Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 18, 3, 2015, (403-411)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

МИКРОЕЛЕМЕНТЕН СЪСТАВ НА СИРЕНЕ ОТ ПОРОДАТА БЪЛГАРСКО РОДОПСКО ГОВЕДО

Силвия Иванова[1], Димитър Гаджев[2*], Любомир Ангелов[1], Цонка Оджакова[2*]

[1]Институт по криобиология и хранителни технологии, бул. „Черни връх“ 53, 1407 София, България
[2]Опитна станция по животновъдство и земеделие-Смолян, ул. „Невястата“ 35, 4700 Смолян, България
**E-mail: kos_smolyan@abv.bg*

TRACE ELEMENT COMPOSITION OF CHEESE FROM BULGARIAN RHODOPE CATTLE BREED

Silviya Ivanova[1], Dimitar Gadjev[2*], Ljubomir Angelov[1], Tzonka Odjakova[2*]

[1] Institute of Cryobiology and Food Technologies, 53 Cherni vrah blvd., 1407 Sofia, Bulgaria
[2]Experimental Station of Stockbreeding and Agriculture-Smolyan, 35 Nevyastata Str., 4700 Smolyan, Bulgaria

РЕЗЮМЕ

Целта на настоящото проучване е да се изследва микроелементният състав на бяло саламурено сирене, произведено от краве мляко от породата Българско родопско говедо (порода за мляко) при пасищно хранене през периода май-юли в с. Борино.

Сирената са изследвани за микроелементите мед, цинк, желязо и манган. В хода на лактацията концентрацията на мед (от 0,49 до 0,29 mg/kg), цинк (от 27,98 до 19,08 mg/kg) и манган (от 1,66 до 0,22 mg/kg) намаляват в изследваните сирена, докато желязото варира и бележи най-висока концентрация през втория период – 5,98 mg/kg.

Ключови думи: сирене, Българско родопско говедо, микроелементи

SUMMARY

The objective of the present investigation was to study the trace element composition of white brine cheese from cow milk from Bulgarian Rhodope cattle breed (dairy breed) on the pasture feeding during the period May-July in village Borino.

The cheeses were evaluated for the trace elements copper, zinc, iron and manganese. In the period of lactation the concentration of copper (from 0,49 to 0,29 mg/kg), zinc (from 27,98 to 19,08 mg/kg) and manganese (from 1,66 to 0,22 mg/kg) decrease in the studied cheese, as long as the iron range and marks the highest concentration in the second period – 5,98 mg/kg.

Key words: cheese, Bulgarian Rhodope cattle, trace elements

УВОД

Производството на качествени млечни продукти зависи от състава и свойствата на изходната суровина. Млечни продукти са важен източник на минерални вещества, което се определя от условията на отглеждане, породата и хранителния ресурс. Технологичната обработка на млякото до млечни продукти също оказва влияние, поради загубата на минерални компоненти в суроватката. Микроелементите са изключително важни съставки на млякото, необходими за жизнената дейност на подрастващите индивиди и при храненето на човека, както и при последваща технологична обработка до млечни продукти.

Млякото и млечните продукти са важен източник на минерални соли в много европейски страни и представляват 10-20% от дневния прием. Съдържанието на макро- и микроелементите в млякото зависи от съдържанието им в почвата и фуражите за изхранване на преживните животни (Malbe et al., 2010).

Zamberlin et al., (2012) установяват в различни видове сирена съдържание на желязо от 0,1 до 0,8 mg/100g, цинк от 0,9 до 5,3 mg/100g, манган-следи и мед от следи до 0,07 mg/100g. Yılmaz (2012), установява в бялото краве сирене мед в диапазона от 1,2 до 6,4 mg/100g

INTRODUCTION

The production of high quality dairy products depends on the composition and properties of the feedstock. Dairy products are an important source of minerals, which are determined by the conditions of rearing, breed and feed. Technological treatment of milk to dairy products also affects due to the loss of mineral components in the whey.

The trace elements are essential constituents of milk necessary for the vital activity of adolescent subjects and human nutrition as well as in subsequent technological processing to dairy products.

Milk and dairy products are an important source of mineral salts in many European countries and represent 10-20% of the daily intake.

The content of macro- and microelements in milk depends on the content in the soil and feeding to ruminants (Malbe et al., 2010).

Zamberlin et al., (2012) found in different types of cheese iron content from 0,1 to 0,8 mg/100g, zinc from 0,9 to 5,3 mg/100g, manganese traces and copper traces to 0 07 mg/100g. Yılmaz (2012), established in the white cheese copper in the range from 1,2 to 6,4 mg/100g and zinc from

и цинк от 0,4 до 3,69 mg/100g. Mustafa et al. (2013), в краве сирене от различни райони в Судан откриват концентрация на манган от 0,3 до 0,13 mg/100g, цинк – 5,39 до 7,9 mg/100g и желязо от 0,34 до 0,77 mg/100g.

Целта на настоящото проучване е да се изследва микроелементният състав на бяло саламурено сирене, произведено от краве мляко от породата Българско родопско говедо (порода за мляко) при пасищно хранене през периода май-юли в с. Борино.

0,4 to 3,69 mg/100g. Mustafa et al. (2013), in the cheese from different regions in Sudan detected concentration of manganese from 0,3 to 0,13 mg/100g, zinc – 5,39 to 7,9 mg/100g and iron from 0, 34 to 0,77 mg/100g.

The objective of the present investigation was to study the trace element composition of white brine cheese from cow milk from Bulgarian Rhodope cattle breed (dairy breed) on the pasture feeding during the period May-July in village Borino.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Изследвани са 18 проби бяло саламурено сирене (3 х 6 проби), произведено от сборни проби крави млека (18 проби, 3 х 6 проби) по БДС 15-2010-Българско бяло саламурено сирене от породата Българско родопско говедо (порода за мляко), отглеждани на свободна паша в с. Борино през периода май-юли. Физикохимичният състав на млякото и сиренатa е извършен по стандартни методи:

- Водното съдържание-БДС 1109:1989, ISO 9622
- Сухо вещество - БДС 1109:1989, ISO 9622
- Общ белтък-ISO 9622, БДС EN ISO 8968-1:2002
- Мазнини-БДС EN ISO 1211:2002, ISO 9622
- Пепелно съдържание-БДС 6154:1974

MATERIAL AND METHODS

The investigated 18 samples white brined cheese (3 x 6 samples) produced from pooled samples of cow milk (18 samples, 3 x 6 samples) by BDS 15-2010-Bulgarian white brine cheese from the breed Bulgarian Rhodopean cattle (breed for milk), rearing on the grass pasture in the village Borino during the period April-July. The physicochemical composition of milk and white brined cheese were done by standard methods:

- Humidity - BCS 1109:1989, ISO 9622
- Total solids - BCS 1109:1989, ISO 9622
- Protein- BCS EN ISO 8968-1:2014
- Fat- BCS EN ISO 1211:2010,
- Ash- BCS 6154:1974

Минералният състав на млякото и бялото саламурено сирене от породата Българско родопско говедо е определен чрез сухо опепеляване на пробата и минерализирането ú в муфелна пещ при температура 450ºC в продължение на 72 часа. Пепелният остатък се разтваря с 6n HCl и се разрежда с бидестилирана вода до определен обем. Анализът на микроелементи е извършен на атомно-емисионен фотометър - AES-ICP ”Varian- Liberty II”, както следва: Cu - 324,75 nm, Zn-213,85 nm, Fe-259,94 nm и Mn-257,61 nm.

Получените данни са обработени статистически с програмен продукт Statistica for Windows 2010.

The mineral composition of the white brined cheese from the Bulgarian Rhodopean cattle breed was determined by dry ashing of the sample and its mineralization in a muffle furnace at 450ºC for 72 hours.

Ash residue was dissolved with 6n HCl and diluted with double distilled water to a certain volume. The analysis of the trace elements is made of atomic emission photometer - AES-ICP "Varian-Liberty II", as follows Cu - 324,75 nm, Zn - 213,85 nm, Fe - 259,94 nm и Mn- 257,61 nm.

The data obtained were processed statistically with software Statistic for Windows 2010.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Производството на качествено бяло саламурено сирене зависи от качеството на изходната суровина. Кравето мляко получено от Българско родопско говедо се характеризира със съдържание на мазнини в диапазона от 4,45 до 5,30 %, протени от 3,40 до 3,85%, лактоза от 4,13 до 4,84% и сухо вещество от 12,65 до 14,73% през пасищния период.

Бялото саламурено сирене е продукт с висока хранителна стойност и по-голяма трайност спрямо млякото, поради ниското съдържание на вода, наличието на млечна киселина и готварска

RESULTS AND DISCUSSION

Production of quality white brined cheese depends on the quality of raw material. Cow’s milk obtained from the Bulgarian Rhodopean cattle characterized by content of fat in the range from 4,45 to 5,30%, protein from 3,40 to 3,85%, lactose from 4,13 to 4,84 % and total solid 12,65 to 14,73 % during the free pasture grass period.

The white brined cheese is a product with high nutritional value and greater durability compared to milk, due to the low water content, the presence of lactic acid and common salt. The moisture in the

сол. Влагата в изследваните сирена варира от 46,89 до 56,04% и е важен показател за качеството на получения продукт. Пепелното съдържание е в диапазона от 7,91 до 12,13, което говори за различна степен на осоляване на произведените сирена. Протеинът нараства през разглеждания период, докато при мазнините се установява вариране (най-висока стойност през май - 22,57%), обусловени от съдържанието им в изходната субстанция (Таблица 1).

analyses cheese ranged from 46,89 to 56,04 % and is an important indicator of the quality of the product. The ash content ranged from 7,91 to 12,13, indicating a different degree of salting of cheese production. Protein increased during the period, while the fat is established variation (highest value in May to 22,57%) conditioned by their content in the starting substance (Table 1).

Таблица 1. Физикохимични параметри на бяло саламурено сирене от краве мляко от породата Българско родопско говедо
Table 1. Physicochemical components of white brined cheese from from cow's milk from the Bulgarian Rhodopes cattle breed

Бяло саламурено сирене, n=18 White brined cheese		Влага,% Humidity, %	СВ,% TS,%	Пепел,% Ash,%	Протеин, % Protein, %	Мазнини,% Fat, %
1 май	$\overline{X}$	52,22	43,78	7,31	9,32	15,95
1 May	*SD*	4,80	4,80	0,14	0,48	0,92
1 юни	$\overline{X}$	59,28	40,72	7,35	9,66	15,50
1 June	*SD*	1,19	1,19	0,07	0,63	5,09
1юли	$\overline{X}$	54,59	45,41	7,83	10,01	19,80
1 July	*SD*	2,28	2,28	0,28	0,94	2,83

Съдържанието на мед през пасищния период в кравето мляко от породата Българско родопско говедо варира в диапазона от 0,071 до 0,39 mg/l. Средно за периода концентрацията на мед в анализираните млека е 0,23 mg/l. Варирането в концентрацията са незначителни, поради което е установена ниска статистическа досто-

The copper content on the pasture grass period in cow's milk from the breed Bulgarian Rhodopean cattle ranges from 0,071 to 0,39 mg/l. Period average concentration of copper in the analysed milk is 0,23 mg/l. Varying the concentration is negligible, so that was a low statistical confidence during May and June and May and July (*P<0,05).

