

# Wpływ procesu kompostowania bioodpadów w kontenerowej technologii Kneer na inaktywację jaj glist *Ascaris suum*

BEATA SZALA, ZBIGNIEW PALUSZAK

Katedra Mikrobiologii Wydziału Rolniczego UTP, ul. Bernardyńska 6/8, 85-029 Bydgoszcz

Szala B., Paluszak Z.

## Effects of the composting process of biowaste by Kneer container technology on the inactivation of helminth *Ascaris suum* eggs

### Summary

The aim of the study was to evaluate the inactivation of *Ascaris suum* eggs during composting waste from municipal green areas with the addition of sewage sludge from Kneer container technology. Carriers with parasite eggs were placed in the top, medium and bottom layers of the composted biomass. Analyses showed distinct differences in egg inactivation in particular biomass layers. *Ascaris suum* eggs survived longest at the bottom – from 3 days in the summer cycle to 161 days in the spring cycle. The egg's elimination rate in the summer cycle was remarkably higher than in the spring. No eggs able to develop further were detected at all the tested layers of the biomass after 4 days, while in spring the survival rate based on a calculation regression lines ranged from 20 to 161 days.

**Keywords:** *Ascaris suum*, composting, sewage sludge

Inaktywacja mikroorganizmów patogennych oraz jaj pasożytów jelitowych jest istotnym aspektem higienizacji zachodzącej podczas procesu kompostowania. Zagadnienie to ma szczególne znaczenie wówczas, gdy do biomasy dodawany jest osad ściekowy, który często zawiera jaja pasożytów z rodzaju *Ascaris*, *Trichuris* i *Toxocara* (1, 12, 13). Jakkolwiek pasożyty jelitowe nie mają zdolności do rozwoju poza organizmem swego gospodarza, to ich jaja mogą przetrwać w różnych warunkach środowiska przez długi okres (3, 5, 6). Wielu autorów zwraca uwagę na dużą odporność jaj na niekorzystne czynniki środowiska, w tym wysoką temperaturę (18, 20-22). Jest to związane, między innymi, z wielowarstwową budową ich osłon oraz selektywną przepuszczalnością (23).

Osad poddany nieprawidłowo przeprowadzonemu procesowi kompostowania, stanowi ryzyko dla zdrowia ludzi i zwierząt, w przypadku jego zastosowania do celów nawozowych. Dlatego ocena skuteczności higienizacyjnej technologii stosowanych w procesie jego uzdatniania jest szczególnie ważna ze względu na biobezpieczeństwo środowiska (14, 15).

Celem badań było określenie skuteczności inaktywacji jaj glist *Ascaris suum* w trakcie przebiegu procesu kompostowania w technologii kontenerowej Kneer. Jest to jedna ze stosowanych technologii umożliwiających kompostowanie odpadów zielonych zmieszanych z osadem pościekowym.

### Materiał i metody

Odpowiednio rozdrobniony i zmieszany materiał, składający się z odpadów z miejskich terenów zielonych, zrębek oraz osadu pościekowego, zmieszanych w proporcjach  $\frac{2}{3} : \frac{1}{3} : 1$ , umieszczano w kontenerach, w których przez około 14 dni odbywała się faza intensywnego kompostowania. Następnie biomase wysypywano z kontenerów i formowano z niej pryzmę, którą co dwa tygodnie mechanicznie przetrucano. Faza dojrzewania biomasy trwała około 4-6 tygodni.

Stopień higienizacji odpadów poddanych procesowi kompostowania w technologii Kneer badano w oparciu o inaktywację jaj *Ascaris suum*. Jaja pozyskiwano z wy-preparowanych macic dojrzałych płciowo osobników żeńskich. Z fragmentów macic wyciskano je za pomocą bagietki do roztworu soli fizjologicznej na płycie Petriego. Następnie sterylną pipetą wprowadzano po 1 ml ich zawiesiny do perlonowych woreczków o średnicy por 28  $\mu\text{m}$ , które szczelnie zawiązywano i umieszczano w specjalnych siatkach. Tak przygotowane nośniki umieszczano w kompostowanym materiale w kontenerze w górnej, środkowej i dolnej warstwie biomasy. W czasie fazy intensywnego kompostowania nośniki kilkakrotnie wyjmowano z każdej warstwy w celu oznaczenia żywotności jaj *Ascaris suum*.

