

РЕДУКЦИЯ НА ПАТОГЕННИ МИКРООРГАНИЗМИ ПРИ ПЕРИОДИЧНО-ДОЛИВЕН И НЕПРЕКЪСНАТ ПРОЦЕС НА МЕТАНОВА ФЕРМЕНТАЦИЯ

Теодора Попова*, Йоско Петков*, Байко Байков**,
Иван Симеонов***, Веселин Киров*, Ботьо Захаринов**,
Надя Маринова**, Йонко Након*, Пламен Кьосев*

*Лесотехнически университет, София

**Нов български университет, София

***Институт по микробиология "Стефан Ангелов" - БАН, София

Reduction to Infective Microorganisms with Remittent Pour Some More and Ceaseless Process of Formic Fermentation

T. Popova, J. Petkov*, B. Baykov**, I. Simeonov***, V. Kirov*,
B. Zaharinov**, N. Marinova**, J. Nakov*, P. Kyosev**

**University of Forestry, Sofia, Bulgaria*

***New Bulgarian University, Sofia, Bulgaria*

****Stefan Angelov Institute of Microbiology - BAS, Sofia, Bulgaria*

Abstract

The changes are tracked after in the numbers to the bacteria of bioreactors with alternate-pour some more with continual mesofyle of manner to anaerobic catabolism to top dress liquid from water solution to a bed from chicken's broilers. After introduction on score filter strain of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* deemphasizing their message on bioreactors that with two processes is quickest at staphylococcus is made gradually, and the most slow of *P. aeruginosa*.

Key words: anaerobic catabolism, mesofyle condition, mark bacteria

Проследени са промените в количествата на бактериите в биореактори с периодично-доливен и с непрекъснат мезофилен режим на анаеробно разграждане на торова течност от воден разтвор на постеля от пилета-бройлери. След внасяне на маркирани щамове на *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus* е установено постепенно намаляване на съдържанието им в биореакторите, което при двата процеса е най-бързо при стафилококите, а най-бавно - при *P. aeruginosa*.

Големите количества органични отпадъци са неразделна част от животновъдството. Те не са подходящи за влагане

в почвата без предварителна обработка. Анаеробното разграждане на тези отпадъци е перспективен съвременен ме-

тод за тяхната биопереработка до полезни материали. Като крайни продукти от този тип разграждане се получават подходящ за наторяване на почви материал и метан, използван като евтино гориво. Съгласно проучванията на Вауков et al. (2005) химичният състав на крайния биошлам, получен след метанова ферментация на птича торова постеля, е безопасен и подходящ за повишаване на почвеното плодородие. Важен аспект на биопереработката на органичните отпадъци е екологичната безопасност на крайния продукт, предназначен за внасяне в почвите. Все още не е напълно изяснено дали се постига сигурното му обеззаразяване. Според някои автори при непрекъснат режим на метанова ферментация се получава достатъчно надеждна деконтаминация на изходния животински тор (Вауков et al., 2005). Проучванията на други колективи сочат, че някои патогенни микроорганизми се запазват в известна степен в крайния биошлам (Петков и Байков, 1988; Philipp et al., 2005). За сигурно обеззаразяване на биошлама при мезофилен процес на анаеробно разграждане Philipp et al. (2005) препоръчват предварително загряване на изходния материал при 70 °C за 1 h.

Много по-малко са изследванията в тази насока при периодично-доливния режим на метанова ферментация. Тивчев и сътр. (1986) съобщават за значително намаляване на количеството на микроорганизмите в крайния продукт при мезофилна ферментация при такъв режим.

Цел на настоящото проучване беше да се проследят количествените изменения на маркирани патогенни микроорганизми, внесени в биореактори с периодично-доливен и с непрекъснат мезофилен режим на анаеробно разграждане с оглед оценка на възможностите за деконтаминация на птича торова постеля при такъв тип на преработка и получаване на епизоотологично безопасен краен продукт.