верност през месеците май и юни и май и юли (*P<0,05). Съгласно литературните данни медта в млякото варира от 0,27- 0,30 mg/l, следователно анали-зираните млека са добре обез-печени по отношение на микро-елемента мед през втория и третия период.

Количеството на цинка в млякото, зависи от неговото предлагане с хранителния ресурс през пасищния период. Концентрации на цинка над 4,0 mg/l се приема за нормално съдържание в хранителни изисквания. През разглеждания период (май-юли) нивата Zn варират от 3,54 до 4,48 mg/l. Средното му съдържание за разглеждания период е 4,11 mg/l. Манганът преминава в много ниски концентрации в млякото. Съдържанието му варира в тесни граници от 0,023 mg/l до 0,17 mg/l. Средното съдържание за изследвания период е 0,072 mg/l (Таблица 2).

According to literature data the copper in the milk ranged from 0,27 - 0,30 mg/l, therefore analysed milks are well secured in terms of trace elements copper during the second and third period.

The amount of zinc in the milk depends on its supply of food resource on the pasture grazing period.
Zinc concentrations over 4,0 mg/l is considered normal content in food requirements.
During the review period (May-July), Zn levels ranged from 3,54 to 4,48 mg/l. Its average content for a given period 4,11 mg/l. The manganese transferred in very low concentrations in milk. The content varies in a narrow range from 0,023 mg/l to 0,17 mg/l. The average content of the study period was 0,072 mg/l (Table 2).

Таблица 2. Съдържание на микроелементи (mg/l) в краве мляко от породата Българско родопско говедо
Table 2. Contents of trace elements (mg/l) in cow's milk from Bulgarian Rhodopes cattle breed

Елемент Element	1 май 1 May		1 юни 1 June		1 юли 1 July	
	$\overline{X}$	*SD*	$\overline{X}$	*SD*	$\overline{X}$	*SD*
Cu	0,071 a*,b*	0,04	0,24	0,02	0,39	0,08
Zn	4,48 b*	0,19	3,54 c*	0,14	4,3	0,12
Fe	0,66	0,29	0,21 c*	0,10	0,80	0,02
Mn	0,024 b***	0,002	0,023 c***	0,004	0,17	0,002

a - May/June, b - May/July, c - June/July, *P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001

Медта е есенциален елемент важен за усвояването

The copper is an essential element important for the

на желязото и е ко-фактор на ензимите в глюкозния метаболизъм и синтезата на хемоглобина, съединителната тъкан и фосфолипидите. Меден дефицит при хората се получава само при дълготраен глад.

Съдържанието на мед в изследваните бели саламурени сирена намалява от 0,49 mg/kg до 0,29 mg/kg. Установените изменения не са статистически достоверни.

Цинкът е важен микроелемент за растежа, сексуалното развитие, заразтването на рани, както и нормалното функциониране на имунната система и други физиологични процеси. Цинкът е компонент на хормона инсулин. Той е ко-фактор на много ензими, които са включени в повечето метаболитните процеси. Млечни продукти като мляко, сирене и кисело мляко са много важни в храненето на човека, но не са достатъчен източник на цинк. Цинкът в анализираните образци намалява от 27,98 до 19,08 mg/kg.

absorption of iron and is a cofactor of the enzyme in glucose metabolism and the synthesis of haemoglobin, connective tissue and phospholipids. Copper deficiency in humans occurs only in long-term hunger.

The copper content in the tested white brined cheese decreased from 0,49 mg/kg to 0,29 mg/kg. Identified changes were not statistically significant.

The zinc is an essential trace element for growth, sexual development, wound healing, and the normal functioning of the immune system and other physiological processes. Zinc is a component of the hormone insulin. It is a cofactor for many enzymes that are involved in most metabolic processes. Dairy products such as milk, cheese and yogurt are very important in human nutrition, but not a sufficient source of zinc. Zinc in the analysed sample was reduced from 27,98 to 19,08 mg/kg.

Таблица 3. Съдържание на микроелементи (mg/kg) в бяло саламурено сирене от краве мляко от породата Българско родопско говедо
Table 3. Contents of trace elements (mg/kg) in the white brined cheese from cow's milk from the Bulgarian Rhodopes cattle breed

Елемент Element	1 май 1 May		1 юни 1 June		1 юли 1 July	
	$\overline{X}$	*SD*	$\overline{X}$	*SD*	$\overline{X}$	*SD*
Cu	0,49	0,04	0,45	0,37	0,29	0,07
Zn	27,98	5,63	20,96	1,74	19,08	4,98
Fe	3,57	0,02	5,98	1,45	3,76	0,61
Mn	1,66	0,56	0,36 c*	0,02	0,23	0,01

a - May/June, b - May/July, c - June/July, *P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001

Желязото е важен микроелемент и участва като катализатор в някои метаболитни реакции. Като компонент на хемоглобина, миоглобина, цитохрома и други протеини, желязо играе важна роля в транспорта, съхранението и оползотворяване на кислорода. Също така е ко-фактор на много ензими. Млякото и млечните продукти са беден източник на желязо. Съдържанието на желязо в бялото саламурено сирене през лактационния период има променливи стойности. Количеството му е най-високо през месец юни-5,98 mg/kg и най-ниско през май - 3,57 mg/kg.

Манганът е важен микроелемент, който участва в метаболизма на въглехидратите, липидите и протеините. Манганът е специфичен ко-фактор за ензимите участващи в синтеза на мукополизахариди, и неспецифичен ко-фактор за много други ензими. Той се намира в значителни количества във всички храни. Неговият дефицит не е бил регистриран като причина за смущение или заболяване. Кравето мляко е бедно на манган. От 3 до 5% от общия хранителния прием на манган се абсорбира успешно, останалото количества се елиминират от тялото чрез изпражненията.

Концентрацията на манганът намалява през разглежда-

Iron is an essential trace element and is involved as a catalyst in certain metabolic reactions. As a component of haemoglobin, cytochromes, and other proteins, iron plays an important role in the transport, storage and utilization of oxygen. It is also a cofactor for many enzymes. Milk and milk products are a poor source of iron.

The iron content in the white brined cheese during the lactation has variables. The amount is the highest in June-5,98 mg/kg and the lowest in May - 3,57 mg/kg.

Manganese is an essential trace element that is involved in the metabolism of carbohydrates, lipids and proteins. Manganese is a specific cofactor for enzymes involved in the synthesis of mucopolysaccharides and non-specific cofactor for many enzymes. It is in significant amounts in all foods. Its deficiency has not been registered as a cause of disturbance or disease. Cow's milk is low in manganese. Of the total dietary intake of manganese absorbed successfully only from 3 to 5% of them the remainder is eliminated from the body through fecaes.

The concentration of manganese decreased over the

ния период от 1,66 до 0,23 mg/kg. Ниска статистическа достоверност е установена (*P<0,05) между сирената между втори и трети период (юни/юли).

period from 1,66 to 0,23 mg/kg. Low statistical reliability has been established (*P<0,05) between cheeses on the second and third period (June/July).

ИЗВОДИ

Въз основа на направените проучвания могат да се направят следните изводи:

В хода на лактацията концентрацията на мед (от 0,49 до 0,29 mg/kg), цинк (от 27,98 до 19,08 mg/kg) и манган (от 1,66 до 0,22 mg/kg) намаляват в изследваните сирена, докато желязото варира и бележи най-висока концентрация през втория период – 5,98 mg/kg.

CONCLUSIONS

Based on the studies can made the following conclusions:

In the course of lactation the concentration of copper (from 0,49 to 0,29 mg/kg), zinc (from 27,98 to 19,08 mg/kg) and manganese (from 1,66 to 0,22 mg/kg) decrease in the studied cheese, while the iron range and marks the highest concentration in the second period: 5,98 mg/kg.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1 **Malbe M., T. Otstavel, I. Kodis, A. Viitak.** 2010. Content of selected micro and macro elements in dairy cows'milk in Estonia. Agronomy Research, 8, II, 323-326.

2 **Mustafa W. A., A. M. E Sulieman, W. S Abdelgadir, E. A Elkhalifa.** 2013. Chemical Composition of the White Cheese Produced at Household Level in Dueim Area, White Nile State, Sudan. Journal of Food & Nutritional Disorders, 2, 2, 1-5, *1000108.*

3 **Yılmaz D. D.** 2012. Effect of feeding habits of cows on trace element contents of some dairy products. Karaelmas Science and Engineering Journal, 2, 2, 13-17.

4 **Zamberlin Š., N. Antunac, J. Havranek, D. Samaržija.** 2012. Mineral elements in milk and dairy products. Mljekarstvo, 62, 2, 111-125.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 18, 3, 2015, (412-425)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА СПОСОБНОСТТА ЗА КАПАЦИТАЦИЯ НА ФРАКЦИОННО ПОЛУЧЕНИ СПЕРМАТОЗОИДИ ОТ КУЧЕТА

Десислава Градинарска*, Мария Иванова-Кичева,
Деница Даскалова, Кирил Лазов, Михаил Червенков

Институт по биология и имунология на размножаването „Акад. Кирил Братанов“, Българска академия на науките, бул.Цариградско шосе 73, 1113 София, България
**E-mail: dessi_gr@abv.bg*

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE CAPACITATION ABILITY OF FRACTIONALY OBTAINED CANINE SPERMATOZOA

Desislava Gradinarska*, Maria Ivanova-Kicheva,
Denica Daskalova, Kiril Lazov, Mihail Chervenkov

*Institute of Biology and Immunology of Reproduction" Acad. Kiril Bratanov",
Bulgarian Academy of Sciences, 73 Tzarigradsko shose, 1113 Sofia, Bulgaria*

РЕЗЮМЕ

Нарастващият интерес към популациите сперматозоиди, намиращи се в различните спермални фракции, налага допълнителни изследвания по отношение методите за получаване на сперма и приложението им в практиката. Целта на настоящото изследване е да бъдат проучени различията в мотилитета и морфологията на фракционно получени кучешки сперматозоиди преди и след капацитация.

Еякулати от клинично здрави кучета от порода Кавказка овчарка (3-5 години) бяха получени на три фракции (Ф1, Ф2, Ф3). Всяка фракция беше разредена 1:1 с капацитационна среда. Мотилитетът на сперматозоидите беше определен чрез спермокомпютърен анализ (CASA). Морфологичният анализ беше извършен по метода на тройно оцветяване на акрозомата. Семинална плазма (СП) от всяка

SUMMARY

The growing interest in the populations of spermatozoa, present in the different sperm fractions, demands further research regarding the methods of semen collection and their practical application. The aim of this study is to define the differences in the motility and morphology of fractionaly obtained canine spermatozoa before and after capacitation.