Po uformowaniu pryzmy, część nośników przenoszono do niej z kontenera oraz wprowadzano dodatkowe nośniki zawierające jaja nicienia *Ascaris suum*. W odstępach kilku lub kilkunastodniowych wyjmowano perlonowe woreczki z zawieszoną jaj, rozcinano je i układano wewnętrzną stroną w jałowych płytkach Petriego. Woreczki zalewano wodą i inkubowano przez 30 dni w temperaturze 28°C. Płytki otwierano w celu dostarczenia tlenu oraz uzupełniano wodą. Po zakończonej inkubacji obserwowano 300 jaj pod mikroskopem i obliczano odsetek jaj inwazyjnych, zawierających żywą larwę. Próbkę kontrolną stanowiły jaja inkubowane tuż po pobraniu z fragmentów macic *Ascaris suum*. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej z wykorzystaniem programu Statistica. Wykreślono proste regresji i na ich podstawie wyliczono teoretyczny czas potrzebny do inaktywacji jaj *Ascaris suum*. Badania przeprowadzono w cyklu wiosennym i letnim.

### Wyniki i omówienie

Dynamikę inaktywacji jaj glist *Ascaris suum* podczas procesu kompostowania przedstawiono w tab. 1-3.

W cyklu letnim uzyskano całkowitą inaktywację jaj już w trakcie fazy intensywnego kompostowania w kontenerach. Po 4 dniach procesu nie stwierdzono obecności żywych jaj w żadnej z badanych warstw biomasy (tab. 2).

Eliminacja żywych jaj w cyklu wiosennym była zróżnicowana i zależała od ich umiejscowienia w badanej biomacie. W kontenerze I najszybciej obumierały w części górnej i środkowej – po 22 i 23 dniach. Zdecydowanie dłużej zachowały swoją inwazyjność w warstwie dolnej – 59 dni (tab. 1). Podobnie w kontenerze II, w górnych warstwach biomasy, po 14 dniach procesu kompostowania wykryto w nośnikach jeszcze 40% inwazyjnych jaj *Ascaris suum*, natomiast w 19. dniu badania wykazały już całkowitą utratę ich aktywności (tab. 2). Jaja glisty świńskiej utrzymywały najdłużej swoją żywotność w warstwie dolnej, bowiem po 34 dniach procesu kompostowania stwierdzono, że aż 80% jaj zachowała zdolność do dalszego przeobrażenia, a wyliczony na podstawie prostych regresji teoretyczny czas ich całkowitej inaktywacji wynosił 161 dni (tab. 1, 2).

Określając właściwości higienizacyjne procesu kompostowania w pryzmie, stwierdzono, że w nowych nośnikach, dodatkowo umieszczo-

Tab. 1. Dynamika eliminacji jaj *Ascaris suum* w kompostowanej biomacie

Cykl badań	Lokalizacja nośników	Warstwy biomasy	Równania regresji*	r <sup>2</sup> (%)	Przeżywalność (dni)
Wiosna	kontener I	góra	$y = -4,51x + 101,41$	84,64	22
		środek	$y = -4,81x + 111,43$	81,00	23
		dół	$y = -1,72x + 102,24$	96,04	59
	kontener II	góra	$y = -4,60x + 92,26$	90,25	20
		środek	$y = -4,85x + 97,99$	96,04	20
		dół	$y = -0,62x + 100,02$	82,81	161
pryzma	góra	-	-	ns (po 5 dniach)	
	środek	-	-	ns (po 5 dniach)	
	dół	$y = -1,56x + 99,94$	92,16	64	
Lato	kontener I	góra	-	-	ns (po 1 dniu)
		środek	-	-	ns (po 1 dniu)
		dół	$y = -23,14x + 78,00$	75,69	3
	kontener II	góra	-	-	ns (po 1 dniu)
		środek	-	-	ns (po 1 dniu)
		dół	-	-	ns (po 2 dniach)
	pryzma	góra	-	-	ns (po 2 dniach)
		środek	-	-	ns (po 2 dniach)
		dół	-	-	ns (po 2 dniach)

Objaśnienia: \* – równanie regresji  $y = ax + b$ , gdzie a – inaktywacja jaj w ciągu jednego dnia, x – czas w dniach, b – odsetek jaj żywych w początkowej fazie doświadczenia; ns – nie stwierdzono żywych jaj

nych w górnej i środkowej części biomasy, jaja *Ascaris suum* ginęły już po 5 dniach (tab. 3). Natomiast w części dolnej pryzmy przeżywalność była około trzykrotnie dłuższa niż w warstwie górnej i środkowej (tab. 1).

