

Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ЛЕСА»

А.Н. Иванкин, А.Д. Неклюдов, С.М. Тарасов, Ю.Н. Жилин

**ИНЖЕНЕРНАЯ ЭКОЛОГИЯ.
ПЕРЕРАБОТКА ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ**

Учебное пособие

Рекомендовано к изданию Редакционно-издательским советом
университета в качестве учебного пособия для студентов
направления подготовки – Химическая технология



Москва
Издательство Московского государственного университета леса
2016

УДК 546

И 12

Разработано в соответствии с ФГОС ВО на основе примерной программы дисциплин «Химия», «Экология», "Основы биотехнологии"

Рецензенты: д.х.н., профессор И.А. Ямсков, зав. лабораторией физиологически активных биополимеров ИНЭОС им. А.Н. Несмеянова РАН;
д.в.н., доцент Т.Г. Кузнецова, руководитель центра научно-методических работ и контрольно-аналитических исследований ФНЦ «Пищевых систем имени В.М. Горбатова РАН

Работа подготовлена на кафедре химии и биотехнологии лесного комплекса

Иванкин А.Н.

И 18 Переработка органических отходов: учебное пособие / А.Н. Иванкин, А.Д. Неклюдов, С.М. Тарасов, Ю.Н. Жилин. – М.: ГОУ ВО МГУЛ, 2016. – 400 с.

В книге представлены современные данные в области переработки органических отходов растительного, животного и микробного происхождения. Показаны достижения последних десятилетий в консервировании природных биополимерных систем – древесины и пищевых продуктов, возможности производства топлива из органических отходов, а также рассмотрены пути интенсивной аэробной и анаэробной переработки отходов в компосты, включая вермикомпостирование. Книга предназначена для студентов и аспирантов очной и заочной форм обучения по техническим специальностям, а также научных работников.

Авторы книги

ИВАНКИН Андрей Николаевич – 1955 года рождения, док. хим. наук, академик Международной академии наук высшей школы, профессор, зав. кафедрой химии и биотехнологии Московского государственного университета леса, гл. научн. сотрудник ВНИИМП им. В.М. Горбатова РАН, присвоены ученые звания старшего научного сотрудника по специальности «Биотехнология» и профессора по кафедре химии. Научные интересы – исследования в области получения биологически активных веществ, экохимия, получение новых пищевых добавок, биотехнология.

НЕКЛЮДОВ Андрей Дмитриевич – 1937 года рождения, академик академии инженерных наук Российской Федерации, док. хим. наук, профессор кафедры химии и биотехнологии Московского государственного университета леса. Профессор по специальности «Биоорганическая химия. Химия природных и физиологически активных веществ». Область научных интересов – биоорганическая химия, получение веществ лекарственного назначения, биотехнология, создание научных основ трансформации биополимеров в продукты повышенной биологической и пищевой ценности.

Тарасов Сергей Михайлович – 1978 года рождения, канд. техн. наук, доцент кафедры химической технологии древесины и полимеров Московского государственного университета леса. Область научных интересов – реагентные составы для целлюлозных и древесных композиционных материалов, бумага и картон с улучшенными эксплуатационными показателями, промышленная экология предприятий лесопромышленного комплекса

Жилин Юрий Николаевич – 1946 года рождения, канд. техн. наук, доцент кафедры химии и биотехнологии Московского государственного университета леса. Область научных интересов – инженерная химия, обратный осмос, ультрафильтрация, процессы и аппараты для разделения органических и неорганических веществ

Предисловие

Современное производство любых видов продукции невозможно без образования отходов. Чем выше уровень интенсификации развития промышленности, тем большее количество отходов остается вследствие этой интенсификации. В результате наблюдается парадоксальное явление: чем значительнее степень развития в тех или иных странах, тем больше отходов образуется и тем серьезнее необходимость в их утилизации. Эта закономерность характерна для любой производственной деятельности человека, особенно там, где в результате масштабного производства образуется не менее 70 – 80% отходов по отношению к количеству взятого сырья. Часть этих отходов утилизируется естественным путем за счет работы микро- и макроорганизмов, обитающих в почве, некоторая часть целенаправленно перерабатывается человеком в продукты пищевого и сельскохозяйственного назначения, но достаточно большой объем отходов практически не используется и остается в виде разнообразного мусора, занимающего значительные территории. Эти территории, даже после удаления мусора самым простым способом – сжиганием, как правило, не могут быть переведены в сельскохозяйственные угодья из-за высокого содержания вредных контаминантов, начиная с тяжелых металлов и кончая другими токсичными элементами и сложными органическими веществами, включая нитро- и хлорорганические соединения. Вред от таких отходов для окружающей среды, причем не только для почвы, но и для воды и воздуха, совершенно очевиден. Как показывает практика, многие из этих видов отходов содержат >70% ценных органических соединений, способных найти дальнейшее практическое применение в самых разнообразных отраслях.

Ранее мы в своих публикациях в научных и учебных изданиях уже останавливались на некоторых отдельных методах обезвреживания и путях реализации органических отходов. Однако большая часть практических методов переработки этих отходов и получения из них различных химических соединений сельскохозяйственного, пищевого и медицинского назначения не вошла в ранее написанные нами учебники и монографии. Поэтому основной целью данной книги является обзор отечественных и зарубежных исследований, опубликованных в научных статьях и литературных обзорах, посвященных не только реализации отходов, но и мерам по уменьшению их образования, в частности, предварительной консервации объектов, в результате гниения и порчи

которых образуются не только органические отходы, но и другие нежелательные побочные продукты. В связи с этим первый раздел данной монографии посвящен проблемам консервации наиболее масштабных по суммарному количеству образующихся отходов лесотехнической и пищевой продукции. Учитывая, что многие из отходов лесного комплекса могут быть превращены в технические моно- и олигосахариды, а в дальнейшем в этанол и другие химические соединения, в частности в такие важнейшие с точки зрения энергетического потенциала вещества, как метан и водород, второй раздел монографии и посвящен решению комплексных задач получения энергии из возобновляемых природных источников.

Следующий раздел монографии мы решили посвятить различным методам получения компостов, которые не только решают задачи переработки органических отходов, но и обеспечивают сельское хозяйство новыми видами хорошо усвояемых органических удобрений почвы, одновременно пытаясь показать, что получение эффективных компостов является довольно сложной задачей со многими неизвестными.

Последний раздел монографии посвящен важнейшим беспозвоночным обитателям почвы – земляным червям, которые не только влияют на ее структурирование, но и сами являются доступной сырьевой базой для получения целого ряда биологически активных соединений, способных найти применение не только в почвоведении, но и в медицинской и комбикормовой промышленности. Учитывая, что земляные черви способны в результате переработки ими органических отходов давать совершенно новый вид удобрений – биогумус, мы сочли возможным включить в этот раздел данные о вермикомпостировании, которое в последние годы стало особенно популярным за счет своей высокой экономической эффективности.

При написании данной книги было использовано значительное количество литературных источников и для удобства читателей список литературы представлен в конце тематических разделов.

ВВЕДЕНИЕ В ПЕРЕРАБОТКУ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ

В результате очистки воды, воздуха и почвы – основных экологических систем нашего обитания, образуется большое количество органических отходов различного состава. Эти отходы требуют последующего уничтожения или получения из них новых полезных веществ, способных найти себе дальнейшее применение в различных хозяйственных областях.

Самым простым способом уничтожения отходов – является их сжигание. Но в подавляющем числе случаев эти отходы либо имеют

жидкую консистенцию и не способны к возгоранию, либо в процессе горения выделяется такое количество токсических веществ, обезвреживание которых требует больших затрат, которые не могут компенсировать в ряде случаев выбранный способ уничтожения.

Сегодня существует возможность детоксикации ряда отходов и их последующего практического применения за счет использования различных микроорганизмов, т.е. путем реализации принципов биотехнологической направленности.

Переработка отходов, образующихся в процессе очистки воды и воздуха

В широко распространенных установках для очистки сточных вод выполняются четыре основные операции.

1. При первичной обработке удаляются твердые частицы, которые либо отбрасываются, либо направляются в биореактор.
2. На втором этапе происходит разрушение растворенных органических веществ при участии природных аэробных микроорганизмов. Образующийся ил, состоящий главным образом из микробных клеток, либо удаляется, либо вновь поступает в биореактор. По технологии, использующей активный ил, часть его возвращается в аэроционный тэнк.
3. На третьем этапе (необязательном) проводится химическое осаждение и разделение фосфора и азота.
4. Для переработки ила, образующегося на первом и втором этапах, обычно используется процесс анаэробного разложения. При этом уменьшается объем осадка и количество патогенов, устраняется запах, а кроме того образуется ценное органическое топливо – метан.

Подобные процессы применяют при переработке промышленных сточных вод, особенно в химической, пищевой и целлюлозно-бумажной промышленности. Совершенно очевидно, что любые усовершенствования этих процессов найдут немедленное применение в промышленности, как это имеет место в сельском хозяйстве, о чем мы поговорим несколько позже.

Аэробная переработка отходов

Аэробная переработка стоков – это самая обширная область контролируемого использования микроорганизмов в биотехнологии. Она включает следующие стадии: 1) адсорбция субстрата на клеточной

поверхности; 2) расщепление адсорбированного субстрата внеклеточными ферментами; 3) поглощение растворенных веществ клетками; 4) рост и эндогенное дыхание; 5) высвобождение экскретируемых продуктов; 6) «выедание» первичной популяции организмов вторичными потребителями. В идеале это должно приводить к полной минерализации отходов до простых солей, газов и воды. Эффективность переработки пропорциональна количеству биомассы и времени контактирования ее с отходами (рис. 1).

Системы аэробной переработки можно разделить на системы с перколяционными фильтрами и системы с использованием активного ила.

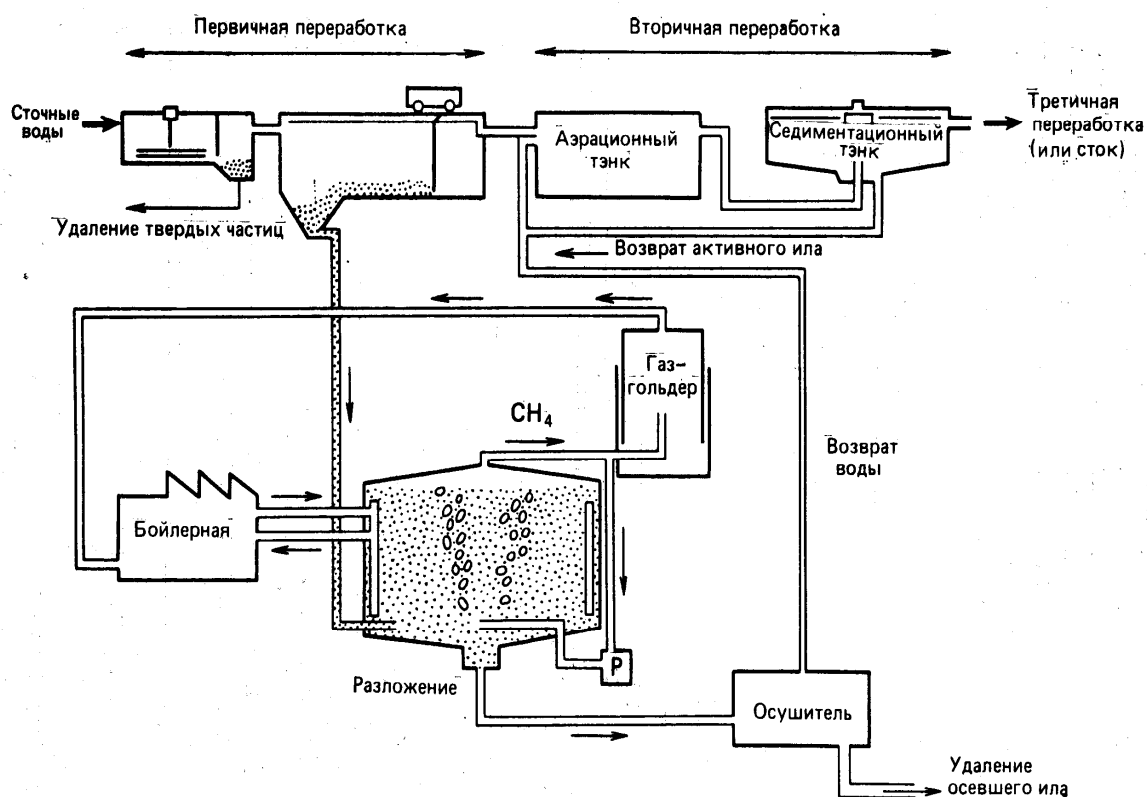


Рис. 1. Схема переработки отходов путем аэробного разложения

Перколяционные фильтры

Перколяционный фильтр был самой первой системой, примененной для биологической переработки отходов, причем его конструкция фактически не изменилась со времени создания в 1890 г. Эта система используется в 70% очистных сооружений Европы и Америки и обладает рядом преимуществ, которые состоят в простоте, надежности, малых эксплуатационных расходах, образовании небольших излишков биомассы и

возможности длительного использования установки (в течение 30 – 50 лет).

Основной недостаток перколяционного фильтра – избыточный рост на нем микроорганизмов; это ухудшает вентиляцию, ограничивает протекание жидкости и приводит в конечном счете к засорению фильтра и выходу его из строя. Одна из недавних модификаций установки состоит в использовании чередующегося двойного фильтрования (ЧДФ), когда фильтры, на которые сначала поступает поток жидкости, периодически меняют местами с другими фильтрами. ЧДФ особенно ценно при очистке промышленных стоков. Для разрушения слоев грязи в толще фильтров используют также обратную циркуляцию и пульсирующую подачу. Это улучшает величину биохимической потребности в кислороде (БПК), но снижает нитрифицирующую активность. Другие модификации в конструкции и работе установок с перколяционными фильтрами состоят в уменьшении скорости поступления жидкости для более равномерного распределения биомассы, а также в использовании прямой двойной фильтрации с большим объемом среды, когда на первый фильтр поступает больший объем среды и тем самым увеличивается его загрузка.

В 1970 году на смену клинкеру, камню или гравия в системах с перколяционными фильтрами пришли пластмассы. Это позволило применять такие системы для переработки некоторых промышленных стоков высокой концентрации. Другим важным преимуществом явилось то, что пластмассы – легкий материал и это позволяет строить высокие, не занимающие много места очистные сооружения. Для создания оптимальной поверхностной площади, вентиляции и пористости пластмассы размалывают.

Основное изменение в конструкцию очистных сооружений в Англии было внесено в 1973 году, когда был создан вращающийся биологический реактор. Он представляет собой вращающиеся «соты» из пластиковых полос, попеременно погружаемые в сточные воды и поднимаемые на поверхность. При таком способе увеличивается площадь поверхности, с которой может контактировать биомасса, и улучшается аэрация.

Среда, в которой находится перколяционный фильтр, не является водной в прямом смысле, поскольку это всего лишь тонкая водная пленка над слоем биомассы. Определить, какие именно микроорганизмы присутствуют в среде, довольно трудно из-за сложности и гетерогенности биомассы. По-видимому, активной основной группой бактерий, участвующих в переработке сточных вод, служат *Zoogloea*, хотя определенную роль играет и ряд других бактерий. В очистных сооружениях отмечается также активный рост некоторых видов нитчатых бактерий и грибов. Из водорослей чаще всего присутствуют сине-зеленые (*Cyanophyceae*) и *Chlorophyceae*. Встречаются и многочисленные *Metazoa*, в

том числе земляные черви, насекомые и ракообразные. Мухи и черви очень важны для регуляции развития пленок.

Активный ил

Переработка отходов с помощью активного ила, осуществляемая сложной смесью микроорганизмов, была предложена в 1914 г. Этот процесс более эффективен, чем фильтрация, и позволяет перерабатывать сточные воды в количестве, в десять раз превышающем объем реактора. Однако он обладает рядом недостатков: более высокими эксплуатационными расходами из-за необходимости перемешивания и аэрации; большими трудностями в осуществлении и поддержании процесса; образованием большого избытка биомассы. Несмотря на все это, процесс, использующий активный ил, остается наиболее распространенным методом переработки сточных вод в густонаселенных районах, поскольку требует меньших площадей, чем эквивалентная фильтрационная система.

Как и в фильтрационные системы, в систему с активным илом были внесены некоторые изменения. Следующие из них связаны с аэрацией:

1. Градиентная аэрация, приводящая интенсивность аэрации в соответствие с потребностью в кислороде, которая на входе больше, чем на выходе.

2. Ступенчатая аэрация, при которой по всей длине тэнка сточные воды поступают с интервалами.

3. Контактная стабилизация, при которой повторно используемый ил аэрируется, что способствует более полной утилизации микроорганизмами любых доступных питательных компонентов. Это приводит к более полной ассимиляции отходов при возврате в основные рабочие тэнки. В результате объем ила на стадии аэробного разложения уменьшается, и поэтому в принципе это аналогично увеличению аэрации.

4. Использование чистого кислорода в закрытых тэнках, которые поэтому могут работать при более высоких концентрациях биомассы; таким образом уменьшается время пребывания сточных вод в тэнке и, кроме того, решается проблема «разбухания» (избыточного роста нитчатых бактерий и грибов, препятствующего оседанию ила).

5. Разработка колонного эрлифтного ферментера компанией ICI в 1974 г. (рис. 2). Он более экономичен, чем обычный, благодаря уменьшению времени пребывания сточных вод в тэнке и снижению эксплуатационных расходов.

Активный ил – это истинно водная среда. Как и в перколяционных фильтрах, основная группа бактерий, участвующих в процессе переработки, – это *Zoogloea*. Считается, что активно растет только небольшая часть флокуляционного ила. По сравнению с перколяционными фильтрами в активном иле наблюдается меньшее экологическое разнообразие. Рост водорослей ограничивается недостатком света, а виды и разнообразие присутствующих в иле простейших определяются степенью переработки отходов (рис. 3).

Для успешной переработки бытовых и промышленных отходов необходимо точно знать состав и концентрацию стоков. Это служит «руководством к действию»: зная качественные и количественные характеристики среды, можно сразу установить, какой микробный посевной материал необходим для инициации работы системы. Часто бывает трудно показать, что именно те микроорганизмы, которых выделяют из систем биологической переработки отходов, осуществляют окисление присутствующих соединений.

Микробиологическое изучение любой системы, использующей активный ил, включает: 1) идентификацию микроорганизмов и определение их численности; 2) оценку микробиологической активности как популяции в целом, так и отдельных видов; 3) оценку соотношения между (1) и (2), с одной стороны, и количеством вводимых питательных веществ и продуктов переработки – с другой.

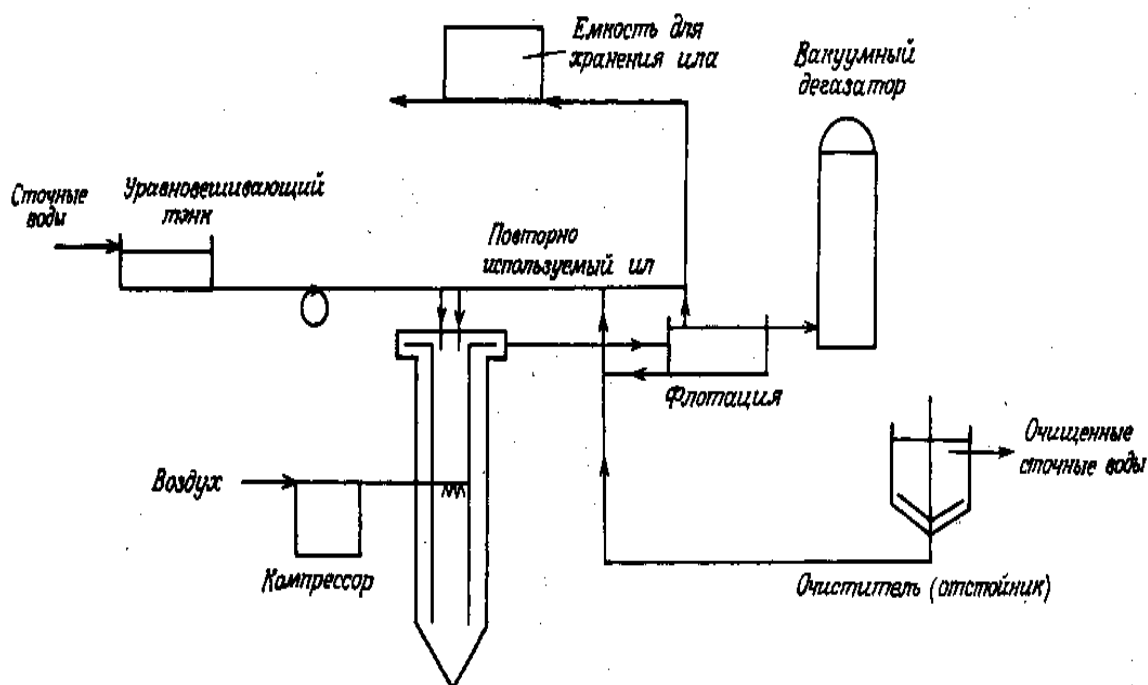


Рис. 2. Колонный эрлифтный ферментер

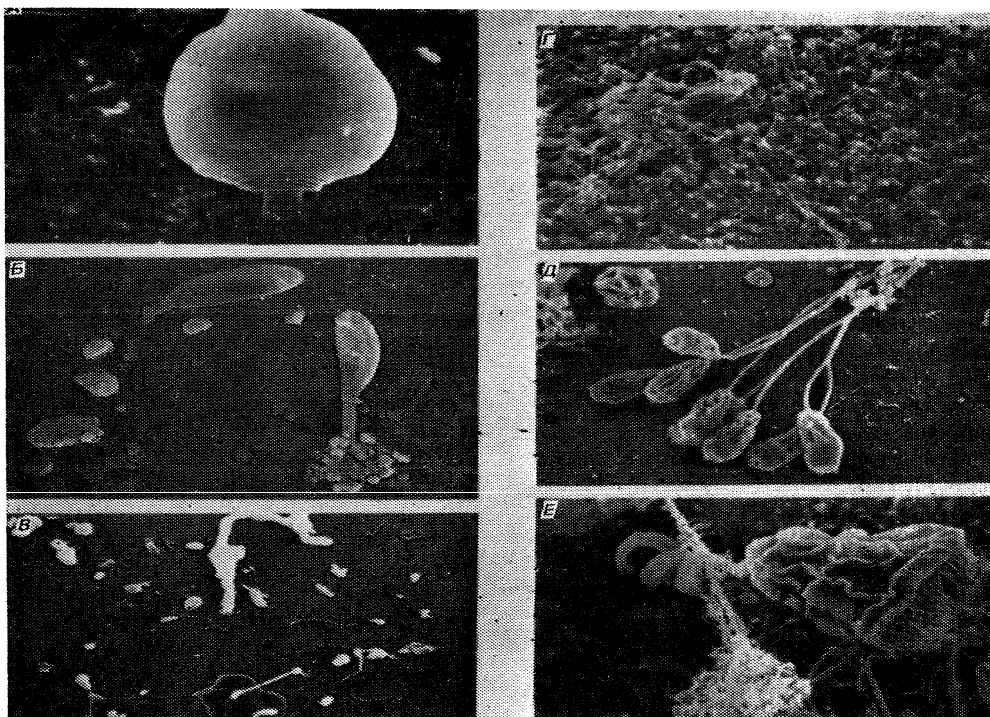


Рис. 3. Микроорганизмы, присутствующие в активном иле. Микрофотографии: получены с помощью сканирующего электронного микроскопа и любезно предоставлены Дж. Моррисом. А. *Epistylis* (x1000) Б. Стебельчатые бактерии (x16000). В. Жгутиковые бактерии (x5000). Г. *Vaginocolidae* (x750). Д. Колония *Epistylis* sp. (x350). Е. *Vorticella* sp. (x1000)

Микробиологическую активность активных илов можно оценивать по приросту биомассы или по интенсивности общего метаболизма; последний включает изменения, происходящие в среде. Измерения могут проводиться и для какой-то отдельной популяции микроорганизмов. Можно показать, что активность ила связана с определенными бактериями, точно подсчитать их число и определить метаболическую активность. Далее можно выяснить, в какой мере та или иная специфическая активность ила определяется конкретными видами бактерий с известными свойствами, и установить, какое влияние оказывают на них неблагоприятные условия, в которых они оказываются из-за поступления в среду тех или иных питательных веществ или продуктов метаболизма других микроорганизмов. Для сточных вод, поступающих в емкость с активным илом, характерны высокие концентрации органических соединений и, следовательно, наличие больших количеств хемоорганотрофных видов, например *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* и *Moraxella*, а также многих других бактерий. При высоких концентрациях неорганических соединений в стоках обнаруживаются бактерии *Thiobacillus*, *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* и

Ferrobacillus spp. окисляющие соответственно серу, аммиак и железо. Эти организмы были выделены из систем для переработки отходов и идентифицированы с помощью методов селективных культур. В ходе этих работ важно установить, играют ли какие-либо виды главенствующую роль в тех процессах, которые протекают в активном иле. Этот аспект часто недооценивается, особенно не биологами. Нередко бывает трудно однозначно установить роль того или иного микроорганизма. Например, если из системы по переработке отходов выделены *Tbiobacillus*, окисляющие соединения серы, то это еще не означает, что вся активность такого рода определяется именно этими микроорганизмами: частичное окисление ряда соединений серы осуществляют и виды *Pseudomonas*.

Взаимосвязи между организмами, участвующими в катаболизме органических и неорганических субстратов, имеют важное значение для регуляции процессов, происходящих в активном иле. Промежуточные продукты метаболизма у одного вида бактерий способны оказывать влияние на процессы деградации у другого. Например, известно, что фенол подавляет активность организмов, окисляющих аммиак: он может ингибировать этот окислительный процесс даже при столь малых концентрациях, как $3 - 4 \text{ млн}^{-1}$.

Промежуточные продукты расщепления бензойной кислоты до катехола, сукцината и ацетата ингибируют образование «ферментов», участвующих в начальных этапах расщепления. Катехол и сукцинат подавляют синтез ферментов, разрушающих бензоилформиат и бензальдегид, по механизму обратной связи, а ацетат действует как катаболитный репрессор: наличие простого органического соединения подавляет расщепление более сложных молекул до тех пор, пока это более простое соединение не будет использовано. Когда ингибирование снимается, синтезируются новые ферменты, ответственные за расщепление более сложных ароматических структур. На практике при наличии в отходах гомологичных рядов каких-либо соединений необходимо образование ферментов, способных справиться с расщеплением самой сложной молекулы данного ряда. Полное расщепление таких соединений должно происходить в течение определенного минимального времени удержания (нахождения отходов в реакторе) в процессе переработки. Следовательно, можно предсказать, какая обработка потребуется для окисления фенольных соединений; например, чем сложнее боковая цепь молекулы, тем больше времени необходимо для ферментативного разрушения этого вещества.

Эффективность данного процесса можно повысить, изучив механизмы регуляции метаболизма в микрофлоре систем с активным илом. Регуляция биodeградации – это сложная задача. Однако, зная биохимию соответствующих процессов, мы, по-видимому, сможем вмешиваться и в их регуляцию. Например, добавление к илу промежуточных продуктов

цикла трикарбоновых кислот в низких концентрациях (2 – 5 мг/л), глюкозы, аминокислот и витаминов (в частности, аланина и никотиновой кислоты) приводит к ускорению окисления ряда соединений. Введение этих промежуточных продуктов в состав биомассы увеличивает энергетические потребности системы, стимулирует синтез АТФ за счет усиленного окисления неорганических веществ типа серы или аммиака. Понимание биохимии подобных процессов, видимо, даст возможность вмешиваться в процессы регуляции метаболизма.

Задача микробиолога-биотехнолога при разработке методов очистки сточных вод состоит в более полном изучении и учете взаимосвязи между активностью микроорганизмов, образованием хлопьев ила и производительностью установки по переработке отходов. В этом смысле превращения в системе активного ила следует рассматривать в основном как окислительные процессы во влажной среде, сопровождающиеся увеличением объема ила, которое можно расценивать как вредное или полезное (последнее – когда ил используется повторно). Совершенно очевидно, что биологический способ переработки пригоден для множества различных органических и неорганических соединений и устраняет их вредное воздействие на окружающую среду.

Акт о защите среды от загрязнений от 1974 г. по мере претворения его в жизнь будет оказывать все возрастающее влияние на технологию очистки сточных вод. Термин «биodeградация» используется сейчас очень широко, но имеет множество толкований. Иногда под биodeградацией понимают полную минерализацию какого-либо соединения микроорганизмами с образованием углекислого газа, сульфата, нитрата и воды; это одна крайность. Другая крайность состоит в том, что данный термин используют применительно к незначительным изменениям соединений, приводящим к утрате некоторых характерных их свойств. Стандартные методы оценки деградации позволяют определить термин «биodeградация» следующим образом: 1) первичная деградация, при которой характерные свойства исходного соединения утрачиваются и перестают выявляться специфическими химическими тестами; 2) допустимая для окружающей среды биodeградация, при которой происходит минимальное изменение исходного соединения, необходимое для утраты его свойств (оба этих определения основаны на произвольных критериях и поэтому неточны); 3) окончательная биodeградация, включающая полное превращение исходного соединения в неорганические конечные продукты и связанная с нормальными процессами метаболизма микробов.

В ходе изучения деградации широкого круга органических веществ были выделены микроорганизмы, способные к разрушению весьма необычных соединений (рис. 4 и 5).

Принцип «псевдооживленного слоя»

Данная технология, введенная в практику в 1980 г., во многих отношениях представляет собой сочетание систем перколяционных фильтров и активного ила. Она весьма экономична благодаря использованию высоких концентраций микроорганизмов и отсутствию необходимости в осаждении конечных продуктов. Существуют два основных типа установок.

1. Уловитель Саймона Хартли. Он был разработан на основании исследований, проведенных в научно-техническом институте Манчестерского университета. Биомассу наращивают в пустотах внутри прокладок из пористого полиэфира, которые удерживаются внутри реактора с помощью сеток. Прокладки периодически удаляют из реактора, густую биомассу (до 15 кг на каждый кубометр обводненного носителя) отжимают и пустые прокладки возвращают в реактор.

2. Оксигенатор Дорра – Оливера. Здесь в качестве подложки используется песок; его периодически выпускают из реактора, очищают и используют снова.

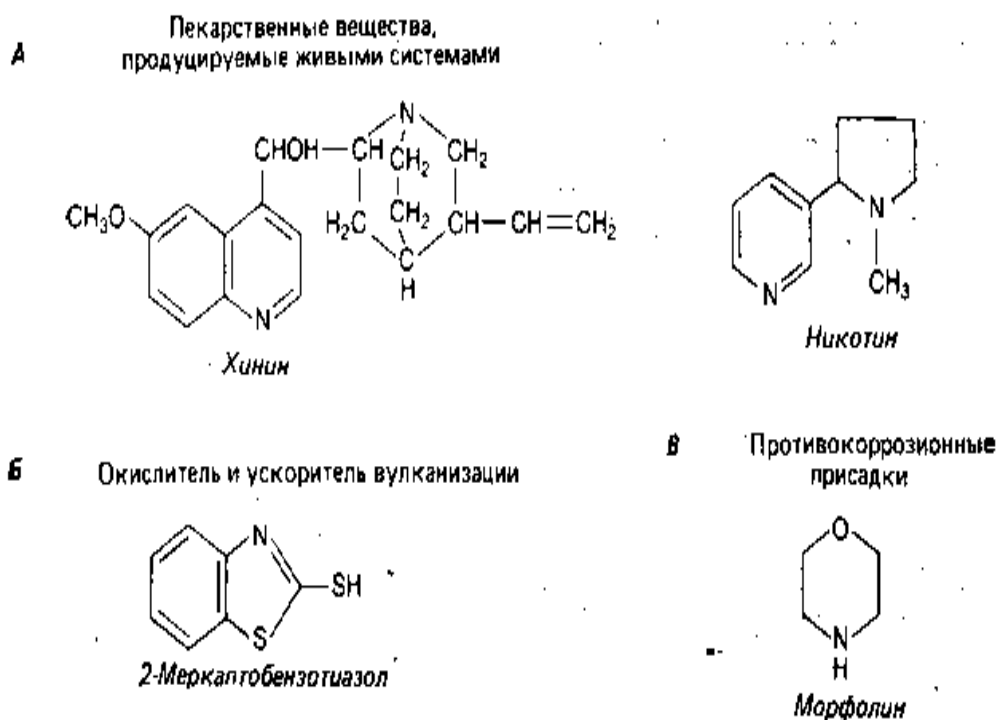


Рис. 4. Основные группы соединений, которые обнаруживаются в отходах производства лекарственных препаратов, синтетических гербицидов и других нефтехимических продуктов и подвержены биодegradации

Возможное нежелательное последствие интенсификации аэробной обработки – это излишнее образование ила. Стоимость его удаления может составить до 50% расходов на переработку сточных вод. Альтернативные решения состоят или в последующем использовании этого ила, или в разобщении анаболической и катаболической активности для неполного превращения субстрата в биомассу (этого можно достичь, создав условия постоянной нехватки микроэлементов или делая перерывы в подпитке).

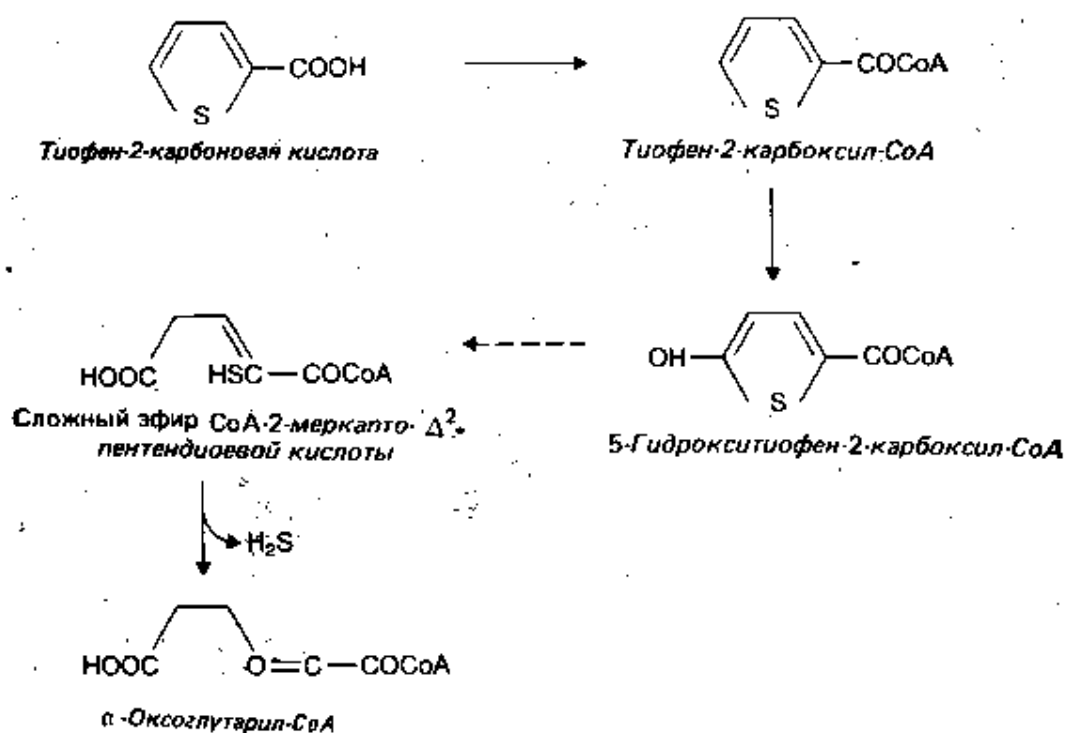


Рис. 5. Промежуточный метаболизм аналога тиофена в одном из видов *Ftavobacterium*

Анаэробное разложение

Все возрастающая стоимость переработки отходов с помощью аэробного разложения и энергетический кризис, с одной стороны, и новые достижения микробиологии и технологии – с другой, возродили интерес к анаэробной переработке. Самая распространенная технология анаэробной переработки – разложение ила сточных вод. Эта хорошо разработанная технология с успехом используется с 1901 г. Однако здесь существует ряд проблем, обусловленных малой скоростью роста облигатных анаэробных метанобразующих бактерий, которые используются в данной системе. К ним относятся также чувствительность к различным воздействиям и неприспособленность к изменениям нагрузки. Конверсия субстрата также происходит довольно медленно и поэтому обходится дорого. Некоторые проблемы связаны с

неудачными инженерными решениями. Тем не менее, этот подход представляется перспективным с точки зрения биотехнологии; например, можно добавить к отходам ферменты для повышения эффективности процесса или попытаться усилить контроль за переработкой путем изменения тех или иных биологических параметров.

Анаэробная ферментация отходов или растительных культур, специально выращиваемых для получения энергии, очень перспективна для экономичного получения газообразного топлива при умеренных температурах (30 – 35°C). Эта новая отрасль биотехнологии была разработана микробиологами в сотрудничестве с инженерами-химиками и механиками, работниками сельского хозяйства и экономистами.

