

Применение формалина для обработки навоза подстилки дойных коров

Потапов М.А., Фролов Д.И.

Аннотация. Проведены сравнительные исследования применения формалина в концентрациях 2% и 4% для обработки свежего и выдержанного навоза подстилки от дойных коров с целью обеззараживания. Для этого отслеживали изменение количества содержащихся в удобрении микроорганизмов, а также патогенных тест-штаммов *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus epidermidis*, отличающихся устойчивостью к гентамициновым и тетрациклиновым антибиотикам. Тест-бактерии вносились в количестве 105 КОЕ/г от их общего содержания. Установлено, что обработка формалином в двух тестируемых концентрациях 2% и 4% обеспечивает инактивацию патогенных тест-микроорганизмов и *Clostridium perfringens*, содержащихся в тестируемых образцах свежего и перепревшего навоза, даже через сутки. Инактивация кишечной палочки, обнаруженной в обеих пробах навоза, при обработке 2% формалином достигалась через 48 ч, а при концентрации 4% - только через 24 ч. В свежем навозе после обработки 4% формалином все микроорганизмы погибали через 96 ч, а в состаренном навозе - даже через 72 ч. Введение 2% формалина обеспечивает уничтожение всех микроорганизмов в свежем и выдержанном навозе крупного рогатого скота в течение 120 ч. Применение формалина в конечной концентрации 4% дает не намного лучшие результаты, чем удвоение наименьшей концентрации 2%, которая рекомендуется к использованию.

Ключевые слова: навоз, крупный рогатый скот, формалин, подстилка, обеззараживание.

Для цитирования: Потапов М.А., Фролов Д.И. Применение формалина для обработки навоза подстилки дойных коров // Инновационная техника и технология. 2022. Т. 9. № 4. С. 53–58.

The use of formalin for the treatment of bedding manure of dairy cows

Potapov M.A., Frolov D.I.

Abstract. Comparative studies have been carried out on the use of formalin at concentrations of 2% and 4% for the treatment of fresh and aged manure from litter from dairy cows for the purpose of disinfection. To do this, we monitored the change in the number of microorganisms contained in the fertilizer, as well as pathogenic test strains of *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis*, which are resistant to gentamicin and tetracycline antibiotics. Test bacteria were introduced in the amount of 105 CFU/g of their total content. It has been established that formalin treatment at two test concentrations of 2% and 4% ensures the inactivation of pathogenic test microorganisms and *Clostridium perfringens* contained in the tested samples of fresh and rotted manure, even after a day. Inactivation of *Escherichia coli* found in both manure samples was achieved after 48 hours when treated with 2% formalin, and only after 24 hours at a concentration of 4%. In fresh manure, after treatment with 4% formalin, all microorganisms died after 96 hours, and in aged manure - even after 72 hours. The introduction of 2% formalin ensures the destruction of all microorganisms in fresh and aged cattle manure within 120 hours. The use of formalin at a final concentration of 4% does not give much better results than doubling the lowest concentration of 2%, which is recommended for use..

Keywords: manure, cattle, formalin, bedding, disinfection.

For citation: Potapov M.A., Frolov D.I. The use of formalin for the treatment of bedding manure of dairy cows. Innovative Machinery and Technology [Innovatsionnaya tekhnika i tekhnologiya]. 2022. Vol. 9. No. 4. pp. 53–58. (In Russ.).

Введение

Содержание патогенных микроорганизмов в органических отходах животноводства препятствует их прямому использованию в качестве удобрения почвы без предварительной обработки и закрепления. Во избежание накопления большого количества таких отходов их переработка должна обеспечивать быстрое и безопасное обезвреживание, а также быть экономичной, удобной и экологически безопасной. Поиск средств и методов для этого является актуальным вопросом. По традиционным вариантам компостирования достигнуты хорошие результаты в этом направлении, но полное обезвреживание удобрений при этом занимает много времени [1]. Хорошим приемом компостирования является переработка срезанной ботвы лука, измельчение и разбрасывание ее по полю [5, 6]. Внесение некоторых химических веществ в качестве удобрений приводит к изменению pH почвы [7]. Накопления бобовыми культурами селена в зависимости от содержания, и оценка степени деградации почв на земельных участках сельскохозяйственного назначения в результате антропогенного воздействия свидетельствует об изменении почв [8, 9].

