spowodowało jednak zwiększenia efektywności w hamowaniu rozwoju drobnoustrojów. Mimo tego, stopień higienizacji pomiotu po zastosowaniu obu składników rozdzielonych w czasie był nieco wyższy niż w przypadku zastosowania obu składników jednocześnie do pomiotu.

## WNIOSKI

Ze względu na specyfikę ferm drobiowych (obecność fragmentów ściółki, naskórka i piór ptaków, resztek paszy w powietrzu) w pomieszczeniach inwentarskich występuje wysokie zapylenie, szczególnie frakcja pyłu  $PM_{10}$ . Odnotowane stężenia frakcji  $PM_{2,5}$  i  $PM_{10}$  były 18–20 razy wyższe niż dopuszczalne dla 24-godzinnej ekspozycji określone przez Światową Organizację Zdrowia. Pomiot drobiowy oraz pył osiadły w pomieszczeniach inwentarskich stanowią korzystne środowisko do rozwoju mikroorganizmów ( $10^6$ – $10^{10}$  jtk/g). Nie odnotowano przekroczenia limitu dotyczącego liczby bakterii i grzybów w powietrzu na fermie drobiu proponowanego dla stanowisk pracy zanieczyszczonych pyłem organicznym przez Zespołu Ekspertów ds. Czynniki Biologiczne Międzyresortowej Komisji ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynniki Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy. Zaobserwowano zmienność stężeń poszczególnych związków odorowych w zależności od rodzaju fermy i etapu cyklu produkcyjnego. Zanotowano na fermach drobiu następujące związki: amoniak, akroleinę, metyloaminę, kwas octowy, aldehyd octowy i formaldehyd. Dopuszczalne stężenie amoniaku w powietrzu zostało przekroczone na fermie kur niosek I i II, natomiast stężenie dwutlenku węgla przekroczyło dopuszczalną wartość w trzecim etapie cyklu produkcyjnego na fermie brojlerów III i było zbliżone do limitu na fermie niosek I. Zmiany morfologiczne w komórkach LMH zachodzące pod wpływem mieszaniny odorów z nad pomiotu kurzego potwierdziły ich cytotoksyczne działanie. Dodatek ekstraktu roślinnego *Yucca schidigera* do pomiotu drobiowego i następnie

użycie po 48 godzinach biopreparatu mineralno-mikrobiologicznego zapewniało zmniejszenie ogólnej liczby drobnoustrojów o około 1 rząd wielkości w pomociu drobiowym i obniżenie stężenia związków odorowych o 37–70% w zależności od związku. Opracowany biopreparat mineralno-mikrobiologiczny zawierający ekstrakt roślinny może być skutecznym sposobem ograniczania zagrożeń mikrobiologicznych i odorowych na fermach drobiu.

## Podziękowania

Badania były finansowane w ramach projektu badawczego PBS2/B8/14/2014 „Innowacyjny biopreparat deodoryzujący dla drobiarskich pomieszczeń produkcyjnych” finansowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju

## LITERATURA

1. Cheeke P.R., Otero R. 2005. *Yucca*, quillaja may have role in animal nutrition. *Feedstuffs*, 77, 11–14.
2. Donham K.J., Cumro D., Reynolds S.J., Merchant J.A. 2000. Dose-response relationships between occupational aerosol exposures and cross-shift declines of lung function in poultry workers: Recommendations for exposure limits. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 42, 260–269
3. Dumont E., Hamon L., Lagadec S., Landrain P., Landrain B., Andres Y. 2014. NH<sub>3</sub> biofiltration of piggery air. *Journal of Environmental Management*, 140, 26–32.
4. Dutkiewicz J., Śpiewak R., Jabłoński L., Szymańska J. 2007. Biological Occupational Risk Factors. Classification, Exposed Occupational Groups, Measurement, Prevention; Ad Punctum: Lublin, Poland.
5. Dyrektywa 2000/54/EC Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 18 września 2000, w sprawie ochrony pracowników przed ryzykiem związanym z narażeniem na działanie czynników biologicznych w miejscu pracy (siódma dyrektywa szczegółowa w rozumieniu art. 16 ust. 1 dyrektywy 89/391/EWG)
6. Dyrektywa 2007/43/EC Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 czerwca 2007, w sprawie minimalnych zasad dotyczących ochrony kurcząt utrzymywanych z przeznaczeniem na produkcję mięsa
7. Gutarowska B., Matusiak K., Rajkowska A., Borowski S., Brycki B. 2014. Removal of odorous compounds from poultry manure by microorganisms on perlite-bentonite carrier. *Journal of Environmental Management*, 141, 70–76.