При выращивании сообщества различных бактерий на смеси органических соединений происходят сложные биохимические реакции (рис. 6). Метанобразующие бактерии способны к синтезу энергоносителя непосредственно из водорода и углекислого газа. Микроорганизмы, расщепляющие целлюлозу, синтезируют жирные кислоты, которые могут подвергаться восстановительному расщеплению до метана и углекислого газа; некоторые бактерии способны даже образовывать молекулярный водород. Описано сложное, взаимозависимое микробное сообщество, в котором можно выделить три группы бактерий: бактерии, осуществляющие гидролиз и брожение, бактерии, образующие водород и уксусную кислоту, а также водородотрофные метанобразующие бактерии. Метанобразующие бактерии растут медленно и очень чувствительны к резким изменениям загрузки реактора и накоплению водорода. Можно надеяться, что усовершенствование конструкции реактора и контроль за процессом помогут уменьшить колебания загрузки реактора и позволят контролировать ее, определяя содержание водорода и промежуточных продуктов типа пропионовой и масляной кислот. Проблемы перегрузки, особенно существенные в случае промышленных стоков, можно обойти, увеличивая скорости оборота и применяя в качестве буферных систем сточные воды химических предприятий и бытовые сточные воды. Для увеличения метаногенной активности бактерий можно использовать обычные методы отбора или методы генетической инженерии. Оценить возможность использования данного процесса при переработке смешанных отходов, а также охарактеризовать потребности в питательных веществах и усовершенствовать начальный этап процесса за счет уменьшения количества необходимого микробного посевного материала поможет дальнейшее изучение физиологии и экологии участвующих в процессе микроорганизмов (рис. 6).

Для получения энергии и полезных побочных продуктов можно использовать самые разнообразные отходы и сырье.

К культурам, выращиваемым специально в целях конверсии энергии в газообразное топливо, относится кассава, конечными продуктами служат

метанол или этанол. Некоторые страны, например Бразилия, Австралия и Новая Зеландия, намерены использовать подобные вещества, получаемые биологическим путем, в качестве основного источника топлива. Сходные проекты обсуждаются и в некоторых европейских странах, например в Финляндии, Швеции и Ирландии.

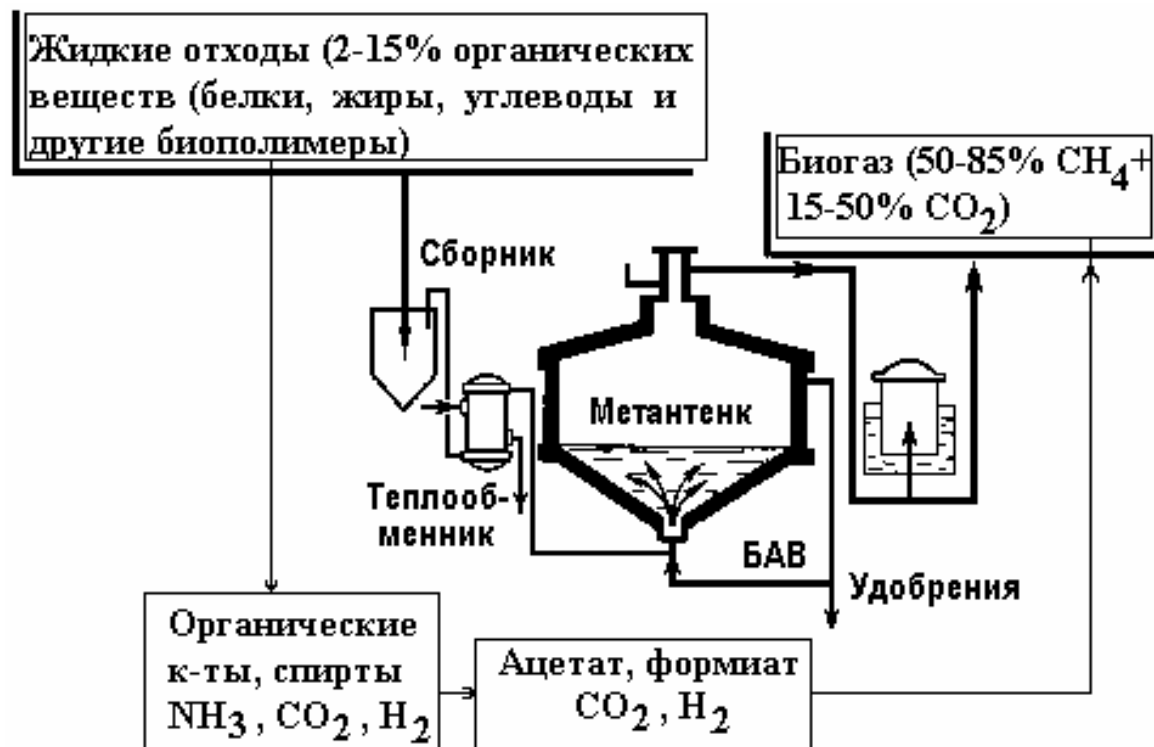


Рис. 6. Биохимическое расщепление отдельных соединений до метана и углекислого газа при анаэробном разложении отходов

В Англии работа по биоконверсии энергии проводится в рамках программы по использованию солнечной энергии (министерства энергетики), за счет этой программы финансируются и проекты ЕЭС по получению энергии биологическими способами. В США используется множество подходов; так, одно очистное сооружение за счет биологической конверсии бытового мусора позволяет получить газ в количестве, достаточном для обеспечения им 12 тыс. домов. Основные микробиологические и технологические проблемы этой технологии и перспективы ее применения в развивающихся странах были рассмотрены на Первой международной конференции по анаэробному разложению, состоявшейся в Кардиффе в 1979 году. Анаэробные ферментеры могут применяться также в целях получения промежуточных продуктов для

химической промышленности (например, уксусной, молочной и акриловой кислот в качестве химического сырья, идущего на переработку).

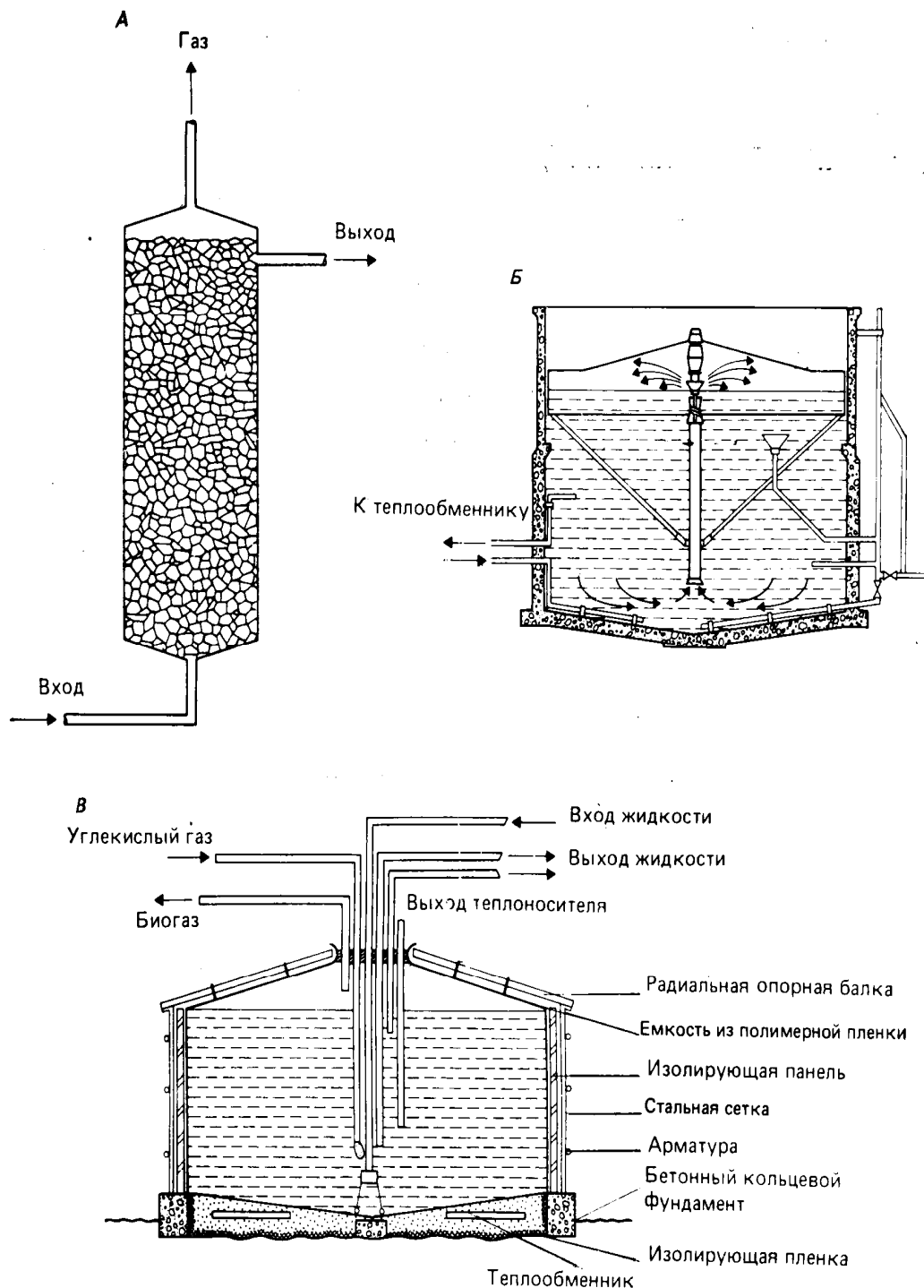


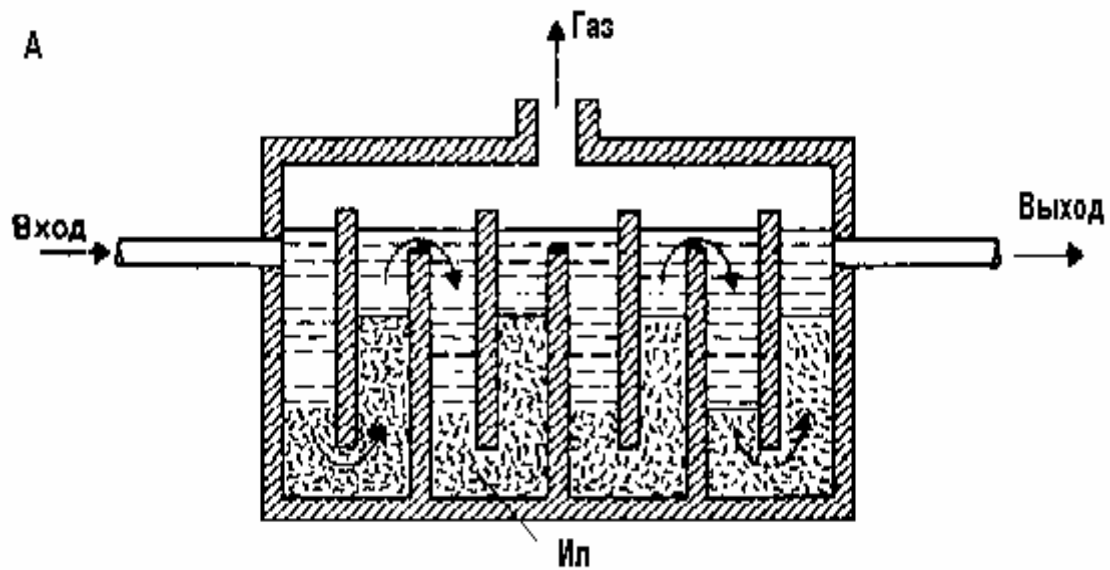
Рис. 7. Три типа установок, использующихся при очистке сточных вод пищевой промышленности: А – анаэробный фильтр; Б – упрощенная схема установки, в которой используется перемешивание с помощью винтового насоса и вытяжной трубы. Образование пены контролируется диспергированием содержимого реактора над поверхностью; В – высокоскоростной реактор Коулзера

Однако широкое использование анаэробных реакторов в целях получения газообразного топлива сдерживается рядом причин. Традиционно в конструкцию реакторов входили тэнки с мешалками, рассчитанные на длительное пребывание перерабатываемого материала. В целях сокращения этого времени были созданы реакторы, в которых переработанные отходы отделяются от биомассы, используемой повторно. Чтобы процесс был экономически выгодным, должны быть разработаны недорогие конструкции, которые не засоряются и включают простые в эксплуатации устройства для отвода тепла. Основные усилия в области анаэробной ферментации должны быть направлены на изучение этапов, лимитирующих скорость процесса. На первом из них происходит гидролиз целлюлозы и крахмала с образованием растворимых органических кислот и спирта. Вторым лимитирующим этапом может быть образование метана из этих жирных кислот с короткой цепью. Моделирование процесса разложения осложняется тем, что трудно сказать, какие микроорганизмы доминируют на том или ином этапе, и установить, какие именно этапы лимитируют скорость процесса. Возможно, в условиях реактора лимитирующими окажутся другие стадии. Крайне важно определить количества образуемых микроорганизмами газов, особенно водорода, диоксида углерода и сероводорода, который ингибирует активность метанобразующих бактерий. Недавно было проведено исследование анаэробного превращения ряда субстратов культурами известных микроорганизмов. Это очень сложный процесс, который ингибируется избытком диоксида углерода и сероводорода, тем не менее, из природных систем было выделено много новых участвующих в нем типов бактерий.

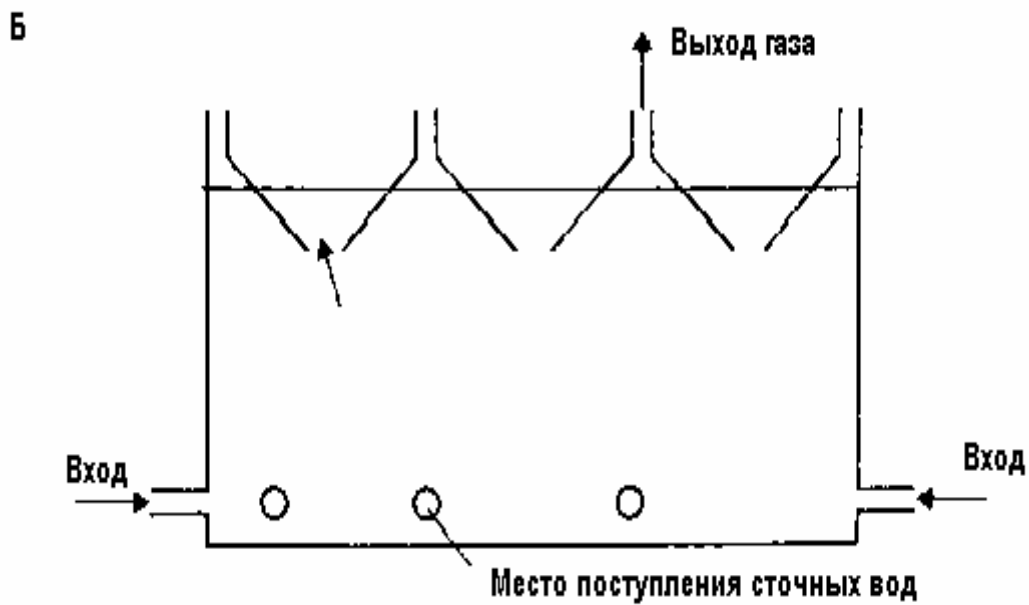
Промышленное применение систем анаэробного разложения неуклонно возрастает; они используются при переработке отходов животноводческих ферм и промышленных, в том числе пищевых, отходов, а также для переработки культур, специально выращиваемых для получения энергии. На рис. 7, 8 и 9 схематически представлены некоторые из имеющихся в продаже установок. Конструкция реакторов была существенно усовершенствована, что увеличило их эффективность на 300%. Многие новые модели еще не вышли из стен лабораторий или находятся на стадии производственных испытаний, однако некоторые полномасштабные системы уже работают и имеются в продаже.

Получение энергии из отходов представляет несомненный интерес для развивающихся стран, поскольку эту энергию можно извлекать и из природных продуктов. Сотрудничество между развитыми и развивающимися странами постоянно возрастает. В развивающихся странах созданы учреждения для практического использования технологий, разработанных главным образом в Европе и Америке. Некоторые развивающиеся страны ведут самостоятельные исследования в

этой сфере и сегодня лидируют в области фундаментальных разработок по возобновляемым источникам энергии.



Анаэробный реактор с перегородками (дефлекторами)



Реактор со слоем ила и потоком, направленным вверх

Рис. 8. Типы реакторов для переработки отходов животноводческих ферм (А) и различных стоков (Б)

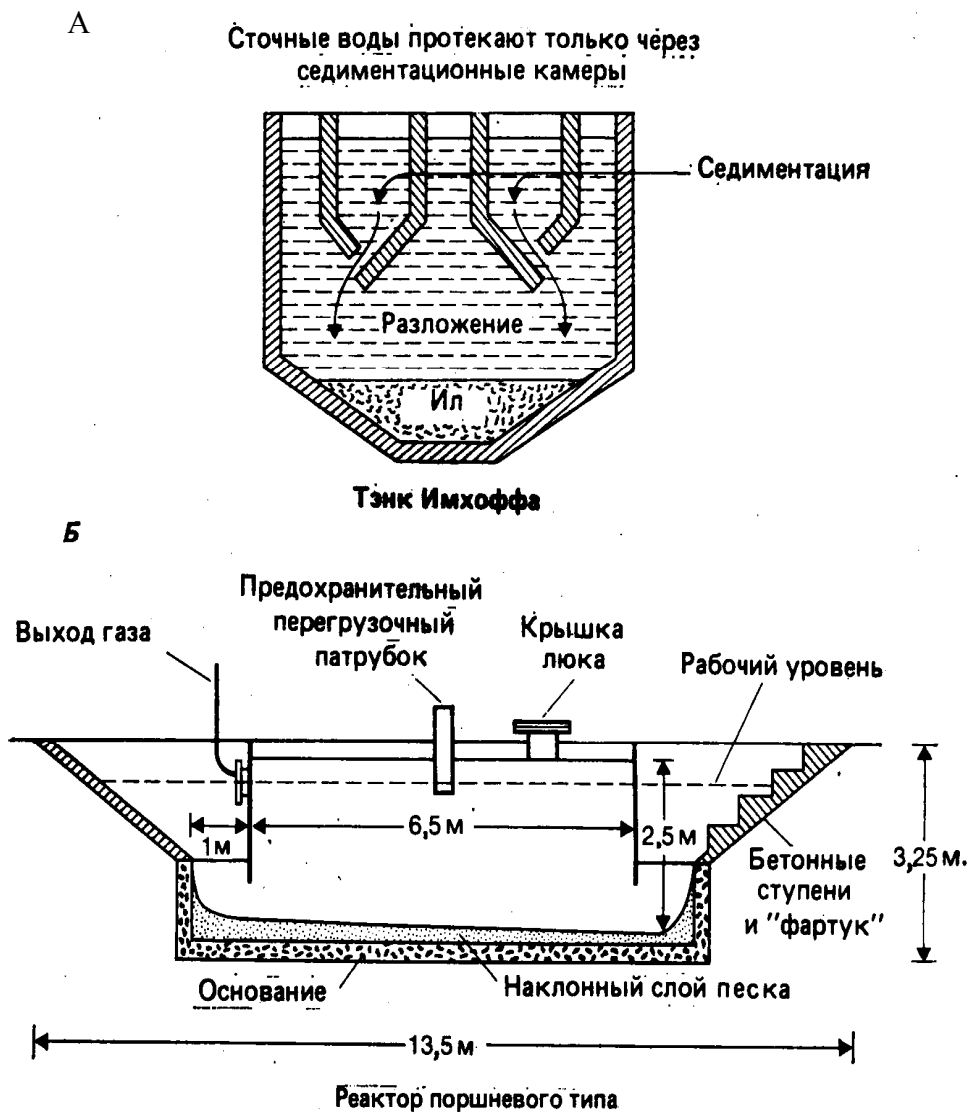


Рис. 9. Анаэробное разложение ила, образовавшегося в сточных водах (А), и отходов животноводческих ферм (Б)

Биологический контроль за системами микробиологической переработки отходов

Основным условием применения биологической переработки сточных вод является постоянный контроль за возможным токсическим действием на установку со стороны поступающих стоков, с тем чтобы предотвратить серьезные повреждения системы или даже выход ее из строя. При эксплуатации установок по переработке отходов и промышленных сточных вод важно следить за тем, чтобы не возникали

перегрузки. Обычные методы проведения анализов (например, измерение потребности в кислороде или определение рН) часто и недостаточно быстры, и малочувствительны. Однако в метаболической активности микроорганизмов существуют ключевые моменты, анализ которых дает возможность улавливать малейшие изменения в их состоянии. Например, благодаря внутриклеточному контролю метаболизма содержание АТР в популяции микроорганизмов сохраняется на относительно постоянном уровне, около 2 мкг на 1 мг сухой массы клеток. Изменения доступности субстрата или введение токсических веществ быстро сказываются на концентрации АТР внутри клеток. Мгновенная гибель клеток ведет к полной потере АТР за счет автолиза. Время оборота для АТР обычно не превышает 1 с.

Следовательно, о состоянии популяции (наступление стресса или периода покоя) можно судить по изменению уровня внутриклеточного АТР. Измерение концентрации АТР в активном или нормально функционирующей системе позволяет определить «активную биомассу» данной системы. В процессе производства клеткой энергии участвует кислород, и при его недостатке отношение между его поступлением и потребностью в нем отразится на уровне АТР (рис. 10).

По технологии, основанной на применении активного ила, большая его часть используется повторно, поступая из последнего седиментационного танка в аэрационный танк, а некоторая его часть поступает в реактор аэробного или анаэробного разложения. Доля повторно используемого ила и скорость его кругооборота определяют время контакта между поступающими сточными водами и микроорганизмами ила, а следовательно, и скорость очистки сточных вод. Эти факторы влияют на возраст ила, который в свою очередь определяет его способность к оседанию (рис. 11). Производительность активного ила в значительной степени зависит от скорости нарастания новой биомассы в аэрационном танке, которая в свою очередь зависит от изменений скорости поступления сточных вод и их состава. Поэтому контроль за процессом с целью его нормализации и получения на выходе конечного продукта, отвечающего определенным критериям, сопряжен с трудностями. Такой контроль можно проводить, определяя уровень АТР, регулируемый по принципу обратной связи. Действительно, измеряя концентрацию АТР, удалось заметно улучшить контроль за переработкой сточных вод с применением активного ила. Содержание АТР можно определять вручную; однако для постоянного контроля за процессом требуются автоматические измерительные устройства. Пробы жидкости, обработка которой закончена, вбирают через определенные промежутки времени на протяжении суток. Анализ уровня АТР в этих пробах позволяет найти отношение количества суспендированных в жидкой смеси твердых частиц к содержанию АТР, что в свою очередь показывает, какое количество

активного ила, содержащего АТР, нужно использовать повторно и какова подходящая скорость сброса. Содержание АТР определяется в течение 10 мин после отбора пробы, следовательно, контрольные измерения можно проводить каждые 15 мин. Использование микропроцессоров позволяет автоматически поддерживать скорость сброса с помощью клапанов или насосов, направляющих избыток активного ила в тэнк для разложения, а также менять скорость сброса ила в течение суток в ответ на изменение внешних условий.

При таком методе контроля получают гораздо более осветленный конечный продукт с меньшим содержанием суспендированных твердых частиц и меньшей величиной БПК. Преимущества данного метода огромны. В сочетании с системой контроля за поступлением кислорода он позволяет существенно повысить экономичность процесса переработки.

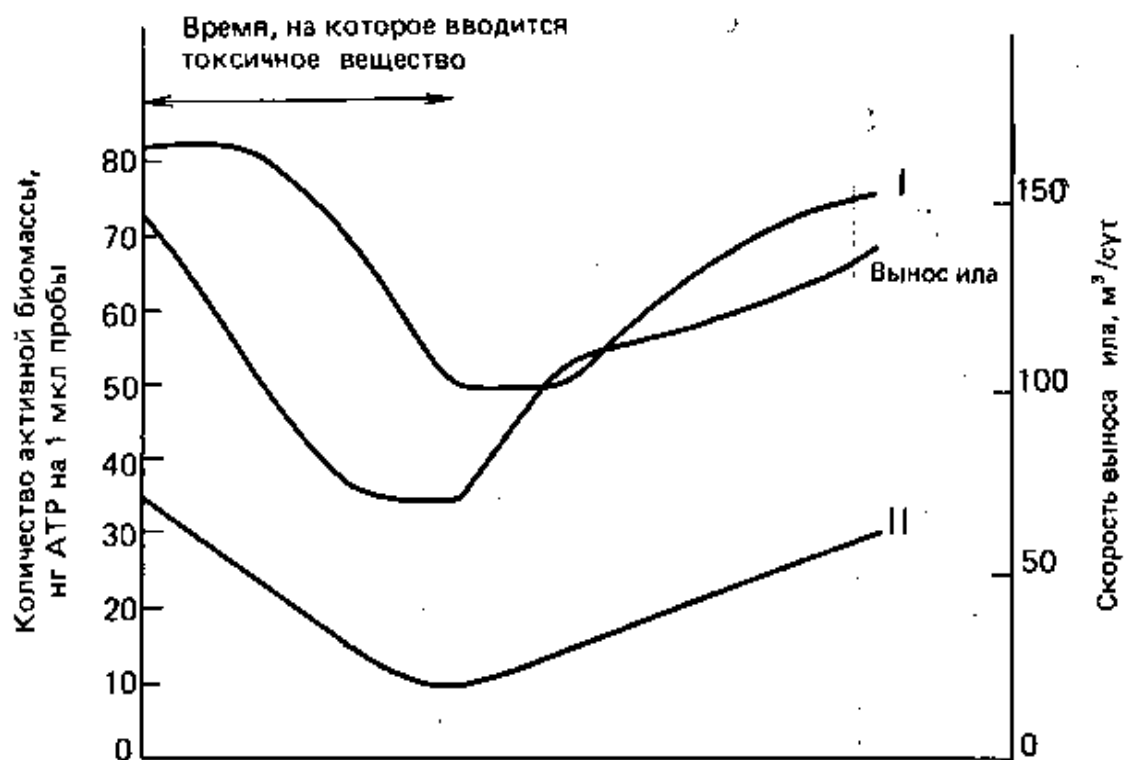


Рис. 10. Влияние введения в отходы токсичного вещества на активную биомассу (по результатам определения АТР). Показаны также изменения активности возвращаемого активного ила (I) и содержания суспендированных твердых частиц в смешанной жидкости (II)

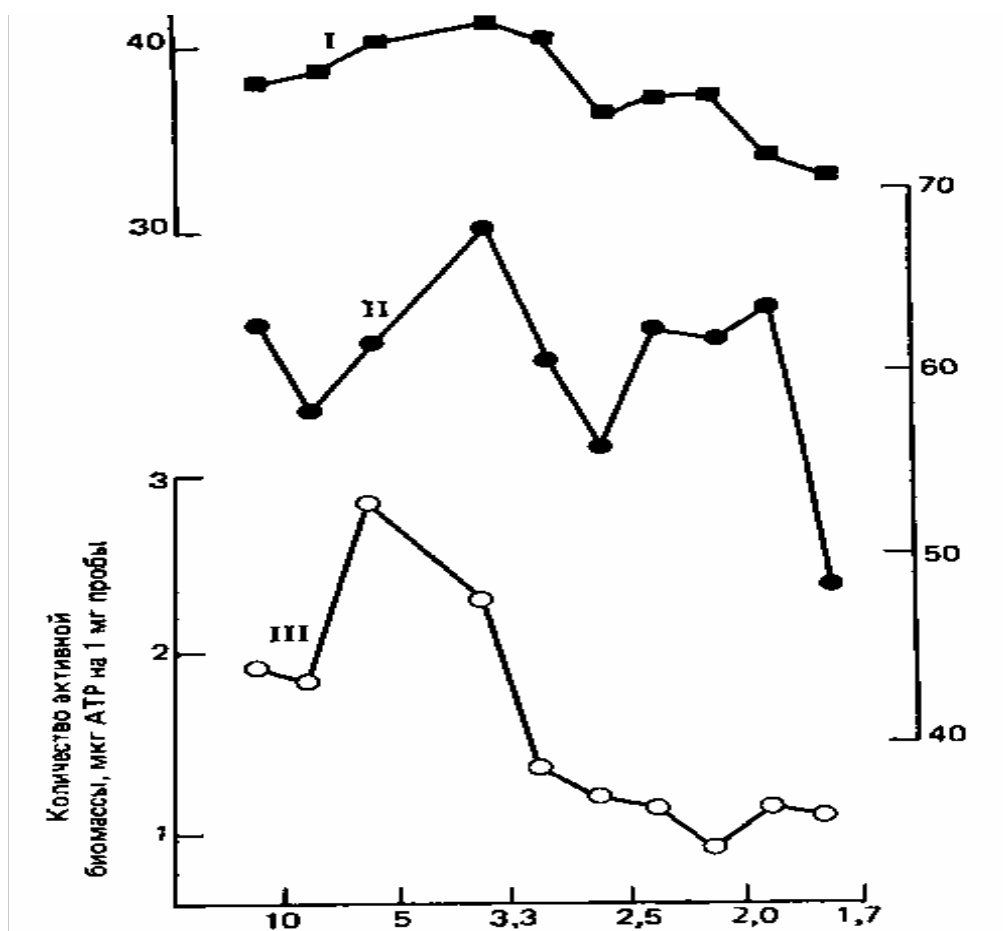


Рис. 11. Изменение количества активной биомассы (III), объема ила (II) и перемешиваемого удельного объема (I) для отходов, перерабатываемых в аэрационном танке, в зависимости от возраста ила

Контроль за патогенностью

Одно из основных достоинств процесса микробного анаэробного разложения состоит в элиминации с его помощью патогенных микроорганизмов, в особенности агентов, вызывающих порчу пищи (главным образом *Salmonella*). Для анализа выживаемости этих организмов, а также микробов группы *E. coli* в системах лабораторного масштаба использовали чувствительный метод наиболее вероятных чисел (НВЧ). К числу конечных продуктов неметаногенного разложения относятся насыщенные жирные кислоты, и есть данные, что к молекуле жирной кислоты перед деградацией за счет окисления присоединяется водород. Образующаяся октановая кислота особенно эффективно убивает патогенные микроорганизмы. На рис. 12 представлены данные о выживаемости *Salmonella* в супернатанте, образующемся при

анаэробном разложении. Видно, что жирные кислоты подавляют рост этих бактерий и приводят к их гибели.

Процессы анаэробного разложения оказывают ингибирующее действие и на микроорганизмы, патогенные для растений. Недавние исследования показали, что численность вида *Fusarium*, *Corynebacterium* и *Globodera* в ходе разложения уменьшается и падает почти до нуля через 10 суток после начала очистки сточных вод (рис. 13 – 15). Это позволяет надеяться на возможность использования процессов анаэробного разложения для переработки растительного сырья, пораженного возбудителями различных заболеваний (*Fusarium oxysporum* – дикариотическим грибом – возбудителем вилта и корневой гнили томатов, гвоздики и риса; *Corynebacterium michiganense* – возбудителем сосудистого вилта, рака и листовой пятнистости томатов, картофеля и табака; *Globodera pallida* – широко известной корневой нематодой картофеля, разрушающей корни растения-хозяина).

В сточных водах, образующихся в других условиях, например в регионах с тропическим климатом, могут присутствовать и другие патогенные микроорганизмы, например *Entamoeba histolytica*, вызывающая амёбную дизентерию. Это необходимо учитывать при разработке способов очистки отходов. Все биотехнологические подходы, столь полезные с точки зрения здравоохранения, следует развивать в самых широких масштабах.

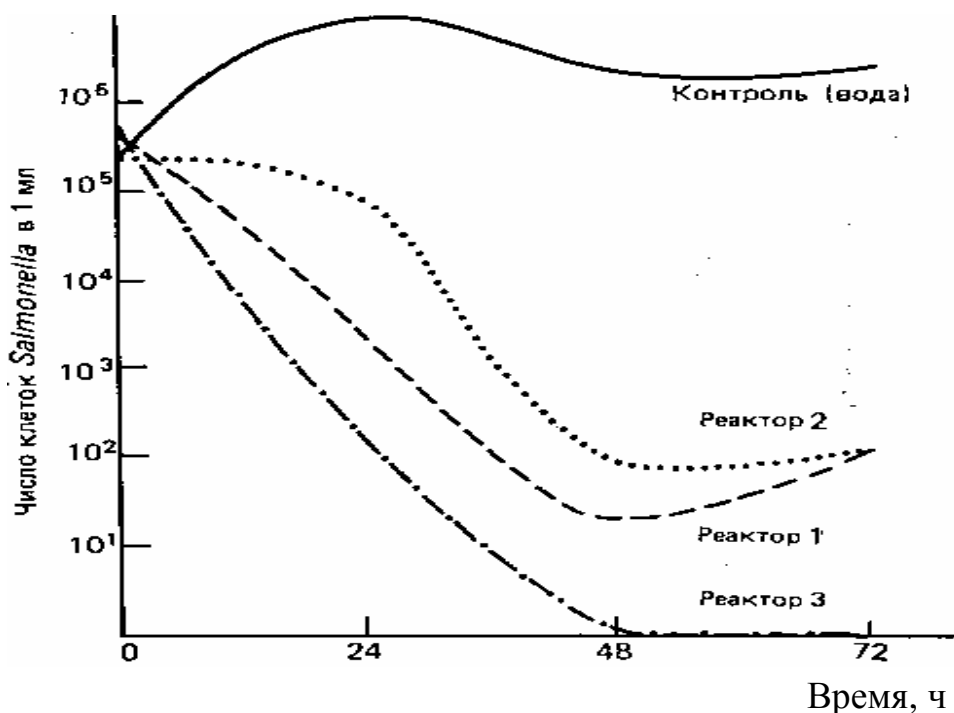


Рис. 12. Кривые выживаемости *Salmonella* в отстое, образующемся в реакторе при анаэробном разложении

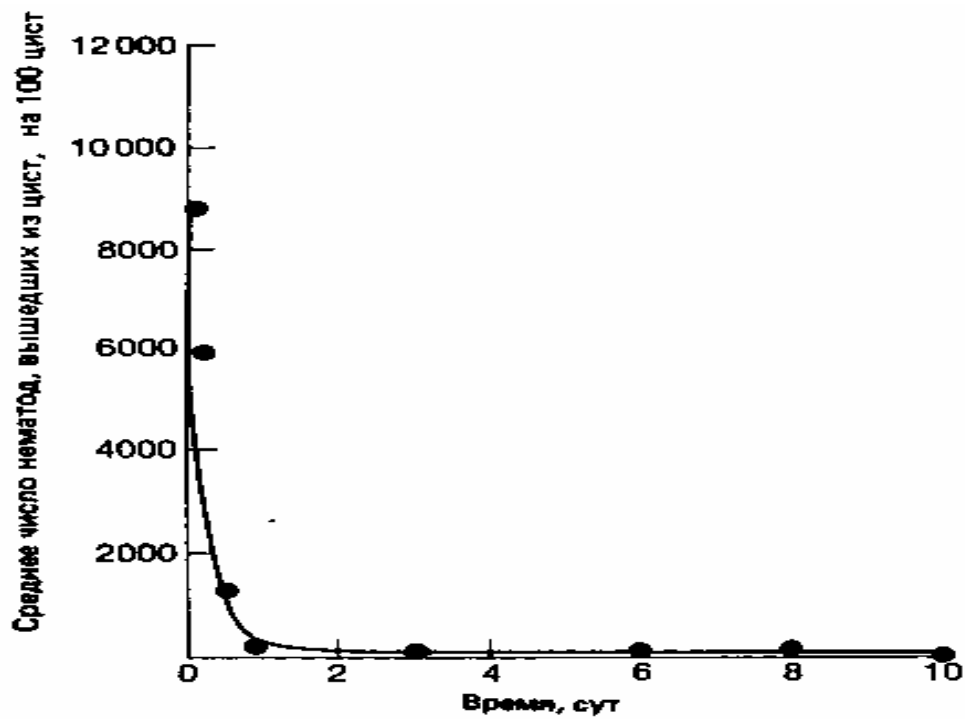


Рис. 13. Среднее число нематод *Globodera pallida*, вышедших из цист, на 100 цист в зависимости от времени воздействия на них содержимого анаэробного реактора при 35°C. Контрольная величина (7 сут в воде) – 8739 ± 444

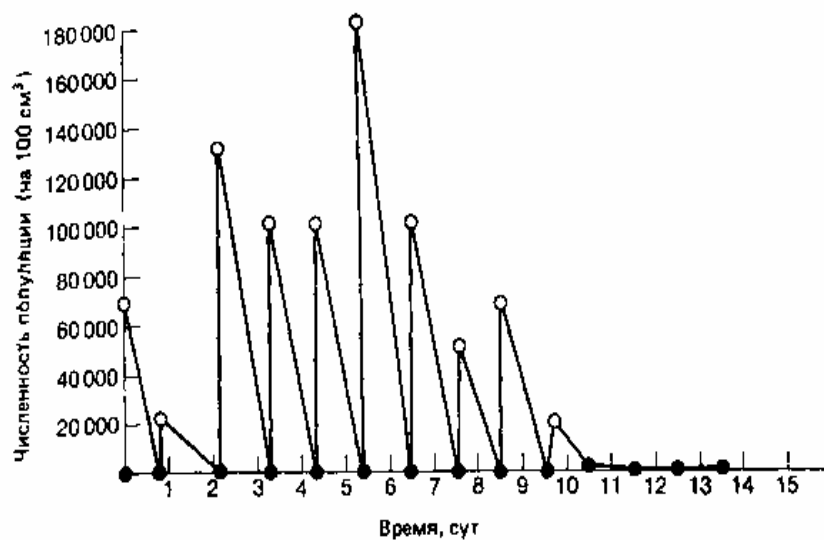


Рис. 14. Численность популяции *Fusarium oxysporum* до (•) и после (о) введения ее в анаэробный реактор

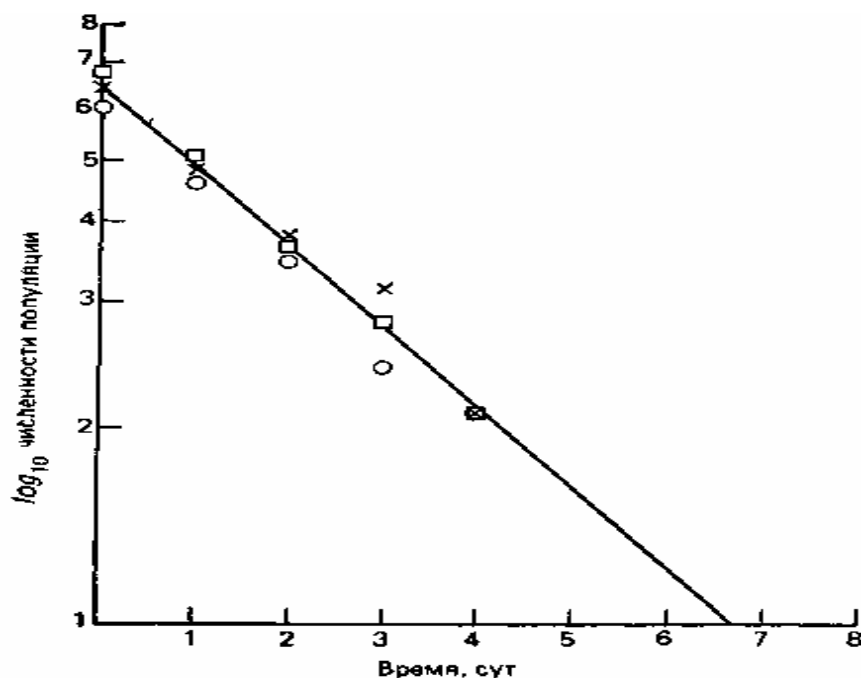


Рис. 15. Изменение численности популяции *Corynebacterium michiganense* при 35°C в течение 5 суток нахождения в анаэробном реакторе. Приведены результаты трех экспериментов

Извлечение полезных веществ

Одна из главных задач технологии, связанной с окружающей средой – это сохранение природных ресурсов путем повторного использования полезных веществ, содержащихся в отходах. Некоторые разработки в этой сфере получили финансовую поддержку со стороны правительств и это принесло свои плоды, но все же пока выход конечных продуктов и стоимость повторного использования биомассы в широких масштабах таковы, что эта технология оказывается экономически невыгодной. Тем не менее она может найти применение при получении таких ценных продуктов, как масла, металлы, витамины и пептиды.