Zaobserwowane zjawisko zróżnicowanego tempa eliminacji jaj było prawdopodobnie związane z nierównomiernym rozkładem temperatury w kompostowanej biomacie. Brak fazy termofilnej w dolnej warstwie materiału wpłynął negatywnie na higienizację

Tab. 2. Przeżywalność jaj *Ascaris suum* w nośnikach w kontenerze i pryzmie (%)

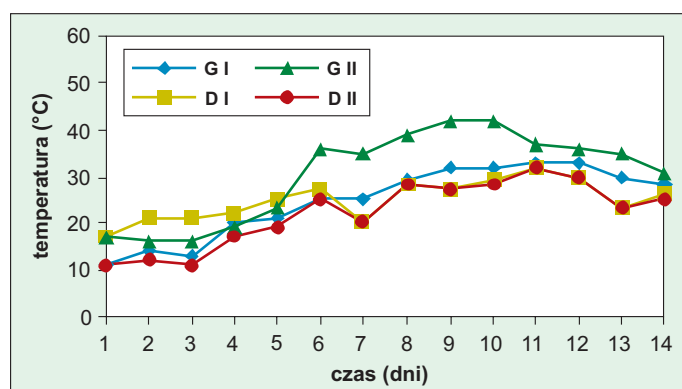
Cykl badań	Lokalizacja nośników	Warstwy biomasy	Terminy pobierania próbek (dni)						
			w kontenerach				w pryzmie (po przeniesieniu nośników z kontenerów)		
			0	5	9	14	19	23	34
Wiosna	I kontener	góra		70	65	60	0	0	0
		środek	100	93	70	68	0	0	0
		dół		91	87	84	70	65	40
	II kontener	góra		55	50	40	0	0	0
		środek	100	67	55	40	0	0	0
		dół		95	95	94	92	80	80
Lato	I kontener	góra	0	1	2	4	-*	-*	-*
		środek	100	0	0	0	-	-	-
		dół		40	10	0	-	-	-
	II kontener	góra		0	0	0	-	-	-
		środek	100	0	0	0	-	-	-
		dół		45	0	0	-	-	-

Objaśnienia: \* – nie kontynuowano doświadczenia z powodu braku żywych jaj w nośnikach

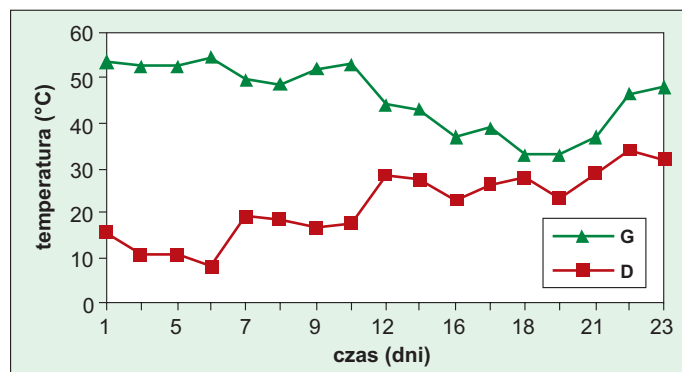
Tab. 3. Przeżywalność jaj *Ascaris suum* w dodatkowych nośnikach umieszczonych w przyzmi (%)

Cykl badań	Lokalizacja nośników	Warstwy biomasy	Terminy pobierania próbek (dni)				
			0	5	9	20	23
Wiosna	pryzma	góra		0	0	0	0
		środek	100	0	0	0	0
		dół		97	80	67	67
			0	2	–*	–*	–*
Lato	pryzma	góra		0	–	–	–
		środek	100	0	–	–	–
		dół		0	–	–	–

Objaśnienia: \* – jak w tab. 2.



