

OCENA

Pracy Doktorskiej mgr inż. Katarzyny Matusiak
nt. „Biologiczna deodoryzacja pomiotu kurzego”
wykonanej w Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii
Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej
Promotor: dr hab Beata Gutarowska, prof nadzw. PŁ

Ocena formalnej strony pracy

Praca doktorska mgr inż. Katarzyny Matusiak obejmuje 245 stron i 80 tabel. Cytowana literatura związana ściśle z tematyką pracy stanowi 159 pozycji w tym normy obowiązujące, Ustawy i Rozporządzenia Ministra Rolnictwa Rozwoju Wsi. W większości pochodzące z ostatnich pięciu lat. Struktura opracowania jest właściwa dla prac o charakterze eksperymentalnym.

Celowość podjęcia tematu

Temat pracy doktorskiej znajduje swoje uzasadnienie w aktualnie ważnym problemie jakim jest ograniczenie emisji gazów odorotwórczych generowanych z hodowlanej produkcji zwierzęcej. Autorka rozprawy podjęła badania dotyczące ferm drobiowych, które należą do największych emiterów zanieczyszczeń zapachowo-czynnych tj. odorów w składzie których znajduje się około 130 związków ale w największych ilościach występuje amoniak i siarkowodór, gazy toksyczne dla ludzi i zwierząt. Związki odorowe są wytwarzane w wyniku procesów biochemicznych i mikrobiologicznych pomiotu kurzego, który jest mieszaniną wydalin drobiu, ściółki i pozostałości paszy. Negatywny efekt działania związków odorowych jest odczuwalny przez mieszkańców zamieszkujących tereny sąsiadujące z fermą. Rejestruje się rosnącą liczbę zażaleń ze strony mieszkańców tych obszarów. Problem ograniczenia

emisji odorów staje się bardzo ważny i pilny do rozwiązania z uwagi na fakt, że Polska znajduje się w gronie największych w Unii Europejskiej wytwórców mięsa drobiowego i z roku na rok ta produkcja zwiększa się. Unowocześnianie zakładów produkcyjnych poprawia ich efektywność, ale nie rozwiązuje problemu ograniczenia emisji odorów. W Polsce w produkcji zwierzęcej stosuje się jako dezodoryzujące czynniki adsorbenty mineralne oraz preparaty zawierające saponiny hamujące rozkład mocznika. Duże nadzieje wiąże się także z preparatami mikrobiologicznymi.

Obecnie znane są biopreparaty, które poprawiają parametry fizyko-chemiczne i obniżają emisję odorów ale odnosi się to głównie do osadów wodnych i ściekowych, nie można ich stosować w produkcji zwierzęcej w tym także drobiarskiej. Potrzeba rozwiązania tego problemu w hodowli drobiu uzasadnia celowość podjęcia tego tematu, którego przeprowadzone badania stanowią treść przedłożonej rozprawy doktorskiej, , mają one charakter zarówno badań podstawowych i aplikacyjnych.

Ocena merytoryczna

Zamierzeniem pracy doktorskiej było opracowanie składu i formy biopreparatu, stanowiącego zespół mikroorganizmów saprofitycznych, których aktywność metaboliczna w pomociu kurzym przyczyni się do zmniejszenia emisji związków odorowych z tego środowiska, bądź przekształci je w inną formę. Część teoretyczna stanowi dobre wprowadzenie w aktualizację problemu podjętego w pracy doktorskiej. Moja drobna uwaga to, że w omówieniu właściwości i źródła wybranych odorantów zabrakło bliższych informacji o kwasie izomasłowym, który jak się okazało jest efektywnie usuwany przez biopreparat. Opis metodyki badań jest jasny i wystarczający, a uzyskane wyniki są statystycznie opracowane. Każdy etap badań jest dokładnie omówiony. Dyskusja uzyskanych wyników jest przeprowadzona wnikliwie w oparciu o aktualną literaturę dotyczącą tej problematyki. Wnioski są odzwierciedleniem efektów kolejnych etapów badań które doprowadziły do realizacji celu badań.

Praca doktorska mgr inż. Katarzyny Matusiak obejmuje siedem w pełni uzasadnionych badań. Pierwszy z nich to ocena stanu mikrobiologicznego i chemicznego pomiotów drobiowych z ferm kur niosek i brojlerów, oraz zawartości i składu związków lotnych emitowanych z tych pomiotów. Liczebność bakterii ustalono, że jest na poziomie 10^9 jtk/g, grzybów 10^7 jtk, w pomociu gęsim 10^5 . W tym miejscu mam pytanie, czy badane pomioty różnią się wartością pH. Obok typowej mikroflory saprofitycznej wyizolowano

drobnoustroje patogenne Salmonella, Staphylococcus aureus, Escherichia coli i inne. Analiza związków lotnych dotyczyła najważniejszych tj. amoniaku, siarkowodoru, kwasu izomasłowego i aminy. Z uwagi na ich dominujące ilości w grupie związków odorowych.