Получение полезных материалов из отходов имеет два аспекта:

- 1) извлечение и/или концентрирование полезных веществ из отходов;
- 2) превращение отходов в полезные материалы.

Вода

Воду можно рассматривать как возобновляемый ресурс. Однако, сравнивая стоимость необходимого для очистки оборудования со стоимостью водопроводной воды, очистку загрязненной органическими веществами воды обычно считают неэкономичной. Повторное использование промышленных сточных вод экономично только в тяжелой промышленности (энергетика, сталелитейное производство и

угледобывающая промышленность), где можно применять не такую чистую воду, как питьевая, и поэтому свести к минимуму обработку сточных вод. Основные трудности здесь связаны с наличием соединений, неподдающихся переработке. Возможно, эту проблему удастся решить, используя микроорганизмы, которые приобрели способность разрушать такие соединения.

Удобрения

Потребность в более дешевых высококачественных белках животного происхождения непрерывно возрастает, а число работников сельского хозяйства, призванных удовлетворять эту растущую потребность, все время уменьшается. Для разрешения этого противоречия нужно было бы применять более интенсивные методы землепользования, и тогда мы будем получать все больше концентрированных отходов, которые в принципе можно применять как удобрения. Однако за последние 100 лет масштабы использования отходов животноводства в качестве удобрений уменьшились; на смену им пришли фосфорные и азотные удобрения, при получении которых используется ископаемое топливо. В Англии значительную часть сельскохозяйственной продукции (до 40% от общей стоимости) получают именно за счет применения химических удобрений. Однако цены на такие удобрения все время растут, и становится экономически выгодным использование отходов животноводства в качестве органических удобрений.

Табл. 1 иллюстрирует возможность получения удобрений на основе навоза сельскохозяйственных животных. Результаты анализа каждого типа удобрений приведены в табл. 2. Ценность отходов как удобрений и пути их использования определяются составом. Кроме того, перед внесением навоза в почву из него путем анаэробного разложения можно получать энергию. Определить изменение стоимости удобрения в результате такого разложения трудно; тем не менее, ясно, что удобрения на основе переработанного навоза достаточно дешевы.

Таблица 1

Получение удобрений на основе навоза сельскохозяйственных животных

Параметры	Птицы	Свиньи	Молочные коровы
К, г/сут	0,1	4,5	45
% от живого веса	5 – 6	8 – 9	9 – 11
Сухое вещество, %	20 – 30	15 – 20	10 – 11
Средний сухой вес, кг	0,03	0,7	4,5

Таблица 2

Содержание питательных веществ в навозе

Животные	Сухое вещество, %	Содержание различных компонентов (кг/т свежего навоза)			
		N	P	K	Mg
Крупный рогатый скот	4 – 23	2,4 – 6,5	0,4 – 1,8	2,0 – 5,8	0,2 – 0,6
Свиньи	5 – 25	1,6 – 6,8	0,6 – 2,1	1,7 – 3,6	0,3 – 0,7
Птицы	23 – 68	9,6 – 23	2,4 – 12	3,8 – 11,6	1,2 – 2,2

Корма для животных

В Англии в результате человеческой деятельности образуется в год много отходов. Если учесть, что при интенсивном животноводстве образуется $180 \cdot 10^9$ кг отходов, то становится ясно, что при переработке всех этих отходов мы можем получить многие тонны активного ила. В процессе переработки отходов при участии микроорганизмов образуется много микробного белка, который можно повторно использовать как корм для скота, поскольку 30 – 40% сухой массы выросших клеток – это неочищенный белок.

На рис. 16 описан метод экстракции белка из активного ила, а в табл. 3 приведен состав белка одноклеточных организмов (БОО) из того же источника. Тяжелые металлы, обнаруженные в отстое сточных вод (например, медь из отходов свиноводства, где ее присутствие обусловлено применением концентратов меди для кормления животных), необходимо удалять. Идеальным результатом такого повышения качества ила сточных вод путем экстракции белка должен быть безвредный, чистый, экономичный корм для скота. Кроме того, в иле образуются и другие ценные биологические соединения, например аминокислоты и витамины.

В табл. 4 представлена концентрация аминокислот в белковом продукте из активного ила, применяемом в качестве корма для рыб. Однако бытовые и сельскохозяйственные отходы, по-видимому, непригодны для промышленного получения БОО. Это связано с их низкой пищевой ценностью и с необходимостью получения продукта, свободного от токсичных веществ и патогенных микроорганизмов. Существуют и

экономические проблемы, определяемые расходами на ферментацию и оборудование, необходимое для высушивания. Незараженные отходы производства пищевых продуктов и напитков, а также бродильной промышленности можно использовать в качестве добавок к корму. Однако экономическая целесообразность применения еще не доказана.

Министерство сельского хозяйства, рыболовства и пищевой промышленности опубликовало инструкцию «О порядке переработки белка» от 1981 г., касающуюся использования белковых продуктов, получаемых из ила, в качестве корма. Правительство ограничилось предложениями по ужесточению стандартов, указанных в Актах о болезнях животных от 1975 года. В них особое внимание уделено контролю за такими возбудителями заболеваний, как *Salmonella*.

Биологическая переработка промышленных отходов

Промышленные отходы можно в первом приближении разделить на две категории: 1) отходы производств, основанных на использовании биологических процессов (производство пищевых продуктов, напитков, ферментация); 2) отходы химической промышленности. В первом случае отходы имеют различный состав и обычно перерабатываются путем биологического окисления, как это делалось традиционно в случае бытового мусора. Однако такой способ экономически невыгоден, и в настоящее время широко обсуждается вопрос о возможности уменьшения объема разбавленных сточных вод либо их непосредственного использования – трансформации (для получения биомассы или других ценных продуктов) или же путем извлечения из них ценных соединений.

В многочисленных и разнообразных отраслях химической промышленности образуется большое количество отходов, чем многие из них с трудом поддаются разрушению и долгое время присутствуют в среде. Поэтому часто перед биологической переработкой отходов бывает необходимо провести предварительную химическую или физическую обработку. Использование специфических микроорганизмов расщепления ксенобиотиков при переработке отходов еще не нашло широкого применения в промышленности, и тем не менее подобный подход представляется весьма перспективным.

Это может быть: 1) деградация отдельных видов отходов *in situ* с помощью специализированных культур микроорганизмов или их сообществ; 2) введение специально подобранных культур в обычные системы переработки отходов; 3) ликвидация и обезвреживание разливов нефти; 4) извлечение металлов; 5) биологическая очистка газов от пахучих и вредных соединений (меркаптанов, сероводорода, цианида, хлорзамещенных углеводородов и т. д.); 6) получение биомассы из отходов; 7) превращение отходов в метан.

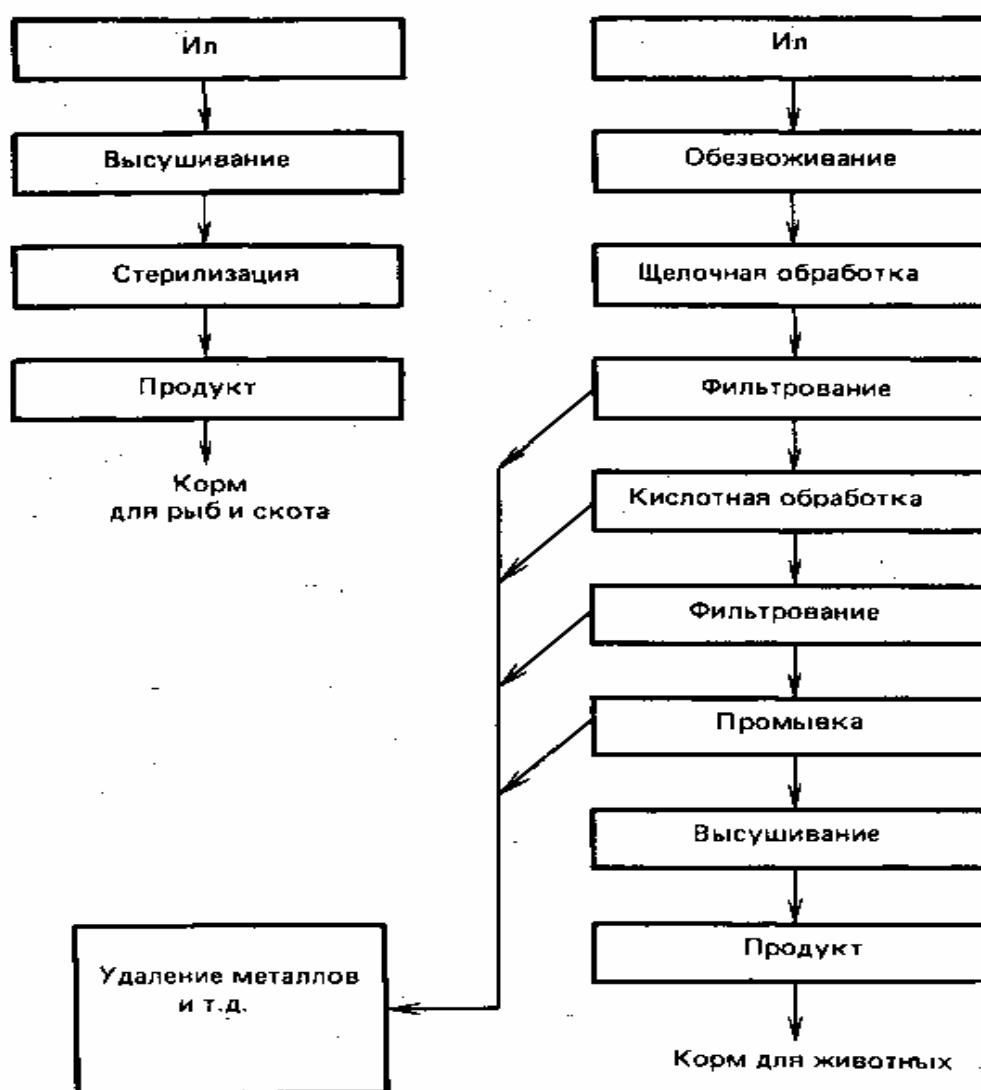


Рис. 16. Получение белка из активного ила, образующегося в сточных водах

Таблица 3

Состав белка одноклеточных организмов, обитающих в активном иле

Компонент	Масса, %
Вода	7,85
Общий белок (Nx6,25)	37,80
Истинный белок	31,25
Жиры	1,73
Зола	25,15
Кислотонерастворимая зола	12,33
Углеводы (в пересчете на глюкозу)	9,80
Волокнистые вещества	10,50
Валовое содержание энергии (ккал/г)	16,20

Таблица 4

Концентрация аминокислот в белковом продукте из активного ила

Аминокислота	Количество, г/100 г пробы
Серин	1,4
Аспарагиновая кислота	2,86
Глутаминовая кислота	3,62
Пролин	1,28
Глицин	2,26
Аланин	2,95
Цистеин	0,25
Тирозин	0,72
Треонин	1,86
В а л и н	2,19
Метионин	0,25
Изолейцин	1,42
Фенилаланин	2,07
Гистидин	0,69
Лизин	1,68
Аргинин	1,59
Триптофан ¹⁾	—

¹⁾Разрушается при кислотном гидролизе

В результате широкого применения человеком продукции химической промышленности в окружающую среду попадают различные типы ксенобиотиков: пластмассы (пластификаторы), взрывоопасные вещества, добавки, полимеры, красители, поверхностно-активные вещества (ПАВ), пестициды и органические соединения – производные нефти. Что касается бытового мусора, то для его переработки созданы широко применяемые системы, использующие активный ил и оросительные фильтры. Сточные же воды химической промышленности, как правило, не соответствуют возможностям подобных систем. Интенсивность переноса кислорода в ходе процессов, обычно протекающих в таких системах, бывает недостаточна для поддержания максимальной скорости окисления при участии микрофлоры. Эти процессы чувствительны также к колебаниям в загрузке реактора, особенно если токсичные вещества и ингибиторы поступают в систему в высоких и непостоянных концентрациях.

Проблему недостатка кислорода, возникающую при переработке отходов химической промышленности в обычно используемых системах на основе активного ила, пытались решить несколькими способами. В двух случаях (распределитель с пробулькиванием и система «Анокс») для увеличения скорости переноса газа использовали чистый кислород. В

одной из новых систем переработки отходов – колонном эрлифтным ферментере, разработанном фирмой ICI, пошли по пути увеличения количества растворенного кислорода (рис. 2). В центральной части колонны имеется не доходящая до дна вертикальная секция, в которую сверху поступают отходы и повторно используемый активный ил; туда же вводится воздух. Когда смесь выходит из ферментера вверх по наружной секции колонны, давление в системе падает, что вызывает пробулькивание пузырьков воздуха. Благодаря высокому содержанию растворенного кислорода и турбулентности биомасса поддерживается в высокоактивном состоянии и становится более устойчивой по отношению к перегрузкам, а также к уменьшению аэрации и времени нахождения отходов в ферментере особенно в случаях высоко концентрированных отходов.

Такие процессы с повышенной аэрацией устойчивы к резким перегрузкам отходами, не оказывающими токсического или ингибирующего действия. В случае же токсичных отходов, более пригодными оказываются системы, в которых используются микроорганизмы, растущие в пленках. Такие популяции микробов не вымываются из системы, даже если на их рост и метаболизм оказывают неблагоприятное воздействие поступающие сточные воды. Кроме того, внутри пленки из-за ограничения диффузии создаются градиенты концентрации. Это приводит к понижению концентраций токсичных продуктов внутри пленки, а следовательно, к повышению скорости их усвоения и окисления. Пленка создает также экологическую нишу для организмов, рост которых в присутствии высоких концентраций отходов при перегрузках существенно замедляется. Самая простая форма пленочной системы – это перколяционный фильтр, однако подобного рода пленки разрушаются, если они становятся очень тонкими, при уменьшении концентрации субстрата на поверхности подложки. В таком случае клетки погибают, и пленка отпадает, засоряя фильтры внутри системы переработки отходов. При слишком высоких концентрациях субстрата происходит быстрый рост микроорганизмов, что приводит к образованию толстой пленки и к ее периодическому отслоению. Интенсивность подобных процессов можно снизить, разбавив поступающий раствор с питательными веществами, осветленными сточными водами. Разработка новых методов сохранения толщины пленки представляет безусловный интерес. Так, при помощи медленного вращения диска из полистирола внутри протекающих сточных вод толщина пленки поддерживается постоянной за счет гидродинамических сил и аэрации при выходе пленки из воды. Такая эффективная и простая система была предложена для очистки стоков с низкой величиной БПК. Еще один эффективный метод переработки токсичных отходов *in situ* может быть основан на использовании

реакторов с оживленной подложкой, где микроорганизмы растут на поверхности небольших инертных частиц (песок, стекло, антрацит), через слой которых пропускают с контролируемой скоростью сточные воды и воздух.

Отходы, не содержащие азота или фосфора, не способны поддерживать рост микроорганизмов. В подобных случаях для окисления токсичных соединений до диоксида углерода можно использовать покоящиеся клетки при условии, что активность их гидролитических и окислительных ферментов не подавляется. Поскольку среда при переработке отходов в колонных реакторах периодически меняется, микроорганизмы оказываются в условиях голодания и в это время их рост прекращается. При поступлении источника углерода на короткое время включается несопряженный метаболизм, когда организмы дышат, но не растут. Это дает то преимущество, что уменьшается общий выход биомассы (ила).

Рассмотрим методы биологической переработки промышленных отходов на примерах молочной, бумажной промышленности и производства красителей.

Отходы молочной промышленности. Сыворотка

Сыворотка является побочным продуктом сыроварения. Ее состав зависит от типа используемого молока и вырабатываемого сыра. В высушенном или концентрированном виде сыворотка применялась в качестве корма для животных; однако ее недостатком является то, что она не сбалансирована с точки зрения содержания питательных веществ: в ней слишком высока концентрация минеральных веществ и лактозы.

Разработаны способы извлечения из сыворотки белков путем ультрафильтрации, осаждения или выделения с помощью ионного обмена. Из таких белков можно получать белковые гидролизаты, используя для этого ферментеры. После извлечения белков получают большие объемы фильтратов с высокими концентрациями лактозы (35 – 50 г/л), минеральных веществ, витаминов и молочной кислоты. Встает проблема дальнейшего их использования. Если превратить лактозу в молочную кислоту при участии молочнокислых бактерий, то мы получим источник углерода, который может сбраживаться дрожжами (например, смешанными культурами *Lactobacillus bulgaricus* и *Candida krusei*). Возможно и прямое сбраживание лактозы дрожжами *Kluyveromyces fragilis* или *Candida intermedia*. После подобного сбраживания не обязательно отделять микроорганизмы от среды, объем которой можно уменьшить и получить обогащенную белком сыворотку,

Из сыворотки получают не только белковые продукты, но и путем ферментации – сырье для химической промышленности (например, этанол). Путем химического гидролиза лактозы с последующим удалением глюкозы из раствора с помощью ферментации можно получать галактозу.

Альтернативный биологический путь – использование мутантных дрожжей, лишенных β -галактозидазы. Такие мутанты сохраняют способность к гидролизу лактозы и используют образующуюся глюкозу в качестве источника углерода. В результате гидролиза лактозы фильтрат становится более сладким; на опытных установках такой гидролиз осуществляют с помощью иммобилизованной β -галактозидазы. Гидролизированный фильтрат не только находит применение в пищевой промышленности, но может оказаться полезным и при решении проблем, связанных с недостатком ферментов у некоторых животных-отъемышей и с непереносимостью лактозы у человека. Из сыворотки получают и другие химические соединения: лактозу, лактулозу, лактитол и лактобионовую кислоту.

Отходы целлюлозно-бумажной промышленности

Волокнистый материал, применяющийся при производстве бумаги и других продуктов, получают как из древесных, так и из травянистых растений после химического расщепления лигнина. Однако этот процесс сопровождается потерей большого количества древесины и образованием огромного количества отходов. Все это должно стимулировать разработку альтернативной химической технологии.

В настоящее время применяют два процесса получения древесной пульпы. Основной из них – это щелочная варка (сульфитный процесс), в результате которой образуется темная варочная жидкость. Эти отходы содержат трудно перерабатываемые ароматические продукты расщепления лигнина и низкомолекулярные органические кислоты (глюкоизо-сахариновую, молочную, уксусную и муравьиную). При получении пульпы из смолистой древесины сосны образуются талловое масло и терпены, широко использующиеся в промышленности. Сульфитную варочную жидкость не удастся перерабатывать биологическими способами, которые могли бы применяться в промышленном масштабе; гораздо экономичнее выпаривать эту жидкость и сжигать ее, получая, таким образом, энергию из отходов.

Сульфатная варка целлюлозы применяется реже; она дает отходы следующего состава: лигносульфонаты с ароматическими элементами (60%), сахара – манноза, галактоза, глюкоза, ксилоза, арабиноза (36%), уксусная кислота, метанол и фурфураль. Эти жидкие отходы – хорошее сырье для ферментации, благодаря высокому содержанию в них углеводов.

Их ферментация в широких масштабах начата в 1909 г. В настоящее время традиционным методом удаления пентоз, гексоз и уксусной кислоты из таких отходов служит их ферментация при участии дрожжей.

Помимо этих традиционных методов вскоре будут использоваться и новые процессы превращения отходов в грибной белок с помощью *Paecilomyces variotii*, *Sporotrichum pulverulentum* и *Chaetomicum cellulolyticum*. Неподдающиеся переработке соединения можно концентрировать и сжигать.

Лигносультфонаты применяют в качестве связывающих веществ и вспомогательных средств при бурении; щелочным окислением при повышенном давлении их можно превращать в ванилин. Вообще говоря, главное в переработке отходов целлюлозно-бумажной промышленности – это понижение энергозатрат, а какой химический принцип при этом используется – менее существенно.

Основная экологическая проблема, порождаемая целлюлозно-бумажной промышленностью, – это очистка сточных вод, а также обработка конденсатов, образующихся в испарителях и реакторах. Сточные воды осветляют путем нейтрализации и отстаивания, окисления в одно- и двухстадийных установках с активным илом, в аэрируемых отстойниках или путем сочетания биологических и химических способов окисления. Эти методы пригодны для эффективного удаления соединений, подверженных биодegradации, а также токсичных производных фенола, однако они оказываются дорогими и неэффективными в случае производных лигнина, с трудом поддающихся переработке. Отбеливатели, содержащие хлорпроизводные бифенилов, можно обесцвечивать с помощью грибов – возбудителей белой гнили.

Среди побочных продуктов сульфитного процесса получения целлюлозы преобладают химически модифицированные лигнины, образующиеся во многих реакциях между активным сульфитом и каким-либо сложным природным полимером.

Структура лигносультфонатов в деталях неизвестна. Они представляют собой гетерогенную смесь соединений с широким спектром молекулярных масс (300 – 100000); состав смесей определяется природой перерабатываемой древесины. Образование сультфонатов приводит к частичной солубилизации лигниновых фрагментов.

Сложность структуры лигносультфонатов затрудняет изучение их биодegradации. Для упрощения задачи обычно используют модельные соединения, например дегидрополимеры кониферилового спирта или другие низкомолекулярные продукты. Низкомолекулярные лигно-сультфонаты чувствительнее к биодegradации, чем высокомолекулярные; с другой стороны, производные лигнина, видимо, устойчивее к разрушению, чем сам лигнин. Следовательно, образование сультфо-производных затрудняет переработку.

В таких сопряженных окислительно-деградативных процессах почвенные грибы и бактерии более эффективны, чем гниlostные грибы; для осуществления этих процессов требуется также дополнительный источник углерода.

Распад лигносульфонатов нередко сопровождается полимеризацией, в результате чего наблюдается сдвиг в распределении полимеров по молекулярным массам. Эти изменения могут коррелировать с присутствием внеклеточных фенолоксидаз (например, лакказы), физиологическая роль которых остается неизвестной. Фенолы превращаются в соответствующие хиноны и фенокси-радикалы, которые спонтанно полимеризуются. Таким образом, полимеризация и деградация происходят одновременно. Однако в случае некоторых грибов реакции полимеризации не протекают в присутствии целлюлозы. Целлюлоза распадается до целлобиозы, являющейся субстратом для фермента целлобиоза-хинон-оксидоредуктазы, которая одновременно окисляет целлобиозу и восстанавливает хиноны и фенокси-радикалы. Может существовать и другая оксидоредуктазная система, в которой легко доступные источники углерода используются для восстановления хинонов. Возможная роль подобной биологической полимеризации состоит в облегчении осаждения лигносульфонатов.

Лигносульфонаты применяются как связывающие вещества при производстве отдельных видов картона, где в качестве катализатора полимеризации используют содержащие лакказу культуральные фильтраты. Фенолоксидазы могут играть важную роль в определении судьбы многих ксенобиотиков в окружающей среде, участвуя в полимеризации фенолов и в образовании органических полимеров почвы.

Чувствительность лигносульфонатов к биodeградации увеличивается после их химической или физической модификации. Под действием УФ-облучения и озонирования происходит фрагментация этих молекул, а удаление остатков сульфоновой кислоты, хотя и снижает растворимость лигносульфонатов, одновременно уменьшает их устойчивость к биodeградации.

Предпринимались попытки использовать для микробного десульфирования анаэробные сульфатредуцирующие бактерии и некоторые виды *Pseudomonas*. Большими потенциальными возможностями в этом смысле обладают смешанные культуры. Использование таких культур для разрушения лигносульфонатов может оказаться более эффективным, чем применение отдельных штаммов, поскольку при этом могут быть созданы сообщества с широким спектром активностей, например способные к десульфированию, расщеплению прочных связей, метилированию и деполимеризации. В результате может быть получена высокоэффективная биоокислительная система. В одной из опытных установок для получения БОО из углеводов, содержащихся в отходах целлюлозно-

бумажной промышленности, используют *Candida utilis*, а для разрушения остаточных лигносульфонатов – смешанную культуру. Биомасса, образующаяся на второй стадии этого процесса, не находит сбыта, поэтому ее повторно используют после термообработки для ускорения роста *Candida*.

Отходы от производства красителей

Текстильная промышленность и производство красителей отправляют в отходы устрашающее количество красителей и пигментов, единственным общим структурным свойством которых является наличие хромофорной группировки. Они поступают в окружающую среду со сточными водами; с количественной точки зрения эти соединения не относятся к числу основных ее загрязнителей. Кроме того, эти отходы обычно не рассматриваются как токсичные или канцерогенные для рыб или млекопитающих (за исключением бензидина и катионных красителей).

Для очистки окрашенных сточных вод применяют химические методы; удаление красителей и пигментов с помощью микробов весьма ограничено. Устранение этих продуктов из отходов с помощью активного ила заключается в основном в адсорбции, а не в деградации. Степень их разложения микроорганизмами определяется растворимостью, ионными свойствами, а также природой заместителей и их числом.

Оказалось, что микроорганизмы способны разлагать красители, но только после адаптации к значительно более высоким концентрациям, чем те, которые обычно обнаруживаются в сточных водах. Поскольку микроорганизмы могут использоваться для контроля за загрязнением окружающей среды этими соединениями, был проведен скрининг, направленный на выявление тех микроорганизмов, которые способны к расщеплению модельных веществ типа *p*-аминобензолов, а также скрининг и селекция организмов из дренажных канав предприятий по производству красителей. Были сделаны попытки найти взаимосвязь между подверженностью соединения биodeградации и его химической структурой.

Компоненты азокрасителей могут разлагаться в аэробных или анаэробных условиях. Анаэробная биodeградация осуществляется относительно легко, поскольку многие организмы синтезируют неспецифические ферменты, катализирующие восстановительное расщепление азогруппы (рис. 17). Однако для дальнейшей деградации необходим двухстадийный процесс, продукты которого – амины – могут быть потенциально вредными и их подвергают окислительному расщеплению.

Азоредуктазы, выделенные из аэробных систем, несмотря на то, что по-видимому, обладают большей субстратной специфичностью до сих пор не нашли себе широкого применения при переработке отходов. Процесс разложения азокрасителей изучался на примере простого модельного соединения 4,4'-дикарбоксиазобензола (ДКАБ). Выделены организмы, использующие это соединение в качестве единственного источника углерода, азота и энергии.

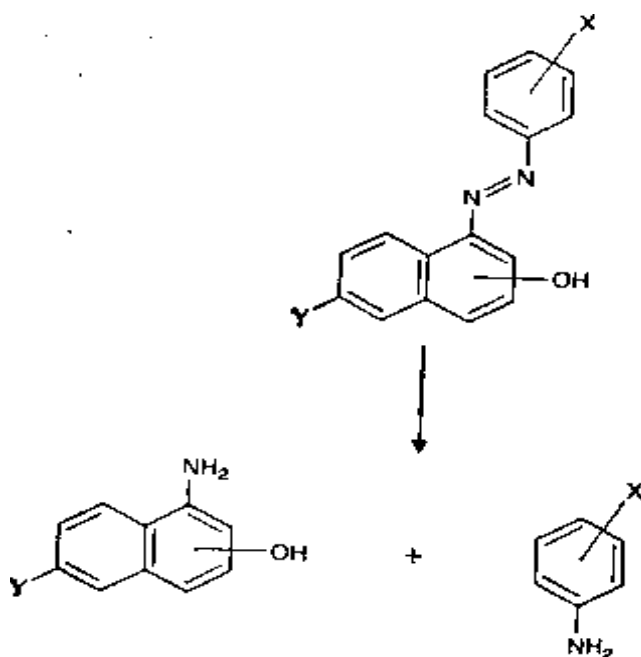


Рис. 17. Анаэробное восстановительное расщепление модельных азокрасителей

Ранее считалось, что азосвязь в природе не образуется. Однако среди продуктов, синтезируемых одним из грибов – патогеном насекомых – было идентифицировано азосоединение, так что бактериям приходилось встречаться с этим типом связей *in vivo*. Был выделен один из видов *Flavobacterium*, разрушающий только *транс*-ДКАБ; если использовать ингибиторы ферментов, раскрывающие кольцо, то это приводит к накоплению аминobenzoата. Тем не менее, данный организм не расщепляет промышленные красители, а попытки ввести его в непрерывную культуру для длительной адаптации оказались безуспешными. *Flavobacterium* не выдерживала конкуренции: со стороны другого организма – одной из псевдомонад, способной расти при высоких концентрациях (750 мг/л) используемого ею синтетического красителя и, следовательно, эффективно разрушать его. При повышенной температуре эта способность утрачивалась. Возможно это связано с тем, что упомянутая функция кодируется плазмидой. Следует отметить, что

полученные штаммы обладают высокой субстратной специфичностью и едва ли выживут в установках для очистки сточных вод.

Биологическая очистка газов

Очистка отходов от вредных, токсичных и пахучих газов – это серьезная экологическая проблема. Во многих промышленных производствах (в фотопромышленности, при перегонке нефти, очистке природного газа и в целлюлозно-бумажной промышленности) образуются восстановленные соединения серы (тиосульфат, сероводород, метилмеркаптаны, диметилсульфид). Эти соединения являются также побочными продуктами анаэробного разложения отходов животноводства с высоким содержанием органических веществ. Большинство неорганических восстановленных соединений серы служат источником энергии для целого ряда микроорганизмов, растущих в аэробных или анаэробных условиях (рис. 18). Могут быть созданы очистные системы, основанные, например, на использовании тиобацилл: в таких системах анаэробное десульфуривание сопряжено с денитрификацией. Один из методов очистки от сероводорода состоит в пропускании газа через солевой раствор, например раствор сульфата меди. В результате происходит осаждение нерастворимого сульфида металла, который затем может быть окислен при участии микроорганизмов. Количество отходов с неприятным запахом увеличивается и в результате интенсификации животноводства. Для устранения этого запаха из отходов удаляют, в частности, восстановленные соединения серы; такое удаление происходит с потерей азота или без потери (путем образования аммиака) в зависимости от того, какие микроорганизмы при этом используются. Органические сульфиды часто бывают токсичными для микроорганизмов. Например, обогащение отходов микроорганизмами, способными использовать диметилсульфид, затруднено, хотя в принципе можно выделить сообщество микробов, растущее на очень близком по структуре субстрате диметилсульфоксиде. Преобладающий в таком сообществе организм *Hyphomicrobium spp.* быстро окисляет диметилсульфид, так что есть основания надеяться на создание относительно простого микробиологического способа переработки таких ядовитых отходов.

Для детоксикации цианида в промышленных отходах были предложены различные биологические методы: от использования активного ила до применения специфических ферментов, разрушающих цианид. Так, роданаза, обнаружена у *Bacillus stearothermophilus*, катализирует превращение цианида в тиоцианат. Альтернативная иммобилизованная система основана на гидролизе цианида до формамида, катализируемом индуцибельным ферментом цианидгидратазой. Этот фермент был обнаружен в грибах, паразитирующих на растениях –

цианогенах. Таким образом, мы имеем ряд микробиологических методов очистки промышленных стоков, однако нам еще предстоит определить их эффективность по степени очистки на выходе.

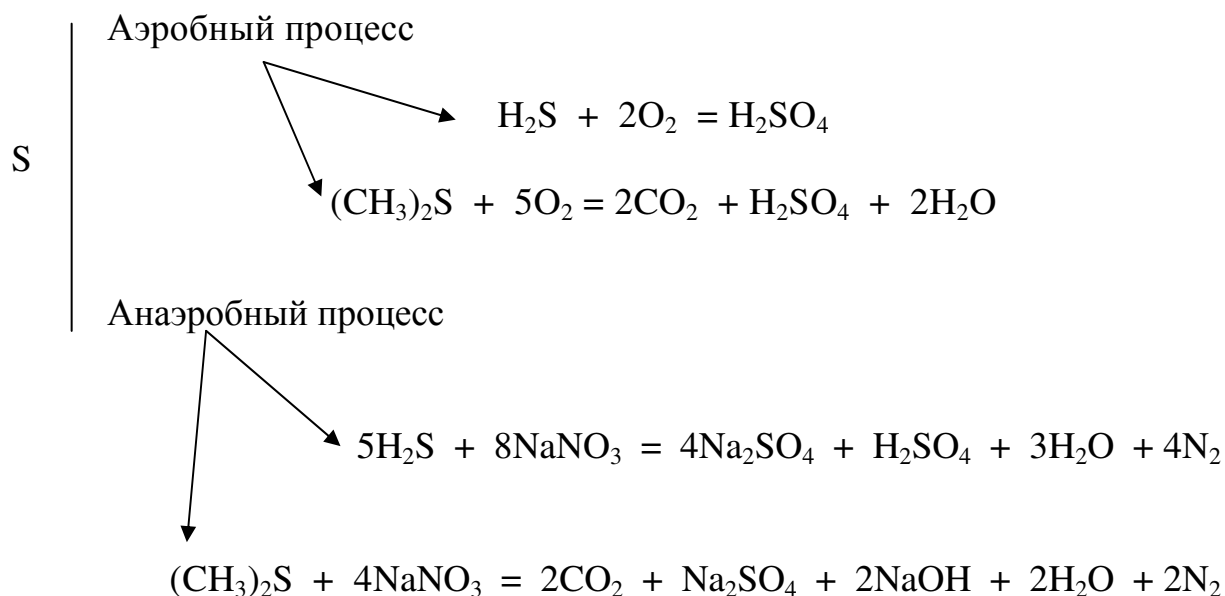


Рис. 18. Разрушение восстановленных соединений серы

Биодеградация ксенобиотиков в окружающей среде

Биодеградация органических соединений, загрязняющих окружающую среду, оправдана только в том случае, если в результате происходит их полная минерализация, разрушение и детоксикация; если же биохимическая модификация этих соединений приводит к повышению их токсичности или увеличивает время нахождения в среде, она становится не только нецелесообразной, но даже вредной. Детоксикация загрязняющих среду веществ может быть достигнута путем всего одной модификации структуры. Судьба ксенобиотика зависит от ряда сложным образом взаимосвязанных факторов как внутреннего характера (устойчивость ксенобиотика к различным воздействиям, растворимость его в воде, размер и заряд молекулы, летучесть), так и внешнего (рН, фотоокисление, выветривание). Все эти факторы будут определять скорость и глубину его превращения. Скорость биодеградации ксенобиотика данным сообществом микроорганизмов зависит от его способности проникать в клетки, а также от структурного сходства этого синтетического продукта и природного соединения, который подвергается естественной

биodeградации. В удалении ксенобиотиков из окружающей среды важную роль играют различные механизмы метаболизма.

В большинстве случаев при исследовании биodeградации использовался традиционный подход, основанный на выделении и анализе свойств чистых изолятов из окружающей среды. С другой стороны, из-за гетерогенности среды в ней формируются местообитания для множества разных микроорганизмов с самыми разнообразными метаболическими свойствами. Эти местообитания не могут не быть взаимосвязанными друг с другом. Ксенобиотики подвергаются действию смешанных популяций микроорганизмов, т. е. сообществ, для которых характерны отношения кооперации, комменсализма и взаимопомощи.

Участие микробных сообществ в биodeградации ксенобиотиков

Можно выделить стабильные сообщества, в которых взаимодействия между отдельными его членами дает им ряд преимуществ, в результате чего такая ассоциация становится более эффективной, чем отдельно взятые виды. Классификация микробных сообществ основана на характере взаимосвязей между отдельными видами.