Материал и методи

Микроорганизми. В изследванията са

използвани чисти култури от три патогенни бактериални щама: *Escherichia coli* O6-21C, *Pseudomonas aeruginosa* 33 и *Staphylococcus aureus* 230. Микроорганизмите са изолирани от животни с хронични инфекции и са подбрани по демонстрираната *in vitro* полирезистентност към амфениколи (Chloramphenicol и Thiamphenicol) и тетрациклини (Tetracycline, Doxycycline и Oxytetracycline). Извършено е допълнително култивиране на тези щамове върху хранителни среди с антибиотици от тези групи с цел изолиране и използване в изследванията на клонове, най-добре развиващи се в присъствие на високи концентрации от тези антибиотици.

Хранителни среди. За изолиране и култивиране на маркираните бактерии са използвани селективни среди, съдържащи едновременно доксициклин в концентрация 50 µg/ml и хлорамфеникол - 16 µg/ml. Подбрани са Eosin Methylene Blue agar за *E. coli*, Cetrimide agar за *P. aeruginosa* и Chapman Stone agar за *S. aureus*. Същите среди, но без антибиотици, са използвани за определяне на общото количество на бактериите от следните избрани групи:

- *E. coli* и други Грам-отрицателни аеробни и факултативно анаеробни бактерии,
- *Pseudomonas spp.* и ● *Staphylococcus spp.* (маркирани и немаркирани).

Общият брой микроорганизми в изследваните материали е отчитан върху агар на Mueller Hinton без антибиотици. Хранителните среди са от фирмата Antisel. Количеството на ентерококите е определяно върху селективна за тях хранителна среда, приготвена от нас.

Количественото определяне на микроорганизмите е извършвано по класическия метод в серийни десетократно нарастващи разреждания на изследваните материали в стерилен физиологичен разтвор. От тях са правени посявки върху подбраните среди с и без антибиотици, по три за всяка среда и разреждане. След инкубиране при 37 °C за 24 - 48 часа е определян средноаритметичният брой на развитите се колонии и е

изчислявано количеството на колонииобразуващите единици (CFU - colony forming units) в 1 ml от изходния материал.

Опитни постановки

Вариант 1. Експериментите са проведени при периодично-доливен процес на анаеробно разграждане на торова течност от воден разтвор на постеля от пилетабройлери (7% сухо вещество и рН 6,2) в лабораторен биореактор с вместимост 6 L и работен обем 4 L (Симеонов и сътр., 2006). Анаеробната ферментация протича в продължение на 45 дни при мезофилен температурен режим от $34 \pm 0,5$ °C. Биореакторът е зареждан през 3-4 дни с около 10 ml торова течност и същевременно е отнемано същото количество биошлам, който съдържа 4,4% сухо вещество и рН 7,2.

След предварително определяне на броя на бактериите от избраните за изследване групи и общия брой на микроорганизмите в изходната торова течност, в биореактора са внесени трите маркирани микробни щама, всеки в количество по 10^7 CFU/ml от общото му съдържание. Проби от изхода (готовия биошлам) за определяне на количеството на маркираните и немаркирани микроорганизми са взимани през 3-4 дни до края на процеса.

Вариант 2. Изследванията са извършени при непрекъснат процес на анаеробно разграждане на органични вещества в лабораторен биореактор с вместимост 2 L и работен обем 1 L (Симеонов и сътр., 2006). Анаеробната ферментация протича в продължение на 22 дни при мезофилен температурен режим от $34 \pm 0,5$ °C. Биореакторът е зареждан ежедневно с по 10 ml торова течност от разтвор на постеля от пилетабройлери (7% сухо вещество и рН 6,2) и същевременно е отнемано същото количество биошлам (4,4 % сухо вещество и рН 7,2).

След предварително определяне на броя на бактериите от избраните групи и общия брой на микроорганизмите във входния и изходния материал, в биореактора са внесени трите маркирани микробни щама, всеки в количество по $5 \cdot 10^4$

CFU/ml от общото му съдържание. Проби от изхода (готовия биошлам) за определяне на количеството на маркираните и немаркирани микроорганизми са взимани за изследване на 3-ия, 5-ия, 7-ия, 10-ия, 14-ия и 21-ия ден.

Статистическият анализ на резултатите е осъществен посредством one-way analysis of variance (ANOVA) и Dunnett post-hoc test.