Ejaculates from clinically healthy Caucasian shepherd dogs (3-5 years) were obtained in three fractions (F1, F2, and F3). Each fraction was diluted 1:1 with capacitation medium. Motility of the spermatozoa was evaluated by computer-assisted sperm analysis (CASA). Morphological analysis was performed by triple-stain method. Seminal plasma (SP) from each fraction was separated by centrifugation and characterized by High

фракция беше сепарирана чрез центрофугиране и характеризирана чрез Високоефективна течна хроматография (HPLC).

Началните показатели на средния прогресивен мотилитет на сперматозоидите са: 22.4% за Ф1, 55.8% за Ф2 и 38.2% за Ф3. Бързо подвижните сперматозоиди са 63.3% за Ф1, 55.3% за Ф2 и 39.4% за Ф3. След индуцирана капацитация, сперматозоидите от Ф1 и Ф3 показаха статистически значимо понижаване прогресивния мотилитет и на броя бързо подвижни сперматозоиди ($p<0.05$ за Ф1 и $p<0.01$ за Ф3), в сравнение с началните данни, докато такива тенденции не бяха установени при сперматозоидите от Ф2. Морфологичният анализ показа присъствие на голямо количество клетъчни елементи във Ф1 и по-ниска концентрация на сперматозоидите. Във Ф3 се установи увеличен брой сперматозоиди с цитоплазмени капчици до 30% и значително по-ниска концентрация. Наблюдава се тенденция за по-висок процент капацитирали сперматозоиди във Ф1 (81%) и Ф2 (87%), без достоверност на разликите при сравнение със сперматозоидите от Ф3 (69%). HPLC профилът на семинално плазмените протеини (СПП) от Ф1 и Ф2 демонстрира добре изразен пик на 7-ма минута, отговарящ на протеини с молекулно тегло (МТ) над 200 kDa. Такъв пик не се установява в профилът на СПП от Ф3.

Фракционното получаване на сперма от кучета позволява немеханично разделяне на различни популации сперматозоиди в зависимост от тяхната зрялост и биологичен потенциал. Сперматозоиди от Ф2 имат по-добре съхранени функционални параметри и капацитационна способност, което е критерий за тяхната оплодителна способност. Присъствието на специфична група протеини с МТ над 200 kDa в СП на Ф1 и Ф2 и липсата

Performance Liquid Chromatography (HPLC).

The initial average progressive motility of the spermatozoa was 22.4% for F1, 55.8% for F2 and 38.2% for F3. The spermatozoa with rapid velocity were 63.3% for F1, 55.3% for F2 and 39.4% for F3. After induced capacitation, the spermatozoa from F1 and F3 demonstrated statistically significant decrease in progressive motility and I the number of spermatozoa with rapid velocity (respectively $p<0.05$ for F1 and $p<0.01$ for F3) compared with the initial data, while such trends were not observed in the spermatozoa from F2. The morphological analysis showed the presence of large amounts of various cellular elements in F1 and lower concentration of the spermatozoa. F3 showed increased number of spermatozoa with cytoplasmic droplets to 30% and significantly lower sperm concentration. A tendency for higher percentage of capacitated spermatozoa was observed in F1 (81%) and F2 (87%) with no significant difference when compared to F3 (69%). The HPLC profile of the seminal plasma proteins (SPPs) from F1 and F2 demonstrated a well pronounced peak on the 7th minute, corresponding to proteins with molecular weight (MW) over 200 kDa. This peak was not detected in the SPP's profile of F3.

Fractional collection of canine semen allows non-mechanical separation of the different populations of spermatozoa depending on their maturity and biological potential. The spermatozoa in F2 possess better preserved functional parameters and capacitation ability, which is a criterion for their fertilization capacity.

The presence of a specific group of proteins with MW over 200 kDa in F1 and F2 and the lack of such proteins in F3

на такива протеини във Ф3 вероятно оказва ефект върху способността за капацитация на сперматозоидите чрез възможни взаимодействия с определени молекули от плазмената мембрана (ПМ), повлиявайки нейната ригидност.

Ключови думи: спермокомпютърен анализ, HPLC, куче, спермални фракции

likely has an effect on the capacitation ability of the spermatozoa through possible interactions with certain molecules from the plasma membrane (PM), affecting its rigidity.

Key words: CASA, HPLC, dogs, sperm fractions

УВОД

Практиката на отглеждане и развъждане на елитни разплодни животни от различни породи кучета доведе до усилено развитие на методите за криоконсервация и изкуствено осеменяване при този вид. В тази връзка нараства и интересът към популациите сперматозоиди, намиращи се в различните спермални фракции. Това налага допълнителни изследвания по отношение на методите за получаване на сперма и тяхното приложение за нуждите практиката.

Фракционираното получаване на сперма при нерез, жребец и куче може да се приложи като метод, който позволява сепариране на богатата на сперматозоиди фракция. Фракционирането на спермата също така позволява и естествено биологично разделяне на популациите сперматозоиди по зрялост и енергиен потенциал, което от своя страна е свързано с тяхната оплодителна способност.

В тази връзка, при проведени върху нерези изследвания е установено, че криотолерант-

INTRODUCTION

The practice of raising and breeding of elite dogs of various breeds led to intensive development of the methods for cryopreservation and artificial insemination in this species. In this regard, there is an increasing interest in the populations of spermatozoa present in the different semen fractions. This requires further research on the methods of semen collection and their application for the needs of the practice.

Fractional semen collection in boars, stallions and dogs can be applied as a method that allows separation of the sperm-rich fraction.

The ejaculate fractional obtainment also allows natural biological separation of the sperm populations by maturity and energy potential, which is related to their fertilization ability.

In this regard, studies conducted on boars found that the cryotolerance of the spermatozoa

ността на сперматозоидите е различна в зависимост от коя фракция на еякулата са получени (Pena et al., 2006). Установено е, че сперматозоидите от нерез, получени от първите 10 ml от богатата на сперматозоиди фракция, поставени в капацитиращи условия след размразяване, имат намален Ca^{2+} инфлукс. Авторите свързват това с по- голямата стабилност на ПМ на сперматозоидите (Sharoare Hossain et al., 2011).

Има данни, че съставът на електролитите и протеините в СП варира в различна степен в отделните фракции (Zhu et al., 2000). Известно е, че СП е важна за: поддържането на мотилитета на сперматозоидите при бик (Baas et al., 1983) и коч (Graham, 1994); за подобряването на преживяемостта на сперматозоиди от коч (Maxwell et al., 1997). СПП играят важна роля по отношение на мотилитета, качествените характеристики и активацията на различни сигнални пътища свързани със структурно-функционални промени протичащи в сперматозоидите след еякулация. Някои СПП участват в процеса на липидна модификация на ПМ на сперматозоидите при капацитацията (Manjunath, 1993; Manjunath, Therien, 2002). Други СПП оказват протективен ефект, който се изразява в предпазване на половите клетки от увреждащото

varies depending on the ejaculate fraction they were obtained (Pena et al., 2006).

It has been found that boar spermatozoa, obtained from the first 10 ml of the sperm-rich fraction, under capacitation conditions post-thaw had lower Ca^{2+}flow, which may explain their greater PM stability after cryopreservation (Sharoare Hossain et al., 2011).

There is evidence that the electrolyte and protein composition in the SP varies between the different fractions (Zhu et al., 2000). It is known that SP is important for: maintaining the motility of the spermatozoa from bull (Baas et al., 1983) and ram (Graham, 1994); improving the survival rate of ram spermatozoa (Maxwell et al., 1997). SPPs play an important role concerning the motility, quality characteristics and the activation of different signaling pathways associated with structural and functional changes occurring in the spermatozoa after ejaculation. Some SPPs participate in the process of lipid modification of the sperm PM during capacitation (Manjunath, 1993; Manjunath, Therien I., 2002).

Other SPPs have a protective effect on the sperm PM, which results in protection from the damaging effects of low

действие на ниските температури, както и от деструктивното въздействие на температурния шок (Barrios et al., 2000; Barrios et al., 2005). Предполага се, че прикрепянето на някои СПП към ПМ на сперматозоидите играе роля на т.нар „декапацитиращ фактор“. По този начин се забавя капацитацията и акрозомната реакция (Fraser et al., 1990). Killian et al. (1993) описват присъствието на т.нар. "fertility-associated proteins” в СП на бик, които са важни за оплодителната способност на сперматозоидите. Други автори твърдят, че протеини от СП оказват вреден ефект върху подвижността, преживяемостта и оцеляването на сперматозоидите след температурен шок (Iwamoto, 1993; Garcia and Graham, 1987).

При нерез, криотолерантността на сперматозоидите е по-добра при прилагането на СП от определени фракции, отколкото под въздействието на СП от целия еякулат (Diego V. Alkmin et al., 2014). Akcay et al. (2006) установяват при жребци, че СП получена от богатите на сперматозоиди фракции оказва по-негативно въздействие върху преживяемостта им при съхранение, отколкото СП от бедните на сперматозоиди фракции.

Тези противоречиви резултати показват, че СП е важен комплексен флуид, съдържащ разнообразни компоненти, които повлияват мотилитета и преживе-

temperatures, as well as from the destructive effects of cold shock (Barrios et al., 2000; Barrios et al., 2005). It is assumed that the attachment of some SPPs to the spermatozoa acts as a „decapacitation factor“, resulting in delay of the capacitation process and the acrosome reaction (Fraser et al., 1990).

Killian et al. (1993) describe the presence of so-called."fertility-associated proteins" in bull SP, which play an important role for the fertilization ability of the spermatozoa. Other authors claim that some SPPs have a harmful effect on the motility and survival rate of the sperm cells after cold shock (Iwamoto, 1993; Garcia and Graham, 1987).

In boars, implementing SP from selected fractions results in greater sperm cryotolerance, compared to SP obtained from the whole ejaculate (Diego V. Alkmin et al., 2014). Akcay et al. (2006) found in stallions that the SP, received from the sperm- rich fractions, has more harmful impact on the survival rate of the spermatozoa during storage, than SP obtained from the sperm- poor fractions.

These contradictory results demonstrate that SP is an important complex fluid comprising a variety of components that in different ways affect the survival

вяемостта на сперматозоидите по различни начини. (Куков, 2011). В допълнение на това, наличието на недостатъчните данни при кучетата насочи нашето внимание към въпроса за фракционираното получаване на сперма и ролята на СПП от различните фракции върху структурно-функционалния интегритет и протекция на сперматозоидите при този вид.

Целта на настоящото проучване е да се направи сравнителен анализ на различията в подвижността и морфологичното състояние на фракционно получени кучешки сперматозоиди преди и след капацитация. Направен е анализ на протеините, съдържащи се в отделните спермални фракции след хроматографско сепариране и характеризиране.

rate and motility of the spermatozoa (Куков, 2011). In addition, the insufficient data in dogs turned our attention to the matter of fractional semen collection and the role of the SPPs from the different fractions on the structural and functional integrity and protection of the spermatozoa in this species.