1. Сообщества, в которых один или несколько членов не способны к синтезу тех или иных компонентов, необходимых для роста; этот дефицит покрывается за счет метаболической активности других членов сообщества. Сложность различных взаимоотношений в подобных сообществах может варьировать, но в любом случае взаимосвязи такого типа, по всей видимости, играют роль в деградации многих соединений. Например, сообщество из двух микроорганизмов, растущее на циклогексане, включает один из видов *Nocardia*, способный окислять циклогексан, но не способный к росту на нем одном, а также один из видов *Pseudomonas*, который поставляет другим видам необходимые для роста соединения, возможно биотин. Такие взаимосвязи могут быть облигатными для роста определенных видов или поставлять дополнительные питательные вещества, способствующие росту первично окисляющего организма к увеличению скорости деградации. Это со всей очевидностью показывает, что истинную скорость деградации ксенобиотиков в окружающей среде можно оценить, только учитывая возможности микробных сообществ, а не отдельных видов микроорганизмов.

2. Сообщества, в которых метаболиты, в какой-то мере подавляющие рост организма-продуцента или других организмов в том же местообитании, удаляются остальными членами сообщества.

3. Сообщества, в которых параметры роста одного или нескольких его членов изменяются так, что получается более

конкурентоспособное сообщество, устойчивое к изменениям среды. Такое сообщество может стать менее чувствительным к ингибированию субстратом и приобрести способность справляться с перегрузками, возникающими в очистных системах.

4. Крайне важная роль микробных сообществ в деградации ксенобиотиков состоит в том, что они способны осуществлять совместную «метаболическую атаку» на субстрат. Отдельные члены такого сообщества в отличие от сообщества в целом не обладают метаболической активностью, необходимой для полной деградации данного соединения. Так, в лаборатории иногда не удается добиться минерализации какого-либо вещества, но происходит это потому, что деградацию тщетно пытаются осуществить с помощью одного вида микроорганизмов. Отмечалось также, что такого рода комбинированная метаболическая система может возникать в результате синтеза отдельными видами разных компонентов ферментного комплекса, с проявлением ферментативной активности только у целого сообщества (например, синтез активной лецитиназы двумя видами *Pseudomonas*).

5. Ранее подчеркивалась важность сопряженного метаболизма для расщепления ксенобиотиков. Микроорганизмы, растущие на одном субстрате, превращают другой в ходе одной или нескольких ферментативных реакций. Эти реакции не связаны с ростом микроорганизма в том смысле, что в них не образуются промежуточные продукты, которые данный организм использовал бы для роста. Однако эти промежуточные продукты могут служить источником углерода для других членов сообщества. Выделение или создание подобных сообществ для решения проблем загрязнений среды ксенобиотиками вполне реально, хотя о стабильности таких ассоциатов в условиях переработки отходов известно немного.

6. Были выявлены сообщества, в которых осуществляется передача восстановительных эквивалентов от одной популяции другой. В анаэробных условиях классическим ферментативным способом получения избытка восстановительных эквивалентов было восстановление конечных продуктов обмена. Однако в упомянутых сообществах используется второй, акцепторный механизм. На сегодняшний день уже выделено немало таких сообществ. Анаэробное разрушение подобными сообществами ароматических соединений может иметь экономическое значение.

7. При изучении непрерывных культур были обнаружены сообщества, в которых к полному использованию лимитирующего рост субстрата способна не одна, а несколько первичных популяций, хотя можно было бы ожидать, что наиболее конкурентоспособный организм окажется доминирующим. Следовательно, существующие в сообществе

взаимодействия должны стабилизировать свободную конкуренцию между его членами.

В стабильных сообществах микроорганизмов создаются условия для свободного обмена генетической информацией между популяциями. Важным эволюционным механизмом появления новых штаммов *in vivo*, способных взаимодействовать с новыми компонентами окружающей среды, может служить перенос плазмид между сообществами микроорганизмов. Частота таких событий для природных сообществ неизвестна, однако в условиях лаборатории они действительно происходят.

Так, в одном из опытов в течение многих поколений выращивали смешанные непрерывные культуры разных видов *Pseudomonas*. Один из видов мог расти на хлоркатехолах, а другой обладал плазмидой, несущей ген фермента бензолдиоксигеназ. На 4-хлорбензоате не мог расти ни один из штаммов, однако, используя принцип обогащения, удалось выделить мутант, способный к росту на этой хлорсодержащей ароматической кислоте. По всей видимости, здесь произошел перенос плазмиды, в результате которого мутантный штамм приобрел способность к окислительному декарбоксилированию 4-хлорбензойной кислоты с помощью приобретенной диоксигеназы с широкой специфичностью, а следовательно, и способность к росту на образующемся хлоркатехоле.

В свете взаимодействий подобного рода, существенных для окружающей среды, мы рассмотрим еще несколько специфических примеров деградации ксенобиотиков. Потенциальная возможность использования микроорганизмов при биотехнологической переработке промышленных отходов очевидна. Мы знаем, что в промышленных сточных водах содержатся стабильные побочные продукты реакций, часто известного состава. Вполне понятно, что технология контроля за ними хорошо разработана. Однако в окружающую среду могут попадать и сложные смеси промышленных продуктов, например при разнообразных неспецифических выбросах на любом из этапов технологического процесса (утечки и т. п.). Деградация ксенобиотиков будет рассмотрена именно в этом контексте.

Хлорпроизводные углеводов

С-1- и С-2-хлорпроизводные углеводов широко используются в качестве растворителей и представляют собой важный фактор загрязнения окружающей среды. Тем не менее, о микробной деградации этих соединений известно немного. Были выделены организмы, способные к использованию дихлорметана, однако механизм его деградации до конца не выяснен. По-видимому, в результате первичного дегалогенирования,

катализируемого какой-то галоидгидролазой, образуется хлорметанол, спонтанно разлагающийся до формальдегида.

Дегалогенирование галогензамещенных ароматических соединений происходит в основном после расщепления ароматических групп системы под действием диоксигеназ. Связь углерод – галоген становится лабильной после присоединения атома кислорода к углероду, связанному с галогеном, с образованием галогензамещенных катехолов.

Относительно широкая специфичность ферментов начальных этапов катаболизма может обуславливать довольно быстрое превращение разных галогензамещенных ароматических соединений, хотя работа ферментов и осложняется стерическими и негативными индуктивными эффектами боковых групп-заместителей. Это пример участия обычных катаболических ферментов в первичной атаке на ксенобиотики.

Галогензамещенные катехолы представляют собой ключевые метаболиты в деградации арилгалогенов. Они разрушаются путем *орто*-расщепления, поскольку ферменты *мета*-расщепления необратимо инактивируются веществами, образующимися в ходе реакции. Обычные пирокатехазаы расщепляют галоген – замещенные катехолы с относительно низкой эффективностью, поэтому основное значение в деградации этих соединений приобретает раскрытие кольца. На последующих этапах метаболизма, включая циклоизомеризацию, происходит отщепление оставшихся замещающих групп кольца.

На работе обычно применяемых очистных сооружений плохо сказываются перегрузки их отходами, содержащими хлорзамещенные ароматические соединения: путь *мета*-расщепления нарушается, а неэффективность *орто*-пути приводит к накоплению токсичных фенолов и темноокрашенных продуктов их самоокисления.

Другие замещенные простые ароматические соединения

При деградации арилгалогенов замещающие группы часто отщепляются на последних этапах катаболизма после разрушения ароматических колец системы. В случае сульфонированных ароматических соединений связь углерод – заместитель высокополярна и должна стать лабильной на первых же этапах, в противном случае всем последовательно работающим ферментам придется «иметь дело» с этой замещающей группой.

Сульфонированные нафталины широко используются в качестве эмульгаторов и смачивающих агентов, а также при производстве азокрасителей; в обычных очистных сооружениях эти соединения не разлагаются микроорганизмами. Однако в непрерывной культуре одно из использующих нафталин микробных сообществ, выделенное из сточных вод, приобрело способность к расщеплению нафталинсульфоновых кислот.

Первые этапы катаболизма включают диоксигенацию, удаление замещающей группировки и реароматизацию – ключевой этап, для которого необходима диоксигеназа с широкой специфичностью, способная к специфическому гидроксильированию по положению 1,2 кольца (рис. 19).

Нитротолуолы представляют собой токсичные компоненты сточных вод военных заводов, которые в природе быстро разрушаются. Однако они минерализуются не полностью, поскольку продукты их деградации (ароматические амины) конденсируются с карбоксильными группами биологических макромолекул, образуя полиамиды, которые, по-видимому, устойчивы к последующему действию микробов.

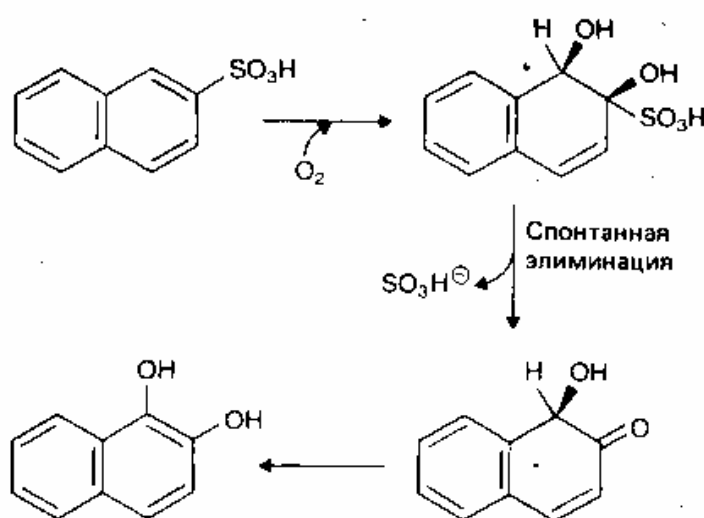


Рис. 19. Элиминация остатка сульфоновой кислоты из молекулы нафталина

Полиароматические углеводороды

Полихлорбифенилы (ПХБ) – это очень устойчивые соединения, которые долго остаются в окружающей среде и прочно адсорбируются биологическими и осадочными материалами. В почвах они практически не мигрируют, а микроорганизмы не могут их глубоко деградировать. ПХБ в пробах из окружающей среды отличаются по составу от ПХБ, получаемых в промышленности, поскольку они модифицируются природными системами. Микробная деградация бифенила осуществляется при участии систем катаболизма, сходных с известными для других ароматических углеводородов. С увеличением степени хлорирования скорость метаболизма падает. Сообщалось, что смешанные культуры микроорганизмов осуществляют деградацию

промышленных ПХБ до неохарактеризованных углеводородов, при этом расщепляются преимущественно молекулы с более низкой степенью хлорирования. Если замещающих группировок больше, чем в тетрахлор-ПХБ, то молекула становится полностью резистентной. В большинстве работ исследовали превращения чистых изомеров ПХБ.

Бензпирен представляет собой устойчивое полиароматическое соединение, при деградации которого образуются канцерогенные гидрокси- и эпоксипроизводные. Он не минерализуется в системах активного ила, хотя было описано несколько культур микроорганизмов, способных частично метаболизировать этот продукт с помощью индуцибельных и неиндуцибельных гидроксилазных систем. При этом образуется сложная смесь конъюгированных производных.

Полистирол очень устойчив к биodeградации. Был описан процесс, в котором тонко измельченные автомобильные шины, изготовленные из стирол-бутадиеновой резины, частично разлагались микроорганизмами после добавления какого-либо поверхностно-активного вещества. Содержащиеся в шинах антиозонаты, антиоксиданты и ускорители вулканизации замедляют этот процесс; конечный продукт можно использовать для улучшения почвы. Имеются сообщения о росте сообщества микроорганизмов на стироле, в результате чего удаляется ингибитор полимеризации 4-трет-бутилкатехол. В результате свободнорадикальной полимеризации стирола происходит осаждение полистирола. Впоследствии этот полимер исчезает, что свидетельствует о способности данного микробного сообщества к разрушению полистирола.

Биodeградация нефтяных загрязнений

Рассмотрим теперь процессы биodeградации сложных смесей углеводородов и их производных в средах, загрязненных нефтью. Речь пойдет как о сточных водах нефтяной промышленности, так и о загрязнении нефтью окружающей среды. Источники таких загрязнений могут быть самые разнообразные: промывка корабельных бункеров для горючего, аварии на танкерах в открытом море (основная причина нефтяных загрязнений окружающей среды), утечки в нефтехранилищах и сброс отработанных нефтепродуктов.

Сточные воды нефтяной промышленности обычно очищают биологическим способом после удаления большей части нефти физическими способами или с помощью коагулянтов. Токсическое воздействие компонентов таких сточных вод на системы активного ила можно свести к минимуму путем постепенной «акклиматизации» очистной системы к повышенной скорости поступления стоков и последующего поддержания скорости потока и его состава на одном уровне. Однако загрузка этих систем может значительно варьировать и, видимо, лучше использовать

более совершенные технологии, например системы с илом, аэрированным чистым кислородом, или же колонные биореакторы.

Самые большие утечки нефти в окружающую среду происходят в море, где она затем подвергается различным физическим превращениям, известным как выветривание. В ходе этих абиотических процессов, включающих растворение, испарение и фотоокисление, разлагается, в зависимости от качества нефти и от метеорологических условий, 25 – 40% нефти. На этой стадии разрушаются многие низкомолекулярные алкены. Степень микробиологической деградации выветрившихся нефтяных разливов определяется рядом факторов. Весьма важен состав нефти: относительное содержание насыщенных, ароматических, содержащих азот, серу и кислород соединений, а также асфальтенов в различных типах нефти различно. Определенную устойчивость нефти придают разветвленные алканы, серосодержащие ароматические соединения и асфальтены. Кроме того, скорость роста бактерий, а следовательно, и скорость биodeградации определяются доступностью питательных веществ, в частности азота и фосфора. Оказалось, что добавление таких веществ увеличивает скорость биodeградации. Количество разных организмов, способных расти на компонентах нефти, зависит от степени загрязненности углеводородами. Например, больше всего их находят поблизости от крупных портов или нефтяных платформ, где среда постоянно загрязнена нефтью. Полная деградация нефти зачастую не происходит даже при участии богатых по видовому составу микробных сообществ. Наиболее биологически инертные компоненты, например асфальтены, содержатся в осадочных породах и нефтяных залежах. Основные физические факторы, влияющие на скорость разложения нефти, – это температура, концентрация кислорода, гидростатическое давление и степень дисперсности нефти. Наиболее эффективная биodeградация осуществляется тогда, когда нефть эмульгирована в воде.

Особую проблему представляют выбросы или случайные разливы нефти на поверхности почвы, поскольку они могут привести к загрязнению почвенных вод и источников питьевой воды. В почве содержится очень много микроорганизмов, способных разрушать углеводороды. Однако даже их активность не всегда достаточна, если образуются растворимые производные или поверхностно-активные соединения, увеличивающие распространение остаточной нефти.

Пестициды

Слив отходов производства пестицидов сегодня строго контролируется; технология очистки сточных вод или их детоксикации хорошо разработана, хотя остается сложной и многообразной. Она включает сначала экстракцию пестицидов растворителями, а затем обычную

биологическую обработку. Для ликвидации непредусмотренных выбросов, происходящих при утечках или при промывке и замене контейнеров с пестицидами, подходящая технология пока отсутствует. Пестициды попадают в окружающую среду и в результате использования их для обработки сельскохозяйственных культур.

Большинство пестицидов расщепляются бактериями и грибами. Превращение исходного пестицида в менее сложные соединения нередко осуществляется при участии сообществ микроорганизмов. Были описаны различные стадии и промежуточные продукты процессов деградации ДДТ, идущей, например, в ходе сопряженного метоболизма и приводящей к полной минерализации этого стойкого пестицида. Часто из среды, содержащей ксенобиотик, можно выделить сообщества такого рода, в которых он служит не основным источником углерода, а источником фосфора, серы или азота. Чрезвычайно высокая токсичность пестицидов зачастую утрачивается на первой же стадии их модификации. Это позволяет разработать относительно несложные микробиологические способы их детоксикации. Например, в результате гидролиза может значительно уменьшиться токсичность пестицида или увеличиться вероятность биodeградации. Для этого хорошо было бы использовать внеклеточные ферменты, способные функционировать в отсутствие коферментов или специфических факторов и осуществлять детоксикацию разнообразных пестицидов. Это могут быть такие гидролазы, как эстеразы, ациламидазы и фосфоэстеразы. Чтобы выбранный фермент можно было применять *in situ*, он должен обладать подходящей кинетикой в широком диапазоне температур и pH, быть нечувствительным к небольшим количествам растворителей или тяжелых металлов, не ингибироваться субстратом при концентрациях, характерных для содержимого очистных систем, а также хорошо храниться.

В ряде случаев в качестве биологического агента детоксикации была испробована паратионгидролаза, выделенная из *Pseudomonas* sp. С ее помощью удалось удалить 94 – 98% остаточного паратиона (около 75 г) из контейнера с пестицидом за 16 ч при концентрации субстрата 1% (по весу). Забуференные растворы паратионгидролазы использовали также для детоксикации паратиона в разливах на почве, где его концентрация, по-видимому, была весьма высока. Скорость разложения паратиона в этом случае зависела от типа почвы, влажности, буферной емкости раствора и концентрации фермента. При этом значительные количества пестицида были обезврежены всего за 8 ч.

Как показали лабораторные эксперименты, еще одна возможная сфера применения иммобилизованных ферментов – это очистка сточных вод. Были описаны гидролазы для детоксикации других пестицидов. Многие из них обладают широкой субстратной специфичностью, что

открывает большие возможности для создания других простых систем детоксикации пестицидов. В будущем подобные системы смогут применяться при промывке промышленных химических установок и реакторов, ферменты в виде аэрозолей – для удаления пестицидов с поверхностей, а ферменты в сочетании с пестицидами – для быстрого разрушения пестицидов после их использования.

Биодеградация поверхностно-активных веществ

По чувствительности к биодеградации синтетические поверхностно-активные соединения, применяемые в быту и в промышленности как моющие средства, можно разделить на «жесткие» и «мягкие». Анионные соединения этой группы, такие как алкилбензолсульфонаты, в конце 50-х гг. привлекли к себе внимание тем, что они загрязняют окружающую среду: это проявлялось в образовании пены в водоемах.

Сначала в продажу поступали «жесткие» детергенты, устойчивость которым придавали их разветвленные алкильные боковые цепи. Чтобы предотвратить их накопление в природе, промышленность добровольно перешла к производству подверженных биодеградации, линейных неразветвленных алкилбензолсульфонатов. Разрушение этих поверхностно-активных соединений начинается с окисления концевых метильных групп, после чего за счет β -окисления идет расщепление линейных боковых цепей. Кольцевые структуры молекул обычно разрушаются только после полной деградации боковой цепи. Данный процесс осуществляется только в аэробных условиях, поскольку для начального окислительного этапа требуется кислород.

Разветвленные молекулы не всегда оказываются устойчивыми, хотя процесс их β -окисления и затруднен. Механизм разрушения разветвленной цепи до конца не установлен. Связь углерод – сера является очень прочной, и это увеличивает биологическую инертность молекулы детергента. Реакции десульфирования детально не изучены, но скорее всего в них участвуют гидроксилазы или монооксигеназы. По-видимому, далее сульфонатный остаток превращается в сульфат, возможно, с образованием сульфита в качестве промежуточного продукта. Метаболизм арилсульфонатов уже был рассмотрен нами ранее. Есть основания считать, что десульфирование и *мета*-расщепление ароматического кольца детерминируются плазмидами.

Алкилсульфаты все еще используются как моющие средства на фабриках-прачечных и в косметической промышленности; основную их массу составляют первичные алкилсульфаты. Линейные сульфаты легко разрушаются, но этот процесс замедляется из-за наличия разветвленных участков. В первичной атаке этих молекул участвуют сульфатазы, образующие соответствующие спирты, которые

подвергаются затем дальнейшему метаболизму. Для этого процесса кислород не нужен, и он может идти в анаэробных условиях. Необычность алкилсульфатаз по сравнению с сульфатазами вообще состоит в том, что они атакуют связь С–О в группах С–О–S. Первичные и вторичные алкилсульфаты индуцируют образование сложного комплекса сульфатаз.

Неионные детергенты применяются в быту; поскольку они облегчают смачивание и способствуют образованию эмульсий, их с успехом используют при производстве аэрозолей для сельского хозяйства и в косметической промышленности. Линейные первичные алкогольэтоксилаты минерализуются быстро и до конца, но более высокомолекулярные гомологи более устойчивы. Дегградация осуществляется путем окисления концевых метальных групп и последующего *n*-окисления с образованием низкомолекулярных алканоатэтоксилатов, лишенных поверхностно-активных свойств. У вторичных алкогольэтоксилатов гидрофобная алкильная цепь разрушается с обоих концов за счет ω - и β -окисления. Имеющиеся в этих соединениях эфирные связи увеличивают их устойчивость к биодегградации. Были предложены возможные способы расщепления этих связей, в частности монооксигеназное расщепление, гидролиз, участие углерод-кислород-лиазы и окисление α -атома углерода эфирной связи с последующим гидролизом сложного эфира (рис. 20)..

Имеющиеся в продаже детергенты редко содержат более 30% поверхностно-активного соединения. К числу остальных компонентов относятся оптические отбеливатели, отбеливатели-окислители, вспомогательные пенообразователи, антикоррозийные добавки и (в ряде случаев) ферменты. Основную массу составляет носитель (наполнитель). Наполнители нужны для: 1) уменьшения концентрации свободного кальция и магния с целью предотвращения образования неорганических осадков; в противном случае выпадут в осадок соли щелочноземельных металлов и аниона детергента; 2) диспергирования агрегатов почвенных частиц и стабилизации почвенных суспензий.

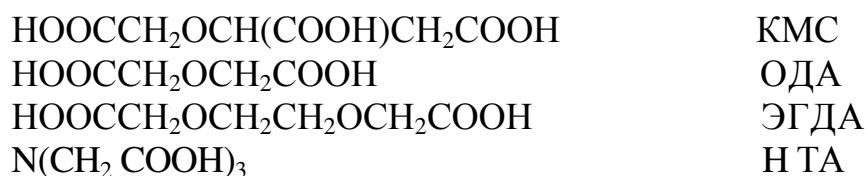


Рис. 20. Структура некоторых органических соединений, пригодных для повышения эффективности детергентов

Наполнители должны иметь хорошую буферную емкость и не вступать в нежелательные реакции с другими компонентами смеси. В

течение многих лет для этих целей использовали тринатрийфосфат, но он ускоряет зарастание внутренних водоемов. Процесс эвтрофикации водоемов может ускоряться в результате биodeградации и минерализации любого азотистого или фосфорного соединения. В поисках кандидатов на роль свободных от азота и фосфора наполнителей были выбраны синтетические карбоксиэфиры (КМС – карбоксиметилсукцинат; ОДА – оксидиацетат; ЭГДА – этиленгликольдиацетат; рис. 20).

Изучение метаболизма КМС и его аналогов позволило понять, каким путем микроорганизмы приобретают способность к деградации новых ксенобиотиков. Сам КМС быстро разрушается в природе; в начальной реакции участвует индуцибельная лиаза, расщепляющая молекулу КМС с образованием гликолата и фумарата. Аналоги КМС оказались более стойкими, видимо, вследствие субстратной специфичности индуцируемых лиаз. Устойчивость этих аналогов не связана с процессом их поглощения клетками, поскольку было показано, что они поступают в них при участии конститутивной системы транспорта цитрата. КМС-лиаза оказалась удивительно сходной с полигалактуронатлиазой; организмы, развивающиеся на КМС, так же хорошо растут на полигалактуронате. Это весьма показательный пример появления способности к деградации путем приобретения новой функции уже существующими ферментами. Возможно, что эта лиаза кодируется плазмидой. В качестве наполнителя широко использовался нитрилтриацетат (НТА), поскольку он подвержен быстрой биodeградации в системах активного ила и в речной воде.

Аэробная переработка отходов в сельском хозяйстве. Проблема хранения и переработки отходов

Если сельское хозяйство ведется традиционными способами, то отходов животноводства образуется немного, и их несложно использовать для удобрения расположенных поблизости пахотных земель. Сегодня, когда в животноводстве применяется интенсивная технология, жидкие и твердые отходы образуются в большом количестве, и площадь близлежащих земель может оказаться недостаточной для их использования. Хранить и перерабатывать такие отходы весьма непросто. Кроме того, в последнее время проблемы использования отходов животноводства привлекают пристальное внимание специалистов по охране окружающей среды и органов здравоохранения, которых тревожит возможность проникновения загрязнений в водоемы и распространения таким путем возбудителей заболеваний. Необходимо научиться наиболее полно и экономично использовать ту часть отходов, которую можно применять как удобрения, и в то же время решить

проблемы, связанные с возможным загрязнением среды из-за большого объема таких отходов. Важность задачи потребовала разработки и внедрения различных систем переработки отходов.

Отличительной особенностью аэробной биологической системы, которая столь успешно применяется для переработки бытовых сточных вод, является свободный доступ воздуха к аэробным микроорганизмам, участвующим в превращении различных веществ, содержащихся в отходах, в относительно стабильные конечные продукты. Было показано, что контролируемая переработка отходов сельского хозяйства в аэробных условиях вполне возможна. Ряд научных центров в Европе и Северной Америке приняли участие в исследованиях и разработке программ использования различных систем переработки. Главными особенностями системы, используемой на фермах, должны быть долговечность, простота в эксплуатации и желательно автоматизация всех процессов. Сегодня уже предложено несколько таких маломасштабных систем.

Системы переработки отходов в аэробных условиях

Для переработки твердых отходов необходимо много времени и средств, поэтому на фермах с интенсивной технологией для их удаления стали широко использовать воду. Образующуюся взвесь закачивают в хранилища или в системы переработки.

Водоем для окисления

Это наиболее простая установка, представляющая собой неглубокую (не более 150 см) емкость, наполненную отходами и имеющую достаточную площадь поверхности для обеспечения аэрации. На поверхности этого водоема растут фотосинтезирующие водоросли, которые повышают эффективность системы благодаря выделению кислорода. Скорость поступления отходов не должна быть слишком высокой. Недостатки таких установок состоят в том, что 1) переработка отходов требует много времени; если объем отходов велик, необходимы водоемы большой площади; 2) накапливаются твердые отходы, которые разлагаются в анаэробных условиях; 3) создаются условия для размножения насекомых. Но есть и два преимущества: не нужна механизация и обслуживающий персонал.

Аэрируемый водоем сходен с водоемом для окисления и отличается лишь тем, что в нем установлено механическое устройство для усиления аэрации, перемешивания и сохранения твердых частиц в суспендированном состоянии. При одинаковой загрузке такой водоем

может быть меньше по площади и глубже, чем водоем для окисления. Для него проще оценить время переработки и качество стоков.

Такие системы особенно удобны для сбора и переработки отходов, когда жидкость нельзя сливать в природные водоемы, а также для сохранения воды для целей ирригации.

Каскадные бассейны

Каскадные бассейны – это тоже простая немеханизированная система, применяемая в Англии. В отличие от водоемов для окисления отходы поступают в нее постоянно, и время удержания их в системе невелико. Они включают первичный отстойник (желательно с дефлекторами, позволяющими контролировать скорость протекания), в котором осаждаются крупные частицы, а также каскад мелких бассейнов, разделенных перегородками или плотинами, через которые перетекает вода. Переливаясь из бассейна в бассейн, вода аэрируется. Если время удержания подобрано правильно, то глубина переработки оказывается не меньше, чем в водоеме для окисления. Как и в неаэрируемых водоемах, перемешивание осадка идет плохо, а активность микроорганизмов может подавляться из-за недостатка кислорода или же слишком медленной диффузии конечных продуктов обмена.

Канавы Пасвира (*Pasveer ditch*)

Эта система для окисления отходов является модификацией установки с активным илом и представляет собой одну непрерывную, вытянутую в длину емкость, которую часто располагают под полом хлева, откуда поступают отходы; в ней они и окисляются. Жидкость (толщина слоя 0,3–0,6 м) аэрируют и перемешивают с помощью ротора, помещенного в емкость. Имеются приспособления для добавки новой порции отходов и удаления отработанной жидкости. Эта и ряд других систем, основанных на принудительной аэрации, во многом сходны с реакторами непрерывного действия, в которых развивается особая микрофлора (аналогичная таковой в хлопьях активного ила), метаболизирующая субстрат. Сходство заключается в том, что отходы (субстрат) поступают в объеме, небольшом по сравнению с общим их объемом, перерабатываемым в реакторе. Этот тип перерабатывающего устройства активно изучался для выяснения его пригодности для переработки отходов животноводства в контролируемых условиях.

Основной недостаток всех этих систем – невозможность увязать поступление кислорода с его потреблением. Их эффективность можно будет повысить, если удастся точнее оценить скорость расщепления разных субстратов и лучше изучить микроорганизмы, участвующие в процессе.

Переработка отходов сельского хозяйства в анаэробных условиях. Главные особенности процесса

При переработке органических отходов в анаэробных условиях образуется горючий газ, на 60% состоящий из метана, и твердый остаток, содержащий весь или почти весь азот и все другие питательные вещества, содержащиеся в исходном растительном материале. В природе такой процесс развивается при недостатке кислорода в местах скопления веществ растительного или животного происхождения: в болотах, осадках на дне озер, а также в желудке травоядных. Он может протекать и в закрытой емкости, наполненной подходящим органическим веществом, куда не поступает воздух. Метанобразующие бактерии и некоторые другие микроорганизмы, продуцирующие нужные этим бактериям субстраты, формируют в таких условиях систему прочных симбиотических отношений, которая может функционировать неопределенно долгое время, если в нее в подходящем количестве поступают все новые порции отходов.

Температурный оптимум лежит в интервале 30 – 35°C, и для его поддержания нужен подогрев. Этот процесс начали изучать еще во времена Пастера; ему посвящено множество работ, а сам процесс был значительно модифицирован, в частности применительно к очистке сточных вод. Это весьма удачный пример действующей биотехнологии, поскольку она может применяться в больших масштабах, оправдывающих капиталовложения и текущие расходы по внедрению. Переработка отходов при участии метанобразующего ила применяется на ряде крупных установок в Англии и других странах, что существенно уменьшает ее стоимость. Она осуществляется, например, на Магденской станции по переработке сточных вод в западной части Лондона (Thames Water Authority). Там установлено двадцать тэнков для переработки жидких отходов, диаметр каждого из них составляет 21,3 м, а глубина равна 10,4 – 16,0 м, с общим объемом 79000 м³. Эта станция продолжает действовать, хотя переработка отходов непрерывно производилась на ней в течение почти пятидесяти лет, и вырабатывает метан в количестве, достаточном для работы двухтопливных машин, постоянно подающих сжатый воздух для перемешивания содержимого тэнков и вырабатывающих электроэнергию, потребляемую всей станцией.

Переработка отходов сельского хозяйства

Еще в начале века было выявлено, что из навоза можно получать горючий газ, а отходы использовать как удобрение. Предпринимались попытки найти практическое применение этому процессу, но в целом интерес к нему был невелик до тех пор, пока нехватка горючего во время войны не заставила обратить на него внимание. С тех пор было сконструировано

множество установок для производства метана, все они имели две основные части: 1) герметичный тэнк или реактор, в котором осуществлялась ферментация; 2) емкость для газа, обычно накопительный плавающий колокол с емкостью, близкой к таковой у реактора.

В 40-х гг. простейшие установки этого типа с реакторами емкостью около 10 м^3 использовались французами в Северной Африке, и многие из них продолжали работать как там, так и во Франции до начала 50-х гг. В это время в Англии тоже стали выпускать такие небольшие установки для продажи фермерам, но, по-видимому, лишь немногие из них нашли применение.

Простейшие установки периодического действия имеют ряд серьезных недостатков. Основной из них – трудность загрузки реактора полутвердыми отходами и его опорожнение, которые обычно проводят вручную. Неудобство заключается и в том, что надо иметь несколько реакторов, процесс в которых находится на разных стадиях, чтобы сгладить неравномерность в интенсивности образования газа, а также иметь возможность подогревать реакторы до $30 - 35^\circ\text{C}$. Все это, без сомнения, препятствовало широкому использованию генераторов метана на фермах, и от них практически отказались, когда в 60-х годах было налажено снабжение баллонами с пропаном и бутаном.

Совсем иначе обстояло дело в послевоенной Германии, где были предприняты разработки крупных высокомеханизированных установок.

Классическим примером может быть установка «Bihugas», построенная Ф. Шмидтом в Аллерхопе на ферме площадью 120 га, где в 1950 г. содержалось 55 голов крупного рогатого скота, 180 свиней и 650 кур. По расчетам навоза от этих животных, если смешать его с соломой, было достаточно для производства $4,5 \cdot 10^4 \text{ м}^3$ газа в год. Установка включала несколько цилиндрических подогреваемых наземных реакторов, в которые насосами подавалась взвесь из навоза и резаной соломы. Ферментацию проводили непродолжительное время, в течение 5 – 21 сут, когда газ образовывался наиболее интенсивно. Увеличить выход газа путем продолжительной неэкономичной переработки не пытались. Безусловно, работа такой установки была весьма эффективной, но ее размеры и стоимость были таковы, что она могла работать только на самых крупных животноводческих фермах. Такие крупные установки, несмотря на их эффективность, нередко не выдерживали конкуренции с более обычными и дешевыми источниками энергии, и ими переставали пользоваться.

Резкий подъем цен на нефть в 70-х гг. вынудил фермеров к экономии, и неудивительно, что при этом вновь пробудился интерес к генераторам метана и эффективным методам переработки навоза. Нефтяной кризис послужил толчком к публикации в общедоступной прессе множества статей и заметок, которые призывали наладить производство метана в масштабах всей страны, на каждой ферме, в

каждом доме и даже машине. Такие предложения нередко были сущей чепухой и свидетельствовали о неправильном понимании сути дела. Интерес к проблеме сохраняется до сих пор, и в области метаногенной ферментации были достигнуты серьезные успехи.

Микробиологические основы процесса

Метанобразующие бактерии являются строгими анаэробами, и при их исследовании ученые столкнулись с рядом проблем. Это касалось, прежде всего, их выделения, но сегодня эта задача облегчается тем, что сконструированы удобные установки, где созданы анаэробные условия. В настоящее время изучено множество таких бактерий, и мы многое узнали об особенностях их метаболизма.

На первой стадии процесса ферментации из растительной и фекальной массы образуются летучие жирные кислоты (уксусная, масляная). Важную роль при этом играют клостридии. Кислоты (за исключением уксусной) служат далее субстратом для группы уксуснокислых бактерий. В конечном счете в результате совместного действия этих групп бактерий образуются уксусная кислота, водород и углекислый газ, которые являются подходящим субстратом для метанобразующих бактерий. Эти бактерии относятся либо к ацетокластам (например, *Methanosarcina barkeri*, которая превращает уксусную кислоту в метан и CO_2), либо к группе бактерий, использующих водород (например, *Methanospirillum hungatei*, которая синтезирует метан из водорода и CO_2).

Современные разработки

Основная проблема, которая возникает на фермах, где содержится много животных, заключается в хранении навоза и использовании его наиболее выгодным образом. Если при этом в качестве побочного продукта будет образовываться метан и затраты на хранение навоза не увеличатся, то фермеры, безусловно, отнесутся к такой возможности положительно. Однако осуществить эту возможность на практике вряд ли удастся, поскольку эффективные механизированные установки, предназначенные для использования в развитом сельском хозяйстве, весьма дороги. В Англии сегодня выпускают реакторы улучшенной конструкции для переработки отходов ферм, но затраты на них едва ли можно компенсировать доходами от производства метана. Для переработки разбавленных промышленных отходов также сконструировано несколько интересных новых типов анаэробных реакторов, в которых используется принцип псевдоожиженного слоя, но здесь основная цель состоит в очистке стоков, а не в получении горючего газа.

Многие тысячи простейших реакторов были построены в Индии, Африке, на Дальнем Востоке и в Китае. Здесь есть кому их обслуживать из-за избытка рабочих рук. Очень трудно, однако, оценить, насколько они на самом деле полезны и как долго прослужат.

Использование протопластов в селекции растений. Вегетативное размножение

Изменчивость высших растений определяется в основном перераспределением генов при половом размножении. Хотя такая изменчивость и важна с эволюционной точки зрения, она служит помехой при разведении сортов растений с желаемым набором признаков. К счастью, не все цветковые растения размножаются только половым путем. У многих из них образуются особые органы вегетативного размножения, например видоизмененные стебли – известные всем усы земляники и клубни картофеля. Многие растения обладают ценной особенностью: они способны к полной регенерации из небольшого отрезка стебля, черенка. Эта особенность широко используется для разведения растений с ценными сортовыми признаками. Только таким способом можно разводить растения, неспособные давать потомство половым путем. Некоторые растения полностью регенерируют из целых листьев (многие суккуленты) или их частей (например, бегонии).

Полноценное растение может развиваться и из каллусной ткани, выращенной из меристемы *in vitro*. Этот метод позволил получить безвирусные сорта картофеля. Вот уже несколько лет метод культуры тканей используется для выведения оздоровленных и устойчивых к болезням растений, для создания сортов с определенным генотипом, а также для сохранения и разведения сортов ценных растений.

Сегодня мы знаем, что многие изолированные клетки, если их культивировать в соответствующих условиях, могут регенерировать в целое растение. Клетка, обладающая такой способностью к росту и формированию ткани, из которой затем развивается полноценное растение, называется тотипотентной. В середине 60-х гг. тотипотентность клеток была обнаружена у многих видов растений.