Резултати и обсъждане

Резултатите от проведените изследвания при периодично-доливен процес на анаеробно разграждане на торова течност (вариант 1) са представени на табл. 1. От обобщените данни в таблицата се вижда, че на 4-ия ден след прибавяне на маркираните бактерии се наблюдава статистически достоверно ($P < 0,05$) нарастване на общото количество на микроорганизмите в биореактора. Това очевидно е в резултат на внасянето на тези бактерии в системата. Намаляването на общия брой на бактериите на 7-ия ден също е значимо ($P < 0,01$), както и на 17-ия ден ($P < 0,05$). До края на изследването общото количество на микроорганизмите не се променя съществено. Част от тези микроорганизми са ентерококи. Те са избрани от нас като обект на количествено наблюдение поради особено високата им устойчивост към неблагоприятни въздействия. Техният брой също варира в известни граници в периода на изследването. Достоверно намаление спрямо предходните измервания е отчетено на 17-ия ден ($P < 0,05$). По-късно се наблюдава известно нарастване на количеството им, което е значимо след 24-ия ден ($P < 0,05$), последвано от ново понижение между 38-ия и 41-ия ден ($P < 0,05$), а на 45-ия отново настъпва повишение с около 1 log.

Аналогични промени се наблюдават и в общия брой на Грам-отрицателните аеробни и факултативно-анаеробни бактерии, на тези от род *Pseudomonas* и на стафилококите. След достоверно увеличение на 4-ия ден в резултат на внасянето на маркираните микроорганизми ($P < 0,01$),

започва постепенно понижаване както на общото количество на съответните бактерии, така и на маркираните щамове. То е най-силно изразено на 27-ия ден - с около 2-4 log. Фактори, способстващи за това, могат да бъдат периодичното отнемане на биошлам (а с него и на бактерии), неблагоприятни условия в реактора и конкуренция между микроорганизмите.

Културата на маркираните бактерии от трите щамове постепенно намалява в процеса на анаеробното разграждане. На 34-ия ден те вече не се установяват в биошлама. Най-рано изчезват маркираните стафилококи - една седмица преди Грам-отрицателните маркирани щамове.

Количеството на маркираните бактерии от трите щамове постепенно намалява в процеса на анаеробното разграждане. На 34-ия ден те вече не се установяват в биошлама. Най-рано изчезват маркираните стафилококи - една седмица преди Грам-отрицателните маркирани щамове.

Таблица 1. Динамика на микроорганизми в биореактор при периодично-доливен режим на метанова ферментация на птича торова постеля