The objective of this study is to make a comparative analysis on the differences in motility and morphological status of fractionaly obtained canine spermatozoa, before and after capacitation. After chromatographic separation and characterization, analysis was made on the SPPs obtained form the different sperm fractions.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Получаване и инкубиране на сперма

Еякулати от клинично здрави кучета, порода Кавказка овчарка (3-5 години) бяха получени на три фракции (Ф1, Ф2, и Ф3) по метода на дигитална манипулация, без присъствие на кучка в еструс.

Всяка фракция беше разредена в съотношение 1:1 с кучешка капацитационна среда (CCM по Mahi и Yanagimachi (1978): 83.49 mM NaCl, 4.78 mM KCl, 1.71 mM $CaCl_2$.2H2O, 1.19 mM KH_2PO_4, 37.61 mM $NaHCO_3$,

MATERIAL AND METHODS

Collection and incubation of the sperm

Ejaculates from clinically healthy Caucasian shepherd dogs (3-5 years) were obtained in three fractions (F1, F2, and F3) using the method of digital manipulation, without the presence of a teaser bitch in oestrus.

Each fraction was diluted 1:1 with canine capacitation medium (CCM composition: 83.49 mM NaCl, 4.78 mM KCl, 1.71 mM CaCl2.2H2O, 1.19 mM KH2PO4, 37.61 mM NaHCO3, 0.25 mM Na pyruvate, 21.55 mM Na lactate

0.25 mM Na pyruvate, 21.55 mM Na lactate 60% сироп, 2.78 mM glucose, 0.4% BSA; pH 7.8; 305 mOsm).

За индуциране на *in vitro* капацитация, така разредената сперма беше инкубирана при 37°C и 5% CO_2 за 180 минути.

Компютърно-асистиран спермоанализ (CASA)

Подвижността и скоростните параметри на сперматозоидите бяха оценени чрез CASA System Sperm Class Analyzer® (Microptic®, Spain), аналитичен модул „Motility and concentration". Бяха използвани покривни стъкла с размери 18×18 mm и обем на капката 8 µl. Сперматозоидите от отделните фракции бяха оценени непосредствено след получаване на еякулатите и след капацитация на 180 минута.

Морфологичен анализ на сперматозоидите

Морфологичният анализ беше извършен по метода на тройно оцветяване на акрозомата. Натривки от всяка отделна спермална фракция бяха направени непосредствено след получаване на еакулатите и след изтичане на времето за капацитация. След предварителна фиксация, натривките бяха оцветени чрез прилагане на метод за диференциално оцветяване на акрозомата чрез последователно използване на следните бои: 0.5% воден разтвор на еозин за 6 минути, наситен воден разтвор на 60% syrup, 2.78 mM glucose, 0.4% BSA; pH 7.8; 305 mOsm (Mahi and Yanagimachi, 1978).

For the induction of *in vitro* capacitation the so diluted semen was incubated at 37°C and 5% CO_2 for 180 minutes.

Computer-assisted sperm analysis (CASA)

The motility and velocity of the spermatozoa were assessed by CASA System Sperm Class Analyzer® (Microptic®, Spain), „Motility and concentration" analytical module. Cover slides 18 x 18 mm and 8 µl drop volume were used. The spermatozoa from the separate fractions were evaluated immediately after ejaculation and after capacitation on the 180 minute.

Morphological analysis

Morphological analysis was performed by the method of triple-staining of the acrosome. Smears from each sperm fraction were made immediately after ejaculation and after the time needed for capacitation.

After a preliminary fixation, the slides were stained by the method for differential staining of the acrosome through consistent use of the following dyes: 0.5% aqueous solution of eosin for 6 minutes, saturated aqueous solution of kongorot for 5 minutes and 0.5% aqueous solution of

конгорот за 5 минути и 0.5 % воден разтвор на генцианвиолет за 3-5 секунди. След неколкократно промиване и изсушаване, всяка натривка беше оценявана чрез преброяване на 200 клетки.

Изолиране на семинална плазма

СП от отделните фракции беше изолирана от всички изследвани индивиди. Първоначалното центрофугиране беше извършено при 2 500 rpm на 4°C за 5 минути. Супернатантата беше внимателно отпипетирана и повторно центрофугирана при 10 000 rpm на 4°C за 10 минути.

Високоефективна течна хроматография (HPLC)

Характеризирането на СПП беше извършено чрез HPLC на двоична HPLC помпа 1525 с UV/vis детектор 2489 (Waters Company®), с помощта на семипрепаративна молекулно-ситова хроматографска колона TSK gel® G3000SW, 21mm x 300mm, 10 до 500 kDa (Tosoh Bioscience®).

Gel Filtration Markers Kit for Protein Molecular Weights 12,000-200,000 Da™ (Sigma-Aldrich®) беше използван за определяне на МТ.

Бяха използвани проби с обем от 1000 µl при 20 минути време за протичане на пробата и 6 ml/min скорост на потока.

Статистическата обработка на данните беше извършена по t-test на Student.

gentsianviolet for 3-5 seconds. After several washings and drying, each smear was evaluated by counting 200 spermatozoa.

Seminal plasma isolation

SP was isolated from all tested individuals. The initial centrifugation was performed at 2500 rpm at 4°C for 5 minutes. The supernatant was carefully collected and re-centrifuged at 10,000 rpm, 4°C for 10 min.

High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)

SPPs characterization was made by HPLC on Binary HPLC Pump 1525 with UV/Visible Detector 2489 (Waters Company®), using a semi-preparative size exclusion chromatographic column TSK gel® G3000SW, 21mm x 300mm, 10 to 500 kDa (Tosoh Bioscience®).

Gel Filtration Markers Kit for Protein Molecular Weights 12,000-200,000 Da™ (Sigma-Aldrich®) was used for MW determination.

Sample volume of 1000µl was applied, at 20 min run time and 6ml/min flow rate.

Statistical data processing was carried out by t-test of Student.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

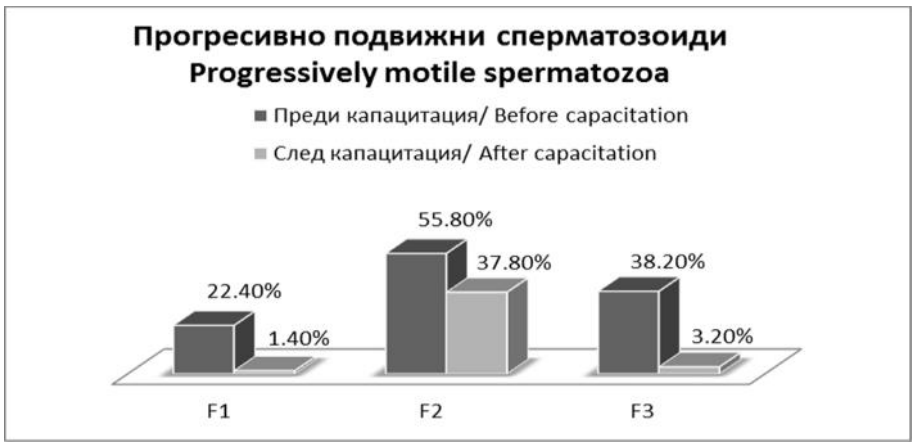
Подвижност и скоростни параметри преди и след капацитация

Първоначалният среден прогресивен мотилитет на сперматозоидите е 22,4 % за F1, 55.8 % за F2 и 38.2 % за F3 (Фигура 1). Бързоподвижните сперматозоиди са 63.3 % за F1, 55.3 % за F2 и 39.4 % за F3 (Фигура 2).

RESULTS AND DISCUSSION

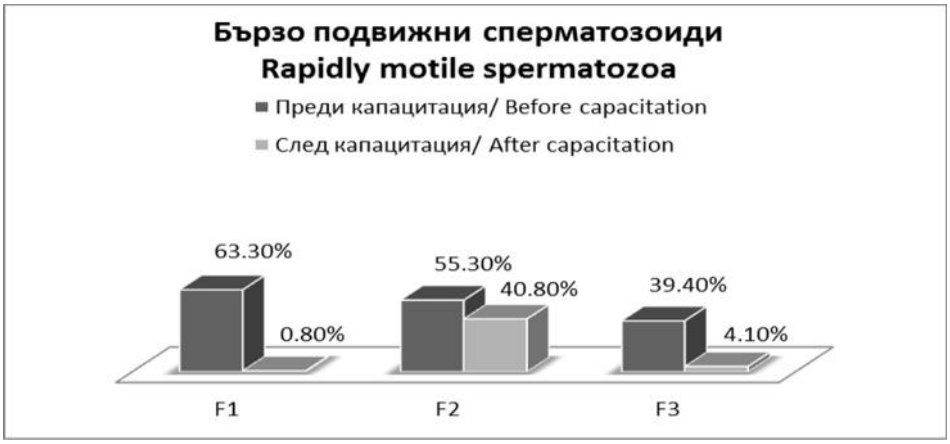
Motility and velocity parameters before and after capacitation

The initial average progressive motility of the spermatozoa was 22.4% for F1, 55.8% for F2 and 38.2% for F3 (Figure 1). The spermatozoa with rapid velocity were 63.3% for F1, 55.3% for F2 and 39.4% for F3 (Figure 2).



Фиг. 1. Процент на прогресивно подвижните сперматозоидите от отделните фракции преди и след капацитация

Fig. 1. Percentage of progressively motile spermatozoa from the different factions before and after capacitation



Фиг. 2. Процент на бързо подвижните сперматозоиди от отделните фракции преди и след капацитация

Fig. 2. Percentage of rapidly motile spermatozoa from the different factions before and after capacitation

След *in vitro* капацитация, F1 и F3 демонстрират статистически значимо намаляване на прогресивния мотилитет и бърза скорост (съответно $p < 0.05$ за F1 и $p < 0.01$ за F3) в сравнение с първоначалните данни, докато такива тенденции не са наблюдавани при F2. Статистически значимо запазване на процента на прогресивно подвижни сперматозоиди след капацитация е установен в F2, в сравнение с F1 и F3 ($p < 0.01$).

Морфологичен статус на сперматозоидите, преди и след капацитация

Морфологичният анализ показа наличие на големи количества разнородни клетъчни елементи във F1 и по-ниска концентрация на сперматозоидите, в сравнение с F2. F3 показа нарастване на броя на сперматозоидите с цитоплазмени капчици до 30 % и значително по-ниска концентрацията на спермата, в сравнение с другите фракции. По-висок процент на капацитирани сперматозоиди се наблюдава в F1 (81 %) и F2 (87 %) със значителна разлика в сравнение с F3 (69 %).