Ryc. 1. Rozkład temperatury w warstwie górnej (G) i dolnej (D) kompostowanej biomasy, w kontenerze I i II w cyklu wiosennym

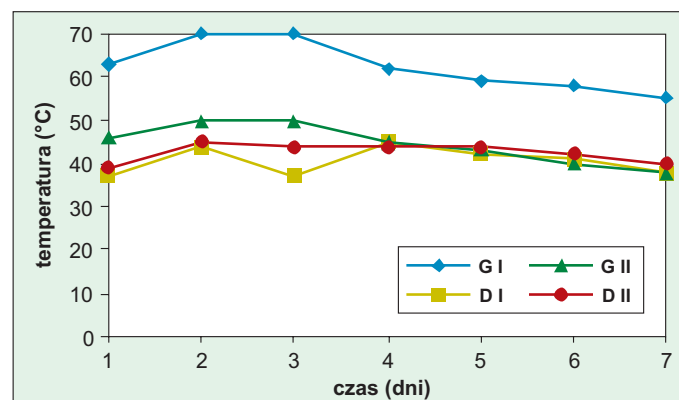


Ryc. 2. Rozkład temperatury w warstwie górnej (G) i dolnej (D) kompostowanej biomasy w przyzmi w cyklu wiosennym

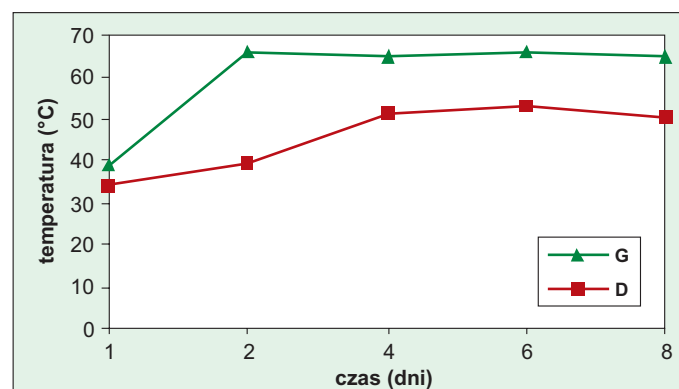
biomasy (ryc. 1, 2). Trudności w uzyskaniu jednolitego rozkładu ciepła we wszystkich częściach kompostowanego materiału zaobserwował również w swoich badaniach Gaspard (12). Wykazał on, że w takich warunkach jaja *Ascaris* mogą zachować zdolność do rozwoju nawet po 30 dniach kompostowania, mimo, że temperatura, w niektórych warstwach przyzmy, osiągała wartości 60-70°C. Doświadczenia prowadzone w trakcie długotrwałego składowania osadu, przy niskiej temperaturze nie przekraczającej 21°C, również potwierdzają wysoką przeżywalność (80-99%) w takich warunkach jaja *A. suum* (2).

Zdecydowanie najlepszą higienizację kompostowanego materiału uzyskano w cyklu letnim. Wysoka temperatura generowana podczas procesu spowodowała, że po 24 godzinach w kontenerach i 48 godzinach w przyzmi jaja zostały całkowicie inaktywowane (ryc. 3, 4). Wyjątek stanowiły nośniki z dolnej części kontenerów, gdzie eliminację jaj pasożytów stwierdzono po 2 i 3 dobach od rozpoczęcia procesu kompostowania (tab. 1). Uzyskane wyniki wyraźnie świadczą o istotnym wpływie fazy termofilnej na proces sanitacji materiału skażonego jajami pasożytów jelitowych. Wielu autorów podkreśla również, że głównym czynnikiem higienizacyjnym w trakcie uzdatniania osadów ściekowych jest wysoka temperatura (17). Feachem (10) wskazuje, że inaktywacja jaj *Ascaris* następuje już po 10 dniach w temperaturze 55°C. Podobnie Carrington (5) letalny efekt działania temperatury 55°C uzyskał już po 4 godzinach prowadzonych doświadczeń. Gantzer (11) natomiast uważa, że osiągnięcie temperatury powyżej 45°C pozwala na otrzymanie higienicznego produktu.

