

**mgr inż. Michał Grudziński**

**EFEKTYWNOŚĆ SANITYZACJI GNOJOWICY  
ŚWIŃSKIEJ I PRODUKCJI BIOGAZU  
W ZALEŻNOŚCI OD RODZAJU  
WYKORZYSTYWANYCH SUBSTRATÓW  
W BIOGAZOWNIACH ROLNICZYCH**

Praca doktorska wykonana w Katedrze Nauk  
o Zwierzętach Monogastrycznych  
pod kierunkiem  
**dr hab. inż. Arkadiusza Pietruszki, prof. ZUT**

Promotor pomocniczy:  
**dr hab. inż. Karol Fijałkowski, prof. ZUT**



## Spis treści

<b>1. Wstęp .....</b>	<b>7</b>
<b>2. Przegląd Piśmiennictwa.....</b>	<b>8</b>
<b>2.1. Chów i hodowla trzody chlewnej w Polsce .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1.1. Wielkotowarowa produkcja trzody chlewnej.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1.2. Bezściółkowy system chowu świń.....</b>	<b>10</b>
<b>2.1.3. Oddziaływanie wielkotowarowej produkcji trzody chlewnej na środowisko</b>	<b>11</b>
<b>2.2. Charakterystyka gnojowicy .....</b>	<b>14</b>
<b>2.2.1. Właściwości nawozowe gnojowicy .....</b>	<b>15</b>
<b>2.2.2. Mikrobiota gnojowicy .....</b>	<b>16</b>
2.2.2.1. Bakterie .....	16
2.2.2.2. Wirusy.....	18
2.2.2.3. Grzyby .....	18
<b>2.2.3. Pasożyty .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3. Produkcja biogazu .....</b>	<b>18</b>
<b>2.3.1. Biogaz jako źródło energii odnawialnej .....</b>	<b>20</b>
2.3.1.1. Kogeneracja energii elektrycznej i ciepłej z biogazu .....	21
<b>2.3.2. Przemysł biogazowy w Polsce i w Europie .....</b>	<b>21</b>
<b>2.3.3. Charakterystyka i przebieg procesu fermentacji metanowej .....</b>	<b>23</b>
2.3.3.1. Etapy fermentacji metanowej .....	23
2.3.3.2. Typy fermentacji metanowej .....	28
2.3.3.3. Substraty i produkty fermentacji metanowej .....	29
<b>2.3.4. Najważniejsze parametry fermentacji metanowej .....</b>	<b>31</b>
2.3.4.1. Stosunek węgla, azotu i fosforu w biomasie.....	31
2.3.4.2. Temperatura, pH i stężenie lotnych kwasów tłuszczowych .....	31
2.3.4.3. Obciążenie objętościowe reaktora i hydrauliczny czas retencji .....	33

2.3.5. Inhibitory procesu produkcji biogazu .....	34
2.4. Korzyści z przetwarzania odpadów z wykorzystaniem w fermentacji metanowej .....	35
2.4.1. Sanityzacja nawozów organicznych.....	35
2.4.2. Czynniki wpływające na redukcję patogenów w biogazowni .....	36
2.4.2.1. Temperatura i czas fermentacji.....	37
2.4.2.2. Typ fermentacji.....	38
2.4.2.3. Poziom lotnych kwasów tłuszczowych i pH .....	39
2.4.2.4. Naturalny antagonizm i konkurencja bakterii.....	39
2.4.3. Bakterie jako bioindykatory stanu sanitarnego biomasy .....	40
2.5. Uzasadnienie innowacyjnego charakteru pracy .....	41
3. Cel pracy .....	42
3.1. Hipoteza badawcza .....	42
4. Materiał i metody .....	43
4.1. Materiał badawczy.....	43
4.1.1 Charakterystyka wybranych biogazowni .....	43
4.1.1.1. Biogazownia w Świelinie .....	43
4.1.1.2. Biogazownia w Giżynie.....	44
4.1.2. Próby biologiczne .....	46
4.1.3. Parametry pracy biogazowni .....	47
4.2. Analizy fizykochemiczne .....	47
4.2.1. Zawartość suchej masy, suchej masy organicznej, popiołu surowego .....	48
4.2.2. Zawartość azotu amonowego .....	49
4.3. Analizy mikrobiologiczne.....	49
4.3.1. Przygotowanie materiału .....	50
4.3.2. Oznaczanie ilościowe wybranych grup bakterii.....	50
4.4. Opracowanie wyników analiz.....	54

4.4.1. Określenie efektywności sanityzacji biomasy wejściowej w biogazowniach	.54
4.4.2. Określenie wydajności procesu produkcji biogazu	.....54
4.4.3. Analizy statystyczne	.....56
<b>5. Wyniki i dyskusja</b>	<b>..... 57</b>
5.1. Podstawowy skład chemiczny	.....57
5.1.1. Skład gnojowicy świńskiej pochodzącej z fermy tuczu i z fermy matecznej	.57
5.1.2. Skład biomasy wejściowej	.....59
5.1.3. Skład pozostałości pofermentacyjnych	.....60
5.2. Wybrane parametry fermentacji metanowej w biogazowniach	.....60
5.3. Efektywność sanityzacji gnojowicy i biomasy wejściowej w biogazowni	.....63
5.3.1. Stopień redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów w gnojowicy i biomacie wejściowej w poszczególnych miesiącach doświadczenia	.....70
5.3.2. Stopień redukcji bakterii z rodziny <i>Enterobacteriaceae</i> w gnojowicy i biomacie wejściowej w poszczególnych miesiącach doświadczenia	.....71
5.3.3. Stopień redukcji <i>E. coli</i> w gnojowicy i biomacie wejściowej w poszczególnych miesiącach doświadczenia	.....73
5.3.4. Stopień redukcji <i>Hafnia alvei</i> w gnojowicy i biomacie wejściowej w poszczególnych miesiącach doświadczenia	.....74
5.3.5. Stopień redukcji bakterii z rodzaju <i>Enterococcus</i> w gnojowicy i biomacie wejściowej w poszczególnych miesiącach doświadczenia	.....76
5.4. Porównanie efektywności sanityzacji gnojowicy świńskiej między biogazowniami w Świelinie i w Giżynie	.....77
5.5. Wydajność procesu produkcji biogazu w zależności od biogazowni i wykorzystywanych w nich substratów	.....79
5.6. Efektywność sanityzacji biomasy wejściowej a wydajność produkcji biogazu, skład chemiczny biomasy oraz wartość parametrów fermentacji metanowej	.....82
<b>6. Podsumowanie i wnioski</b>	<b>..... 88</b>
<b>.7. Streszczenie w języku polskim</b>	<b>..... 89</b>

<b>8. Streszczenie w języku angielskim .....</b>	<b>92</b>
<b>9. Wykaz tabel .....</b>	<b>94</b>
<b>10. Wykaz rycin .....</b>	<b>96</b>
<b>11. Wykaz zdjęć .....</b>	<b>98</b>
<b>12. Piśmiennictwo .....</b>	<b>99</b>

## 1. WSTĘP

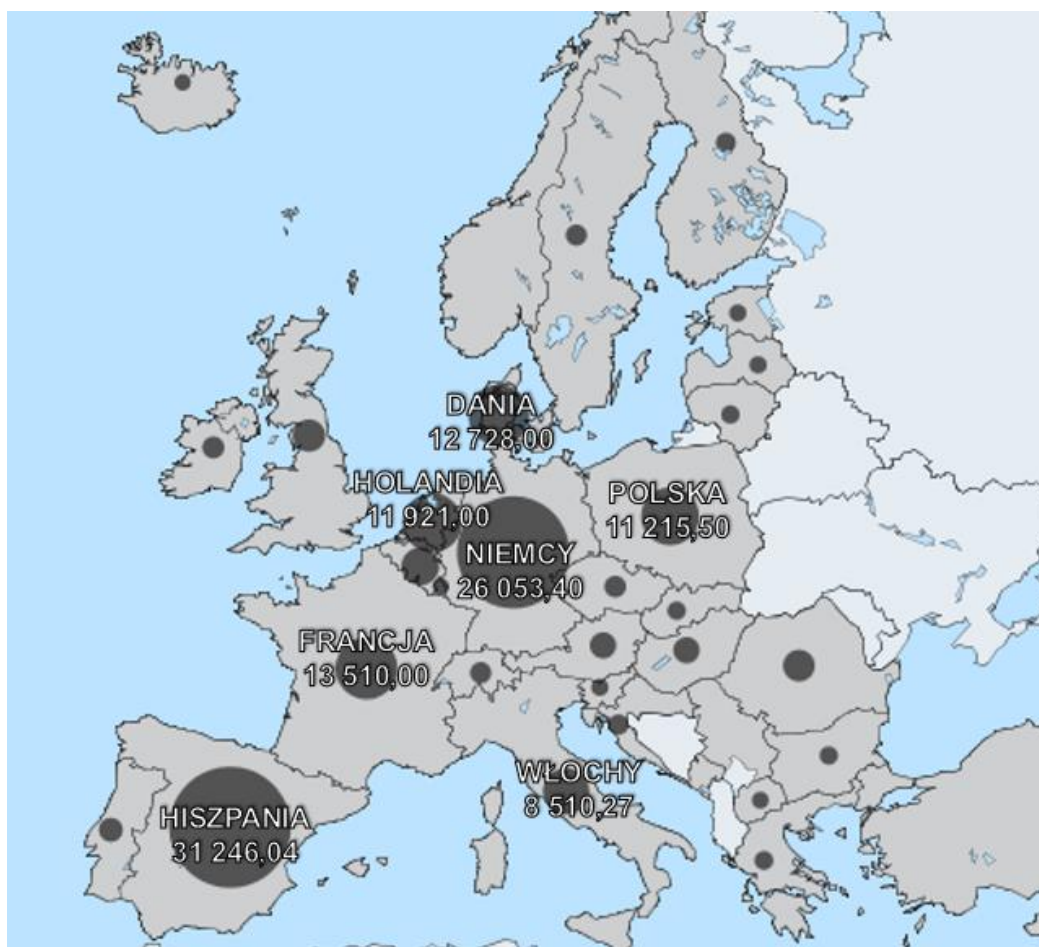
Ciągła intensyfikacja produkcji zwierzęcej może skutkować znaczną uciążliwością dla środowiska. Szczególnie uciążliwe są duże, wielkotowarowe fermy, które generują w całej Europie setki milionów ton odchodów rocznie, które trzeba zutylizować. Większość odchodów zagospodarowywana jest jako nawóz i trafia na pola uprawne poprzez rozlewanie powierzchniowe bądź aplikację doglebową. Jednak niekontrolowane stosowanie gnojowicy świńskiej w ten sposób może spowodować zagrożenie dla zdrowia ludzi i zwierząt. Wynika to z zawartości znacznych ilości drobnoustrojów, w tym chorobotwórczych bakterii, wirusów i grzybów, a także żywych jaj i oocyst pasożytów. Organizmy te szczególnie przyczyniają się do szerzenia zoonoz, epizootii i chorób inwazyjnych. Ponadto, ważny jest również aspekt środowiskowy. Duże ilości pierwiastków biogennych, w tym cechujące się dużą biodostępnością związki azotu i fosforu zawarte w aplikowanej na pola uprawne gnojowicy, mogą być przyczyną zanieczyszczenia gleb i wód. Poza tym, zagospodarowywana na użytkach rolnych gnojowica świńska jest źródłem emisji m.in. amoniaku, siarkowodoru, odorów oraz gazów cieplarnianych takich jak metan, tlenek azotu i dwutlenek węgla. Ze względu na to, że produkowane ilości gnojowicy znacznie przekraczają areal powierzchni pól uprawnych mogących bezpiecznie je przyjąć, istnieje potrzeba usprawniania i udoskonalania obecnie stosowanych technik i metod neutralizacji tego nawozu naturalnego. W przeciwnym wypadku procesy takie jak efekt cieplarniany i eutrofizacja wód powierzchniowych będą intensyfikowane, a groźne zakażenia i zatrucia jak to, które miało miejsce w latach 90 - tych w niemieckim przedszkolu będą się powtarzać. Przyczyną ostrego rozstroju żołądka u 66 dzieci okazała się bakteria *Citrobacter freundii* znajdująca się na warzywach z ogrodu nieodpowiednio nawożonego surową gnojowicą świńską.

Współczesna zootechnika obejmuje również takie zagadnienia jak zoohigiena i dążenie do zrównoważonej organizacji produkcji zwierzęcej, mającej jak najmniej negatywny wpływ na środowisko. Nieodzownym elementem tego procesu jest stosowanie wydajnych i ekologicznych metod utylizacji odchodów zwierzęcych. W niniejszej pracy podjęto próbę lepszego poznania procesu produkcji biogazu jako metody sanityzacji gnojowicy wytwarzanej przez różne, z punktu widzenia technologii produkcji, wielkotowarowe fermy trzody chlewnej. W większości przypadków literatura przedmiotu opisuje problemy badawcze związane z optymalizacją procesu produkcji biogazu pod kątem jej wydajności energetycznej, natomiast niniejsze opracowanie zorientowane jest na neutralizacji substratów wykorzystywanych w procesie fermentacji metanowej.

## 2. PRZEGLĄD PIŚMIENICTWA

### 2.1. Chów i hodowla trzody chlewnej w Polsce

Od 2006 roku Polska jest jednym z czołowych producentów mięsa wieprzowego w Unii Europejskiej. W 2019 roku Polska wytworzyła 8,35% całkowitej europejskiej produkcji wieprzowiny i zajmowała pod tym względem czwarte miejsce po Niemczech, Hiszpanii oraz Francji (Eurostat 2019). Jednocześnie, Polska plasowała się na szóstym miejscu pod względem pogłowia świń, które na dzień 1 grudnia 2019 roku wyniosło 11 215,5 tys. sztuk i wzrosło względem roku poprzedniego o 1,7% (Rycina 1.).

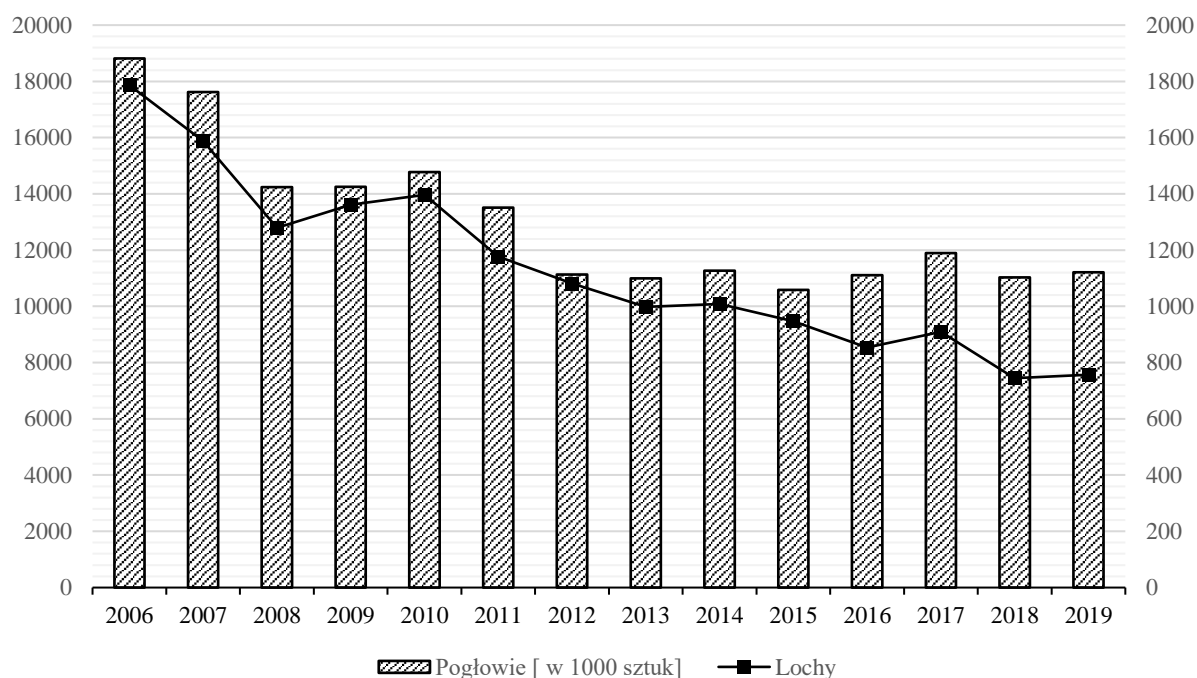


Rycina 1. Czołowi producenci mięsa wieprzowego w Europie w tys. sztuk – stan na 2019 rok (rysunek własny na podstawie danych EUROSTAT).

Wykres zmian w pogłowiu świń w skali rocznej w Polsce (Rycina 2.) pokazuje spadkowy trend w latach 2006 – 2013. Był on spowodowany w dużej mierze trzema głównymi czynnikami: społeczno – medialnym sprzeciwem wobec inwestycji w efektywne, wielkotowarowe ферmy trzody chlewnej, argumentowanym dużą szkodliwością tych obiektów



dla środowiska i złymi warunkami utrzymania zwierząt, wzrostem cen gruntów i nieruchomości rolnych spowodowanym wejściem w życie unijnych systemów wsparcia finansowego rolnictwa oraz uwarunkowaniami politycznymi w państwie (Thlon i in. 2016).



Rycina 2. Poglówie trzody chlewnej i loch w Polsce w latach 2006 - 2019 (wg. danych EUROSTAT i GUS).

W 2014 roku produkcja wieprzowiny ustabilizowała się, pogłowie zanotowało lekki wzrost, lecz polepszającą się koniunkturę dla producentów trzody zahamowało rosyjskie embargo na eksport mięsa wieprzowego oraz stanowiący duże zagrożenie problem występowania afrykańskiego pomoru świń (ang. *African swine fever* - ASF) (POLSUS 2013). Ciągły wzrost konsumpcji wieprzowiny w Polsce, który przypisuje się poprawie sytuacji ekonomicznej Polaków pozwolił zachować stabilny rynek. W Polsce spożycie wieprzowiny w ostatnich latach wahało się między 38 – 42 kg na osobę rocznie i stanowiło ponad 60% mięsa spożywanego w kraju (Szymańska 2019).

### 2.1.1. Wielkotowarowa produkcja trzody chlewnej

Dnia 24 września 1996 roku Parlament Europejski i Rada ustanowiły regulacje prawne mające na celu kontrolowanie oddziaływania produkcji zwierzęcej na środowisko. Wydając Dyrektywę 96/61/WE w sprawie zintegrowanego zapobiegania i ograniczania zanieczyszczeń (ang. *Integrated Pollution Prevention and Control* - IPPC) oraz później Dyrektywę 2010/75/UE z dnia 24 listopada 2010 r. w sprawie emisji przemysłowych (ang. *Industrial Emissions*

Directive - IED) narzucono obowiązek większej kontroli intensywnego chowu i hodowli zwierząt. Wymienione akty prawne definiują tzw. wielkotowarowe fermy, w których prowadzony jest intensywny chów zwierząt. W przypadku trzody chlewnej fermę taką stanowią obiekty dysponujące ponad 2 000 stanowisk dla świń o wadze ponad 30kg i/lub 750 macior. Takie obiekty wymagają uzyskania tzw. pozwolenia zintegrowanego (pozwolenie obejmujące wszystkie emisje zanieczyszczeń pochodzących z danej instalacji, do wszystkich komponentów środowiska). Unia Europejska zdefiniowała również termin najlepszych dostępnych technik (ang. Best Available Techniques - BAT). Mają one na celu zwiększenie użycia innowacyjnych sposobów redukcji zanieczyszczeń poprzez obowiązek wprowadzania limitów emisyjnych w pozwoleniu zintegrowanym, lecz bez narzucania rygoru technologicznego (Bielka i Pietruszka 2017).

### **2.1.2. Bezściółkowy system chowu świń**

Prowadzony na dużą skalę bezściółkowy system chowu zwierząt zdominował produkcję zwierzęcą. Polega on na stosowaniu w chlewni podłóg ażurowych (rusztowych bądź szczelinowych), które umożliwiają spływanie kału, moczu, wody oraz innych substancji do zbiorników umieszczonych pod podłogą. Podłogi ażurowe muszą być wykonane z odpowiednich materiałów (tworzywa sztuczne, beton, metal, włókno szklane) oraz mieć odpowiednią szerokość szczelin lub beleczek dostosowaną do wieku zwierząt. Przykładowy wygląd ażurowej podłogi w chlewniach przedstawiają zdjęcia 1 i 2.

Wybór bezściółkowego systemu chowu przez producentów związany jest zwykle z brakiem wystarczających ilości materiałów wyściełających (słomy), łatwiejszym utrzymaniem czystości w chlewniach oraz chęcią redukcji nakładów finansowych i pracy ludzkiej związanych z częstą wymianą ściółki. Ponadto, system umożliwia efektywną dezynfekcję stanowisk dla zwierząt i zmniejsza ryzyko rozprzestrzeniania się chorób (Winnicki i in. 2009).



Zdjęcie 1. Locha z prosiętami na podłodze ażurowej w kojcu porodowym (zdjęcie własne).

Ze względu na wyższe koszty inwestycyjne, systemy bezściółkowe są częściej stosowane w fermach wielkotowarowych aniżeli w indywidualnych, mniejszych gospodarstwach. W Polsce większość dużych ferm stosuje systemy bezściółkowe. Pomimo wielu zalet, system ten jest często krytykowany, ze względu na niski poziom dobrostanu zwierząt oraz konieczność przechowywania, zarządzania i wykorzystania gnojowicy (Marszałek i in. 2014). Z dokumentu referencyjnego BREF dotyczącego Najlepszych Dostępnych Technik (BAT) dla intensywnego chowu lub hodowli drobiu lub świń wynika, że stosowanie bezściółkowego systemu chowu jest jedną z najlepszych dostępnych technik redukcji emisji pyłów oraz substancji wydzielanych do środowiska z przetwarzania odchodów (Bielka i Pietruszka 2017).

### **2.1.3. Oddziaływanie wielkotowarowej produkcji trzody chlewnej na środowisko**

Ze względu na intensywność produkcji oraz znaczne skupienie dużej ilości zwierząt w jednym miejscu wielkotowarowe fermy stanowią istotną uciążliwość dla środowiska. W 2010 roku organ wykonawczy tzw. konwencji helsińskiej z 1974 roku – Komisja Ochrony

Środowiska Morskiego Bałtyku (HELCOM) uznał fermy wielkotowarowe za punktowe źródła zanieczyszczeń rolniczych (ang. agricultural point sources lub Hot Spot's) (Skorupski 2013).

Uciążliwość ferm wielkotowarowych dla środowiska związana jest głównie z produkowaniem dużych ilości gnojowicy oraz emisją gazów i substancji biogenych. Buelna i in. (2008) szacuje, że średnia ilość wyprodukowanej gnojowicy przez świnie na dobę stanowi około 7% masy jej ciała. Z tego wynika, że w Europie rocznie produkuje się około 150 mln ton gnojowicy świńskiej (Foged i in. 2011). Głównym sposobem zagospodarowania gnojowicy jest jej wykorzystanie jako nawozu naturalnego na użytkach rolnych. Niewłaściwe jej zagospodarowanie obniża jakość gleby, wód gruntowych, powietrza oraz zwiększa ryzyko rozprzestrzeniania się chorób.

Ze względu na duże ilości związków biogenych, w tym głównie związków azotu ( $1500 - 9200 \text{ mg/dm}^3$ ) i fosforu ( $220 - 2500 \text{ mg/dm}^3$ ) gnojowica świńska aplikowana na pola w nadmiarze, o nieprawidłowej porze roku lub w niewłaściwy sposób może spowodować zanieczyszczenie gleb, wód gruntowych i powierzchniowych. Biogeny, które spływają do cieków wodnych mogą być przyczyną groźnego, z ekologicznego punktu widzenia, zjawiska eutrofizacji (użyźniania zbiorników wodnych). Ponadto niewłaściwe stosowanie gnojowicy może przyczyniać się do występowania azotanów, azotynów i fosforanów w pobliskich ujęciach wody pitnej w stężeniach zagrażających zdrowiu człowieka (Marszałek i in. 2011; Zbytek 2008).

Intensywna produkcja zwierzęca przyczynia się też do emisji gazów cieplarnianych. Trzoda chlewna nie odgrywa tutaj tak dużego znaczenia jak produkcja bydła, nie mniej jednak stanowi duży problem. Według Philippe i Nicks (2015) spośród wszystkich zwierząt gospodarskich w globalnej emisji gazów cieplarnianych największy udział przypada zwierzętom przeżuającym, który stanowi 79%. Na drugim miejscu pod tym względem są świnie z udziałem 13%, a trzecim drób z udziałem 8%. W całym cyklu produkcyjnym świń, okres tuczu odpowiada za ponad 70% całkowitej emisji gazów cieplarnianych, podczas gdy okres ciąży i laktacji odpowiada za około 20%, a odchów warchlaków za 10%. Wynika z tego, że wysiłki zmierzające do ograniczenia emisji gazów cieplarnianych powinny być skierowane przede wszystkim na fazę tuczu świń (Philippe i Nicks 2015).

Głównymi gazami cieplarnianymi pochodzącymi z produkcji rolniczej są tlenek azotu ( $\text{N}_2\text{O}$ ) powstający w trakcie nawożenia gleb gnojowicą, metan ( $\text{CH}_4$ ) powstający w procesie fermentacji jelitowej oraz  $\text{N}_2\text{O}$ , jak i  $\text{CH}_4$  wytwarzany podczas przechowywania gnojowicy (Rodhe i in. 2012). W Unii Europejskiej w 2016 roku emisja gazów cieplarnianych z rolnictwa osiągnęła ponad 413 mln ton ekwiwalentu  $\text{CO}_2$ , z czego 15,7% pochodziło z gnojowicy, w tym

5,8% z gnojowicy świńskiej. Udział emisji gazów cieplarnianych w Polsce w stosunku do całkowitej emisji tych gazów w Unii Europejskiej wynosił 7,3%, z czego 3,8% przypada na emisję pochodzącą z produkcji trzody chlewnej (FAOSTAT 2016).

Gazem uwalnianym podczas produkcji zwierzęcej w największych ilościach jest amoniak. Nie ma on potencjału cieplarnianego, wymienia się go natomiast jako główny czynnik zakwaszania atmosfery. Wraz ze związkami siarki przyczynia się on do powstawania kwaśnych deszczy oraz tworzenia się smogu (Philippe i in. 2011). Według Loyon i in. (2006) przechowywana gnojowica świńska emituje do atmosfery 5,7 gramów azotu w postaci amoniaku na m<sup>3</sup> na dobę.

Ważnym aspektem wywierania przez wielkotowarowe fermy trzody chlewnej uciążliwości dla środowiska, w szczególności lokalnego, są odory. Generowanie nieprzyjemnych zapachów jest złożonym procesem obejmującym zarówno reakcje biochemiczne jak i chemiczne, w których wytwarzany jest szeroki wachlarz lotnych związków organicznych. Związki zapachowe są wytwarzane w systemach przechowywania w wyniku rozkładu mieszaniny odchodów i moczu przez bakterie w warunkach beztlenowych. Związki te można podzielić na cztery różne klasy chemiczne: lotne kwasy tłuszczowe, indole i fenole takie jak skatol, krezol, amoniak i lotne aminy oraz lotne związki siarki takie jak siarczki i merkaptany. Wytwarzane są one przede wszystkim przez bakterie z rodzajów *Streptococcus*, *Eubacterium*, *Escherichia* i *Clostridium* (Marszałek i in. 2011; Zhu 2000). Badania nad intensywnością oraz czasem emitowania odorów przeprowadzone w Kanadzie pokazują, że aż 65% uciążliwości zapachowych pochodzi z gnojowicy aplikowanej do gleby, 20% bezpośrednio z ferm trzody, a w 15% z gnojowicy składowanej w otwartych lagunach (Buelna i in. 2008). Emisja odorów nie wiąże się jedynie z obniżeniem komfortu życia lokalnej ludności, lecz może być także przyczyną różnego rodzaju dolegliwości. Spośród znanych substancji powodujących uciążliwości zapachowe, minimum 30 z nich, np. merkaptany, aldehydy, ketony, związki alifatyczne, może powodować bóle głowy, podrażnienia błon śluzowych układu oddechowego, czy skóry (Skorupski 2013).

Kolejnym potencjalnym niebezpieczeństwem jakie niesie za sobą intensywna produkcja zwierzęca to duże ilości drobnoustrojów znajdujących się w gnojowicy, w tym bezwzględnych patogenów dla ludzi i zwierząt. Po przeniknięciu do wód gruntowych, drobnoustroje te mogą spowodować skażenie wody pitnej, stanowiąc źródło zagrożenie dla zdrowia i życia ludzi. Szczegółowy skład mikrobioty gnojowicy opisuje podrozdział 2.2.3.

Sposoby przeciwdziałania ww. uciążliwościom narzucają regulacje prawne na szczeblu unijnym, krajowym oraz lokalnym, takie jak wyżej wymienione ustawy IPCC oraz IED, jak również Ustawa o nawozach i nawożeniu.

## 2.2. Charakterystyka gnojowicy

Gnojowica jest płynną mieszaniną kału i moczu, która powstaje na skutek rozcieńczenia odchodów zwierzęcych wodą w procesie produkcyjnym w fermach stosujących bezściółkowy system chowu lub hodowli zwierząt (Zimny 2003).

W zależności od wieku, kierunku użytkowania i sposobu żywienia zwierząt, ilości zużytej wody, a także warunków przechowywania, skład podstawowy gnojowicy zmienia się (Weremko 2006). Najważniejszym jednak kryterium warunkującym skład gnojowicy jest gatunek zwierząt, od których ona pochodzi. Świnie będące zwierzętami monogastrycznymi produkują gnojowicę charakteryzującą się stosunkiem kału do moczu na poziomie 4:6.

W moczu składającym się w 96% z wody, wydalone są związki azotu w formie organicznej i nieorganicznej oraz witaminy, hormony, a także enzymy. W kale świń obecne są natomiast strawione i niestrawione pozostałości pobranej paszy, wydzieliny fizjologiczne, drobnoustroje i produkty przemian metabolicznych (Kutera 1994). Ze względu na zawartość suchej masy (s.m.) wyróżnia się gnojowicę gęstą, zawierającą więcej niż 8% s.m. i gnojowicę rzadką, zawierającą mniej niż 8% s.m. (Zimny 2003).

Tabela 1. Podstawowy skład i zawartość wybranych mikro - i makroelementów w gnojowicy świńskiej w zależności od wieku zwierząt (Marszałek i in. 2014)

Parametr	Średnia zawartość [% świeżej masy]			
	Prosięta	Warchlaki	Lochy	Tuczniki
Sucha masa	1,27	3,95	4,95	8,62
Sucha masa organiczna	0,85	2,98	3,76	6,37
Popiół surowy	0,42	0,97	1,19	2,25
Węgiel całkowity	0,47	1,72	2,00	3,35
Azot całkowity	0,20	0,40	0,43	0,57
Azot amonowy	0,16	0,25	0,24	0,27
Fosfor	0,02	0,07	0,10	0,12

Potas	0,12	0,16	0,17	0,36
Wapń	0,03	0,11	0,20	0,20
Magnez	0,02	0,04	0,04	0,05
Sód	0,03	0,03	0,04	0,06

Na parametry fizykochemiczne gnojowicy świńskiej mają wpływ następujące czynniki:

- ilość i rodzaj zawartych w niej substancji organicznych i nieorganicznych,
- zawartość wody,
- warunki i czas przechowywania (takie jak temperatura czy dostępność tlenu),
- procesy biologiczne i chemiczne zachodzące w przechowywanej gnojowicy.

Właściwości rzadkiej gnojowicy są zbliżone do właściwości płynów, zaś gnojowicy gęstej do substancji plastycznych. Gnojowica może być traktowana jako ciecz newtonowska, jeżeli zawiera nie więcej niż 5% s.m. Lepkość gnojowicy zwiększa się wraz ze wzrostem zawartości suchej masy, a gęstość zawiera się zwykle w przedziale 0,9 - 1,1 g/cm<sup>3</sup>, choć przyjmuje się dla uproszczenia, że 1 cm<sup>3</sup> gnojowicy waży 1 gram. Punkt zamarzania gnojowicy wynosi około - 2°C i maleje wraz ze wzrostem zawartości moczu oraz spadkiem zawartości wody. Przewodność elektryczna gnojowicy jest generalnie wysoka i zwiększa się wraz ze wzrostem zawartości suchej masy (Hus 1995; Kutera 1994).

### 2.2.1. Właściwości nawozowe gnojowicy

Użyteczność nawozu organicznego dla celów rolniczych określa się na podstawie jego podstawowego składu chemicznego, zawartości związków mineralnych oraz uwzględniając tzw. kryteria dodatkowe. Obejmują one głównie takie aspekty jak: warunki lokalne, warunki higieniczno-sanitarne, rodzaj gleb, na którym nawóz ma być stosowany, a także rodzaj planowanych pod uprawę roślin. Kryteria podstawowe, dotyczące składu chemicznego nawozu obejmują: zawartość związków azotowych, fosforowych i elementów śladowych. Kryteria dodatkowe dotyczą m. in. zawartości takich pierwiastków jak miedź, cynk, siarka czy wapń (Cebula 1980).

Ocenę właściwości nawozowych gnojowicy świńskiej pod względem ww. kryteriów raportuje Kwaśny i in. (2011). Według wspomnianych autorów, ze względu na wysoką zawartość azotu, występującego w formie nieorganicznej (dominuje forma amonowa – NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) i charakteryzującego się dużą biodostępnością, gnojowica świńska jest wartościowym nawozem, w kontekście kryterium azotowego lepszym nawet niż gnojowica bydłowa. Również

pod względem kryterium fosforowego gnojowicę uważa się za wartościowy nawóz, gdyż przeważające w gnojowicy formy nieorganiczne fosforu są dobrze wchłaniane przez rośliny. Sánchez i González (2005) w swojej pracy donoszą również o tym, że w aspekcie długoterminowym nawet organiczne frakcje fosforu, ulegając mineralizacji na skutek działania mikroorganizmów, stają się biodostępne dla roślin uprawnych. Pod względem zawartości innych mikro - i makroelementów gnojowica świńska jest dobrym źródłem potasu (K), wapnia (Ca), magnezu (Mg), a także miedzi (Cu), cynku (Zn), żelaza (Fe), manganu (Mn), molibdenu (Mo), kobaltu (Co) i seleniu (Se) (Sager 2007).

Używanie gnojowicy świńskiej jako nawozu w rolnictwie jest najbardziej poprawnym i naturalnym sposobem jej utylizacji, a przy tym ogranicza zużycie nawozów chemicznych, których zastosowanie generuje koszty i dodatkowo przyczyniają się do zwiększenia zanieczyszczenia środowiska w obszarach rolniczych. Biorąc pod uwagę zarówno wartość nawozową, ekologiczne podejście, jak i rosnące koszty stosowania nawozów chemicznych, zasadność użycia gnojowicy do nawożenia jest niepodważalna (Sánchez i González 2005).

### **2.2.2. Mikrobiota gnojowicy**

Gnojowica świńska jako produkt uboczny jest bardzo bogata w mikroorganizmy, szczególnie pochodzenia fekalnego (naturalna flora jelitowa zwierząt). Wiele badań dowodzi, że w 1 cm<sup>3</sup> gnojowicy świńskiej może znajdować się około 10<sup>9</sup> - 10<sup>10</sup> komórek bakteryjnych, przy czym są to jedynie bakterie tlenowe i względnie beztlenowe, wzrastające na podłożach mikrobiologicznych w warunkach laboratoryjnych (Hobson i Shaw 1974; Spoelstra 1978; Iannotti i in. 1982). W skład mikrobioty gnojowicy oprócz dominujących liczebnie bakterii wchodzi również archeony, wirusy, grzyby oraz mikroskopijne eukariotyczne organizmy jednokomórkowe, bądź wielokomórkowe. Skład ilościowy i jakościowy mikrobioty gnojowicy silnie uzależniony jest od warunków środowiskowych, wieku, stanu, gatunku a nawet rasy zwierząt, od których pochodzi nawóz oraz od jego fizykochemicznych właściwości (Strauch 1991).

#### **2.2.2.1. Bakterie**

Spośród wszystkich mikroorganizmów największy udział w mikrobiocie gnojowicy świńskiej przypada bakteriom pochodzącym z kału. Występują w niej zarówno bakterie saprofityczne, jak i względnie i bezwzględnie chorobotwórcze, niebezpieczne dla ludzi i zwierząt. Ze względu na duże ilości mocznika w gnojowicy obecne są bakterie amonifikujące



– wytwarzające ureazę. Są to m. in. bakterie z rodzajów *Pseudomonas*, *Proteus* i *Azotobacter*. (Skowron i in. 2015).