Сравнение на СПП профили на различните фракции

HPLC профилът на СПП от F1 демонстрира добре изразен пик на 7^{ма} минута (Фигура 3), който е по-нисък във F2 (Фигура 4) и почти отсъства във F3

After *in vitro* capacitation, F1 and F3 demonstrated statistically significant decrease in progressive motility and rapid velocity (respectively $p<0.05$ for F1 and $p<0.01$ for F3) when compared with the initial data, while such trends were not observed in F2. A statistically significant preservation of the percentage of progressively motile spermatozoa after capacitation is established in F2 compared to F1 and F3 ($p<0.01$).

Morphological status of the spermatozoa before and after capacitation

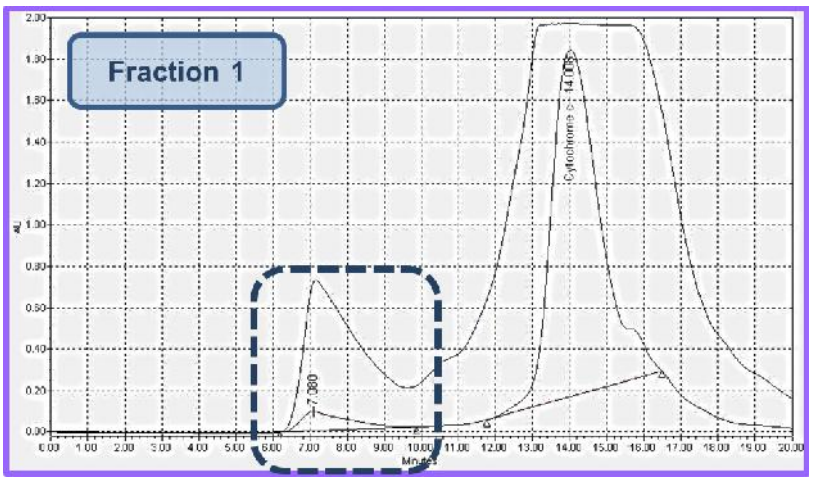
The morphological analysis showed the presence of large amounts of various cellular elements in F1 and lower concentration of the spermatozoa, compared to F2. F3 showed increased number of spermatozoa with cytoplasmic droplets to 30% and significantly lower sperm concentration compared to the other fractions. Higher percentage of capacitated spermatozoa was observed in F1 (81%) and F2 (87%) with no significant difference when compared to F3 (69%).

Comparative analysis between the SPP profiles of the different fractions

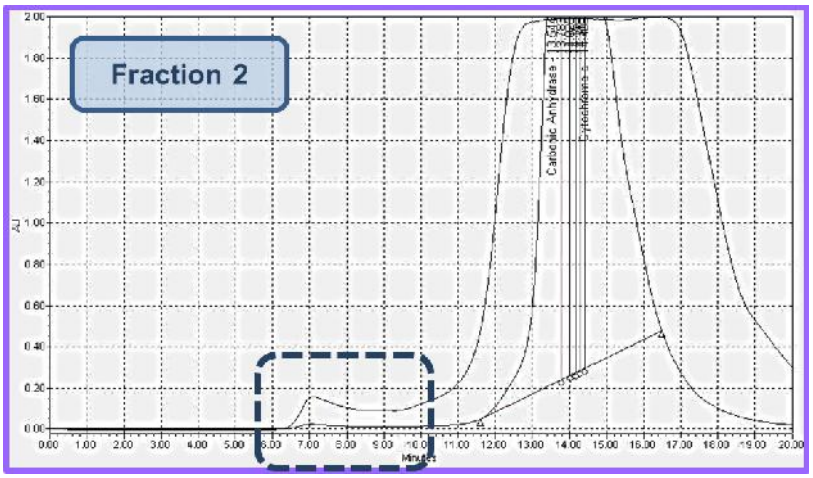
The HPLC profile of the SPPs from F1 demonstrated a well pronounced peak on the 7th minute (Figure 3), which is lower in F2 (Figure 4) and almost absent in F3

(Фигура 5). Този пик съдържа протеини с МТ над 200 kDa. Нашата хипотеза е, че тези СПП взаимодействат с определени молекули от ПМ, засягащи нейния интегритет и капацита-ционна способност. Наличието на този пик може да се използва като критерий за оплодителна способност на сперматозоидите.

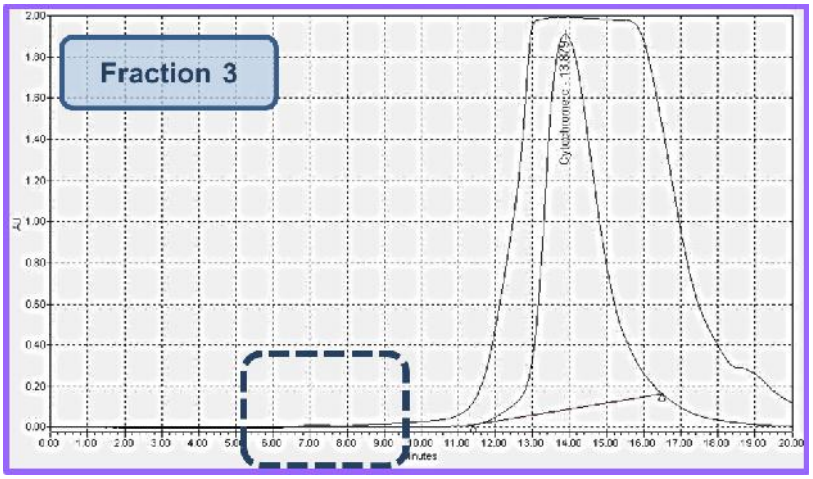
(Figure 5). This peak contains proteins with MW over 200 kDa. Our hypothesis is that these SPPs interact with certain molecules from the PM, affecting its integrity and capacitation ability. The presence of this peak may be used as a criterion for spermatozoal fertilization ability.



Фиг. 3. HPLC профил на СПП от Ф1
Fig. 3. HPLC profile of the SPPs in F1



Фиг. 4. HPLC профил на СПП от Ф2
Fig. 4. HPLC profile of the SPPs in F2



Фиг. 5. HPLC профил на СПП от Ф3
Fig. 5. HPLC profile of the SPPs in F3

Във F2 пикът между 11та и 16та минута показа значително по-високо количество на СПП (60-10 kDa), в сравнение с F1 и F3, където количеството на протеините е ниска в F3.

In F2 the peak between 11th and 16th minute showed significantly higher quantity of SPPs (60-10 kDa), compared to F1 and F3, where the quantity of proteins is lowest in F3.

ИЗВОДИ

Фракционното получаване на семенна течност при кучета позволява немеханично разделяне на различните популации сперматозоиди в зависимост от тяхната зрялост и биологичен потенциал. Сперматозоидите във F2 притежават по-добри функционални параметри и капацитационна способност от тези във F1 и F3. Наличието на определена група СПП с МТ над 200 kDa във F1 и F2 и липсата на тези протеини в F3 влияе върху капацитационната способност на сперматозоидите.

CONCLUSIONS

Fractional collection of canine semen allows non-mechanical separation of the different populations of spermatozoa depending on their maturity and biological potential. The spermatozoa in F2 possess better functional parameters and capacitation ability than those in F1 and F3. The presence of a specific group of proteins with MW over 200 kDa in F1 and F2 and the lack of such proteins in F3 affects the capacitation ability of the spermatozoa.

БЛАГОДАРНОСТИ

Тази работа е осъществена с подкрепата на Договор №BG051PO001-3.3.06-0059, финансиран от Европейския социален фонд и Оперативна програма Развитие на човешките ресурси (2007-2013) и съфинансирана от Министерството на образованието и науката в Република България.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the grant №BG051PO001-3.3.06-0059, financed by the European Social Fund and Operational Programme Human Resources Development (2007-2013) and co-financed by Bulgarian Ministry of Education and Science.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Куков А.** 2011. Изследване ролята на селектирани спермално плазмени белтъци при *in vitro* съхранение на сперматозоиди от коч. Дисертационен труд за придобиване на образователна и научна степен „Доктор".

2. **Akcay E, Reilas T, Andersson M, Katila T.** 2006. Effect of seminal plasma fractions on stallion sperm survival after cooled storage. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med. 2006 Nov;53(9):481-5.

3. **Baas JW, Molan PC, Shannon P.** 1983. Factors in seminal plasma of bulls that affect the viability and motility of spermatozoa. J Reprod Fertil. 1983 68:275–280.

4. **Barrios B., Marta Fernández-Juan, Teresa Muiño-Blanco and José A. Cebrián-Pérez.** 2005. Immunocytochemical Localization and Biochemical Characterization of Two Seminal Plasma Proteins That Protect Ram Spermatozoa against Cold Shock. Journal of Andrology. 2005 26:4.

5. **Barrios B., Perez-Pe R, Gallego M, Tato A, Osada J, Muino-Blanco T, Cebrian-Perez JA.** 2000. Seminal plasma proteins revert the cold-shock damage on ram sperm membrane. Biol Reprod. 2000 63:1531–1537.

6. **Diego V. Alkmin, Cristina Perez-Patiño, Isabel Barranco, Inmaculada Parrilla, Juan M. Vazquez, Emilio A. Martinez, Heriberto Rodriguez-Martinez, Jordi Roca.** 2014. Boar sperm cryosurvival is better after exposure to seminal plasma from selected fractions than to those from entire ejaculate. Cryobiology 69 (2014) 203–210.

7. **F.J. Pena, F. Saravia, I. Nunez-Martınez, A. Johannisson, M. Wallgren, H. Rodriguez Martinez.** 2006. Do different portions of the boar ejaculate vary in their ability to sustain cryopreservation? Animal Reproduction Science 93 (2006) 101–113.

8. **Fraser LR, R.A.P.Harrison and Jane E.Herod.** 1990. Characterization of a decapacitation factor associated with epididymal mouse spermatozoa. J Reprod fert 1990 89, 135-148.

9. **García MA., Graham EF.** 1987. Dialysis of bovine semen and its effects on fresh and freeze-thawed spermatozoa. Cryobiology. 1987 24:446–454.

10. **Graham J.K.** 1994. Effect of seminal plasma on the motility of epididymal and ejaculated spermatozoa of the ram and bull during the cryopreservation process. Theriogenology Volume 41, Issue 5, 1994, Pages 1151–1162.

11. **Iwamoto T., Tanaka H, Osada T, Shinagawa T, Osamura Y, Gagnon C.** 1993. Origin of a sperm motility inhibitor from boar seminal plasma. Mol Reprod Dev. 1993 36:475–481.

12. **Killian G.J., Chapman DA, Rogowski LA.** 1993. Fertility-associated proteins in holstein bull seminal plasma. Biol Reprod. 1993 49:1202–1207.

13. **Manjunath P., L. Chandonnet, E. Leblond, L. Desnoyers.** 1993. Major proteins of bovine seminal vesicles bind to spermatozoa. Biol Reprod. 1993 49:27–37.