Jakkolwiek, w fazie intensywnego kompostowania w kontenerach nie zawsze uzyskano odpowiednie wartości temperatury, to wraz z upływem czasu procentowa zawartość żywych jaj malała. Świadczy to o dodatkowym wpływie na jaja *A. suum* czynników innych niż temperatura. Wraz z przebiegiem procesu kompostowania pogarszają się warunki tlenowe bio-



Ryc. 3. Rozkład temperatury w warstwie górnej (G) i dolnej (D) kompostowanej biomasy w kontenerze I i II w cyklu letnim



Ryc. 4. Rozkład temperatury w warstwie górnej (G) i dolnej (D) kompostowanej biomasy w przyzmi w cyklu letnim

masy. Clark i Perry (7) dowiedli, że obniżona zawartość tlenu hamuje rozwój embrionalny jaj pasożytów jelitowych. Podobne wnioski przedstawił Pike (16), który stwierdził, że w czasie beztlenowego uzdatniania osadu w warunkach mezofilnych tylko 50% jaj *Ascaris* zachowało zdolność do dalszego rozwoju.

Należy podkreślić, że występowanie dużej liczby jaj *Ascaris* zarówno w ściekach, jak i osadach pościekowych oraz ich odporność na niekorzystne czynniki środowiska sprawia, że są one dobrymi wskaźnikami skażenia badanego materiału pasożytami jelitowymi (4, 19, 24). W przypadku wykorzystania osadów ściekowych w rolnictwie należy położyć szczególny nacisk na całkowitą inaktywację jaj tych pasożytów, poprzez odpowiednio prowadzony i kontrolowany proces uzdatniania bioodpadów (9).

Zastosowana metoda badań z wykorzystaniem jaj *Ascaris suum* umieszczonych w perlonowych woreczkach jest prostsza i równie skuteczna, jak tradycyjna metoda ich wykrywania w badanym środowisku. Jedynym mankamentem jest zmniejszony kontakt jaj ze środowiskiem kompostowanej biomasy. Eriksen (8) dowodzi bowiem, że ścisły kontakt jaj z osadem i ich równomierne rozproszczenie w materiale najskuteczniej hamuje ich rozwój.

Badania wykazały dużą skuteczność w inaktywacji jaj *Ascaris suum* procesu kompostowania w zastosowanej technologii kontenerowej typu Kneer. Należy jednak zwrócić uwagę na konieczność polepszenia warunków napowietrzenia, a tym samym uzyskania odpowiednio wysokiej temperatury w dolnej warstwie kompostowanej biomasy, w celu eliminowania zagrożenia skażenia środowiska.