Из тотипотентных клеток легко получить лишенные клеточной стенки протопласты. Разработаны методы их культивирования для получения каллусной ткани и затем – небольших растений, которых можно размножать обычными способами.

Протопласты получены из тканей большинства органов растений, в том числе из корней, листьев, лепестков, плодов, coleoptил, запасющих органов, тетрад микроспор (из пыльников), корневых клубеньков бобовых и каллусных тканей. Чаще всего для этого берут мезофильную ткань листа: из нее образуется много единообразных протопластов. Нередко из

протопластов получают каллусные культуры, из которых можно регенерировать целое растение. К сожалению, до последнего времени не удавалось вырастить целые растения из изолированных протопластов бобовых и злаков – двух важнейших групп культивируемых растений. Нередко в относительно простых условиях выращивания и с высоким выходом была осуществлена регенерация в целое растение протопластов *Medicago sativf* (люцерна, альфальфа). Это позволяет надеяться, что, подобрав соответствующие условия, удастся регенерировать из протопластов и бобовые. Сегодня мы еще не умеем регенерировать растения из протопластов хлебных злаков и пищевых бобовых, но удалось добиться образования каллуса и регенерации растений из листьев злаков, так что можно ожидать, что и в случае протопластов злаков будет достигнут прогресс.

Особая ценность протопластов для селекции растений определяется целым рядом их свойств. Во-первых, протопласты можно получать в большом количестве и отбирать из них разновидности с полезными свойствами. Хотя сами протопласты генетически единообразны, формирующиеся из них каллусы дают растения, существенно различающиеся по внешним признакам. Во-вторых, отсутствие клеточной стенки облегчает слияние протопластов и образование гибридов. Поскольку при этом сливаются соматические, как минимум диплоидные, клетки, селекционер растений получает в свои руки мощный инструмент для отбора. В-третьих, в отсутствие клеточной стенки облегчается захват чужеродной ДНК – фрагментов молекул или же бактериальных плазмид, в результате чего формируются растения с совершенно новым набором признаков.

Изменчивость

Хотя растения, полученные в результате размножения вегетативным путем (клоны), обычно похожи на родительское растение, из этого вовсе не следует, что все эти клоны генетически: одинаковы. Иногда возникают клоны, которые существенно отличаются от исходной формы. Их называют соматическими вариантами или «спорами», и появляются они в результате генетических изменений в клетках меристемы, которые дают начало всему новому растению или его части. В ряде случаев такие споры были размножены и привели к созданию новых сортов. Примером могут быть апельсины «Навель» и персики-нектарины. В основе соматической изменчивости лежит ряд генетических механизмов: изменение числа хромосом в ядре, мутация отдельных генов, модификация внеядерных генов клеточных органелл (хлоропластов и митохондрий). Хотя изменчивость растений картофеля, полученных из протопластов, обычно невелика, для протоклонов тетраплоидного сорта *Russet Burbank* она

оказалась существенной. Изучение изменчивости у регенерированных растений картофеля сорта *Maris Bard* показало, что она возникает при росте каллусов из генетически единообразных протопластов и не является следствием экспериментов с самими протопластами.

Изменчивость протоклонов, наблюдающаяся в отсутствие мутагенов, весьма важна для растениеводства: благодаря ей селекционер растений получает богатый исходный материал. Так, среди регенерантов картофеля были выявлены растения с потенциально полезными признаками: низкорослые, с измененными клубнями и с разными сроками созревания.

Регенерация растений из протопластов

Шеферд и Тоттен (Shephard, Totten, 1977 г.) в опытах с картофелем, у которого регенерация растений из культуры тканей затруднена, разработали метод, позволяющий достаточно успешно регенерировать растения из протопластов. Их способ был несколько необычным, поскольку предусматривал особые условия выращивания растений, из которых потом получали протопласты. Кроме того, на каждой стадии развития растений-регенерантов они применяли особую среду.

Выращивание растений для опытов

Растения картофеля (американский сорт *Russet Burbank*) выращивали из клубней, свободных от X-вируса, при высокой освещенности (продолжительность светового дня 12 ч), при 24°C и относительной влажности 70 – 75%. Перед началом опыта растения выдерживали 4 – 10 сут при той же температуре и влажности, но более слабом (7000 люкс) и менее продолжительном освещении (6 ч в сутки). Содержание растений в условиях слабого и непродолжительного освещения приводило к существенному увеличению выхода жизнеспособных протопластов из тканей листьев (до $2-3 \cdot 10^6$ на 1 г ткани).

Среды для выделения и размножения

При выделении и размножении протопластов применяли среды пяти типов (А–Е), которые представляли собой варианты среды, предложенной Лэмом (Lam, 1975). В их состав входили основные питательные вещества растений, микроэлементы, аминокислоты, факторы роста, фитогормоны и регуляторы осмотического давления. Содержание веществ подбиралось так, чтобы обеспечить оптимальный рост на каждом этапе регенерации. Все среды содержали 1,5 – 2,0% агара, кроме полужидкой среды А, где его концентрация составляла только 0,5%.

Среды D и E, использованные на заключительном этапе, содержали 1650 мг/л NH_4NO_3 .

Выделение протопластов

4 г ткани, вырезанной из стерилизованных с поверхности молодых листьев, инкубировали в 200 мл среды А (без сахарозы и агара) в темноте при 4°C в течение 16 – 24 ч. Затем среду заменяли на 100 мл забуференного (рН 5,6) раствора с ферментами, чтобы отделить мезофильные клетки и удалить их клеточные оболочки. При встряхивании смеси процесс заканчивался за 4 ч при 28°C. Жизнеспособные протопласты после процеживания смеси собирали центрифугированием, промывали средой А, снова осаждали и хранили в жидкой среде А при концентрации $6 \cdot 10^5$ клетка/мл.

Рост каллуса

При инкубации протопластов на твердой среде В или на модифицированной твердой среде происходит регенерация клеточных стенок и ограниченное деление клеток, в результате чего образуются микрокаллусы. После переноса в среду С они растут далее до стадии, когда становится возможным перенос в среду D, где индуцируется образование (морфогенез) побегов. На заключительной стадии каллусы с побегами длиной около 1 мм переносят на среду Е для завершения образования побегов и формирования корней. Укорененные растения пересаживают в небольшие горшочки с вермикулитом, где они и растут далее.

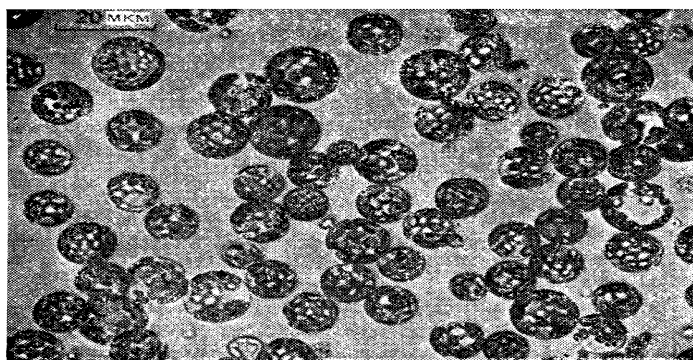


Рис. 21. Свежевыделенные протопласты *Solanum brevidentis*

Здесь изложена суть метода, который следует использовать для регенерации целых растений из одиночных протопластов, и проиллюстрировано, как экспериментатору приходится варьировать условия на разных стадиях развития, чтобы добиться успеха. На рис. 21–

24 показано, как выглядят свежевыделенные протопласты, молодые каллусы и крошечные растения, регенерированные из ткани каллуса. Особенно важно в этой работе строго выдерживать надлежащие условия, однако почти наверняка их придется специально подбирать для каждого изучаемого вида растений.

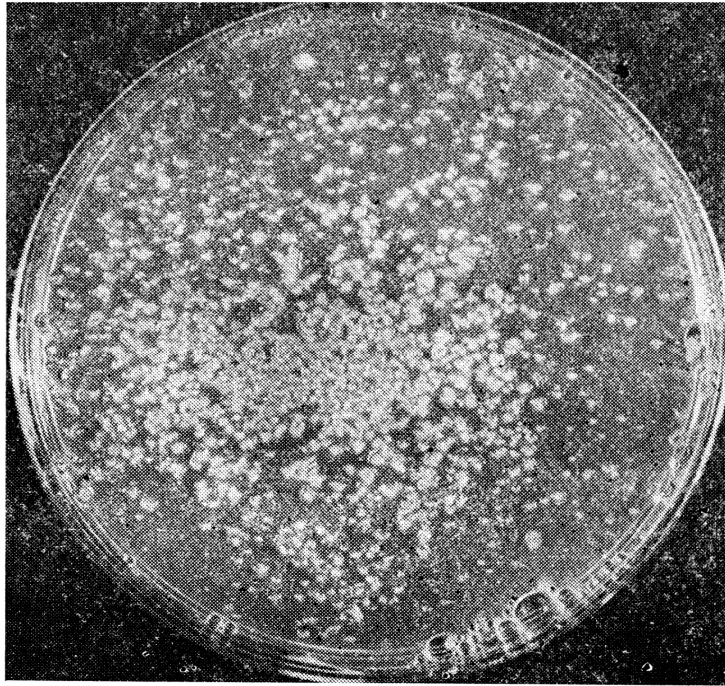


Рис. 22. Каллусы, образовавшиеся из протопластов *Solarium brevidens* на агаре. Снимок сделан примерно через месяц после получения протопластов. Для выращивания использована чашка Петри диаметром 9 см

Томасу (Thomas, 1981) удалось получить культуры побегов тетраплоидного картофеля сорта Manis Bard, которые использовались как исходный материал для выделения протопластов.

Пазушные почки стерилизовали с поверхности раствором гипохлорида натрия и культивировали затем на среде Мурасиге и Скуга (Murashige, Skoog, 1962), содержащей, кроме того, сахарозу (30 г/л), агар (6 г/л) и 6-бензиламинопурин (6-БАП, 0,5 мг/л), pH 5,8. В ходе инкубации при 26°C при освещенности ~400 люкс (16 ч днем, 8 ч ночью) за 3 – 5 нед образовывались ростки длиной около трех см. Их можно было использовать для дальнейшего размножения на той же среде, но без 6-БАП для чего брали короткие (3 – 8 мм) отрезки стебля с листом и пазушной почкой. Рост продолжался три недели, после чего побеги можно было опять использовать для размножения или же выделения протопластов. Целые проростки (но не взятые отдельно листья) давали

жизнеспособные протопласты, которые могли длительное время делиться в культуре.

Хотя о возможности слияния протопластов растений было известно уже давно, метод контролируемого слияния с воспроизводимыми результатами был разработан лишь в 1970 г. Тем самым был сделан первый шаг к соматической гибридизации растений. При суспендировании протопластов в 0,25 М растворе азотнокислого натрия слияние происходило очень быстро. Впоследствии для индукции слияния протопластов *Parthenocissus tricuspidata* и *Petunia hybrida* использовали 10,2%-ный раствор сахарозы, содержащий 5,5% азотнокислого натрия. Для той же цели применяли хлористый кальций.

Было показано (Као, Michayluk, 1974), что полиэтиленгликоль с большой молекулярной массой также вызывает неспецифическое слипание, а затем и слияние протопластов растений. При инкубации в самом полиэтиленгликоле слияний почти не происходило, но при его разведении гибриды образовывали до 10% протопластов. ПЭГ способствовал также захвату хлоропластов водоросли *Vaucheria dichotoma* протопластами моркови.

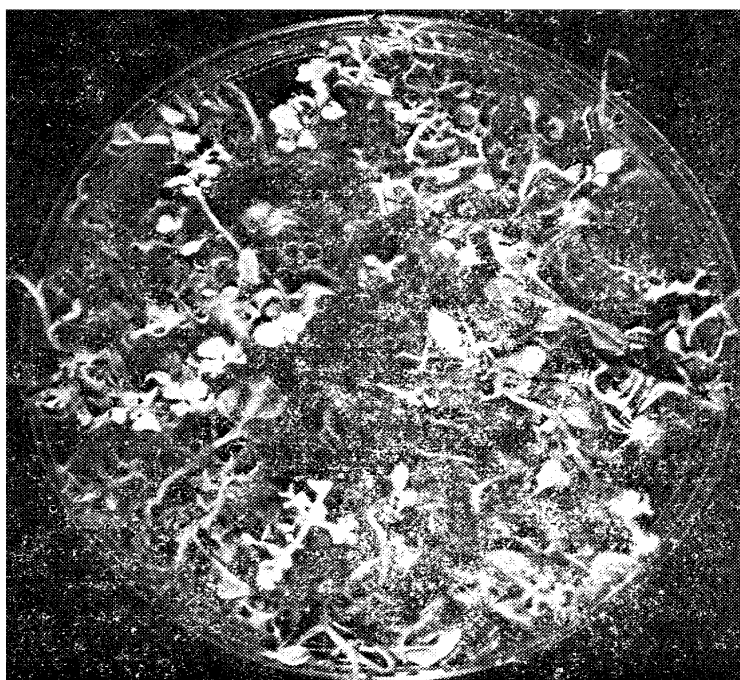


Рис. 23. Регенерация мини-растений *Solarium brevidens* из калусной ткани, полученной из протопластов (снимок сделан приблизительно через 100 суток после перенесения на агаровую среду, способствующую регенерации)

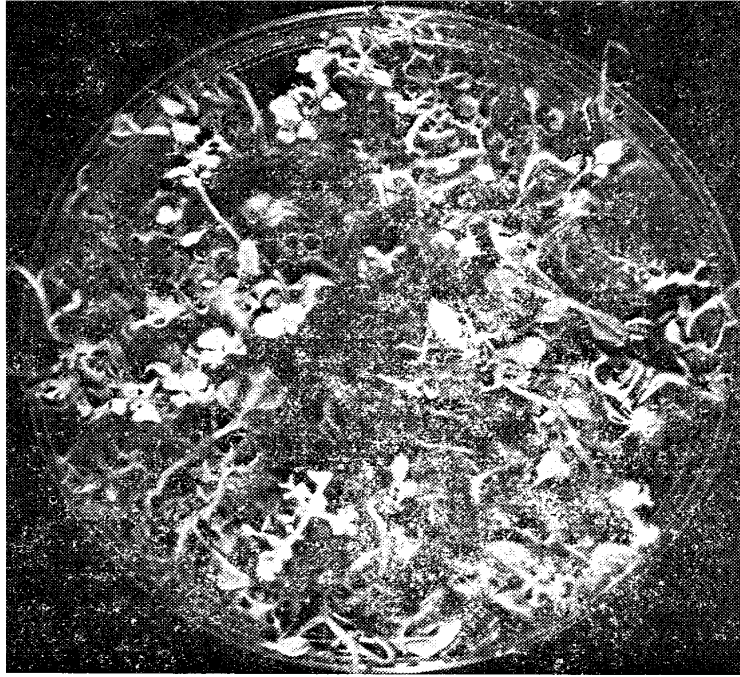


Рис. 24. Регенерация мини-растений *Solarium brevidens* из калусной ткани, полученной из протопластов (снимок сделан приблизительно через 100 суток после перенесения на агаровую среду, способствующую регенерации)

Получение соматических гибридов

Для осуществления гибридизации соматических клеток методом слияния протопластов необходимо выполнить следующие операции: 1) выделить протопласты; 2) осуществить слияние; 3) регенерировать клеточные стенки; 4) осуществить слияние ядер так, чтобы получить полноценное гибридное ядро; 5) размножить гибридные клетки; 6) регенерировать целое растение. Осуществить слияние протопластов растений, вообще говоря, несложно, но из этого не следует, что столь же просто размножить гибридные клетки или же регенерировать гибридное растение. Прежде всего, нужно отобрать гибридные протопласты, которые составляют лишь малую часть всех клеток, а затем создать им условия для развития. Примером работы такого рода может быть эксперимент по соматической гибридизации *Petunia hybrida* и *Petunia parodii*. Здесь отбор был основан на различиях в способности к росту протопластов из листьев этих двух видов растений. Дело в том, что протопласты *Petunia parodii* в использованной в этом опыте среде могли формировать лишь микрокалусы, состоящие не более чем из пятидесяти клеток, в то время как из протопластов *Petunia hybrida* можно получать

растущие каллусы. Было использовано также и то обстоятельство, что протопласты *Petunia hybrida* более чувствительны к актиномицину D, чем протопласты *Petunia parodii*.

Гетерокарион, образующийся в результате слияния двух разных протопластов, может после слияния ядер превратиться в гибридную клетку. Имеется в виду, что происходит объединение всех несущих генов, самореплицирующихся органелл обоих протопластов, в то время как при обычном половом скрещивании от каждой родительской клетки поступает по ядру, несущему хромосомные гены (кариомы), но гены, передаваемые с пластидами (пластидомы) и митохондриями (хондриомы), передаются обычно лишь от женской клетки. Таким образом, методы на основе слияния протопластов позволяют получать комбинации двух полных родительских геномов. Слияние протопластов двух скрещивающихся половым путем видов нередко приводит к образованию стабильных амфиплоидных гибридных клеток, из которых могут быть регенерированы растения соматические гибриды. Надо сказать, что метод слияния протопластов пригоден для работы не только со столь близкими видами или гибридными клетками.

Способы применения метода слияния протопластов весьма многообразны. Возможность образования соматических гибридов создает предпосылки для изменений внеядерного генного компонента гибридных клеток. Для этого, например, можно использовать протопласты-альбиносы, в которых нет хлоропластных генов, или же протопласты, у которых во время слияния проводится инактивация ядерного генома одного из родителей. Донорами цитоплазматических генов, вводимых путем слияния в полноценные протопласты, могут быть безъядерные субпротопласты или микропласты.

Захват протопластами микроорганизмов и ДНК

Дэйви и Пауэр (Davey, Power, 1975) обнаружили, что ПЭГ способствует захвату клеток и протопластов дрожжей и клеток синезеленых водорослей протопластами *Parthenocissus tricuspidata*. При этом микроорганизмы локализуются в ограниченных мембранами пузырьках (везикулах) цитоплазмы протопластов. Значительный интерес представляет возможность введения в протопласты интактных микроорганизмов с полезными свойствами, например таких, которые способны фиксировать азот. Другой вариант – это введение в высшие растения генетического материала микробов с последующей его экспрессией. В принципе методы слияния протопластов вполне могут использоваться для этой цели, но пока успехи и в этой области весьма скромны.

При введении в протопласты нового генетического материала в виде

чистой ДНК последняя не всегда сохраняется и экспрессируется в хозяйских клетках. Весьма перспективным представляется использование в качестве векторов Ti-плазмид *Agrobacterium tumefaciens*, так как они непосредственно включаются в ДНК хозяина и легко экспрессируются при образовании опухолей. Ti-плазмиды, содержащие или не содержащие чужеродной ДНК, могут вызвать трансформацию протопластов растений. По-видимому, такие исследования будут проводиться все более интенсивно.

Переработка отходов, образующихся при загрязнении почвы

Известно, что в каждом доме в результате жизнедеятельности его обитателей образуется существенное количество ненужных материалов и изделий, начиная со старых бумаг, пустых консервных банок, бутылок, пищевых отходов, и кончая изношенной одеждой, разбитой посудой и вышедшей из строя бытовой техникой. Традиционно все эти отходы выбрасываются, в результате чего образуются огромные свалки и грубо нарушается один из основных экологических законов – закон обязательного кругооборота веществ в живой природе.

Здравый смысл говорит нам, что общество, производящее эти и другие отходы и не использующее их, не может быть надолго устойчивым. В настоящее время некоторые страны находятся на грани кризиса: количество мусора неизмеримо растет, а мест для свалок становится все меньше и меньше. Однако существуют пути, если не полного, то частичного решения этой проблемы и в ряде случаев они успешно внедряются на практике.

Пути ликвидации твердых отходов

Общий термин для всех вышеназванных материалов, которые мы выбрасываем из домов и учреждений и обычно называем мусором, отбросами и т.п., – **твердые бытовые отходы**. К ним не относятся промышленные, сельскохозяйственные и канализационные отходы, о которых шла речь в предыдущих разделах.

На протяжении многих лет количество твердых бытовых отходов неуклонно возрастало: отчасти из-за роста населения, но в основном из-за изменения образа жизни людей, использующих все больше оберточных и упаковочных материалов. Сейчас на человека приходится свыше 1,5 кг твердых бытовых отходов. Для уборки такого количества мусора только в США требуется 63 тыс. мусоровозов, а общий объем мусора составляет 140 млн. т в год.

Исследования показывают, что состав городских твердых бытовых отходов примерно таков:

Бумага.....	41%
Пищевые отходы.....	21%
Стекло.....	12%
Железо и его сплавы.....	10%
Пластмассы.....	5%
Древесина.....	5%
Резина и кожа.....	3%
Текстиль.....	2%
Алюминий.....	1%
Другие металлы.....	0,3%

Доля отдельных компонентов отходов существенно варьирует в зависимости от их источника (жилой дом или торговый центр, обеспеченный или бедный район и т.д.), а также от времени года. В отдельные сезоны доля **садового мусора** (скошенной газонной травы, опавших листьев и т.п.), равна по объему всем остальным вместе взятым категориям.

Как правило, местные власти должны убирать и ликвидировать твердые бытовые отходы. Муниципалитет, либо, располагая собственными мусоровозами, нанимает для них рабочих, либо заключает контракт с частной фирмой на уборку мусора. В любом случае уборка оплачивается из городского бюджета, который в свою очередь формируется за счет местных налогов.

Открытые горящие свалки

Вплоть до 1960-х гг. большая часть твердых бытовых отходов вывозилась и сжигалась на открытых площадках. Это позволяло уменьшить объем материала и продлить срок работы свалки, однако отходы плохо горят. Такие свалки нещадно дымили, распространяя зловоние, и служили рассадниками мух, крыс и т.п. В некоторых городах использовались печи для сжигания мусора, но без надлежащего контроля они становились основными источниками загрязнения воздуха. Поэтому по требованию населения и в соответствии с законами о защите окружающей среды открытые горящие свалки и большинство таких печей к концу 1960-х-началу 1970-х гг. были ликвидированы.

Захоронения

В качестве альтернативы чаще всего используются *захоронения (могильники)*. При этом мусор просто зарывают в землю или вываливают на нее и засыпают землей. Поскольку отходы в этом случае не горят и покрыты несколькими сантиметрами грунта, удается избежать как

загрязнения воздуха, так и размножения нежелательных животных. К сожалению, при создании захоронений принимались во внимание только два последних обстоятельства, а также имеющиеся средства. Руководители городских служб по уборке мусора обычно не понимали экологических проблем и не интересовались тем, как происходит круговорот воды, какие вещества могут появиться в процессе разложения отходов, как избежать нежелательных последствий. Как правило, любой дешевый и удобно расположенный участок земли с естественным понижением становился местом захоронения отходов. Часто для этого выбирались овраги, лощины, заброшенные карьеры, заболоченные низины. После приобретения участка начиналось заполнение его мусором без всяких мер предосторожности. Девизом было: «Яму следует засыпать». При этом порой планировалось позднее (после подсыпки почвы и рекультивации) разместить на месте свалки парк или игровую площадку, что во многих случаях и делалось. То есть первоначально такие захоронения рассматривались и как способ одновременного освоения «пустырей».

Проблемы, связанные с захоронением отходов

Поняв все, о чем говорилось в предыдущих главах, Вы и сами сможете назвать проблемы, связанные с захоронением отходов. В их число входят:

- вымывание веществ и загрязнение грунтовых вод;
- образование метана;
- просадка грунта.

Вымывание веществ и загрязнение грунтовых вод

Самая серьезная проблема – это загрязнение грунтовых вод. Вспомним, что по мере просачивания воды сквозь любой материал в ней обычно растворяются и с ней выносятся различные химические вещества. Такая вода с растворенными в ней загрязнителями называется **фильтратом**. Когда она проходит через необработанные отходы, образуется особенно ядовитый фильтрат, в котором наряду с остатками разлагающейся органики присутствуют железо, ртуть, свинец, цинк и другие металлы из ржавеющих консервных банок, разряженных батареек и других электроприборов, причем все это густо приправлено красителями, пестицидами, моющими средствами и другими химикатами. Неграмотный выбор мест захоронения отходов и отсутствие мер предосторожности позволяют этому зелью попадать прямо в подземные водоносные горизонты.

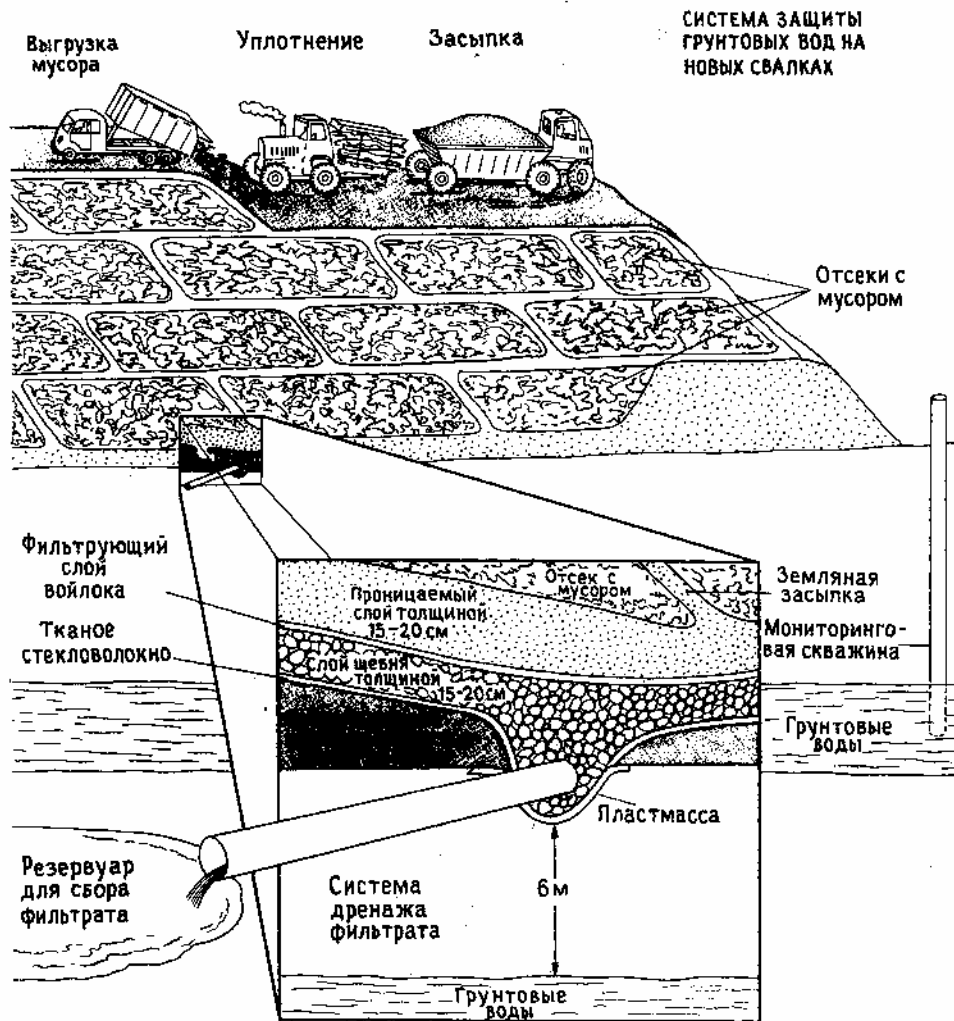


Рис. 25. Схема современного захоронения отходов с системой защиты окружающей среды. Могильник расположен на возвышенности, значительно выше уровня грунтовых вод. Дно его изолировано уплотненным слоем глины, на котором находится слой щебня для отвода фильтрата и метана. Один слой мусора укладывается на другой так, что получается пирамидообразная насыпь, с которой стекает вода. Могильник окружен скважинами, с помощью которых ведется мониторинг загрязнения грунтовых вод

Захоронения городских отходов, которые загрязняют или будут загрязнять грунтовые воды, есть во всех штатах США, но зоной настоящего кризиса стала Флорида. Большинство закрытых свалок расположено здесь в заболоченной местности, а 92% питьевой воды жители получают за счет грунтовых вод. В результате уже более 200 захоронений на территории Флориды либо внесены, либо планируется внести в список Суперфонда. Вы помните, что это федеральная программа по очистке мест, которые могут стать источником загрязнения грунтовых вод и угрозы для здоровья

человека. Очистка каждой свалки обойдется в 10 – 100 млн. долларов. Слишком дорого для «дешевого» способа ликвидации отходов.

Образование метана

Вторая проблема – это образование метана. У захороненного мусора нет доступа к кислороду. Поэтому его разложение идет анаэробно, а один из продуктов его – биогаз, на 2/3 состоящий из легковоспламеняющегося метана. Образуясь в толще захороненных отходов, он может распространяться в земле горизонтально, проникать в подвалы зданий, накапливаться там и взрываться при зажигании. Так было разрушено более 20 домов, расположенных на расстоянии до 300 м от свалок, причем взрывы привели к человеческим жертвам. Кроме того, метан может распространяться вверх, отравляя корни и губя растительность на месте захоронения. В отсутствие растительного покрова начинается эрозия почвы, и отходы обнажаются на поверхности. В ряде городов эта проблема решена путем устройства на месте свалок «газовых скважин», перехватывающих метан, который можно впоследствии использовать как топливо.

Просадка грунта

Наконец, по мере разложения отходы проседают. Неизбежность этого процесса была очевидна с самого начала, поэтому зданий на местах свалок не строили. Однако на игровых площадках просадка грунта тоже весьма нежелательна, поскольку образуются неглубокие понижения, в них скапливается вода, а весь участок превращается в болото.

Усовершенствование захоронений – попытка закрепить порочную практику

Приняв во внимание все вышеуказанные проблемы, Агентство охраны окружающей среды США повысило требования к выделению и обустройству мест для захоронения отходов. В соответствии с современными правилами:

- новые могильники должны создаваться на повышенных местах с глубоким залеганием грунтовых вод; нередко с вершины холма снимают грунт, используемый в последствии для засыпки отходов на полученной площадке, все еще находящейся значительно выше уровня грунтовых вод;

- по периметру могильника должны быть вкопаны керамические трубы для сбора воды и фильтрата, а его дно следует покрыть водонепроницаемым слоем глины или пластика толщиной по меньшей мере 12 дюймов; поверх него укладывают слой крупного гравия и слой пористого грунта; все это предназначено для того, чтобы фильтрат, достигнув водонепроницаемого слоя, стекал сквозь гравий в систему коллекторов, а затем подвергался соответствующей переработке;
 - слой гравия, окружающий свалку, служит и для отведения образующегося метана;
 - послойная укладка отходов продолжается до тех пор, пока захоронение не станет похоже на пирамиду; при такой форме сводятся к минимуму инфильтрация и просачивание воды, а следовательно, и вымывание веществ из мусора;
 - наконец, по периметру свалки устраиваются мониторинговые колодцы для периодического контроля за качеством грунтовых вод.
- Все эти требования к захоронениям отражены на рис. 25.

Возрастание стоимости захоронений

Хотя предложенная конструкция и решает в принципе перечисленные выше проблемы, широкому ее внедрению мешает стоимость, причем наибольших расходов требует не сама стройка, а приобретение земельного участка и доставка туда отходов.

Никто не хочет жить возле свалки, а продолжающаяся урбанизация ведет к отсутствию в окрестностях городов мест, не занятых дорогами коттеджами. Поэтому выбор участка под захоронение вызывает протест и часто судебный иск под лозунгом: «Где угодно, только не здесь!» Юридические расходы на преодоление этих препятствий нередко равны по стоимости всем остальным издержкам, вместе взятым. Альтернативой может быть выбор весьма отдаленного участка, но тогда очень дорогой становится доставка туда отходов. Играть роль и границы между регионами: ни один из них не хочет служить свалкой для другого. В результате всего этого во многих случаях расходы при использовании нового захоронения отходов составляют более 100 долларов за тонну мусора.

По причине столь высоких цен и юридических препятствий большинство твердых бытовых отходов все еще отправляется на старые свалки, где нет адекватной системы защиты окружающей среды. Например, из 6000 городских свалок в США, куда сбрасывается 75% (свыше 100 млн. т) твердых бытовых отходов в год, три четверти не

изолированы, на 95% нет системы сбора фильтрата, на 75% не ведется мониторинга грунтовых вод. К сожалению, в нашей стране дело обстоит еще хуже.

Этот кризис продолжает обостряться: в ближайшие пять лет в США намечено закрыть около 1200 старых свалок, исчерпавших свою емкость или представляющих угрозу для среды, в то время как новых захоронений планируется построить вдвое меньше. В 1960-е гг. многие экологи думали, что наше общество, неразумно избавляясь от отходов, вскоре столкнется с нехваткой сырья. По иронии судьбы, его-то пока хватает, а выбрасывать мусор уже некуда.

Здравый смысл подсказывает, что даже при достаточных площадях под новые захоронения сама их система неустойчива. В итоге мы можем получить покрытый «пирамидами» ландшафт, а большая часть общества станет «жрецами», занимающимися ритуальным сбором проб подземных вод без ясного понимания, зачем это делается. К счастью, такое развитие событий не обязательно.

Возможные решения. Рециклизация

Рециклизация, т. е. вторичная переработка отходов, – очевидный выход из положения. Разумеется, многие предлагали его и раньше. В небольших масштабах стекло, бумага и алюминиевые банки рециклируются уже десятки раз. Что же мешает перерабатывать практически весь утиль? Дело в том, что на пути широкомасштабной рециклизации отходов существует ряд препятствий. Однако, если определить эти трудности, их можно преодолеть, и в ряде случаев проблема уже решается. Рециклизация отходов представляет собой огромную развивающуюся отрасль промышленности с блестящим будущим.

Трудности на пути рециклизации

Основные препятствия, которые следует преодолеть на пути рециклизации отходов, следующие.

Сортировка. Мы привыкли выбрасывать все отходы в один контейнер и ликвидировать их как единое целое. Чтобы рециклизовать эту массу мусора, ее следует сортировать либо дома, либо уже после сбора.

Отсутствие стандартов. Сортировка затруднена отсутствием стандартов. Так, в составе сходных или даже одних и тех же продуктов могут быть различные типы пластмасс или бумаги.

Переработка. Должны существовать фирмы, заинтересованные в получении собранных материалов и переработке их в пользующиеся спросом товары. В противном случае все это опять же попадет на свалку.

Маркетинг. Необходим промышленный или потребительский рынок для покупки продукции, изготовленной из вторичного сырья. В противном случае перерабатывающая фирма обанкротится, а переработанный утиль вновь станет мусором.

Противоречия между государственным и частным секторами. Обычно сбор мусора производится местными властями, которые неохотно вникают (да, вероятно, и не должны вникать) в проблемы дальнейшей переработки отходов и реализации вторсырья; это дело частного бизнеса. Производственные фирмы в свою очередь предпочитают иметь дело с чистым, однородным сырьем, а мусор к таковому не относится. Поэтому, за редкими исключениями, они не хотят заниматься отходами. Такое отсутствие сотрудничества между местными властями и частным сектором часто служит тормозом на пути рециклизации.

Заинтересованность предпринимателей в сохранении сложившейся ситуации. Производя и продавая бутылки, консервные банки и другие товары одноразового пользования, которые тут же выбрасываются за ненадобностью, можно неограниченно долго получать громадные доходы. Поэтому предприниматели, занятые этим бизнесом, всегда выступали против внедрения любой формы рециклизации.

Скрытые расходы. Поскольку ликвидация мусора оплачивается государством, люди часто не представляют себе ее реальную стоимость. Они не подозревают, что в нее входят затраты на охрану грунтовых вод, очистку опасных мест и мониторинг среды. Без учета этих затрат нынешняя служба ликвидации отходов может показаться дешевой. Обсуждаемые альтернативы, напротив, выглядят дорогими, но в долгосрочной перспективе расходы на них будут меньше.

Пути решения проблем

Однако препятствия не могут служить оправданием для бездействия. Наоборот, их следует использовать как стимул для творчества. Сотни городов по всей стране так или иначе преодолевают указанные проблемы и переходят к рециклизации. Ниже приведены некоторые основные пути поиска решений.

Партнерство правительства и бизнеса. В настоящее время растут и множатся фирмы, которые намерены обеспечивать весь цикл рециклизации отходов, а именно их сбор, переработку и производство товаров из полученных материалов. С ними местные власти заключают контракты, в основе которых лежит обязательство фирмы собирать и

рециклизовать некоторый минимальный процент отходов, чтобы они не попадали на свалку. Местная администрация в свою очередь предоставляет таким фирмам определенные льготы типа «эксклюзивного» права на сбор отходов и продажу некоторых произведенных из них материалов на территории, находящейся под ее юрисдикцией. Кроме того, местные власти могут выступить в роли оптового покупателя некой доли бумаги, компоста или пластмасс из вторичного сырья. Понятно для чего нужны все эти гарантии? Без них фирма могла бы обанкротиться, и в результате проиграли бы обе стороны.

Сортировка. Отходы можно сортировать либо непосредственно на месте получения (в домах), либо после сбора на особых установках. В первом случае необходимы совместные усилия жителей, однако это способ недорогой, поскольку труд «добровольный». Технически все выглядит так: в определенном месте устанавливаются мусорные контейнеры «кодового» цвета, каждый из которых предназначен для определенного вида отходов пластмассы, металлов, стекла, бумаги, растительного мусора и т.д. Обычный мусоровоз буксирует за собой трейлер с разноцветными мусорными баками, и рабочие загружают в них мусор в соответствии с цветом. Несортированные отходы поступают, как обычно, в мусоровоз.