14. **Manjunath P., Therien I.** 2002. Role of seminal plasma phospholipid - binding proteins in sperm membrane lipid modification that occurs during capacitation. Journal of Reproductive Immunology. 2002 53(1): 109-119

15. **Maxwell WMC, Welch GR, Johnson LA.** 1997. Viability and membrane integrity of spermatozoa after dilution and flow cytometric sorting in the presence or absence of seminal plasma. Reprod Fertil Dev.1997 8:1165–1178.

16. **Md. Sharoare Hossaina, Anders Johannissona, Amanda Pimenta Siqueira, Margareta Wallgren, Heriberto Rodriguez-Martinez.** 2011. Spermatozoa in the sperm-peak-fraction of the boar ejaculate show a lower flow of Ca2+ under capacitation conditions post-thaw which might account for their higher membrane stability after cryopreservation. Animal Reproduction Science 128 (2011) 37–44.

17. **Zhu J., Xu, X., Cosgrove, J.R., Foxcroft, G.R.** 2000. Effects of semen plasmafrom different fractions of individual ejaculates on IVF in pigs. Theriogenology 54, 1443–1452.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 18, 3, 2015, (426-433)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

МИКРОБИОЛОГИЧНА ОЦЕНКА НА РЕКА ВАЛБОНА (АЛБАНИЯ) ПРЕЗ ЛЕТНИЯ СЕЗОН

Рам Корточи[1], Кемал Куртеши[2*]

[1]Магистърска програма, Катедра по биология, Факултет по естествени науки, Университет на Прищина, 10000 Прищина, Косово
[2]Катедра по биология, Факултет по естествени науки, Университет на Прищина, 10000 Прищина, Косово
**E-mail: kemajlkurteshi@yahoo.com*

MICROBIOLOGICAL ESTIMATION OF WATER OF RIVER VALBONA (ALBANIA), DURING SUMMER SEASON

Ram Kortoçi[1], Kemajl Kurteshi[2*]

[1]Master Study, Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Prishtina, 10000 Prishtina, Kosovo
[2]Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Prishtina, 10000 Prishtina, Kosovo

РЕЗЮМЕ

Основната цел на настоящето изследване е оценка на водата чрез микробиологичен анализ, чрез бактерии, като например: общи колиформи, фекални стрептококи, хетеротрофни бактерии, салмонела и шигела и гъбички. Проучването е извършено през летния сезон на 2013.

Въз основа на получените резултати, правим следните заключения: водата на река Валбона не е силно замърсена от бактерии във всички местоположения. Голям брой от всички микроорганизми е регистриран на всички местоположения. Въз основа на колиформните бактерии според системата на Тъмплинг, водата на река Валбона попада във втори клас замърсяване. Следователно водата трябва да бъде обработена преди да стане годна за пиене.

Проби от микробиологичните

SUMMARY

The main objective of this study is estimation of water by microbiological analysis, through bacteria such as: total coliform, streptococcus faecalis, heterotrophic bacteria, salmonella and shigella, and fungi. The study is done during summer season, 2013 year,

According to the obtain results led us to conclude: The waters of water of river “Valbona ” it is not high polluted by bacteria at all locality. Registered the low number of all microorganism, at all locality. On base of coliform bacteria according to Tumpling system the waters of “Valbona” river belongs at second class of pollution. The waters will therefore need to be treated, before it will be fit for drinking.

Samples for microbiological

анализи са събрани от четири местоположения по поречието на реката.

Ключови думи: лято, микробиологичен, анализ, вода, река, Валбона

analyses are collected in four localities along the river.

Keywords: summer, microbiological, analysis, water, river, Valbona

УВОД

Източниците на питейна вода включват потоци, кладенци, реки и езера основно в селата. Потоците, реките и езерата, които са източник на питейна вода се използват като място за изхвърляне на отпадни води. Обичайните източници на питейна вода са потоците, реки, кладенци и сондажи, които като цяло не са обработени и са свързани с различни опасности за здравето (Okonko et al., 2008a, b). Водата предоставя основни елементи, но когато е замърсена може да стане нежелана субстанция опасна за човешкото здраве (Karavoltsos et al., 2008).

Според Shittu et al. (2008), водата е жизненоважна на нашето съществуване и нейното значение в ежедневния ни живот задължава да се извършват цялостни микробиологични и физико-химични изследвания. Качеството на водата влияе върху здравословното състояние на всеки човек, следователно, анализите на физическите, биологични и химически свойства, включително съдържанието на микроелементи, са много важни за изследванията на общественото здраве (Shalom et al., 2011).

INTRODUCTION

Sources of drinking water include streams, wells, rivers and lakes mostly in villages. The streams, rivers and lakes which are sources of drinking water are use as sewage disposal site. The usual sources of drinking water are the streams, rivers, well and boreholes which are mostly untreated and associated with various health risks (Okonko et al., 2008a, b). Water provides essential elements, but when polluted it may become undesirable substance dangerous to human health (Karavoltsos et al., 2008).

According to Shittu et al. (2008), water is vital to our existence in life and its importance in our daily life makes it imperative that thorough microbiological and physico-chemical examinations be conducted on water. The quality of water influence the health status of any populace, hence, analysis of for physical, biological and chemical properties including trace element contents are very important for public health studies (Shalom et al., 2011).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Пробите за анализа са събрани в двулитрови стерилни поливинил хлоридни (PVC) пластмасови бутилки от четири (4) определени пункта за проби по река Валбона.

Пробите са събрани от четири местоположения. Водните проби са събрани за физико-химичен и микробиологичен анализ.

Пробите са събрани през деня в 9.00, 12.00, от всеки един от пунктовете за проби. Целта на събирането на проби е да се събере материал с достатъчно малък обем за да бъде транспортиран удобно до и в лаборатория, докато въпреки това точно представлява материала, от който е взета проба. Методът за запазване при съхранение е замразяване.

Водните проби са анализирани за физико-химичното си и микробиологично качество, а химическите характеристики (НТВ, проводимост, pH, соленост) са определени с дигитална апаратура HANC.

Бактеорологичен анализ

При изолирането на бактерии са използвани хранителен агар за хетеротрофни бактерии, жлъчно-ескулинов агар за *Streptococcus faecalis*, виолетово червен агар за колиформни бактерии, SS агар за салмонела

MATERIAL AND METHODS

The samples for this analysis were collected with two-litre sterile polyvinyl chloride (PVC) plastic water bottles from four (4) designated sampling point in river Valbona.

These samples were collected from four localities. The water samples were collected for both physiochemical and microbiological analysis.

Samples were collected during the day at 9.00 am, 12.00 pm, from each sampling station. The objective of the sampling was to collect a portion of material small enough in volume to be conveniently transported to lab, while still accurately representing the material being sampled. The preservation method for storage was refrigeration.

Water samples were analysed for physiochemical and microbiological quality and chemical characteristic (TDS, conductivity, pH, salinity) were determined by digital apparatuses HACH.

Bacteriological Analysis

In the bacteria isolation, nutrient agar for heterotrophic bacteria, bile aesculin agar for *Streptococcus faecalis*, Violet red agar for total coliform bacteria, SS agar for salmonela and shigella, sabouraud agar for fungi, were

и шигела, сабуро агар за гъби. Всяка среда е подготвена и стерилизирана както е посочено от производителя.

used. All media were prepared and sterilized as instructed by manufacturer.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Резултатите от настоящето изследване са представени в Таблица 1. Както е посочено в таблицата, по-високият брой на хетеротрофни бактерии е отчетен в местоположение четири с 240 cfu/10 ml вода. Малък брой хетеротрофни бактерии е регистриран в първото местоположение (78 cfu/10 ml вода). При второто и третото местоположение са регистрирани други стойности на бактерии (190 и 230 cfu/10 ml вода).

По-високият брой на общи колиформни бактерии е отчетен в четвъртото местоположение, 101 cfu/10 ml вода. Десет пъти по-ниско съдържание на общи колиформни бактерии е отчетено на първото местоположение (10 cfu10 ml вода) в сравнение с четвъртото местоположение. При второто и третото местоположение са регистрирани други стойности на бактерии (84 и 89 cfu/10 ml вода).

По-високият брой на бактерии *Streptococcus faecalis* са регистриран в местоположение четири (4), 284 cfu/10 ml вода. Малък брой бактерии *Streptococcus faecalis* са регистрирани във второто местоположение (10 cfu /10 ml вода). При

RESULTS AND DISCUSSION

Results of this investigation are presented at Table 1. As it show at table the higher number of heterotrophic bacteria is registered at locality four by 240 cfu /10 ml water. The low number of heterotrophic bacteria is registered in first locality (78/10 cfu / 10 ml water). While at second and third locality are registered this value of bacteria (190 and 230 cfu / 10 ml water).

The higher number of total coliform bacteria is registered at fourth locality, 101 cfu/10 ml water. Tenfold lower, of total coliform bacteria, is registered at first locality (10 cfu /10 ml water) compared with fourth locality. While at second and third locality are registered this value of bacteria (84 and 89 cfu / 10 ml water).

The higher number of Streptococcus faecalis bacteria is registered at locality (4) four, 284 cfu /10 ml water. The low number of *Streptococcus faecalis* bacteria is registered in second locality (10 cfu /10 ml water). While at second and third locality are registered this

второто и третото местоположение са регистрирани други стойности на бактерии (119 и 260 cfu/10 ml вода).

По-високият брой на SS бактерии е отчетен в четвъртото местоположение, 89 cfu/10 ml вода. Малък брой SS бактерии е регистриран в първото местоположение (9 cfu /10 ml вода). При второто и третото местоположение са регистрирани други стойности на бактерии (33 и 32 cfu/10 ml вода).

По-високият брой на гъби е отчетен в четвъртото местоположение, 119 cfu/10 ml вода. Малък брой гъби е регистриран в първото местоположение (3 cfu/10 ml вода). При второто и третото местоположение са регистрирани други стойности на гъби (10 и 109 cfu/10 ml вода).

value of bacteria (119 and 260 cfu/10 ml water).

The higher number of SS bacteria is registered at fourth locality, 89 cfu /10 ml water. The low number of SS bacteria is registered in first locality (9 cfu /10 ml water). While at second and third locality are registered this value of bacteria (33 and 32 cfu / 10 ml water).

The higher number of fungi is registered at fourth locality, 119 cfu /10 ml water. The low number of fungi is registered in first locality (3 cfu /10 ml water). While at second and third locality are registered this value of fungi (10 and 109 cfu / 10 ml water).

Таблица 1. Микробиологичен анализ на водите на река Валбона през летния сезон на 2013
Table 1. Microbiological analysis of waters of river Valbona during summer season 2013

Бактерии/Group of bacteria	Количество на проби Amount of samples	Местоположения/Locality			
		1	2	3	4
Хетеротрофни Heterotrophic bacteria	10ml	78	190	230	240
Общи колиформни бактерии Total coliform bacteria	10ml	10	84	89	101
Стрептококи Streptococcus faecalis	10ml	10	119	260	284
SS	10ml	9	33	32	89
Гъби/Fungi	10ml	3	10	109	119

Присъствието на колиформи в тези водни проби (Таблица 1) като цяло предполага, че определена проба от вода може

The presence of coliforms in these water samples (Table 1) generally suggests that a certain selection of water may have been

би е била замърсена или с човешки или животински фекалии (Okonko et al., 2008a). Може да присъстват и други по-опасни микроорганизми (Richman, 1997).