Проба	Общ брой бактерии	<i>Enterococcus spp.</i>	Грам-отрицателни аероби, общ брой	<i>Pseudomonas spp.</i> , общ брой	<i>Staphylococcus spp.</i> , общ брой	<i>E. coli</i> , маркирани	<i>P. aeruginosa</i> , маркирани	<i>S. aureus</i> , маркирани
Преди прибавянето на маркирани бактерии	$2,90 \cdot 10^{8*} \pm 0,80^{**}$	$5,10 \cdot 10^5 \pm 0,85$	$7,50 \cdot 10^4 \pm 1,84$	$2,53 \cdot 10^4 \pm 0,93$	$3,07 \cdot 10^5 \pm 0,83$	-	-	-
4 ден	$1,8 \cdot 10^9 \pm 1,25$	$1,5 \cdot 10^5 \pm 0,35$	$9,28 \cdot 10^7 \pm 1,19$	$9,70 \cdot 10^6 \pm 0,52$	$1,07 \cdot 10^7 \pm 0,84$	$2,43 \cdot 10^6 \pm 1,84$	$1,06 \cdot 10^6 \pm 0,81$	$5,33 \cdot 10^7 \pm 1,70$
7 ден	$8,9 \cdot 10^7 \pm 3,46$	$2,60 \cdot 10^5 \pm 1,68$	$3,00 \cdot 10^6 \pm 1,19$	$3,75 \cdot 10^6 \pm 0,21$	$4,58 \cdot 10^5 \pm 3,04$	$1,28 \cdot 10^6 \pm 1,78$	$4,87 \cdot 10^5 \pm 2,72$	$6,10 \cdot 10^2 \pm 0,42$
11 ден	$5,05 \cdot 10^8 \pm 0,64$	$4,20 \cdot 10^4 \pm 1,83$	$3,70 \cdot 10^5 \pm 1,25$	$5,27 \cdot 10^5 \pm 0,25$	$4,85 \cdot 10^5 \pm 0,21$	$1,30 \cdot 10^3 \pm 0,14$	$4,60 \cdot 10^3 \pm 1,54$	$1,40 \cdot 10^2 \pm 0,85$
14 ден	$9,37 \cdot 10^8 \pm 4,87$	$1,90 \cdot 10^5 \pm 0,36$	$5,70 \cdot 10^6 \pm 2,26$	$3,93 \cdot 10^5 \pm 2,37$	$2,83 \cdot 10^4 \pm 2,06$	$7,75 \cdot 10^4 \pm 0,35$	$3,80 \cdot 10^3 \pm 2,26$	$5,10 \cdot 10^3 \pm 1,27$
17 ден	$1,3 \cdot 10^8 \pm 0,28$	$2,00 \cdot 10^4 \pm 0,87$	$2,65 \cdot 10^5 \pm 0,64$	$1,25 \cdot 10^5 \pm 0,35$	$7,40 \cdot 10^2 \pm 0,85$	$1,35 \cdot 10^2 \pm 0,21$	$7,10 \cdot 10^2 \pm 0,14$	$6,55 \cdot 10^2 \pm 0,64$
20 ден	$1,16 \cdot 10^8 \pm 1,81$	$3,65 \cdot 10^4 \pm 1,20$	$4,40 \cdot 10^4 \pm 3,03$	$7,45 \cdot 10^4 \pm 0,35$	$4,10 \cdot 10^3 \pm 0,14$	$1,40 \cdot 10^3 \pm 0,28$	$5,85 \cdot 10^2 \pm 0,15$	$2,5 \cdot 10 \pm 0,14$
24 ден	$4,95 \cdot 10^8 \pm 2,30$	$8,65 \cdot 10^4 \pm 0,49$	$5,10 \cdot 10^4 \pm 0,42$	$5,10 \cdot 10^4 \pm 0,42$	$1,73 \cdot 10^2 \pm 1,18$	$2,5 \cdot 10^2 \pm 0,00$	$5,00 \cdot 10 \pm 1,00$	$2,5 \cdot 10 \pm 1,55$
27 ден	$2,15 \cdot 10^8 \pm 0,92$	$7,63 \cdot 10^4 \pm 0,40$	$5,75 \cdot 10^3 \pm 0,35$	$5,75 \cdot 10^4 \pm 0,35$	$1,90 \cdot 10^2 \pm 0,14$	$0,75 \cdot 10^1 \pm 0,75$	$1,25 \cdot 10 \pm 1,25$	-
31 ден	$3,36 \cdot 10^8 \pm 0,55$	$1,55 \cdot 10^5 \pm 0,35$	$1,7 \cdot 10^4 \pm 0,14$	$2,28 \cdot 10^5 \pm 3,34$	$2,67 \cdot 10^2 \pm 1,36$	-	$0,90 \cdot 10^3 \pm 0,90$	-
34 ден	$1,45 \cdot 10^8 \pm 0,07$	$5,90 \cdot 10^5 \pm 0,42$	$1,20 \cdot 10^5 \pm 0,14$	$1,25 \cdot 10^5 \pm 4,95$	-	-	-	-
38 ден	$1,47 \cdot 10^8 \pm 0,09$	$8,77 \cdot 10^4 \pm 0,67$	$9,53 \cdot 10^4 \pm 0,45$	$1,13 \cdot 10^4 \pm 0,15$	$1,20 \cdot 10^3 \pm 0,14$	-	$6,07 \cdot 10^2 \pm 0,25$	$0,25 \cdot 10^2 \pm 0,07$
41 ден	$1,50 \cdot 10^8 \pm 0,44$	$1,50 \cdot 10^4 \pm 0,28$	$5,45 \cdot 10^5 \pm 0,21$	$4,40 \cdot 10^4 \pm 0,14$	-	-	$5,00 \cdot 10 \pm 0,00$	-
45 ден	$2,03 \cdot 10^8 \pm 0,27$	$1,20 \cdot 10^5 \pm 0,14$	$3,70 \cdot 10^5 \pm 0,14$	$2,05 \cdot 10^4 \pm 0,21$	-	-	$1,35 \cdot 10^3 \pm 0,21$	-

* Средна стойност; ** Стандартно отклонение.