Gnojowica pochodząca od zdrowych zwierząt może zawierać nieznaczne ilości patogenów bezwzględnych. Warto jednak zwrócić uwagę, że znaczna część bakterii tworzących mikrobiotę jelitową to patogeny oportunistyczne, które w sprzyjających warunkach (np. osłabienie odporności) mogą stać się czynnikiem chorobotwórczym zarówno dla ludzi jak i zwierząt (Iannotti i in. 1982). Najczęściej i w największych ilościach występującymi bakteriami w gnojowicy są pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*, w szczególności różne szczepy *E. coli*. Co szczególnie niepokojące, w kale świń mogą występować również enterokrowtoczne serotypy *E. coli*, jak np. O157:H7 (Paton i Paton 1998, Guan i Holley 2003). Kolejnym gatunkiem bakterii z tej rodziny, który również może być obecny w gnojowicy jest *Salmonella* spp., w tym serotypy *S. Enteritidis* i *S. Typhimurium*. Bakterie z rodzaju *Salmonella* bytujące w gnojowicy ściśniętej mogą osiągać liczbę nawet  $10^2$  jtk/cm<sup>3</sup> (Paluszak 1998). Z pośród rodziny *Enterobacteriaceae*, rzadziej izolowane z tego nawozu są również bakterie należące do rodzajów *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, a także sporadycznie *Shigella*, mimo że to drobnoustrój charakterystyczny dla ludzkiego układu pokarmowego. Oprócz rodziny *Enterobacteriaceae* w dużych ilościach w gnojowicy można znaleźć *Hafnia* spp. oraz *Proteus* spp. – rodzaje bakterii bardzo rozpowszechnione w środowisku naturalnym, do niedawna zaliczane do rodziny *Enterobacteriaceae*, obecnie wyodrębnione do własnych rodzin (Adeolu i in. 2016). Dodatkowo, wśród pałeczek Gram-ujemnych występujących w gnojowicy w mniejszych ilościach wyróżnić można bakterie z rodzajów *Campylobacter* i *Yersinia* (Bicudo i Goyal 2003).

Kolejną grupę bakterii zasiedlających gnojowicę stanowią ziarniaki, w tym przede wszystkim paciorkowce i mniej licznie gronkowce. Oprócz paciorkowców z rodzaju *Streptococcus*, dominujące są enterokoki kałowe (*Enterococcus* spp.), w tym przede wszystkim gatunki *E. faecalis* oraz *E. faecium*, a także najbardziej charakterystyczny dla odpadów z hodowli drobiu, *E. durans* (Cotta i in. 2003; Byappanahalli i in. 2012).

Pozostałe bakterie Gram-dodatnie izolowane z gnojowicy to głównie laseczki z rodzaju *Bacillus*, maczugowce z rodzaju *Corynebacterium* oraz rzadziej, bezwzględnie beztlenowe bakterie z rodzaju *Clostridium*. Często występującą w gnojowicy Gram-dodatnią laseczką jest też *Listeria monocytogenes* (Ramaswamy i in. 2007).

#### 2.2.2.2. Wirusy

Mikroflora gnojowicy świńskiej zawiera również różnego rodzaju wirusy. Ziemer i in. (2010) przedstawia raport aktualnej wiedzy na temat obecności oraz przeżywalności wirusów w gnojowicy i podaje, że dominują w niej adenowirusy, parwowirusy, reowirusy i rinowirusy. Ponadto w gnojowicy stwierdza się obecność wirusa świńskiej i ludzkiej grypy, wirusa odzwierzęcego zapalenia wątroby typu E oraz kalciwirusy i koronawirusy (Derbyshire i Brown 1978). W gnojowicy sporadycznie stwierdza się także obecność wirusa choroby Aujeszky'ego, wirusa choroby Borna, wirusa choroby Mareka z rodziny *Herpesviridae*, wirusa choroby cieszyńskiej świń, wirusa afrykańskiego pomoru świń oraz wirusy pryszczycy (Strauch 1991).

#### 2.2.2.3. Grzyby

Gnojowica zawiera stosunkowo niewielkie ilości grzybów, które w przeważającej ilości pochodzą ze środowiska, a tylko nielicznie z kału zwierząt. Dominują tu grzyby drożdżopodobne oraz drożdżaki (Strauch 1991), natomiast grzyby pleśniowe, w tym w szczególności rodzaje *Mucor*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Botryotrichum* występują w gnojowicy sporadycznie. Z tego powodu, gnojowicy świńskiej nie uważa się jako istotnego źródła grzybów chorobotwórczych (Skowron i in. 2015).

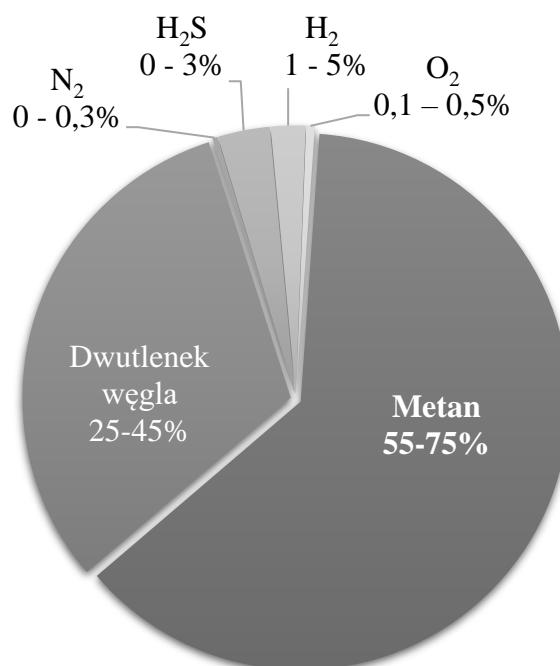
#### 2.2.3. Pasożyty

Gnojowica świńska może zawierać również pasożyty, ich żywe jaja, oocysty i larwy. Spośród pierwotniaków chorobotwórczych dla zwierząt i człowieka najczęściej izolowany jest rodzaj *Eimeria*, rzadziej *Balantidium*. Największe znaczenie z punktu widzenia zagrożenia biologicznego ma jednak obecność żywych jaj helmintów, szczególnie nicieni z rodzajów *Ascaris*, *Oesophagostomus* i *Strongyloides*, których występowanie określa się jako częste, a także jaja włosogłówki (*Trichuris trichiura*), które izoluje się okazjonalnie (Strauch 1991; Skowron i in. 2015).

### 2.3. Produkcja biogazu

Biogaz (zwany również gazem wysypiskowym) jest palną mieszaniną gazów powstającą na drodze fermentacji i procesów gnilnych składowanych odpadów organicznych w warunkach beztlenowych. Biogaz wykorzystywany jest jako paliwo gazowe do produkcji energii odnawialnej. Głównymi składnikami biogazu jest metan (CH<sub>4</sub>) i dwutlenek węgla (CO<sub>2</sub>), a procentowa zawartość metanu w biogazie warunkuje jego wartość opałową

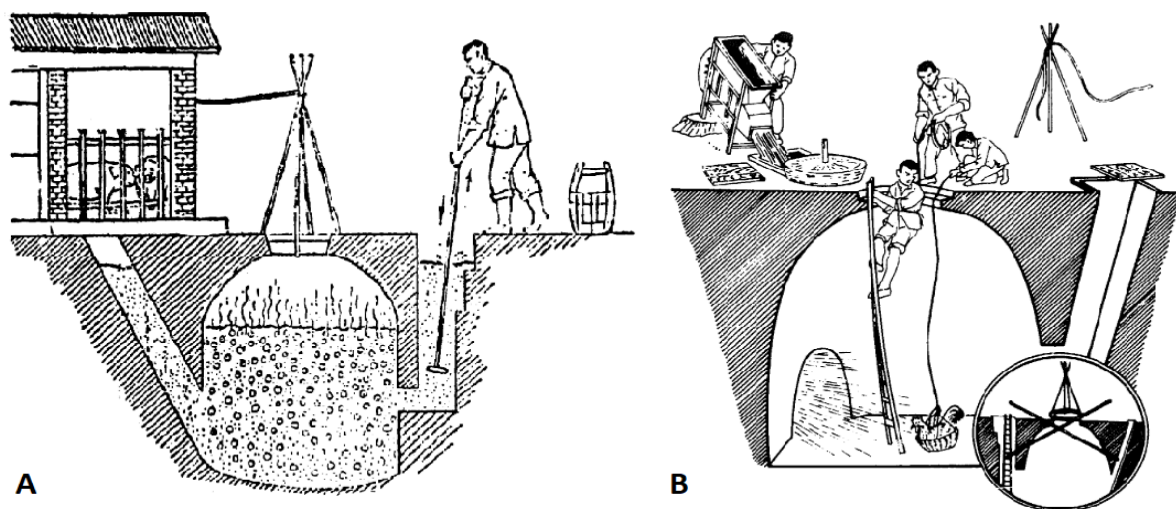
(Buraczewski 1989; Curkowski i in. 2009). Przybliżony skład procentowy biogazu przedstawia Rycina 3.



Rycina 3. Skład procentowy biogazu (Grudziński 2013).

Ludzie już w starożytności zauważyli, że gnijące odpady organiczne zaczynają wydzielać palny gaz, który można wykorzystać. Pierwszy zapis historyczny o wykorzystaniu biogazu w rozumieniu ekonomicznym pochodzi sprzed 3000 lat z Chin, gdzie to na terenach rolniczych niemal przy każdym domu znajdowała się podziemna komora fermentacyjna na nieczystości z odprowadzeniem powstającego biogazu. Biogaz doprowadzano do izb mieszkalnych lub chlewów w celu ogrzewania, a nawet oświetlenia czy gotowania. Wspominał o tym w swoim pamiętniku Marco Polo (Igliński i in. 2012). Do dziś Chiny są światowym potentatem w produkcji biogazu pod względem rozproszonej, przydomowej produkcji. W kraju tym, szczególnie na przełomie XIX i XX wieku, ze względu na zbyt duże ilości produkowanych nieczystości zachęcano do budowania przydomowych komór fermentacyjnych. W latach 70' XX wieku w prowincji Syczuan, w celu upowszechniania zdobytych przez wiele lat doświadczeń i wiedzy technologicznej, powstał poradnik mówiący o tym jak wybudować, utrzymywać i wykorzystywać przydomową biogazownię rolniczą (w 1979 roku przełożony na język angielski przez Michael'a Cook'a i wydany pod redakcją Ariane van Buren). Instrukcja opisywała zasady bezpieczeństwa, których należy przestrzegać w trakcie pracy instalacji oraz wskazówki wykonania urządzeń oświetleniowych i grzewczych zasilanych biogazem (Rycina 4.).

W Europie i Ameryce Północnej przemysł biogazu jest znacznie bardziej rozwinięty technologicznie niż w Azji. Największymi producentami energii z biogazu w Europie są Niemcy a w Ameryce Północnej Stany Zjednoczone (Weiland 2010; WBA 2017).



Rycina 4. A. Schemat budowy przydomowej biogazowni. B. Schemat wykonywania napraw komory z zachowaniem względów bezpieczeństwa: przedmuchiwanie opróżnionej komory powietrzem oraz sprawdzenie czy w komorze da się oddychać z wykorzystaniem żywego zwierzęcia (van Buren 1979).

### 2.3.1. Biogaz jako źródło energii odnawialnej

Biogaz produkowany w biogazowniach jest gazowym paliwem, które zazwyczaj wykorzystywane jest na miejscu, w celu produkcji energii cieplnej i elektrycznej. Pozyskiwany z biomasy biogaz jest odnawialnym źródłem energii (OZE), ponieważ jego cykl produkcji i użytkowania jest ciągły i nie generuje dwutlenku węgla netto (Dz.U. z 2018 r. poz. 755, Ustawa z dnia 10 kwietnia 1997 roku Prawo energetyczne). Tyle samo dwutlenku węgla jest absorbowane z atmosfery przez rośliny energetyczne podczas wzrostu, ile wydzielane jest do atmosfery podczas spalania biogazu (Podkówka 2012).

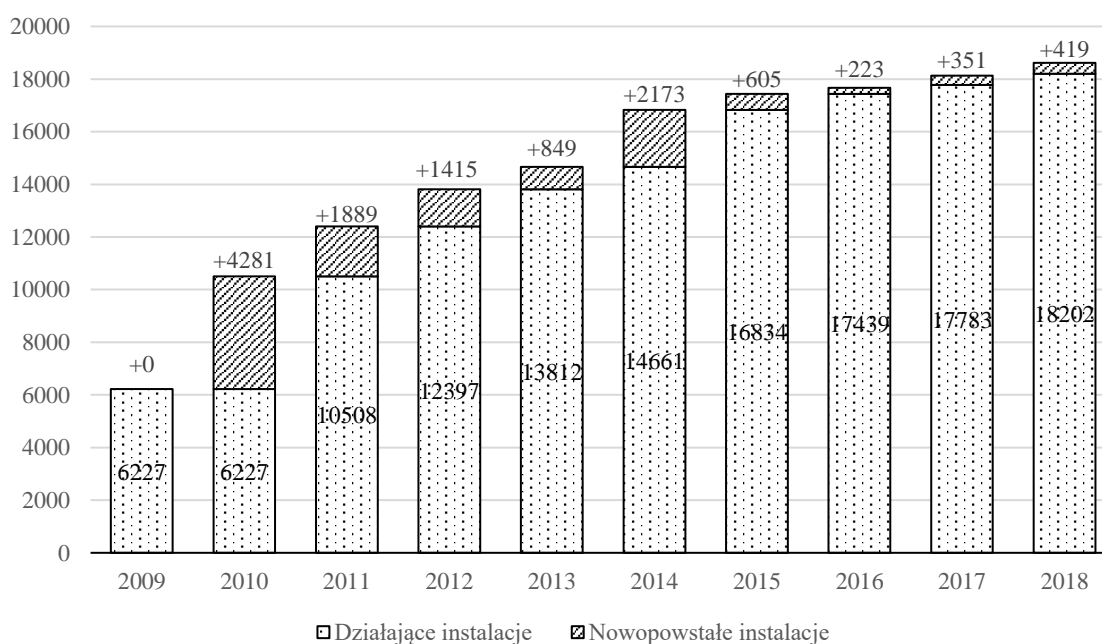
Biogaz można sprężyć w taki sam sposób, jak sprężany jest gaz ziemny do (ang. compressed natural gas - CNG), który wykorzystywany jest do napędzania pojazdów mechanicznych. Biogaz można też oczyścić i dostosować do norm dotyczących gazu ziemnego. Nazywany jest wtedy biometanem. Doskonałym przykładem zastosowania biometanu jako paliwa są autobusy miejskie w stolicy Szwecji, Sztokholmie. Celem w zakresie odnawialnych źródeł energii w Sztokholmie było osiągnięcie 40% udziału autobusów wykorzystujących paliwa odnawialne w 2010 r. i 50% w 2011 r. Według prognoz w 2025 r. 100% sztokholmskich autobusów będzie napędzane biogazem (Gis i in. 2012).

### 2.3.1.1. Kogeneracja energii elektrycznej i ciepłej z biogazu

Wiele biogazowni w Polsce i w Europie przetwarza biogaz w procesie technologicznym jednoczesnej produkcji energii elektrycznej i ciepłej, co określane jest mianem wysokosprawnej kogeneracji (ang. combined heat and power - CHP). Zastosowanie kogeneracji niesie za sobą duże korzyści ekonomiczne ze względu na obniżone zużycie paliwa przy jednoczesnym zwiększeniu wykorzystania jego potencjału energetycznego. Dodatkowo, w porównaniu z konwencjonalnymi systemami wytwarzania energii kogeneracja niesie większe korzyści ekologiczne (Chochowski 2012).

### 2.3.2. Przemysł biogazowy w Polsce i w Europie

Od początku XIX wieku przemysł biogazowy w Europie stale się rozwija. W okresie od 2009 do 2016 na kontynencie europejskim całkowita liczba biogazowni wzrosła z 6227 do 17662. Największe tempo rozwoju osiągnięte zostało w 2010 roku, kiedy to całkowita liczba biogazowni w Europie wzrosła o 69% (Rycina 5). Główny wzrost przypadał na biogazownie rolnicze - od 2009 roku liczba instalacji tego typu wzrosła o 7699 i w 2017 roku wynosiła łącznie 12496. Dynamicznie zwiększała się również liczba biogazowni zlokalizowanych przy oczyszczalniach ścieków, których w tym samym czasie było 2838, a instalacji odzyskiwania biogazu wysypiskowego 1604. Pozostałe biogazownie to instalacje innego typu, których łączna liczba wyniosła 688 (EBA 2017).

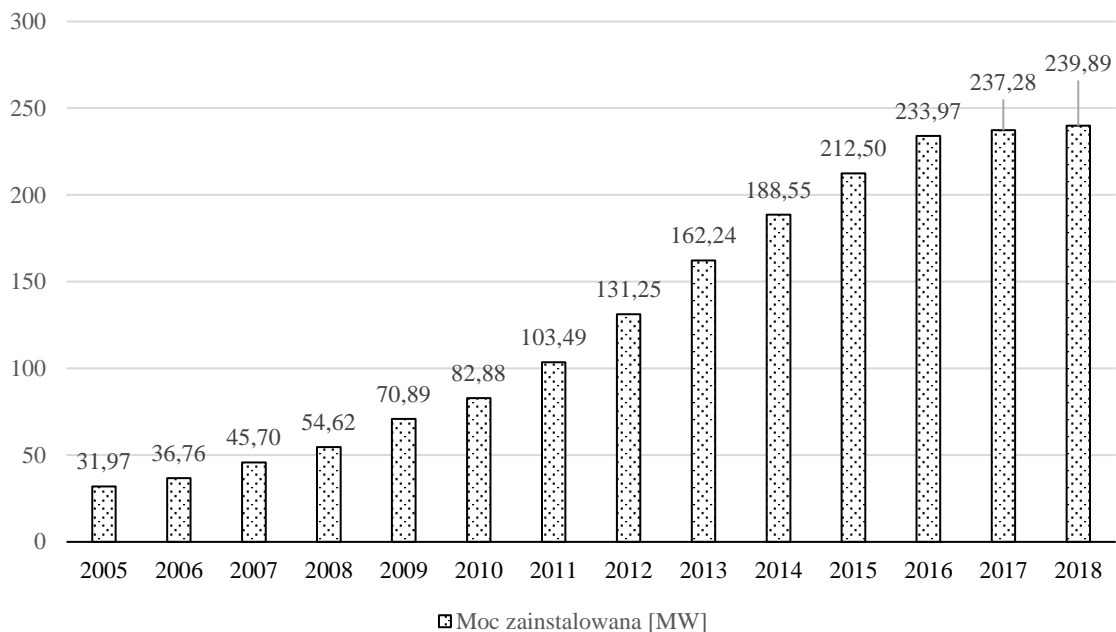


Rycina 5. Całkowita liczba biogazowni w Unii Europejskiej wg. European Biogas Association (EBA 2018, EBA 2019).

Niedoścignionym europejskim liderem pod względem liczby biogazowni są Niemcy. Według raportu statystycznego Europejskiego Stowarzyszenia Biogazu (ang. European Biogas Association - EBA) pod koniec roku 2017 na terenie Niemiec pracowało 10971 biogazowni, co stanowiło 61,7% wszystkich biogazowni w Europie. Na drugim miejscu znalazły się Włochy (1655 biogazowni), a na trzecim Francja (742 biogazowne). Polska znajdowała się na ósmym miejscu z ilością 208 instalacji (EBA 2019).

Pomimo, że od 2015 roku liczba biogazowni stabilizuje się, to całkowita zainstalowana moc elektryczna (ang. Installed Electric Capacity – IEC) charakteryzuje się ciągłym wzrostem. Od 2010 do 2017 moc elektryczna instalacji wykorzystujących biogaz wzrosła z 4158 MW do 10532 MW. Wyraźny wzrost nastąpił w 2016 roku, gdy całkowita zainstalowana moc elektryczna wzrosła o 858 MW (+ 9%). W roku 2017 przyrost wyniósł 547 MW (+5%). Jest to skutek ciągłego udoskonalania technologii produkcji biogazu i zwiększania jej wydajności, szczególnie w instalacjach rolniczych (EBA 2018, EBA 2019).

Od 2005 roku, kiedy to spółka POLDANOR S.A. (obecnie GoodValley S.A.) przeprowadziła rozruch pierwszej biogazowni rolniczej w Polsce (Pawłówek, woj. pomorskie) polski sektor biogazowy jest w fazie ciągłego rozwoju. Całkowita zainstalowana moc polskich biogazowni wzrosła od 2005 do 2017 roku ponad siedmiokrotnie (Rycina 6). Według Instytutu Energetyki Odnawialnej w 2015 roku w Polsce realizowanych było 182 inwestycje, mimo iż Ustawa o energii odnawialnej z 2015 roku nie sprzyjała dynamicznemu rozwojowi branży (Curkowski 2016). Formy wsparcia rynku energii odnawialnej oraz duży potencjał rolniczy Polski w porównaniu do największego producenta biogazu w Europie – Niemiec (powierzchnia gruntów rolnych Polski jest większa niż Niemiec o ponad 1 mln ha) powodują, że perspektywa powstania 2000 instalacji biogazowych wydawała się realna (Gostomczyk 2017). Według Rejestru Wytwórców Biogazu Rolniczego prowadzonego przez Krajowy Ośrodek Wsparcia Rolnictwa, na dzień 21 lipca 2020 roku w Polsce działało 108 biogazowni rolniczych, prowadzonych przez 95 przedsiębiorstw.



Rycina 6. Całkowita zainstalowana moc elektryczna instalacji wykorzystujących biogaz w Polsce wg. URE (2018).

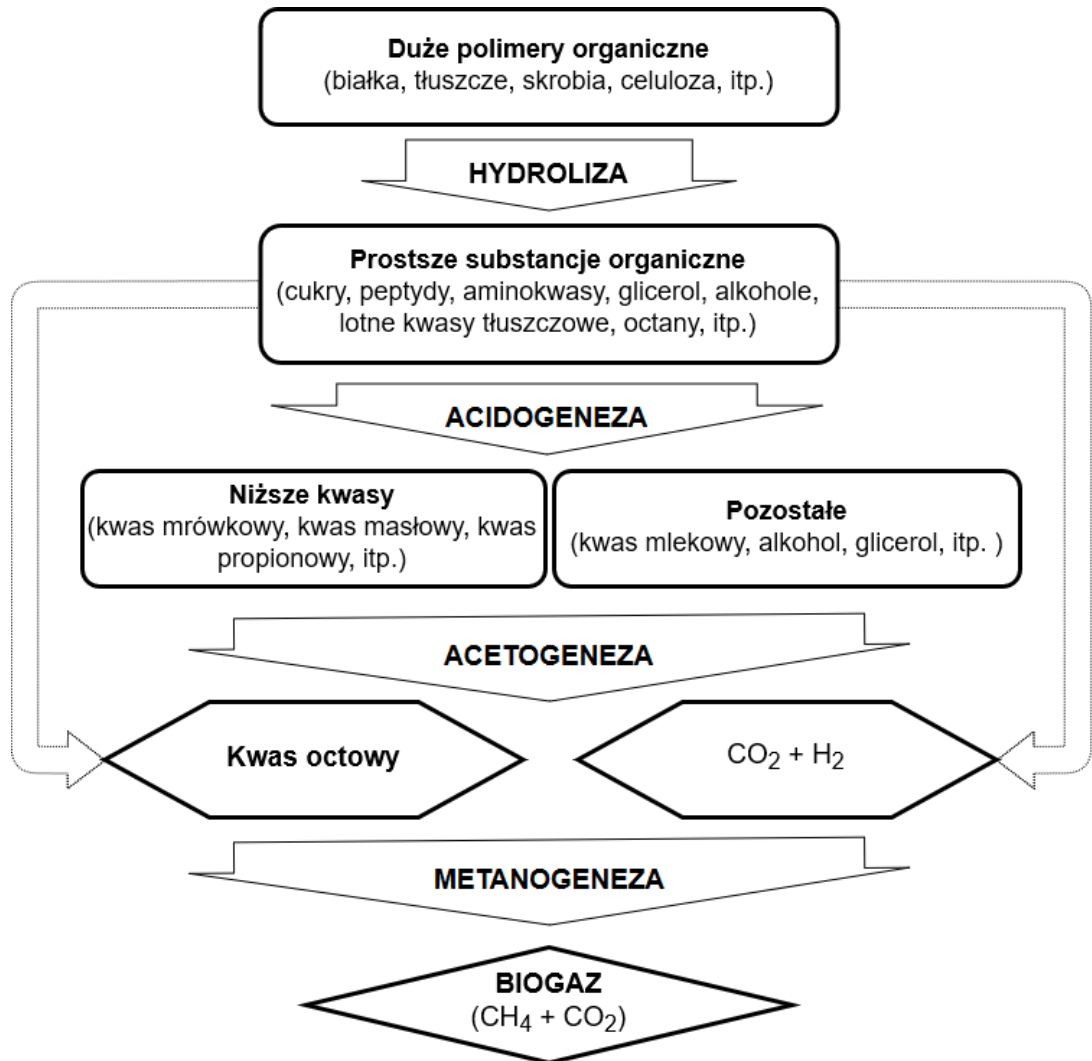
### 2.3.3. Charakterystyka i przebieg procesu fermentacji metanowej

Proces produkcji biogazu opiera się na kaskadzie biochemicznych reakcji przeprowadzanych przez złożone konsorcjum mikroorganizmów, zwanej fermentacją metanową. Odbywa się ona początkowo w warunkach aerobowych (tlenowych) a następnie anaerobowych (beztlenowych) i polega na etapowym rozkładzie złożonych związków organicznych zawartych w biomasie, do najprostszego z węglowodorów – metanu ( $\text{CH}_4$ ), który jest głównym, a zarazem najważniejszym składnikiem biogazu (Buraczewski 1989). Fermentacja metanowa zachodzi samoistnie na wysypiskach śmieci, w składowanych odpadach organicznych, a także w przewodzie pokarmowym przeżuwaczy. W celach przemysłowych, proces ten jest prowadzony w warunkach kontrolowanych w biogazowniach – instalacjach przystosowanych do wydajnego wytwarzania biogazu i energii odnawialnej (Podkówka 2012).

#### 2.3.3.1. Etapy fermentacji metanowej

Początkowo uważano, że proces fermentacji metanowej jest dwuetapowy i obejmuje zależne od siebie działanie bakterii kwasotwórczych i metanotwórczych. Dziś wiadomo, że fermentacja metanowa jest złożonym procesem przeprowadzanym przez symbiotyczne, współdziałające konsorcjum mikroorganizmów i dzieli się na cztery zasadnicze etapy: hydrolityczny, acidogenny (kwasogeneza), acetogenny (octanogeneza) oraz końcowy,

metanogenny – zwany też metanogenezą. Produkty pierwszego etapu służą jako substraty w kolejnym etapie (Barlaz i in. 1989). Schemat przebiegu fermentacji metanowej przedstawia Rycina 5.



Rycina 7. Schemat procesu fermentacji metanowej wg Barlaz i in. (1989).

Proces hydrolizy przeprowadzają m.in. bakterie saprofityczne. W tym procesie duże organiczne polimery, takie jak skrobia, celuloza, białka i tłuszcze są rozkładane lub depolimeryzowane na cukry, aminokwasy, glicerol i długołańcuchowe kwasy tłuszczowe przez egzo-enzymy hydrolityczne (np. celulaza, amylaza, proteaza i lipaza) wytwarzane przez mikroorganizmy z rodzajów m. in. *Bacteriocides*, *Clostridia* i *Bifidobacteria*. Następnie, fakultatywnie beztlenowe bakterie z rodzaju *Streptococcus* oraz rodziny *Enterobacteriaceae* przeprowadzają acidogenezę. Jest to tzw. etap kwasotwórczy. W procesie tym wyższe lotne kwasy tłuszczowe zostają zredukowane do m.in. propionianów, mleczanów, octanów i wodoru. W kolejnym etapie (acetogenezy), m.in. bakterie homoocetanowe, takie jak *Acetobacterium woodii* czy *Acetogenium kivuii* metabolizując produkty poprzedniego etapu wytwarzają octany,



które są bezpośrednim substratem dla bezwzględnie beztlenowych archeowców, nazywanych również metanogenami. Ostatnim etapem jest metanogeneza w trakcie, której wytwarzany jest biogaz składający się głównie z metanu ( $\text{CH}_4$ ) i dwutlenku węgla ( $\text{CO}_2$ ). Około 2/3 metanu powstaje na skutek rozkładu octanów i alkoholi, a około 1/3 z redukcji dwutlenku węgla wodorem (Bagi i in. 2007; Weiland 2010; Manyi-Loh i in. 2013). Tabela 2. przedstawia zestawienie bakterii odpowiedzialnych za poszczególne etapy fermentacji metanowej wraz z przykładowymi reakcjami chemicznymi, jakie zachodzą w komorach fermentacyjnych biogazowni.

Tabela 2. Konsorcjum mikroorganizmów biorących udział w poszczególnych etapach fermentacji metanowej (Zellner i Winter 1987; Iannotti i in. 1982; Zhu 2000; Weiland 2006; Green i in. 2008; Weiland 2010; Ziemiński i Frąc 2012; Bajpai 2017)

Bakterie	Substraty	Produkty	Przykładowe reakcje
Hydroliza i kwasogeneza			
tlenowe: <i>Micrococcus</i> spp., <i>Pseudomonas</i> spp.	wszystkie substancje pokarmowe, skrobia	mleczany, octany	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$ $C_6H_{12}O_6 + 2H_2 \rightarrow 2CH_3CH_2COOH + 2H_2O$
fakultatywne beztlenowce: <i>Bacillus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>Lactobacillus</i> spp., <i>Escherichia</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp.	skrobia, maltoza, liczne cukry		
beztlenowce: <i>Clostridium</i> spp., <i>Ruminococcus</i> spp., <i>Bacterioides</i> spp., <i>Megasphaera</i> spp., <i>Selenomonas</i> spp., <i>Desulfovibrio</i> spp., <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Propionibacterium</i> spp., <i>Peptostreptococcus</i> spp., <i>Anaerovibrio</i> spp.	celuloza, hemiceluloza, celobioza, pektyny, skrobia, mleczany, glukoza, inne cukry, białka, polipeptydy, aminokwasy, jabłczany		
Acetogeneza			
nieselektywne bakterie redukcyjne: <i>Desulfovibrio</i> spp., <i>Selenomonas</i> spp., <i>Ruminococcus</i> spp., <i>Clostridium</i> spp.	mleczany, białka, polipeptydy, aminokwasy, jabłczany	octany	$C_6H_{12}O_6 + H_2O \rightarrow 2CH_3COOH + 2CO_2 + 4H_2$ $C_2H_5OH + 2H_2O \rightarrow CH_3COOH + 2H_2$
selektywne bakterie redukcyjne: <i>Syntrophobacter wolini</i> , <i>Syntrophomonas wolfei</i>	kwasy tłuszczowe, proste kwasy organiczne		

Bakterie	Substraty	Produkty	Przykładowe reakcje
bakterie homoocetanowe: <i>Clostridium acetici</i> um, <i>Clostridium forminoaceticum</i> , <i>Clostridium thermoautotrophicum</i> , <i>Acetobacterium woodii</i> , <i>Acetogenium kivuii</i>	dwutlenek węgla, wodór		$2\text{HCO}_4 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_3\text{COOH} + 4\text{H}_2\text{O}$
Metanogeneza			
bezwzględnie beztlenowe archeony: <i>Methanobrevibacterium</i> spp., <i>Methanobrevibacter</i> spp., <i>Methanococcus</i> spp., <i>Methanogenium</i> spp., <i>Methanomicrobium</i> spp., <i>Methanospirillum</i> spp., <i>Methanosarcina</i> spp., <i>Methanotrix</i> spp.	octany, alkohole, wodór	metan	$2\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} + \text{CO}_2 \rightarrow 2\text{CH}_3\text{COOH} + \text{CH}_4$ $\text{CH}_3\text{COOH} \rightarrow \text{CH}_4 + \text{CO}_2$ $\text{CO}_2 + 4\text{H}_2 \rightarrow \text{CH}_4 + 2\text{H}_2\text{O}$

### 2.3.3.2. Typy fermentacji metanowej

Według Curkowskiego i in. (2009) ze względu na zakres temperatury w jakim odbywa się fermentacja anaerobowa możemy podzielić ją na:

- fermentację termofilną (50 - 55°C),
- fermentację mezofilną (32 - 38°C),
- fermentację psychrofilną (23 - 28°C).

Większość metanogenów stosowanych w biogazowniach posiada optimum temperaturowe w zakresie fermentacji mezofilnej, stąd też jest ona najbardziej rozpowszechniona. W przypadku niektórych substratów (np. odpadów komunalnych, odpadów poubojowych) dla zabicia patogenów zaleca się stosowanie fermentacji termofilnej zapewniającej lepsze warunki sanizacyjne. Fermentacja psychrofilna cechuje się wyraźnie ograniczoną skutecznością rozkładu substancji organicznej i obniżoną wydajnością produkcji biogazu w stosunku do innych zakresów temperatury, stąd jest ona nieopłacalna na skalę przemysłową i w praktyce rzadko stosowana (Braun 1982).

Ze względu na sposób prowadzenia fermentacji metanowej możemy wyróżnić dwa jej rodzaje:

- fermentację okresową – w której komory fermentacyjne wypełniane są biomasą wejściową cyklicznie i opróżniane po zakończeniu fermentacji,
- fermentację ciągłą/quasi-ciągłą – w której komory fermentacyjne nieprzerwanie lub w pewnych przedziałach czasowych zasilane są świeżą biomasą wejściową, a biomasa przefermentowana odprowadzana jest w takiej samej ilości.

Biorąc pod uwagę większą wydajność, lepsze możliwości zachowania stabilności procesu oraz mniejszą ilość problemów logistycznych związanych z cyklicznym opróżnianiem i napełnianiem komór fermentacyjnych w praktyce stosuje się głównie system fermentacji ciągłej/quasi-ciągłej (Institut für Energetik und Umwelt gGmbH 2005).

Fermentacja ciągła/quasi-ciągła może odbywać się jednoetapowo lub dwuetapowo. W pierwszym przypadku proces fermentacji metanowej zachodzi tylko w jednym zbiorniku, a biomasa przefermentowana odprowadzana jest do zbiorników magazynujących. Proces dwuetapowy zakłada „dofermentowanie” biomasy wychodzącej ze zbiorników fermentacyjnych w dodatkowym zbiorniku. Zazwyczaj stosuje się dwa zakresy temperatur – w pierwszej fazie fermentację mezofilną, a w drugiej fermentację termofilną dla lepszego wykorzystania substratów i ich sanizacji (Puchajda i Oleszkiewicz 2003).

### 2.3.3.3. Substraty i produkty fermentacji metanowej

Proces fermentacji metanowej jest bardzo zbliżony do procesów zachodzących w żwaczu przeżuwaczy. Dlatego też znaczący wpływ, podobnie jak u zwierząt, na wydajność produkcji biogazu mają „błędy żywieniowe”. Bakteriom i archeonom prowadzącym fermentację należy dostarczać niezbędnych do życia składników odżywczych, podobnie jak zwierzętom. Nawet kiedy tylko jedna grupa drobnoustrojów odpowiedzialnych za któryś z etapów fermentacji zacznie ginąć, ze względu na brak składników odżywczych, cały proces wytwarzania metanu ulega destabilizacji (Braun 1982).

Lista surowców mogących zostać wykorzystanych do produkcji biogazu jest bardzo długa, począwszy od osadów ściekowych, odchodów zwierzęcych, przez biomasę roślinną, aż do odpadów z przemysłu rolno-spożywczego, a na odpadach poubojowych skończywszy. Najważniejsze jest jednak odpowiednie ich zbilansowanie, tak aby zachodzący w komorze fermentacyjnej proces produkcji biogazu był ustabilizowany.

Przydatność substratu do produkcji biogazu określa się na podstawie: zawartości suchej masy i suchej masy organicznej, wartości uzysku biogazu (biogazodochodowości) oraz wartości MPR (ang. methane production rate), czyli wydajności produkcji metanu (Podkówka 2012). Tabela 3. przedstawia najważniejsze i najczęściej wykorzystywane substraty wykorzystywane w biogazowniach.

Bezpośrednim produktem ubocznym fermentacji metanowej są pozostałości pofermentacyjne zwane też pofermentem. Jest to bardzo dobrze zhomogenizowana biomasa o bardzo dobrych właściwościach nawozowych. Ze względu na wysoki stopień zmineralizowania na skutek działania mikroorganizmów, pozostałości pofermentacyjne są lepszym nawozem niż np. osady ściekowe czy gnojowica (Tambone i in. 2010; Grudziński i in. 2015). Dodatkowo, stosowanie biomasy pofermentacyjnej jako nawozu, w dużym stopniu ogranicza emisję gazów cieplarnianych i odorów, a także zmniejsza ryzyko skażenia gleby i wód substancjami biogennymi. Poza tym, wykorzystanie biomasy jako nawozu minimalizuje ryzyko zakażenia patogenami odzwierzęcymi (Qi i in. 2018).

