

А. И. ЛИННИК, А. И. ПИСКАЕВА

БИОПРЕПАРАТ, МОДИФИЦИРОВАННЫЙ КЛАСТЕРНЫМ СЕРЕБРОМ, ДЛЯ ПЕРЕРАБОТКИ ОТХОДОВ ПТИЦЕВОДСТВА В ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТОЕ УДОБРЕНИЕ

***Ключевые слова:** гумусподобное вещество, микроорганизмы-деструкторы, модифицированное кластерное серебро, переработка отходов, токсичные соединения, удобрение, экология.*

***Аннотация.** В настоящее время проблемы охраны окружающей среды и рационального природопользования, а также повышения уровня экологической безопасности, рассматриваются как первоочередные в общемировом масштабе. Наиболее распространенным способом утилизации отходов птицефабрик является их изоляция и захоронение. Остро встает вопрос о необходимости внедрения максимально эффективной технологии переработки отходов с учетом состава загрязнителей, экономических и экологических и факторов.*

Во всех отходах животноводческого комплекса, помимо разнообразных органических и неорганических соединений, содержится большое количество патогенных микроорганизмов. Это естественная микрофлора, включающая *Thermotol. coliforma*, *Escherichiacoli*, *Chlostridiumperfring*, *Salmonellaenteriditis*, *Salmonellavirchow* представляет большую опасность, так как обладает способностью выделять токсичные вещества, вредно действующие на организм [1, с. 445].

Исходя из вышесказанного, актуальным является исследование и разработка технологии экологически чистой переработки отходов птицефабрик.

Целью предлагаемого проекта является разработка нового микробиологического препарата для очистки и переработки отходов птицеводства в условиях Сибирского ФО. В состав биопрепарата входит специально подобранный консорциум микроорганизмов – деструкторов, модифицированных кластерным серебром.

Впервые в опыте переработки органических отходов использованы модифицированные микроорганизмы, способные в процессе

своей жизнедеятельности не только перерабатывать токсичные соединения в экологически чистое удобрение, но и обладающие антипатогенной активностью по отношению к большинству вредоносных бактерий. Это свойство с использованием кластерного серебра возрастает более чем в 10 раз.

Конечный продукт – гумусоподобное вещество, предлагается использовать в качестве эффективного, а главное безопасного сельскохозяйственного удобрения, которое не только способно повысить урожайность земель, но и применяться для рекультивации загрязненных территорий.

Кластерное серебро (наносеребро) – это разновидность коллоидного серебра высшего качества, более однородная и с меньшим размером серебряных частиц по сравнению с классическими препаратами коллоидного серебра [2, с. 10].

Коллективом авторов разработан оригинальный синтез (AGL) стабильного серебра средними размерами частиц в интервале 1–2 нм (размер частиц можно отнести к кластерам). Также проводили синтез по стандартной методике (AGM-синтез), где частицы серебра имели размеры в интервале 1–10 нм. На рисунке 1 представлены кривые распределения частиц по размерам.

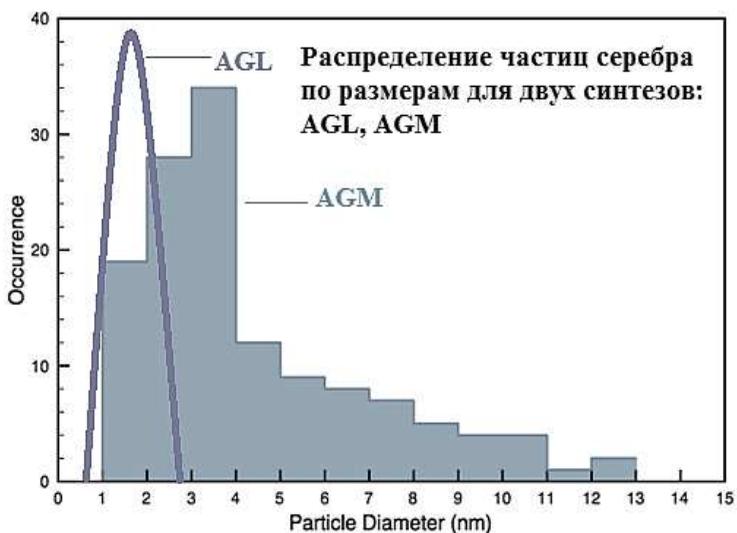


Рисунок 1 – Распределение частиц серебра по размерам

В целом кластерное серебро содержит высокодисперсные металлические частицы серебра наноразмерного диапазона. Термины «кластерное серебро», «наносеребро», «наночастицы серебра», по существу, являются синонимами. Однако кластерное серебро значительно отличается по физико-химическим свойствам от других форм наносеребра. Такой размер частиц серебра обуславливает его высокую эффективность, стабильность и безопасность [2, с. 11].