Другой вариант – это сортировка отходов на специальных установках. Такие станции уже построены и работают. Технологическая линия одной из них показана на рис. 26. Оборудование ее весьма дорогостоящее, расходы на эксплуатацию и технический уход также высоки, но выручка от продажи получаемой продукции почти полностью их возмещает. Еще один способ сортировки отходов – вручную на конвейере.

В странах третьего мира многие бедняки зарабатывают на жизнь тем, что копаются в помойках и перепродают «мусор». Однако это свидетельствует лишь об их вопиющей нищете и не может быть рекомендовано как шаг на пути к рециклизации.

Вторичная переработка и доходы. Существует множество способов вторичной переработки различных типов мусора, причем постоянно предлагаются новые. Во многих промышленно развитых странах вторичная переработка отходов промышленности, сельского хозяйства и бытового мусора осуществляется все более эффективно. Перечисленные отходы рассматриваются не просто, как мусор, а как сырье для получения новой продукции. Достаточно упомянуть производство тротуарной плитки и строительных блоков из золы, образовавшейся при сжигании мусора, получении гаммы химических продуктов при переработки огромного количества автомобильных покрышек, получении металлов, пластмасс, бумаги, древесных композитов и другой полезной продукции.

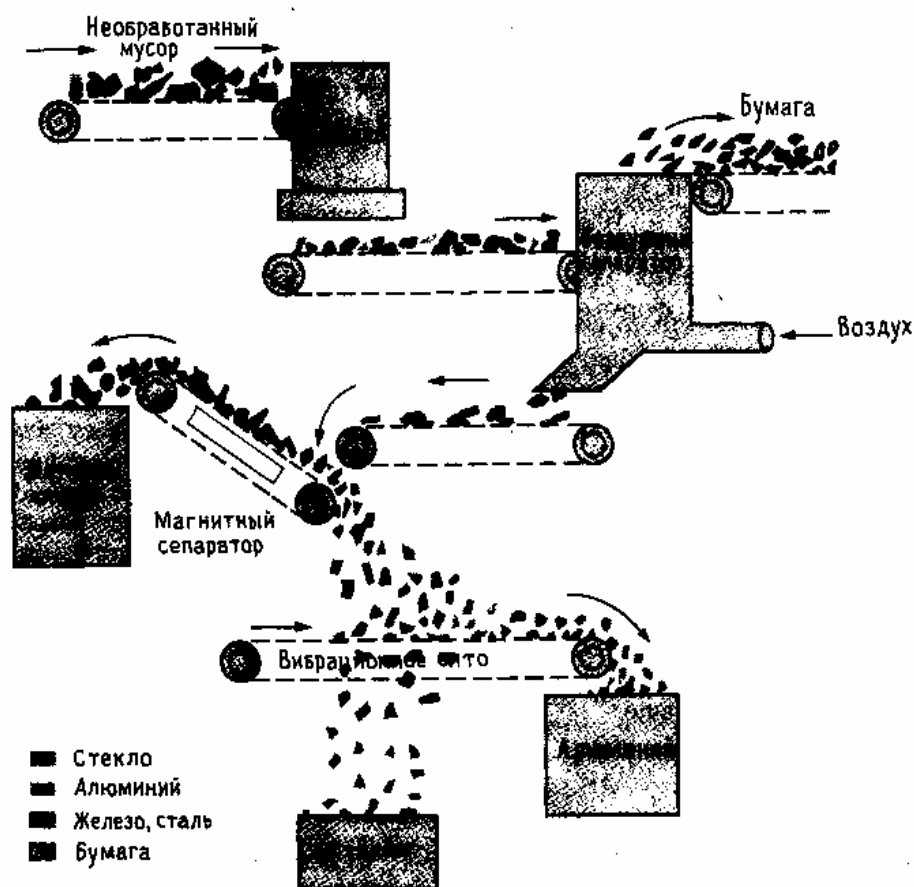


Рис. 26. Технологическая линия по сортировке твердых бытовых отходов

Экономические аспекты вначале, разумеется, не могли быть особо благоприятными, однако, по мере совершенствования технологий переработки сырья, внедрения принципиально новых способов утилизации отходов появляется возможность говорить о том, что некоторые продукты дешевле получать, перерабатывая вторичные отходы, чем из традиционного природного сырья.

Наиболее широко применяемые технологии таковы:

- макулатуру снова измельчают в бумажную массу (пульпу), из которой изготовляют различную бумажную продукцию; ее можно также перемалывать и продавать как целлюлозную изоляцию, измельчать и компостировать (см. ниже);

- стекло дробят, плавят и делают из него новую тару или дробят и используют вместо гравия или песка при производстве бетона и асфальта;

- пластмассу переплавляют и изготавливают из нее «синтетическую древесину», устойчивую к биодegradации и обладающую громадным потенциалом как материал для различных ограждений, настилов, столбов, перил и других сооружений под открытым небом;

- металлы плавят и перерабатывают в различные детали; получение алюминия из лома позволяет экономить до 90% электроэнергии, необходимой для его выплавки из руды;

- пищевые отходы и садовый мусор компостируют с получением органического удобрения.

- текстиль измельчают и используют для придания прочности макулатурной бумажной продукции;

- старые покрышки переплавляют с изготовлением новых резиновых изделий.

Кроме этих, предложены и внедряются сотни других промышленных методов переработки отходов для изготовления из них ценных продуктов. Таким образом, рециклизация становится все более выгодной, а потенциальная прибыль данной отрасли привлекает к ней все новые и новые фирмы, несмотря на заинтересованность некоторых старых компаний в сохранении современной ситуации.

Юридические аспекты рециклизации отходов

Местной администрацией принимаются различные юридические акты, обязывающие проводить рециклизацию или по крайней мере стимулирующие ее. К ним можно отнести следующие.

Законы об обязательной рециклизации. Во многих штатах США уже приняты законы, согласно которым каждый округ под угрозой прекращения финансирования из фондов штата обязан к определенному сроку ввести рециклизацию некоторой части отходов на своей территории.

Запрет на захоронение некоторых отходов и их составляющих. На первом месте в этом списке стоит так называемый садовый мусор; так как объем его велик, его легко отделять от прочих отходов, компостировать до гумуса и использовать в садовом и парковом хозяйстве.

Такой запрет принят на сегодня в ряде штатов США: Висконсине, Иллинойсе, Миннесоте, Нью-Джерси, Пенсильвании и Флориде. Разумеется, повсеместно запрещено захоронение токсичных и взрывоопасных объектов, например автомобильных аккумуляторов.

Требование покупать продукцию вторичной переработки. Администрация штата может просто потребовать, чтобы все подчиненные ей конторы покупали какой-то процент изготовленной из макулатуры бумаги, дорожные службы использовали пластиковые дорожные знаки из

вторсырья, а парковые хозяйства – компост, полученный в результате переработки садового мусора.

Предоплата ликвидации. Предоплату за ликвидацию мусора получают, прибавляя к цене каждого продукта в стеклянной, металлической или пластмассовой таре один-два цента. Речь идет о широком диапазоне товаров от напитков и шампуней до консервов для собак. Такая наценка ставит покупателя в известность, что уборка мусора требует затрат. Доходы от нее можно использовать для пропаганды программ рециклизации, финансирования экспериментальных работ в этой области, поощрения особо интересных достижений в ней, для любых других форм ее поддержки и стимулирования.

Компостирование

Один из способов переработки отходов, популярность которого быстро растет, – *компостирование*. Напомним, что оно заключается в естественном биологическом разложении (перегнивании) органического вещества в присутствии воздуха. Конечный продукт – гумусоподобное вещество, которое можно использовать как органическое удобрение. Этот же метод применяется и для обработки канализационного ила. Для чего ил-сырец отфильтровывают, смешивают с древесной стружкой или другим материалом для улучшения аэрации и складывают в кучи или компостные ряды. В компостных кучах бактерии и другие редуценты и детритофаги перерабатывают органическое вещество в питательную гумусоподобную массу. Патогенные организмы не выдерживают конкуренции, а тепла, выделяемого при дыхании, оказывается достаточно для их гибели. Если компостные куши хорошо аэрировать, при дыхании микроорганизмов будут выделяться только углекислый газ и вода. Неприятные запахи веществ, образующихся при *анаэробном* сбраживании, в этом случае отсутствуют. После 6–8 недель компостирования от древесной стружки отделяют гумус, готовый для применения на полях. Стружку можно использовать вторично.

В случае бытового мусора стружку можно заменить на компоненты мусора. Поскольку бытовые отходы обычно на 60 – 80% (и более, если включают садовый мусор) состоят из органики (бумага, пищевые отбросы), их также можно компостировать (рис. 27). Существует ряд фирм, занимающихся строительством и эксплуатацией предприятий по компостированию отходов, а также продажей необходимого для этого оборудования. Стекло, металлы и пластмассу отделяют либо до, либо после такой переработки, а затем при желании рециклизируют. Кроме того, можно смешивать канализационный ил с бытовыми отходами и компостировать их синергически. Бумага способствует обезвоживанию канализационного ила и лучшей аэрации смеси, а ил ускоряет процесс разложения. Компост в качестве удобрения находит широкое применение

при рекультивации земель, а также в сельском, садовом и парковом хозяйстве.

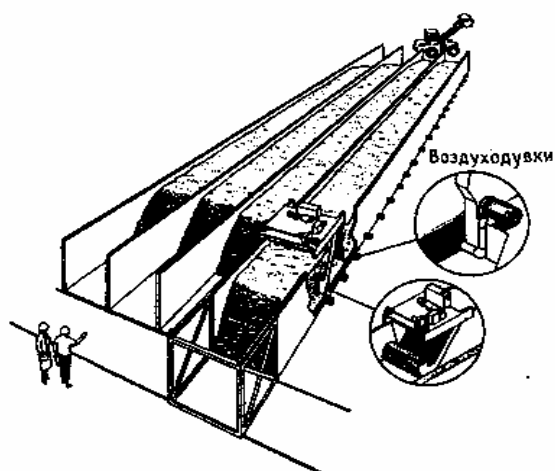


Рис. 27. Компостирование мусора. Выдерживание материала во влажном, но хорошо аэрируемом состоянии ведет к разложению бумаги, пищевых отходов, садового и другого органического мусора до гумусообразной массы, причем этот процесс происходит без неприятного запаха. Здесь приведена «замкнутая динамическая система компостирования», которая позволяет непрерывно подавать отходы с одного конца и выгружать компост с другого. В случае необходимости можно ограничиться и специальным «баком» или ферментером

Отходы как источник энергии

Содержание в отходах органического вещества позволяет использовать их как топливо, хотя и низкокалорийное. Сжигание отходов для получения энергии – нечто среднее между идеальной рециклизацией и простым их захоронением. Ряд таких установок уже работает, еще больше строится; их задача – производство электроэнергии, которой всегда не хватает. При сжигании отходов во многом облегчаются трудности, связанные с сортировкой, переработкой и продажей вторичной продукции.

Самые ценные материалы, содержащиеся в отходах, – железо и алюминий можно при необходимости извлекать из золы. Прочие негорючие остатки требуют захоронения, но, так как они составляют лишь 10 – 20% от исходного объема мусора, могильник будет функционировать в 5 – 10 раз дольше, чем без предварительного сжигания. Еще важнее то, что зола не подвержена ни разложению, ни усадке, и ее можно

использовать в качестве наполнителя при строительстве дорог, насыпей и т.д. Иными словами, проблем с ней почти не возникает.

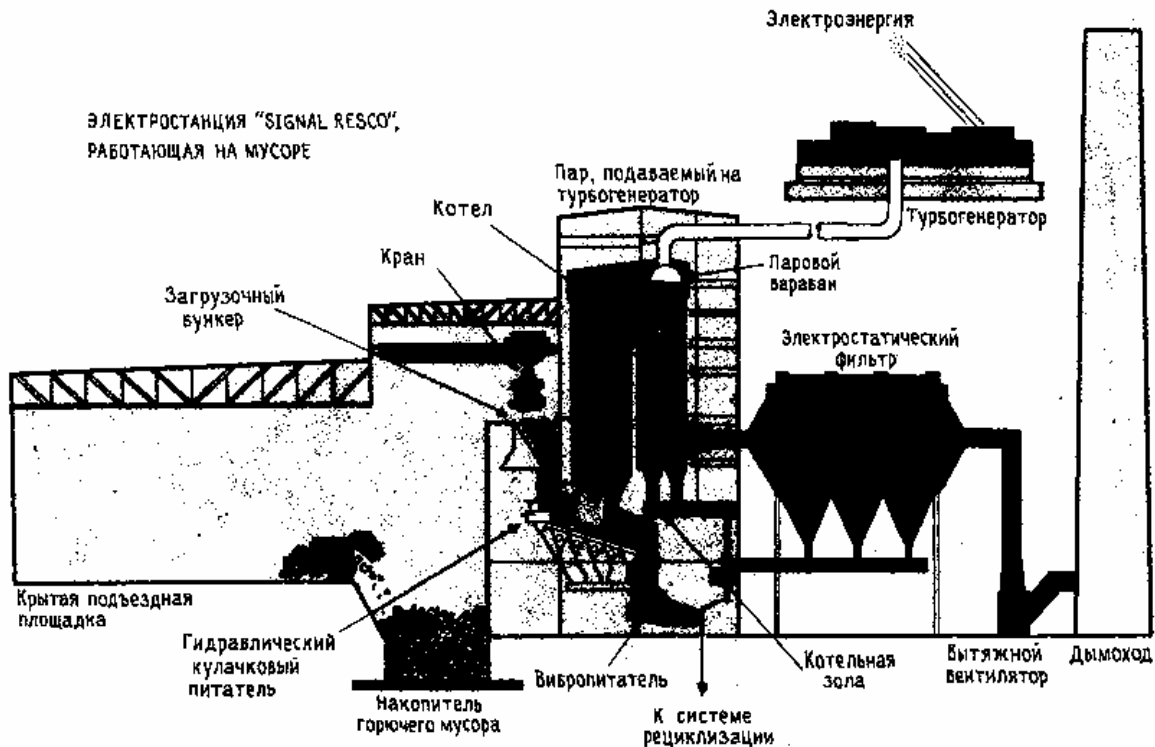


Рис. 28. Превращение твердых бытовых отходов в электроэнергию. Эта электростанция мощностью 60 МВт в Балтиморе (Мэриленд) сжигает в день 2000 т несортированных отходов, обеспечивая электроэнергией около 60000 домов. Загрязнители воздуха улавливаются электрофильтрами. Обратите внимание на чистоту и отсутствие дыма. Это хороший пример того, какими могут быть современные «помойные ямы»

На рис. 28 показана работающая на мусоре электростанция в Балтиморе (шт. Мэриленд), введенная в эксплуатацию в 1984 г. Здесь можно сжигать 2000 т отходов в сутки. Получаемый пар приводит в действие генератор мощностью 60 тыс. кВт, вырабатывающий электроэнергию, достаточную для 60 тыс. жилых домов. Загрязнение воздуха отработанными газами контролируется электрофильтрами.

Единственным недостатком этого способа можно считать то, что получение из отходов электроэнергии не позволяет их ни рециклизировать, ни компостировать.

Сокращение объема отходов

Как уже отмечалось, сильно возросшее за последние 30 лет количество отходов – результат прежде всего изменения образа жизни

людей, в частности – все большего распространения предметов одноразового пользования. Существенно сократить объем отходов можно за счет увеличения срока службы таких вещей. Реутилизация продукции в ее прежнем виде – самая эффективная форма рециклизации. В первую очередь здесь следует обратить внимание на тару, в которой продаются напитки.

Бутылки одноразового и многоразового использования

До 1950-х гг. большая часть безалкогольных напитков и пива разливалась местными производителями в бутылки, которые можно было сдавать, получая их залоговую стоимость. Машины развозили бутылки и доставляли назад пустые, их отмывали и снова заполняли. Такая система эффективна лишь в том случае, когда расстояние между производителем и розничным продавцом относительно небольшое. Однако по мере увеличения расстояния транспортные издержки становятся слишком высоки, а потребителю приходится платить не только за напитки, но и за перевозку бутылок. В 1950-х гг. посредники, заинтересованные в расширении рынка сбыта, заметили, что транспортная наценка существенно сократится, если использовать легкую тару, которую можно выбросить и не везти обратно. И такой тип тары появился. Одновременно она оказалась очень выгодной для производителей упаковки, получающих прибыль от каждой выпускаемой ими бутылки или банки.

Благодаря мощной рекламе, направленной против традиционных бутылок и пропагандирующей удобство одноразовой тары как национального достижения, небольшая группа предпринимателей монополизировала рынок, а множество местных производителей напитков и бутылок в 1950–1960-е гг. закрыли свое дело. В то же самое время производство одноразовых бутылок и консервных банок выросло в крупную индустрию с оборотом в миллиарды долларов.

Средний человек выпивает в день около литра жидкости. В США свыше 250 млн. жителей. То, что большая часть этой жидкости разливается в одноразовую тару, которая затем выбрасывается, – пример крайнего безрассудства. Трудно вообразить более дорогостоящий и расточительный способ производства напитков.

Конечно, в таре одноразового пользования они стоят дешевле. Но сама она составляет около 6% всех твердых бытовых отходов, около 50% негорючих отходов и примерно 90% не поддающейся биodeградации части мусора на обочинах дорог. Осколки этих бутылок могут поранить, не говоря уже о проколотых покрышках машин. Такая тара нежелательна и в экологическом отношении, поскольку производство и материалов, из которых она сделана, и ее самой загрязняет атмосферу. Все это скрытые

расходы, не указываемые на товарном чеке. Покупатель платит не только за уборку мусора, но и за лечение порезов, смену автопокрышек, загрязнение воздуха и т. д.

Пытаясь изменить ситуацию, эоактивисты и организации, защищающие интересы потребителя, выступили с так называемыми «бутылочными биллями», призывающими вернуться от одноразовой тары к оборотной. Они предлагают распространить залоговую стоимость на любой вид тары. Поскольку за одноразовую тару она взимается впустую, потребители постепенно изменяют свое отношение к многоразовой таре и отдают ей предпочтение.

«Бутылочные билли» за последние 10 лет рассматривались почти в каждом штате. Всякий раз их встречало яростное сопротивление производителей напитков, тары и других заинтересованных кругов. Причина его ясна – экономические потери. Однако выдвигаемые аргументы формулируются тоньше – сокращение рабочих мест и повышение стоимости товара. Кроме того, утверждается, что количество отходов не уменьшится, так как покупатели просто не будут возвращать бутылки.

В большинстве случаев победа осталась за противниками «бутылочных биллей», организовавшими щедро финансируемые кампании протеста. Однако некоторые штаты (в 1988 г. их было девять) все же приняли эти законы, несмотря на сопротивление промышленной оппозиции. Их опыт показал, что аргументы противников «бутылочных биллей» не подтвердились; рабочих мест стало больше, цены на напитки не выросли, высокий процент бутылок возвращается, а их количество в отходах заметно уменьшилось. В ряде случаев местные пивовары и производители бутылок снова открыли свое дело, что укрепило местную экономику.

Успех законов о таре закрепляется все расширяющейся поддержкой их со стороны населения. Несмотря на выступления промышленников за отмену этих законов, ни один штат, где они были приняты, не пошел на уступки. При дальнейшем росте общественной сознательности уже в ближайшем будущем можно было бы принять общенациональный «бутылочный билль».

Другие способы

Если вещи не выбрасывать, а реутилизировать, мы добьемся сокращения отходов и экономии ресурсов. В связи с этим отрадно замечать растущую популярность уличных распродаж, «блошиных рынков» и других форм реализации подержанных товаров. Сократить количество отходов можно также, понизив материалоемкость товаров, уменьшив их размер и повысив срок службы.

Глядя на скапливающийся за день мусор, нельзя не поразиться тому, какой мощный поток материалов всех видов течет в одном направлении -

от места добычи ресурсов на свалку. Точно так же, как естественные экосистемы зависят от круговорота биогенов, устойчивое существование технологического общества в конечном счете будет зависеть от нашего умения рециклизовать или реутилизировать не только биогены, но и практически все виды материалов.

Комплексная программа ликвидации отходов

Важно понять, что делать ставку на один из методов ликвидации отходов необязательно. Можно использовать самые разнообразные сочетания рециклизации, компостирования и снижения объемов мусора. Более того, к рециклизации можно переходить постепенно, пробуя различные ее варианты и одновременно уменьшая количество захороненного мусора. Такая система одновременного использования различных методов носит название комплексной программы ликвидации отходов. Учет интересов всех сторон, имеющих отношение к данной проблеме, естественно, требует опытных менеджеров.

Рециклизация твердых бытовых отходов занимает одно из первых мест в списке важнейших государственных дел. Федеральное агентство охраны окружающей среды США (ЕРА) рассматривает ее как основу всей своей будущей политики. Однако на деле ЕРА не поспевает за фактическим решением этой проблемы на местном уровне. Города и округа вынуждены заниматься рециклизацией в силу самих законов экономики.

В 1980 г. стоимость захоронения одной тонны твердых отходов на северо-востоке США составляла 3 доллара. Сейчас, спустя 8 лет, она поднялась до 65 долларов и продолжает расти, так как новые требования, предъявляемые на федеральном и местном уровнях к захоронению отходов, становятся все строже. Сжигание, долгое время считавшееся альтернативой захоронению, еще дороже – свыше 100 долларов за тонну. Многие экологические проблемы, связанные, в частности, с выбросами в атмосферу пепла и кислотных газов, ограничили применение этого способа в крупных городах по всей территории США. В их числе Остин (Техас), Сан-Диего и Лос-Анджелес (Калифорния), Филадельфия (Пенсильвания), Лоуэлл и Холиок (Массачусетс), Чаттануга (Теннесси), Сиэтл (Вашингтон), Портленд (Орегон), Гейнсвилл (Флорида).

В то же самое время стоимость рециклизации снижается. Это происходит по двум причинам. Во-первых, поскольку все больше людей предпочитают рециклизацию, стоимость сбора отходов в перерасчете на тонну падает: один и тот же мусоровоз забирает за одну езду отходы большего числа домов. Законы об обязательной рециклизации приняты уже в нескольких штатах (Нью-Джерси, Род-Айленд, Коннектикут), а на местном уровне (округа Ислип в шт. Нью-Йорк, Перкаси в шт.

Пенсильвания, Вудбери в шт. Нью-Джерси) города регулярно рециклизируют от 20 до 50% твердых бытовых отходов.

Во-вторых, получаемое вторичное сырье привлекает промышленников, что в отличие от сжигания или захоронения отходов выгодно для местной экономики.

Термин «добавленная стоимость» объясняет, каким образом местная экономика извлекает выгоду из рециклизации. Если город А продает 1 т стекла, использованного его жителями, он может получить за нее от 30 до 70 долларов в зависимости от чистоты утиля и близости стеклоплавильного цеха. Но если в городе А есть небольшой стекольный завод, это стекло принесет уже от 4000 до 7000 долларов за тонну в зависимости от ценности производимой из него продукции. Это и называется добавленной стоимостью: возросшая цена отражает труд рабочих, их профессионализм и налог на производство, способствующие развитию местной экономики.

Старые покрышки – сравнительно небольшой по объему, но неприятный вид отходов. Средний американец выбрасывает их ежегодно около 20 фунтов. По сегодняшним ценам стоимость ликвидации этой резины – около 10 долларов за фунт. Город размером с Ньюарк (Нью-Джерси), Толедо (Огайо) или Тусон (Аризона) платит около 700 тыс. долларов в год только за то, чтобы закопать старые покрышки. Это если свалки их принимают. Однако многие из них не хотят иметь дела с покрышками. У тех есть неприятное свойство через несколько лет вновь оказываться на поверхности почвы. В некоторых штатах, например в Миннесоте, захоронение покрышек запрещено. Их можно размельчить и сжечь. Но при сегодняшних ценах на нефть это принесет около одного цента за фунт топлива. Тонко размельченные покрышки можно добавлять в дорожный асфальт и получать на несколько центов больше. Но выгоднее всего превратить использованную покрышку в ценный конечный продукт.

Фред Старк – инженер-химик, президент фирмы "Rubber Research Elastomerics" (RRE) со штаб-квартирой в Миннеаполисе. Жидкий полимер, запатентованный Старком, при добавлении к измельченным покрышкам дает материал, названный им Тайрсайкл (Tire Cycle), способный конкурировать как с исходной резиной, так и с пластмассами.

Первый завод RRE открылся в городе Баббитт на севере Миннесоты в марте 1987 г. Главные заказчики – фирмы по литью термопластов. Добавив две части *Тайрсайкла* к одной части полипропилена, можно «улучшить основные свойства, сохранив высокие литьевые качества пластмасс». Так считает главный инженер завода Джон Старк III. Для этих целей *Тайрсайкл* продается по 50 долларов за фунт, а сам композит резина/пластмасса используется для изготовления автомобильных дверей.

Экономика Баббитта окрепла еще более, когда туда перенес свое дело промышленник из Огайо, пожелавший развернуть производство

непосредственно рядом с поставщиком сырья. Фирма "Whirlair Rubber Products", используя Тайрсайкл, изготавливает покрытия для полов жилых и служебных помещений.

Представьте, что город типа Толедо, Ньюарка или Тусона построил завод, как в Баббитте, и местные компании используют поставляемый им материал для производства готовой продукции. Местные власти могли бы сэкономить большую часть от тех 700 тыс. долларов, которые они платят ежегодно за ликвидацию покрышек, добавив несколько миллионов долларов к местному бюджету благодаря новой ориентированной в основном на экспорт деятельности.

Ключом успеха Тайрсайкла служат два обстоятельства. Во-первых, компания получила финансовую поддержку и от округа, и от штата. Во-вторых, товар, который она производит, – резиновая крошка, – стоит 35 долларов за фунт, а первичная резина – 65 долларов.

Таким образом, компания помогает городу решить проблему ликвидации отходов, одновременно внося свой вклад в местную экономику.

Что касается производства пластмасс, металла, стекла, бумаги, то фирмы вкладывают деньги в рециклизацию, поскольку использование вторсырья дешевле, сокращает энергозатраты, снижает потребность в очистном оборудовании и повышает срок службы оборудования. И наконец, озабоченность населения проблемой твердых бытовых отходов помогает рекламировать и реализовать продукцию из вторсырья.

Все это говорит о том, что возможности извлечения прибыли из твердых бытовых отходов неисчерпаемы.

Отходы мясоперерабатывающих предприятий и их реализация

Известно, что после забоя сельскохозяйственных животных и последующего приготовления мясных изделий, остаются, так называемые технические фабрикаты, такие, как кровь, кости, рога, копыта и др., которые, несмотря на содержание в них белка и других ценных продуктов, в большинстве случаев выбрасываются на свалки, отравляя тем самым окружающую среду.

Наиболее простой способ переработки таких отходов – это их сочетанный кислотнo-ферментативный гидролиз, в результате которого могут быть получены продукты для пищевых, кормовых, микробиологических и даже лекарственных целей. В качестве простого примера реализации метода гидролиза может служить приготовление пептона.

Пептоны, представляющие собой смесь свободных аминокислот и некоторого количества продуктов расщепления белка – пептидов, широко используются в микробиологии и биотехнологии в качестве питательных

компонентов сред для культивирования микроорганизмов. Биологическая ценность пептона определяется в основном сбалансированным аминокислотным составом и способом получения из доступного и дешевого сырья. Для оптимального получения такого продукта необходимо знание кинетических закономерностей протекания процесса в целом и на отдельных стадиях. Как уже неоднократно говорилось ранее, кинетические характеристики любого биохимического процесса позволяют количественно оценить этот процесс и тем самым приблизиться не только к пониманию его механизма, но и к сравнению эффективности исследуемого процесса с другими процессами ферментативного гидролиза.

Чаще всего при изучении кинетики гидролиза сложных белковых субстратов в качестве основной функции отклика используют интегральные показатели количества концевых групп олигопептидов, освобождающихся в ходе реакции. Существенно меньшее внимание исследователей уделялось определению накопления свободных аминокислот в ходе ферментативного гидролиза, хотя, на наш взгляд, именно такие кинетические характеристики приближают исследователей к более близкому пониманию механизма исследуемого процесса. Зная закономерности накопления свободных аминокислот в процессе ферментативного гидролиза, можно попытаться сравнить их с особенностями накопления азота аминокислот и посмотреть, имеется ли между ними определенное сходство и различие.

В качестве объекта исследования в данном случае была взята обезжиренная водная суспензия смеси белков мышечной и костной тканей свиней, так называемый мясокостный фарш, содержащий 18 г/л минеральных компонентов и 35 г/л белка, характеризующийся следующим аминокислотным составом (в г/100 г белка): Асп – 8.5; Тре – 1.8; Сер – 3.3; Глу – 15.6; Про – 1.7; Гли – 15.5; Ала – 11.1; Цис – 0.8; Вал – 5.2; Мет – 0.4; Иле – 3.0; Лей – 6.2; Тир – 2.1; Фен – 3.8; Гис – 2.8; Лиз – 6.1; Арг – 4.1.

В качестве ферментного препарата для гидролиза использовали активированный ферментный комплекс суспензии клеток поджелудочной железы свиней (СПЖ) с протеолитической активностью 9000 ед/г

В экспериментах по определению кинетических параметров гидролиза процесс проводили при соотношении фермент-субстрат 1 : 15 (по белку) при температурах 40 – 55°C, используя для контроля процесса известные методики.

Активация ферментного комплекса из поджелудочной железы убойных животных

Хорошо известна эффективность использования ферментного экстракта из поджелудочной железы свиней для гидролиза боенской крови. Этот экстракт было решено использовать и для данного процесса. Однако относительно низкая активность ферментного комплекса из поджелудочной

железы убойных животных (ФПЖ) не давала возможность за короткое время добиться высокой степени расщепления белка. В связи с этим на первоначальном этапе исследований была предпринята попытка увеличить протеолитическую активность ФПЖ за счет подбора условий разбавления суспензии и инкубирования ее при различных температурах, о чем подробно изложено в работе.

Таблица 5

Значение констант активации и энергии активации ФПЖ свиней и к.р.с.

Вид	Температура, °С	Активация ферментного комплекса СПЖ		Инактивация ферментного комплекса СПЖ	
		Константа активации, $K_a \times 10^4, \text{с}^{-1}$	E_a , кДж/моль	Константа инактивации, $K_{ин} \times 10^4, \text{с}^{-1}$	$E_{a}^{ин}$, кДж/моль
ФПЖ свиней	45	$4,57 \pm 0,13$	$55,15 \pm 0,86$	$2,40 \pm 0,03$	$60,24 \pm 0,32$
	50	$5,63 \pm 0,18$		$3,27 \pm 0,05$	
	55	$8,65 \pm 0,22$		$4,97 \pm 0,07$	
ФПЖ к.р.с.	45	$9,98 \pm 0,93$	$81,39 \pm 0,85$	$1,02 \pm 0,02$	$81,21 \pm 0,45$
	50	$15,28 \pm 0,92$		$1,55 \pm 0,02$	
	55	$25,58 \pm 0,77$		$2,60 \pm 0,05$	

Изучение термостабильности и протеолитической активности суспензии ФПЖ крупного рогатого скота (к.р.с.) и свиней в буферных растворах позволило рассчитать кинетические константы стабильности K_a и $K_{ин}$, а также определить энергии активации E_a и $E_a^{ин}$ процессов активации и инактивации ФПЖ, представленные в табл. 5.

В результате проделанной работы был найден способ активации ферментного комплекса ФПЖ, заключающийся в получении суспензии поджелудочной железы с гидромодулем 0,5 (соотношением ФПЖ и жидкостью) и последующем термостатировании ФПЖ к.р.с. и свиней при 45°C в течение 1,5 ч и при 50 °С в течение 2 ч соответственно. ФПЖ к.р.с.

и свиней имели рН-оптимум 7,0. Активированные ферментные препараты ФПЖ к.р.с. и свиней обладали протеолитической активностью 6000 и 9000 ПЕ/г соответственно, что в 1,5 – 2,0 раза превышало комплекс ФПЖ, полученный традиционным методом. Причем, как видно из полученных данных, активность ФПЖ свиней в 1,5 раза превышала активность ФПЖ к.р.с.; поэтому в дальнейшей работе был использован именно этот ферментный комплекс.

С целью изучения эффективности использования ферментных препаратов ФПЖ был проведен гидролиз 3% раствора сухого белкового экстракта мясокостного фарша панкреатином, а также неактивированным и активированным ФПС свиней. Как показали исследования, применение ФПК свиней обеспечивало выход свободных аминокислот из мясокостного фарша на уровне 45 – 50%, что примерно в 1,3 – 1,5 раза выше, чем использование панкреатина.

Гидролиз мясокостного фарша

Для описания кинетических закономерностей протекания ферментативного гидролиза была использована кинетическая модель, предусматривающая наличие «быстрой» и «медленной» стадий процесса. Согласно этой модели, как уже отмечалось ранее, гидролиз белка рассматривают как сумму субстратов, скорость распада каждого из которых определяется его концентрацией и кинетическими характеристиками. В этом случае кинетические константы можно определить по уравнениям, вывод которых получается из преобразования уравнения (1). В этом случае в момент времени t (или τ) скорость гидролиза V , пептидных связей, обладающих близкой реакционной способностью, можно определить по уравнениям (1 – 3):

$$V_t = V_{\max} e^{-K_i t}, \quad (1)$$

где V_{\max} – максимальная скорость гидролиза, $\text{г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$; K_i – константа эффективности протекания процесса гидролиза пептидных связей i -того типа, с^{-1} , причем V_t будем условно считать равной P/t .

Подобное допущение можно считать обусловленным для гидролиза смеси белков смесью ферментов, каковым является ФПК. В случае, когда $t \rightarrow 0$, очевидно $(P/t) \rightarrow V_0$, но так, как V_0 в условиях многокомпонентности белков и ферментов в случае нашей модели определить практически весьма сложно и, как уже говорилось ранее, при гидролизе белков реакция идет по псевдонулевому порядку, то с известной долей вероятности в данном случае можно считать, что $V_0 \approx V_{\max}^{\text{эф}}$. Тогда прологарифмировав зависимость (1) получим

$$\ln V_{\tau} = \ln (P/t) = \ln V_{\max} - kt. \quad (2)$$

На основании уравнений (1) и (2) легко определить эффективную константу Михаэлиса K_M по известному методу Холдейна.

$$K_M = V_{\max}/K_i. \quad (3)$$

На рис. 29 представлена экспериментальная зависимость накопления продуктов гидролиза суспензии мясокостного фарша от времени, выраженная в количестве свободных концевых групп продуктов гидролиза, освобождающихся в единицу времени. В результате линеаризации кинетических кривых гидролиза в координатах $P/t = f(t)$, условно считая, что гидролиз белков протекает в две стадии: «быструю», когда в белке расщепляются легко гидролизующиеся пептидные связи и «медленную», когда происходит гидролиз образовавшихся олигопептидов до пептидов меньшего размера и свободных аминокислот, удалось определить эффективные максимальные скорости гидролиза V_{\max} и другие псевдокинетические константы (см. табл. 6). Анализируя полученные данные (табл. 6) можно заметить, что значения энергий активаций на «быстрой» и «медленной» стадиях весьма близки между собой.

В табл. 6 приведены кинетические константы, полученные при анализе «быстрой» стадии процесса при температуре, наиболее оптимальной для практического проведения процесса гидролиза. Подобным образом можно вычислить кинетические константы для любой температуры до тех пор, пока процесс подчиняется уравнению Аррениуса.

На рис. 30(а–е) представлены характерные зависимости накопления некоторых аминокислот в ходе ферментативного гидролиза мясокостного фарша при различных температурах. Подобный вид зависимостей был типичным и для других исследованных аминокислот. Аналогично приемам, используемым для определения общих констант расщепления белка, кинетические кривые выхода свободных аминокислот также удалось условно аппроксимировать двумя прямолинейными участками, характеризующими «быструю» и «медленную» стадии процесса.

В качестве примера в табл. 7 приведены кинетические константы, полученные при анализе «быстрой» стадии процесса при температуре, наиболее оптимальной для практического проведения процесса гидролиза. Подобным образом можно вычислить кинетические константы для любой температуры до тех пор, пока процесс подчиняется уравнению Аррениуса.

Из полученных данных, было установлено, что наиболее интенсивно происходило накопление аргинина, лизина, лейцина и тирозина, о чем

свидетельствовали достаточно высокие значения V_{\max} для этих аминокислот как на «быстрой», так и на «медленной» стадиях процесса.