Формальдегид представляет собой химическое соединение, обладающее значительной активностью в отношении микроорганизмов и паразитов. При введении в высоких концентрациях его бактерицидное действие быстрое и надежное. Так как в этом случае он обладает коррозионно-токсичными свойствами, при использовании в соответствующих дозировках, он оказывает противомикробное действие без отрицательного воздействия на растения и свойства почвы [2].

Целью этих исследований было отслеживание выживаемости патогенных тест-микроорганизмов, завезенных в свежем и состаренном навозе крупного рогатого скота после обработки формалином в различных относительно невысоких концентрациях, с целью оценки возможности достижения бы-

строй и эффективной дезактивации с получением эпизоотиологически безопасных конечных продуктов.

Объекты и методы исследований

Исследовали свежий и выдержанный навоз молочных коров. В исследованиях использовали чистые культуры трех тест-штаммов патогенных бактерий: *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus epidermidis*. Они были выделены от животных с хроническими инфекциями и отобраны по полирезистентности *in vitro* к гентамицину и тетрациклинам (тетрациклину, доксициклину и окситетрациклину). Проведено дополнительное культивирование этих штаммов на питательных средах с антибиотиками из этих групп для выделения и использования в исследованиях ветвей, наиболее активно развивающихся в присутствии высоких концентраций этих антибиотиков.

Использовали селективные питательные среды с добавлением доксициклина (50 мкг/мл) и гентамицина (16 мкг/мл). Были выбраны агар с эозином и метиленовым синим для *Proteus vulgaris*, агар с цетримидом для *P. aeruginosa*. На этих средах другие бактерии не выращивали, кроме тест-штаммов, отобранных по устойчивости к указанным антибиотикам. Общее количество микроорганизмов в исследуемых материалах определяли на агаре без антибиотиков. Также отслеживали содержание и количество *Clostridium perfringens* на селективном агаре, а также *E. coli* и *Salmonella enterica* на эозин-метиленовом синем и агаре *Salmonella-Shigella*.

Количественное определение микроорганизмов проводили классическим методом в серийных (в 10 раз) возрастающих разведениях исследуемого материала в стерильном физиологическом растворе. Из этих разведений готовят культуры на выбранных средах с антибиотиками и без них, по три на каждую среду и разведение. После инкубации при 37°C в течение 24-72 ч в аэробных и анаэробных

Таблица 1 – Инактивация тест-организмов в свежем навозе крупного рогатого скота после обработки формалином в конечной концентрации 2% и 4%

Образец	Общее число	Кишечная палочка	<i>Clostridium perfringens</i>	Тестовый штамм <i>P.vulgaris</i>	Тестовый штамм <i>P.aeruginosa</i>	тестовый штамм <i>S.epidermidis</i>
0 ч	$3,2 \cdot 10^8$	$5,0 \cdot 10^4$	$3,8 \cdot 10^6$	1,105	1,105	1,105
24 ч	2%	$1,5 \cdot 10^6$	$2,0 \cdot 10^4$	0	0	0
	4%	$1,3 \cdot 10^6$	0	0	0	0
48 ч	2%	$1,9 \cdot 10^5$	0	0	0	0
	4%	$6,8 \cdot 10^4$	0	0	0	0
72 ч	2%	$1,10 \cdot 10^4$	0	0	0	0
	4%	$7,6 \cdot 10^3$	0	0	0	0
96 ч	2%	$0,9 \cdot 10^2$	0	0	0	0
	4%	0	0	0	0	0
120 ч	2%	0	0	0	0	0
	4%	0	0	0	0	0

условиях подсчитывали среднее арифметическое число развитых колоний и колониобразующие единицы. (КОЕ) в 1 г исходного материала.

Микроскопические исследования микроорганизмов проводили в иммерсионном режиме при 1000-кратном увеличении после окрашивания различными классическими методами материалов из разных культур на питательных средах [4].

После предварительного определения общего количества микроорганизмов и таковых исследуемых групп в свежем и перепревшем навозе крупного рогатого скота в каждый из них были завезены тест-штаммы в количестве 105 КОЕ/г общего удобрения. Каждая из них (свежая и выдержанная) была разделена на две группы: обработанные 2% формалином и обработанные 4% формалином. Исследуемые удобрения распределяли в стеклянную тару по 200 г, добавляли по 100 мл раствора формалина и смеси хорошо гомогенизировали. Образцы для количественного определения микроорганизмов брали с 24-часовыми интервалами в течение недели.

Статистический анализ результатов выполнен с использованием классического метода Стьюдента-Фишера [3].