Zasadniczy rozdział badań, to najkrócej wyrażając znalezienie szczepów mikroorganizmów, które w tym specyficznym środowisku swoją aktywnością metaboliczną przyspieszą rozkład materii organicznej z której rodzi się mikroflora i enzymy wytwarzają związki odorowe. Z różnych środowisk naturalnych, kompostów roślinnych, biofilmów przemysłowych z fabryki celulozy, z preparatów handlowych, wyizolowano te drobnoustroje które stanowiły w tych, środowiskach liczebność dominującą. Szczegółowe testowanie materiału biologicznego Doktorantka przeprowadziła w odniesieniu do 30 szczepów. Najważniejsze kryteria to przede wszystkim :

- zdolność wzrostu w pomiole drobiowym
- brak oddziaływań antagonistycznych między sobą
- zdolność obniżania stężenia związków lotnych emitowanych z pomiotów

Wyniki tego obszernego etapu badań stały się podstawą do wyodrębnienia 7 specyficznych szczepów (6- bakteryjnych i 1-grzybowy), które stanowiły biopreparat mający spełnić ważną rolę jaką jest biologiczna deodoryzacja pomiotów drobiowych. Szczepy zidentyfikowano genetycznie i zostały zdeponowane w kolekcji Czystych Kultur LOCK 105 a sekwencje nukleotydowe w bazie Gen-Bank NCBJ pod odpowiednim numerem. Ciekawym wynikiem w tych badaniach jest fakt, że szczepy grzybów strzępkowych wyizolowane ze środowisk naturalnych wykazywały antagonistyczne właściwości wobec pozostałych drobnoustrojów. Kolejne etapy i zadania badawcze dotyczyły formy biopreparatu i warunków stosowania tj. liczebność drobnoustrojów w preparacie oraz temperatura i czas działania. Spośród trzech form tj. zawiesiny wodnej, liofilizatu, osadzeniu na minerałach (bentonit + perlit) okazało się, że ta ostatnia forma jest najbardziej efektywna bowiem redukcja związków odorowych w zależności od rodzaju związku wynosiła 41-92 %. W pomieszczeniach inwentarskich wynik ten uzyskano już po 3- dniach. W największym stopniu redukcji stężenia uległ kwas izomasłowy (81%), amoniak (50%), siarkowodór (70%). Najlepsze efekty obniżenia zawartości w powietrzu związków odorowych uzyskano w odniesieniu do pomiotu kur niosek. Ten wynik należało przedyskutować biorąc pod uwagę skład chemiczny pomiotów (Tabela 30). Pomiot kur niosek ma największe ilości azotu i fosforu. Jest to ważne, choć by dlatego, że zespoły badawcze zajmujące się obniżaniem emisji związków odorowych z pomiotów drobiowych, rozwiązania choćby częściowego upatruje w metodach żywieniowych

polegających na optymalizacji składu pasz. Odnośnie liczebności drobnoustrojów w biopreparacie ustalono, że najbardziej skuteczny efekt obniżenia zawartości związków odorowych zapewniał preparat zawierający bakterie na poziomie 10^7 jtk/ml. W tym miejscu mam pytanie, dlaczego liczebność wyrażano w odniesieniu do ml a nie w gramach. Z treści wniosku 6 wynika, że gęstość inokulum, które wprowadza się do mieszaniny nośników mineralnych, powinna wynosić 10^7 jtk/ml co nie oznacza, że tyle samo będzie bakterii w 1 g nośnika mineralnego.

Wybór biopreparatu osadzonego na mieszaninie nośników mineralnych (bentonit, perlit) wymagało sprawdzenia czy zmienił się stan mikrobiologiczny powietrza w pomieszczeniu inwentarskim. Wynik otrzymała Doktorantka pozytywny, stan mikrobiologiczny powietrza nie uległ zmianie. Autorka pracy tłumaczy to dobrym wiązaniem bakterii z powierzchnią nośnika. Jest to z pewnością słuszne wyjaśnienie ale należy pamiętać że mikroorganizmy wprowadzane z preparatem stanowią niewielki udział w stosunku do występujących w środowisku pomiotu. Ocenę taką należałoby przeprowadzić po dłuższym czasie stosowania biopreparatu.