В настоящето изследване, температурата варира от 7.2 до 12.3 ^{o}C. Тези данни са подобни на отчетените от Okonko et al. (2008a). Счита се, че водоемите се повлияват от силата на слънчевата светлина като температурата се покачва от 28-30 ^{o}C при сравнително горещи дни (Mulusky, 1974).

Стойностите на проводимост варират от 208 (второ местоположение) до 241 (първо местоположение).

Нивото на общите неразтворени твърди вещества (НТВ) на река Валбона е малко по-високо, в такъв случай всички са в границите на препоръчания интервал от 500 и повече. Отчетени стойности на НТВ са 97.6 (по-ниски на второто местоположение) до 113 при първото местоположение, докато при третото и четвърто местоположение са 101.3 и 104.5. Стойностите на соленост са 0/1-0.2.

pH стойностите на водните проби са доста алкални като варират от 8.2 до 8.22.

Стойностите на кислород варират от 5.6 (четвърто местоположение) до 7.9 (първо и второ местоположение).

contaminated with faeces either of human or animal origin (Okonko et al., 2008a). Other more dangerous microorganisms could be present (Richman, 1997).

In this study, the temperature ranged from 7.2 to 12.3 ^{o}C. This is similar to what was reported by Okonko et al. (2008a). The water body is believed to have been influenced by the intensity of the sunlight as temperature rose from 28 – 30 ^{o}C on relatively hot days (Mulusky, 1974).

Values of conductivity ranged 208 (second locality) till 241(first locality).

The level of total dissolve solids (TDS) of river Valbona is slightly higher, then, all of them are within the recommended range 500 and above.

Registered values of TDS are 97.6 (the lower at second locality) till 113 at first locality, while at the third and four locality are 101.3 and 104.5. Salinity values are 0/1-0.2.

The pH values of the water samples were quite alkaline in values range from 8.2 to 8.22.

The oxygen values are ranged from 5.6 (fourth locality) to 7.9 (first and second locality).

Таблица 2. Физико-химически характеристики на водата на река Валбона през летен сезон 2013
Table 2. Physico-chemical parameters of waters of river Valbona during summer season 2013

Физико-химически характеристики Physico-chemical parameters	Местоположение/Locality			
	1	2	3	4
Температура/Temperature, ^{o}C	7.2 ^{o}C	8.8 ^{o}C	10.5 ^{o}C	12.3 ^{o}C
Проводимост/Conductivity, ms/c	241	208	214	220
НТВ/TDS	113	97.6	101.3	104.5
соленост/SAL	0.2	0.1	0.1	0.1
pH	8.07	8.22	8.07	8.2
O_2	7.9	6.4	6	5.6

ИЗВОДИ

Въз основа на получените резултати, ние може да направим заключение, че водите на река Валбона не са по-силно замърсени.

В заключение, водата на река Валбона е замърсена. Това се дължи на безразборното изхвърляне на фекални отпадъци, птичи изпражнения и отпадни води от свински кочини. Присъствието на салмонела и шигела, както и на други чревни микроорганизми се нуждае от сериозно обмисляне. Налага се обучение на жителите във връзка с опасността от техните действия относно начина, по който се изхвърлят отпадните води и свързани болести, които съпътстват подобни действия.

CONCLUSIONS

Based on obtained results we can conclude that the waters of river Valbona it is not higher contaminated.

In summary, the water of river in Valbona is contaminated. This is due to the indiscriminate disposal of their faecal wastes, poultries droppings and piggery wastes. And the presence of Salmonella and Shigella, and other enteric microrganisms call for serious concern. Education of the inhabitants on the danger of their act in respect to the way sewage is disposed and related diseases that accompany the act is therefore advocated.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **Karavoltsosa, S., Sakellaria, A., Mihopoulosb, N., Dassenakisa, M., Scoullosa, M.J.** 2008. Evaluation of the quality of drinking water in regions of Greece. Desalination, 224, 317–329

2. **Mulusky DS.** 1974. Ecology of Estuaries. Heinemann Educational Books, London, pp. 5- 103.

3. **Okonko IO, OgunnusiTA, Adejoye OD, Shittu OB.** 2008a. Microbiological and Physicochemical Analysis of Different Water Samples Use for Domestic Purposes in Abeokuta, Ogun State and Ojota, Lagos State, Nigeria. African Journal of Biotechnology [AJB] 7 (5):617-621.

4. **Okonko IO, Ogunjobi AA, Adejoye OD, Ogunnusi TA, Olasogba MC.** 2008b. Comparative studies and Microbial risk assessment of different water samples used for processing frozen sea-foods in Ijora-olopa, Lagos State, Nigeria. African Journal of Biotechnology [AJB] 7(16):2902-2907.

5. **Richman M.** 1997. Industrial Water Pollution, Wastewater 5(2): 24-29 Tebutt THY (1983). Principles of Quality Control. Pergamon, England, p. 235.

6. **Shittu, O. B., Olaitan, J.O., and Amusa, T.S.** 2008. Physico–chemical and Bacteriological Analysis of Water Used for Drinking and Swimming Purpose in Abeokuta, Nigeria. African Journal of Biomedical Research, vol.11; 285 -290

7. **Shalom, N.C., Obinna, C.N., Adetayo, Y.O. and Vivienne, N.E.** 2011. Assessment of water quality in Canaan Land, Ota, Southwest Nigeria. Agricultural and Biological Journal of North America, 2(4):577-583.

Journal of Mountain Agriculture on the Balkans, vol. 18, 3, 2015, (434-441)
Research Institute of Mountain Stockbreeding and Agriculture, Troyan

МИКРОБИОЛОГИЧЕН АНАЛИЗ НА РЕКА ВАЛБОНА (АЛБАНИЯ) ПРЕЗ ЕСЕННИЯ СЕЗОН

Рам Корточи[1], Кемал Куртеши[2*]

[1]Магистърска програма, Катедра по биология, Факултет по естествени науки, Университет на Прищина, 10000 Прищина, Косово
[2]Катедра по биология, Факултет по естествени науки, Университет на Прищина, 10000 Прищина, Косово
**E-mail: kemajlkurteshi@yahoo.com*

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS OF RIVER VALBONA (ALBANIA), DURING AUTUMN SEASON

Ram Kortoçi[1], Kemajl Kurteshi[2]*

[1]Master Study, Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Prishtina, 10000 Prishtina, Kosovo
[2]Department of Biology, Faculty of Natural Science, University of Prishtina[1], 10000 Prishtina, Kosovo

РЕЗЮМЕ

Целта на настоящето изследване е да оцени качеството на водата на река Валбона през есенния сезон на 2013, чрез микробиологичен анализ. Река Валбона е разположена в североизточната част на Албания, в близост до град Байрам Цури Проби от микробиологичните анализи са събрани от четири местоположения по поречието на реката.

Въз основа на получените резултати, правим следните заключения: водата на река Валбона не е силно замърсена от бактерии във всички местоположения. Голям брой от всички микроорганизми е регистриран на всички местоположения. Въз основа на колиформните бактерии според системата на Тъмплинг, водата на река Валбона попада в диапазона на втори клас замърсяване.

Ключови думи: есен, микробиологичен, анализ, вода, река, Валбона

SUMMARY

The objective of this study is to assess the quality of water, of the river Valbona during autumn season, 2013 year, through the microbiological analysis. River Valbona located in north - east part of Albania, who passes nearby the city Bajram Curri. Samples for microbiological analyses are collected in four localities along the river.

Based on achieving results led us to conclude: The waters of water of river “Valbona” it is not high polluted by bacteria at all localities. Registered the low number of all microorganism, at all locality. On base of coliform bacteria according to Tumpling system the waters of “Valbona” river belongs at second class of pollution.

Key words: autumn, micro-biological, analysis, water, river, Valbona

УВОД

В идеалния случай, питейната вода не би трябвало да съдържа никакви микроорганизми, които са патогенни или никакви бактерии показващи фекално замърсяване. Установяването на индикатор като фекални бактерии в питейната вода предоставя много чувствителен метод за качествена оценка, тъй като не е възможно да се изследва водата за всеки възможен патоген (WHO, 1993).

Осигуряването на добро качество питейна вода е основен фактор за гарантиране на общественото здраве, защитата на околната среда и устойчивото развитие (Ranjini et al., 2010). Водата с добро питейно качество е от основно значение за човешката физиология и съществуването на човека зависи много от нейното наличие (Lemikanra, 1999; FAO, 1997). Предоставянето на преносима вода до населението в села и градове е необходимо за да се предотвратят опасностите за здравето свързани с лошата питейна вода (Nikoladze and Akastal 1989; Lemo, 2002). Значителен процент от населението по света използва преносима вода за питейни, готварски, лични и хигиенни домашни нужди (WHO, 2004).

INTRODUCTION

Ideally, drinking water should not contain any microorganisms known to be pathogenic or any bacteria indicative of faecal pollution. Detection of faecal indicator bacteria in drinking water provides a very sensitive method of quality assessment and it is not possible to examine water for every possible pathogen that might be present (WHO, 1993).

The ensuring of good quality drinking water is a basic factor in guaranteeing public health, the protection of the environment and sustainable development (Ranjini et al., 2010). Water of good drinking quality is of basic importance to human physiology and man's continued existence depends very much on its availability (Lemikanra, 1999; FAO, 1997).

The provision of portable water to rural and urban population is necessary to prevent health hazards associated with poor drinking water (Nikoladze and Akastal 1989; Lemo, 2002).

A significant proportion of the world's population use potable water for drinking, cooking, personal and home hygiene (WHO, 2004).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Пробите за анализа са събрани в двулитрови стерилни

MATERIAL AND METHODS

The samples for this analysis were collected with two-litre sterile

поливинил хлоридни (PVC) пластмасови бутилки от четири (4) определени пункта за проби по река Валбона.

Пробите са събрани от четири местоположения. Водните проби са събрани за физико-химичен и микробиологичен анализ.

Пробите са събрани през деня в 9.00, 12.00, от всеки един от пунктовете за проби. Целта на взимането на проби е да се събере материал с достатъчно малък обем за да бъде транспортиран удобно до и в лаборатория, като въпреки това точно представлява материала, от който е взета проба. Методът за запазване при съхранение е замразяване.

Водните проби са анализирани за физико-химичното си и микробиологично качество, и химически характеристики (НТВ, проводимост, pH, соленост) са определени с дигитална апаратура HANC.

Бактеорологичен анализ

При изолирането на бактерии са използвани хранителен агар за хетеротрофни бактерии, жлъчно-ескулинов агар за *Streptococcus faecalis*, виолетово червен агар за колиформни бактерии, SS агар за салмонела и шигела, сабуро агар за гъби. Всяка среда е подготвена и стерилизирана както е посочено от производителя.

polyvinyl chloride (PVC) plastic water bottles from four (4) designated sampling point in river Valbona.