Результаты

Результаты количественного изменения микроорганизмов в свежем навозе крупного рогатого скота после обработки формалином в конечных концентрациях 2% и 4% представлены в таблице 1.

В таблице также показано количественное определение обнаруженных в нем *E. coli* и *S. perfringens* до и после химического воздействия. Не обнаружено, что он содержит *Salmonella enterica*.

Полученные результаты показывают, что обработка формалином в применяемых концентрациях обеспечивает инактивацию патогенных микроорганизмов в опытном свежем навозе дойных коров даже через 24 часа. *Clostridium perfringens* также

погибали в течение 24 ч даже после обработки формалином низкой концентрации 2 %, в то время как для кишечной палочки при обработке 2 % формалином это достигается через 48. В течение 96 ч все микроорганизмы в свежем навозе крупного рогатого скота после при обработке 4% формалином погибали, а при использовании вдвое меньшей концентрации 2% - до 120 ч. Через 48 часов жизнеспособными остаются только бактерии рода *Bacillus*, что установлено благодаря культуральным и микроскопическим исследованиям.

Из таблицы 2 можно увидеть результаты наблюдения за количественными изменениями микроорганизмов в зрелом навозе крупного рогатого скота после обработки формалином в конечных концентрациях 2% и 4%. Обобщенные данные показывают, что, как и в свежем навозе, обработка формалином в применяемых концентрациях обеспечивает инактивацию патогенных микроорганизмов в опытно-состаренном навозе от дойных коров даже через 24 ч. Выявленные в материале *S. perfringens* также гибли в течение 24 ч даже после обработки формалином низкой концентрации 2%, тогда как для инактивации кишечной палочки при обработке 2% формалином требовалось 48 ч. После обработки 4% формалином все микроорганизмы погибли через 72 ч, а при введении в концентрации 2% полная деконтаминация достигается до 120 ч. Микроорганизмы, установленные через 48 часов, принадлежали только к роду *Bacillus*.

Результаты, представленные в таблицах, также показывают, что общее микробное содержание в перепревшем навозе выше, чем в свежем. Это касается также количества отслеживаемых видов бактерий *E. coli* и *S. perfringens*. Различия между общим количеством микроорганизмов в двух материалах были статистически значимыми ($P < 0,001$) и между количеством кишечной палочки ($P < 0,001$).

Из представленных данных видно, что быстрая и эффективная деконтаминация навоза крупного рогатого скота достигается при обработке форма-

Таблица 2 – Инактивация тест-организмов в созревшем навозе крупного рогатого скота после обработки формалином в конечной концентрации 2% и 4%

Образец	Общее число	Кишечная палочка	<i>Clostridium perfringens</i>	Тестовый штамм <i>P.vulgaris</i>	Тестовый штамм <i>P.aeruginosa</i>	Тестовый штамм <i>S.epidermidis</i>
0 ч	$3,4 \cdot 10^9$	$9,2 \cdot 10^5$	$4,3 \cdot 10^6$	1,105	1,105	1,105
24 ч	2%	$9,5 \cdot 10^5$	$4,0 \cdot 10^4$	0	0	0
	4%	$5,0 \cdot 10^5$	0	0	0	0
48 ч	2%	$8,5 \cdot 10^4$	0	0	0	0
	4%	$4,5 \cdot 10^4$	0	0	0	0
72 ч	2%	$1,3 \cdot 10^3$	0	0	0	0
	4%	0	0	0	0	0
96 ч	2%	$0,4 \cdot 10^2$	0	0	0	0
	4%	0	0	0	0	0
120 ч	2%	0	0	0	0	0
	4%	0	0	0	0	0

лином как в концентрации 4%, так и в концентрации 2%. Эти результаты применения обеих испытываемых концентраций были одинаковыми для обоих типов навоза крупного рогатого скота. Патогенные организмы погибали в течение 24 ч после введения высоких концентраций. При использовании двойной и более низкой концентрации 2% только *E. coli* требуется 48-часовой период для полной инактивации. По истечении этого срока жизнеспособными остаются только спорообразующие бактерии. Они представляют собой нормальную почвенную микрофлору и не представляют эпизоотологической опасности, за исключением *Bacillus anthracis*. Это позволяет использовать обработанные материалы в качестве удобрения еще через два дня.

Хотя в старом навозе содержание микроорганизмов, в том числе кишечной палочки, значительно выше, его обеззараживание 4% формалином достигается всего за 3 дня. Для свежего навоза для этой цели требуется 4 дня. При 2% концентрации полная инактивация всех микроорганизмов происходит в течение 5 дней в обоих видах удобрения.