Tabela 3. Wybrane surowce stosowane jako substraty do produkcji biogazu wg. Podkówki (2012)

<b>Substrat</b>	<b>Zawartość suchej masy (%)</b>	<b>Zawartość suchej masy organicznej (%)</b>	<b>Uzysk biogazu (Nm<sup>3</sup>/t s.m.o.)</b>	<b>Zawartość metanu (% obj.)</b>
organiczne nawozy naturalne				
gnojowica bydłęca	8-11	75-82	200-500	60
gnojowica świńska	ok. 7	75-86	300-700	60-70
obornik bydłocy	ok. 25	68-76	210-300	60
obornik świński	20-25	75-80	270-450	60
pomiot kurzy	ok. 32	63-80	250-450	60
biomasa roślinna				
kiszonka z kukurydzy	20-35	85-95	450-700	50-55
żyto	30-35	92-98	550-680	ok. 55
kiszonka z traw	25-50	70-95	550-620	54-55
zielonka z trawy	ok. 12	83-92	550-680	55-65
produkty uboczne przemysłu rolno-spożywczego				
wysłodki browarniane	20-25	70-80	580-750	59-60
wywar zbożowy	6-8	83-88	430-700	58-65
wywar ziemniaczany	6-7	85-95	400-700	58-65
wytłoki owocowe	25-45	90-95	590-660	65-70
odpady sklepowe	5-20	80-90	400-600	60-65
treści żołądkowe i jelitowe	25-45	75-86	250-450	60-70

### 2.3.4. Najważniejsze parametry fermentacji metanowej

Dobór i odpowiednie zbilansowanie substratów odgrywają istotną rolę w zachowaniu stabilności przebiegu procesu fermentacji metanowej, który jest bardzo czuły na gwałtowne zmiany parametrów. Mogą one doprowadzić do znacznego zahamowania procesu, a nawet do jego całkowitego ustania. Ponowne zainicjowanie wydajnej fermentacji metanowej jest procesem niezwykle trudnym i czasochłonnym, tak samo jak pierwszy rozruch biogazowni. Dlatego też monitoring i kontrola procesu fermentacyjnego odgrywają kluczową rolę w zachowaniu ciągłości procesu (Institut für Energetik und Umwelt gGmbH 2005; Curkowski i in. 2009).

W kolejnych podrozdziałach przedstawione zostały najważniejsze parametry procesu fermentacji metanowej, które powinny podlegać szczególnej kontroli.

#### 2.3.4.1. Stosunek węgla, azotu i fosforu w biomacie

Jednym z najważniejszych parametrów procesu fermentacji metanowej jest stosunek węgla do azotu C/N w biomacie fermentującej. Dla wydajnego i stabilnego procesu produkcji biogazu powinien on znajdować się w przedziale 10 - 30. Jeżeli stosunek ten ulegnie zachwianiu i wzrośnie udział węgla, nie zostanie osiągnięta maksymalna wydajność metanogenezy ze względu na ograniczenie przemian węgla przy niedoborze azotu. Z drugiej strony, zbyt duża ilość azotu wprowadzana do komory fermentacyjnej może spowodować nagły wzrost stężenia jonów amonowych ( $\text{NH}_4^+$ ), które działają hamująco na metanogeny (Buraczewski 1989).

Kolejnym ważnym aspektem w kontekście prawidłowego przebiegu fermentacji metanowej jest dostarczana do komory fermentacyjnej ilość fosforu (P). Ten makroelement, wchodzący w skład kwasów nukleinowych, ATP oraz wielu białek jest niezbędny dla rozwoju organizmów żywych, również bakterii biorących udział w procesie fermentacji metanowej. Aby jego niedobór nie ograniczał prawidłowej pracy konsorcjum metanotwórczego, stosunek fosforu wobec węgla i azotu (C:N:P) powinno wynosić około 40:3:1 (Weiland 2010).

#### 2.3.4.2. Temperatura, pH i stężenie lotnych kwasów tłuszczowych

Temperatura jest jednym z najważniejszych determinantów efektywności procesu fermentacji metanowej. Bez względu na to w jakim zakresie temperaturowym prowadzona jest fermentacja (patrz podrozdział 2.3.1.2.), gwałtowna zmiana temperatury w zbiorniku fermentacyjnym powoduje zahamowanie, a nawet trwałe zatrzymanie procesu fermentacyjnego. (Braun 1982).

Procesy metaboliczne wszystkich mikroorganizmów są najbardziej wydajne w optymalnym zakresie pH. Fermentacja metanowa zachodzi w stosunkowo wąskim przedziale pH, od około 6,5 do 8,5, przy optymalnym zakresie mieszczącym się w granicach od 7,0 do 8,0.

Proces fermentacji ulega znacznemu zahamowaniu, jeśli wartość pH obniży się do poziomu mniejszego niż 6,0 lub wzrośnie powyżej wartości 8,5. Odczyn pH w prawidłowo przebiegającym procesie reguluje się samoistnie, dzięki powstawaniu lotnych kwasów tłuszczowych (LKT) będących pośrednimi produktami etapu kwasotwórczego procesu oraz pojemności buforowej biomasy, którą przede wszystkim zapewnia obecność rozpuszczonego dwutlenku węgla ( $\text{CO}_2$ ). Pojemność buforowa mieszaniny reakcyjnej powoduje również opóźnioną reakcję zmiany odczynu. Jeżeli nastąpi obniżenie wartości pH poniżej 7,0, na korygowanie parametrów „karmienia” może być o wiele za późno. Oznacza to, że zbiornik został nadmiernie obciążony i procesy kwasotwórcze przeważały nad metanogenezą, w efekcie czego pojemność buforowa dwutlenku węgla została wyczerpana i proces uległ destabilizacji (Institut für Energetik und Umwelt gGmbH 2005). W monitoringu prawidłowości przebiegu fermentacji metanowej wykorzystuje się także inne parametry. Jednym z nich jest poziom LKT. Stężenie niższych LKT (bezpośrednie substraty etapu metanotwórczego) pozwala określić czy zbiornik zasilany jest z odpowiednim obciążeniem. Nie ma jednak jednego, optymalnego, uniwersalnego zakresu LKT, który jest charakterystyczny dla prawidłowego przebiegu procesu. W zależności od instalacji, warunków prowadzenia procesu i dostępności substratów należy określić optymalne stężenie LKT, które nie powoduje nadmiernego zakwaszenia biomasy fermentującej (Franke-Whittle i in. 2014).

Dokładniejszym wskaźnikiem szybkiego reagowania na niekorzystne zmiany w procesie fermentacji metanowej jest wskaźnik LKT/OWN. Jest to stosunek stężenia LKT do zawartości ogólnej węgla nieorganicznego (OWN), czyli pojemności buforowej mieszaniny. Ta szybka metoda miareczkowa opracowana na podstawie metody Nordmanna (1977) polegająca na dwustopniowej titracji oczyszczonej próbki biomasy fermentacyjnej daje miarodajny obraz warunków procesu zachodzącego w komorze fermentacyjnej. Wskaźnik LKT/OWN mieszczący się w zakresie 0,3 - 0,4 uważa się za prawidłowy, jednak w zależności od instalacji i warunków prowadzenia fermentacji optymalny zakres może być inne.

Wyznaczenie optymalnego zakresu wskaźnika LKT/OWN odbywa się w efekcie prowadzenia długotrwałych obserwacji i pomiarów pojemności buforowej mieszaniny (Lahav i Morgan 2004).



#### 2.3.4.3. Obciążenie objętościowe reaktora i hydrauliczny czas retencji

Przy projektowaniu wydajnej instalacji do wytwarzania biogazu trzeba mieć na uwadze to, że niektóre substancje organiczne cechuje bardzo długi czas rozkładu. Nie jest więc korzystne dążenie do całkowitej degradacji podawanych substratów, lecz do maksymalnego wykorzystania potencjału biogazowego w najkrótszym czasie. Bardzo ważnym parametrem do określania odpowiedniej ilości dozowanego substratu jest obciążenie objętościowe bioreaktora ( $B_R$ ). Współczynnik ten mówi, ile kilogramów s.m.o. należy dozować na 1 m<sup>3</sup> pojemności roboczej fermentora na dobę. Oblicza się go wg. wzoru empirycznego:

$$B_R = \frac{mc}{V_R},$$

gdzie:

$B_R$  – obciążenie objętościowe reaktora [kg s.m.o./m<sup>3</sup>/dobę],

$m$  – masa biomasy wejściowej podawana w jednostce czasu [kg/dobę],

$c$  – procentowa zawartość suchej masy organicznej [%],

$V_R$  – objętość robocza fermentora [m<sup>3</sup>].

Przybliżony czas, jaki dana objętość substratu pozostaje w fermentorze określa się jako hydrauliczny czas retencji (ang. hydraulic retention time - HRT). Oblicza się go ze wzoru:

$$HRT = \frac{V_R}{V},$$

gdzie:

$HRT$  – hydrauliczny czas retencji [d],

$V_R$  – objętość robocza fermentora [m<sup>3</sup>],

$V$  – objętość dziennej biomasy wejściowej [m<sup>3</sup>/d].

Bakterie metanowe żyją relatywnie długo i mają relatywnie długi czas generacji, czyli czas podwojenia populacji, który może wynosić nawet 10 dni. Dobranie odpowiedniego obciążenia substratem wiąże się ze stosowaniem odpowiedniego dobowego systemu dozowania, tak aby czas retencji (HRT) nie uległ zbytniemu skróceniu. Za najbardziej optymalny HRT dla wyłącznie nawozów organicznych uważa się czas 20 dni. Dla roślin energetycznych może on wynosić nawet 60 dni. W biogazowniach stosujących kofermentację gnojowicy i biomasy roślinnej HRT zazwyczaj utrzymuje się na poziomie 26 - 35 dni (Braun 1982; Curkowski i in. 2009).

### 2.3.5. Inhibitory procesu produkcji biogazu

Proces fermentacji metanowej jest bardzo wrażliwy na obecność substancji niekorzystnych, hamujących metabolizm bakterii i archeonów, tzw. inhibitorów procesu. Najważniejszym z nich jest amoniak ( $\text{NH}_3$ ) i jego zjonizowana forma amonowa ( $\text{NH}_4^+$ ). Zbyt duże obciążenie komory fermentacyjnej azotem może doprowadzić do wzrostu stężenia tych substancji i całkowitego zahamowania fermentacji. Występujący w komorze fermentacyjnej azot w formie amonowej na skutek ewentualnego obniżenia pH przekształca się w wolny amoniak. Jest on toksyczny dla bakterii konsorcjum metanotwórczego, szczególnie dla archeonów, ponieważ swobodnie przenika przez błony komórkowe. Hydrofobowa cząsteczka amoniaku może dyfundować biernie do komórki, zaburzając równowagę protonową (Chen i in. 2008). Uważa się, że stężenie azotu amonowego przekraczające 3000 mg/l może całkowicie zahamować fermentację metanową (Sterling i in. 2001). Istnieją jednak doniesienia o skutecznej i wydajnej fermentacji metanowej nawet w stężeniach bliskich 6000 mg/l  $\text{NH}_4\text{-N}$  (Angelidaki i Ahring 1993).

Kolejnym ważnym inhibitorem fermentacji metanowej jest tlen. Metanogeny to bezwzględne beztlenowce dlatego tlen nawet w najniższych stężeniach jest dla nich toksyczny (Chen i in. 2008).

Działanie hamujące dla metanogenów wykazują również jony siarczkowe ( $\text{S}_2$ ) wytwarzane przez bakterie redukujące siarczany znajdujące się w substratach. Inhibicja zachodzi na dwóch symultanicznie występujących płaszczyznach, w tym rywalizacji metanogenów o składniki pokarmowe z bakteriami siarczanowymi oraz bezpośredniej toksyczności siarczków wobec niektórych bakterii. Hamujące poziomy siarczków podane w literaturze mieszczą się w zakresie 100 - 800 mg/l rozpuszczonego jonu siarczkowego lub w przybliżeniu 50 - 400 mg/l niezdysonowanego  $\text{H}_2\text{S}$  (Chen i in. 2008).

Metale ciężkie mogą występować w znacznych stężeniach w różnych substratach wykorzystywanych w biogazowni. Zidentyfikowane jako szczególnie niebezpieczne dla przebiegu procesu obejmują chrom, żelazo, kobalt, miedź, cynk, kadm i nikiel (Jin i in. 1998). Wyróżniającą cechą metali ciężkich jest to, że w przeciwieństwie do wielu innych substancji toksycznych, nie są one biodegradowalne i mogą akumulować się w potencjalnie toksycznych stężeniach. Toksyczny wpływ metali ciężkich jest przypisywany zakłóceniu funkcji enzymów i ich struktury poprzez wiązanie metali z tiolem i innymi grupami na cząsteczkach białka lub przez zastąpienie naturalnie występujących metali w enzymach (Chen i in. 2008).

## **2.4. Korzyści z przetwarzania odpadów z wykorzystaniem w fermentacji metanowej**

Oprócz wymiernych, globalnych korzyści płynących z produkcji biogazu, takich jak pozyskiwanie energii z odnawialnego źródła i zmniejszanie przez to emisji dwutlenku węgla do atmosfery, prowadzenie procesu fermentacji metanowej w instalacjach biogazowni cechuje się również korzyściami dla środowiska lokalnego dostarczając energię elektryczną i ciepłą oraz tworząc miejsca pracy. Wykorzystywanie nawozów organicznych pochodzących z produkcji zwierzęcej takich jak gnojowica, gnojówka, czy obornik powoduje zmniejszenie uciążliwości dla środowiska, jaki wywiera ta działalność człowieka (Massé i in. 2011).

Przefermentowane wraz z biomasą roślinną nawozy organiczne wykazują dużo lepsze właściwości nawozowe aniżeli przed udziałem w procesie fermentacji metanowej, zarówno pod względem zawartości azotu amonowego, jak i zawartości węgla organicznego. Pozostałości pofermentacyjne cechuje wyższy poziom form amonowych azotu i dużo niższy poziom węgla w formie organicznej niż w gnojowicy, gnojówce czy oborniku (Risberg i in. 2017). Qi i in. (2018) donoszą, że biomasa pofermentacyjna z termofilnej fermentacji metanowej zawiera więcej azotu amonowego i mniej szkodliwych mikroorganizmów niż biomasa z mezofilnej fermentacji metanowej, co czyni ją lepszym nawozem. Biomasa pofermentacyjna lepiej odpowiada na potrzeby roślin uprawnych, zmniejszając w ten sposób zapotrzebowanie na uzupełniające sztuczne nawozy azotowe. Zarówno pozyskanie zielonej energii, jak i zmniejszanie zapotrzebowania na nawozy sztuczne znacznie zmniejsza ślad węglowy produkcji zwierzęcej (Massé i in. 2011). Dodatkowo, przefermentowana biomasa stosowana jako nawóz na pola uprawne emituje dużo mniejsze ilości związków odorowych oraz gazów cieplarnianych (Nagy i Wopera 2012).

Korzystnym efektem wykorzystywania nawozów organicznych w biogazowniach jest również zmniejszenie ich ilości na skutek konwersji biomasy w biogaz. Ilościowa analiza dwuetapowej termofilnej fermentacji metanowej wykazała, że biomasa użyta w procesie jest zredukowana o prawie 12% swojej wagi. Przyczynia się to do zmniejszenia problemów logistycznych związanych z gospodarką produktów ubocznych produkcji zwierzęcej (Grudziński i Pietruszka 2016).

### **2.4.1. Sanityzacja nawozów organicznych**

Proces fermentacji metanowej cechuje zdolność do redukcji ilości bakterii znajdujących się w substratach użytych do produkcji biogazu, w tym szkodliwych dla ludzi i zwierząt patogenów pochodzenia odzwierzęcego. Przeprowadzono wiele badań w celu potwierdzenia

zdolności i określenia wydajności sanityzacji nawozów organicznych w procesie fermentacji metanowej. Bendixen (1994) wykazał, że pozostałości pofermentacyjne z procesu fermentacji termofilnej wykorzystującej gnojowicę świńską były wolne od patogenów, zaś z procesu fermentacji mezofilnej ciągle zawierały niebezpieczne drobnoustroje. Duarte i in. (1992) na podstawie przeprowadzonych badań wykazali wystąpienie redukcji liczby bakterii z rodzaju *Salmonella*, streptokoków i bakterii z grupy *coli* do wartości znajdujących się poniżej progu wykrywalności, zarówno w fermentacji termofilnej jak i mezofilnej, z zastosowaniem gnojowicy świńskiej jako substratu. Côté i in. (2006) stwierdzili redukcję liczbę bakterii patogennych i bakterii wskaźnikowych znajdujących się w gnojowicy, nawet o 99,99% w wyniku fermentacja przeprowadzonej w warunkach psychrofilnych. Podobne wyniki przedstawiają Grudziński i in. (2014, 2015), którzy wykazali, że redukcja bakterii z grupy *coli* w biogazowni rolniczej stosującej gnojowicę świńską wyniosła prawie 99,5%. Właściwości sanityzacyjne fermentacji metanowej zaobserwowano również w przypadku gnojowicy bydłowej (Pandey i Soupir 2011; Manyi-Loh i in. 2016), pomiotu kurzego (Chen i Jiang 2014), a także osadów ściekowych (Carrington i in. 1982; Sahlström 2003).

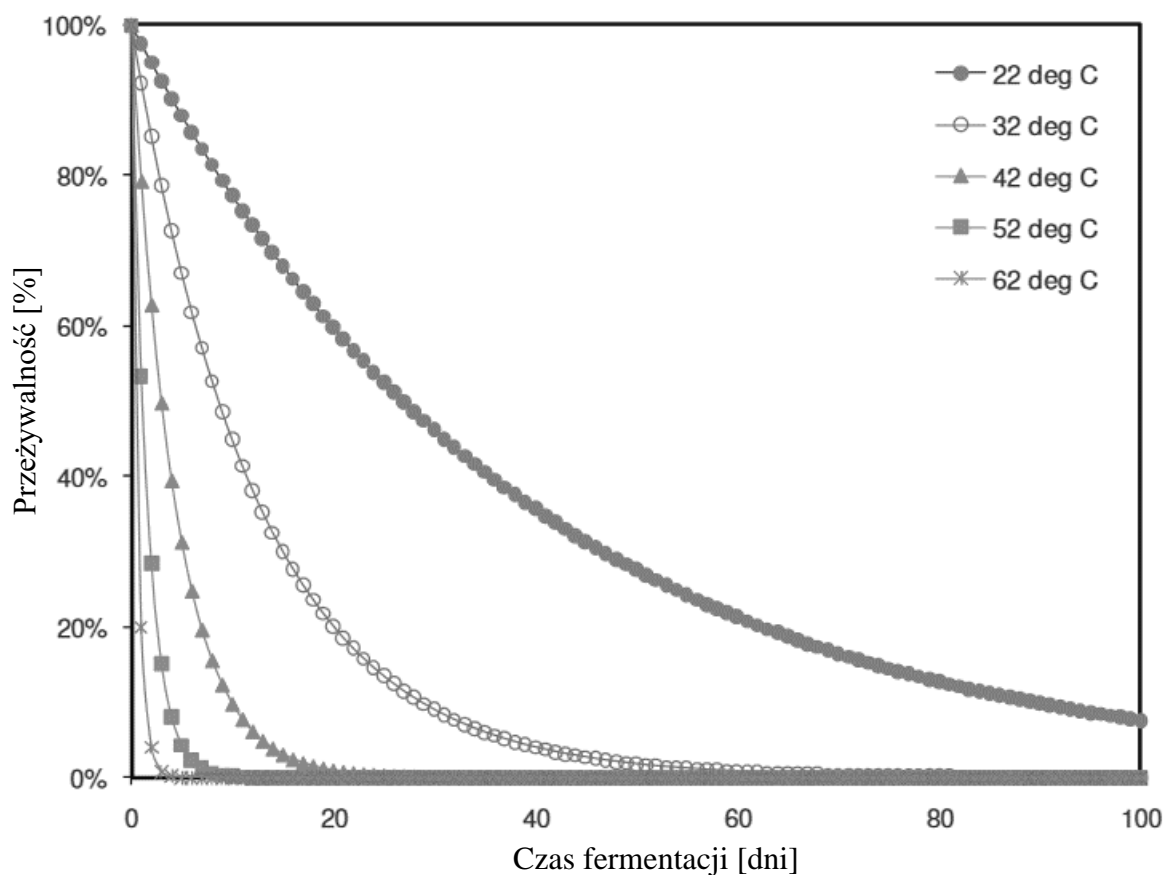
#### **2.4.2. Czynniki wpływające na redukcję patogenów w biogazowni**

Szybkość i wydajność eliminacji bakterii z biomasy wykorzystywanej w procesie fermentacji metanowej zależy od wielu czynników. Głównymi są: temperatura, czas fermentacji (wyrażany jako HRT – patrz podrozdział 2.3.4.3.), odczyn pH, stężenie LKT, rodzaj/typ prowadzonej fermentacji oraz czynniki związane z naturalnym antagonizmem i konkurencją występującą między różnymi gatunkami bakterii. Inaktywacja bakterii patogennych zależy również od ich początkowej ilości, w jakiej występują w biomacie wejściowej (Strauch 1991; Sahlström 2003).

Wiele badań nad fermentacją metanową przeprowadzanych jest w warunkach laboratoryjnych, które są relatywnie łatwiejsze do utrzymania i kontroli. Badania nad sanityzacją w instalacjach pełnowymiarowych są trudniejsze ze względu na większe prawdopodobieństwo rekontaminacji biomasy pofermentacyjnej. Poza tym, w biomacie pochodzącej z biogazowni przemysłowych stwierdza się większe ilości środowiskowych szczepów, które są trudniejsze w identyfikacji, a także często bardziej odporne na warunki panujące w reaktorze (Carrington i in, 1982). Mimo tego Olsen i Larsen (1987) uzyskali podobne wyniki zarówno w badaniach laboratoryjnych, jak i w skali makro.

#### 2.4.2.1. Temperatura i czas fermentacji

Temperatura jest najważniejszym czynnikiem determinującym stopień sanityzacji biomasy w procesie fermentacji metanowej (Strauch 1991; Dumontet i in. 1999; Sahlström 2003; Ziemer i in. 2010). Inaktywacja bakterii pod wpływem temperatury jest ściśle związana z czasem. Fermentacja w wysokiej temperaturze powoduje redukcję bakterii w krótszym czasie, dlatego też sanityzacja przebiega szybciej w fermentacji termofilnej niż w mezofilnej. Na przykład, *Mycobacterium paratuberculosis* i bakterie z rodzaju *Salmonella* są redukowane do poziomu poniżej progu wykrywalności już po 24 godzinach fermentacji termofilnej, natomiast w przypadku fermentacji mezofilnej czas ten liczony jest w miesiącach. Jedynie bakterie sporujące, z rodzajów *Bacillus* i *Clostridium* nie ulegają skutecznej inaktywacji pod wpływem wyższych temperatur ze względu na wytwarzanie odpornych na warunki środowiskowe form przetrwalnikowych (Olsen i Larsen 1987; Plym-Forsell 1995). Z kolei Paluszak i in. (2012) wykazali, że w warunkach mezofilnych przeżywalność bakterii z rodzaju *Salmonella* zmienia się w zależności od serotypu. Jako przykład podają *Salmonella* Typhimurium została wyeliminowana do wartości poniżej progu wykrywalności już po 4 dniach fermentacji w 35°C. Natomiast najdłużej, bo przez prawie 10 dni przeżyły bakterie *Salmonella* Senftenberg. Pandey i Soupir (2011) wykazali, że termofilna fermentacja metanowa redukuje bakterie *E. coli* 15 razy szybciej niż mezofilna i 17 razy szybciej niż psychrofilna. Krzywe eliminacji bakterii *E. coli* w różnych temperaturach fermentacji metanowej przedstawia Rycina 8.



Rycina 8. Krzywe eliminacji bakterii *E. coli* w różnych warunkach temperaturowych fermentacji metanowej wg. Pandey i Soupir (2011).

W badaniach w skali makro, jakie przeprowadzili Kearney i in. (1993) bakteriami najbardziej podatnymi na redukcję w warunkach mezofilowych były *E. coli* i *Y. enterocolitica*, zaś najbardziej odporną *C. jejuni*.

#### 2.4.2.2. Typ fermentacji

Biorąc pod uwagę sposób prowadzenia fermentacji metanowej, większą skutecznością w eliminacji bakterii cechuje się fermentacja okresowa (fermentacja z udziałem określonej ilości substratów, aż do wyczerpania potencjału metanotwórczego, bez dodatku świeżej biomasy i odprowadzania pozostałości pofermentacyjnych). Kearney i in. (1993) donoszą, że sanityzacja gnojowicy bydłowej zawierającej *E. coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes* i *Yersinia enterocolitica* w wyniku prowadzenia okresowej fermentacji anaerobowej jest skuteczniejsza, aniżeli fermentacja ciągła. Opierając się na innych badaniach, fermentacja quasi-ciągła w warunkach mezofilnych z maksymalnymi 1 - 2 dniowymi przedziałami czasowymi między dostarczeniem świeżej biomasy nie zapewnia całkowitej

eliminacji *Mycobacterium paratuberculosis*, podczas gdy mezofilna fermentacja okresowa trwająca 30 dni, bądź termofilna trwająca 3 godziny powodowała redukcję bakterii do ilości znajdującej się poniżej progu wykrywalności (Olsen i in. 1985).

Wpływ na wydajność sanityzacji ma też etapowość procesu technologicznego. Fermentacja metanowa prowadzona dwuetapowo (zarówno w układzie mezofilna, termofilna, czy w układzie termofilna, mezofilna) wykazuje lepszą zdolność eliminacji bakterii z biomasy stosowanej jako substrat dla biogazowni. Puchajda i Oleszkiewicz (2003) wykazali, że dwuetapowy proces: fermentacja termofilna, a następnie fermentacja mezofilna, powodują wydajniejszą sanityzację niż proces jednoetapowy w warunkach termofilnych. Często stosowany jest również etap obróbki termicznej - pasteryzacji substratów bądź biomasy pofermentacyjnej. W Niemczech i Austrii zaleca się pasteryzację substratów w 70°C przez 60 min. przed fermentacją mezofilną lub 30 min. przed fermentacją termofilną. Taki układ, szczególnie w kombinacji z fermentacją termofilną, może spowodować nawet redukcję bakterii sporujących, gdyż przetrwalniki, które przetrwały pierwszy etap rozpoczynając proces germinacji zostają zniszczone w drugim etapie (Bendixen 1999; Sahlström 2003).

#### 2.4.2.3. Poziom lotnych kwasów tłuszczowych i pH

Drugim zaraz po temperaturze najważniejszym czynnikiem powodującym redukcję bakterii patogennych w procesie fermentacji metanowej jest odczyn pH, z którym związane jest bezpośrednio stężenie LKT w mieszaninie fermentującej. Według Henry'ego i in. (1983) toksyczność LKT wobec bakterii jest zależna od odczynu pH w fermentorze. Według wspomnianych autorów lotne kwasy tłuszczowe powodują szybsze wymieranie bakterii *Salmonella Typhimurium* przy pH równym 4,0, niż przy pH równym 5,0. Podobne wyniki przedstawiają Kunte i in. (1998). Do odmiennych wniosków doszli Kearney i in. (1993), którzy w swoich badaniach związanych z redukcją patogenów w wyniku fermentacji metanowej w biogazowni, nie zauważyli istotnych korelacji między szybkością redukcji bakterii a stężeniem LKT. Toksyczność LKT wobec bakterii zależy od pojemności buforowej roztworu oraz temperatury. Jeżeli mieszaninę fermentującą cechuje wysoka pojemność buforowa, zmiany stężenia LKT w określonym przedziale nie wpływają na pH roztworu. Dodatkowo, zależy od rodzaju kwasów, ich ilości w biomacie fermentującej i wzajemnych proporcji.

#### 2.4.2.4. Naturalny antagonizm i konkurencja bakterii

W naturalnych układach mikrobiologicznych, takich jak beztlenowa fermentacja metanowa, bakterie często ulegają stresowi związanemu ze zmianami w ilości i składzie

składników pokarmowych. Zarówno zmiany stężeń, jak i całkowity brak substancji odżywczych bakterii mogą spowodować ograniczenie, a nawet zatrzymanie wzrostu bakterii. W procesie fermentacji mezofilnej, w trakcie którego temperatura nie jest na tyle wysoka aby efektywnie zredukować ilość bakterii, prawdopodobnie konkurencja mikrobiologiczna i ograniczenia w dostępie do substancji pokarmowych, związane z wydajną fermentacją metanową, są głównymi czynnikami odpowiedzialnymi za zmniejszenie żywotności bakterii patogennych (Smith i in. 2005).

Kearney i in. (1994) wykazali, że czas potrzebny do osiągnięcia 90% poziomu redukcji bakterii *Campylobacter jejuni* w ciągłej mezofilnej fermentacji metanowej jest istotnie dłuży niż dla *Salmonella Typhimurium*, *L. monocytogenes* i *Yersinia enterocolitica*. Wspomniani autorzy zasugerowali, że może to wynikać z różnic w procesach metabolicznych tych bakterii. *C. jejuni* wykorzystuje inne aminokwasy i witaminy niż pozostałe bakterie, dlatego konkurencja dla tej bakterii jest mniejsza i ma lepsze warunki do rozwoju.

W badaniach Ward i in. (1999) również analizowano wpływ dodatku substratów i aktywności bakterii zasiedlających środowisko fermentacji metanowej na wzrost patogenów. Wykazano, że rozwój bakterii pochodzących ze środowiska (z biomasy wsadowej) w komorze fermentacyjnej hamował wzrost bakterii z rodzaju *Salmonella*.

Efekt braku składników odżywczych jest przejście niektórych bakterii w wegetatywny stan głodu, w którym nie są zdolne się rozwijać, lecz zachowują żywotność do czasu aż w środowisku pojawią się składniki odżywcze. Dlatego też wielu autorów wskazuje, że efekt redukcji bakterii spowodowany niedoborem substancji pokarmowych jest nietrwały. W tym przypadku biomasa ma duże szanse na rekontaminację w momencie bardziej sprzyjających warunków dla rozwoju bakterii (Kearney i in 1994; Ward i in. 1999; Sahlström 2003; Smith i in. 2005).

#### **2.4.3. Bakterie jako bioindykatory stanu sanitarnego biomasy**

Wiele patogenów znajdujących się w odpadach odzwierzęcych i odchodach obecnych jest w bardzo małych ilościach, co utrudnia określenie zmian ich populacji w procesach obróbki biomasy. Z tego powodu w badaniach uwzględnia się bakterie wskaźnikowe (bioindykatory), umożliwiające wykrycie możliwej obecności fekalnych bakterii chorobotwórczych, a także zaobserwowanie mikrobiologicznych zmian ilościowych. Bakteriami wskaźnikowymi są najczęściej względnie bezpieczne drobnoustroje naturalnie występujące w dużych ilościach w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt. Przy doborze bakterii wskaźnikowych należy



kierować się ich dużą liczebnością w materiale wyjściowym, a także łatwością detekcji i kwantyfikacji (Bitton 2005).

Najczęściej raportowanymi bioindykatorami zanieczyszczenia fekalnego są bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, w tym *E. coli*. Najliczniejszymi bioindykatorami w kale są paciorkowce kałowe z grupy D wg. Lancefield (1933) – *Enterococcus* spp. (Larsen i in. 1994; Côté i in. 2006).

Odpady odzwierzęce czy osady ściekowe, aby mogły być zagospodarowane, muszą spełniać wymagania sanitarne określone w Rozporządzeniu Komisji (UE) nr 142/2011 z dnia 25 lutego 2011 roku w sprawie wykonania rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1069/2009 określającego przepisy sanitarne dotyczące produktów ubocznych pochodzenia zwierzęcego nieprzeznaczonych do spożycia przez ludzi oraz w sprawie wykonania dyrektywy Rady 97/78/WE w odniesieniu do niektórych próbek i przedmiotów zwolnionych z kontroli weterynaryjnych na granicach w myśl tej dyrektywy. Takie samo wymaganie narzuca Ustawa z dnia 10 lipca 2007 roku o nawozach i nawożeniu na powstające podczas chowu zwierząt nawozy naturalne. Względne bezpieczeństwo sanitarne ww. substancji wg. podanych aktów prawnych zapewnia spełnienie następujących kryteriów:

- 1) liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* (lub *E. coli*) nie może przekraczać 1000 jednostek tworzących kolonie na 1 gram nawozu (jtk/g);
- 2) nawóz nie może zawierać bakterii z rodzaju *Salmonella* w 25 g próbki.

Dodatkowym kryterium jest warunek parazytologiczny: nawóz nie może zawierać żywych jaj pasożytów z rodzajów *Ascaris*, *Trichuris*, *Toxocara*, które są wskaźnikami zanieczyszczenia parazytologicznego (Kłapeć i Cholewa 2012).

## **2.5. Uzasadnienie innowacyjnego charakteru pracy**

Analiza przedmiotu literatury wskazuje, że proces fermentacji metanowej może skutecznie redukować poziom drobnoustrojów zawartych w wykorzystywanych substratach. Efektywność tego procesu zależy od szeregu czynników, w tym między innymi od rodzaju substratów, czasu fermentacji, temperatury, pH czy zawartości substancji zakłócających przebieg procesu. Jak dotąd nie analizowano jednak, czy czynnikiem takim może być rodzaj wykorzystywanej gnojowicy, której skład chemiczny w związku z innym rodzajem wykorzystywanych pasz w żywieniu różnych grup produkcyjnych świń, w tym tuczników i loch, może być odmienny.

### 3. CEL PRACY

Celem niniejszej pracy jest **określenie wpływu procesu fermentacji metanowej prowadzonej w dwóch biogazowniach rolniczych różniących się między sobą rodzajem wykorzystywanych substratów na efektywność sanitzacji biomasy wejściowej, w tym gnojowicy świńskiej i produkcji biogazu.**

Założenia zasadniczego celu pracy zostaną osiągnięte poprzez realizację celów szczegółowych, w tym:

1. Określenie podstawowego składu chemicznego gnojowicy, biomasy wejściowej oraz pozostałości pofermentacyjnych.
2. Określenie efektywności sanitzacji gnojowicy świńskiej i biomasy wejściowej w biogazowniach wykorzystujących różne substraty.
3. Określenie stopnia redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, bakterii *E. coli*, *H. alvei* oraz *Enterococcus* spp., biomasy wejściowej, w tym gnojowicy świńskiej w poszczególnych miesiącach.
4. Porównanie stopnia redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów, bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, bakterii *E. coli*, *H. alvei* oraz *Enterococcus* spp. między biogazowniami wykorzystującymi różne substraty.
5. Porównanie wydajności procesu produkcji biogazu między biogazowniami wykorzystującymi różne substraty.
6. Określenie zależności między efektywnością sanitzacji biomasy wejściowej a wydajnością produkcji biogazu, składem chemicznym biomasy oraz wartością parametrów fermentacji metanowej

#### 3.1. Hipoteza badawcza

Hipoteza badawcza zakłada, że proces fermentacji metanowej prowadzony w dwóch niezależnych biogazowniach zlokalizowanych przy fermie utrzymującej tuczniaki i fermie utrzymującej lochy z prosiętami, wykorzystujących różne rodzaje substratów wpływa na efektywność sanitzacji biomasy wejściowej, w tym gnojowicy świńskiej oraz efektywność produkcji biogazu.

## 4. MATERIAŁ I METODY

### 4.1. Materiał badawczy

Materiał do badań stanowiły próby biologiczne gnojowicy, biomasy wejściowej oraz biomasy pofermentacyjnej pochodzące z dwóch biogazowni rolniczych zlokalizowanych na terenie województwa zachodniopomorskiego, należących do Spółki GoodValley Agro S.A. (dawniej POLDANOR S.A.). W badaniach wykorzystano również dane dotyczące procesu produkcji biogazu w tych instalacjach.

#### 4.1.1 Charakterystyka wybranych biogazowni

Wybrane do badań biogazownie należą do typu rolniczego oraz zlokalizowane są przy wielkotowarowych fermach trzody chlewnej tej samej Spółki. Jako substrat wykorzystywana jest produkowana przez fermy gnojowica świńska, natomiast w celu jej stabilizacji, stosowana jest kofermentacja z dodatkiem biomasy roślinnej. Instalacje są wybudowane w tej samej technologii oraz stosują odpowiadające sobie rozwiązania techniczne w całym procesie produkcyjnym. Wybór tych instalacji podyktowany był tym, że biogazownie cechuje ta sama charakterystyka pracy z wyjątkiem rodzaju stosowanych substratów, w tym gnojowicy świńskiej. Jedna zlokalizowana jest bowiem przy fermie tuczu, a druga przy fermie matecznej utrzymującej lochy z prosiętami. W ten sposób obie biogazownie tworzą układ doświadczalny różniących się rodzajem stosowanych substratów.

##### 4.1.1.1. Biogazownia w Świelinie

Biogazownia Świelino zlokalizowana jest w gminie Bobolice, w powiecie koszalińskim. Położenie geograficzne zakładu pokazane jest na mapie, którą przedstawia Rycina 9. W skład biogazowni wchodzi:

- zbiornik wstępny o pojemności 962 m<sup>3</sup>, w którym przechowywana jest gnojowica z fermy tuczu,
- zbiornik na komponenty o pojemności 962 m<sup>3</sup>,
- zbiornik fermentacyjny z mieszaniem o pojemności 3990 m<sup>3</sup>,
- zbiornik pofermentacyjny z mieszaniem o pojemności 2490 m<sup>3</sup>, stanowiący również magazyn biogazu,
- plac na kiszonkę,
- system biologicznego odsiarczania biogazu,

- budynek techniczny ze sterownią i jednostką kogeneracyjną (agregat prądotwórczy o mocy 625 kW i kocioł na biogaz o mocy 701 kW),
- stacja transformatorowa,
- elementy uzupełniające jak studnie, budynki pomp.

Biogazownia umiejscowiona jest przy fermie tuczu świń. Na terenie fermy utrzymywane są tuczniaki o masie ciała od około 24 do 114 kg. Roczna produkcja wynosi ponad 39 500 tuczniaków. W trakcie tuczu wykorzystywane są trzy rodzaje mieszanek paszowych produkcji Spółki GoodValley Agro S.A.: Finish w ilości 7483615 kg, Rosta 2072336 kg oraz Speed 194055 kg rocznie. Łączne roczne zużycie pasz wynosi 9750006kg. Mieszanki te różnią się między sobą m.in. poziomem zawartości białka.