Таблица 2. Динамика на микроорганизми в биореактор при непрекъснат процес на метанова ферментация на птича торова постеля

Проба	Общ брой бактерии	<i>Enterococcus spp.</i>	Грам-отрицателни аероби, общ брой	<i>Pseudomonas spp.</i> , общ брой	<i>Staphylococcus spp.</i> , общ брой	<i>E. coli</i> , маркирани	<i>P. aeruginosa</i> , маркирани	<i>S. aureus</i> , маркирани
Преди прибавяне на маркирани бактерии	2,07.10 ^{9*} ± 0,87**	4,47.10 ⁵ ± 0,76	6,87.10 ⁴ ± 1,03	3,40.10 ⁴ ± 0,46	1,50.10 ⁵ ± 0,06	-	-	-
3 ден	3,70.10 ⁹ ± 1,35	3,20.10 ⁵ ± 1,22	3,27.10 ⁶ ± 1,54	9,70.10 ⁶ ± 0,45	3,63.10 ⁶ ± 1,01	4,40.10 ⁴ ± 2,12	1,27.10 ⁴ ± 0,23	7,85.10 ³ ± 0,21
5 ден	6,10.10 ⁷ ± 0,66	2,60.10 ⁵ ± 0,87	2,63.10 ⁴ ± 0,85	1,95.10 ⁵ ± 1,20	2,30.10 ⁵ ± 0,00	1,80.10 ³ ± 1,22	2,05.10 ⁴ ± 0,21	8,53.10 ² ± 1,82
7 ден	6,20.10 ⁵ ± 0,57	4,23.10 ⁵ ± 1,24	2,23.10 ⁴ ± 0,51	3,90.10 ⁴ ± 1,45	7,35.10 ⁵ ± 0,71	1,50.10 ³ ± 0,71	3,30.10 ⁴ ± 0,42	1,10.10 ² ± 0,10
10 ден	2,03.10 ⁵ ± 1,16	6,50.10 ⁴ ± 2,36	4,00.10 ⁴ ± 0,20	2,65.10 ³ ± 0,21	2,55.10 ³ ± 0,02	2,25.10 ² ± 0,35	4,23.10 ⁴ ± 0,25	-
14 ден	8,25.10 ⁶ ± 0,35	3,27.10 ⁴ ± 0,31	5,20.10 ⁴ ± 1,71	8,0.10 ³ ± 0,57	-	1,00.10 ² ± 0,00	6,60.10 ³ ± 0,57	-
21 ден	6,85.10 ⁷ ± 0,49	8,20.10 ⁴ ± 0,80	1,95.10 ⁵ ± 0,21	1,15.10 ⁴ ± 0,21	-	-	-	-

* Средна стойност; ** Стандартно отклонение

Това вероятно е свързано с въздействието на химичните фактори (киселини, алкохоли, газове), отделяни от целулозо-разграждащите и метанообразуващите микроорганизми. През последните дни на изследването обаче се откриват малки количества *P. aeruginosa*.

Резултатите от проведените изследвания при непрекъснатия процес на анаеробно разграждане на торова течност са представени на табл. 2. Както се вижда от обобщените данни, на 3-ия ден след прибавяне на маркираните бактерии се наблюдава статистически значимо ($P < 0,05$) нарастване на общото количество на микроорганизмите в биореактора. Това вероятно е в резултат на внасянето на тези бактерии в системата. Между 5-ия и 10-ия ден обаче се отчита постепенно и достоверно намаляване на общия брой на бактериите с около 2-4 log в сравнение с изходното количество ($P < 0,01$). През

последната седмица се установява нарастване на общото количество микроорганизми с 1-2 log, без обаче то да достига изходните стойности. Аналогично варира количеството на ентерококите и на микроорганизмите от останалите групи, което е най-ниско между 10-ия и 14-ия ден. Това е показател, че на този етап условията за факултативно-анаеробните микроорганизми са най-неблагоприятни поради натрупването на токсични за тях химични продукти в резултат на максималната по това време активност на метанообразуващите бактерии.