Благодаря своим уникальным физическим и химическим свойствам, которые определяются значительной величиной отношения площади поверхности к объему и другим размерным эффектам, антибактериальные и противовирусные свойства кластерного серебра существенно возрастают по сравнению с другими металлами, при этом само серебро, при правильном применении, остается абсолютно безопасным для здоровья человека.

Действие серебра на микробную клетку происходит в две стадии: 1) адсорбция; 2) активный транспорт ионов в клетку. До 90 % поглощенных ионов серебра задерживаются в мембране, метаболизм микробной клетки нарушается в результате инактивации ферментов и белков-переносчиков (пермеаз). С помощью электронной микроскопии показано, что под действием ионов серебра происходят морфологические изменения в бактериальных клетках.

Ионы серебра ингибируют поглощение и обмен фосфатов в *Escherichiacoli* и вызывают потерю накопленного фосфата – так же, как маннита, сукцината, глутамина и пролина. Еще один механизм действия ионов серебра, особенно в низких концентрациях, состоит в том, что они вызывают массовую утечку протонов через мембрану *Vibriocholegae*, которая заканчивается полной «деэнергизацией» и, с высокой степенью вероятности, смертью клетки.

Немецкими учеными была исследована способность поглощать ионы Ag^+ из растворов на примере *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Escherichiacoli* и *Pseudomonasaeruginosa*. Поглощение Ag^+ из раствора бактериями происходит достаточно эффективно: из 1 мМ раствора было удалено примерно 89 % общего количества Ag^+ .

В наше время уже исследовалось олигодинамическое действие серебра на *Bacillus subtilis* (1 штамм), *Enterobacteriaceae* (26 штаммов), *Legionellaceae* (13 штаммов), *Micrococcaceae* (6 штаммов) и *Pseudomonasaeruginosa* (4 штамма). *B. subtilis* и *Legionellaceae* показали самую высокую восприимчивость. Действие небольшого количества серебра на различные группы бактерий значительно отличается: непатогенные микроорганизмы менее восприимчивы, чем *S. aureus* [3, с. 332].

Кластерное серебро обладает ярко выраженными антибактериальными свойствами по сравнению с другими металлами. Выявлено, что бактерицидный эффект кластерного серебра в 1 750 раз сильнее карболовой кислоты и в 3,5 раза сильнее сулемы и хлорной извести.

Исследования показали, что чувствительность разных патогенных и непатогенных организмов к серебру неодинакова. Патогенная микрофлора намного более чувствительна к ионам серебра, чем непатогенная.

Объектами исследования являлись: кластерное серебро AGL с размером частиц 1–2 нм. Модифицированные серебром микроорганизмы-деструкторы органических соединений: *Microbacterium terregens*, *Streptococcus termophilus*, *Lactobacillus*, *Rhodococcus erythropholis*, *Bacillus fastidiosus*, *Arthrobacter paraffineus* и др. Органические отходы, содержащие большое количество углеводов и белков.

Модификация данных микроорганизмов кластерным серебром проводилась путем выращивания чистых культур при различных концентрациях (от 0 до 400 мкг/мл) кластерного серебра в жидкой питательной среде.

На кафедре «Бионанотехнологии» ФГБОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности» получены растворы частиц кластерного серебра размером 1–2 нм, с концентрацией 10 000 мкг/мл. Данные растворы вносились в питательные среды, содержащие культуры микроорганизмов-деструкторов, и в среду для культивирования бактерий *Escherichiacoli*.

Для культивирования штаммов *Microbacterium terregens*, *Rhodococcus erythropholis*, *Bacillus fastidiosus*, *Arthrobacter paraffineus* использовали питательную среду, содержащую (г/л): дрожжевой экстракт – 5,0; пептон – 15,0; хлористый натрий – 5,0; вода дистиллированная – 1,0. Температура роста – 30–34 °С. Продолжительность культивирования – 3 суток.

Для штаммов *Streptococcus termophilus*, *Lactobacillus* использовалась питательная среда состава (г/л): папаиновый перевар соевой муки – 5,00; пептический перевар животной ткани – 5,00; дрожжевой экстракт – 2,50; говяжий экстракт – 5,00; лактоза – 5,00; аскорбиновая кислота – 0,50; сульфат магния – 0,25; вода дистиллированная – 1,00. Температура роста – 40 °С. Продолжительность культивирования – 2 суток.