Poszczególne mieszanki zawierają: Finish – 15,5% białka ogólnego, Rosta – 17,6 % białka ogólnego, Speed – 18,2% białka ogólnego. Przy tej zawartości białka roczny ładunek wnoszonego z paszami azotu wyniósł 249866 kg.

Z fermy tuczu dostarczana jest do biogazowi gnojowica w ilości około 31 500 ton rocznie. Poza gnojowicą, w procesie produkcji biogazu wykorzystywana jest kiszonka z kukurydzy w ilości około 9 000 ton rocznie. Biogazownia prowadzi dwuetapową, termofilną fermentację metanową, a jej szacowana wydajność to około 2500000 m<sup>3</sup> biogazu rocznie.

#### 4.1.1.2. Biogazownia w Giżynie

Biogazownia Giżyno zlokalizowana jest w gminie Kalisz Pomorski, w powiecie drawskim. Położenie geograficzne instalacji obrazuje mapa (Rycina 9).

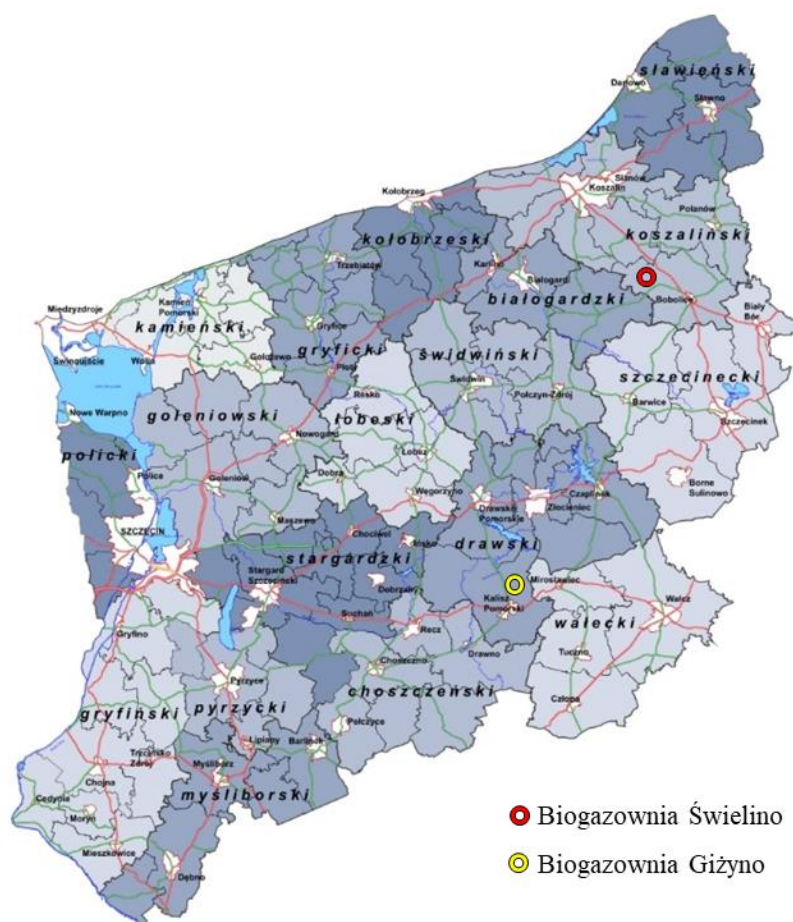
W skład biogazowni wchodzi:

- zbiornik wstępny o pojemności 950 m<sup>3</sup>, w którym przechowywana jest gnojowica z fermy matecznej,
- dwa zbiorniki fermentacyjne z mieszaniem, oba o pojemności 3884 m<sup>3</sup>,
- zbiornik pofermentacyjny z mieszaniem o pojemności 2490 m<sup>3</sup>, stanowiący również magazyn biogazu,
- plac na kiszonkę,
- system biologicznego odsiarczania biogazu,
- budynek techniczny ze sterownią i jednostką kogeneracyjną (agregat prądotwórczy o mocy 1063 kW i kocioł na biogaz o mocy 1200 kW),
- stacja transformatorowa,
- elementy uzupełniające jak studnie, budynki pomp.

W biogazowni Giżyno używana jest gnojowica z fermy utrzymującej lochy z prosiętami. Stado podstawowe liczy 1280 loch oraz 350 loszek. Roczna produkcja wynosi ponad 47500 prosiąt o masie ciała 6,5kg. W całym cyklu produkcyjnym wykorzystywanych jest sześć rodzajów mieszanek paszowych, w tym trzy dla loch Gesta w ilości 1315834 kg, Lakta 783105 kg i Plant 348373 kg oraz trzy dla prosiąt w ilości: Start 35328 kg, Start Prem 4293 kg i Speed 514 kg rocznie. Łączne roczne zużycie pasz wynosi 2487447 kg. Mieszanki te różnią się między sobą m.in. poziomem zawartości białka.

Poszczególne mieszanki zawierają: Gesta – 13,5 % białka ogólnego, Lakta – 15,5 % białka ogólnego, Plant – 13,7 % białka ogólnego, Start – 18,5 % białka ogólnego, Start Prem – 19,4 % białka ogólnego, Speed – 18,2 % białka ogólnego. Przy tej zawartości białka roczny ładunek wnoszonego z paszami azotu wyniósł 56696 kg.

Do produkcji biogazu wykorzystywana jest gnojowica w ilości 13000 ton rocznie. Pozostałymi substratami są kiszonka z kukurydzy i traw w ilości 18000 ton rocznie. Biogazownia prowadzi dwuetapową, termofilną fermentację metanową z roczną produkcją biogazu na poziomie około 4015000 m<sup>2</sup>.



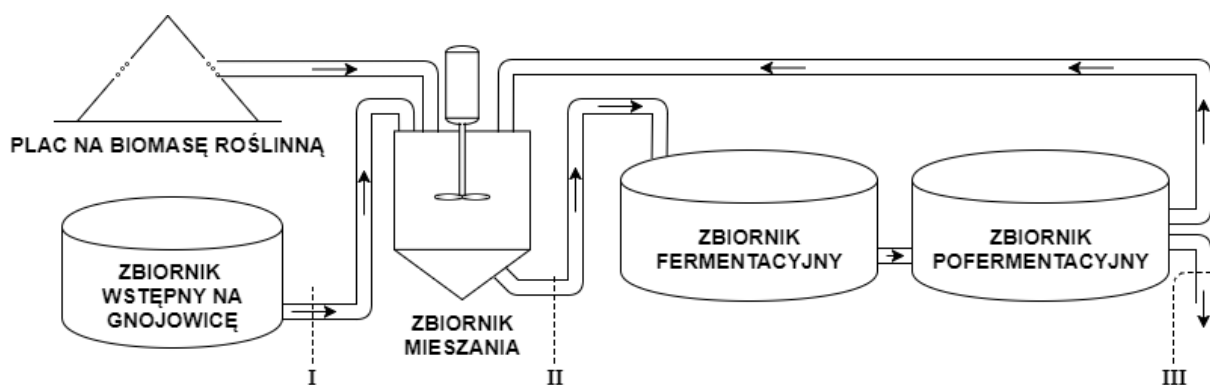
Rycina 9. Lokalizacja biogazowni rolniczych będących przedmiotem badań (Urząd Marszałkowski Województwa Zachodniopomorskiego 2016).

#### 4.1.2. Próby biologiczne

Z każdej biogazowni, w odstępach 1 miesiąca pobierano łącznie trzy próby, w tym jedną próbę surowej gnojowicy i dwie próby biomasy. Pierwszą próbę biomasy pobierano przed zbiornikiem fermentacyjnym (przed fermentacją metanową), natomiast drugą za zbiornikiem pofermentacyjnym (po zakończonym procesie). Próbę biomasy pobieraną przed zbiornikiem fermentacyjnym stanowiła mieszanina gnojowicy świńskiej, różnych rodzajów kiszonek (z kukurydzy lub z kukurydzy i z traw w zależności od biogazowni) i recyrkulatu ze zbiornika pofermentacyjnego. Próbę pobieraną za zbiornikiem pofermentacyjnym stanowiła przefermentowana biomasa. Orientacyjny schemat miejsc poboru próbek w kontekście obiegu biomasy w obu biogazowniach przedstawia Rycina 10.

Próby pobierano z pracownikami biogazowni ze specjalnie przystosowanych kurków upustowych do sterylnych pojemników poliuretanowych o pojemności 500 ml. W celu zapewnienia reprezentatywności próby, przed poborem kurki były przepłukiwane biomasą w ilości minimum 5 litrów. Pobrany materiał biologiczny transportowano i przechowywano w temperaturze 4°C i analizowano nie później niż 12 godzin od pobrania.

Uwzględniając meteorologiczny podział pór roku, próby pobierano we wszystkich miesiącach odpowiadających poszczególnym porom. Przy czym z uwagi na hipotetyczne największe zróżnicowanie parametrów procesu fermentacji między miesiącami najcieplejszymi i najchłodniejszymi, w porach zimowych i letnich w kolejnych latach pobrano dodatkowe próby. W porze zimowej pobrano o jedną próbę (w miesiącu styczniu), a w porze letniej o dwie próby więcej (w miesiącach lipiec i sierpień). W każdej biogazowni próby pobierano 15 razy, od stycznia 2015 do stycznia 2016 oraz w lipcu i sierpniu roku 2017. Łącznie wykonano 15 cykli poboru kompletów prób.



Rycina 10. Schemat poboru prób w biogazowniach: I – miejsce poboru prób gnojowicy świńskiej; II – miejsce poboru przygotowanej biomasy wejściowej; III – miejsce poboru biomasy przefermentowanej (opracowanie własne).

#### 4.1.3. Parametry pracy biogazowni

Dane na temat parametrów przebiegu procesu fermentacji metanowej w obu biogazowniach, monitorowanych na miejscu i udostępnionych przez Spółkę GoodValley Agro S.A.:

- dziennej średniej temperatury,
- pH w komorach fermentacyjnych,
- dziennego wsadu substratów,
- hydraulicznego czasu retencji (HRT),
- dziennej ilości pozyskiwanego biogazu (m<sup>3</sup>),
- zawartości metanu w biogazie (%),
- stężeniu LKT w biomase fermentującej.

Dane te gromadzono w tych samych miesiącach, w których pobierane były próby do analiz.

#### 4.2. Analizy fizykochemiczne

Analizy podstawowego składu chemicznego prób gnojowicy i biomasy przeprowadzono zgodnie z Oficjalnymi Metodami Analitycznymi AOAC (Latimer 2012), w Katedrze Hodowli Trzody Chlewnej, Żywienia Zwierząt i Żywności (obecnie Katedra Nauk o Zwierzętach Monogastrycznych) Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt ZUT w Szczecinie.

#### 4.2.1. Zawartość suchej masy, suchej masy organicznej, popiołu surowego

Terminem sucha masa określa się masę pozostałą na skutek odparowania wody z próby świeżej masy, wyrażoną jako % świeżej masy (Myczko i in. 2013). Zawartość suchej masy (SM) oznaczano poprzez wysuszenie naważki biomasy umieszczonej w ceramicznym tyglu inkubowanej w suszarce laboratoryjnej (Memmert®) w temp. 105°C do momentu uzyskania stałej wagi. SM dla każdej próbki obliczono ze wzoru:

$$SM = \frac{(W_2 - W_0)}{W_1 - W_0} \times 100 [\%],$$

gdzie:

$W_0$  – waga pustego, suchego tygla [g],

$W_1$  – waga tygla z naważką próby przed suszeniem [g],

$W_2$  – waga tygla z naważką próby po suszeniu [g].

Materiał z oznaczania suchej masy wykorzystano następnie do oznaczenia popiołu surowego i suchej masy organicznej. W tym celu, wysuszone próby spalano w temperaturze 550°C w piecu muflowym (CZYLOK®) do uzyskania stałej wagi. Terminem popiół surowy określa się masę pozostałą na wskutek wyprażenia świeżej próby, wyrażoną jako % świeżej masy. Popiół surowy (P) dla każdej próby obliczono wg. wzoru:

$$P = \frac{(W_3 - W_0)}{W_1 - W_0} \times 100 [\%]$$

gdzie:

$W_0$  – waga pustego, suchego tygla [g],

$W_1$  – waga tygla z naważką próby przed suszeniem [g],

$W_3$  – waga tygla z naważką próby po spalaniu [g].

Terminem sucha masa organiczna określa się masę, jaka pozostała na skutek wyprażenia próby, z której wcześniej odparowano wodę, wyrażoną jako % suchej masy (Myczko i in. 2013). W praktyce termin ten oznacza zawartość związków organicznych, które ulegają spalaniu i ulatują w temperaturze 550°C (ang. volatile solids). Sucha masa organiczna (SMO) dla każdej próby została obliczona wg. wzoru:

$$SMO = \frac{(W_2 - W_3)}{W_2 - W_0} \times 100 [\% SM]$$

gdzie:

$W_0$  – waga pustego, suchego tygla [g],

$W_1$  – waga tygla z naważką próby przed suszeniem [g],

$W_3$  – waga tygla z naważką próby po spalaniu [g].



Wszystkie powyższe analizy przeprowadzono w dwóch powtórzeniach dla każdej próby.

#### 4.2.2. Zawartość azotu amonowego

Zawartość azotu amonowego w próbach oznaczano metodą destylacyjną wg. Waring'a i Bremner'a (1964) z modyfikacjami.

Naważkę 100 g próby rozcieńczano w szklanym, szczelnym słoju ze szlifem poprzez dodatek 900 ml wody destylowanej i dokładnie mieszano. Następnie uzyskaną zawiesinę inkubowano przez 24 godz. bez otwierania, co jakiś czas mieszając. W kolejnym etapie zawiesinę filtrowano za pomocą sączków jakościowych. Odmierzoną ilość odsączu (30 - 40 ml) poddawano destylacji w aparacie destylacyjnym B-324 (BUCHI®). Aparat po zainstalowaniu w nim probówki z próbą automatycznie dozował 30% roztwór wodorotlenku sodu (NaOH) w celu silnego podwyższenia odczynu pH, co powoduje zmianę jonów amonowych ( $\text{NH}_4^+$ ) w amoniak ( $\text{NH}_3$ ). Kolejnym krokiem było 5 minutowe oddestylowywanie amoniaku do odbieralnika, w którym znajdowało się 50 ml 2% roztworu kwasu borowego ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ). Amoniak w kontakcie z kwasem borowym tworzy boran amonu ( $(\text{NH}_4)_3\text{BO}_3$ ). Ostatnim krokiem było oznaczenie ilości azotu amonowego przez miareczkowanie destylatu mianowanym, 0,05 mol roztworem kwasu siarkowego ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) w obecności wskaźnika Tashiro (POCH®). Biorąc pod uwagę fakt, że 1 ml 0,05 mol roztworu  $\text{H}_2\text{SO}_4$  wiąże 0,0014g  $\text{NH}_4$ , zawartość azotu amonowego w próbach obliczano ze wzoru:

$$\text{N-NH}_4 = \frac{V_{\text{H}_2\text{SO}_4} \times 0,0014}{V_{\text{ods}} \times k} \times 1000 \text{ [g/kg]}$$

gdzie:

$V_{\text{H}_2\text{SO}_4}$  – objętość zużytego kwasu siarkowego [ml],

$V_{\text{ods}}$  – objętość odsączu użyta do destylacji [ml],

$k$  – współczynnik rozcieńczenia próby (w tym przypadku 0,1),

0,0014 – ilość amoniaku (w gramach), która wiąże 1 ml kwasu siarkowego (0,05 mol).

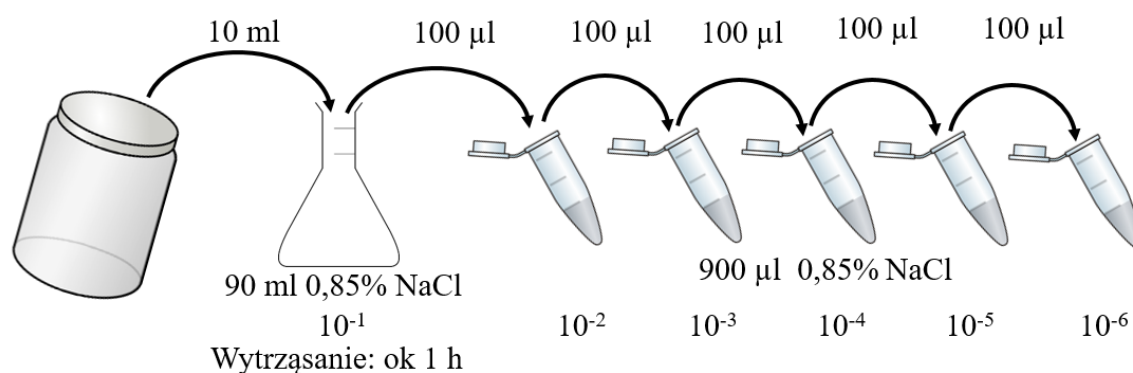
#### 4.3. Analizy mikrobiologiczne

Analizy mikrobiologiczne prób zostały przeprowadzone w Katerze Immunologii, Mikrobiologii i Chemii Fizjologicznej (obecnie Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii) Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt ZUT w Szczecinie. Analizy wykonano zgodnie z normami: Jakość wody - Ogólne wytyczne oznaczania liczby bakterii metodą hodowli (PN -

EN ISO 8199:2010) oraz Mikrobiologia żywności i pasz – Wymagania ogólne i zasady badań mikrobiologicznych (PN-EN ISO 7218:2008)

#### 4.3.1. Przygotowanie materiału

Przed wykonywaniem analiz mikrobiologicznych próby mieszano oraz przygotowywano zawiesinę wyjściową. W tym celu, z każdej próby sterylną pipetą przenoszono 10 ml biomasy do wcześniej przygotowanej kolby stożkowej z 90 ml sterylnego roztworu soli fizjologicznej (0,85% roztwór NaCl). Następnie z tak przygotowanej zawiesiny wyjściowej, która była jednocześnie pierwszym rozcieńczeniem dziesiętnym ( $10^{-1}$ ) przygotowywano kolejne rozcieńczenia w oparciu o normę PN-EN ISO 6887-1:2000. Proces przygotowania rozcieńczeń dziesiętnych przedstawia ryc. 11.



Rycina 11. Schemat wykonania rozcieńczeń dziesiętnych (opracowanie własne).

Tak przygotowana zawiesina wyjściowa oraz rozcieńczenia dziesiętne posłużyły w kolejnych etapach ilościowego oznaczania wybranych grup drobnoustrojów.

#### 4.3.2. Oznaczanie ilościowe wybranych grup bakterii

Do oznaczania ilościowego bakterii wykorzystano metodę posiewu powierzchniowego z kolejnych rozcieńczeń dziesiętnych prób badanych, które posiewano na płytkach Petriego ( $\varnothing$  90 mm) ze stałymi podłożami mikrobiologicznymi: Brain Heart Infusion (BHI, Biomaxima<sup>®</sup>), agar wg. MacConkey'a (1908), agar z żółcią, eskuliną i azydkiem sodu (BEA, BioMaxima<sup>®</sup>). Z każdego rozcieńczenia próbki (od  $10^{-1}$  do  $10^{-6}$ ) wysiewano za pomocą głaszczki 100 µl dobrze wymieszanej zawiesiny na powierzchnię pożywki. Płytki z posiewami inkubowano przez 24h w temperaturze 37, a następnie zliczano wyrosłe kolonie bakteryjne. Wyniki przedstawiano jako liczbę mikroorganizmów wyrażoną w jednostkach tworzących

kolonie (jtk) w 1 ml próby badanej, obliczaną jako średnią ważoną uwzględniając dwa kolejne rozcieńczenia wg. równania:

$$N_x = \frac{\Sigma a}{V(n_1+0,1n_2)d} \text{ [jtk/ml]}$$

gdzie:

$N_x$  – liczba danej grupy drobnoustrojów,

$\Sigma a$  – suma kolonii na wszystkich płytkach z dwóch kolejnych rozcieńczeń,

$n_1$  – liczba płytek z pierwszego liczonego rozcieńczenia,

$n_2$  – liczba płytek z drugiego liczonego rozcieńczenia,

$V$  – objętość materiału naniesiona na płytkę w mililitrach,

$d$  – współczynnik rozcieńczenia odpowiadający pierwszemu liczonemu rozcieńczeniu.

Do oznaczania ogólnej liczby mikroorganizmów wykorzystano podłoże BHI (Biomaxima®). Podłoże to wykorzystywane jest do hodowli bakterii, drożdży i pleśni. Pożywka jest stosowana w badaniach wody, ścieków i żywności (Atlas 2004). Skład pożywki przedstawia Tabela 4.

Posiewy inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Po inkubacji zliczano wszystkie wyrosłe kolonie bakteryjne. W tym celu wybierano szalki zawierające od 30 do 300 kolonii bakteryjnych ogółem. Następnie kolonie poddawano podstawowym analizom mikrobiologicznym, w tym analizie mikroskopowej z wykorzystaniem technik barwienia pozytywnego, negatywnego i pozytywno-negatywnego oraz testy wykrywające obecność oksydazy cytochromowej i katalazy.

Tabela 4. Skład podłoża agarowego BHI (Biomaxima®)

Składnik	Ilość [g/l]
Wyciąg mózgowo - sercowy	8,0
Hydrolizat pepsynowy tkanki zwierzęcej	5,0
Trzustkowy hydrolizat kazeiny	16,0
Chlorek sodu	5,0
Glukoza	2,0
Wodorofosforan sodu	2,5
Agar	13,5

Do oznaczania liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz *Hafniaceae* wykorzystano podłoże agarowe MacConkey'a. Jest to pożywka różnicująca bakterie Gram -

ujemne na fermentujące i niefermentujące laktozę. Zawartość soli żółci hamuje rozwój bakterii Gram - dodatnich, a wskaźnikiem pH jest czerwień obojętna. Skład podłoża przedstawia tabela 5. Podłoże MacConkey'a pozwala na wstępne zróżnicowanie bakterii ze względu na charakterystyczny wzrost kolonii poszczególnych rodzajów i gatunków bakterii. *E. coli* rosną najczęściej w postaci różowych i ciemnoróżowych, matowych kolonii tworzących halo, natomiast inni przedstawiciele rodziny *Enterobacteriaceae* (np. *Klebsiella* spp. lub *Enterobacter* spp.) rosną jako opalizujące, jasnoróżowe, mukoidalne kolonie (Szewczyk 2013). Bakterie *Hafnia alvei* (rodzina *Hafniaceae*) wzrastają jako małe, bezbarwne i okrągłe kolonie (Smith 2014).

Tabela 5. Skład podłoża MacConkey'a (Biomaxima<sup>®</sup>)

Składnik	Ilość [g/l]
Trzustkowy hydrolizat żelatyny	17,00
Pepton mięsno – kazeinowy	3,00
Laktoza jednowodna	10,00
Chlorek sodu	5,00
Sole żółci	1,50
Czerwień obojętna	0,03
Fiolet krystaliczny	0,001
Agar	13,5

Wykonane posiewy inkubowano w cieplarni laboratoryjnej przez 24 godziny w temperaturze 37°C. Po inkubacji zliczano osobno kolonie bakteryjne, o morfologii charakterystycznej dla *Hafniaceae*, *Enterobacteriaceae*, w tym *E. coli*.

Wyniki analiz przedstawiano jako liczbę bakterii *Enterobacteriaceae*, liczbę bakterii *E. coli* oraz liczbę bakterii *H. alvei* wyrażaną w jednostkach tworzących kolonie (jtk) na 1 ml próbki badanej, obliczaną wg. równania podanego powyżej.

Do oznaczania liczby paciorkowców kałowych wykorzystywano podłoże agarowe BEA (BioMaxima<sup>®</sup>). Jest to podłoże przeznaczone do izolowania paciorkowców kałowych. Żółć bydlęca zawarta w składzie podłoża hamuje namnażanie większości bakterii Gram-ujemnych, zawartość azydku sodu z kolei hamuje wzrost bakterii Gram-dodatnich innych niż paciorkowce. Zawartość eskuliny pozwala na identyfikację paciorkowców kałowych,

posiadających zdolność jej hydrolizy do glukozy i eskuleiny, która w obecności jonów  $Fe^{3+}$  tworzy barwny kompleks w kolorze ciemnooliwkowym do czarnego (Isenberg i in. 1970). Szczegółowy skład podłoża przedstawia tabela 6.

Tabela 6. Skład podłoża BEA (BioMaxima®)

Składnik	Ilość [g/l]
Enzymatyczny hydrolizat kazeiny	17,00
Wyciąg z tkanek zwierzęcych	3,00
Ekstrakt drożdżowy	5,00
Żółc bydlęca	10,00
Chlorek sodu	5,00
Eskulina	1,00
Cytrynian żelazowo-amonowy	0,50
Cytrynian sodu	1,00
Azydek sodu	0,15
Agar	15,0

Do identyfikacji gatunkowej bakterii używano podłoża chromogenego Chromagar ECC (BioMaxima®) oraz testów biochemicznych RapID™ ONE (Remel®). Selektywno – różnicujące podłoże agarowe Chromagar ECC zawiera w swoim składzie chromogeny, które wykrywając aktywność specyficznych dla bakterii *E. coli* enzymów pozwala odróżnić je od innych drobnoustrojów. Skład podłoża przedstawia tabela 7. Z hodowli bakteryjnych na podłożu MacConkey'a wybierano losowe, charakterystyczne dla *E. coli* kolonie i przesiewano je na płytki Petriego (Ø 90 mm) z podłożem Chromagar ECC. Po 24 godzinnej inkubacji w 37°C identyfikowano bakterie zgodnie z instrukcją producenta podłoża (BioMaxima 2014).

Testy RapID™ ONE (Remel®), poprzez przeprowadzenie 19 różnych reakcji biochemicznych, pozwalają ustalić specyficzny kod, który określa gatunek drobnoustroju, identyfikowany za pomocą bazy danych ERIC - Electronic RapID™ Compendium (Remel 2009). Wybrane, charakterystyczne dla poszczególnych drobnoustrojów kolonie bakterii przesiewano z podłoża MacConkey'a na podłoże odżywcze BHI i inkubowano przez 24 godziny w 37°C. Następnie sterylną eżą przenoszono wyrosłe kolonie bakteryjne i zawieszano

je w 2 ml dostarczonego przez producenta płynie inokulacyjnym tak, aby doprowadzić zawiesinę do gęstości optycznej odpowiadającej 2,0 w skali McFarlanda. Gęstość optyczną zawiesiny mierzono za pomocą densytometru (WITKO®). Tak przygotowaną zawiesinę przenoszono na płytkę reakcyjną, mieszano i inkubowano przez 4 godziny w 37°C. Wyniki odczytywano zgodnie z instrukcją dostarczoną przez producenta (REMEL 2003).

Tabela 7. Skład podłoża Chromagar ECC (BioMaxima®)

Składnik	Ilość [g/l]
Mieszanina chromogenna	4,8
Pepton i ekstrakt drożdżowy	8,0
Chlorek sodu	5,0
Agar	15,0

#### 4.4. Opracowanie wyników analiz

##### 4.4.1. Określenie efektywności sanityzacji biomasy wejściowej w biogazowniach

Efektywność procesu sanityzacji biomasy wejściowej w biogazowniach określano na podstawie wyliczonych stopni redukcji dla poszczególnych grup drobnoustrojów. Stopień redukcji  $R$  wyrażano jako procent drobnoustrojów usuniętych w wyniku procesu fermentacji metanowej wg. następującego wzoru (opracowanie własne):

$$R_B = 100\% - \left( \frac{Y_b}{X_b} \times 100\% \right),$$

gdzie:

$R_B$  – stopień redukcji bakterii,

$X_b$  – liczba bakterii w biomacie przed fermentacją metanową (biomasie wejściowej),

$X_b$  – liczba bakterii w biomacie po fermentacji metanowej (pozostałości pofermentacyjnej).

##### 4.4.2. Określenie wydajności procesu produkcji biogazu

Wydajność produkcji biogazu wyrażono jako dobową ilość wyprodukowanego biogazu z 1 tony s.m.o. substratów na 1 m<sup>3</sup> pojemności roboczej komory fermentacyjnej/komór fermentacyjnych biogazowni ( $W_B$ ) i obliczano wzorem:

$$W_B = \frac{v_b}{M_w \times v_r} \quad [\text{Nm}^3/\text{t s.m.o./m}^3/\text{d}],$$

gdzie:

$W_B$  – wydajność produkcji biogazu,

$v_b$  – dobową objętość wyprodukowanego biogazu [ $\text{Nm}^3/\text{d}$ ],

$M_w$  – masa materiału wsadowego [t s.m.o.],

$v_r$  – objętość robocza fermentorów [ $\text{m}^3$ ].

Dobowy uzysk biogazu z 1  $\text{m}^3$  przestrzeni roboczej komory fermentacyjnej/komór fermentacyjnych biogazowni ( $V_B$ ), obliczano wg. wzoru:

$$V_B = \frac{v_b}{v_r} \quad [\text{Nm}^3/\text{m}^3/\text{d}],$$

gdzie:

$V_B$  – dobowy uzysk biogazu z 1  $\text{m}^3$  przestrzeni roboczej,

$v_b$  – dobową objętość wyprodukowanego biogazu [ $\text{Nm}^3/\text{d}$ ],

$v_r$  – objętość robocza fermentorów [ $\text{m}^3$ ].

Wydajność metanotwórczą substratu wyrażono jako dobową ilość wyprodukowanego metanu z 1 tony s.m.o. substratów na 1  $\text{m}^3$  pojemności roboczej komory fermentacyjnej/komór fermentacyjnych biogazowni ( $W_{CH_4}$ ) i obliczano wg wzoru:

$$W_{CH_4} = \frac{v_{CH_4}}{M_w \times v_r} \quad [\text{Nm}^3/\text{t s.m.o./m}^3/\text{d}],$$

gdzie:

$W_{CH_4}$  – wydajność metanotwórcza substratu,

$v_{CH_4}$  – dobową objętość wyprodukowanego metanu [ $\text{Nm}^3/\text{d}$ ],

$M_w$  – masa materiału wsadowego [t s.m.o.],

$v_r$  – objętość robocza fermentorów [ $\text{m}^3$ ].

Dobowy uzysk metanu z 1  $\text{m}^3$  przestrzeni roboczej komory fermentacyjnej/komór fermentacyjnych biogazowni ( $V_{CH_4}$ ) obliczano wg wzoru:

$$V_{CH_4} = \frac{v_{CH_4}}{v_r} \quad [\text{Nm}^3/\text{m}^3/\text{d}],$$

gdzie:

$V_{CH_4}$  – dobowy uzysk metanu z 1  $\text{m}^3$  przestrzeni roboczej,

$v_b$  – dobową objętość wyprodukowanego metanu [ $\text{Nm}^3/\text{d}$ ],

$v_r$  – objętość robocza fermentorów [ $\text{m}^3$ ].

#### 4.4.3. Analizy statystyczne

Uzyskane wyniki analizowano statystycznie za pomocą pakietu STATISTICA 13.1 (StatSoft®). Do obliczeń średnich i odchyłeń standardowych wykorzystywano konwencjonalne metody statystyczne. Do sprawdzenia czy cechy mają rozkład zbliżony do normalnego wykorzystywano test Saphiro - Wilka ( $p \leq 0,05$ ). Porównanie wartości średnich dwóch cech mających rozkład zbliżony do normalnego wykonywano za pomocą testu *t*-Studenta ( $p \leq 0,05$ ). Porównanie średnich cech, które nie mają rozkładu normalnego wykonywano za pomocą nieparametrycznego testu U Manna Whitneya ( $p \leq 0,05$ ). Porównanie średnich więcej niż dwóch cech przeprowadzano za pomocą nieparametrycznej analizy Kruskala-Wallisa ( $p \leq 0,05$ ). Korelację między cechami sprawdzano za pomocą współczynnika korelacji rang wg. Spearmana, gdzie współczynnik R zawierający się w przedziale  $|0;0,2|$  oznacza brak korelacji,  $|0,2;0,4|$  korelację słabą,  $|0,4;0,6|$  korelację umiarkowaną,  $|0,6;0,8|$  korelację wysoką,  $|0,8;1,0|$  korelację bardzo wysoką (Spearman 1904).



## 5. WYNIKI I DYSKUSJA

### 5.1. Podstawowy skład chemiczny

#### 5.1.1. Skład gnojowicy świńskiej pochodzącej z fermy tuczu i z fermy matecznej

Wykazano istotne różnice w zakresie podstawowego składu chemicznego między gnojowicą pochodzącą z fermy utrzymującej lochy z prosiętami i gnojowicą pochodzącą z fermy utrzymującej tuczniaki. Gnojowicę wytwarzaną przez tuczniaki cechowała ponad dwa razy większa zawartość suchej masy oraz popiołu surowego, istotnie większa zawartość suchej masy organicznej oraz większa o 80% zawartość azotu amonowego w porównaniu z gnojowicą pochodzącą z fermy matecznej. Różnice w zakresie podstawowego składu chemicznego między gnojowicami okazały się statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ). Zbiorcze wyniki analiz podstawowego składu gnojowicy świńskiej pochodzącej z fermy tuczu i fermy matecznej przedstawia tabela 8.

Tabela 8. Wyniki analiz podstawowego składu gnojowic świńskich pochodzących z fermy tuczu i fermy matecznej

Parametr	Ferma mateczna - Giżyno			Ferma tuczu - Świelino		
	n ważnych	$\bar{x}$	S.D.	n ważnych	$\bar{x}$	S.D.
SM [%]	14	<b>2,25</b>	1,92	15	<b>5,32</b>	1,66
SMO [%]	14	<b>66,02</b>	11,24	15	<b>74,43</b>	3,51
P [%]	14	<b>0,60</b>	0,37	15	<b>1,31</b>	0,29
NH <sub>4</sub> -N [g/kg]	15	<b>1,91</b>	0,29	15	<b>3,44</b>	0,39

Pogrubioną czcionką zaznaczone są wyniki wykazujące różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ). SM – zawartość suchej masy, SMO – zawartość suchej masy organicznej, P – zawartość popiołu surowego, NH<sub>4</sub>-N – zawartość azotu amonowego

Wyższe wartości badanych parametrów w gnojowicy pochodzącej z fermy tuczu wynikają najprawdopodobniej z różnic w sposobie żywienia, a także w procedurach technologicznych chowu obu grup zwierząt. Na podstawie ilości zużytej na fermach paszy i zawartości w niej białka ogólnego ustalono, że średnia ważona zawartość białka w mieszankach paszowych stosowanych w tuczu świń wyniosła 16%, a na fermie matecznej

14,2%. Może to tłumaczyć wyższą zawartość  $\text{NH}_4\text{-N}$  w gnojowicy wytwarzanej przez tuczniaki. Podstawową metodą wykorzystywaną w żywieniu świń, prowadzącą do redukcji ilości wydalanego azotu jest zmniejszenie poziomu białka ogólnego w dawkach pokarmowych (Latimier i Dourmad 1993; van der Peet-Schwering i in. 1996). Skutecznym sposobem obniżania ilości azotu wydalanego jest zastosowanie odpowiedniej strategii żywieniowej, w tym żywienia fazowego uwzględniającego zróżnicowane wymagania pokarmowe poszczególnych grup produkcyjnych świń. Jak podają Guillou i in. (1993) oraz Everts (1994) zastosowanie mieszanek paszowych o zróżnicowanym poziomie białka ogólnego dla loch próśnych i karmiących pozwoliło na obniżenie ilości wydalanego azotu o 20 - 25%. Podobny efekt u świń rosnących na skutek zastosowania żywienia fazowego dostosowanego do potrzeb pokarmowych uzyskali Latimier i Dourmad (1993). Autorzy stwierdzili redukcję ilości azotu wydalanego w gnojowicy na poziomie 8%.

O ilości azotu wydalonego decyduje również retencja, czyli ilość azotu zatrzymanego w organizmie świń. Wielkość retencji azotu istotnie różni się między grupami produkcyjnymi świń i może przyjmować wartości od 10 do 47% (Dourmad i in. 1999; Fernández i in. 1999). Jak podają Dourmad i in. (1999), retencja azotu u loch w całym okresie rozrodu wynosi średnio 27,5 %, w tym w okresie karmienia prosiąt 41 %, a w czasie ciąży i u loch luźnych wynosi 20 %. Nieco odmienne wartości uzyskali Fernández i in. (1999). Autorzy ci stwierdzili, że retencja azotu u loch w okresie karmienia jest niższa i wynosi 33 %, podczas gdy u loch luźnych i próśnych już tylko 10 %. Oba zespoły badaczy uzyskali zbliżone wyniki analizując wielkość retencji azotu u świń rosnących. Według Dourmad i in. (1999) retencja azotu u prosiąt do uzyskania masy ciała 8 kg wynosi 26 %, u warchlaków w przedziale wagowym od 8 do 28 kg blisko 45,0 %, a u tuczników w przedziale 28 do 108 kg masy ciała niemal 33,0 %. Natomiast Fernández i in. (1999) dla tych samych grup produkcyjnych świń otrzymali następujące wartości, odpowiednio: 18%, 47% oraz 37%.

Jak donosi Weremko (2006), lochy wydalają więcej azotu niż tuczniaki, lecz skład pochodzącej od nich gnojowicy w dużej mierze zależy też od stopnia jej rozcieńczenia wodą. Wymagane częste mycie kopców na fermie matecznej, a także większe wydalanie moczu w stosunku do kału u loch, powodują mniejszą zawartość azotu amonowego, suchej masy, suchej masy organicznej, popiołu oraz azotu amonowego w produkowanej przez nie gnojowicy (Kutera 1994; Winnicki i in. 2009).