Подобни промени се наблюдават и в общия брой на Грам-отрицателните факултативно-анаеробни бактерии, на тези от род *Pseudomonas* и на стафилококите. След достоверно увеличение на 3-ия ден в резултат на внасянето на маркираните микроорганизми ($P < 0,01$), започва постепенно понижаване както на общото коли-

чество на съответните бактерии, така и на маркираните щамове. Това намаляване е силно изразено на 5-ия ден - с около 1-2 log, а между 10-ия и 14-ия ден количеството на микроорганизмите достига минимални стойности. Това е свързано с комплекс от фактори като ежедневното отнемане на биошлам (а с него и на бактерии), неблагоприятни условия в реактора и конкуренция между микроорганизмите. След това се отчита повишаване ($P < 0,05$). Вероятно то се дължи не само на добавяне на торова течност, но и на намножаване в биореактора поради намаляване на активността на метанообразуващите анаероби. Интересно е, че след 10-ия ден не се откриват стафилококи в биошлама.

Количеството на маркираните микроорганизми също постепенно намалява, като в последния етап от изследванията (21-ия ден) те не се установяват в крайния продукт. Най-бързо намаляват и изчезват маркираните *S. aureus* - още на 10-ия ден. Те демонстрират най-висока чувствителност към неблагоприятните условия в биореактора. Микроорганизмите от останалите два щамове показват минимални стойности на 14-ия ден, по-високи при устойчивия на химични въздействия *P. aeruginosa*. В същото време сапрофитните чревни бактерии и тези от род *Pseudomonas*, нормално съдържащи се в торовата постеля, са в по-голямо количество, вероятно поради ежедневното им внасяне с прибавяната в биореактора торова течност. Изследванията на Симеонов и сътр. (2007) показват, че натрупването на летливи мастни киселини има инхибиращо влияние върху метанообразуващите микроорганизми при анаеробно разграждане на птичи тор. Очевидно летливите мастни киселини оказват подобно въздействие и върху изследваните от нас микроорганизми и това е един от факторите за деконтаминацията на биошлама.

Получените резултати при непрекъснатия процес са в съответствие с предишни наши проучвания, извършени с по-високи концентрации (с по 2,5 log) на

внесените маркирани бактерии от тези групи (Popova et al., 2007). При сравнение на резултатите става ясно, че при по-малки концентрации на добавените в биореактора маркирани щамове се постига пълна деконтаминация. Получените данни дават основание да се допусне също, че вероятно неблагоприятните условия в биореактора възпрепятстват предаването на R-плазмиди между маркираните бактерии и останалите от съответните групи.

Деконтаминацията по отношение на изследваните аеробни и факултативно анаеробни бактерии в биореакторите очевидно е свързана с неблагоприятните за тяхната жизнена дейност условия, развиващи се в процеса на анаеробното разграждане на органичните вещества. В процеса на количествените изследвания обаче наблюдавахме и растеж на плесенни колонии. Отсъствието на кислород в биореактора възпрепятства тяхното развитие, но установяването им предполага наличие на предварително излъчени антибиотици в изходните материали, които могат да оказват потискащо действие върху изследваните бактерии в зависимост от индивидуалната им чувствителност. От друга страна анаеробните условия в биореактора благоприятстват развитието на метанообразуващите микроорганизми. При тяхното размножаване освен редица газове като метан, H_2 , CO_2 и H_2S , се образуват мравчена и оцетна киселина, мастни киселини, алкохоли и др. Техните концентрации се променят през различните биохимични етапи на хидролиза, ферментация, ацетогенеза и метаногенеза (Кенарова и Георгиев, 2007). Резултатите от нашите изследвания дават основание да считаме, че основно тези продукти оказват инхибиращо въздействие върху изследваните бактерии. Най-висока чувствителност към тях показват стафилококите. По-продължително се съхранява жизнеспособността на Грам-отрицателните бактерии, вероятно поради защитната роля на външната липопротеинова обвивка на техните клетки, която

липсва при Грам-положителните коки. Най-устойчиви при тези условия се оказват бактериите от род *Pseudomonas*. Те се отличават с по-високата си резистентност и адаптационни възможности към различни химични фактори в сравнение с останалите Грам-отрицателните бактерии. Фактът, че въпреки значителното понижаване на количеството им, отчетено около максимума на активността на анаеробните метанообразуващи микроорганизми през четвъртата седмица на анаеробния процес, малък брой *P. aeruginosa* се съхраняват и по-късно дори се намножават в известна степен, е указание за водещата роля на химичните фактори като основен елемент на междувидовата конкуренция в биореактора.