## Piśmiennictwo

1. Barbier D., Perrine D., Duhamel C., Doublet R., Georges P.: Parasitic hazard with sewage sludge applied to land. *Appl. Environ. Microbiol.* 1990, 56, 1420-22.
2. Berggren I., Albiñ A., Johansson M.: The effect of temperature on the survival of pathogenic bacteria and *Ascaris suum* in stored sewage sludge, [w:] Sustainable organic waste management for environmental protection and food safety. T. 2. Scientific paper RAMIRAN conference, Spaine 6-9.10. 2004, s. 53-56.
3. Bergstrom K., Langeland G.: Survival of *Ascaris* eggs, *Salmonella* and fecal coli soil and on vegetables grown in infected soil. *Nord. Vet. Med.* 1981, 33, 23-32.
4. Capizzi S., Schwarthbrod J.: Surface properties of *Ascaris suum* eggs: hydrophobic potential and Lewis acid-base interactions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 2001, 22, 99-105.
5. Carrington E. G., Pike E. B., Auty D., Morris R.: Destruction of faecal bacteria, enteroviruses and ova of parasites in waste water sludge by aerobic thermophilic and anaerobic mesophilic digestion. *Water Sci. Technol.* 1991, 24, 377-380.
6. Christensen K. K., Carlsbæk M., Norgaard E., Warberg K. H., Venelampi O., Brøgger M.: Supervision of the sanitary quality of composting in the Nordic countries. Evaluation of 16 full-scale facilities. *Nordisk Ministerråd, København* 2002, 3-68.
7. Clark A. J., Perry R. N.: Egg shell permeability and hatching of *Ascaris suum*. *Parasitology* 1980, 80, 447-456.
8. Eriksen L., Andreasen P., Ilsoe B.: Inactivation of *Ascaris suum* eggs during storage in lime treated sewage sludge. *Wat. Res.* 1995, 30, 1026-1029.
9. Feachem R. G., Bradley D. J., Garelick H., Mara D. D.: Appropriate technology for water supply and sanitation: health aspects of excreta and sludge management – a state of the art review. T. 3, The World Bank, Washington DC 1980.
10. Feachem R., Bradley D., Garelick H., Mara D.: Sanitation and disease: Health Aspects of Excreta and Wastewater Management. John Wiley&Sons, Chichester 1983.
11. Gantzer C., Gaspard P., Galvez L., Huyard A., Dumouthier N., Schwartzbrod J.: Monitoring of bacteria and parasitological contamination during various treatment of sludge. *Wat. Res.* 2001, 35, 3763-3770.
12. Gaspard P. G., Wiart J., Schwartzbrod J.: Urban sludge reuse in agriculture: waste treatment and parasitological risk. *Bioresource Technol.* 1995, 52, 37-40.
13. Johnson P. W., Dixon R., Ross A. D.: An in-vitro test for assessing the viability of *Ascaris suum* eggs exposed to various sewage treatment processes. *International J. Parasitol.* 1998, 28, 627-633.
14. Paluszak Z., Bauza-Kaszewska J., Ligocka A.: Przeżywalność pałeczek *Salmonella senftenberg W<sub>775</sub>* w osadach pościekowych poddanych procesowi kompostowania. *Medycyna Wet.* 2003, 59, 239-242.
15. Paluszak Z., Ligocka A., Olszewska H.: Inaktywacja jaj *Ascaris suum* w kompostowanych osadach pościekowych. *Medycyna Wet.* 2003, 59, 154-156.
16. Pike E. B., Morris D. L., Carrington E. G.: Inactivation of ova of the parasites *Taenia saginata* and *Ascaris suum* during heated anaerobic digestion. *Wat. Pollut. Control.* 1983, 82, 501-509.
17. Plym-Forsell L.: Survival of *Salmonellas* and *Ascaris suum* eggs in a thermophilic biogas plant. *Acta Vet. Scand.* 1995, 36,79-85.
18. Schwartzbrod J., Gaspard P., Thiriat L.: Pathogenic micro-organisms in sludge and effect of various treatment processes for their removal. *Europ. Wat. Manager.* 1998, 1, 64-69.
19. Shamma M., Al-Adawi M. A.: The morphological changes of *Ascaris lumbricoides* ova in sewage sludge water treated by gamma irradiation. *Radiation Physics Chem.* 2002, 65, 277-279.
20. Strauch D.: Przeżywalność drobnoustrojów chorobotwórczych i pasożytów w wydalinach, nawozie i szlamie ściekowym. *Cz. I Medycyna Wet.* 1993, 49, 59-65.
21. Strauch D.: Przeżywalność drobnoustrojów chorobotwórczych i pasożytów w wydalinach, nawozie i szlamie ściekowym. *Cz. II Medycyna Wet.*, 1993, 49, 117-121.
22. Strauch D., Carrington E. G.: Hygienic aspect related to treatment and use of organic sludge and sanitary aspects of spreading of slurries and manures, [w:] Hall J. E., l'Hermite P., Newman P. J.: Treatment and use of sewage sludge and liquid agricultural wastes. Review of COST 68/681 programme, 1972-90, Luxembourg 1992, 112-143.
23. Wharton D. A.: Nematode eggs shells. *Parasitology* 1980, 81, 447-463.
24. Yeager J. G., O'Brien R. T.: Irradiation as a means to minimize public health risks from sludge-borne pathogens. *J. Wat. Pollut. Control Fed* 1883, 55, 977-983.

Adres autora: dr Beata Szala, ul. Bernardyńska 6/8, 85-029 Bydgoszcz; e-mail: mikro@utp.bydgoszcz.pl