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki różnią się od wartości podawanych przez innych autorów. Marszałek i in. (2014) stwierdzili ponad dwa razy większą średnią zawartość suchej masy gnojowicy pochodzącej od loch. Natomiast w przypadku tuczników średnia zawartość

suchej masy była wyższa o ponad 3 punkty procentowe. Z kolei Kowalski i in. (2013) uzyskali wyższą zawartość suchej masy organicznej oraz popiołu w gnojowicy pochodzącej zarówno od loch, jak i tuczników, w porównaniu z wartościami odnotowanymi w niniejszej pracy.

### 5.1.2. Skład biomasy wejściowej

Analiza składu biomasy wykorzystywanej w obu biogazowniach wykazała, że w biogazowni w Świelinie (przy fermie tuczu) biomasa charakteryzowała się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ) wyższymi parametrami (procentowy udział gnojowicy, zawartość suchej masy, zawartość suchej masy organicznej, zawartość popiołu surowego, zawartość azotu amonowego), niż w biogazowni w Giżynie (przy fermie matecznej). Kluczowym czynnikiem w tym przypadku wydaje się być rodzaj gnojowicy używany do przygotowywania biomasy wykorzystywanej w procesie produkcji biogazu. Gnojowica z Giżyna, pochodząca z fermy matecznej zawierała istotnie więcej wody i była używana jako substrat do produkcji biogazu w mniejszej ilości. Postępowano tak aby nie zaniżyć zawartości suchej masy biomasy wejściowej, gdyż jak donoszą Igoni i in. (2008) zbyt niska zawartość suchej masy w biomacie fermentującej zmniejsza wydajność produkcji biogazu. Istotnie mniejsza zawartość wody w gnojowicy pochodzącej od tuczników pozwoliła na osiągnięcie, w biogazowni w Świelinie składu mieszaniny substratów typowego dla fermentacji mokrej (Motte i in. 2013; Angelonidi i Smith 2015). Wyniki analiz przedstawiono w tabeli 9.

Tabela 9. Podstawowy skład biomasy wejściowej biogazowni Giżyno i Świelinio

Parametr	Biogazownia Giżyno			Biogazownia Świelinio		
	n ważnych	$\bar{x}$	S.D.	n ważnych	$\bar{x}$	S.D.
Udział gnojowicy [%]	15	<b>44,39</b>	6,57	15	<b>71,20</b>	6,60
SM [%]	15	<b>5,39</b>	1,33	15	<b>9,44</b>	1,46
SMO [%]	15	<b>80,83</b>	4,22	15	<b>85,23</b>	1,53
P [%]	15	<b>0,99</b>	0,13	15	<b>1,38</b>	0,21
NH <sub>4</sub> -N [g/kg]	15	<b>2,01</b>	0,26	15	<b>3,12</b>	0,27

Pogrubioną czcionką zaznaczone są wyniki wykazujące różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ). SM – zawartość suchej masy, SMO – zawartość suchej masy organicznej, P – zawartość popiołu surowego, NH<sub>4</sub>-N – zawartość azotu amonowego

### 5.1.3. Skład pozostałości pofermentacyjnych

Tabela 10 przedstawia wyniki analiz podstawowego składu pozostałości pofermentacyjnych pochodzących z obu biogazowni. Statystycznie istotne różnice ( $p \leq 0,05$ ) nie zostały stwierdzone jedynie w przypadku zawartości suchej masy między pozostałościami pofermentacyjnymi z biogazowni Giżyno (przy fermie matecznej) i biogazowni Świelinio (przy fermie tuczu). W zakresie pozostałych analizowanych parametrów potwierdzono istnienie statystycznie istotnych różnic ( $p \leq 0,05$ ) między obiema biogazowniami. Niższa zawartość suchej masy organicznej oraz wyższa zawartość popiołu i azotu amonowego mogą świadczyć o skuteczniejszym procesie dekompozycji substancji organicznych w biogazowni w Świelinie. Pozostałości pofermentacyjne z obu biogazowni cechowała niższa zawartość suchej masy niż podają inni autorzy Holm-Nielsen i in. (1993), Tambone i in. (2010) oraz Qi i in. (2018), natomiast zawartość suchej masy organicznej, popiołu oraz azotu amonowego były zbliżone do tych przedstawianych przez wspomnianych autorów.

Tabela 10. Podstawowy skład pozostałości pofermentacyjnych z biogazowni Giżyno i Świelinio

Parametr	Biogazownia Giżyno			Biogazownia Świelinio		
	n ważnych	$\bar{x}$	<i>S.D.</i>	n ważnych	$\bar{x}$	<i>S.D.</i>
SM [%]	15	4,50	1,17	15	4,36	1,11
SMO [%]	15	<b>75,60</b>	4,06	15	<b>71,66</b>	2,32
P [%]	15	<b>1,09</b>	0,35	15	<b>1,22</b>	0,25
NH <sub>4</sub> -N [g/kg]	15	<b>2,17</b>	0,21	15	<b>3,53</b>	0,27

Pogrubioną czcionką zaznaczone są wyniki wykazujące różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ). SM – zawartość suchej masy, SMO – zawartość suchej masy organicznej, P – zawartość popiołu surowego, NH<sub>4</sub>-N – zawartość azotu amonowego

### 5.2. Wybrane parametry fermentacji metanowej w biogazowniach

W tabeli 11 zaprezentowano zbiorcze wartości parametrów procesu produkcji biogazu w badanych biogazowniach. Zarówno temperatura, jak i pH były istotnie wyższe w biogazowni w Świelinie. Niskie wartości odchylenia standardowego świadczą o dużej stabilności tych parametrów. Stężenia LKT osiągnięte w zbiornikach fermentacyjnych obu instalacji nie różniły się statystycznie istotnie. Różnica niespełna 48 dni w odniesieniu do hydraulicznego czasu

retencji obu biogazowni została potwierdzona statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) i mogła wynikać z różnych pojemności roboczych biogazowni (rozdz. 4.4.1.).

Tabela 11. Wybrane parametry procesu fermentacji metanowej stwierdzone w zbiornikach fermentacyjnych biogazowni w Giżynie i w Świelinie

Parametr	Biogazownia Giżyno			Biogazownia Świolino		
	n ważnych	$\bar{x}$	S.D.	n ważnych	$\bar{x}$	S.D.
temperatura [°C]	15	<b>46,67</b>	3,61	15	<b>50,24</b>	2,62
pH	15	<b>7,51</b>	0,39	15	<b>7,96</b>	0,03
LKT [mg/l]	15	3716,19	1000,12	15	4542,82	1493,99
HRT [dni]	15	<b>121,54</b>	15,53	15	<b>73,57</b>	15,37

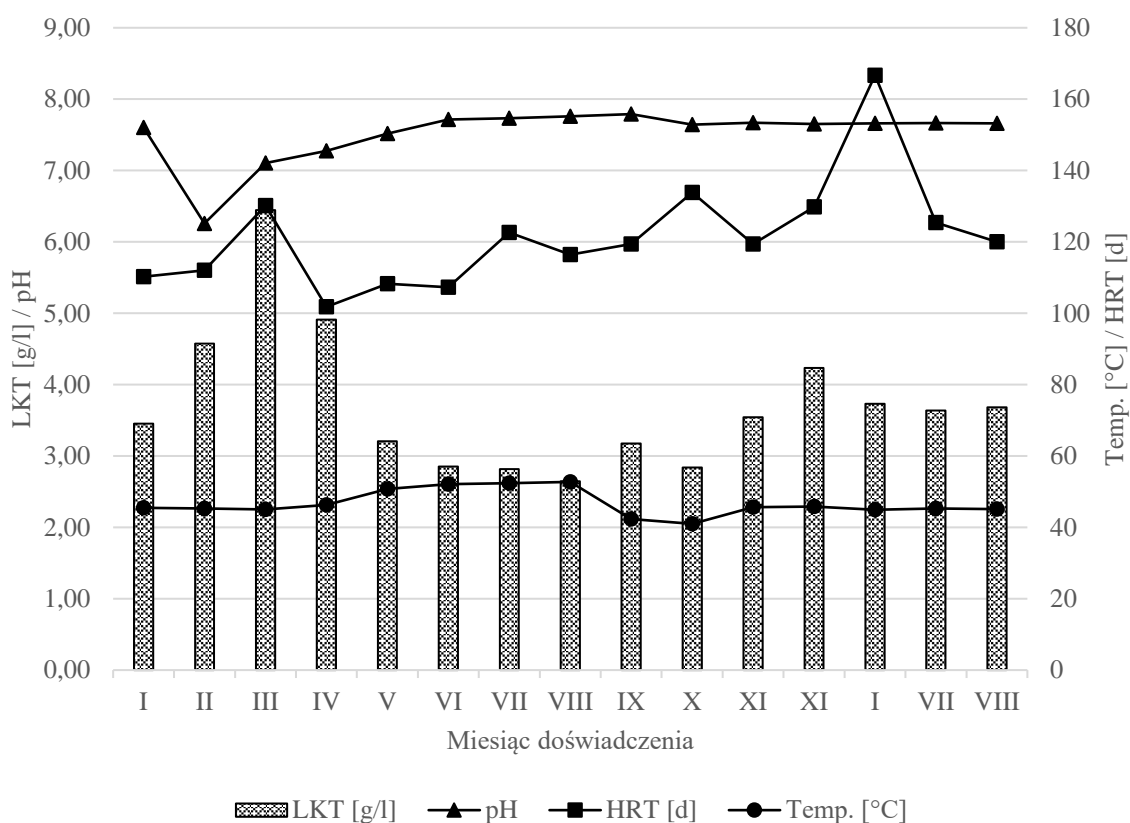
Pogrubioną czcionką zaznaczone są wyniki wykazujące różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ).

LKT – stężenie lotnych kwasów tłuszczowych, HRT – hydrauliczny czas retencji

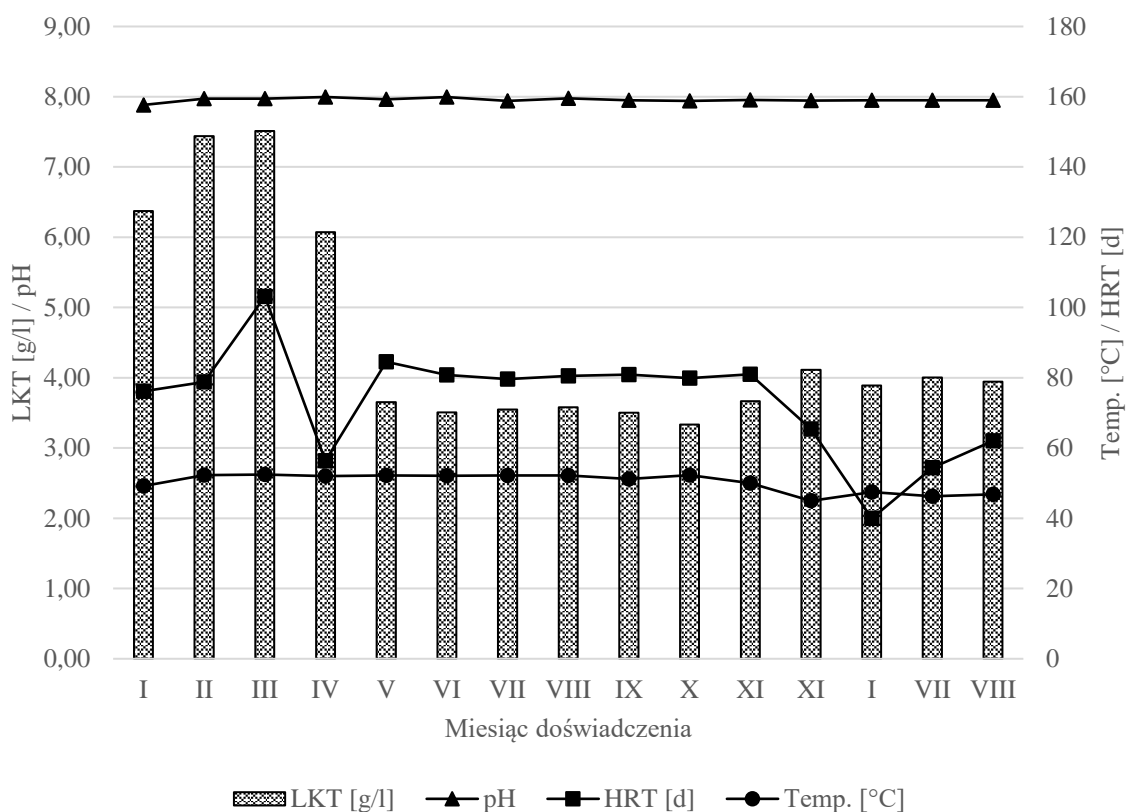
Na rycinie 12 przedstawiono zmiany wybranych parametrów zachodzące w trakcie procesu produkcji biogazu w biogazowni w Giżynie. W miesiącach względnie chłodnych (luty) widoczne było zachwianie stabilności fermentacji, które mogło być spowodowane najprawdopodobniej nadmiernym obciążeniem zbiornika fermentacyjnego lub niską temperaturą zewnętrzną. Świadczy o tym obniżenie wartości pH związane z wzrastającym stężeniem lotnych kwasów tłuszczowych w miesiącu lutym. Maksymalną wartość stężenia LKT osiągnęło w miesiącu marcu. Działaniem korygującym w takim przypadku jest wydłużenie hydraulicznego czasu retencji, co pozwala na lepsze odfermentowanie substancji odżywczych znajdujących się w biomase fermentującej. W efekcie wydłużenia czasu retencji zaobserwowano obniżanie stężenia LKT w miesiącu kwietniu. W tym też miesiącu pH wróciło do pożądaných wartości, tj. przedziału 7,0 - 8,0 (Institut für Energetik und Umwelt gGmbH 2005). Ponownie tendencję wzrastającą stężenia LKT zaobserwowano w miesiącu listopadzie.

Zmiany wybranych parametrów procesu produkcji biogazu w biogazowni w Świelinie przedstawia rycina 13. Tak jak w poprzednim przypadku, tutaj również można zaobserwować podwyższone stężenia LKT szczególnie w miesiącach lutym i marcu. Dlatego też podjęto działania korygujące w miesiącu marcu polegające na zmianie sposobu dostarczania biomasy wejściowej do bioreaktora i wydłużeniu czasu retencji, co poskutkowało zainicjowaniem obniżania stężenia LKT w miesiącu kwietniu. W tej biogazowni jednak, najprawdopodobniej ze względu na większą pojemność buforową biomasy fermentującej, wzrost stężenia LKT nie

spowodował spadku pH i destabilizacji procesu. Podobne zjawiska, w tym samym czasie, w dwóch oddalonych i niezależnych od siebie biogazowniach mogą świadczyć o możliwym wpływie pory roku na proces produkcji biogazu. Illmer i Gstraunthaler (2009) donoszą, że sezonowość ma pośredni wpływ na proces fermentacji anaerobowej, m.in. poprzez zmiany w składzie używanych substratów.



Rycina 12. Wybrane parametry procesu produkcji biogazu w biogazowni w Giżynie.



Rycina 13. Wybrane parametry procesu produkcji biogazu w biogazowni w Świelinie.

### 5.3. Efektywność sanizacji gnojowicy i biomasy wejściowej w biogazowni

Analizy mikrobiologiczne biomasy pochodzącej z biogazowni wykazały istotne różnice liczebności badanych grup drobnoustrojów między próbkami pochodzącymi z różnych etapów procesu produkcji biogazu (test Kruskala-Wallis). W tabeli 12 przedstawiono wyniki analiz prób pochodzących z biogazowni w Giżynie, wykorzystującej gnojowicę pochodzącą z fermy matecznej. Ogólna liczba drobnoustrojów, liczba *Enterobacteriaceae*, liczba *E. coli* oraz liczba *Enterococcus* spp. w próbach pozostałości pofermentacyjnych była istotnie niższa niż w biomase wejściowej i gnojowicy ( $p \leq 0,05$ ). Biomasa przefermentowana zawierała również mniejsze ilości bakterii *H. alvei*, choć różnica statystyczna została potwierdzona tylko w porównaniu z biomasa wejściową.

Tabela 12. Liczebność wybranych grup drobnoustrojów w gnojowicy, biomase wejściowej oraz pozostałości pofermentacyjnej z biogazowni w Giżynie

Grupa drobnoustrojów	Gnojowica n=15		Biomasa wejściowa n=15		Pozostałości pofermentacyjne n=15	
	$\bar{x}$	S.D.	$\bar{x}$	S.D.	$\bar{x}$	S.D.
Ogólna liczba drobnoustrojów [log jtk/ml]	7,01 <sup>AC</sup>	0,92	7,72 <sup>AB</sup>	0,42	6,63 <sup>BC</sup>	0,84
<i>Enterobacteriaceae</i> [log jtk/ml]	4,89 <sup>A</sup>	0,45	4,68 <sup>B</sup>	1,04	2,26 <sup>AB</sup>	1,86
<i>Escherichia coli</i> [log jtk/ml]	4,20 <sup>A</sup>	0,63	3,67 <sup>B</sup>	0,80	0,41 <sup>AB</sup>	1,06
<i>Hafnia alvei</i> [log jtk/ml]	3,46	0,61	3,98 <sup>A</sup>	0,95	1,54 <sup>A</sup>	1,82
<i>Enterococcus</i> spp. [log jtk/ml]	5,61 <sup>A</sup>	0,90	5,16 <sup>B</sup>	1,51	2,93 <sup>AB</sup>	2,18

Wartości w jednym rzędzie oznaczone tą samą literą w indeksie górnym wykazywały istotne statystycznie różnice ( $p \leq 0,05$ ).

W tabeli 13 przedstawione są wyniki analiz mikrobiologicznych liczebności wybranych grup drobnoustrojów w próbach biomasy pochodzącej z różnych etapów procesu produkcji biogazu w biogazowni w Świelinie, która wykorzystuje gnojowicę pochodzącą z fermy tuczu. Tak jak w przypadku prób z biogazowni w Giżynie, liczebność wszystkich grup drobnoustrojów była istotnie niższa w biomacie przefermentowanej niż w biomacie wejściowej. W tym przypadku stwierdzono również istotnie niższe wartości względem liczebności w próbkach gnojowicy wykorzystywanej do przygotowania biomasy wejściowej.

W obu biogazowniach proces przygotowania biomasy wejściowej miał wpływ na liczebność drobnoustrojów w niej występujących. Obserwowany wzrost liczebności drobnoustrojów w biomacie wejściowej względem gnojowicy mógł być spowodowany dodatkiem inokulum pochodzącego ze zbiornika pofermentacyjnego oraz kiszonki z kukurydzy. Inokulum wnosi ładunek bakterii odpowiedzialnych za fermentację metanową w celu rozpoczęcia tego procesu. Jak donoszą Barlaz i in. (1989), w początkowym etapie hydrolitycznym ma miejsce namnażanie bakterii fakultatywnie beztlenowych, np. z rodziny *Enterobacteriaceae* czy laseczek fermentacji mlekowej. Do podobnych wniosków doszli



Sträuber i in. (2016), którzy rozdzielając proces fermentacji metanowej na dwa etapy: hydrolityczno-kwasotwórczy i acetogenezę/metanogenezę stwierdzili wzrost liczebności tych drobnoustrojów w pierwszej fazie i spadek w drugiej. Według autorów w końcowych etapach fermentacji przeważają bakterie homoocetanowe i archeowce metanotwórcze, za to niesprzyjające warunki (wyższe stężenie LKT, niskie pH, niskie stężenie kwasu mlekowego) dla m. in. bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* i bakterii kwasu mlekowego, powodują redukcję ich ilości.

W obu biogazowniach nie stwierdzono istotnych różnic ( $p \leq 0,05$ ) w liczebności bakterii pochodzenia kałowego takich jak *E. coli* oraz *Enterococcus* spp. między biomasą wejściową a gnojowicą. Może to świadczyć o tym, że dodatek biomasy roślinnej nie wnosi dodatkowego ładunku bakterii fekalnych.

Tabela 13. Liczebność wybranych grup drobnoustrojów w gnojowicy, biomase wejściowej oraz pozostałości pofermentacyjnej z biogazowni w Świelinie

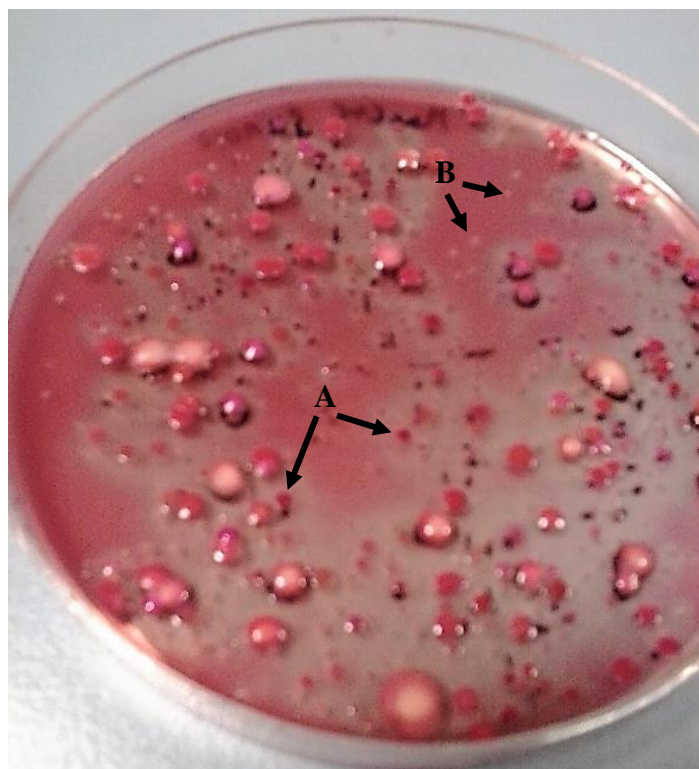
Grupa drobnoustrojów	Gnojowica n=15		Biomasa wejściowa n=15		Pozostałości pofermentacyjne n=15	
	$\bar{x}$	S.D.	$\bar{x}$	S.D.	$\bar{x}$	S.D.
Ogólna liczba drobnoustrojów [log jtk/ml]	8,35 <sup>A</sup>	0,60	8,40 <sup>B</sup>	0,50	6,40 <sup>AB</sup>	0,89
<i>Enterobacteriaceae</i> [log jtk/ml]	4,93 <sup>A</sup>	0,49	5,44 <sup>B</sup>	0,51	2,45 <sup>AB</sup>	1,26
<i>Escherichia coli</i> [log jtk/ml]	4,34 <sup>A</sup>	0,48	4,47 <sup>B</sup>	0,64	0 <sup>AB</sup>	0
<i>Hafnia alvei</i> [log jtk/ml]	4,24 <sup>AC</sup>	0,41	5,02 <sup>AB</sup>	0,58	0,19 <sup>BC</sup>	0,41
<i>Enterococcus</i> spp. [log jtk/ml]	7,29 <sup>A</sup>	0,85	7,08 <sup>B</sup>	0,75	3,94 <sup>AB</sup>	2,03

Wartości w jednym rzędzie oznaczone tą samą literą w indeksie górnym wykazywały istotne statystycznie różnice ( $p \leq 0,05$ ).  $\bar{x}$  – średnia arytmetyczna; S.D. – odchylenie standardowe

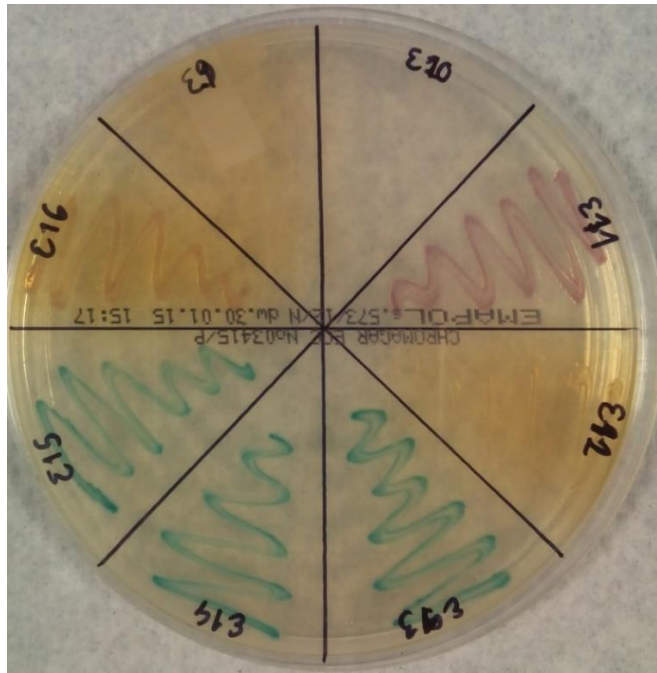
Zdjęcia od 3. do 6. przedstawiają kolonie bakteryjne wyrosłe na podłożach hodowlanych używanych podczas oznaczania ogólnej liczby drobnoustrojów, liczby *Enterobacteriaceae*, liczby *E. coli* oraz liczby *Enterococcus* spp.



Zdjęcie 2. Płytką Petriego z wyrosłymi koloniami bakteryjnymi na podłożu BHI używanym do oznaczania ogólnej liczby drobnoustrojów (zdjęcie własne).



Zdjęcie 3. Płytką Petriego z wyrosłymi zróżnicowanymi koloniami bakterii Gram – ujemnych na podłożu MacConkey'a. A – kolonie charakterystyczne dla *E. coli*, B – kolonie charakterystyczne dla *H. alvei* (zdjęcie własne).



Zdjęcie 4. Przykładowa płytką z hodowlą bakteryjną na podłożu Chromagar ECC (Bio Maxima) - niebieskozielone kolonie to *E. coli*, różowe to pozostałe bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, a żółte to pozostałe bakterie Gram-ujemne (zdjęcie własne).



Zdjęcie 5. Płytką Petriego z hodowlą bakteryjną na podłożu BEA – charakterystyczne dla bakterii *Enterococcus* spp. kolonie powodujące zaciemnienie podłoża oznaczono strzałką (zdjęcie własne).

W tabeli 14 przedstawiono porównanie wyników analiz liczebności drobnoustrojów w próbach pochodzących z biomas z poszczególnych etapów procesu produkcji biogazu w obu biogazowniach. Wartości ogólnej liczby drobnoustrojów w próbach gnojowicy i biomasy wejściowej pochodzących z biogazowni w Giżynie i w Świelinie różniły się statystycznie istotnie ( $p \leq 0,05$ ). Podobne tendencje zaobserwowano w przypadku bakterii *H. alvei* oraz bakterii z rodzaju *Enterococcus*. Większe ilości drobnoustrojów obserwowano w gnojowicy pochodzącej od tuczników, co może wynikać z mniejszego jej rozwodnienia, a także większego udziału kału w jej składzie (Kutera 1994; Hus 1995). Różne rodzaje gnojowicy wykorzystywane w biogazowniach nie różniły się za to istotnie pod względem zawartości bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w tym bakterii *E. coli*. Natomiast zawartość tych bakterii w biomacie wejściowej obu biogazowni wykazywała istotne różnice. Liczba drobnoustrojów w pozostałościach pofermentacyjnych obu biogazowni nie wykazywały istotnych różnic. Może to oznaczać, że proces fermentacji metanowej w obu biogazowniach redukował liczbę drobnoustrojów do jednakowo niskich poziomów bez względu na ich poziom w stosowanych substratach. Podobna tendencja zauważalna jest w wynikach innych autorów. Côté i in. (2006) poddali fermentacji 20 różnych gnojowic świńskich i stwierdzili, że w każdym przypadku następowała redukcja liczby bakterii do podobnego poziomu. Costa i in. (2017) podają, że fermentacja gnojowicy świńskiej i gnojowicy bydłowej, istotnie różniących się zawartością bakterii, finalnie powodowała ich redukcję do zbliżonych wartości.

Tabela 14. Porównanie liczebności badanych grup drobnoustrojów w próbkach gnojowicy, biomasy wejściowej oraz pozostałości pofermentacyjnych pochodzących z biogazowni w Giżynie i Świelinie

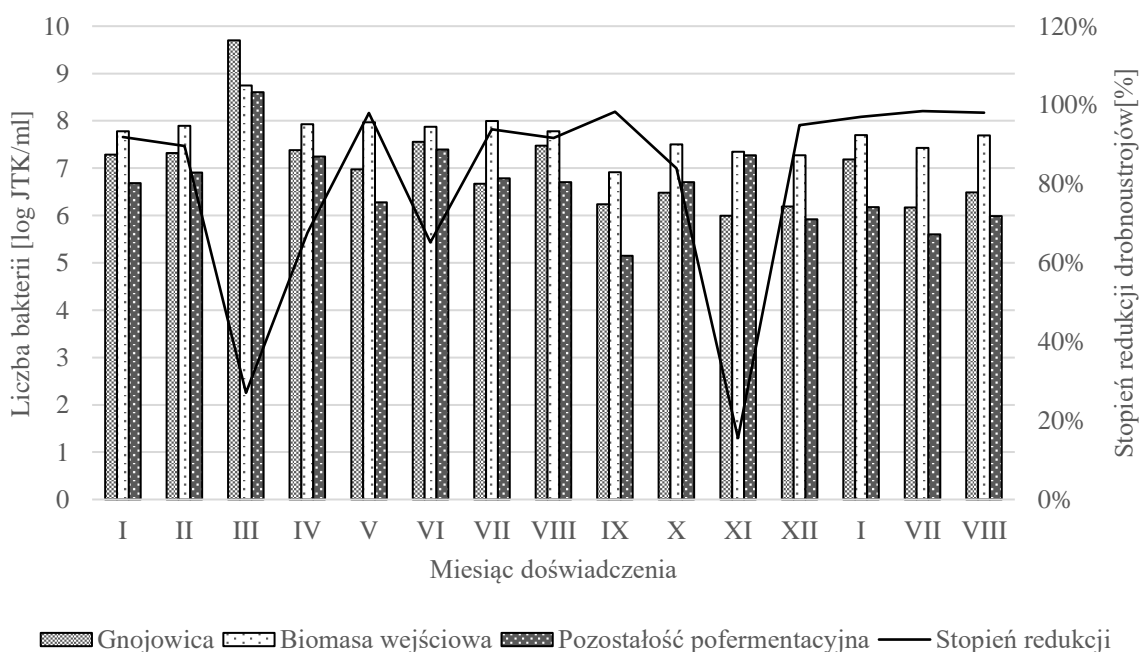
Grupa drobnoustrojów	Biomasa	Liczebność [log jtk/ml]					
		Biogazownia Giżyno			Biogazownia Świelinio		
		n ważnych	$\bar{x}$	S.D.	n ważnych	$\bar{x}$	S.D.
Ogólna liczba drobnoustrojów	G	15	<b>7,01</b>	0,92	15	<b>8,35</b>	0,60
	B	15	<b>7,72</b>	0,42	15	<b>8,40</b>	0,50
	P	15	6,63	0,84	15	6,40	0,89
<i>Enterobacteriaceae</i>	G	15	4,89	0,45	15	4,93	0,49
	B	15	<b>4,68</b>	1,04	15	<b>5,44</b>	0,51
	P	15	2,26	1,86	15	2,45	1,26
<i>Escherichia coli</i>	G	15	4,20	0,63	15	4,34	0,48
	B	15	<b>3,67</b>	0,80	15	<b>4,47</b>	0,64
	P	15	0,41	1,06	15	0	0
<i>Hafnia alvei</i>	G	15	<b>3,46</b>	0,61	15	<b>4,24</b>	0,41
	B	15	<b>3,98</b>	0,95	15	<b>5,02</b>	0,58
	P	15	1,54	1,82	15	0,19	0,41
<i>Enterococcus</i> spp.	G	15	<b>5,61</b>	0,90	15	<b>7,29</b>	0,85
	B	15	<b>5,16</b>	1,51	15	<b>7,08</b>	0,75
	P	15	2,93	2,18	15	3,94	2,03

Pogrubioną czcionką zaznaczone są wyniki wykazujące różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ).

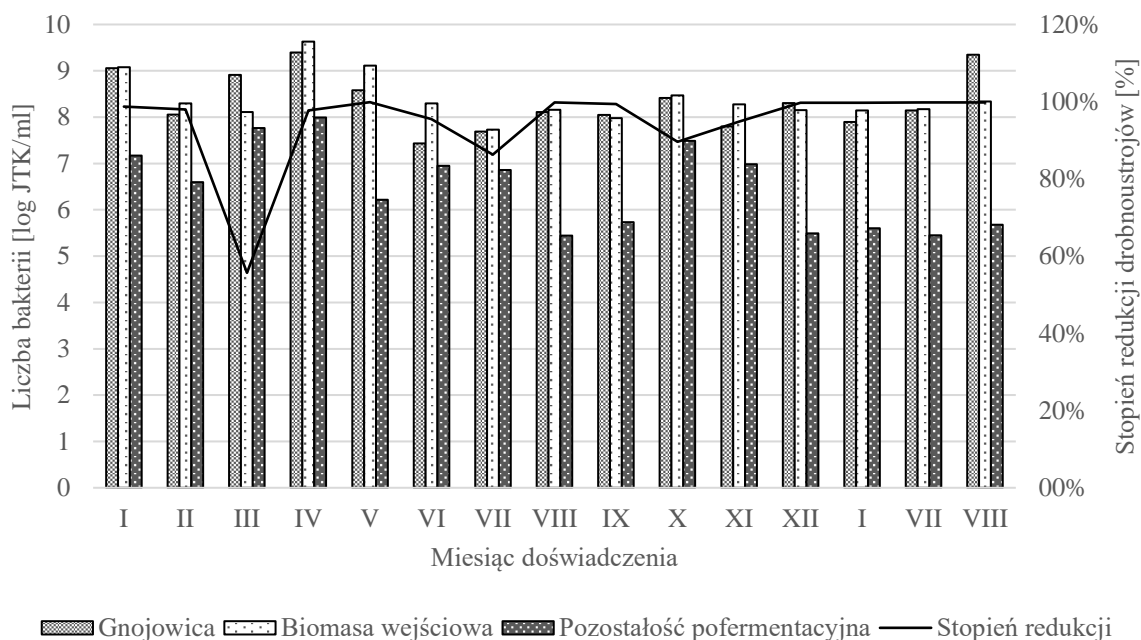
G – gnojowica; B – biomasa wejściowa; P – pozostałości pofermentacyjne

### 5.3.1. Stopień redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów w gnojowicy i biomasie wejściowej w poszczególnych miesiącach doświadczenia

Zmiany ogólnej liczby drobnoustrojów w próbkach z poszczególnych miesięcy doświadczenia przedstawiają ryciny 14 – dla biogazowni w Giżynie i 15 – dla biogazowni w Świelinie. W większości przypadków stwierdzono większą ilość drobnoustrojów w biomasie przygotowanej do fermentacji (biomasie wejściowej), niż w gnojowicy używanej jako substrat, zaś mniejszą w biomasie pozostałej po procesie fermentacji metanowej. W biogazowni w Giżynie zauważalne były przypadki zmniejszenia stopnia redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów. Pierwszy miał miejsce w miesiącu marcu, a drugi w listopadzie. Mogło to mieć związek z zaobserwowaną w tym czasie destabilizacją procesu fermentacji anaerobowej wywołaną nadmiernym dokarmianiem zbiornika i w efekcie tego wzrostem stężenia LKT lub niższą o tej porze roku temperaturą powietrza. W biogazowni w Świelinie odnotowano zmniejszenie stopnia redukcji także w miesiącu marcu. W tym przypadku zjawisko to również miało miejsce w tym samym czasie co destabilizacja procesu produkcji biogazu. Może to wskazywać na to, że jedynie stabilny, niezachwiany proces zapewnia skuteczną sanitację substratów.



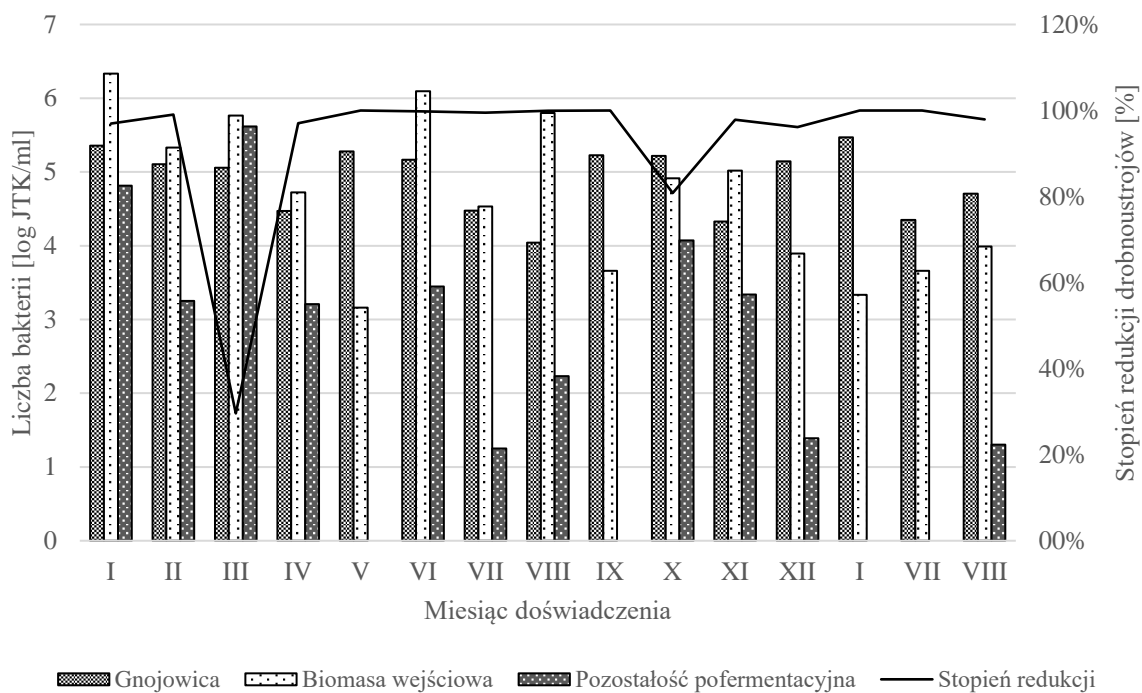
Rycina 14. Ogólna liczba drobnoustrojów w próbkach z biogazowni Giżyno.