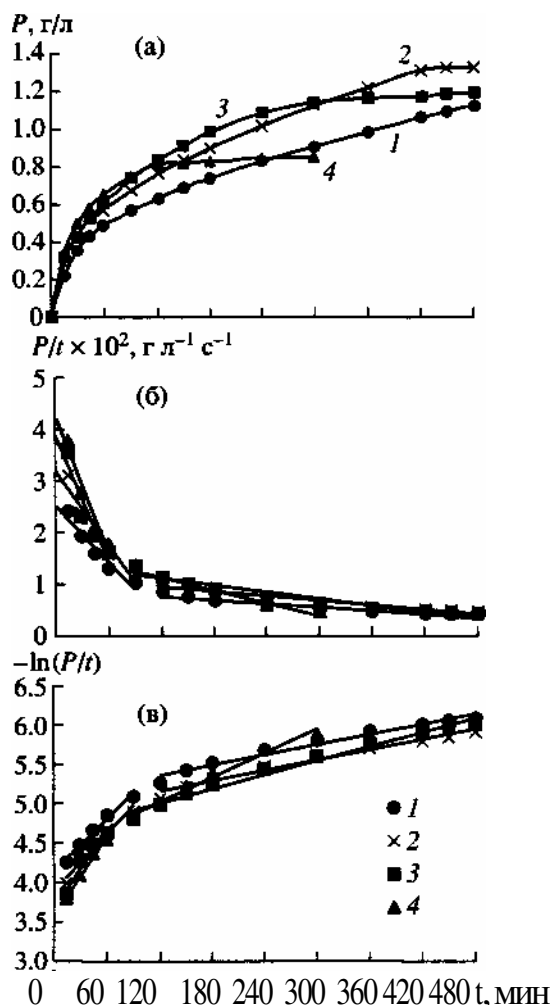


Рис. 29. Зависимость скорости накопления продуктов гидролиза: а – суспензия смеси белков мышечной и костной тканей в присутствии ферментного комплекса СПЖ свиней при различных температурах: 1 – 40; 2 – 45; 3 – 50; 4 – 55°C; б – графическое определение максимальных кажущихся скоростей: в – константы интенсивности процесса ферментативного гидролиза

Несколько менее интенсивно происходило высвобождение фенилаланина, гистидина и валина. Для гистидина, аргинина и тирозина выход после 7 ч гидролиза при температуре 45°C составил 48 – 72%, а для валина, лизина, лейцина и фенилаланина 24 – 38%. Аланин, серин и аспарагиновая кислоты образовывались в процессе гидролиза преимущественно на «быстрой» стадии. Выход аспарагиновой кислоты и глицина вообще не превышал 2%.

Таблица 6

Макрокинетические характеристики процесса гидролиза белков суспензии мясокостного фарша ФПЖ свиней

Макрокинетические характеристики процесса	Температура, °С			
	40	45	50	55
«Быстрая» стадия				
$V_{\max} \cdot 10^4, \text{г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$	$2,53 \pm 0,17$	$3,20 \pm 0,28$	$3,87 \pm 0,38$	$4,25 \pm 0,20$
$K_i \cdot 10^4, \text{с}^{-1}$	$1,87 \pm 0,03$	$2,02 \pm 0,07$	$2,75 \pm 0,17$	$2,75 \pm 0,03$
$K_M, \text{г} \cdot \text{л}^{-1}$	$1,36 \pm 0,11$	$1,59 \pm 0,10$	$1,41 \pm 0,12$	$1,54 \pm 0,11$
$E_a, \text{кДж/моль}$	$29,83 \pm 0,81$			
«Медленная» стадия				
$V_{\max} \cdot 10^4, \text{г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{с}^{-1}$	$0,93 \pm 0,08$	$1,1 \pm 0,08$	$1,38 \pm 0,10$	$1,63 \pm 0,13$
$K_i \cdot 10^4, \text{с}^{-1}$	$0,35 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,02$	$0,50 \pm 0,02$	$0,85 \pm 0,03$
$K_M, \text{г} \cdot \text{л}^{-1}$	$2,67 \pm 0,18$	$3,09 \pm 0,20$	$2,77 \pm 0,20$	$1,92 \pm 0,13$
$E_a, \text{кДж/моль}$	$32,20 \pm 0,04$			

Анализируя все вышесказанное, можно предположить, что ферменты поджелудочной железы гидролизуют в первую очередь актомиозин, миозин, миоглобин и затем уже коллаген и родственные ему белки, о чем свидетельствует низкое содержание в гидролизатах глицина, аланина, аспарагиновой и глутаминовой кислот, серина, а также пролина, т.е. тех аминокислот, которые преимущественно содержатся в коллагене.

Энергия активации для валина, треонина, тирозина, аргинина, гистидина и фенилаланина также оказалась весьма велика (см. табл. 7), что может свидетельствовать о наличии в исследуемом ФПЖ протеаз, которые расщепляют большее количество пептидных связей, образованных указанными аминокислотами, и требуют для этого больших энергетических затрат.

При сравнении энергий активации освобождения аминокислот в ходе «быстрой» стадии процесса с интегральной энергией активации всего процесса в целом (табл. 6 и 7) можно видеть, что энергия активации для свободных аминокислот в 2 – 3 раза выше, чем энергия активации для всего процесса в целом.

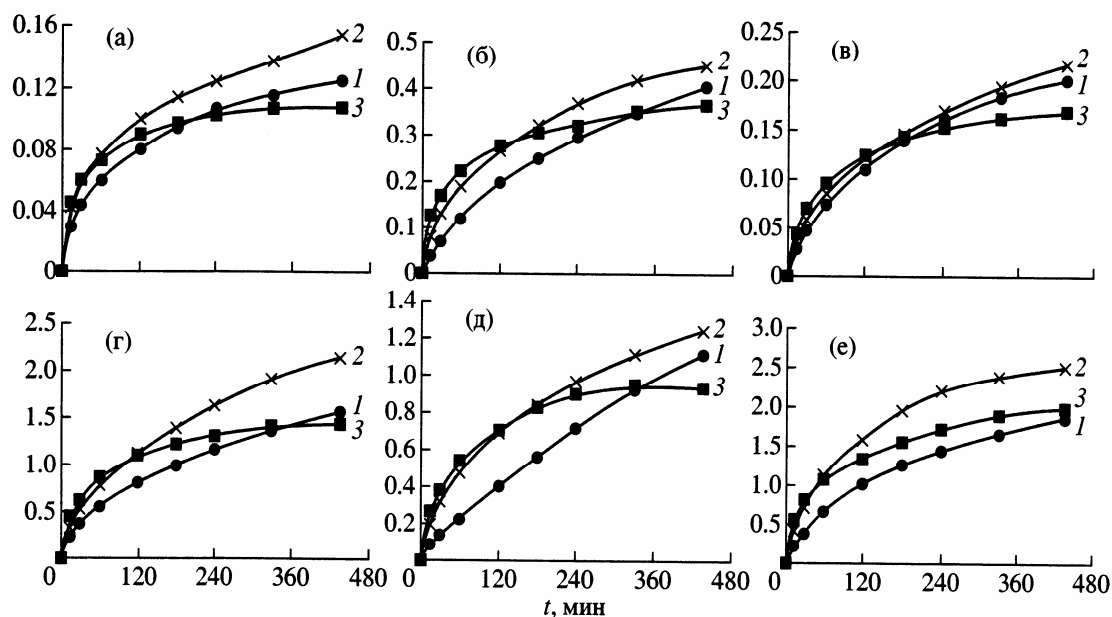


Рис. 30. Зависимость накопления аминокислот (с, г/100 г белка): а – аспарагиновая; б – треонин; в – глицин; г – лизин, д – валин; е – аргинин в процессе ферментативного гидролиза при различных температурах. 1 – 40, 2 – 45, 3 – 50°

Таблица 7

Макрокинетические константы, энергия активации и выход аминокислот в процессе ферментативного гидролиза при 45°С на «быстрой» стадии

Аминокислота	$V_{\max} \cdot 10^4$, г/100 г белка, с ⁻¹	$K_i \cdot 10^4$, с ⁻¹	K_m , г/100г белка	E_a , кДж/моль	Выход, %
--------------	--------------------------------------------------------	------------------------------------	----------------------	------------------	----------

Незаменимые аминокислоты:

ИЛЕ	1,39 ± 0,02	1,62 ± 0,02	0,86 ± 0,07	63,43 ± 0,33	21,9
ЛЕЙ	4,63 ± 0,15	1,40 ± 0,05	3,31 ± 0,27	61,25 ± 0,23	35,7
ЛИЗ	4,05 ± 0,11	1,88 ± 0,02	2,15 ± 0,18	54,58 ± 0,01	34,9
МЕТ	1,06 ± 0,12	3,00 ± 0,33	0,35 ± 0,03	62,21 ± 3,51	-
ФЕН	2,74 ± 0,01	0,98 ± 0,02	2,79 ± 0,21	69,68 ± 0,50	37,9
ТИР+ФЕН	3,61 ± 0,17	1,22 ± 0,07	2,97 ± 0,22	83,78 ± 7,73	77,4
ТРЕ	0,95 ± 0,02	1,83 ± 0,02	0,52 ± 0,04	106,12 ± 1,46	25,0
ВАЛ	2,30 ± 0,02	1,67 ± 0,02	1,38 ± 0,11	106,72 ± 6,25	24,2

Заменимые аминокислоты:

АЛА	1,76 ± 0,09	2,60 ± 0,03	0,68 ± 0,05	52,88 ± 0,04	6,6
АРГ	5,01 ± 0,06	1,37 ± 0,02	3,66 ± 0,29	81,19 ± 2,31	62,0
АСП	0,49 ± 0,02	2,67 ± 0,03	0,19 ± 0,01	38,84 ± 2,47	1,8
ГИС	2,82 ± 0,09	1,28 ± 0,05	2,20 ± 0,18	78,55 ± 2,35	47,9
ГЛИ	0,41 ± 0,02	1,60 ± 0,02	0,26 ± 0,02	38,69 ± 0,02	1,4
ГЛУ	1,50 ± 0,01	1,75 ± 0,02	0,86 ± 0,06	67,60 ± 3,47	5,8
СЕР	1,21 ± 0,03	2,38 ± 0,02	0,51 ± 0,04	50,06 ± 0,06	14,6

Таблица 8

Физико-химические показатели опытно-промышленных серий
ферментативных гидролизатов

Наименование показателя	Серия № Кс-1	Серия № Кс-2	Серия № КсМ-1	Серия № КсМ-2	Серия №КсМКр-1	Серия № КсМКр-2	Пептон по ГОСТ 13805
Внешний вид и цвет	Порошок однородный, светло-желтого цвета, гигроскопичный		Порошок однородный, светло-желтого цвета, гигроскопичный		Порошок однородный, светло-желтого цвета, гигроскопичный		Порошок аморфный однородный.
Запах	Характерный без гнилостного						Характерный
Массовая доля влаги, %	7,0	6,8	6,7	6,9	7,5	7,2	Не более 7
Массовая доля белка, %	77,4	77,6	82,4	82,1	81,3	82,0	Не нормируется
Массовая доля жира, %	11,6	11,5	7,6	7,8	8,5	8,3	Не нормируется
Массовая доля золы, %	4,0	4,1	3,3	3,2	2,7	2,5	Не более 5
Водородный показатель, рН 1% раствора	5,72	5,75	5,68	5,71	5,83	5,81	6,5 – 7,0
Массовая доля азота аминокрупп, %	2,9	2,9	4,3	4,3	5,5	5,4	Не менее 3
Массовая доля общего азота, %	12,4	12,4	13,2	13,1	13,0	13,1	14 – 15
Степень конверсии белка, %	23,4	23,4	32,6	32,8	42,3	41,2	Не нормируется

Это вполне объяснимо, так как в полученных гидролизатах содержалось 15 – 20% свободных аминокислот, тогда как остальная часть

приходилась на олигопептиды различной молекулярной массы, для получения которых, вероятно, должно тратиться меньшее количество энергии, чем для получения свободных аминокислот.

Таблица 9

Содержание свободных аминокислот (св.) и полный аминокислотный состав (полн.) опытно-промышленных образцов гидролизатов, г/100 г белка*¹

Аминокислота	Серия Кс-2		Серия КсМ-1		Серия КсМКр-2	
	полн.	св.	полн.	св.	полн.	св.
Незаменимые, в т.ч.	8,46	7,62	21,4	9,33	36,38	13,82
ИЛЕ	0,6	0,4	1,9	0,8	1,5	0,5
ЛЕЙ	1,4	1,4	4,3	2,1	8,3	2,8
ЛИЗ	2,1	2,1	4,3	2,1	7,7	2,4
МЕТ	0,2	0,2	0,4	0,3	1,7	1,7
ЦИС**	0,06	0,02	0,2	0,03	0,10	0,07
ФЕН	1,0	1,0	2,6	0,8	4,9	1,7
ТИР*	0,4	0,4	13	0,5	2,7	0,9
ТРЕ	1,0	0,6	2,8	0,9	3,2	1,0
ТРП	0	0	0	0	0,28	0,05
ВАЛ	1,7	1,5	3,6	1,8	6,0	2,7
Заменимые, в т.ч.	84,8	10,2	70,2	15,5	55,3	18,6
АЛА	9,6	1,1	7,8	1,6	6,8	2,3
АРГ	2,0	1,8	6,4	2,5	4,0	1,3
АСП	4,4	0,5	6,5	2,1	9,6	3,4
ГИС	1,0	1,0	2,5	1,3	4,9	1,8
ГЛИ	42,3	1,4	23,8	2,4	8,4	3,1
ГЛУ	11,8	3,3	10,5	3,5	14,6	4,5
ПРО	12,2	0,5	9,5	0,5	3,3	0,8
СЕР	1,5	0,6	3,2	1,6	3,7	1,4
Итого	93,2	17,9	91,6	24,8	91,7	32,5
Е/Н	0,10	0,75	0,30	0,60	0,66	0,74

** – Цистин, являясь полунезаменимой аминокислотой, обычно учитывается в сумме с метионином.

* – Тирозин, являясь полунезаменимой аминокислотой, обычно учитывается в сумме с фенилаланином.

На основании выше полученных закономерностей установлено, что эффективное время гидролиза составляло 2,5 – 3 ч при температуре проведения процесса 40 – 45°C.

Физико-химические характеристики и аминокислотный состав различных гидролизатов приведены в табл. 8 и 9.

При вышеназванных показателях:

1. глубина гидролиза мясокостного фарша составляла 35 – 40%;
2. содержание свободных аминокислот в высушенном гидролизате было не менее 25 – 30%;
3. содержание общего азота не менее 14%;
4. азота аминогрупп аминокислот и низших пептидов 4 – 6%;
5. жира не более 3%;
6. золы не более 2 – 3%;
7. влаги не более 7%.

Как показали биологические испытания на ряде микроорганизмов, полученный гидролизат аналогичен лучшим образцам пептона, выпускаемого в нашей стране и за рубежом.

Технологическая схема получения пептона

На основании проведенных исследований была разработана технологическая схема получения ферментативных гидролизатов из мясокостного фарша, приведенная на рис. 31.

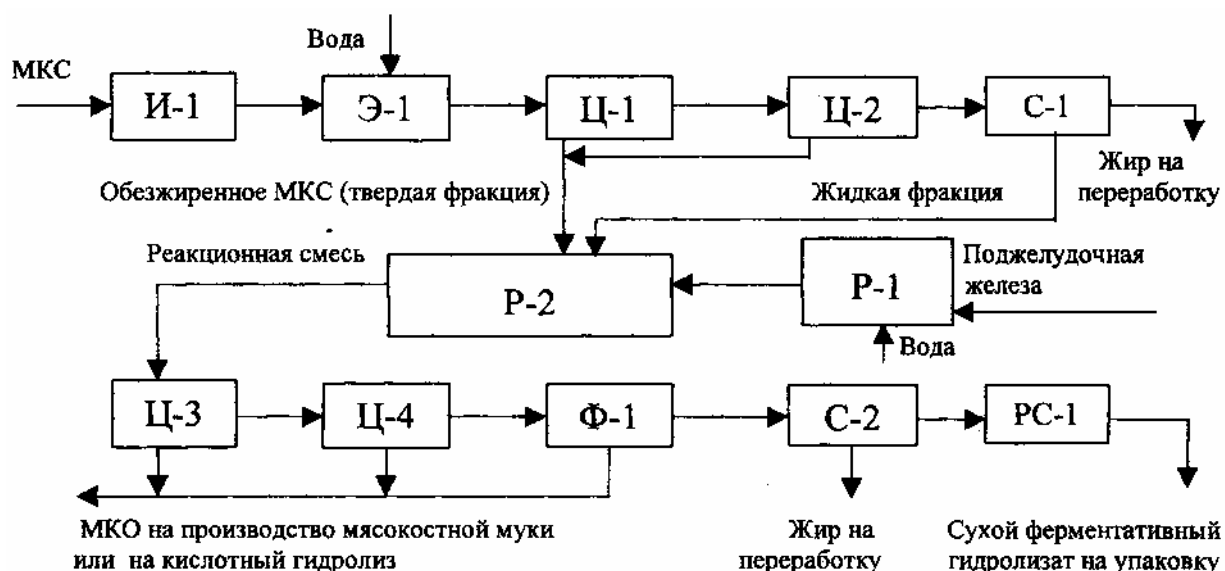


Рис.31. Технологическая схема производства ферментативных гидролизатов

Мясокостное сырье (МКС) измельчали на силовом измельчителе И-1 и обезжиривали в виброэкстракторе Э-1, промывая циркулирующей водой при 100°C. Полученную суспензию направляли на проточную центрифугу Ц-1, где происходило разделение смеси на жидкую и твердую фракции. Жидкую фракцию с помощью центробежных насосных установок последовательно обезжиривали в шнековой центрифуге Ц-2 и сепараторе С-1. Обезжиренное МКС направляли в горизонтальный вакуумный котел Р-2, где смешивали с жидкой фракцией. Смесь нагревали при 130°C в течение 2 ч. Суспензию обезжиренного МКС охлаждали до 45°C, вносили ферментный препарат из реактора Р-1 и проводили гидролиз в котле Р-2 в течение 4 ч при 45°C и перемешивании. По окончании гидролиза реакцию смесь инактивировали нагреванием до 120°C, центрифугировали на проточно-разделительной центрифуге Ц-3 и шнековой центрифуге Ц-4 и отфильтровывали реакцию массу на рамном фильтр-прессе Ф-1 через пористый картон. Фильтрат направляли на сепаратор С-2 для удаления остатков жира, а после этого высушивали на распылительной сушильной установке РС-1 при следующих параметрах: температура на входе 140°C, на выходе 90°C.

По предлагаемой схеме были получены опытно-промышленные партии гидролизатов из следующего сырья:

Серии Кс-1 и Кс-2, включающие кость 1-й и 2-й категории.

Серии КсМ-1 и КсМ-2, включающие кость и субпродукты.

Серии КсМКр-1 и КсМКр-2, включающие мясокостное сырье и боенскую кровь.

Основные свойства полученных гидролизатов приведены в табл. 8 и 9. Наиболее эффективные образцы, существенно превосходящие образцы пептона, были получены из последних двух серий, так как белки крови существенно обогащали аминокислотный состав гидролизатов, в частности такой незаменимой аминокислотой как триптофан.

Переработка бумаги и древесины

В последнее время различные «белые гнили», смесь грибных ферментов, содержащих целлюлазы и лаказы, стали находить применение в бумажной и деревообрабатывающей промышленности для разрушения лигнинов. Возможности использования принципов биотехнологии для эффективной переработки бумажных отходов и древесины будут показаны далее.

Следует отметить, что несмотря на длительный исторический период использования древесины, до настоящего времени не разработаны полностью универсальные схемы переработки отходов производства бумаги и древесины. В этой области предстоят дальнейшие исследования и разработки.

РАЗДЕЛ 1

КОНСЕРВАЦИЯ ДРЕВЕСИНЫ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ КАК ОСНОВА ПРЕДОТВРАЩЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА ОТХОДОВ

Часть 1

УМЕНЬШЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА ОТХОДОВ ЛЕСНОГО ХОЗЯЙСТВА ЗА СЧЕТ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ КОНСЕРВАЦИИ

Известно, что леса являются главным аккумулятором кислорода на нашей планете и их ежегодное уничтожение может привести, в конце концов, к тому, что воздух станет таким же источником торговли, как пищевые продукты, и, в какой-то мере, таким продуктом уже становится чистая питьевая вода.

Хорошо известно также, что лесной покров является одним из самых эффективных средств защиты почвы от эрозии, удержания почвенной влаги и обеспечения растений источниками питания.

Леса вырубаются по трем основным причинам: 1) освоение новых территорий под сельское хозяйство; 2) получение топлива для приготовления пищи и обогрева; 3) получение древесины для строительства, деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности [1].

К сожалению, первую причину вырубки леса устранить весьма сложно из-за увеличения численности роста населения планеты и связанное с этим увеличение объема посевных культур. Правда, в определенной степени, увеличение посевных площадей можно частично достичь и за счет уменьшения эрозии почвы [1]. Полное устранение второй причины, по-видимому, станет возможным только при создании новых дешевых источников энергии [2]. Иначе обстоит дело с третьей причиной вырубки лесов, которую можно существенно уменьшить при более бережном отношении человечества к лесным массивам, в частности, к тому огромному количеству древесины, которое погибает в настоящее время, как за счет своего гниения, так и небрежного отношения потребителей к лесному богатству страны.

Глава 1

Консерванты для древесины на основе солей и комплексов металлов с переходной валентностью и неметаллов

Использование металлов с переходной валентностью, несмотря на появление новых, более эффективных консервантов, по-прежнему, остается достаточно актуальным, хотя при применении следует учитывать тот определенный вред, который они причиняют окружающей среде и в первую очередь почве. Консерванты данного типа имеют ряд преимуществ

перед другими консервантами прежде всего из-за их низкой стоимости, простоты применения и высокого проникновения в глубь консервируемых древесных изделий. Как правило, в настоящее время редко используется какой-либо определенный металл, чаще всего – сочетание солей металлов друг с другом или в отдельных случаях солей металлов в виде производных органических кислот, прежде всего, летучих жирных, например таких, как уксусная, пропионовая и др., поскольку эти кислоты сами обладают консервирующими свойствами. Сочетание металлов переходной валентности с этими и другими органическими кислотами в ряде случаев может привести к образованию консерванта с определенным синергетическим действием, который, кроме того, что он глубже проникает внутрь древесины, еще и обладает в определенном смысле пролонгированным действием. Учитывая большое количество консервантов, которые уже существуют или создаются в настоящее время мы позволим себе попытаться сгруппировать эти вещества по их химическим структурам, хотя подобные группировки в ряде случаев могут быть число условными [3–7].

Консерванты для древесины и древесных изделий на основе комплексов переходных металлов, таких как медь, цинк, мышьяк и пр. вместе с другими компонентами известны с давних времен. Однако в последнее время созданы принципиально новые композиции из этих и им подобных металлов и металлоидов, которые обладают существенно более высокой антибактерицидной, антигнилостной, антиплесневой активностями, а также обладают высокой активностью против различных групп насекомых, в первую очередь против муравьев и термитов.

Остановимся вначале на консервантах на основе наиболее широко используемых переходных металлах: Cu, As, Zn и др.

Так, на примере интактной сосновой древесины и древесины, частично подверженной гниению за счет развития на ней грибов, были изучены консервирующие свойства водных аммиачных растворов Cu (II), Cr (VI), Cr (III), F и B. Было показано, что у древесины, частично подверженной действию плесневых грибов, фиксация консервантов снижается по сравнению с интактной древесиной в следующей последовательности: F – на 16 – 26%, Cr (VI) и Cr (III) на 10 – 30%, как для водных, так и аммонийных растворов. Дальше идут все остальные растворы ≥ 35 –40%. (Были изучены растворы Cu/Cr/BF, Cu/BF, Cr/BF). Для защиты сосновой древесины от дальнейшей ее порчи плесневыми грибами или «голубой» гнилью рекомендуется увеличить дозы всех консервантов, как в водных, так и в аммиачных растворах в 1,5 – 2 раза, по сравнению с дозами этих консервантов, предназначенных для интактной древесины. Так, для растворов Cu/BF, Cu/Cr/BF были использованы дозы 450 – 300 кг/м³ и давление 48 – 33 МПа [8].

Как показано в работе [9], консерванты для древесины, обладающие синергетической противогрибковой активностью, состоят из смеси металлических комплексов, включающих Cu, Al, Mn, Fe, Co, Ni, Zn, Ag, Cd, Sn, Hg, Pb и Bi, и молочной кислоты. Они были получены в виде раствора смешиванием $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 1,18; молочной кислоты – 2,13; NaNO_2 – 1,31; борной кислоты – 0,79; экстрактов из растений типа танина – 1,12, эмульгатора – 0,08 и воды – 93,2% (масс.).[9]. Подобным же действием обладает более простой консервант, содержащего 1,2% ацетата меди; 0,4% ацетата цинка и 0,8% нитрата натрия [10].

Несколько иначе ведет себя водорастворимый консервант для древесины, обладающий более продолжительным действием и состоящий из смеси $(\text{NH}_4)_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 0 – 12, CrO_3 и/или хромовой кислоты в пересчете на CrO_3 10 – 25, основного карбоната меди с одной или более гидроксильной группой и/или оксида меди 1 – 4 и/или основного карбоната цинка с одной или более OH – группами и/или ZnO 1 – 4, $(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$ или эквивалентного количества H_2SiF_6 и аммонийного компонента 7 – 11,5, а также в случае необходимости любого ингибитора коррозии 0,2 и воды до 100% [11].

В методе консервации древесины соединениями, содержащими соли меди, хрома и мышьяка предлагается использовать для консервации многих лесоматериалов водорастворимые соли для более глубокого проникновения внутрь древесины и последующего удержания с добавками оксиалкильного полимера, например, полиэтиленгликоля [12]. Для увеличения водоустойчивости подобной древесины можно использовать в качестве консерванта водоустойчивую смесь, содержащую (ч.): 0,5 – 10 меди в виде аммонийного или аминоксодержащего комплекса, 2 – 120 бората натрия и/или NaF на 1 масс. ч. меди или 0,5 – 15 частей загустителя в виде смолы/1 масс. ч. меди. Натриевая соль бора улучшает проникновение консерванта вглубь древесины [13].

Вымывание дождевой водой солей As, Cu и Cr, использованных для консервации, при помощи ионообменной хроматографии экстрактов из самой древесины и из древесины, обработанной консервантами, с последующим применением плазменно-адсорбционного спектрофотометра ICP-AES, показали, что наиболее мелкие, легко доступные фракции солей вымываются дождевой водой, тогда как наиболее крупные, так называемые тяжелые фракции, остаются в древесине [14].

Особую роль стали играть консерванты для древесины, которая имеет небольшую толщину и особенно подвержена вымыванию или выветриванию из неё консервантов. В связи с этим импрегнирование фанеры консервантами в процессе её приготовления осуществлялось смесью, состоящей из кислых солей меди, хрома и/или мышьяка или из солей аммония, содержащих ионы Cu^{2+} , H_3AsO_4 , H_3BO_3 и/или каприловой кислоты. Пропитка этим консервантом обеспечивала определенную стойкость фанеры к бактериальному заражению, особенно при её

высушивании [15]. Для увеличения адгезии и консервации фанеры был также предложен способ обработки клееной фанеры 5 консервантами: кислым хроматом меди (I), арсенат-хроматом меди (II), борной кислотой, бораксом и фенольной смолой в качестве адгезивного материала. При сравнении такой фанеры с фанерой без адгезивного материала установлено, что все консерванты оказывают адгезивное и антимикробное действие на однослойную фанеру после ее обработки [16].

Предложен также метод консервации и других видов древесины, например, панелей, путем их пропитки консервантами древесины таким образом, чтобы катионный консервант I, например поликарбоновая кислота, располагался на одной стороне материала, а анионный компонент – на другой, например, соли гуанидина. После пропитки требуется определенное время для выдерживания древесных изделий для получения нерастворимого реакционного продукта. В результате такого метода консервации существенно улучшается качество пропитки и срок годности изделий [17].

Один из методов импрегнирования фанеры описан в работе [18]. С этой целью древесные листы фанеры пропитывались в процессе их приготовления консервантом, состоящим из кислых солей меди, хрома и/или мышьяка или из солей аммония, содержащих ионы Cu^{2+} , H_3AsO_4 , H_3BO_3 и/или каприловой кислоты. После пропитки листы фанеры высушивались и использовались по назначению. Показано увеличение срока годности фанеры после такой обработки.

Как видно из нескольких приведенных литературных источников среди известных консервантов, содержащих металлы с переходной валентностью, способных найти себе применение для консервирования фанеры и других изделий особенно интересны те из них, которые хорошо растворимы в водных растворах и тем самым проникают глубоко внутрь древесины. В качестве такого консерванта может быть использован, консервант, уже описанный в работе [11].

Влияние смачивания, пропаривания и импрегнирования путем введения в сосновую древесину солей, содержащих В, Cr и Cu, (ССВ), описаны в нижеследующей работе. Так, сосновая древесина в виде бревен (длина 1,2 м, диаметр 14 – 20 см) или брусьев (длина 1,25 м, шириной 5 см и толщиной 7 см) пропитывались 2%-ным водным раствором ССВ до или после их обработки пропариванием или искусственным введением. Каждая предварительная обработка вызывала значительное увеличение в удерживании солей и в размерах импрегнированного участка, как в бревнах, так и в брусках. Наиболее эффективной процедурой было введение консерванта внутрь путем искусственного импрегнирования древесины, например, сверлением, совместно с консервантом, в результате чего происходило полное пропитывание мокрых или высушенных древесных изделий ССВ. Между смачиванием и пропариванием изделий

раствором ССВ была относительно небольшая разница, но удовлетворительное проникновение ССВ в древесину происходила только после ее 3-х кратного замачивания в растворе ССВ [19].

Смешанный консервант для древесины, включающий в себя слабую органическую кислоту, например уксусную, молочную и др. и соли меди и цинка, а также катализатор в виде аммонийной соли той же или иной кислоты и химический стабилизатор, выбранный из аммонийной соли слабой органической кислоты, или смесь аммонийной соли, соли щелочного металла и слабой органической кислоты, нитрита, например в виде NaNO_2 , взятого в количестве 0,1 – 1 ч. на 1 ч. соли меди или цинка, пересчитанных на ацетаты этих солей, с успехом использовали для консервации древесных пиломатериалов. Раствор имел рН 5,2 – 6,2 и содержал $\geq 0,2\%$ солей аммония или щелочного металла и слабой органической кислоты. Он хорошо фиксировался в древесине и обладал низкой вымываемостью. Подобный консервант был приготовлен из дигидрата ацетата цинка – 17, моногидрата ацетата меди – 57, ацетата аммония – 7, ацетата натрия – 2, борной кислоты – 3 и нитрита натрия 14 кг. Вся полученная смесь растворялась в воде, взятой в таком количестве, чтобы в результате получился 2,2 – 2,5%-ный раствор. Раствор имел рН 5,8 и был безопасен при применении [20].

Антитермитные и антиинсектицидные агенты для древесины. Сравнительно недавно предложены антитермитные и антиинсектицидные консерванты для древесины, которые не причиняют вреда окружающей среде. Реагенты содержали компоненты Ni в виде солей $\text{Ni}(\text{OAc})_2$, NiCl_2 и NiSO_4 . Реагенты вводятся внутрь древесины [21].

Как уже отмечалось ранее, исследования, проведенные за последние десятилетие показали, что консервирующее действие переходных металлов и их проникновение внутрь древесины может быть улучшено при совместном использовании с органическими компонентами различной химической структуры.

Изучение взаимосвязи между содержанием влаги, химическим разрушением, распределением консервантов в древесине и количеством влаги в брусках, пропитанных аммонийными комплексами, содержащими медь и четвертичные аммонийные основания с органическими заместителями, свидетельствовало о заметном влиянии соотношения между медью и хлоридом дидецилдиметиламмония в растворе, используемом для обработки древесины, на результат обработки. Проникновение катионов меди в сосновую древесину оказалось тесно связано со значением рН системы и концентрацией хлорида дидецилдиметиламмония. Процесс консервации также сильно зависел от способности компонентов к выщелачиванию, влажности, как самой древесины, так и окружающего воздуха и контакта древесины с почвой, а также от токсичности анионного компонента [22].

Были также сделаны попытки объяснить механизм действия консервантов, содержащих медные соли некоторых жирных кислот. Известно, что ненасыщенные жирные кислоты, содержащие медь в карбоксильных группах, например в растительных маслах, синтетические полимеры, полученные из ненасыщенных полиэфиров, некоторые полимерные кислоты и канифоли нетоксичны и широко используются в качестве консервантов для древесины. Наблюдение в течение 25 лет за антимикробной и противогрибковой активностями свидетельствуют о длительном консервирующем эффекте этих соединений для древесины. Высказано предположение о механизме их действия, заключающегося в фиксации реакций, вызванных трехступенчатым радикальным механизмом за счет: 1) самополимеризации, 2) реакций с $C=C$ двойными связями лигнина и 3) реакций с ароматическими ядрами лигнина. Определены механизмы и константы скоростей этих реакций. Механизмы и константы скоростей фиксации реализуются при окружающей температуре, они могут быть ускорены за счет выбора оптимальной температуры или использования комплексов радикальной ионизации при окружающей температуре, например редокс-комплексов или УФ-облучения. Показано, что Cu^{2+} обладает бактерицидным действием, хотя система эффективна и с другими биоцидами. Cu^{2+} входит в молекулу консервантов за счет образования ее солей с гидроксильными группами органических составляющих. Эти соли образуются за счет образования ионных связей, которые, как известно, сильнее связей координационного типа. Биоцидный механизм действия консервантов, содержащих медь в своей молекуле, основан на освобождении из солей Cu^{2+} за счет гидролиза этих солей во влажных или супервлажных условиях. Эти связи возникают вновь при высушивании изделий, т.е. биоциды проявляют свое действие во влажных условиях и не проявляют их в сухих [23].

Дальнейшее исследование механизма действия таких консервантов показало, что медные мыла из ненасыщенных жирных кислот, полимерных кислот и синтетических ненасыщенных полиэфиров являются нетоксичными и эффективными консервантами. Медные соли эффективны при операционной нагрузке до 10 кг/м^3 консерванта и более в пересчете на сухую массу древесины. Они недороги и также эффективны при использовании системы органических и водных растворителей. В качестве ненасыщенных жирных кислот обычно используются жирные кислоты, полученные из масла подсолнечника. Показаны результаты многолетних исследований подобных консервантов для древесины, обладающих противогрибковой и противотермитной активностями [24].

Эти сообщения послужили основанием для получения комплексов и солей металлов с органическими соединениями различной химической структуры. Так, был предложен консервант для изделий из древесины, таких как жерди, подоконники, столбы и пр., состоящий из (ч.): нафтената

меди – 20, вазелина – 65,5, металлической углеродсодержащей соли – 8, минеральной отдушки – 5 и поверхностно-активного вещества типа тритона X-100 – 1,5 или антимикробный консервант для древесины и изделий из нее, содержащий медную соль гидразида дикарбоновой кислоты, например, медную соль гидразида малоновой кислоты [25].

Вместо меди в случае необходимости может быть также использован консервант для покрытия древесины и изделий из нее, состоящий из соли тиосульфата серебра, нанесенного на силикагель с последующим высушиванием и покрытием поверхности древесины этим консервантом в спиртовом растворе $\text{Si}(\text{OEt})_4$ [26]. Однако, несмотря на его большую эффективность, он имел более высокую стоимость и поэтому получил ограниченное применение.

Предложен также пастообразный консервант для древесины, который содержит смесь 10 – 90% диспергированного в воде нафтилата меди и 90 – 10% боракса. Этой пастой можно покрывать не только дерево, но и бумагу. В результате обработки все изделия хорошо предохранялись от гниения и насекомых в течение 4-х лет [27].

Диметилдитиокарбомат меди и диметилдитиокарбомат натрия оказались также эффективными консерванты для древесины. Результаты многолетнего изучения эффективности для сосновой древесины, состоящей из смеси медной и натриевой солей диметилдитиокарбомата, взятых в соотношении 1:2, показали, что после двадцатитрехлетнего периода использования этого консерванта, соотношение между двумя компонентами стало равным 1:1, причем содержание меди и серы в древесине оставалось таким же, как и в свежеработанном материале. Высказано предположение, что бидентатная форма медной соли переходит с течением времени в монодентатную форму и прочно связывается с волокнами древесины [28].

Показана также высокая эффективность консерванта для древесины, содержащего цинковую соль 8-оксихинолина, обладающего антисептическим и антимикробным действием, который содержит в своем составе 0,4 – 20% водорастворимой кислоты и 0,2 – 10% цинковой соли 8-оксихинолина. Таким консервантом, может быть, например, водный раствор, содержащий 1% цинковой соли 8-оксинолина и 1,3% малеиновой кислоты. Время действия такого консерванта свыше 8 месяцев [29].

Консерванты для древесины на основе боратов аминов, обладающих антитермитными и антиинсектицидными свойствами. Нетоксичный консервант для древесины, обладающий антитермитными и антиинсектицидными свойствами, состоял из $\text{R-N-Me}_2\text{-NB}_5\text{O}_8$ ($\text{R} = \text{C}_{8-20}$ алкил) или его гидролизата, как активного ингредиента. Так, обработка лаурилдиметиламина H_3BO_3 в воде при 40°C в течение 30 мин приводит к образованию 100% соединения общей формулой $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NMe}_2\text{NB}_5\text{O}_8$,

которым пропитывается древесина и которое защищает ее от грибков и бактерий [30].

Высоким консервирующим действием для различных видов древесины обладает комплекс меди с танином. Изучены эффективность танинов, полученных экстракцией из мимозы, химически модифицированного танина и комплекса танина с медной солью как консервантов для древесины. Показано, что химически модифицированные танины обладают более высокой эффективностью по сравнению с одним танином. Например, производные с резорцином и пирокатехином оказались сильными ингибиторами грибковых культур «белой» и «бурой гнили». Один танин также ингибирует рост этих культур, но в существенно меньшей степени. Наиболее сильным ингибирующим противогрибковым действием, даже после частичного выщелачивания под действием осадков, обладает раствор самого танина или его химических производных с CuCl_2 и NH_3 , которые могут с успехом использоваться для пропитки древесных изделий [31].

Предложена также консервирующая смесь для пропитки или покрытия древесных материалов с сильными антибактериальными свойствами, состоящая из этаноламина – 1,2 г, пирогаллола – 0,25 г, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ – 2,5 г и полифенолоксидазы – 0,004 г, растворенных в воде [32].