Состав питательной среды для *Escherichiacoli* (г/л): панкреатический гидролизат рыбной муки – 10,0; пептон ферментативный – 10,0; лактоза – 10,0; дрожжевой экстракт – 5,0; желчь очищенная – 1,0; нейтральный красный – 0,05; кристаллический фиолетовый – 0,001;

агар – 13,0. Температура роста 37 °С. Продолжительность культивирования 3 суток.

В течение всего процесса культивирования проводилось микроскопирование образцов на микроскопе AxioVert.A1 (CarlZeiss AG) с увеличением X40 и X100 через равные промежутки времени (в первые сутки каждые 8 часов, в последующие – через 12 часов). Конечные концентрации подбирались с учетом выживания микроорганизмов – деструкторов и полной гибели культуры *Escherichiacoli*.

В качестве органических отходов были выбраны и исследованы образцы картофеля и мясной продукции, зараженные культурой *E.Coli*, с целью проверки способности кластерного серебра к подавлению патогенных микроорганизмов и устранению неприятного запаха.

Для установления степени распада соединений и веществ, содержащихся в органических отходах, исследовалась оптическая плотность образцов, обработанных препаратом, содержащим кон-сорциум вышеуказанных микроорганизмов. После внесения образцы помещали в термостат с температурой 37 °С, на 12 часов. Оптическая плотность измерялась на спектрофотометре UV 1 800 (Shimadzu).

Результаты исследования влияния различных концентраций кластерного серебра на микроорганизмы-деструкторы приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Пороговые концентрации кластерного серебра для микроорганизмов-деструкторов

Название	Концентрация, мкг/мл		
	Статический эффект	Цидный эффект	Оптимум
<i>Microbacteriumterregens</i>	100	400	50
<i>Streptococcus termophilus</i>	200	500	100
<i>Lactobacillus</i>	200	450	100
<i>Arthrobacterparaffineus</i>	50–100	250	50
<i>Bacillus fastidiosus</i>	50–100	300	50
<i>Rhodococcuserytropholis</i>	50–100	300	50

При анализе данных, представленных в таблице 1, установлено, что концентрация кластерного серебра 50 мкг/мл является оптимальной для большинства микроорганизмов-деструкторов. При данном значении они способны к нормальному росту и размножению, а следовательно, к переработке соединений, входящих в состав отходов.

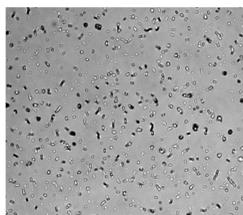
По результатам исследования влияния кластерного серебра на развитие бактерий *Escherichiacoli*, выращенных на плотной пита-

тельной среде (табл. 2), установлено, что концентрация 100 мкг/мл является губительной для культуры. При 50 мкг/мл количество колоний сокращается более чем в 2 раза.

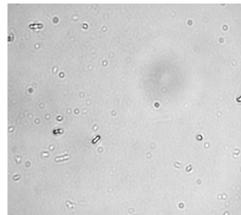
Таблица 2 – Влияние кластерного серебра на рост *E.coli*

Концентрация кластерного серебра в среде, мкг/мл	Количество выросших колоний <i>E.coli</i> .
100	0
50	104
Контроль (0)	254

На рисунке 2 показаны результаты микроскопических исследований культуры *Escherichiacoli*.



а)



б)

Рисунок 2 – Микроскопирование *Escherichiacolic* увеличение X100, 24 часа после начала культивирования: а) контрольный образец (серебро отсутствует); б) концентрация кластерного серебра 100 мкг/мл

Как видно из рисунка 2, спустя 24 часа количество бактерий значительно снижается. Способность к размножению практически отсутствует. Следовательно, можно говорить о том, что при концентрации кластерного серебра в питательной среде 100 мкг/мл не происходит роста бактерий *Escherichiacoli*. В то же время подобная концентрация не оказывает ни бактерицидного, ни бактерио-статического действия на микроорганизмы-деструкторы. При этой концентрации они способны к нормальному росту и размножению.

Изучение степени распада органических отходов дало следующие результаты (табл. 3).

Таблица 3 – Степень распада органических соединений под действием модифицированных кластерным серебром микроорганизмов

Наименование	Степень распада, %			
	Концентрация кластерного серебра, мкг/мл			
	50	100	125	150
Белки	78,6	79,6	65,2	58,9
Жиры	67,7	58,5	46,2	35,8
Углеводы	74,3	69,9	53,1	52,7

Анализируя данные, представленные в таблице 3, и данные, полученные при исследовании влияния серебра на рост и развитие микроорганизмов, можно установить, что массовая доля кластерного серебра 100 мкг/мл является на данный момент оптимальным значением для осуществления переработки органики с учетом угнетения жизнедеятельности патогенной микрофлоры.