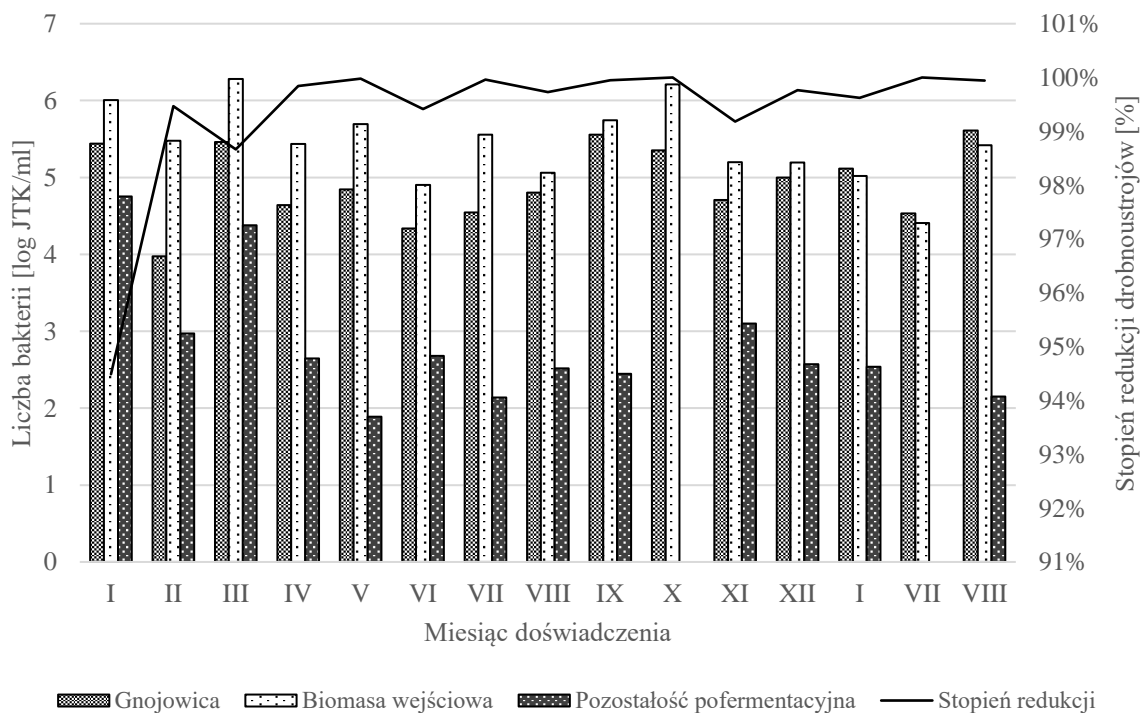
Rycina 15. Ogólna liczba drobnoustrojów w próbach z biogazowni Świelino.

### 5.3.2. Stopień redukcji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w gnojowicy i biomasie wejściowej w poszczególnych miesiącach doświadczenia

Liczebność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w badanych próbach biomasy, kolejno w biogazowni Giżyno i biogazowni Świelino, w poszczególnych miesiącach doświadczenia przedstawiają ryciny 16 i 17. W biogazowni w Giżynie zaobserwowano, niższy niż 40% stopień redukcji tych drobnoustrojów w miesiącu marcu oraz niższy niż 80% w miesiącu październiku. W tym przypadku ponownie obniżenie stopnia redukcji wystąpiło w czasie obserwowanej destabilizację procesu fermentacji anaerobowej. W miesiącu marcu liczebność bakterii w biomasie pofermentacyjnej była większa niż w gnojowicy stosowanej jako substrat do produkcji biogazu, za to w miesiącach maj, wrzesień roku 2015, styczeń roku 2016 oraz lipiec roku 2017 liczba bakterii spadała poniżej progu wykrywalności stosowanej metody. W biogazowni Świelino stopień redukcji drobnoustrojów nie spadał poniżej 94% i podobnie jak w biogazowni w Giżynie, w miesiącach październik 2015 oraz lipiec roku 2017 nie zaobserwowano obecności bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*.



Rycina 16. Liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w próbach z biogazowni Giżyno.



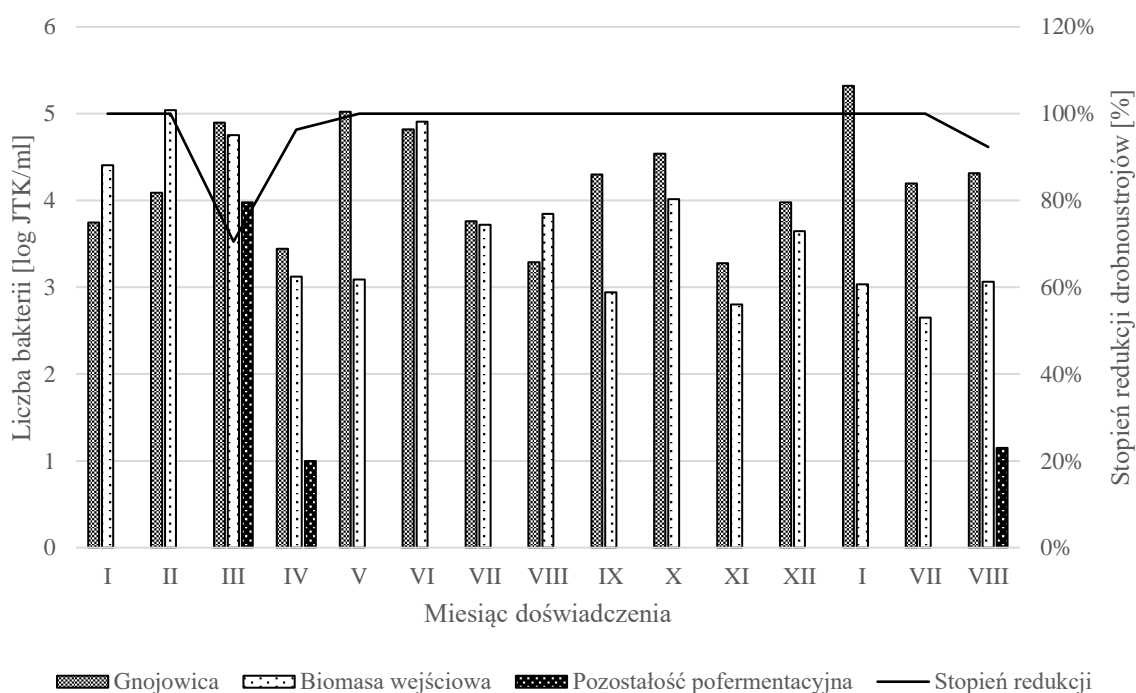
Rycina 17. Liczba bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* w próbach z biogazowni Świelino.



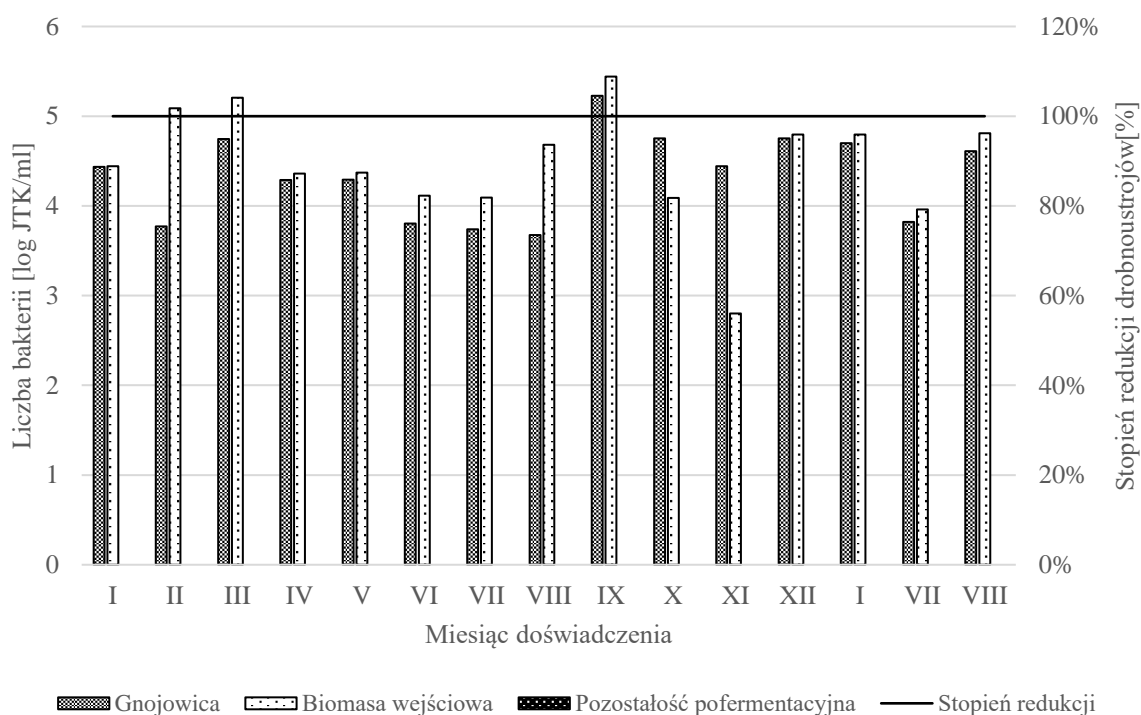
### 5.3.3. Stopień redukcji *E. coli* w gnojowicy i biomase wejściowej w poszczególnych miesiącach doświadczenia

Bakterie *E. coli* zaobserwowano w biomase przefermentowanej pochodzącej z biogazowni Giżyno zwłaszcza w miesiącu marcu roku 2015 (Ryc. 18). Najprawdopodobniej było to konsekwencją zachwiania stabilności procesu fermentacji anaerobowej stwierdzonej w tym czasie. W pozostałych miesiącach stopień redukcji wynosił 99,99 - 100,00%.

W biogazowni w Świelinie w żadnej z prób pozostałości pofermentacyjnych nie wykryto obecności bakterii *E. coli*, a stopień redukcji nie spadał poniżej 99,99 % (Ryc. 19). Tym samym relatywnie niewielka destabilizacja procesu, która miała miejsce w miesiącu marcu roku 2015 nie wpłynęła istotnie na wydajność sanizacji biomasy.



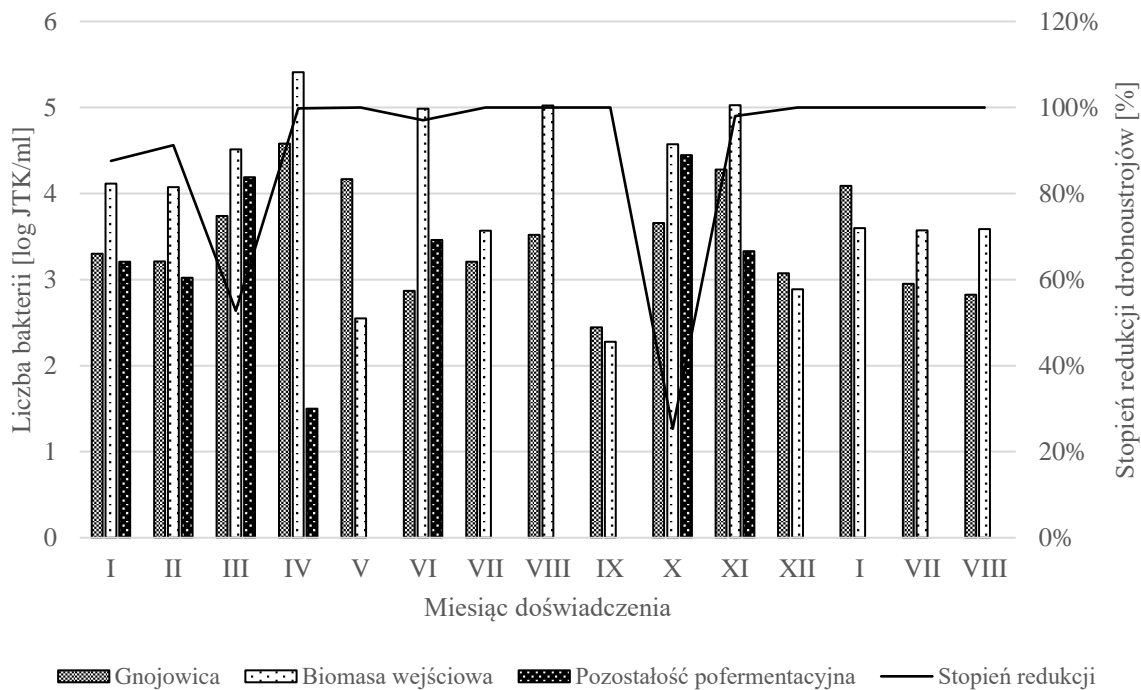
Rycina 18. Liczba *E. coli* w próbach z biogazowni Giżyno.



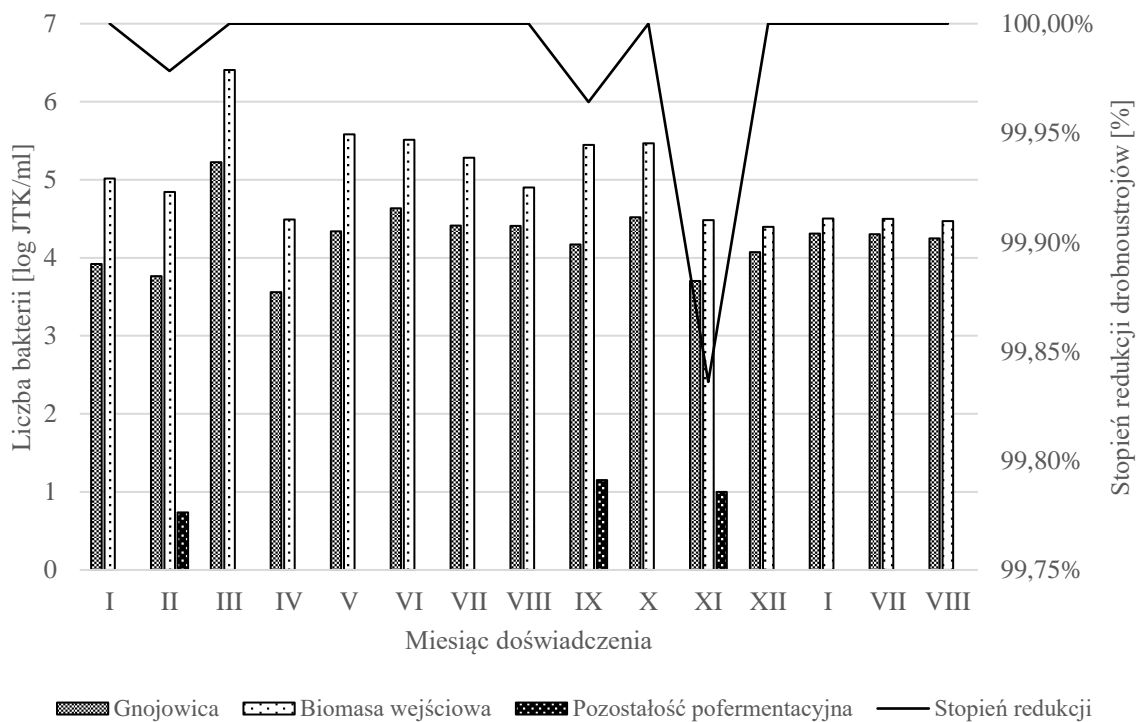
Rycina 19. Liczba *E. coli* w próbach z biogazowni Świelin.

#### 5.3.4. Stopień redukcji *Hafnia alvei* w gnojowicy i biomacie wejściowej w poszczególnych miesiącach doświadczenia

Rycina 20 przedstawia zmiany w liczebności bakterii z gatunku *H. alvei* w poszczególnych miesiącach, w próbach pochodzących z biogazowni w Giżynie. Podobnie jak w przypadku grup drobnoustrojów omawianych wcześniej, niższy stopień redukcji zaobserwowano w miesiącu marcu roku 2015, ale też w miesiącu październiku tego roku. W pozostałych miesiącach stopień redukcji nie spadał poniżej poziomu 87,60%, a w siedmiu miesiącach niezależnie od pory roku bakterii tych nie wykrywano. Z kolei w biogazowni w Świelinie stopień redukcji *H. alvei* utrzymywał się na wysokim poziomie od 99,85% do 100,00%. Bakterie te wykryto trzy razy: w miesiącu lutym, wrześniu i listopadzie 2015 roku (ryc. 21). *H. alvei* była izolowana z biomasy fermentującej z biogazowni również przez innych autorów. Obecność *H. alvei* jako jednej z bakterii produkującej wodór w biomacie fermentującej z biogazowni stwierdzili także Jayalakshmi i in. (2008) oraz Paiders i in. (2017).



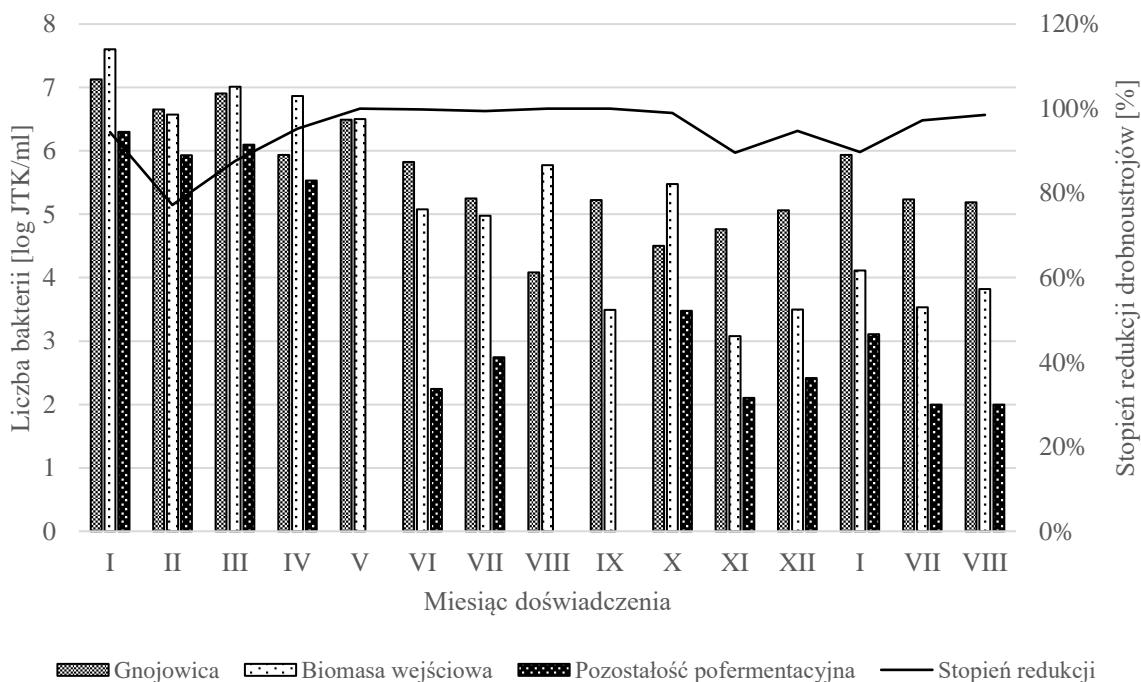
Rycina 20. Liczba *H. alvei* w próbach z biogazowni Giżyno.



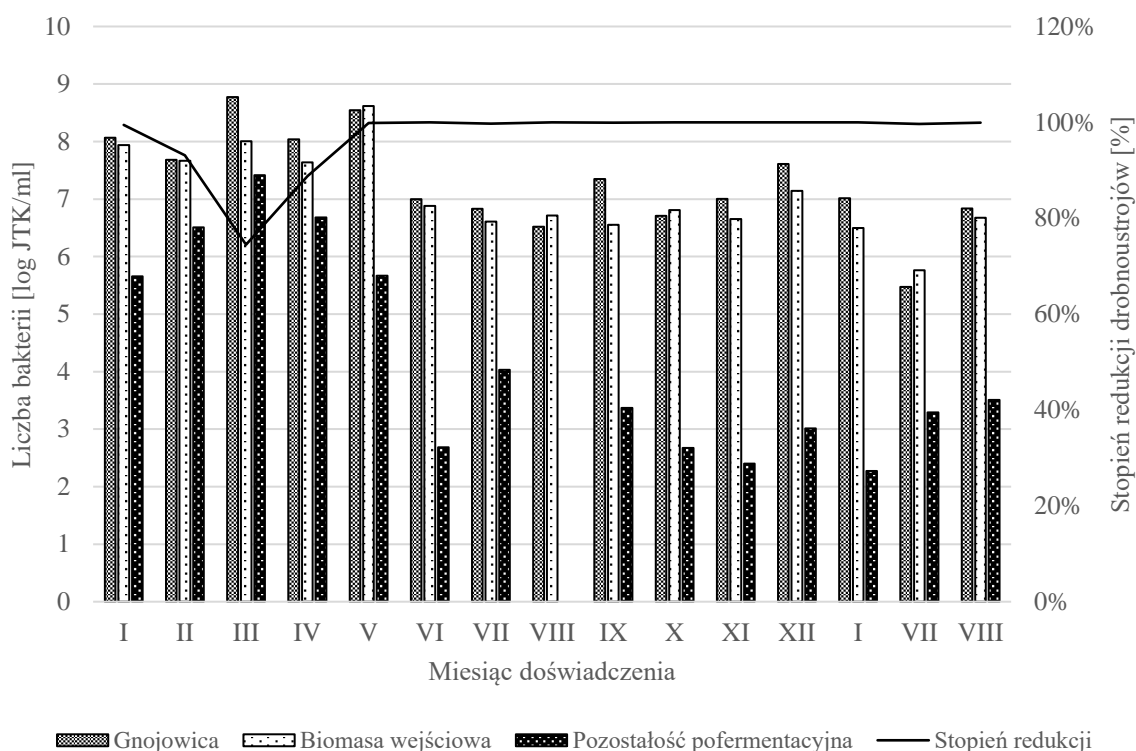
Rycina 21. Liczba *H. alvei* w próbach z biogazowni Świelino.

### 5.3.5. Stopień redukcji bakterii z rodzaju *Enterococcus* w gnojowicy i biomase wejściowej w poszczególnych miesiącach doświadczenia

Miesięczne zmiany liczebności bakterii z rodzaju *Enterococcus* w gnojowicy, biomacie wejściowej oraz w pozostałościach pofermentacyjnych z biogazowni w Giżynie przedstawia rycina 22. Tak jak w przypadku pozostałych badanych grup mikroorganizmów zmniejszenie redukcji liczby paciorkowców kałowych przypada na okres destabilizacji procesu, co szczególnie widoczne jest na przykładzie biogazowni w Giżynie. Poza 2 miesiącem doświadczenia (luty 2015 roku), kiedy zanotowano największy spadek stopnia redukcji (77,20%) tych drobnoustrojów, w pozostałych miesiącach był on zdecydowanie wyższy i mieścił się w przedziale 87,61 - 100,00%. Z kolei w biogazowni w Świelinie najniższą (74,50%) redukcję odnotowano w miesiącu marcu 2015 roku. Natomiast na dalszych etapach doświadczenia skuteczność redukcji była relatywnie ustabilizowana i dochodziła do 100,00%.



Rycina 22. Liczba bakterii z rodzaju *Enterococcus* w próbach z biogazowni Giżyno.



Rycina 23. Liczba bakterii z rodzaju *Enterococcus* w próbach z biogazowni Świelinio.

#### 5.4. Porównanie efektywności sanityzacji gnojowicy świńskiej między biogazowniami w Świelinie i w Giżynie

W tabeli 15 przedstawiono porównanie wyników dotyczących stopnia redukcji badanych drobnoustrojów między biogazowniami. Większym stopniem redukcji analizowanych grup bakterii charakteryzowała się biogazownia w Świelinie, w której jako substratu używano gnojowicy pochodzącej od tuczników oraz kiszonki z kukurydzy w porównaniu z biogazownią w Giżynie, w której jako substratu używano gnojowicy pochodzącej od loch oraz kiszonki kukurydzy z trawami. Największą, statystycznie istotną ( $P \leq 0,05$ ) różnicę zaobserwowano dla stopnia redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów. W biogazowni w Giżynie średni stopień redukcji był niższy o 13,65% w porównaniu z biogazownią Świelinie. Najprawdopodobniej było to związane z częstszymi (szczególnie w miesiącach marca i listopadzie roku 2015) niż w Świelinie, destabilizacjami procesu produkcji biogazu (rozdz. 5.2.). Wydajność redukcji drobnoustrojów w biogazowni Giżyno była niższa od tej zarejestrowanej w badaniach Cao i in. (2013), którzy uzyskali niemal 97% redukcję ogólnej liczby drobnoustrojów w gnojowicy świńskiej poddanej fermentacji anaerobowej prowadzonej w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych.

Stopień redukcji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* nie różnił się statystycznie istotnie między badanymi biogazowniami, nie mniej jednak większe wartości współczynnika redukcji zaobserwowano w biogazowni w Świelinie. W biogazowni w Giżynie częściej jednak obserwowano brak wykrywalności tych bakterii w pozostałościach pofermentacyjnych (ryc. 16). Podobne wyniki, aczkolwiek uzyskane w odmiennych, psychrofilnych warunkach prowadzenia fermentacji metanowej uzyskali Côté i in. (2006). Autorzy stwierdzili redukcję bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* kształtującą się na poziomie od 97,94 do 100,00%, a w 8 z 20 biogazowni nie wykrywano tych bakterii. W badaniach Termorshuizen'a i in. (2003) w procesie produkcji biogazu w warunkach mezofilnych, jako substraty wykorzystywano odpady owocowo-warzywne i uzyskano wyniki redukcji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* mieszczące się w przedziale 99,99 - 100,00%. Dla porównania w biogazowni w Giżynie stwierdzono niższy o kilka punktów procentowych wynik redukcji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* od tego stwierdzonego przez wspomnianych autorów, a w biogazowni w Świelinie zbliżony.

W przypadku bakterii *E. coli* w obu biogazowniach poziom redukcji był bardzo wysoki i nie różnił się istotnie między biogazowniami. W biogazowni w Świelinie nie stwierdzono obecności tych bakterii w żadnej próbie pozostałości pofermentacyjnych. Poziom redukcji *E. coli* z zastosowaniem różnych wariantów procesu fermentacji metanowej był szeroko opisywany w literaturze, a uzyskiwane wyniki były względem siebie zbliżone. Horan i in. (2004) donoszą, że wymieranie *E. coli* podczas fermentacji anareobowej osiągnęło poziom 99,95%, natomiast Côté i in. (2006) podają, że fermentacja metanowa w warunkach psychrofilnych zredukowała ilość *E. coli* o 99,67 - 100,00%. Podobne wyniki uzyskali w swoich badaniach Massé i in. (2011), którzy odnotowali redukcję *E. coli* na poziomie 99,87%.

Średni poziom redukcji *H. alvei* był istotnie wyższy w biogazowni w Świelinie, która wykazywała większą stabilność procesu fermentacji anaerobowej w porównaniu z biogazownią w Giżynie. Ten gatunek drobnoustrojów może być dobrym wskaźnikiem wydajności procesu sanityzacji biomasy w warunkach termofilnych produkcji biogazu, o czym świadczy obecność tej bakterii w biomacie pofermentacyjnej w biogazowni w Świelinie, w miesiącach, w których stwierdzano zachwianie stabilności procesu (ryciny 13 i 21). Średnia temperatura procesu fermentacji metanowej odnotowana w biogazowni w Giżynie była niższa niż w biogazowni w Świelinie. Prawdopodobnie z tego powodu w pozostałościach pofermentacyjnych otrzymywanych w biogazowni w Giżynie częściej stwierdzano obecność bakterii *H. alvei*.

Stopień redukcji bakterii z rodzaju *Enterococcus* w obu biogazowniach osiągnął stosunkowo wysokie wartości. W biogazowni w Giżynie wyniósł 94,87% a w biogazowni w Świelinie 97,00%. Wyniki nie różniły się istotnie statystycznie ( $p \geq 0,05$ ). Podobne wyniki redukcji paciorkowców kałowych w gnojowicy świńskiej poddawanej procesowi fermentacji metanowej uzyskali w swoich badaniach McCarthy i in. (2011, 2015). Juris i in. (1996) stwierdzili wyższy poziom redukcji tych drobnoustrojów (przedział 99,99 - 100,00%), na skutek prowadzenia mezofilnej fermentacji metanowej. Watcharasukarn i in. (2009) podkreślają, iż bakterie z rodzaju *Enterococcus* są ważnym wskaźnikiem sanityzacji dla biogazowni prowadzących termofilny proces fermentacji. Również De Luca i in. (1998) wskazują na istotną rolę tych bakterii jako wskaźników redukcji drobnoustrojów potencjalnie patogennych. Wyniki niniejszej pracy, z uwagi na wysokie wartości współczynnika redukcji w okresach stabilnej fermentacji oraz wyraźne spadki wydajności redukcji w okresach destabilizacji, pozwalają na sformułowanie analogicznych wniosków.

Tabela 15. Porównanie stopnia redukcji wybranych drobnoustrojów w poszczególnych biogazowniach

Parametr	Biogazownia Giżyno			Biogazownia Świellino		
	n ważnych	$\bar{x}$	<i>S.D.</i>	n ważnych	$\bar{x}$	<i>S.D.</i>
<i>R<sub>OLD</sub></i> [%]	15	<b>80,73</b>	26,36	15	<b>94,30</b>	11,44
<i>R<sub>Enterobacteriaceae</sub></i> [%]	15	92,99	18,18	15	99,33	1,39
<i>R<sub>E. coli</sub></i> [%]	15	97,28	7,70	15	>99,99	-
<i>R<sub>Hafnia alvei</sub></i> [%]	15	<b>90,11</b>	21,69	15	<b>99,99</b>	0,04
<i>R<sub>Enterococcus spp.</sub></i> [%]	15	94,84	6,44	15	97,00	7,02

Pogrubioną czcionką zaznaczone są wyniki wykazujące różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ).

### 5.5. Wydajność procesu produkcji biogazu w zależności od biogazowni i wykorzystywanych w nich substratów

Wyniki wydajności procesu produkcji biogazu w obu biogazowniach przedstawia tabela 16. Zarówno dobową wydajność produkcji biogazu, jak i dobowy uzysk biogazu były istotnie wyższe w biogazowni w Świelinie, w której wykorzystano jako substrat gnojowicę wytwarzaną przez tuczniaki oraz kiszonkę z kukurydzy. Dobowy uzysk metanu był również istotnie większy, lecz wydajność metanotwórcza substratów w obu biogazowniach była na podobnym poziomie.

Analogiczny wynik otrzymali Vedrenne i in. (2008), którzy na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzili, że średni uzysk metanu z gnojowicy pochodzącej od tuczników był większy niż z gnojowicy pochodzącej od grup zwierząt utrzymywanych w fermie matecznej. Metan ( $\text{CH}_4$ ) obok dwutlenku węgla ( $\text{CO}_2$ ) oraz podtlenku azotu ( $\text{N}_2\text{O}$ ) należy do głównych gazów wywołujących efekt cieplarniany. Metan w większym stopniu niż  $\text{CO}_2$  wywołuje efekt cieplarniany, gdyż jest od niego 25-krotnie skuteczniejszy w przechwytywaniu ciepła (Podkówka i Podkówka 2011). Uzyskane w niniejszej pracy wyniki wskazują na wyższą wydajność produkcji biogazu i metanu z instalacji biogazowni zlokalizowanej przy fermie tuczu, a jak wskazują Philippe i Nicks (2015) utrzymanie tuczników odpowiada za ponad 70% całkowitej emisji gazów cieplarnianych (ang. Greenhouse gas - GHG) w tym metanu w porównaniu z innymi grupami produkcyjnymi świń. Wyższy uzysk metanu z gnojowicy pozyskiwanej w trakcie tuczu głównie wynika z większej zawartości suchej masy, suchej masy organicznej, popiołu i azotu w porównaniu z gnojowicą otrzymywaną od loch (Igoni i in. 2008; Curkowski i in. 2009). Potwierdzają to również wyniki analizy korelacji między zawartością podstawowych składników chemicznych gnojowicy i biomasy a wskaźnikami wydajności produkcji biogazu, przedstawione w tabeli 17. Zawartość wszystkich badanych składników jest dodatnio skorelowana z wydajnością produkcji biogazu ( $W_B$ ). Zawartość suchej masy organicznej oraz zawartość azotu amonowego w gnojowicy i biomacie wejściowej są skorelowane dodatnio na poziomie umiarkowanym, zaś reszta badanych cech wykazuje wysoką, dodatnią korelację z wydajnością produkcji biogazu ( $W_B$ ). Uzyskane wyniki zostały potwierdzone statystycznie ( $p \leq 0,05$ ). Analizy wykazały również umiarkowany stopień korelacji dodatniej między procentowym udziałem gnojowicy w biomacie wejściowej a wydajnością produkcji biogazu ( $W_B$ ). Bardzo wysoką przewidywalność uzysku metanu w zależności od składu chemicznego substratu użytego do produkcji biogazu stwierdzili Amon i in. (2006). Według Lübken i in. (2010), zależność ta warunkowana jest głównie składem wielocukrów zawartych w biomacie roślinnej. Zdaniem Schittenhelm (2008) duże znaczenie w ilości produkowanego metanu przypisuje się kompozycji tłuszczów zawartych w substratach, ze szczególnym uwzględnieniem wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Z kolei Asam i in. (2011) oraz Grieder i in. (2012) nie wykazali zależności między składem chemicznym kiszonek i innych substratów a ilością pozyskiwanego metanu.



Tabela 16. Wydajność procesu produkcji biogazu oraz wydajność metanogenezy w biogazowniach Giżyno i Świelino

Parametr	Ferma mateczna - Giżyno			Ferma tuczu - Świelino		
	n ważnych	$\bar{x}$	S.D.	n ważnych	$\bar{x}$	S.D.
$W_B$ [Nm <sup>3</sup> /t s.m.o./m <sup>3</sup> /d]	15	<b>0,0163</b>	0,0023	15	<b>0,0254</b>	0,0054
$W_{CH_4}$ [Nm <sup>3</sup> /t s.m.o./m <sup>3</sup> /d]	15	0,0097	0,0014	15	0,0107	0,0021
$V_B$ [Nm <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> ]	15	<b>1,60</b>	0,18	15	<b>1,73</b>	0,05
$V_{CH_4}$ [Nm <sup>3</sup> /m <sup>3</sup> ]	15	<b>0,77</b>	0,11	15	<b>0,86</b>	0,03

Pogrubioną czcionką zaznaczone są wyniki wykazujące różnice istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ).

$W_B$  – wydajność produkcji biogazu,  $W_{CH_4}$  – wydajność metanotwórcza substratu,

$V_B$  – dobowy uzysk biogazu,  $V_{CH_4}$  – dobowy uzysk metanu

Tabela 17. Współczynniki korelacji porządku rang wg. Spearmana między podstawowym składem chemicznym gnojowicy i biomasy wejściowej a wydajnością procesu produkcji biogazu

Biomasa	Parametr	$W_B$	$W_{CH_4}$	$V_B$	$V_{CH_4}$
Gnojowica	SM	<b>0,67</b>	0,35	<b>0,51</b>	<b>0,51</b>
	SMO	<b>0,50</b>	0,31	0,35	0,34
	P	<b>0,70</b>	0,35	<b>0,54</b>	<b>0,55</b>
	NH <sub>4</sub> -N	<b>0,70</b>	0,26	<b>0,45</b>	<b>0,55</b>
Biomasa wejściowa	SM	<b>0,77</b>	0,33	<b>0,42</b>	<b>0,42</b>
	SMO	<b>0,60</b>	0,27	0,33	0,30
	P	<b>0,70</b>	0,30	<b>0,43</b>	<b>0,45</b>
	NH <sub>4</sub> -N	<b>0,54</b>	0,06	<b>0,43</b>	<b>0,51</b>
% gnojowicy w biomase wejściowej		<b>0,59</b>	0,04	0,20	<b>0,46</b>

Pogrubioną czcionką zaznaczono współczynniki korelacji istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ). SM – zawartość suchej masy, SMO – zawartość suchej masy organicznej, P – zawartość popiołu surowego, NH<sub>4</sub>-N – zawartość azotu amonowego,  $W_B$  – wydajność produkcji biogazu,  $W_{CH_4}$  – wydajność metanotwórcza substratu,  $V_B$  – dobowy uzysk biogazu,  $V_{CH_4}$  – dobowy uzysk metanu

### 5.6. Efektywność sanityzacji biomasy wejściowej a wydajność produkcji biogazu, skład chemiczny biomasy oraz wartość parametrów fermentacji metanowej

Badania wykazały, że wydajność produkcji biogazu ( $W_B$ ) jest dodatnio skorelowana ( $p \leq 0,05$ ) w stopniu umiarkowanym z poziomem redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów, a także z poziomem redukcji *H. alvei*. Oznacza to, że im bardziej wydajna jest produkcja biogazu w zbiornikach fermentacyjnych biogazowni, tym mniej bakterii obserwuje się w powstałych pozostałościach pofermentacyjnych.