Обсуждение

Обеззараживание удобрительного сырья и инактивация вирусов с помощью 2% - 4% 35-37% раствора формалина достигается в течение 4 дней при температуре выше 20°C. Другие исследователи рекомендуют значительно более высокую конечную концентрацию 10% формалина. Бесспорно, что при такой дозе обеззараживание будет очень быстрым и надежным. Но токсические свойства полученного продукта будут значительны и ограничат его использование в качестве удобрения. Наши исследования показывают, что даже в концентрации 2% формалин способен уничтожить микроорганизмы в навозе крупного рогатого скота в течение 5 дней.

Очевидно, что более низкая концентрация 2% формалина должна быть предпочтительнее при ис-

пользовании для обеззараживания подстилочного навоза. Это более экономичный и менее токсичный для окружающей среды вариант. Нет необходимости стремиться к быстрой переработке свежего навоза, потому что после его старения также достигаются очень быстрые и надежные результаты даже при использовании более низкой концентрации 2% формалина. Преимуществом обработки свежего навоза является возможность более легкой и полной гомогенизации материала раствором формальдегида.

Для проверки влияния еще более низких концентраций формальдегида при его применении для обеззараживания удобрений необходимы дальнейшие исследования. Если бы они были достаточно эффективны, то открыли бы возможности надежной, экологически безопасной и относительно быстрой утилизации отходов удобрений.

Выводы

Содержание микробов в перезревшем навозе крупного рогатого скота примерно на 1 л выше, чем в свежем навозе. Это относится и к *Escherichia coli*, тогда как количества *Clostridium perfringens* в обоих исследованных материалах сходны. Применение формалина в конечной концентрации 4% дает ненамного лучшие результаты, чем удвоенная наименьшая концентрация 2%. Оба варианта обеспечивают инактивацию патогенных тест-микроорганизмов и *C. perfringens* в свежем и выдержанном навозе дойных коров даже через 24 часа. Для инактивации кишечной палочки в свежем и выдержанном навозе крупного рогатого скота при обработке 2% формалином необходимо 48 ч, а при концентрации 4% - всего 24 ч. Применение формалина в концентрации 4% обеспечивает гибель всех микроорганизмов в состаренном навозе крупного рогатого скота в течение 3 сут, а в свежем - в течение 4 сут.

Литература

- [1] Mohee R., Soobhany N. Comparison of heavy metals content in compost against vermicompost of organic solid waste: Past and present // Resources, Conservation and Recycling. 2014. Vol. 92. Comparison of heavy metals content in compost against vermicompost of organic solid waste. P. 206–213.
- [2] Попов, Н. И. Дезинфекция: роль, значение и назначение при инфекционной патологии свиней / Н. И. Попов // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2012. – № 4(8). – С. 79–86. – EDN SYNRMF.
- [3] Фролов Д.И., Курочкин А.А., Потапов М.А. Экструдирование высоковлажных отходов птицеводства для получения удобрений // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. 2021. Т. 6. № 2. С. 18–24.

References

- [1] Mohee R., Soobhany N. Comparison of heavy metals content in compost against vermicompost of organic solid waste: Past and present // Resources, Conservation and Recycling. 2014. Vol. 92. Comparison of heavy metals content in compost against vermicompost of organic solid waste. P. 206–213.
- [2] Popov, N. I. Disinfection: role, significance and purpose in infectious pathology of pigs / N. I. Popov // Bulletin of the Omsk State Agrarian University. - 2012. - No. 4(8). - S. 79-86. – EDN SYNRMF.
- [3] Frolov D.I., Kurochkin A.A., Potapov M.A. Extrusion of high-moisture poultry waste to obtain fertilizers // Proceedings of the Samara State Agricultural Academy. 2021. V. 6. No. 2. S. 18–24.
- [4] Potapov M.A., Frolov D.I., Kurochkin A.A. Optimization of the number of holes in the matrix