По результатам проведенной на данный момент работы можно сделать следующие выводы:

1. Исследовано влияние различных концентраций кластерного серебра на рост и размножение микроорганизмов-деструкторов.
2. Доказана эффективность действия полученного кластерного серебра в отношении патогенных бактерий на примере *Escherichiacoli*.
3. Исследована степень распада органических соединений под действием собранного консорциума микроорганизмов, модифицированных кластерным серебром.
4. Подобраны концентрации серебра, способствующие росту и активному размножению микроорганизмов-деструкторов и гибели бактерий *Escherichiacoli*, что обеспечивает наиболее высокую степень переработки органических отходов. Данная концентрация кластерного серебра составила 100 мкг/мл.

Существует ряд применяемых технологий, направленных на изучение микробиологической переработки отходов животноводства (табл. 4).

Таблица 4 – Сравнительная характеристика аналогов предлагаемого продукта

Наименование технологии	Страна	Стоимость 1 л состава для очистки, руб.
Микроорганизмы активного ила	США	6 780
Иммобилизованный консорциум микроорганизмов	Россия, Япония	7 450
Предлагаемая технология	Россия	1 500

При реализации данного проекта будет создан биопрепарат, в состав которого входят специально подобранный консорциум микроорганизмов-деструкторов, модифицированных кластерным серебром.

Применение позволит приобрести дополнительный источник доходов, за счет переработки отходов в гумусоподобное вещество (решение финансовой проблемы) и обеспечить решение проблемы утилизации продукции птицеводства (экологической проблемы).

При этом обеспечивается снижение стоимости процесса утилизации в 1,5 раза. Размер платы за загрязнение окружающей природной среды при внедрении уменьшится на величину 3 299,79 руб./год. Предотвращенный экологический ущерб составит 34 494,21 тыс. руб./год.

Таблица 5 – Основные целевые группы, на которые направлен проект

Наименование отрасли	Объем рынка, тыс.тонн
Перерабатывающая промышленность	5 000
Сельское хозяйство	4 000
Производственная промышленность	20 000
Пищевая промышленность	3 000
Аграрная промышленность	3 000

Потенциальными потребителями биопрепарата являются перерабатывающие фирмы и предприятия, фирмы, являющиеся производителями сельскохозяйственной продукции, предприятия, занимающиеся производством с.-х. удобрений и рекультивацией земель и т. д.

География проекта: Кемеровская обл., Красноярский край, Алтайский край, Новосибирская обл., Иркутская обл., Республика Хакасия, Республика Тува, Омская обл., Томская обл., Республика Бурятия.

Существует возможность внедрения технологии в регионах Дальневосточного и Центрального ФО. Технология обладает большим экспортным потенциалом на соответствующих рынках Европы, Северной, Центральной и Южной Америки, Азии (включая Китай, Индию, Пакистан, Бангладеш), Юго-Восточной Азии, Индонезии и Африки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sawosz E, et. Al. Silver nanoparticles: Behaviour and effects in the aquatic environment // Arch. Anim. Nutr. 2007. Vol. 61. № 6. P. 444–451.
2. Schreurs W. J. A. Effect of Silver Ions on Transport and Retention of Phosphate by *Escherichia coli* // Journal Of Bacteriology. 2002. Vol. 152. № 1. P. 7–13.
3. Trevors JT. Silver resistance and accumulation in bacteria // Enzyme Microb Technol. 1987. № 9. P. 331–333.

BIOLOGICAL PREPARAION, MODIFIED BY CLUSTER SILVER FOR PROCESSING OF POULTRY WASTE IN ECOLOGICALLY CLEAN FERTILIZER

Keywords: *humus like substance, microorganisms destructors, modified cluster silver, recycling, toxic compounds, fertilizer, ecology.*

Annotation. *At the moment the problem of protecting the environment and natural resource management, as well as increase of the level of environmental safety are considered as ones of the first importance globally. The most common way of processing of poultry waste is their isolation and burial. There is a question of the need to implement the maximum effective waste processing technologies, taking into account the structure of pollutants and economic and environmental factors.*

ЛИННИК АННА ИГОРЕВНА – аспирант, ФГОУ ВПО Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, Россия, Кемерово (rib@kemt看ip.ru).

LINNIK ANNA IGOREVNA – aspirant, Kemerovo technological institute of food industry, Russia, Kemerovo (rib@kemt看ip.ru).

ПИСКАЕВА АНАСТАСИЯ ИГОРЕВНА – аспирант, ФГОУ ВПО Кемеровский технологический институт пищевой промышленности, Россия, Кемерово (bionano@ Rambler.ru).

PISKAREVA ANASTASIYA IGOREVNA – aspirant, Kemerovo technological institute of food industry, Russia, Kemerovo (bionano@ Rambler.ru).