Między dobowym uzyskiem metanu ( $V_{CH_4}$ ) a poziomem redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów uzyskano niski, aczkolwiek potwierdzony statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) współczynnik korelacji. Natomiast między dobowym uzyskiem metanu ( $V_{CH_4}$ ) a zawartością innych grup drobnoustrojów nie stwierdzono istotnych zależności. Warto podkreślić, iż

uzyskane wyniki wskazują na istotną rolę *H. alvei* jako wskaźnika efektywności sanityzacji gnojowicy świńskiej w przebiegu fermentacji metanowej (Tabela 18.).

Tabela 18. Współczynniki korelacji rang wg. Spearmana wskaźników wydajności produkcji biogazu i stopnia redukcji badanych grup drobnoustrojów

Cecha	$R_{OLD}$ [%]	$R_{Enterobacteriaceae}$ [%]	$R_{E. coli}$ [%]	$R_{H. alvei}$ [%]	$R_{Enterococcus}$ spp. [%]
$W_B$	<b>0,42</b>	0,22	0,17	<b>0,41</b>	0,05
$W_{CH_4}$	0,17	0,18	-0,14	0,30	-0,13
$V_B$	0,15	0,10	-0,21	0,07	-0,02
$V_{CH_4}$	<b>0,37</b>	0,16	-0,14	0,09	0,22

Pogrubioną czcionką zaznaczono współczynniki korelacji istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ).

$W_B$  – wydajność produkcji biogazu,  $W_{CH_4}$  – wydajność produkcji biogazu,  $W_{CH_4}$  – wydajność metanotwórcza substratu,  $V_b$  – dobowy uzysk biogazu,  $V_{CH_4}$  – dobowy uzysk metanu

Analiza korelacji rang Spearmana między zawartością podstawowych składników chemicznych gnojowicy świńskiej oraz biomasy wejściowej a stopniem redukcji badanych grup drobnoustrojów wykazała, że skład chemiczny gnojowicy wykazuje umiarkowany związek z redukcją ogólnej liczby drobnoustrojów (tabela 19). Stwierdzono potwierdzoną statystycznie ( $p \leq 0,05$ ) umiarkowaną dodatnią korelację między zawartością SM, SMO, P i N-NH<sub>4</sub> a stopniem redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów. Ponadto zaobserwowano dodatnią korelację ( $p \leq 0,05$ ) między zawartością azotu amonowego w gnojowicy świńskiej a stopniem redukcji *H. alvei*. Prawdopodobnie jest to efektem wzrostu stężenia azotu amonowego, a w ślad za tym wzrostu wartości pH powyżej 8,5 w biomacie fermentującej, czyli powyżej zakresu optymalnych warunków wzrostowych dla *H. alvei* (Greipsson i Priest 1983).

Korelacja między składem chemicznym gnojowicy świńskiej a stopniem redukcji pozostałych grup drobnoustrojów była statystycznie nieistotna. Ponadto, wykazano istotne zależności między zawartością substancji w biomacie wejściowej a stopniem redukcji badanych grup drobnoustrojów. Zawartość suchej masy wykazała słabą, dodatnią korelację ze stopniem redukcji ogólnej liczby mikroorganizmów oraz umiarkowaną, dodatnią korelację ze stopniem redukcji *E. coli* i *H. alvei*. Zawartość suchej masy organicznej była również dodatnio słabo skorelowana z redukcją *E. coli*, a umiarkowanie ze stopniem redukcji *Enterobacteriaceae* oraz *H. alvei*. Zawartość popiołu surowego w biomacie korelowała dodatnio ze stopniem redukcji

*H. alvei* na poziomie słabym, a ze stopniem redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów na poziomie umiarkowanym. Zawartość azotu amonowego również wykazywała dodatnią korelację ze stopniem redukcji tych drobnoustrojów.

Istotnym czynnikiem wpływającym na wydajność redukcji drobnoustrojów jest również procentowa zawartość gnojowicy w biomacie wejściowej. Analizy wykazały, że jest ona dodatnio skorelowana ze stopniem redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów na poziomie umiarkowanym. Między procentową zawartością gnojowicy w biomacie wejściowej a stopniem redukcji *H. alvei* również stwierdzono dodatnią zależność na poziomie ( $r=0,37$ ;  $p\leq 0,05$ ). Im więcej gnojowicy w biomacie wejściowej, tym lepsza redukcja tych grup drobnoustrojów. Należy jednak pamiętać, że gnojowica jest głównym źródłem drobnoustrojów w biomacie. Dlatego im większe ilości gnojowicy zostaną użyte, tym większe będą początkowe ilości bakterii w biomacie wejściowej i w następstwie tego efektywniejsza jej sanitzacja.

Tabela 19. Współczynniki korelacji porządku rang wg. Spearmana między cechami ilościowymi składu gnojowicy świńskiej oraz biomasy wejściowej a stopniami redukcji badanych grup drobnoustrojów

Biomasa	Parametr	$R_{OLD}$ [%]	$R$ <i>Enterobacteriaceae</i> [%]	$R_{E. coli}$ [%]	$R_{H. alvei}$ [%]	$R_{Enterococcus}$ spp. [%]
Gnojowica	SM	<b>0,53</b>	0,19	0,06	0,25	-0,03
	SMO	<b>0,49</b>	0,30	0,01	0,23	0,03
	P	<b>0,51</b>	0,12	0,08	0,24	-0,11
	NH <sub>4</sub> -N	<b>0,49</b>	0,16	0,21	<b>0,39</b>	0,08
Biomasa wejściowa	SM	<b>0,38</b>	0,28	<b>0,41</b>	<b>0,44</b>	0,17
	SMO	0,13	<b>0,42</b>	<b>0,37</b>	<b>0,42</b>	0,34
	P	<b>0,41</b>	0,15	0,34	<b>0,37</b>	0,05
	NH <sub>4</sub> -N	<b>0,49</b>	0,18	0,23	0,34	0,33
% gnojowicy w biomacie wejściowej		<b>0,58</b>	0,14	0,30	<b>0,37</b>	0,22

Pogrubioną czcionką zaznaczono współczynniki korelacji istotne statystycznie ( $p\leq 0,05$ ). SM – zawartość suchej masy, SMO – zawartość suchej masy organicznej, P – zawartość popiołu surowego, NH<sub>4</sub>-N – zawartość azotu amonowego

W tabeli 20 przedstawiono wyniki analizy korelacji między wybranymi parametrami procesu fermentacji anaerobowej a efektywnością sanityzacji biomasy oraz wydajnością procesu produkcji biogazu. Mimo, iż inni autorzy (Strauch 1991; Dumontet i in. 1999; Sahlström 2003; Ziemer i in. 2010) wskazują temperaturę prowadzenia procesu fermentacji jako jeden z najważniejszych czynników redukujących liczbę drobnoustrojów potencjalnie chorobotwórczych w biomacie fermentującej (rozdz. 2.4.2.1.), to analizy przeprowadzone w ramach badań własnych nie potwierdziły istnienia takiego związku. W obu biogazowniach temperatura była bardzo stabilna w trakcie całego procesu fermentacji metanowej, na co wskazują wyniki odchylenia standardowego. Statystycznie istotną ( $p \leq 0,05$ ), dodatnią korelację na poziomie umiarkowanym zaobserwowano między temperaturą procesu a wydajnością produkcji biogazu ( $W_B$ ) i dobowym uzyskiem biogazu ( $V_B$ ), natomiast z wydajnością metanotwórczą substratu ( $W_{CH_4}$ ) i dobowym uzyskiem metanu ( $V_{CH_4}$ ) korelacja okazała się słaba. Hobson i in. (1980) wykazali, że uzysk metanu jest skorelowany liniowo z temperaturą w zakresie 25 - 44°C, co nie znalazło odzwierciedlenia w wynikach niniejszej pracy. Zaznaczyć jednak należy, że zarówno biogazownia w Giżynie, jak i biogazownia w Świelinie pracowały w wyższych temperaturach i stabilniejszym ich zakresie niż w pracy wspomnianych autorów.

Wartości odczynu pH korelowały dodatnio na poziomie umiarkowanym (wartości współczynnika korelacji porządku rang Spearmana znajdowały się w przedziale 0,4 – 0,6,  $p \leq 0,05$ ) ze stopniem redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów, liczby *H. alvei* oraz *E. coli*. Warto podkreślić, iż pH zmieniało się tylko w niewielkim stopniu i nie wykraczało poza zakres optymalny dla większości badanych drobnoustrojów. Wysoką, dodatnią ( $r$  w przedziale 0,6 – 0,8,  $p \leq 0,05$ ) korelację zaobserwowano między odczynem pH a wydajnością produkcji biogazu ( $W_B$ ). Wynika to z faktu, że pH procesu w obu biogazowniach ciągle znajdowało się blisko optymalnej wartości dla konsorcjum metanotwórczego, które wynosi 7,0 – 8,0, co oznacza zachowaną równowagę buforową między zawartością lotnych kwasów tłuszczowych oraz zawartością azotu amonowego (Institut für Energetik und Umwelt gGmbH 2005).

Stwierdzono także ujemną korelację na umiarkowanym poziomie między stężeniem lotnych kwasów tłuszczowych w biomacie fermentującej a stopniem redukcji bakterii z rodzaju *Enterococcus* ( $r = -0,56$ ;  $p \leq 0,05$ ). Wynika to najprawdopodobniej ze zdolności lipolitycznych tych bakterii, które w dużej mierze warunkują ich odporność na trudne warunki środowiska (Mannu i in. 2003). Enterokoki z racji niedoboru węglowodanów w środowisku biomasy fermentującej wykorzystują do metabolizmu m. in. kwasy tłuszczowe (Wróblewska i in. 2013). Przez to im więcej łatwo dostępnych lotnych kwasów tłuszczowych, tym mniej wydajna redukcja *Enterococcus* spp. Zaobserwowano również dodatnią korelację między stężeniem

LKT a wydajnością produkcji biogazu ( $r=0,42$ ;  $p\leq 0,05$ ) oraz dobowym uzyskiem biogazu ( $r=0,39$ ;  $p\leq 0,05$ ). Lotne kwasy tłuszczowe są bezpośrednim źródłem węgla dla konsorcjum metanotwórczego, a więc im wyższa ich zawartość w biomacie, tym bardziej wydajna produkcja biogazu, o ile stężenie LKT nie przekracza wartości granicznych, które wpływają na równowagę pH (rozdz. 2.3.3.3.).

Przeprowadzone w ramach niniejszej rozprawy doktorskiej analizy wykazały również, że hydrauliczny czas retencji jest ujemnie skorelowany ze stopniem redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów (umiarkowany stopień korelacji,  $r=-0,48$ ;  $p\leq 0,05$ ). Aby proces produkcji biogazu był wydajny i opłacalny dąży się do uzyskania optymalnego HRT. W interpretacji tego wyniku należy wziąć pod uwagę to, że wykorzystane w badaniach biogazownie pracowały w optymalnym zakresie HRT, dopasowanym do obciążenia zbiornika fermentacyjnego substratem. Zmiany HRT w przeprowadzonej analizie związane były przede wszystkim z destabilizacją procesu i działaniami korygującymi. Z tego najprawdopodobniej wynikała ujemna korelacja między HRT a wydajnością produkcji biogazu oraz dobowym uzyskiem biogazu (umiarkowany stopień,  $p\leq 0,05$ ), a także wysoka korelacja ujemna z dobowym uzyskiem metanu ( $r=-0,60$ ;  $p\leq 0,05$ ). Jak donoszą Sarker i in. (2019), wydłużenie czasu przebywania substratów w zbiorniku fermentacyjnym powoduje spadek intensywności procesów biologicznych ze względu na wyczerpywanie się składników odżywczych dla drobnoustrojów, wpływając tym samym na zmniejszenie efektywności sanityzacji biomasy fermentującej.

Tabela 20. Współczynniki korelacji porządku rang wg. Spearmana między wskaźnikami wydajności sanityzacji gnojowicy świńskiej oraz produkcji biogazu a parametrami fermentacji metanowej

Cecha	Parametry procesu			
	Temperatura	pH	LKT	HRT
Stopień redukcji OLD	-0,04	<b>0,46</b>	0,11	<b>-0,48</b>
Stopień redukcji <i>Enterobacteriaceae</i>	0,21	0,27	-0,34	-0,23
Stopień redukcji <i>H. alvei</i>	0,30	<b>0,47</b>	0,02	-0,31
Stopień redukcji <i>E. coli</i>	0,29	<b>0,42</b>	-0,30	-0,27
Stopień redukcji <i>Enterococcus</i> spp.	0,24	0,32	<b>-0,56</b>	-0,32
$W_B$	<b>0,48</b>	<b>0,67</b>	<b>0,42</b>	<b>-0,53</b>
$W_{CH_4}$	0,30	0,21	0,26	-0,05
$V_B$	<b>0,40</b>	<b>0,40</b>	<b>0,39</b>	<b>-0,46</b>
$V_{CH_4}$	0,27	<b>0,48</b>	0,31	<b>-0,60</b>

Pogrubioną czcionką zaznaczono współczynniki korelacji istotne statystycznie ( $p \leq 0,05$ ). LKT – stężenie lotnych kwasów tłuszczowych, HRT – hydrauliczny czas retencji,  $W_B$  – wydajność produkcji biogazu,  $W_{CH_4}$  – wydajność metanotwórcza substratu,  $V_B$  – dobowy uzysk biogazu,  $V_{CH_4}$  – dobowy uzysk metanu

## 6. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

### Podsumowanie

Wykazano istotne różnice w zakresie podstawowego składu chemicznego gnojowicy, biomasy wejściowej i pozostałości pofermentacyjnych między biogazowniami zlokalizowanymi w miejscowościach Giżyno i Świelinie wykorzystującymi w procesie produkcji biogazu różne substraty w tym gnojowicę wytwarzaną przez tuczniaki oraz kiszonkę z kukurydzy (ferma Świelinie) oraz gnojowicę wytwarzaną przez lochy z prosiętami i kiszonkę z kukurydzy z trawami (ferma Giżyno).

W biogazowni zlokalizowanej przy fermie tuczu do produkcji biogazu zużywano blisko 27% więcej gnojowicy niż w biogazowni zlokalizowanej przy fermie matecznej.

Stwierdzono, że liczebność wszystkich grup drobnoustrojów była istotnie niższa w pozostałościach pofermentacyjnych w porównaniu z biomasą wejściową zarówno w przypadku biogazowni zlokalizowanej przy fermie tuczu, jak i w biogazowni wybudowanej przy fermie matecznej. Niezależnie od liczebności drobnoustrojów stwierdzanych w próbach gnojowicy oraz biomasy wejściowej i stwierdzanych w tym zakresie istotnych różnic między biogazowniami, w obu przypadkach w pozostałościach pofermentacyjnych liczebność drobnoustrojów pozostawała na podobnym, istotnie zredukowanym poziomie.

Więszym stopniem redukcji analizowanych grup bakterii charakteryzowała się biogazownia w Świelinie. Największą, statystycznie istotną różnicę zaobserwowano dla stopnia redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów. W biogazowni w Giżynie średni stopień redukcji ogólnej liczby drobnoustrojów był niższy o 13,65% w porównaniu z biogazownią w Świelinie. Stwierdzono, że *H. alvei* może być dobrym wskaźnikiem wydajności procesu sanityzacji biomasy w warunkach termofilnych produkcji biogazu, o czym świadczy obecność tej bakterii w biomacie pofermentacyjnej w biogazowni w Świelinie, w miesiącach, w których dochodziło do zachwiania stabilności procesu.

Na przestrzeni 15 miesięcy pobierania prób stwierdzano przypadki destabilizacji przebiegu procesu fermentacji metanowej, co objawiało się zmniejszeniem stopnia redukcji drobnoustrojów. Prawdopodobną przyczyną destabilizacji fermentacji metanowej mogło być nadmierne obciążenie zbiornika fermentacyjnego, na co wskazuje obniżenie wartości pH i wzrost stężenia lotnych kwasów tłuszczowych.

Dobowa wydajność produkcji biogazu z jednej tony suchej masy organicznej substratu była istotnie wyższa w biogazowni w Świelinie, w której wykorzystano jako substrat gnojowicę wytwarzaną przez tuczniaki oraz kiszonkę z kukurydzy w porównaniu z biogazownią w Giżynie.



Dzienna produkcja metanu z 1 m<sup>3</sup> pojemności roboczej komór fermentacyjnych była również istotnie większa w biogazowni w Świelinie, aczkolwiek dobową wydajność metanotwórczą z jednej tony suchej masy organicznej w obu biogazowniach była na podobnym poziomie.

### **Wnioski**

**1.** Rodzaj substratów wykorzystywanych w biogazowniach zlokalizowanych przy fermie tuczu i fermie matecznej nie miał istotnego wpływu na liczebność analizowanych grup drobnoustrojów w pozostałościach pofermentacyjnych. Niezależnie od poziomu drobnoustrojów w biomacie wejściowej, ich liczebność osiągała zbliżone, istotnie zredukowane wartości w pozostałościach pofermentacyjnych. W tym kontekście utrzymywanie procesu fermentacji metanowej na stabilnym poziomie pod względem temperatury, wartości pH, zawartości LKT czy HRT, zapewnia efektywną sanityzację biomasy wejściowej niezależnie od rodzajów substratów użytych do jej przygotowania oraz początkowej liczebności drobnoustrojów.

**2.** Biorąc pod uwagę wyższą dobową produkcję biogazu oraz wyższą dzienną produkcję metanu w biogazowni w Świelinie, w której wykorzystywano w procesie produkcji biogazu biomasę wejściową przygotowaną na bazie gnojowicy pochodzącej od tuczników oraz kiszonki z kukurydzy, charakteryzującą się wyższą zawartością podstawowych składników chemicznych, które istotnie korelowały z wydajnością produkcji biogazu oraz dobową objętością produkowanego metanu, zaleca się lokalizowanie instalacji biogazowni szczególnie przy fermach tuczu i wykorzystywanie pochodzącej z nich gnojowicy jako substratu.

## 7. STRESZCZENIE W JĘZYKU POLSKIM

Wielkotowarowej produkcji trzody chlewnej towarzyszy wytwarzanie odchodów zwierzęcych, które w formie np. gnojowicy zagospodarowywane są na użytkach rolnych. Taki sposób ich wykorzystania może stwarzać zagrożenie szerzenia się zoonoz ze względu na zawartość potencjalnie patogennych drobnoustrojów. Jednym ze sposobów neutralizacji gnojowicy jest wykorzystywanie jej jako substratu w procesie produkcji biogazu.

Celem niniejszej pracy jest określenie wpływu procesu fermentacji metanowej prowadzonej w dwóch biogazowniach rolniczych różniących się między sobą rodzajem wykorzystywanych substratów na efektywność sanityzacji biomasy wejściowej, w tym gnojowicy świńskiej i produkcji biogazu.

Do badań wykorzystano próby gnojowicy, biomasy wejściowej oraz biomasy pofermentacyjnej pochodzące z biogazowni w Giżynie, wykorzystującej jako substrat gnojowicę pochodzącą z fermy trzody chlewnej utrzymującej lochy i prosięta oraz biogazowni w Świelinie, wykorzystującej jako substrat gnojowicę pochodzącą z fermy utrzymującej tuczniaki.

Analizy fizykochemiczne wykazały, że gnojowica, biomasa wejściowa oraz biomasa pofermentacyjna z biogazowni w Świelinie charakteryzowały się istotnie wyższą zawartością suchej masy organicznej, popiołu i azotu amonowego niż gnojowica, biomasa wejściowa i biomasa pofermentacyjna z biogazowni w Giżynie. Parametry procesu fermentacji metanowej, w tym temperatura oraz pH osiągały wyższe wartości w biogazowni zlokalizowanej przy fermie tuczu (Świelinie) w porównaniu z biogazownią zlokalizowaną przy fermie matecznej (Giżyno).

Analizy mikrobiologiczne wykazały istotne różnice liczebności badanych grup drobnoustrojów między gnojowicą, biomasą wejściową a biomasą pofermentacyjną w obu biogazowniach. Gnojowica i biomasa wejściowa z biogazowni w Świelinie (ferma tuczu) zawierała więcej drobnoustrojów niż gnojowica i biomasa wejściowa z biogazowni w Giżynie (ferma mateczna). Jednakże pomimo większej liczby drobnoustrojów w biomasie wejściowej, większym stopniem redukcji analizowanych grup bakterii charakteryzowała się biogazownia w Świelinie. Ponadto, ustalono, że niezależnie od biogazowni i ilości drobnoustrojów w biomasie wejściowej, ich liczebność osiągała zbliżone wartości w pozostałościach pofermentacyjnych.

Dobowa wydajność produkcji biogazu a także dzienny uzysk biogazu z 1 m<sup>3</sup> pojemności roboczej w biogazowni przy fermie tuczu były istotnie wyższe niż w biogazowni przy fermie

matecznej. Dzienny uzysk metanu z 1 m<sup>3</sup> pojemności roboczej komory fermentacyjnej był również istotnie większy w biogazowni wykorzystującej gnojowicę od tuczników. Natomiast dobowa wydajność metanotwórcza w obu biogazowniach kształtowała się na podobnym poziomie. Proces produkcji biogazu zachodził wydajniej w biogazowni w Świelinie, wykorzystującej do produkcji biogazu biomasę, w tym gnojowicę od tuczników o wyższej zawartości suchej masy, suchej masy organicznej oraz azotu w porównaniu z biogazownią w Giżynie. Jednocześnie efektywność sanityzacji biomasy wejściowej, w tym gnojowicy była wyższa w biogazowni zlokalizowanej przy fermie tuczu w porównaniu z biogazownią zlokalizowaną przy fermie matecznej. Z uwagi na powyższe zaleca się lokalizowanie instalacji biogazowni szczególnie przy fermach tuczu.

## **8. STRESZCZENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM**

### **The efficiency of sanitization of pig slurry and biogas production depending on the type of used substrates in agricultural biogas plants.**

Large-scale pig farming is associated with the production of large amounts of animal excrements, which after processing in the form of, e.g. slurry, are managed on agricultural land as natural fertilizers. The utilization of pig manure on agricultural land in excess and in an uncontrolled manner may pose a threat of the spread of zoonoses due to the content of significant amounts of potentially pathogenic microorganisms. One way to neutralize liquid manure is to use it as a substrate in the biogas production process.

The aim of this study is to determine the impact of the methane fermentation process carried out in two agricultural biogas plants differing in the type of substrates used, on the efficiency of sanitization of the input biomass, including pig slurry and biogas production.

Samples of pig slurry, input biomass and digestate from two agricultural biogas plants: Giżyno biogas plant, which uses as a substrate pig slurry from breeding farm and Świelino biogas plant, which uses as a substrate pig slurry from fattening farm were included in the current study.

Physicochemical analyzes have shown that slurry, input biomass and digestate from the biogas plant in Świelino were characterized by a significantly higher content of organic dry matter, ash and ammonium nitrogen than slurry, input biomass and digestate from the biogas plant in Giżyno. The parameters of the methane fermentation process, including temperature and pH, reached higher values in the biogas plant located near fattening farm (Świelino) as compared to the biogas plant located near breeding farm (Giżyno).

Microbiological analyzes showed significant differences in the number of analyzed groups of microorganisms between slurry, input biomass and digestate in both biogas plants. The slurry and input biomass from the biogas plant in Świelino (fattening farm) contained higher number of microorganisms than the slurry and input biomass from the biogas plant in Giżyno (breeding farm). Regardless the higher number of microorganisms found in the input biomass, the biogas plant in Świelino was characterized by a higher degree of reduction of the analyzed groups of bacteria. Furthermore, regardless the number of microorganisms in samples of input biomass, their numbers reached similar values in the post-fermentation residues.

The daily biogas production efficiency as well as the daily biogas yield from 1 m<sup>3</sup> of fermenters' working capacity in biogas plant located near fattening farm were significantly

higher than in biogas plant located near breeding farm. The daily methane yield from 1 m<sup>3</sup> of fermenters' working capacity was also significantly higher in Świelino biogas plant. On the other hand the daily methane production efficiency in both biogas plants was at a similar level. The biogas production process was more efficient in Świelino biogas plant, which used as a substrate pig slurry from fattening farm with a higher dry matter, organic dry matter, and nitrogen content in comparison to Giżyno biogas plant. At the same time, the efficiency of sanitization of the input biomass, including pig slurry was significantly higher in biogas plant located near the fattening farm in comparison to the biogas plant located near the breeding farm. Due to the above, it is recommended to locate a biogas plants near pig fattening farms.

## 9. WYKAZ TABEL

Tabela 1. Podstawowy skład i zawartość wybranych mikro - i makroelementów w gnojowicy świńskiej w zależności od wieku zwierząt (Marszałek i in. 2014).....	14
Tabela 2. Konsorcjum mikroorganizmów biorących udział w poszczególnych etapach fermentacji metanowej (Zellner i Winter 1987; Iannotti i in. 1982; Zhu 2000; Weiland 2006; Green i in. 2008; Weiland 2010; Ziemiński i Frąc 2012; Bajpai 2017) .....	26
Tabela 3. Wybrane surowce stosowane jako substraty do produkcji biogazu wg. Podkówki (2012).....	30
Tabela 4. Skład podłoża agarowego BHI (Biomaxima®).....	51
Tabela 5. Skład podłoża MacConkey'a (Biomaxima®).....	52
Tabela 6. Skład podłoża BEA (BioMaxima®).....	53
Tabela 7. Skład podłoża Chromagar ECC (BioMaxima®) .....	54
Tabela 8. Wyniki analiz podstawowego składu gnojowic świńskich pochodzących z fermy tuczu i fermy matecznej.....	57
Tabela 9. Podstawowy skład biomasy wejściowej biogazowni Giżyno i Świelino .....	59
Tabela 10. Podstawowy skład pozostałości pofermentacyjnych z biogazowni Giżyno i Świelino .....	60
Tabela 11. Wybrane parametry procesu fermentacji metanowej stwierdzone w zbiornikach fermentacyjnych biogazowni w Giżynie i w Świelinie .....	61
Tabela 12. Liczebność wybranych grup drobnoustrojów w gnojowicy, biomasy wejściowej oraz pozostałości pofermentacyjnej z biogazowni w Giżynie .....	64
Tabela 13. Liczebność wybranych grup drobnoustrojów w gnojowicy, biomasy wejściowej oraz pozostałości pofermentacyjnej z biogazowni w Świelinie .....	65
Tabela 14. Porównanie liczebności badanych grup drobnoustrojów w próbkach gnojowicy, biomasy wejściowej oraz pozostałości pofermentacyjnych pochodzących z biogazowni w Giżynie i Świelinie.....	69
Tabela 15. Porównanie stopnia redukcji wybranych drobnoustrojów w poszczególnych biogazowniach .....	79
Tabela 16. Wydajność procesu produkcji biogazu oraz wydajność metanogenezy w biogazowniach Giżyno i Świelino .....	81
Tabela 17. Współczynniki korelacji porządku rang wg. Spearmana między podstawowym składem chemicznym gnojowicy i biomasy wejściowej a wydajnością procesu produkcji biogazu.....	82

Tabela 18. Współczynniki korelacji rang wg. Spearmana wskaźników wydajności produkcji biogazu i stopnia redukcji badanych grup drobnoustrojów .....	83
Tabela 19. Współczynniki korelacji porządku rang wg. Spearmana między cechami ilościowymi składu gnojowicy świńskiej oraz biomasy wejściowej a stopniami redukcji badanych grup drobnoustrojów .....	84
Tabela 20. Współczynniki korelacji porządku rang wg. Spearmana między wskaźnikami wydajności sanitzacji gnojowicy świńskiej oraz produkcji biogazu a parametrami fermentacji metanowej.....	87

## 10. WYKAZ RYCIN

Rycina 1. Czołowi producenci mięsa wieprzowego w Europie w tys. sztuk – stan na 2019 rok (rysunek własny na podstawie danych EUROSTAT). .....	8
Rycina 2. Pogłowie trzody chlewnej i loch w Polsce w latach 2006 - 2019 (wg. danych EUROSTAT i GUS). .....	9
Rycina 3. Skład procentowy biogazu (Grudziński 2013). .....	19
Rycina 4. A. Schemat budowy przydomowej biogazowni. B. Schemat wykonywania napraw komory z zachowaniem względów bezpieczeństwa: przedmuchiwanie opróżnionej komory powietrzem oraz sprawdzenie czy w komorze da się oddychać z wykorzystaniem żywego zwierzęcia (van Buren 1979). .....	20
Rycina 5. Całkowita liczba biogazowni w Unii Europejskiej wg. European Biogas Association (EBA 2018, EBA 2019). .....	21
Rycina 6. Całkowita zainstalowana moc elektryczna instalacji wykorzystujących biogaz w Polsce wg. URE (2018). .....	23
Rycina 7. Schemat procesu fermentacji metanowej wg Barlaz i in. (1989). .....	24
Rycina 8. Krzywe eliminacji bakterii <i>E. coli</i> w różnych warunkach temperaturowych fermentacji metanowej wg. Pandey i Soupir (2011). .....	38
Rycina 9. Lokalizacja biogazowni rolniczych będących przedmiotem badań (Urząd Marszałkowski Województwa Zachodniopomorskiego 2016). .....	45
Rycina 10. Schemat poboru prób w biogazowniach: I – miejsce poboru prób gnojowicy świńskiej; II – miejsce poboru przygotowanej biomasy wejściowej; III – miejsce poboru biomasy przefermentowanej (opracowanie własne). .....	47
Rycina 11. Schemat wykonania rozcieńczeń dziesiętnych (opracowanie własne). .....	50
Rycina 12. Wybrane parametry procesu produkcji biogazu w biogazowni w Giżyńcu. ....	62
Rycina 13. Wybrane parametry procesu produkcji biogazu w biogazowni w Świelinie. ....	63
Rycina 14. Ogólna liczba drobnoustrojów w próbach z biogazowni Giżyńcu. ....	70
Rycina 15. Ogólna liczba drobnoustrojów w próbach z biogazowni Świelin. ....	71
Rycina 16. Liczba bakterii z rodziny Enterobacteriaceae w próbach z biogazowni Giżyńcu. ....	72
Rycina 17. Liczba bakterii z rodziny Enterobacteriaceae w próbach z biogazowni Świelin. ....	72
Rycina 18. Liczba <i>E. coli</i> w próbach z biogazowni Giżyńcu. ....	73
Rycina 19. Liczba <i>E. coli</i> w próbach z biogazowni Świelin. ....	74
Rycina 20. Liczba <i>H. alvei</i> w próbach z biogazowni Giżyńcu. ....	75
Rycina 21. Liczba <i>H. alvei</i> w próbach z biogazowni Świelin. ....	75



Rycina 22. Liczba bakterii z rodzaju <i>Enterococcus</i> w próbach z biogazowni Giżyno.....	76
Rycina 23. Liczba bakterii z rodzaju <i>Enterococcus</i> w próbach z biogazowni Świelino. ....	77

## 11. WYKAZ ZDJĘĆ

Zdjęcie 1. Locha z prosiętami na podłodze ażurowej w kojcu porodowym (zdjęcie własne).	11
Zdjęcie 2. Płytką Petriego z wyrosłymi koloniami bakteryjnymi na podłożu BHI używanym do oznaczania ogólnej liczby drobnoustrojów (zdjęcie własne).....	66
Zdjęcie 3. Płytką Petriego z wyrosłymi zróżnicowanymi koloniami bakterii Gram – ujemnych na podłożu MacConkey'a. A – kolonie charakterystyczne dla <i>E. coli</i> , B – kolonie charakterystyczne dla <i>H. alvei</i> (zdjęcie własne).....	66
Zdjęcie 4. Przykładowa płytka z hodowlą bakteryjną na podłożu Chromagar ECC (Bio Maxima) - niebieskozielone kolonie to <i>E. coli</i> , różowe to pozostałe bakterie z rodziny <i>Enterobacteriaceae</i> , a żółte to pozostałe bakterie Gram-ujemne (zdjęcie własne).....	67
Zdjęcie 5. Płytką Petriego z hodowlą bakteryjną na podłożu BEA – charakterystyczne dla bakterii <i>Enterococcus</i> spp. kolonie powodujące zaczernienie podłoża oznaczono strzałką (zdjęcie własne). .....	67

## 12. PIŚMIENICTWO

1. Adeolu M., Alnajjar S., Naushad S., Gupta R.S. 2016. Genome-Based Phylogeny and Taxonomy of the ‘Enterobacteriales: Proposal for *Enterobacterales* Ord. Nov. Divided into the Families *Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae* Fam. Nov., *Pectobacteriaceae* Fam. Nov., *Yersiniaceae* Fam. Nov., *Hafniaceae* Fam. Nov., *Morganellaceae* Fam. Nov., and *Budviciaceae* Fam. Nov.’. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 66 (12): 5575–5599. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001485>.
2. Amon T., Amon B., Kryvoruchko V., Bodiroza V., Pötsch E., Zollitsch W. 2006. Optimising Methane Yield from Anaerobic Digestion of Manure: Effects of Dairy Systems and of Glycerine Supplementation. International Congress Series 1293 (July): 217–220. <https://doi.org/10.1016/j.ics.2006.03.007>.
3. Angelidaki I., Ahring B.K.. 1993. Thermophilic Anaerobic Digestion of Livestock Waste: The Effect of Ammonia. Applied Microbiology and Biotechnology 38 (4). <https://doi.org/10.1007/BF00242955>.
4. Angelonidi E., Smith S.R. 2015. A Comparison of Wet and Dry Anaerobic Digestion Processes for the Treatment of Municipal Solid Waste and Food Waste. Water and Environment Journal 29 (4): 549–557. <https://doi.org/10.1111/wej.12130>.
5. Asam Z.Z., Poulsen T.G., Nizami A.S., Rafique R., Kiely G., Murphy J.D. 2011. How Can We Improve Biomethane Production per Unit of Feedstock in Biogas Plants? Applied Energy 88 (6): 2013–2018. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.12.036>.
6. Atlas R.M. 2004. Handbook of Microbiological Media (3 ed.). CRC Press. Boca Roca. ISBN 9780849318184.
7. Bagi Z., Ács N., Bálint B., Horváth L., Dobó K., Perei K.R., Rákhely G., Kovács K.L. 2007. Biotechnological Intensification of Biogas Production. Applied Microbiology and Biotechnology 76 (2): 473–482. <https://doi.org/10.1007/s00253-007-1009-6>.
8. Bajpai P. 2017. Anaerobic Technology in Pulp and Paper Industry. Chapter 2. Basics of Anaerobic Digestion Process, 7–13. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-4130-3>.
9. Barlaz M. A., Schaefer D. M., Ham R. K. 1989. Bacterial Population Development and Chemical Characteristics of Refuse Decomposition in a Simulated Sanitary Landfill. Applied and Environmental Microbiology 55 (1): 55.
10. Bendixen H. J. 1994. Safeguards against Pathogens in Danish Biogas Plants. Water Science and Technology 30 (12).
11. Bendixen H.J. 1999. Hygienic Safety – Results of Scientific Investigations in Denmark.

- IEA Bioenergy Workshop Hygiene and Environmental Aspects of Anaerobic Digestion: Legislation and Experiences in Europe, 27–47.
12. Bicudo J. R., Goyal S. M. 2003. Pathogens and Manure Management Systems: A Review. *Environmental Technology* 24 (1): 115–130. <https://doi.org/10.1080/09593330309385542>.
  13. Bielka I., Pietruszka A. 2017. Wytyczne Dotyczące Praktycznego Zastosowania Konkluzji BAT w Zakresie Intensywnego Chowu Drobiu i Świń: Część 2. Instalacje Do Chowu Świń. Ministerstwo Środowiska.
  14. BioMaxima. 2014. CHROMagar ECC - Instruction of Use.
  15. Bitton G. 2005. *Wastewater Microbiology*. John Wiley & Sons, Inc. Nowy Jork. <https://doi.org/10.1002/0471717967>.
  16. Braun R. 1982. *Biogas — Methangärung Organischer Abfallstoffe*. Innovative Energietechnik. Springer Vienna. Wiedeń. ISBN: 978-3-7091-8676-3 <https://doi.org/10.1007/978-3-7091-8675-6>.
  17. Buelna G., Dubé R., Turgeon N. 2008. Pig Manure Treatment by Organic Bed Biofiltration. *Desalination* 231 (1–3): 297–304. <https://doi.org/10.1016/J.DESAL.2007.11.049>.
  18. Buraczewski, G. 1989. *Fermentacja metanowa*. Państwowe Wydaw. Naukowe. Warszawa ISBN: 8301095334
  19. Buren, van A. 1979. *A Chinese Biogas Manual*. (Red.) Pyle L. Intermediate Technology Publications Ltd. Londyn. ISBN: 0903031655.
  20. Byappanahalli M. N., Nevers M.B., Korajkic A., Staley Z.R., Harwood V.J. 2012. Enterococci in the Environment. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* : MMBR 76 (4): 685–706. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00023-12>.
  21. Cao Y., Chang Z., Wang J., Ma Y., Fu G. 2013. The Fate of Antagonistic Microorganisms and Antimicrobial Substances during Anaerobic Digestion of Pig and Dairy Manure. *Bioresource Technology* 136 (May 2013): 664-667. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.052>.
  22. Carrington E.G., Harman S.A., Pike E.B. 1982. Inactivation of *Salmonella* during Anaerobic Digestion of Sewage Sludge. *Journal of Applied Bacteriology* 53 (3): 331–334. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1982.tb01279.x>.
  23. Cebula J. 1980. Kryteria Przydatności Osadów Ściekowych Do Celów Rolniczych. *Ochrona Środowiska* 2: 8–12.
  24. Chen Y., Cheng J.J., Creamer K.S. 2008. Inhibition of Anaerobic Digestion Process: A Review. *Bioresource Technology* 99 (10): 4044–4064. <https://doi.org/10.1016/>

J.BIORTECH.2007.01.057.