Opracowany biopreparat wykazał jeszcze jedną ważną właściwość a mianowicie antagonistyczne oddziaływanie na mikroflorę patogenną (*Salmonella*, *Staphylococcus*, *Escherichia coli*). Cecha ta została potwierdzona w stosunku do szczepów kolekcyjnych ATCC, jest ona ważna dla higienizacji pomieszczeń inwentarzowych. Kolejne zrealizowane zadanie w pracy doktorskiej to ocena stabilności preparatu. Ustalono, że najkorzystniejsze warunki zapewniające zachowanie przeżywalności i aktywności metabolicznej to temperatura 4°C , czas 4 miesiące. W tej ocenie zabrakło informacji o wilgotności powietrza w warunkach przechowywania.

Z analizy porównawczej efektywności obniżania stężenia związków odorowych w powietrzu nad pomiotem drobiowym przez utworzony biopreparat wynika, że jest on skuteczniejszy niż preparat handlowy EM. Natomiast z porównania wyników obniżenia związków odorowych z użyciem minerałów bentonit, perlit oraz ich mieszaniny bez czynnika biologicznego i z czynnikiem biologicznym, wynika, że zjawisko adsorpcji odorów na minerałach jest wiodące w procesie deodoryzacji. Udział biologicznego czynnika jest na poziomie około 10%. A zatem ten sumaryczny efekt obniżania poziomu odorów jest wynikiem fizycznego działania tj. adsorpcji i funkcji metabolicznej specyficznych szczepów mikroorganizmów.

Ostatni etap badań wyjaśnił stawianą wcześniej hipotezę, zakładającą, że rola mikroorganizmów wprowadzonych z biopreparatem w procesie deodoryzacji polega na

wykorzystaniu składników pomiotu jako pokarmu, obniżając ich dostępność w procesach odorotwórczych. Hipotezę tę potwierdziły wyniki analizy chemicznej wskazujące na znaczne obniżenie w środowisku zawartości azotu, aminokwasów, suchej masy organicznej, białka.

W tej interpretacji wyników oceniających działanie całego preparatu nie należy pominąć faktu, że bentonit ma unikalne właściwości sorpcji białka, co może mieć wpływ na końcową zawartość tego składnika w pomiole.

Wyniki tego etapu badań mają ważne znaczenie aplikacyjne ponieważ uzasadniają słuszność jednej z proponowanych metod ograniczenia emisji odorów tj metody żywieniowej (polegającej na właściwej modyfikacji paszy). Ponadto wskazują na słuszność połączenia sorbentów mineralnych i czynnika biologicznego w celu obniżenia emisji związków odorowych z pomiotów drobiowych.

Jako recenzent chciałam się ustosunkować do często używanego w pracy określenia.....usuwanie związków lotnych (odorów)znad pomiotów kurzych. Jest to nie w pełni słuszne bowiem ten mechanizm odnosi się jedynie do czynnika mineralnego w biopreparacie, ponieważ na jego powierzchni zachodzi proces sorpcji. Natomiast rola bakterii przyczynia się do ograniczenia czy osłabienia wytwarzania związków odorowych jako wynik ubytku materii organicznej w pomiole kurzym, wykorzystanej przez owe mikroorganizmy. Powoduje to zmniejszenie ilości substratu do generowania związków odorowych przez mikroflorę i enzymy pomiotu. Stąd też lepiej charakter tych przemian oddaje określenie obniżanie zawartości związków odorowych w powietrzu nad pomiotem.

Uwagi zawarte w recenzji jaki i zaznaczone drobne błędy edytorskie nie mają wpływu na moją końcową ocenę.

Podsumowując stwierdzam, że cel pracy został w pełni zrealizowany, na co składają się efekty kolejnych logicznie zaplanowanych i przeprowadzonych etapów badań. Najważniejszym osiągnięciem badawczym w przedstawionej pracy doktorskiej jest opracowanie biopreparatu w pełni scharakteryzowanego pod względem właściwości, które zapewniają skuteczne obniżenie czy osłabienie emisji odorów z nad pomiotów drobiowych. Uzyskane wyniki mają wartość naukową i aplikacyjną. Ustalone kryteria w pracy doktorskiej są wyznacznikami jakimi należy posługiwać się w tworzeniu analogicznych biopreparatów z przeznaczeniem do obniżenia emisji odorów z hodowli drobiarskich i równocześnie higienizacji tego środowiska.

Konkluzja recenzji

Przedłożoną mi do recenzji pracę doktorską mgr inż. Katarzyny Matusiak, oceniam bardzo wysoko, z uwagi na jej aplikacyjny i pionierski charakter. W związku z powyższym stawiam wniosek do Rady Wydziału Biotechnologii i Nauk o Żywności Politechniki Łódzkiej o przyjęcie rozprawy i dopuszczenie Autorki do dalszych etapów przewodu doktorskiego.

Bożena Zakomska