- [4] Потапов М.А., Фролов Д.И., Курочкин А.А. Оптимизация количества отверстий в матрице одношнекового экструдера для переработки птичьего помета // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. 2020. Т. 5. № 4. С. 42–48.
- [5] Ларюшин, А. М. Совершенствование технологии уборки лука / А. М. Ларюшин, Н. П. Ларюшин, Д. И. Фролов // Труды Международного Форума по проблемам науки, техники и образования : В 2-х томах, Москва, 04–07 декабря 2007 года / под редакцией В. В. Вишневого. – Москва: Академия наук о Земле, 2007. – С. 17-18. – EDN UGAVCZ.
- [6] Фролов, Д. И. Анализ работы ботвоудаляющего рабочего органа с оптимизацией воздушного потока внутри кожуха / Д. И. Фролов // Инновационная техника и технология. – 2014. – № 4(1). – С. 30-35. – EDN TKIWUZ.
- [7] Шабьшев, Н. В. Изменение pH почвы при внесении безводного аммиака в качестве удобрения / Н. В. Шабьшев, Ю. В. Блинохватова, В. Н. Эркаев // Роль вузовской науки в решении проблем АПК : сборник статей Всероссийской (национальной) научно-практической конференции, посвященной 90-летию со дня рождения профессора Г.Б. Гальдина, Пенза, 24–25 октября 2018 года. Том I. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2018. – С. 161-164. – EDN YOXCXWH.
- [8] Накопления бобовыми культурами селена в зависимости от содержания его в почвах Пензенской области / В. А. Вихрева, А. А. Блинохватов, Ю. В. Блинохватова, С. В. Зиновьев // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. – 2014. – № 5(21). – С. 96-98. – EDN SYIUTF.
- [9] Оценка степени деградации почв на земельных участках сельскохозяйственного назначения в результате антропогенного воздействия / Н. П. Чекаев, Ю. В. Блинохватова, А. Ю. Кузнецов [и др.] // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. – 2018. – № 4(24). – С. 51-61. – DOI 10.21685/2307-9150-2018-4-6. – EDN YZQEUN.
- of a single-screw extruder for the processing of bird droppings. Proceedings of the Samara State Agricultural Academy. 2020. V. 5. No. 4. S. 42–48.
- [5] Laryushin, A. M. Improving the technology of onion harvesting / A. M. Laryushin, N. P. Laryushin, D. I. Frolov // Proceedings of the International Forum on Problems of Science, Technology and Education: In 2 volumes, Moscow, 04 -December 07, 2007 / edited by V. V. Vishnevsky. - Moscow: Academy of Sciences of the Earth, 2007. - P. 17-18. – EDN UGAVCZ.
- [6] Frolov, D. I. Analysis of the work of the haulm-removing working body with optimization of the air flow inside the casing / D. I. Frolov // Innovative technique and technology. - 2014. - No. 4(1). - pp. 30-35. – EDN TKIWUZ.
- [7] Shabyshv, N. V. Change in soil pH when anhydrous ammonia is applied as a fertilizer / N. V. Shabyshv, Yu. national) scientific and practical conference dedicated to the 90th anniversary of the birth of Professor G.B. Galdina, Penza, October 24–25, 2018. Volume I. - Penza: Penza State Agrarian University, 2018. - pp. 161-164. – EDN YOXCXWH.
- [8] Accumulation of selenium by legumes depending on its content in the soils of the Penza region / V. A. Vikhreva, A. A. Blinokhvato, Yu. - 2014. - No. 5 (21). - pp. 96-98. – EDN SYIUTF.
- [9] Assessment of the degree of soil degradation on agricultural land plots as a result of anthropogenic impact / N. P. Chekaev, Yu. Volga region. Natural Sciences. - 2018. - No. 4 (24). - pp. 51-61. – DOI 10.21685/2307-9150-2018-4-6. – EDN YZQEUN.

Сведения об авторах

Information about the authors

<p>Потапов Максим Александрович аспирант кафедры «Пищевые производства» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный технологический университет» 440045, Пенза, ул. Ульяновская, д. 36, кв. 37 Тел.: +7(962) 473-86-96 E-mail: makcpotapov@mail.ru</p>	<p>Potapov Maxim Alexandrovich postgraduate student of the department «Food productions» Penza State Technological University Phone: +7(962) 473-86-96 E-mail: makcpotapov@mail.ru</p>
<p>Фролов Дмитрий Иванович кандидат технических наук доцент кафедры «Пищевые производства» ФГБОУ ВО «Пензенский государственный технологический университет» 440039, г. Пенза, проезд Байдукова/ул. Гагарина, 1а/11 Тел.: +7(937) 408-35-28 E-mail: surr@bk.ru</p>	<p>Frolov Dmitriy Ivanovich PhD in Technical Sciences associate professor at the department of «Food productions» Penza State Technological University Phone: +7(937) 408-35-28 E-mail: surr@bk.ru</p>