25. Chen Z., Jiang X. 2014. Microbiological Safety of Chicken Litter or Chicken Litter-Based Organic Fertilizers: A Review. *Agriculture* 4: 1–29. <https://doi.org/10.3390/agriculture4010001>.
26. Chochowski A. 2012. *Energia. Difin. Warszawa*. ISBN: 978-83-7641-613-7.
27. Costa A., Gusmara C., Gardoni D., Zaninelli M., Tambone F., Sala V., Guarino M. 2017. The Effect of Anaerobic Digestion and Storage on Indicator Microorganisms in Swine and Dairy Manure. *Environmental Science and Pollution Research* 24 (31): 24135–24146. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0011-5>.
28. Côté C., Massé D.I., Quessy S. 2006. Reduction of Indicator and Pathogenic Microorganisms by Psychrophilic Anaerobic Digestion in Swine Slurries. *Bioresource Technology* 97 (4): 686–691. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2005.03.024>.
29. Cotta M. A., Whitehead T.R., Zeltwanger R.L. 2003. Isolation, Characterization and Comparison of Bacteria from Swine Faeces and Manure Storage Pits.” *Environmental Microbiology* 5 (9): 737–745. <https://doi.org/10.1046/j.1467-2920.2003.00467.x>.
30. Curkowski A. 2016. Rynek i Perspektywy Rozwoju Biogazowni Rolniczych. *Czysta Energia* 2/2016.
31. Curkowski A., Mroczkowski P., Oniszk - Popławska A., Wiśniewski G. 2009. *Biogaz Rolniczy - Produkcja i Wykorzystanie*. Warszawa: Mazowiecka Agencja Energetyczna Sp. z o.o. [http://www.mae.com.pl/files/poradnik\\_biogazowy\\_mae.pdf](http://www.mae.com.pl/files/poradnik_biogazowy_mae.pdf). (dostęp: 12 stycznia 2016 r.)
32. Derbyshire J. B., Brown E. G. 1978. Isolation of Animal Viruses from Farm Livestock Waste, Soil and Water. *Journal of Hygiene* 81 (02): 295. <https://doi.org/10.1017/S0022172400025134>.
33. Dourmad J.Y., Guingand N., Latimier P., Sève B. 1999. Nitrogen and Phosphorus Consumption, Utilisation and Losses in Pig Production: France. *Livestock Production Science* 58 (3): 199–211. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00009-3](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00009-3).
34. Duarte E.A., Mendes B., Oliveira J.S. 1992. Removal of Salmonella, Streptococci and Coliforms in Pig Breeding Effluent by Anaerobic Mesophilic Digestion. *Water Science and Technology* 26 (9–11): 2169–2172.
35. Dumontet S., Diné H., Baloda S.B. 1999. Pathogen Reduction in Sewage Sludge by Composting and Other Biological Treatments: A Review. *Biological Agriculture & Horticulture* 16 (4): 409–430. <https://doi.org/10.1080/01448765.1999.9755243>.
36. Dz.U. z 2018 r. poz. 755. Ustawa z dnia 10 kwietnia 1997 r. Prawo Energetyczne.

37. European Biogas Association. 2018. Annual Statistical Report 2018. [https://www.europeanbiogas.eu/wp-content/uploads/2019/11/EBA\\_report2018\\_abridged\\_A4\\_vers12\\_220519\\_RZweb.pdf](https://www.europeanbiogas.eu/wp-content/uploads/2019/11/EBA_report2018_abridged_A4_vers12_220519_RZweb.pdf) (dostęp: 22 lipca 2020 r.).
38. European Biogas Association. 2019. EBA Statistical report 2019: European Overview. <https://www.europeanbiogas.eu/eba-statistical-report-2019-european-overview/> (dostęp: 22 lipca 2020 r.)
39. Eurostat. Production of Meat: Pigs. <http://ec.europa.eu/eurostat/tgm/table.do?tab=table&plugin=1&language=en&pcode=tag00042>. (dostęp: 05 marca 2020 r.).
40. Everts H. 1994. Nitrogen and Energy Metabolism of Sows during Several Reproductive Cycles in Relation to Nitrogen Intake. Praca doktorska pod kierunkiem M.W.A. Verstegen. Uniwersytet Wageningen. <https://edepot.wur.nl/205958> (dostęp: 16 sierpnia 2019 r.).
41. FAOSTAT. 2016. Agriculture Total. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/GT> (dostęp: 25 czerwca 2019 r.).
42. Fernández J.A, Poulsen H.D., Boisen S., Rom H.B. 1999. Nitrogen and Phosphorus Consumption, Utilisation and Losses in Pig Production: Denmark. *Livestock Production Science* 58 (3): 225–242. [https://doi.org/10.1016/S0301-6226\(99\)00011-1](https://doi.org/10.1016/S0301-6226(99)00011-1).
43. Foged H.L., Flotats X., Blasi A.B., Palatsi J., Magri A., Schelde K.M. 2011. Inventory of Manure Processing Activities in Europe. Technical Report No. I Concerning "Manure Processing Activities in Europe" to the European Commission. Directorate-General Environment. Tjele.
44. Franke-Whittle I.H., Walter A., Ebner C., Insam H. 2014. Investigation into the Effect of High Concentrations of Volatile Fatty Acids in Anaerobic Digestion on Methanogenic Communities. *Waste Management* 34 (11): 2080–2089. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2014.07.020>.
45. Gis W., Żółtowski A., Grzelak P.L. 2012. Biomethane as a Fuel for City Transport. *Journal of KONES Powertrain and Transport* 19 (2): 1–5.
46. Gostomczyk W. 2017. Stan i Perspektywy Rozwoju Rynku Biogazu w UE i Polsce – Ujęcie Ekonomiczne. *Zeszyty Naukowe Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie - Problemy Rolnictwa Światowego* 17 (XXXII): 48–64. <https://doi.org/10.22630/PRS.2017.17.2.26>.
47. Green M.S., Flanagan K.C., Gilcrease P.C. 2008. Characterization of a Methanogenic Consortium Enriched from a Coalbed Methane Well in the Powder River Basin, U.S.A.

- International Journal of Coal Geology 76 (1–2): 34–45. <https://doi.org/10.1016/J.COAL.2008.05.001>.
48. Greipsson S., Priest F.G. 1983. Numerical Taxonomy of *Hafnia alvei*. International Journal of Systematic Bacteriology 33 (3): 470–475. <https://doi.org/10.1099/00207713-33-3-470>.
  49. Grieder C., Mittweg G., Dhillon B.S., Montes J.M., Orsini E., Melchinger A.E. 2012. Kinetics of Methane Fermentation Yield in Biogas Reactors: Genetic Variation and Association with Chemical Composition in Maize. Biomass and Bioenergy 37 (February): 132–141. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2011.12.020>.
  50. Grudziński M. 2013. Proces Technologiczny Produkcji Biogazu Na Przykładzie Biogazowni Rolniczej w Świelinie. Praca inżynierska pod kierunkiem dr. inż. Wojciecha Sawickiego, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie.
  51. Grudziński M., Kołodziej-Skalska A., Pietruszka A. 2015. Impact of Anaerobic Digestion on the Content of Important in Fertilization Nitrogen Forms in Pig Slurry Used as a Substrate in Agricultural Biogas Plants. W: *VIth International Scientific Symposium for PhD Students and Students of Agriculture Colleges “Innovative Researches for the Future of Agriculture and Rural Areas Development”*. Bydgoszcz-Ciechocinek.
  52. Grudziński M., Pietruszka A. 2016. Quantitative Reduction of Feedstock Biomass as a Result of Conversion in Anaerobic Digestion in Agricultural Biogas Plant. Folia Pomeranae Universitatis Technologiae Stetinensis Agricultura, Alimentaria, Piscaria et Zootechnica 328 (39): 79–84. <https://doi.org/10.21005/AAPZ2016.39.3.07>.
  53. Grudziński M., Pietruszka A., Sawicki W. 2015. Anaerobic Digestion in Sanitization of Pig Slurry and Biomass in Agricultural Biogas Plant. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences 5 (2): 524–526. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2015.4.6.524-526>.
  54. Guan T.Y., Holley R.A. 2003. Pathogen Survival in Swine Manure Environments and Transmission of Human Enteric Illness--a Review. Journal of Environmental Quality 32 (2): 383–392. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12708660>.
  55. Guillou D., Dourmad J.Y., Noblet J. 1993. Influence de l'alimentation, Du Stade Physiologique et Des Performances Sur Les Rejets Azote's Du Porc A l'engrais, de La Truie et Du Porcelet. J. Rech. Porcine France 25: 307–313.
  56. Henry D. P., Frost A. J., Samuel J. L., O'Boyle D. A., Thomson R. H. 1983. Factors Affecting the Survival of *Salmonella* and *Escherichia coli* in Anaerobically Fermented Pig Waste. Journal of Applied Bacteriology 55 (1): 89–95. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1983.tb02651.x>.

57. Hobson P.N., Bousfield S., Summers R., Mills P.J. 1980. Anaerobic Digestion of Piggery and Poultry Wastes. W: Anaerobic Digestion : Proceedings of the First International Symposium on Anaerobic Digestion, Held at University College (red. Stafford D.A., Wheatley B.I., Hughes D.E.) Cardiff.
58. Hobson P.N., Shaw B.G. 1974. The Bacterial Population of Piggery-Waste Anaerobic Digesters. *Water Research* 8 (8): 507–516. [https://doi.org/10.1016/0043-1354\(74\)90057-8](https://doi.org/10.1016/0043-1354(74)90057-8).
59. Holm-Nielsen J. B., Halberg N., Huntingford S., Energistyrelsen D. 1993. Joint Biogas Plant - Agricultural Advantages: Circulation of N, P and K : Report. <https://vbn.aau.dk/en/publications/joint-biogas-plant-agricultural-advantages-circulation-of-n-p-and> (dostęp: 30 marca 2019 r.).
60. Horan N.J., Fletcher L., Betmal S.M., Wilks S.A., Keevil C.W. 2004. Die-off of Enteric Bacterial Pathogens during Mesophilic Anaerobic Digestion. *Water Research* 38 (5): 1113–1120. <https://doi.org/10.1016/J.WATRES.2003.12.004>.
61. Hus S. 1995. *Chemia Wody, Ścieków i Gnojowicy*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Wrocław. ISBN: 83-85582-00-2.
62. Iannotti E.L., Fischer J.R., Sievers D.M. 1982. Characterization of Bacteria from a Swine Manure Digester. *Applied and Environmental Microbiology* 43 (1): 136–143. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2006.11.043>
63. Igliński, B., Buczkowski R., Iglińska A., Cichosz M., Piechota G., Kujawski W. 2012. Agricultural Biogas Plants in Poland: Investment Process, Economical and Environmental Aspects, Biogas Potential. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 16 (7): 4890–4900. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.04.037>.
64. Igoni A.H., Abowei M.F.N., Ayotamuno M.J., Eze C.L. 2008. Effect of Total Solids Concentration of Municipal Solid Waste on the Biogas Produced in an Anaerobic Continuous Digester. *Agricultural Engineering International: the CIGR Ejournal*. Manuscript EE 07 010. Vol. X.
65. Illmer P., Gstraunthaler G. 2009. Effect of Seasonal Changes in Quantities of Biowaste on Full Scale Anaerobic Digester Performance. *Waste Management* 29 (1): 162–167. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2008.02.005>.
66. Institut für Energetik und Umwelt gGmbH. 2005. *Biogaz - Produkcja i Wykorzystanie*. Fachagentur für Nachwachsende Rohstoffe e.V. Leipzig.
67. Isenberg H.D., Goldberg D., Sampson J. 1970. Laboratory Studies with a Selective *Enterococcus* Medium. *Applied Microbiology* 20 (3): 433–436.



68. Jayalakshmi S., Joseph K., Sukumaran V. 2008. Bio Hydrogen Production from Kitchen Waste. *International Journal of Environment and Waste Management* 2 (1/2): 75. <https://doi.org/10.1504/IJEWM.2008.016993>.
69. Jin P., Bhattacharya S.K., Williams C.J., Zhang H. 1998. Effects Of Sulfide Addition On Copper Inhibition In Methanogenic Systems. *Water Research* 32 (4): 977–988. [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(97\)00300-X](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(97)00300-X).
70. Juris P., Tóth F., Lauková A., Plachý P., Dubinský P., Sokol J. 1996. Survival of Model Bacterial Strains and Helminth Eggs in the Course of Mesophilic Anaerobic Digestion of Pig Slurry. *Veterinarni Medicina* 41 (5): 149–153.
71. Kearney T.E., Larkin M.J., Frost J.P., Levett P.N. 1993. Survival of Pathogenic Bacteria during Mesophilic Anaerobic Digestion of Animal Waste. *The Journal of Applied Bacteriology* 75 (3): 215–219.
72. Kearney T.E., Larkin M.J., Levett P.N. 1994. Metabolic Activity of Pathogenic Bacteria during Semicontinuous Anaerobic Digestion. *Applied and Environmental Microbiology* 60 (10): 3647–3652.
73. Kłapeć T., Cholewa A. 2012. Zagrożenia Dla Zdrowia Związane Ze Stosowaniem Nawozów Organicznych i Organiczno-Mineralnych. *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu* 18 (2): 131–136.
74. Kowalski Z., Makara A., Fijorek K. 2013. Changes in the Properties of Pig Manure Slurry. *Acta Biochimica Polonica* 60 (4): 845–850.
75. Kunte D.P., Yeole T.Y., Chiplonkar S.A., Ranade D.R. 1998. Inactivation of *Salmonella* Typhi by High Levels of Volatile Fatty Acids during Anaerobic Digestion. *Journal of Applied Microbiology* 84 (1): 138–142. <https://doi.org/10.1046/j.13652672.1997.00335.x>.
76. Kutera J. 1994. *Gospodarka Gnojowicą*. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Wrocław. ISBN: 83-85582-35-5
77. Kwaśny J., Kowalski Z., Banach M. 2011. Właściwości Nawozowe Gnojowicy w Kontekście Zawartości Wybranych Makro- i Mikroelementów. *Technical Transactions* 10 (108): 108–123.
78. Lahav O., Morgan B.E. 2004. Titration Methodologies for Monitoring of Anaerobic Digestion in Developing Countries. A Review. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology* 79 (12): 1331–1341. <https://doi.org/10.1002/jctb.1143>.
79. Lancefield R.C. 1933. A Serological Differentiation Of Human And Other Groups Of Hemolytic Streptococci. *The Journal of Experimental Medicine* 57 (4): 571–595.
80. Larsen H.E., Munch B., Schlundt J. 1994. Use of Indicators for Monitoring the Reduction

- of Pathogens in Animal Waste Treated in Biogas Plants. *International Journal of Hygiene and Environmental Medicine* 195 (5–6): 544–555.
81. Latimer G.W. 2012. *Official Methods of Analysis of AOAC International*. <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=BFHIA.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=016229> (dostęp: 6 lutego 2017 r.).
  82. Latimier P., Dourmad J.Y. 1993. Effect of Three Protein Feeding Strategies, for Growing-Finishing Pigs, on Growth Performance and Nitrogen Output in the Slurry and in the Air. EAAP Publication No. 69. (Netherlands). Pudoc Scientific Publishers
  83. Loyon L., Guiziou F., Béline F., Peu P. 2006. Gaseous Emissions (NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub>, CO<sub>2</sub>) during Pig Slurry Biological Aerobic Treatment and Treatment by-Product Storages. *International Congress Series* 1293: 299–302. <https://doi.org/10.1016/j.ics.2006.02.017>.
  84. Lübken, M., Gehring T., Wichern M. 2010. Microbiological Fermentation of Lignocellulosic Biomass: Current State and Prospects of Mathematical Modeling. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85 (6): 1643–5162. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2365-1>.
  85. Luca G.D., Zanetti F., Fateh-Moghadm P., Stampi S. 1998. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in Sewage Sludge. *International Journal of Hygiene and Environmental Medicine* 201 (3): 269–277.
  86. MacConkey A.T. 1908. Bile Salt Media and Their Advantages in Some Bacteriological Examinations. *Journal of Hygiene* 8 (03): 322–334. <https://doi.org/10.1017/S0022172400003375>.
  87. Mannu L., Paba A., Daga E., Comunian R., Zanetti S., Duprè I., Sechi L.A. 2003. Comparison of the Incidence of Virulence Determinants and Antibiotic Resistance between *Enterococcus Faecium* Strains of Dairy, Animal and Clinical Origin. *International Journal of Food Microbiology* 88 (2–3): 291–304. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00191-0](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00191-0).
  88. Manyi-Loh C.E., Mamphweli S.N., Meyer L.N., Okoh A.I., Makaka G., Simon M. 2013. Microbial Anaerobic Digestion (Bio-Digesters) as an Approach to the Decontamination of Animal Wastes in Pollution Control and the Generation of Renewable Energy. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 10 (9): 4390-4417. <https://doi.org/10.3390/ijerph10094390>.
  89. Manyi-Loh C.E., Mamphweli S.N., Meyer E.L., Makaka G., Simon M., Okoh A.I. 2016. An Overview of the Control of Bacterial Pathogens in Cattle Manure. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 13 (9): 843.

<https://doi.org/10.3390/ijerph13090843>.

90. Marszałek M., Banach M., Kowalski Z. 2011. Wpływ Gnojowicy Na Środowisko Naturalne - Potencjalne Zagrożenia. *Journal of Ecology and Health R.* 15, nr: 66–70.
91. Marszałek M., Kowalski Z., Makara A. 2014. Physicochemical and Microbiological Characteristics of Pig Slurry. *Technical Transactions Chemistry 1* (18): 81–91.
92. Massé D.I., Talbot G., Gilbert Y. 2011. A Scientific Review of the Agronomic, Environmental and Social Benefits of Anaerobic Digestion. W: *Anaerobic Digestion: Processes, Products and Applications*, Nova Science Publishers, Inc. Nowy Jork. 109–131. ISBN: 978-161324420-3
93. McCarthy G., Lawlor P.G., Carney K.N., Zhan X., Gutierrez M., Gardiner G.E. 2015. An Investigation into the Removal of *Salmonella* and Enteric Indicator Bacteria from the Separated Liquid Fraction of Raw or Anaerobically Digested Pig Manure Using Novel On-Farm Woodchip Biofilters. *Science of The Total Environment* 514 (May): 140–146. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2014.12.036>.
94. McCarthy G., Lawlor P.G., Harrington C., Gardiner G.E. 2011. Microbial Removal from the Separated Liquid Fraction of Anaerobically Digested Pig Manure in Meso-Scale Integrated Constructed Wetlands. *Bioresource Technology* 102 (20): 9425–9431. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2011.07.039>.
95. Motte J.C., Trably E., Escudié R., Hamelin J, Steyer J.P., Bernet N., Delgenes J.P., Dumas C. 2013. Total Solids Content: A Key Parameter of Metabolic Pathways in Dry Anaerobic Digestion. *Biotechnology for Biofuels* 6 (1): 164. <https://doi.org/10.1186/1754-6834-6-164>.
96. Myczko A., Myczko R., Kołodziejczyk T., Golimowska R., Lenarczyk J., Janas Z., Kliber A. Karłowski J., Dolska M. 2011. *Poradnik Dla Inwestorów Zainteresowanych Budową Biogazowni Rolniczych*. Wydawnictwo ITP. Warszawa-Poznań. ISBN: 9788362416233.
97. Nagy G., Wopera A. 2012. Biogas Production From Pig Slurry – Feasibility and Challenges. *Materials Science and Engineering* 37 (2): 65–75.
98. Nicholson F.A., Groves S.J., Chambers B.J. 2005. Pathogen Survival during Livestock Manure Storage and Following Land Application. *Bioresource Technology* 96 (2): 135–143. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.02.030>.
99. Nordmann W. 1977. Die Überwachung Der Schlammfäulung. KA-Informationen Für Das Betriebspersonal, Beilage Zur Korrespondenz Abwasser 3: 77.
100. Olsen J.E., Jørgensen J.B., Nansen P. 1985. On the Reduction of Mycobacterium Paratuberculosis in Bovine Slurry Subjected to Batch Mesophilic or Thermophilic

- Anaerobic Digestion. *Agricultural Wastes* 13 (4): 273–280. [https://doi.org/10.1016/0141-4607\(85\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0141-4607(85)90052-6).
101. Olsen J.E., Larsen H.E. 1987. Bacterial Decimation Times in Anaerobic Digestions of Animal Slurries. *Biological Wastes* 21 (3): 153–168. [https://doi.org/10.1016/0269-7483\(87\)90121-2](https://doi.org/10.1016/0269-7483(87)90121-2).
102. Paiders M., Gruduls A., Kalnina L., Valucka S., Dimanta I., Kleperis J., Nikolajeva V. 2017. Biogas and Hydrogen Production from Glycerol by *Enterobacter Aerogenes* and Anaerobic Microbial Communities. *Agronomy Research* 15 (1): 256–269.
103. Paluszak Z. 1998. Badania nad zachowaniem i przeżywalnością wybranych drobnoustrojów fekalnych w glebie nawożonej gnojowicą. Wydawnictwa Uczelniane Akademii Techniczno-Rolniczej w Bydgoszczy. ISSN: 0209-0597 <http://kpbc.umk.pl/dlibra/docmetadata?id=51735&from=pubindex&dirids=1&lp=392> (dostęp: 2 stycznia 2016 r.).
104. Paluszak Z., Skowron K., Olszewska H., Skowron K.J., Bauza-Kaszewska J., Gryń G. 2012. Sanitization Efficacy of Anaerobic Digestion and Aeration of Slurry from the Aspect of Limiting Emission of Salmonella into the Environment. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 19 (3): 427–430.
105. Pandey P.K., Soupir M.L. 2011. “*Escherichia Coli* Inactivation Kinetics in Anaerobic Digestion of Dairy Manure under Moderate, Mesophilic and Thermophilic Temperatures.” *AMB Express* 1 (1): 18. <https://doi.org/10.1186/2191-0855-1-18>.
106. Paton J.C., Paton A.W. 1998. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. *Clinical Microbiology Reviews* 11 (3): 450-479. <https://doi.org/10.1097/MOG.0b013e3282f2dfb8>
107. Peet-Schwering, van der C., Verdoes N., Voermans M. 1996. Effect van Voeding En Huisvesting Op de Ammoniakemissie Uit Vleesvarkensstallen. *Praktijkonderzoek Varkenshouderij* 10 (2): 17–19.
108. Peu P., Brugère H., Pourcher A.M., Kérourédan M., Godon J.J., Delgenès J.P., Dabert P. 2006. Dynamics of a Pig Slurry Microbial Community during Anaerobic Storage and Management. *Applied and Environmental Microbiology* 72 (5): 3578–3585. <https://doi.org/10.1128/AEM.72.5.3578-3585.2006>.
109. Philippe F.X., Nicks B. 2015. Review on Greenhouse Gas Emissions from Pig Houses: Production of Carbon Dioxide, Methane and Nitrous Oxide by Animals and Manure. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 199: 10–25. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2014.08.015>.

110. Philippe F.X., Cabaraux J.F., Nicks B. 2011. Ammonia Emissions from Pig Houses: Influencing Factors and Mitigation Techniques. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 141 (3–4): 245–260. <https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2011.03.012>.
111. Plym-Forsell L. 1995. Survival of Salmonellas and Ascaris Suum Eggs in a Thermophilic Biogas Plant. *Acta Veterinaria Scandinavica* 36 (1): 79–85.
112. PN-EN ISO 6887-1:2000 - Mikrobiologia żywności i pasz - Przygotowanie próbek, zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych -- Ogólne zasady przygotowania zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych.
113. PN-EN ISO 7218:2008 - Mikrobiologia żywności i pasz – Wymagania ogólne i zasady badań mikrobiologicznych.
114. PN-EN ISO 8199:2010 - Jakość wody - Ogólne wytyczne oznaczania liczby bakterii metodą hodowli.
115. POCH. 2008. Karta Charakterystyki Substancji/Preparatu: Wskaźnik Tashiro.
116. Podkówka W. 2012. Biogaz Rolniczy Odnawialne Zródło Energii. Powszechne Wydawnictwo Rolnicze i Lesne. Warszawa. ISBN: 8309010893.
117. Podkówka Z., Podkówka W. Emisja gazów cieplarnianych przez krowy. *Przegląd hodowlany*. 3/2011, s. 1-4.
118. POLSUS. 2013. Strategia Odbudowy i Rozwoju Produkcji Trzody Chlewnej w Polsce do Roku 2030 Mająca na Celu Poprawę Funkcjonowania Sektora Produkcji Wieprzowiny. [http://www.polsus.pl/images/photos/Wydawnictwa/Strategia odbudowy/Strategia odbudowy i rozwoju produkcji trzody chlewnej w Polsce do roku 2030.pdf](http://www.polsus.pl/images/photos/Wydawnictwa/Strategia%20odbudowy/Strategia%20odbudowy%20i%20rozwoju%20produkcji%20trzody%20chlewnej%20w%20Polsce%20do%20roku%202030.pdf). (dostęp: 10 marca 2018 r.)
119. Puchajda B., Oleszkiewicz J. 2003. Single and Two-Stage Anaerobic Digestion: Hydrolysis, Acidification and Pathogen Inactivation. *Proceedings of the Water Environment Federation* 2003 (6): 284–301. <https://doi.org/10.2175/193864703784641801>.
120. Qi G., Pan Z., Sugawa Y., Andriamanohiarisoamanana F.J., Yamashiro T., Iwasaki M., Kawamoto K., Ihara I., Umetsu K. 2018. Comparative Fertilizer Properties of Digestates from Mesophilic and Thermophilic Anaerobic Digestion of Dairy Manure: Focusing on Plant Growth Promoting Bacteria (PGPB) and Environmental Risk. *Journal of Material Cycles and Waste Management* 20 (3): 1–10. <https://doi.org/10.1007/s10163-018-0708-7>.
121. Ramaswamy V., Cresence V.M., Rejitha J.S., Lekshmi M.U., Dharsana K.S., Prasad S.P., Vijila M. 2007. *Listeria* — Review of Epidemiology and Pathogenesis. *J. Microbiol. Immunol. Infect.* 40: 4–13.

122. Remel. 2003. RapID™ ONE System - Instruction of Use.
123. Remel. 2009. ERIC® - a Complementary, Computerized Database to Support All RapID™ Systems. Thermo Fisher Scientific. <http://www.remel.com/eric/> (dostęp: 18 września 2017 r.).
124. Resende J.A., Diniz C.G., Silva V.L., Otenio M.H., Bonnafous A., Arcuri P.B., Godon J.J., Marcelo C., Otenio H. 2014. Dynamics of Antibiotic Resistance Genes and Presence of Putative Pathogens during Ambient Temperature Anaerobic Digestion. <https://doi.org/10.1111/jam.12653>.
125. Risberg K., Cederlund H., Pell M., Arthurson V., Schnürer A. 2017. Comparative Characterization of Digestate versus Pig Slurry and Cow Manure – Chemical Composition and Effects on Soil Microbial Activity. *Waste Management* 61 (March): 529–538. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2016.12.016>.
126. Rodhe L.K.K., Abubaker J., Ascue J., Pell M., Nordberg A. 2012. Greenhouse Gas Emissions from Pig Slurry during Storage and after Field Application in Northern European Conditions. *Biosystems Engineering* 113 (4): 379–394. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2012.09.010>.
127. Sager M. 2007. Trace and Nutrient Elements in Manure, Dung and Compost Samples in Austria. *Soil Biology and Biochemistry* 39 (6): 1383–1390. <https://doi.org/10.1016/J.SOILBIO.2006.12.015>.
128. Sahlström L. 2003. A Review of Survival of Pathogenic Bacteria in Organic Waste Used in Biogas Plants. *Bioresource Technology* 87 (2): 161–166. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(02\)00168-2](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(02)00168-2).
129. Sánchez M., González J.L. 2005. The Fertilizer Value of Pig Slurry. I. Values Depending on the Type of Operation. *Bioresource Technology* 96 (10): 1117–1123. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.10.002>.
130. Sarker S., Lamb J.J., Hjelme D.R., Lien K.M. 2019. A Review of the Role of Critical Parameters in the Design and Operation of Biogas Production Plants. *Applied Sciences* 9 (9): 1915. <https://doi.org/10.3390/app9091915>.
131. Schittenhelm S. 2008. Chemical Composition and Methane Yield of Maize Hybrids with Contrasting Maturity. *European Journal of Agronomy* 29 (2–3): 72–79. <https://doi.org/10.1016/J.EJA.2008.04.001>.
132. Skorupski J. 2013. Wielkoprzemysłowe Fermy Zwierząt w Polsce. W: IAF SEMINAR, MRiRW, Warszawa.
133. Skowron K., Bauza-Kaszewska J., Kaczmarek A. 2015. Mikrobiologiczne Aspekty

- Gospodarki Gnojowicą. *Postępy Mikrobiologii* 54 (3): 235–249.
134. Smith J.L. 2014. *Hafnia*, The Genus. W: *Encyclopedia of Food Microbiology*. Elsevier. 117–120. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384730-0.00150-6>.
135. Smith S.R., Lang N.L., Cheung K.H.M., Spanoudaki K. 2005. Factors Controlling Pathogen Destruction during Anaerobic Digestion of Biowastes. *Waste Management* 25 (4): 417–425. <https://doi.org/10.1016/J.WASMAN.2005.02.010>.
136. Spearman C. 1904. The Proof and Measurement of Association between Two Things. *The American Journal of Psychology* 15 (1): 72. <https://doi.org/10.2307/1412159>.
137. Spoelstra S F. 1978. Enumeration and Isolation of Anaerobic Microbiota of Piggery Wastes. *Applied and Environmental Microbiology* 35 (5): 841–846.
138. Sterling M.C, Lacey R.E., Engler C.R., Ricke S.C. 2001. Effects of Ammonia Nitrogen on H<sub>2</sub> and CH<sub>4</sub> Production during Anaerobic Digestion of Dairy Cattle Manure. *Bioresource Technology* 77 (1): 9–18. [https://doi.org/10.1016/S0960-8524\(00\)00138-3](https://doi.org/10.1016/S0960-8524(00)00138-3).
139. Sträuber H., Lucas R., Kleinstüber S. 2016. Metabolic and Microbial Community Dynamics during the Anaerobic Digestion of Maize Silage in a Two-Phase Process. *Applied Microbiology and Biotechnology* 100 (1): 479–491. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6996-0>.
140. Strauch D. 1991. Survival of Pathogenic Micro-Organisms and Parasites in Excreta, Manure and Sewage Sludge. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)* 10 (3): 813–846.
141. Szewczyk E. 2013. *Diagnostyka Bakteriologiczna*. Wydawnictwo Naukowe PWN. Warszawa. ISBN: 9788301160609.
142. Szymańska E. 2019. The Pork Market in Poland Against the Background of the European Union. *Roczniki Naukowe Stowarzyszenia Ekonomistów Rolnictwa i Agrobiznesu XXI* (4): 504–513. <https://doi.org/10.5604/01.3001.0013.5487>.
143. Tambone F., Scaglia B., D'Imporzano G., Schievano A., Orzi V., Salati S., Adani F. 2010. Assessing Amendment and Fertilizing Properties of Digestates from Anaerobic Digestion through a Comparative Study with Digested Sludge and Compost. *Chemosphere* 81 (5): 577–583. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2010.08.034>.
144. Termorshuizen A.J., Volker D., Blok W.J., ten Brummeler E., Hartog B.J., Janse J.D., Knol W., Wenneker M. 2003. Survival of Human and Plant Pathogens during Anaerobic Mesophilic Digestion of Vegetable, Fruit, and Garden Waste. *European Journal of Soil Biology* 39 (3): 165–171. [https://doi.org/10.1016/S1164-5563\(03\)00032-3](https://doi.org/10.1016/S1164-5563(03)00032-3).
145. Thlon M., Mikosz E., Piñeiro C., Rapp C., Wilson M., Hoste E.R., Leśniak D., Pejsak Z.,

- Kapłon M. 2016. Perspektywy i Wyzwania Dla Rozwoju Produkcji Trzody Chlewnej w Polsce : Unijne i Krajowe Bariery o Charakterze Formalno-Prawnym. Krajowy Związek Producentów Pracodawców Trzody Chlewnej. Warszawa. ISBN: 978-83-946001-0-5.
146. Urząd Marszałkowski Województwa Zachodniopomorskiego. 2016. Centrum Obsługi Inwestorów i Eksporterów Województwo Zachodniopomorskie. Mapa Województwa Zachodniopomorskiego. <http://www2.wzp.pl/oferty/index.php> (dostęp: 21 stycznia 2018 r.).
147. Urząd Regulacji Energetyki. 2018. Mapa Odnawialnych Źródeł Energii Na Podstawie Udzielonych Przez Prezesa URE Koncesji Oraz Wpisów Do Rejestrów Prowadzonych Przez Prezesa URE i Prezesa ARR. <http://www.ure.gov.pl/uremapoze/mapa.html> (dostęp: 11 lutego 2018 r.).
148. Vedrenne F., Béline F., Dabert P., Bernet N. 2008. The Effect of Incubation Conditions on the Laboratory Measurement of the Methane Producing Capacity of Livestock Wastes. *Bioresource Technology* 99 (1): 146–155. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2006.11.043>.
149. Ward A., Stensel H.D., Ferguson J.F., Ma G., Hummel S. 1999. Preventing Growth of Pathogens in Pasteurized Digester Solids. *Water Environment Research* 71 (2): 176–182. <https://doi.org/10.2175/106143098X121932>.
150. Waring S.A., Bremner J.M. 1964. Ammonium Production in Soil under Waterlogged Conditions as an Index of Nitrogen Availability. *Nature* 201 (4922): 951–952. <https://doi.org/10.1038/201951a0>.
151. Watcharasukarn M., Kaparaju P., Steyer J.P., Krogfelt K.A., Angelidaki I. 2009. Screening *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, and *Clostridium perfringens* as Indicator Organisms in Evaluating Pathogen-Reducing Capacity in Biogas Plants. *Microbial Ecology* 58 (2): 221–230. <https://doi.org/10.1007/s00248-009-9497-9>.
152. WBA. 2017. WBA Global Bioenergy Statistics 2014. World Bioenergy Association. [https://doi.org/10.1016/0165-232X\(80\)90063-4](https://doi.org/10.1016/0165-232X(80)90063-4).
153. Weiland P. 2006. Biomass Digestion in Agriculture: A Successful Pathway for the Energy Production and Waste Treatment in Germany. *Engineering in Life Sciences* 6 (3): 302–309. <https://doi.org/10.1002/elsc.200620128>.
154. Weiland P. 2010. Biogas Production: Current State and Perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85 (4): 849–860. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2246-7>.
155. Weremko D. 2006. Wpływ Żywienia i Systemu Utrzymania Zwierząt Na Ilość i Skład



- Odchodów Od Trzody Chlewnej. Nawozy i Nawożenie 29 (4): 20–35.
156. Winnicki S., Pleskot R., Zając G. 2009. Ekspertyza. Technika i Technologia Produkcji Trzody Chlewnej. Poznań. <http://www.agengpol.pl> (dostęp: 17 marca 2018 r.).
157. Wróblewska J., Kozusko S., Gospodarek E. 2013. Ocena Aktywności Lipolitycznej Szczepów *Enterococcus faecium*. Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia 65 (2): 87–91.
158. Zbytek Z., Talarczyk W. 2008. Gnojowica a Ochrona Środowiska Naturalnego. Technika Rolnicza Ogrodnicza Leśna 4/2008: 12-14.
159. Zellner G. Winter J. 1987. Analysis of a Highly Efficient Methanogenic Consortium Producing Biogas from Whey. Systematic and Applied Microbiology 9 (3): 284–292. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(87\)80036-X](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(87)80036-X).
160. Zhu J. 2000. A Review of Microbiology in Swine Manure Odor Control. Agriculture, Ecosystems & Environment 78 (2): 93–106. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00116-4](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00116-4).
161. Ziemer C.J., Bonner J.M., Cole D., Vinjé J., Constantini V., Goyal S., Gramer M., Mackie R., Meng X.J., Myers G., Saif L.J. 2010. Fate and Transport of Zoonotic, Bacterial, Viral, and Parasitic Pathogens during Swine Manure Treatment, Storage, and Land Application. Journal of Animal Science 88 (13): 84–94. <https://doi.org/10.2527/jas.2009-2331>.
162. Ziemiński K., Frąc M. 2012. Methane Fermentation Process as Anaerobic Digestion of Biomass: Transformations, Stages and Microorganisms. African Journal of Biotechnology 11 (18): 4127–39. <https://doi.org/10.5897/AJBX11.054>.
163. Zimny L. 2003. Encyklopedia Ekologiczno-Rolnicza. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu. Wrocław. ISBN: 83–87866–79–2.