These samples were collected from four localities. The water samples were collected for both physiochemical and microbiological analysis.

Samples were collected during the day at 9.00 am, 12.00 pm, from each sampling station. The objective of the sampling was to collect a portion of material small enough in volume to be conveniently transported to and in lab, while still accurately representing the material being sampled. The preservation method for storage was refrigeration.

Water samples were analysed for physiochemical and microbiological quality and chemical characteristic (TDS, conductivity, pH, salinity) were determined by digital aparature HACH.

Bacteriological Analysis

In the bacteria isolation, nutrient agar for heterotrophic bacteria, bile aesculin agar for Streptococcus faecalis, Violet red agar for total coliform bacteria, SS agar for salmonela and shigella, saborud agar for fungi, were used.

All media were prepared and sterilized as instructed by manufacturer.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Основната цел на настоящето изследване е оценка на качеството на водата от четири различни местоположения на река Валбона. Най-големият брой на хетеротрофни бактерии е регистриран в местоположение четири (4), с 88 cfu /10 ml вода. Малък брой хетеротрофни бактерии е регистриран в първото местоположение (61 cfu/10 ml вода). При второто и третото местоположение са регистрирани други стойности на бактерии (67 и 78 cfu/10 ml вода).

По-високият брой на общи колиформни бактерии е регистриран в местоположение четири (4), 38 cfu/10 ml вода. Малък брой общи колиформни бактерии е регистриран във второто местоположение (20 cfu/10 ml вода). При първо и трето местоположение са регистрирани други стойности на бактерии (21 и 32 cfu/10 ml вода).

По-високият брой на бактерии *Streptococcus faecalis* е регистриран в местоположение четири (4), 71 cfu/10 ml вода. Малък брой бактерии *Streptococcus faecalis* е регистриран в първото местоположение (24 cfu/10 ml вода). При второто и третото местоположение са регистрирани други стойности на бактерии (26 и 29 cfu/10 ml вода).

По-високият брой SS бактерии е регистриран в местоположение четири (4), 32 cfu/10 ml вода. Малък брой SS бактерии е

RESULTS AND DISCUSSION

The main objective of this study was evaluation of quality of water from four different localities at river Valbona. The higher number of heterotrophic bacteria is registered at locality (4) four by 88 cfu/10 ml water.

The low number of heterotrophic bacteria is registered in first locality (61 cfu/10 cfu ml water). While at second and third locality are registered this value of bacteria (67 and 78 cfu/10 ml water).

The higher number of total coliform bacteria is registred at locality (4) four, 38 cfu /10 ml water. The low number of total coliform bacteria is registered in second locality (20 cfu/10 ml water). While at first and third locality are registered this value of bacteria (21 and 32 cfu/10 ml water).

The higher number of Streptococcus faecalis bacteria is registered at locality (4) four, 71 cfu/10 ml water. The low number of Streptococcus faecalis bacteria is registered in first locality (24 cfu/10 ml water). While at second and third locality are registered this value of bacteria (26 and 29 cfu/10 ml water).

The higher number of SS bacteria is registered at locality (4) four, 32 cfu/10 ml water. The low number of SS bacteria is

регистриран във второто местоположение (21 cfu/10 ml вода). При първо и трето местоположение са регистрирани други стойности на бактерии (22 и 27 cfu/10 ml вода).

По-високият брой на гъби е регистриран в местоположение четири, 25 cfu/10 ml вода. Малък брой гъби е регистриран в първото местоположение (6 cfu /10 ml вода). При второто и третото местоположение са регистрирани други стойности на гъби (8 и 12 cfu/10 ml вода).

registered in second locality (21 cfu/10 ml water). While at first and third locality are registered this value of bacteria (22 and 27 cfu/10 ml water).

The higher number of fungi is registered at locality four, 25 cfu/10 ml water. The low number of fungi is registered in first locality (6 cfu/10 ml water). While at second and third locality are registered this value of fungi (8 and 12 cfu/10 ml water).

Таблица 1. Микробиологичен анализ на водите на река Валбона през есента на 2013

Table 1. Microbiological analysis of waters of river Valbona during autumn season 2013

Бактерии/Group of bacteria	Количество проби Amount of samples	Местоположение/Locality			
		1	2	3	4
Хетеротрофни бактерии Heterotrophic bacteria	10 ml	61	67	78	88
Общи колиформни бактерии Total coliform bacteria	10 ml	21	20	32	38
Стрептококи Streptococcus faecalis	10 ml	24	26	29	71
SS	10 ml	22	21	27	32
Гъби/Fungi	10 ml	6	8	12	25

В доклада на Edama et al. (2001) се посочва, че наличието на храсти и шубраци около водоемите прави възможно и вероятно хора да дойдат до водата и да пият, като в същото време освободят фекалии във водния поток.

В Таблица 2 са посочени физико-химическите характеристики на водата на река Валбона.

Нивото на неразтворените твърди вещества (НТВ) в река Валбона е малко по-високо,

The report of Edama et al. (2001) which indicates that the presence of bushes and shrubs around water bodies makes it likely and possible that some individuals may have been coming around to drink water thereby passing out faeces into the stream water.

At Table 2 we present the physico-chemical parameters of waters of river Valbona.

The level of total dissolved solids (TDS) of river Valbona is

освен това всички са в границите на препоръчания диапазон 500 и нагоре. НТВ може да повлияе на качеството на водата, да възпрепятства прането на дрехи и да предизвика ръждясване на водопроводните системи. Стойности на НТВ варират от 111.3 (второ местоположение) до 131.4 (четвърто местоположение).

Диапазонът на pH от 8.3-8.5 (местоположение 3 и 4) може да се счита, че е в рамките на приемливия обсег за естествена вода, с изключение на отклонение отчетено за изкуствена подземна вода (сондаж) със стойност от 5.7 pH

Според Medera et al. (1982), pH а повечето естествени води варира от 6.5-8.5, което е отклонение от неутралното 7.0 като резултат на равновесието CO_2/бикарбонат.

Река Валбона не показва по-високи температурни стойности от 5.3 ^oC на третото местоположение и 7.5 ^oC на второто местоположение, което може да се дължи.

slightly higher, then, all of them are within the recommended range 500 and above.

TDS may affect the aesthetic Quality of water, interfered with washing clothes and corroding plumbing fixtures.
Values of TDS ranged from 111.3 (second locality) till 131.4 (fourth locality).

The pH range of 8.3-8.5 (for locality 3 and 4) could be considered as being within the acceptable range for natural water, except a deviation recorded for the artificial underground water (borehole) with pH value of 5.7.

According to Medera et al. (1982) the pH of most natural water range from 6.5-8.5 which is a deviation from neutral 7.0 as a result of the CO2/bicarbonate equilibrium.

The river Valbona have no higher values of temperature 5.3 ^oC at third locality and 7.5 ^oC at second locality, which may be due to low intensity of sunlight.

Таблица 2: Физико-химически характеристики на водата на река Валбона през есента на 2013
Table 2: Physico-chemical parameters of waters of river Valbona during autumn season 2013

Физико-химически характеристики Physico-chemical parameters	Местоположение/Locality			
	1	2	3	4
Температура/Temperature	7 ^oC	7.5 ^oC	5.3 ^oC	6.5 ^oC
Проводимост/Conductivity	248	238	267	282
НТВ/TDS	116.8	111.3	124.2	131.4
Соленост/SAL	0.2	0.2	0.2	0.2
Ph	8.4	8.4	8.3	8.5
O_2	7.3	7	8	6

ИЗВОДИ

1. Безопасната питейна вода за всички хора е едно най-големите предизвикателства на 21-и век.

2. Микробиологичният контрол на питейната вода трябва да бъде извършван по правило навсякъде.

3. Трябва да бъде извършван редовен микробиологичен анализ на питейната вода като се прави проба за наличие на *Escherichia coli* чрез култури. Он-лайн наблюдението на глюкоронидазната активност в момента е твърде чувствителна за да се замени откриването на *E. Coli* чрез култура, но е ценно допълнително средство за временно наблюдение с висока резолюция.

4. Винаги когато са налични финансови ресурси, трябва да се извършва определяне на колиформите чрез количествено определяне на ентерококи.

5. Необходими са допълнителни изследвания за да се провери дали амонякът е надежден за предварителен анализ при спешно замърсяване с фекалии.

6. Финансовите средства трябва да са предназначени за по-добро разбиране на екологията и характеристиката на човешките и животински бактерии във водите в природата.

CONCLUSIONS

1. Safe drinking water for all is one of the major challenges of the 21st century.

2. Microbiological control of drinking water should be the norm everywhere.

3. Routine basic microbiological analysis of drinking water should be carried out by assaying the presence of *Escherichia coli* by the culture methods. On-line monitoring of glucuronidase activity is currently too insensitive to replace culture based detection of *E. coli* but is a valuable complementary tool for high temporal resolution monitoring.

4. Whenever financial resources are available, coliform determinations should be complemented with the quantification of enterococci.

5. More studies are needed in order to check if ammonia is reliable for a preliminary screening for emergency fecal pollution outbreaks.

6. Financial resources should be devoted to a better understanding of the ecology and behavior of human and animal fecal bacteria in environmental waters.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. **APHA.** 1998. Standards Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20th edition, American Public Health Association, Washington, D.C.

2. **CBS.** 2001. Statistical Year Book of Nepal HMG, Central Bureau of Statistics.

3. **Edama M.D; Omemu A.M; Fapetu O.M.** 2001. Microbiological and physicochemical analysis of different sources of drinking water in Abeokuta, Nigeria. Niger J. Microbial, 15(1): 57- 61.

4. **Food and Agriculture Organization (FAO).** 1997. Annual report on food Quality Control. J. Agric Food Chemical, 1(6): 11-13.

5. **Lamikanra A.** 1999. Essential Microbiology for students and practitioner of pharmacy:Medicine and Microbiology, 2nded. Lagos: Amkra books, p.406.

6. **Lemo O.O.** 2002. Bacteriology Determination of water with long term storage (B.Sc. Thesis), Abeokuta: UNAA, p.40.

7. **Medera V., Allen HE, Minear RC.** 1982. Non metallic constituents; Examination of Water Pollution Control. A reference handbook Physical, Chem. Radiol. Exam. 2: 169-357.

8. **Mulusky D.S.** 1974. Ecology of Estuaries. London: Heinemain Educational Books, pp.5-103.

9. **Nikoladze G.D.M., Alastal S.** 1989. Water Treatment For Public and Industrial Supply. Moscoul: MIR Publisher, p.163.

10. **Rajini K., Roland P., John C., Vincent R.** 2010. Microbiological and physicochemical analysis of drinking water in George town. Nature and Science, 8 (8): 261-265.

11. **World Health Organization.** 2004. Guidelines for drinking water quality. 3rd edition, Switzerland: WHO press pp.16, 89.