Слабото постепенно нарастване на количеството на бактериите от род *Pseudomonas* в крайните етапи на перио-

дично-доливния процес на анаеробно разграждане очевидно е свързано с намаляването на активността на метанообразуващите бактерии и отделяните от тях химични съединения, както и спадане на добива на метан. Макар че до края на изследването при периодично-доливния процес *P. aeruginosa* се запазват в ниски количества, при внасянето на биошлама в околната среда на единица площ ще попаднат единични бактерии от този вид в количества, които не могат да предизвикат инфекции и да представляват екологична опасност. В почвите тяхната жизнеспособност не е висока, особено при ниска влажност и въздействие на ултравиолетовите слънчеви лъчи. Това дава основание да се направи извода, че крайният биошлам може да се оцени като безопасен за внасяне в почвите от епитологична гледна точка.

Изводи

При периодично-доливния мезофилен режим на анаеробно разграждане в продължение на 21 дни се постига висока степен на микробна деконтаминация по отношение на патогенни микроорганизми. При този начин на ферментация не се стига до пълно обеззаразяване на тора единствено по отношение на устойчивите към химични въздействия бактерии от род *Pseudomonas*, които се запазват в много малки количества до края на процеса.

При непрекъснат мезофилен режим на анаеробно разграждане в продължение на 21 дни се постига пълна микробна деконтаминация по отношение на патогенни микроорганизми, когато изходната им концентрация не надвишава 105 CFU/ml от съдържанието на биореактора.

Литература

Кенарова, А., К. Георгиев. 2007. Микробиология и биохимия на метанообразуването. **Екологично инженерство и опазване на околната среда**, 2, 12-22

Петков, Г., Б. Байков. 1988. Екологизация на технологиите в животновъдството. БАН, София, 118-126

Симеонов, И., Й. Петков, Б. Байков, С. Михайлова, А. Мирков. 2006. Лабораторни изследвания на възможностите за получаването на биогаз от постелята от пилета - бройлери. **Екологично инженерство и опазване на околната среда**, 3-4, 88-97

Симеонов, И., С. Михайлова, А. Мирков, Й. Петков, Е. Чоруква. 2007. Проучване на биогаз от органични отпадъци в псевдохомогенни лабораторни биореактори. **Екологично инженерство и опазване на околната среда**, 2, 23-32

Тивчев, Г., Б. Байков, Н. Христова. 1986. Метановата ферментация и аеробните лагуни като възможности за инактивиране на патогенните микроорганизми в птици и говежди тор. Екологизация'85. Трети международен симпозиум по екологизация на технологиите в животновъдството. Белоградчик, 10 - 15 май

1985, Българска академия на науките, Единен център по биология, София, 196-199

Baykov, B., I. Popova, B. Zaharinov, K. Kirov, I. Simeonov. 2005. Assesment of the compost from the methane fermentation of litter from broiler production with a view to its utilization in organic plant production. ISAH, Warsaw, Poland, Vol. 2, 69-72

Philipp, W., K. Ade-Kappelmann, M. Drca, H. Lorenz, R. Bohm. 2005. New hygiene rules for biogas plants - revising German biowaste or-

dinance. ISAH, Warsaw, Poland, Vol. 2, 234-227

Popova, T., I. Popova, B. Baykov, Y. Petkov, B. Zaharinov, N. Marinova. 2007. Comparative hygiene assessment of technologies for organic manure utilization with high content of dry matter. 1. Reduction of pathogenic microorganisms in a continuous mesophilic process of anaerobic degradation. XIII International Congress in Animal Hygiene ISAH - 2007, June 17 - 21, Animal Health, Animal Welfare and Biosecurity, Tartu, Estonia, Proceedings, Volume 1, 549-552

Благодарности.

Настоящата разработка е финансирана от ФНИ в резултат на изпълнение на Договор Д 01-376/16.06.2006 /НТЕ-5-3/05/ за финансиране на научен проект "Изследване качествата на биошлама като естествен заместител на високоенергоемки изкуствени торове".