8. Herron S.L., Brye K.R., Sharpley A.N., Miller D.M., Daniels M.B. 2015. Nutrient composition of dust emitted from poultry broiler houses in Northwest Arkansas. *Journal of Environmental Protection*, 6, 1257–1267.
9. Jaber M.B., Anet B., Amrane A., Couriol C., Lendormi T., Le Cloirec P., Cogne G., Fillicres R. 2014. Impact of nutrients supply and pH changes on the elimination of hydrogen sulfide, dimethyl disulfide and ethanethiol by biofiltration. *Chemical Engineering Journal*, 258, 420–426.
10. Lugauskas A., Krikstaponis A., Sveistyte L. 2004. Airborne fungi in industrial environments: Potential agents of respiratory diseases. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 11, 19–25.
11. Matusiak K., Oleksy M., Borowski S., Nowak A., Korczyński M., Dobrzański Z., Gutarowska B. 2016. The use of *Yucca schidigera* and microbial preparation for poultry manure deodorization and hygienization *Journal of Environmental Management*, 170, 50–59 doi: 10.1016/j.jenvman.2016.01.007
12. Matusiak K., Borowski S., Opaliński S., Bakula T., Kołacz R., Gutarowska B. 2015. Impact of a microbial-mineral biopreparation on microbial community and deodorization of manures. *Acta Biochemica Polonica*, 62, 791–798 [http://dx.doi.org/10.18388/abp.2015\\_1135](http://dx.doi.org/10.18388/abp.2015_1135)
13. Nimmermark S., Lund V., Gustafsson G., Eduard W. 2009. Ammonia, dust and bacteria in welfare-oriented systems for laying hens. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 16, 103–113.
14. Oleksy M., Dobrzański Z., Matusiak K., Borowski S., Gutarowska B., Korczyński M. 2015. Fizykochemiczne i biologiczne metody dezodoryzacji. *Aspekty teoretyczne i praktyczne. Przemysł chemiczny*, (94)12, 2263–2269 doi: 10.15199/62.2015.12.36
15. Piacente S., Pizza C., Oleszek W. 2005. Saponins and phenolics of *Yucca schidigera* Roetzl: chemistry and bioactivity. *Phytochemistry Reviews*, 4, 177–190.
16. Powers, W.J. 1991. Odor control for livestock systems. *Journal of Animal Science* 77, 169–175.
17. Rappert S., Müller R. 2005. Microbial degradation of selected odorous substances. *Waste Management*, 25, 940–954. doi:10.1016/j.wasman.2005.07.015.
18. Rimac D., Macan J., Varnai V.M., Vucemilo M., Matkovic K., Prester L., Orcic T., Trosic I., Pavicic I. 2010. Exposure to poultry dust and health effects in poultry workers: Impact of mould and mite allergens. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 83, 9–19.
19. Skowroń J., Górny R. 2014. Szkodliwe czynniki biologiczne w: Czynniki szkodliwe w środowisku pracy: wartości dopuszczalne red. Augustyńska D., Pośniak M. Międzyresortowa Komisja ds. Najwyższych Dopuszczalnych Stężeń i Natężeń Czynników Szkodliwych dla Zdrowia w Środowisku Pracy., Warszawa: CIOP-PIB.
20. Varel V.H. 2002. Livestock manure odor abatement with plant-derived oils and nitrogen conservation with urease inhibitors: A review *Journal of Animal Science*, 80 (E. Suppl. 2): E1–E7.
21. Wang Y., Mcallister T.A., Yanke L.J., Cheeke P.R. 2001. Effect of steroidal saponin from *Yucca schidigera* extract on ruminal microbes. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 887–896.
22. World Health Organization (WHO) 2005. Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide. Global update Germany: Druckpartner Moser.
23. Yan Z., Liu X., Yuan Y., Liao Y., Li X. 2013. Deodorization study of the swine manure with two yeast strains. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 18, 135–143.
24. Zhang Z.F., Kim I.H. 2014. Effects of multistrain probiotics on growth performance apparent ileal nutrient digestibility blood characteristics cecal microbial shedding and excreta odor contents in broilers. *Poultry Science*, 93, 364–370. doi: 10.3382/ps.2013–03314.