Высокую эффективность против бактерий и грибов показали также консерванты для древесины, содержащие соли ненасыщенных дикарбоновых кислот с переходными металлами. Предложены консерванты древесины с повышенной устойчивостью, содержащие соль ненасыщенной дикарбоновой кислоты и переходного металла групп VIII, IB или IIB периодической системы с аммонием или водорастворимым амином. Эти консерванты в виде водных растворов совершенно безопасны. Так, 117,6 г ангидрида малеиновой кислоты растворяли в 750 мл воды, раствор нагревали до 70°C и добавляли к нему при перемешивании 110,6 г основного карбоната меди $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2$, содержащего 57,5% меди. Полученный голубой раствор перемешивали еще в течение часа, после чего из него выкристаллизовывались желто-зеленые кристаллы. К реакционной смеси, не выделяя кристаллов, добавляли 200 мл моноэтаноламина, в результате чего выпавшие кристаллы растворялись, и получался голубой раствор, имеющий значения pH 10,0 и содержащий 5,7% меди. Раствор разбавляли до содержания меди 0,6% и этим раствором пропитывали древесину. Импрегнированная древесина обладала высокой устойчивостью к грибкам и плесени по сравнению с древесиной, не обработанной консервантом [33]. Однако относительно низкая устойчивость этих консервантов к кислороду воздуха делала их существенно менее пригодными по сравнению с другими.

Для более высокого удержания консервантов древесины в обрабатываемом изделии с успехом были использованы производные 1,2,3-бензотриазола с солями меди. Например, древесные материалы, импрегнированные под вакуумом хромарсенатом меди в течение часа, затем высушивали на воздухе в течение 3 дней, затем вновь высушивали на воздухе в течение 4 дней. Выщелачивание меди при погружении древесины, обработанной вышеназванными компонентами, после ее высушивания на воздухе в течение 8 часов, составляло 14,1 ppm (мг/кг), тогда как выщелачивание древесины, не обработанной вышеназванными компонентами в течении того же времени составляло 98,2 ppm [34].

Особенно интересно применение сополимеров мономеров органических кислот и лигносульфонатов с металлами; так, с этой целью предложено использовать сополимеры, полученные эмульсионной сополимеризацией мономеров акриловой кислоты таких, как этилакрилат, акрилонитрил, бутилакрилат и одну акриловую кислоту вместе с лигносульфатными комплексами, содержащими железо и хром, а также сульфат меди [35].

Обнаружено также, что растворы борной кислоты, частично этерифицированные полиолами, особенно сахарами, после нейтрализации оставшейся борной кислоты избытком основания, оксидами или гидроксидами металлов до pH 6 – 7, хорошо защищали древесину и изделия из нее от грибов и насекомых и, кроме того, являлись эффективными антипиренами. Растворы стабильны, смешиваются с водой и низшими спиртами, нетоксичны по сравнению с другими консервантами, бесцветны и не влияют на окраску древесины. Так, 0,2 ч ZnO были добавлены к раствору борной кислоты 1,0 ч. и дульцита $[\text{CH}_2\text{OH}(\text{CHOH})_4\text{CH}_2\text{OH}]$ – 0,8 ч. в воде – 1,5 ч. К смеси был также добавлен KOH до pH 8,5; раствор перемешивали 60 мин при 50°C и доводили до значения pH 6,0, добавляя H_2SO_4 [36].

Эффективно также использовать для этих целей медную соль гидразида малоновой кислоты [25].

Показано существенное улучшение консервирующих свойств комплексной соли арсената хрома и меди при добавлении к ней хитозана. Изделия из древесины, импрегнированной такой солью, при ее последующем покрытии хитозаном, улучшают свойства этой древесины после проникновения в нее хитозана и делают ее во много раз устойчивее против грибов семейства *Tyromices*, по сравнению с древесиной, пропитанная одной комплексной солью арсената хрома и меди [37].

Эффективным и экономичным методом консервации древесины оказался также индустриальный лигнин при его добавлении к растворимым в воде комплексным соединениям $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$, $\text{Zn}(\text{NH}_3)_4^{2+}$, $\text{Hg}(\text{NH}_3)_4^{2+}$, которые содержат 1 – 5% сульфированного лигнина и

последующее импрегнирование этим раствором лесоматериалов и других древесных изделий [38].

Показано, что лесоматериал, полученный в лесах Аляски, не подвергался действию микроорганизмов в течение 32 лет, если его консервировали следующим образом: вначале вымачивали в холодном растворе пентахлорфенола, затем извлекали и дважды обрабатывали раствором CuSO_4 и Na_2CrO_4 , после чего высушивали и использовали по назначению. Древесина, консервированная таким образом, была на 100% устойчива к любым видам плесени и микроорганизмов [39].

Другим эффективным консервантом для древесины оказалась смесь химикатов, состоящая из какого-либо переходного металла (Cu, As, Cr), борной кислоты, аминспирта и производных триазола. Она является эффективным консервантом для древесных материалов, особенно, если к ней добавляют фосфорную кислоту и производное фталевой кислоты, например, эфир себаценовой или фумаровой кислот, спирта и эмульгатора типа полиоксиалкилена. Эта смесь легко адсорбируется на поверхности древесины, проникает внутрь и защищает ее от гниения в течение длительного времени [40].

Эффективность эмульсий, содержащих нафтенат меди, в качестве консерванта для древесины были показана на образцах древесины из дуба. Образцы древесины из дуба или клена обрабатывали водной эмульсией нафтената меди и определяли, какое количество меди должно остаться в древесине, чтобы полностью уберечь ее от гниения. Различными физико-химическими методами определяли содержание меди внутри древесины. Было показано, что для полного предотвращения гниения в древесине дуба должно быть не менее $4,3 \pm 0,5 \text{ кг/м}^3$ меди, а в древесине клена – $3,2 \pm 0,5 \text{ кг/м}^3$ меди [41].

Изучение влияния паровой обработки на сосновую древесину, предварительно обработанную консервантом – нафтенатом меди, проводили на образцах древесины, обработанных водяным паром. Показано, что около 50% Cu^{2+} восстанавливается при обработке древесины водяным паром в Cu^+ , в результате чего в древесине остается 0,31 – 0,51% от общего содержания меди в древесине. При общем содержании меди в древесине 0,71% в Cu^+ переходит только 15% [42].

Предлагается также получать водоустойчивый водорастворимый консервант для древесины, состоящий из аминоэтоксилата жирной кислоты и ненасыщенной жирной кислоты или ее медной или цинковой соли. К смеси может быть также добавлено производное борной кислоты. Так, аминоэтоксилат пальмового масла смешивали с ундециленовой кислотой в равных долях и получали водорастворимую жидкость с pH 7,0. Эффективность консерванта была подтверждена на грибковых культурах, вызывающих разрушение древесины, в частности, на сосновой древесине, где консервант уничтожал все грибные культуры. Консервант был

эффективен до и после обработки древесины водой [43]. Эффективна также композиция для консервации древесины, состоящая из (%): хромата калия или натрия 22 – 51, тетрафторбората калия, натрия или аммония 20,5 – 60, борной кислоты или боракса 27 – 13, хлорида или сульфата цинка 1,5 – 5 [44].

Для консервирования дубовой или кленовой фанеры показана эффективность использования диметилдитиокарбоната меди в концентрации 4 кг/м³, считая на медь, в том числе для консервации дубовой и кленовой древесины против различных видов грибов и плесеней в концентрации 4,5 – 5 кг/м³, считая на медь, консервант предотвращает гниение древесины также и от коричневой гнили. Консервант получали следующим образом: Cu(OH)₂ смешивали с 2-этаноламином и затем с диметилдитиокарбонатом меди [45].

Консерванты древесины, содержащие производные бора

Ранее мы уже упоминали о необходимости включать производные борной кислоты и ее солей в консерванты, содержащие соли переходных металлов. В данном разделе мы остановимся на консервирующем действии как самого бора, так и его производных, без подробного описания уже известного действия переходных металлов.

Так, нетоксичный консервант для древесины, обладающий антиинсектицидными свойствами, состоящий из R-N-Me₂-HB₅O₈ (R = C₈₋₂₀ алкил) или его гидролизата, как активного ингредиента, уже упоминался ранее. [30].

Предложена композиция, состоящая из 4 – 30 ч. Na₂CO₃, ~ 2 частей бората натрия и воды до 100%, которая после пропитки древесных изделий защищает их от действия микроорганизмов и одновременно предохраняет древесину от воспламенения [46].

Описан также процесс обработки древесины или древесных конструкций B(OCN₃)₃, который реагирует с остаточной влажностью и превращается в H₃BO₃, становясь таким образом хорошим консервантом для древесных изделий. Например, применение ~20 г вышеназванного компонента на 1 кг досок обеспечивает удержание в древесине 70% B(OCN₃)₃ в течение длительного времени. Процесс прост в исполнении и эффективен в защите древесины от гнилостных грибов и насекомых и может быть использован для многих сортов древесины [47].

Получение борсодержащих консервантов для древесины осуществлялось следующим образом. Древесину обрабатывали борсодержащими компонентами, например растворами боратов или борной кислоты, с последующей термообработкой с фенольно-формальдегидным раствором или с полимерами типа новолака, образующих полифенольные связи. Полученные деревянные изделия,

содержащие бор, обладают высокой прочностью, мало подвержены действию микроорганизмов и более устойчивы к огню, чем соответствующие изделия с фенольно-формальдегидными смолами, не содержащие бора [48].

Несколько иная модификация предложена в работе [49]. С этой целью поверхности сосновых лесоматериалов (досок) были обработаны H_3BO_4 , содержащей акриловый полимер и водоотталкивающий материал. Обработанная древесина высушивалась при умеренной температуре; при этом не наблюдалось никакого влияния сушки на вышеназванную систему. Высушивание не способствовало проникновению бора вглубь древесины. Однако добавление к H_3BO_4 водоотталкивающего средства существенно улучшало стабильность такой древесины к микроорганизмам, по сравнению с контрольными образцами. Этот факт свидетельствует о том, что использование бора вместе с акриловым полимером, являющимся водоотталкивающим средством, улучшает применение H_3BO_4 как консерванта для древесины [49].

Использование борорганических соединений для пропитки и консервирования древесины можно было осуществлять и следующим образом. Древесина обрабатывалась для консервации и предотвращения разрушения высококонцентрированными водными растворами неорганических консервантов, например, содержащих бор, затем эмульгатором, жиром или воском. В результате получалась эмульсия воды в масле (в/м). Образцы влажной сосны с зеленью были обработаны эпоксидной смолой для предотвращения адсорбции на них исследуемых материалов. Затем образцы древесины были погружены в концентрированный раствор тетрагидрата динатриевой соли октобората, после чего эмульсифицированы парафином, что приводило к образованию эмульсии в/м. После 3-х недельной выдержки образцы разрезались поперек, и поверхность разреза обрабатывалась циркониевым индикатором. Было установлено, что во всех образцах консервант, содержащий бор, полностью проникал в древесину [50].

Эффективен также консервант для древесины, содержащий комплекс борной кислоты и хитозана, в частности состоящий из 1 ч. борной кислоты, 0,1 – 0,5 ч. хитозана и 1,0 – 1,5 ч. многоосновной кислоты [51]. Метод предотвращения гниения древесины предложен в работе [52]. Для этого применяют смесь олигосахаридов и борной кислоты, в которой олигосахариды получают за счет расщепления хитозана. Полученная смесь состоит из олигосахаридов с молекулярной массой 320 – 3200, 2,5-ангидроманозы и/или одного хитозана с м.м. 3200 – 48000. [52]. Предлагается процесс консервирования лесоматериалов или древесины за счет их обработки реакционноспособными компонентами, содержащими бор, которые быстро проникают внутрь древесины и после ее высушивания превращаются в соответствующее депо. В качестве такого

консерванта предлагается использовать азеотропную смесь триметилбората с метанолом [53].

В качестве эффективного консерванта, обладающего полифункциональным действием был предложен комплекс с огнезащитными свойствами. Например, содержащий цирконий и бор, который может быть получен смешиванием борной кислоты с водорастворимой солью циркония. Соотношение $ZrO_2:B_2O_3$ может меняться для оксида циркония от 0,75:1 до 10:1. Так, 40 г тетрагидрата октобората натрия растворяют в 1000 г раствора карбоната NH_4Zr . Смесь разбавляют водой и в результате получают 2000 г водного раствора, содержащего 2,0% октобората натрия (1,34% B_2O_3) и 10% ZrO_2 . Раствор получается прозрачным и имеет pH 9,23. Сосновые бревна после пропитки этим раствором в течение длительного времени оказались устойчивы к огню, плесени и насекомым. Консервант также оказался устойчив к выщелачиванию его дождевой водой [54].

Исследование применения высококонцентрированных растворов борной кислоты в качестве консервантов для древесины показало их более высокую эффективность. Применение растворов борной кислоты с концентрацией выше 20% обеспечивало хорошую защиту от плесени; меньшие концентрации борной кислоты не обладали подобным действием. Все высококонцентрированные растворы борной кислоты (10 – 40%) проникали в древесину на глубину более 10 мм. Древесина, обработанная борной кислотой, полностью сохраняет свои свойства и способность к адгезии [55].

Приведено также описание консерванта для древесины, содержащего полибораты и хитозан. Образцы сосновой древесины, размером 50x25x15 мм, с гладкой поверхностью обрабатывали тремя растворами: 1) 5%-ным раствором полибората в 0,5%-ном растворе хитозана; 2) 5%-ным раствором полибората в 2%-ном растворе хитозана и 3) 5%-ным раствором полибората в воде. Образцы древесины импрегнировали этими растворами под вакуумом. Лучший результат был получен для раствора 1 и худший для раствора 3 без хитозана [56].

Газообразные эфиры бора как консерванты для древесины. Использование газообразных эфиров бора обеспечивает их глубокое проникновение внутрь древесины и ее продолжительное консервирование [57].

Особенно интересными в силу своей безвредности для окружающей среды даже в высоких дозах оказались комплексы бора с альбумином. Представленные результаты консервации древесины комплексом альбумина с бором показали, что комплекс обладает высоким защитным действием против белой и коричневой гнили и является нетоксичным консервантом для древесины. Древесина, обработанная этим консервантом, устойчива также и к термитам [58].

Один из наиболее простых боратов для консервации древесины можно получить путем смешивания раствора уксусной и борной кислот с $\text{Mg}(\text{OH})_2$ [59].

Предложен также процесс консервации древесины и лесоматериалов, заключающийся в обработке древесины борной кислотой или оксидом бора в метаноле или этаноле и последующим высушиванием древесины до содержания влаги менее 15% [60].

Консерванты древесины, содержащие галогены, серу и производные фосфора

С давних времен известен метод консервации древесины путем окуливания его парами серы [1]. Тем не менее, в последнее десятилетие появились более эффективные консерванты древесины, содержащие в своем составе серу и другие химические производные. Так, например, Предложен консервант для древесины, содержащий пестициды (микробиоциды) и полимеры полиакриловой кислоты с м.м. 40000 – 50000. Массовые соотношения пестицидов и полимера равны 0,1 – 2. Так, 1 ч. хлорпирозина и 0,75 г 3-бром-2,3-диод-2-пропенилэтилкарбоната растворяли в 5 ч. керосина. К смеси добавляли 0,5 г акрилового полимера и керосина до 100 ч. [61]. Показано также, что смесь, взятая в соотношении 7:3, из натриевой соли 1-оксид-2-меркаптопиридола и 2-фенилфенола, синергетически ингибирует рост древесных грибов и плесеней [62].

Изучено влияние 4-х органических консервантов древесины и их антигрибковая активность. Такими консервантами были: 4-хлорфенил-3-иодпропаргилформаль, 3-иод-2-пропилбутилкарбамат, 3-бром-2,3-диод-2-пропиленкарбонат и 2,3,3-трииодалкиловый спирт. Все вышеназванные консерванты обладали высокими противогрибковыми свойствами [63].

Сульфат тетра(оксиметил)фосфорной кислоты и родственные ему компоненты были запатентованы как консерванты древесины против грибов и плесеней. При добавлении к смеси раствора четвертичного сульфата аммония происходит еще более высокое противогрибковое действие. Предлагаемый консервант полностью предотвращает гниение древесины в течение нескольких месяцев [64]. Запатентована также композиция, состоящая из 64 – 72% полифосфата аммония, 22 – 35% бора и 3 – 7% четвертичной аммонийной соли. В результате получают консервант, устойчивый к возгоранию, который состоял из 66% полифосфата аммония, 26% бора, 3% хлорида бензилдодециламмония и 5% фосфорной кислоты [65].

Изучение проницаемости консервантов в свежеспиленные сосновые доски после их предварительной обработки уксусной кислотой, оксалатом аммония и гексамефосфатом показало, что лучшие результаты можно

получить при 20-ти дневной обработки досок уксусной кислотой. Физико-химические свойства древесины при этом оставались прежними [66].

Пропитка древесины расплавленной серой, обеспечивающей полную защиту древесной клеточной структуры, которая заполняется расплавленной серой во время процесса пропитки, известна, как уже отмечалось ранее, с глубокой древности. Однако в настоящее время предложено два принципиально новых метода для проведения этого процесса: 1) пропитка предварительно высушенной и нагретой древесины; 2) погружение влажной древесины в расплавленную серу и последующее высушивание. Как показала практика, древесина, импрегнированная серой, является прекрасным строительным материалом и имеет хорошую объемную стабильность, особенно во влажном климате. Физико-химические свойства древесины улучшаются при увеличении в ней содержания серы [67].

Индустрия деревообработки использует новые консерванты с активным ингредиентом – 3-йод-2-пропилбутилкарбонатом. Показана возможность измерения профиля проникновения этого консерванта вглубь древесины с использованием активации нейтронов и спектроскопии β -частиц, имитирующих ^{128}I , вместе с 0,443 МЭВ γ -излучением. Изучение проводилось на кусках древесины толщиной 10 мм с использованием ^{22}R для стимуляции ^{128}I β -спектра. Метод является эффективным для определения глубины проникновения консерванта с разрешением 3 мм на 3-х глубинном профиле древесины [68].

Установлено, что йодсодержащие консерванты, например, [(4-йодпропаргилокси)диметокси]бензол является бесцветным антибактериальным, антифунгицидным и антиводорослевым консервантом для древесины. Описан способ его получения йодированием [(4-пропаргилокси)диметокси]бензола [69]. Получены также 3-алкоксиметил-1-алкилимидазол хлориды, обладающие высокой антигрибковой и антиплесневой активностями. Эти препараты были использованы для консервации сосны, ели, бука и березы и показали свою высокую эффективность [70–72].

Глава 2

Органические консерванты древесины

Из литературных и других источников известно, что органические консерванты древесины, даже если они содержат галогены, серу и другие токсиканты, наносят существенно меньший вред окружающей среде. Эти факторы, во-первых, объясняются тем, что в отличие от минеральных компонентов, они способны в той, или иной степени расщепляться, как в почве, так в воде и воздухе, часто являясь источниками углерода и азота для сложной цепи пищевых систем, существующих в литосфере, гидросфере и атмосфере. Естественно, что чем сложнее структура

органического соединения, тем сложнее и дольше происходит его распад, особенно если в его молекуле содержатся такие токсиканты, как галоиды, сера, и в какой то мере, фосфор. Поскольку реакционные группы этих соединений способны аккумулировать большие количества металлов и металлоидов, которые, как это будет видно из дальнейшего материала монографии, в микродозах являются необходимыми кофакторами для многих ферментных систем. В высоких дозах они способны привести к полному или частичному ингибированию ферментов, без которых, практически теряется не только плодородие почвы, но и одновременно происходит ее гибель. Учитывая все эти предпосылки, и то, что отдельные консервирующие смеси для древесины содержат несколько классов органических соединений, мы попытались сгруппировать материал, на основе тех основных классов органических консервантов, которые занимают лидирующие позиции в этих и других смесях, хотя в ряде случаев такая группировка может быть чисто условной.

Консерванты, полученные на основе алифатических соединений и их производных

Как мы уже неоднократно упоминали, разделение на классы органических соединений является весьма условным. Но, тем не менее, в работе [73] изучено влияние отдельных органических соединений разных классов на антигрибковую и плесневую активность древесины. Такими консервантами были: 4-хлорфенил-3-иодпропаргилформаль, 3-иод-2-пропилбутилкарбамат, 3-бром-2,3-дииод-2-пропиленкарбонат и 2,3,3-трииодалкиловый спирт. Все вышеназванные консерванты обладали высокими противогрибковыми свойствами.

Изучение проницаемости консервантов в свежеспиленные сосновые доски после их предварительной обработки уксусной кислотой, оксалатом аммония и гексаметафосфатом показало, что лучшие результаты были получены при 20-ти дневной обработки досок уксусной кислотой. Физико-химические свойства древесины при этом оставались прежними [74]. Еще более эффективным оказался метод окуривания древесины аллилизотиоцианатом, содержащимся в количествах 0,1 – 10% в сухой углекислоте [75]. Показано, также, что консервант против гниения древесины и ее водопоглощения может состоять из метанола, метилэтилкетона, этилацетата, ClCH=CCl_2 , жидкого диметилсилоксана, раствора силана и ультратонкого гидрофобного кремнезема или SiO_2 [76].

Предложена также композиция для защиты древесины от огня и микроорганизмов, содержащая трихлорэтилфосфат (I) и растворитель, обеспечивающий огнезащиту и биозащиту древесины, которая может быть улучшена при добавлении к ней фосфата мочевины (II). Соотношение

компонентов следующее: I – 20 – 50, растворитель 25 – 40 и II – 25 – 40% [78].

Эффективный метод консервирования древесины и лесоматериалов путем ее импрегнирования консервантами – нормальными алканами, особенно эйкозаном и трикозаном для стимуляции высушивания и консервации предложен в работе [79]. Консервант может быть смешан с пластификаторами, например, $(\text{CH}_3)_2\text{O}$ или хлороформ. Обработка древесины проводится при 80 – 90°C в консерванте, смешанном с 20 – 30% минерального или органического масла, например олеиновой или др. оксикарбоновой кислотой. В случае необходимости можно получить малотоксичную композицию для консервации древесины, которая состоит из 10 – 30% диэтиленгликоля; 0,1 – 2% четвертичных аммонийных солей и 0,5% производных изотиазолина [80].

Эффективный водоустойчивый консервант для древесины предложен в работе [81]. Он состоит из аминоэтоксилата жирной кислоты и ненасыщенной жирной кислоты или ее медной или цинковой соли. К смеси может быть также добавлено производное борной кислоты. Так, аминоэтоксилат пальмового масла смешивали с ундеценовой кислотой в равных долях и получали водорастворимую жидкость с рН 7,0. Эффективность консерванта была подтверждена на грибных культурах, вызывающих разрушение древесины, в частности, на сосновой древесине, где наблюдалось уничтожение всех грибных культур. Консервант был эффективен до и после обработки древесины водой.

Не менее эффективным методом консервации древесных лесоматериалов оказался, способ, описанный в работе [82], который предусматривает импрегнирование древесных изделий расплавленными эфирами жирных кислот общей формулой R_1COOR_2 ($\text{R}_1 = \text{C}_{18-33}$ алкил, НО-содержащие C_{9-21} алкилы; $\text{R}_2 = \text{C}_{1-4}$ алкил), самими жирными кислотами R_3COOH ($\text{R}_3 = \text{C}_{13-21}$ алкил) и/или эфирами полиоксиэтилена $\text{R}_4\text{COO}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n\text{H}$ ($\text{R}_4 = \text{R}_3$, НО-содержащие C_{9-19} алкилы, $n = 2 - 91$), а также C_{6-14} полиолами. В качестве такого импрегнирующего агента может быть выбрана, например, пальмитиновая кислота. Качество изделий из древесины улучшалось также при погружении их в горячий раствор, содержащий инсектициды и/или фунгициды вместе с маслом из льняных семян или подобных масляных источников при 145 – 250°C. Изделия из древесины затем удалялись из раствора, а масло впитывалось в древесину. Полученные изделия обладали хорошей устойчивостью к микроорганизмам и плесням, не коробились и не ломались [83]. На основании собственных исследований и литературных источников предложены также нетоксичные консерванты для древесины, полученные из смеси льняного масла с полипропиленгликолем и нафтенатом натрия или из смеси льняного масла цинковой соли жирной кислоты того же льняного масла и нафтенатом натрия. При нагревании древесины

происходит полимеризация смеси, которая защищает древесину от гниения [84].

Использование консерванта для древесины, обладающего антисептическими, антифунгицидными и антитермитными свойствами, осуществлялось следующим образом: древесина обрабатывалась раствором, содержащим агенты, способные реагировать с ее структурными компонентами, обладающие антисептическими, антифунгицидными и антитермитными свойствами. Так, куски древесины погружали в водный раствор, содержащий 20% смеси малеинового ангидрида и глицерина в соотношении 3:2 и фторида бора, высушивали при температуре 160°C и получали древесные изделия, не поддающиеся действию микроорганизмов, грибов и термитов [85].

Для получения водорастворимых антифунгицидных консервантов была предложена следующая рецептура смеси: 0,1 – 50% компонентов $RR_1N(C_{18} \text{ алкилен})Y$ [$R = C_{1-20} \text{ алкил}$, $R_2 [OC_{2-4} \text{ алкилен}]_y$], $R_2[NH(C_{2-4} \text{ алкилен})_y]$; $R_1 = H$, $(C_{1-8} \text{ алкилен})Y$; $R_2 = H$, $C_{1-20} \text{ алкил}$; $Y = CO_2H$, SO_3H , NH_2 , $NH(C_{1-20} \text{ алкил})$, $N(C_{1-20} \text{ алкил})_2$; $Y = 1 - 8$] или их соли в качестве активных ингредиентов и оптимально, амфотерные ПАВ, содержащие ≥ 1 амино- или карбоксильных групп в виде водной эмульсии с алкидным полимером [86].

Относительно простой и недорогой способ получения консервантов древесины на основе солей янтарной кислоты предложен в работе [87]. Так, растворы серебряных, медных и цинковых солей производных янтарной кислоты общей формулой $HO_2CRSCH(CH_2CO_2H)CO_2H$, где $R = C_{1-12} \text{ алкилен}$, растворялись в воде, и ими пропитывали различные лесоматериалы. Все консерванты оказались безопасны в обращении и хорошо впитывались древесиной.

Предложены также консерванты для древесины, содержащие в своем составе эфиры гликоля, мало растворимые в воде, углеводороды типа изопарафина и алифатические эфиры. Таким консервантом, например, может быть смесь, содержащая 65% углеводорода, 25% этилгексилового эфира этиленгликоля и 10% эфира изооктановой кислоты. Эта смесь легко проникает внутрь древесины и древесных изделий и защищает их от плесневидных грибков, муравьев и термитов [88].

Алкилбензиламмоний хлорид следующего состава: $[(C_8H_{17})(C_{18}H_{37})N^+H_2CH_2CH_2C_6H_5]Cl^-$ [137] был использован для защиты и консервации древесины от грибковых культур и плесеней [89].

Консерванты на основе ароматических соединений и их производных

Известно, что одним из наиболее давно используемых консервантов, содержащих в себе самые разнообразные ароматические соединения и их

производные являются как сама нефть, так и ее разнообразные фракции [90, 91].

Однако в настоящее время появились многие ароматические соединения с известным химическим составом, которые могут быть получены обычным органическим синтезом и, следовательно, воспроизводимыми свойствами. Тем не менее, некоторые производные, выделенные из нефти, по-прежнему широко используются в качестве консервантов лесоматериалов. Например, пастообразный консервант для древесины, который содержит смесь 10 – 90% нафтилата меди, диспергированного в воде, и 90 – 10% боракса. Этой пастой можно покрывать не только дерево, но и бумагу. В результате обработки все изделия хорошо сохранялись от гниения и насекомых в течение 4-х лет [92]. Так, в частности, показана эффективность эмульсий, содержащих нафтенат меди, в качестве консерванта для древесины. Образцы древесины из дуба или клена обрабатывали водной эмульсией нафтената меди и определяли, какое количество меди должно остаться в древесине, чтобы полностью уберечь ее от гниения.

Различными физико-химическими методами определяли содержание меди внутри древесины. Было показано, что для полного предотвращения гниения в древесине дуба должно быть не менее $4,3 \pm 0,5 \text{ кг/м}^3$ меди, а в древесине клена – $3,2 \pm 0,5 \text{ кг/м}^3$ меди [93].

Роли и свойствам креозота как давно известного консерванта для древесины посвящен опубликованный обзор [94] и другие публикации. Дана короткая история использования креозота в консервации древесных изделий и способы его применения. Обсуждается эффективность его применения и перспективы его дальнейшего использования и в XXI веке [95]. На основе заключений, сделанных авторами, можно прийти к заключению, что креозот и соединения на его основе будут еще долго использоваться в деревообрабатывающей промышленности, особенно для технических целей.

Для защиты лесоматериалов и грибов, разлагающих древесину, может быть с успехом использоваться новая композиция следующего состава: смесь 1-[2-(2,4-дихлорфенил)-4-пропил-1,3-диоксо-2-диметил]-1Н-1,2,4-триазол и 2-этилгексановую кислоту в соотношениях 1:1 – 1:9 в виде раствора в полярном или неполярном органическом растворителе вместе с водой, содержащей больше эмульгатора. Такая композиция обеспечивает высокое защитное действие древесины против практически всех штаммов грибов [96].

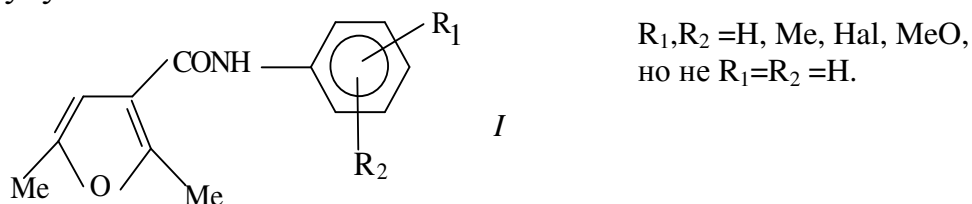
Синергетическая композиция консервантов для древесины, содержащая феноксифенолят натрия, условно названная В5, предлагается как синергетический консервант для древесины, в особенности против белой плесени и грибов. В5 представляет собой смесь четвертичной аммонийной соли и натриевой соли 2-этилгексаната. Так, смесь 12 г В5 и

8 г феноксифенолята натрия в 1 л воды, действуя синергетически, полностью уничтожала плесневые грибы рода *Trichoderma harzianuws* на деревьях различных пород [97]. Такое же действие оказывала смесь, взятая в соотношении 7:3, и состоящая из натриевой соли 1-оксида-2-меркаптопиридола и 2-фенилфенола [98].

На основе бензола получены и предложены многие компоненты для консервации древесины, но мы позволим себе остановиться только на отдельных из них, которые являются наиболее эффективными.

Так, на основе бензола и его производных предложены следующие композиции, предохраняющие древесину и древесные изделия от гниения общей формулы: AC_6H_4B ($A = CO_2R$, $CH=CHCO_2R$; $B = H$, CO_2R ; $R =$ низкомолекулярные алкил- или алкенилы, арил- или арилалкильные производные). Соединения растворяют в неполярном органическом растворителе с температурой кипения $\geq 200^\circ C$ вместе с другими консервантами для древесины. Так, растворение 1 ч. 3-иод-2-пропилбутилкарбомата, 30 ч. бензилбензоата и 2 ч. полибутилена в 67 ч. растворителя нафтенного типа приводит к получению консерванта с пролонгированным действием [99]. Предложена и другая смесь на основе фенола, состоящая из $\geq 1\%$ биоцида, водо-нерастворимой смеси из 5 – 20% ароматического углеводородного растворителя и стабилизирующего компонента на основе арил, алкил или арилалкильных производных фенола, бисфенола или его производных и/или $\geq 1\%$ фосфата. Рекомендуются также включать в эту композиции 0,1% соевого лецитина [100]. Дибутилфталат может также быть использован в качестве эффективного и недорогого консерванта для древесины при его добавлении к ней в количестве $\geq 20\%$ [101].

Особенно интересны относительно новые консерванты для древесины, содержащий производные анилинадиметил-фуранкарбоновой кислоты. Вышеописанные консерванты имеет следующую общую формулу:



Консервант может состоять ≥ 1 компонента I, выбранного из группы химических веществ, содержащих 3-бром-2,3-дииод-2-пропенилэтилкарбонат, 3-иод-2-пропенилбутилкарбонат и 4-хлорфенил-3-иодпропаргилформальдегид. Например, из группы I был получен 2,5-диметилфуран-3-карбокси-(3 метиланилид) [102].

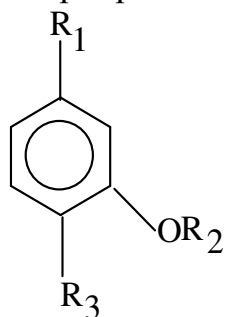
Для облегчения транспорта консервантов в разные отделы древесины предложены микрокапсулы, содержащие инсектициды, такие как фенокарб, метокарб, изокарб и др., диаметром 5 – 80 мкм и соотношением

диаметра к толщине мембраны ≤ 200 . Микрокапсулы активны в течение длительного времени и не оказывали никакого токсического действия на человека [103].

В качестве консервантов для древесины могут быть использованы и фунгициды, которые состоят из галогенированных фенолов и других соединений и обладают высоким фунгицидным действием. Для этого их лучше смешивать в растворе фосфорной кислоты с неионогенными ПАВ, например, с нонилфениловым эфиром полиоксиэтилена. В результате получают консерванты для древесины, обладающие высоким не только фунгицидным действием, но и другими свойствами [104].

Для защиты древесины от гниения под воздействием различных грибов может с успехом использоваться фенолборная кислота, которая защищает ее от воздействия различных грибов. Этот консервант может быть использован в виде 1%-ного водного раствора. Раствор стабилен при хранении и автоклавировании и действие его усиливается при добавлении к нему солей меди [105].

Для защиты древесины от москитов и других насекомых, а также от плесени предложены следующие консерванты для древесины от микроорганизмов и разложения, имеющие общую формулу [106]:



R_1 = алкил, арил, алкокси,

$R_2 = H$, R_3 = алкил, арил, алкокси;

R_1 = алкил, алкенил, $R_2 = H$, $R_3 = OH$;

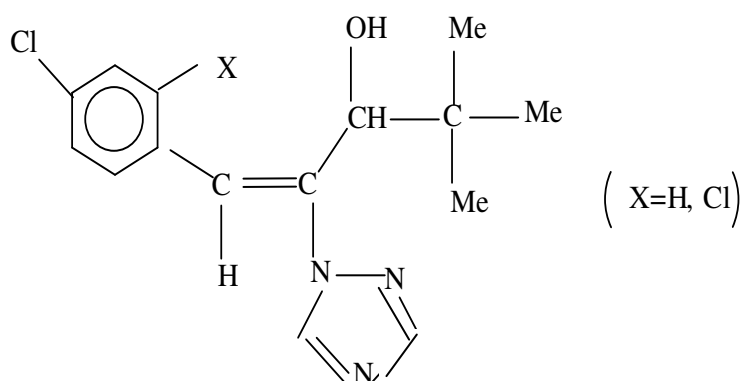
R_1 = алкил, алкенил, $R_2 = Me$, $R_3 = OH$

Эффективным методом защиты древесины от гнили и насекомых является смесь 5 – 90% угольного дегтярного масла, 2 – 20% биоцида в виде четвертичных соединений аммония и 10 – 90% воды. Например, обработка под давлением пихтовой древесины смесью, содержащей 40% угольного дегтярного масла, 8% ацетата алкилбензилдиметиламмония, 4% эфира фенола и нонановой кислоты, 10% бутил(ОСН₂СН₂)ОН и 38% воды приводит к повышению устойчивости древесины против гниения в 1,3 раза по сравнению с древесиной, обработанной одним угольным дегтярным маслом [107]. Предложено использовать таловое масло – побочный продукт переработки древесины для консервации сосны, ели и березы. Для удержания талого масла в древесине после его импрегнирования предложено добавлять к таловому маслу ангидрид малеиновой кислоты. Наиболее оптимальной рецептурой для консервации вышеназванных пород древесины является рецептура из 50% талового

масла и 2 – 15% ангидрида малеиновой кислоты. Наиболее оптимальной концентрацией малеинового ангидрида является 10 – 12% [108].

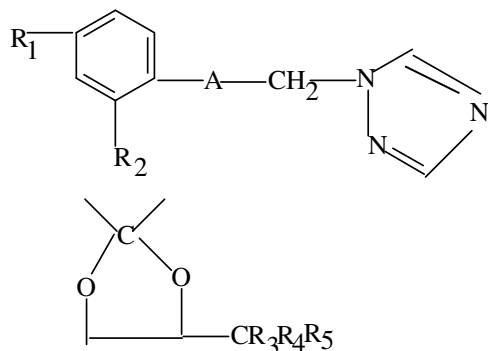
Консерванты на основе гетероциклических соединений

Консерванты на основе гетероциклических соединений состоят в основном из различных композиций, включающих производные триазола, пиридина, имидазола и пр. Так, например, предлагается использование стиrolтриазолов в качестве консервантов для древесины и изделий из нее, общей формулы [109]:



Установлено, что синергетические, промышленно выпускаемые консерванты, содержащие четвертичные аммонийные соли и производные пиридина, обладающие антифунгицидными свойствами, содержат в своем составе 2,3,5,6-тетрахлор-4-(метилсульфанил)пиридин (I) и $[R^1NR^2R_3R_4]^+X^--(R^1-R^4)$ оксикарбинол, где X – галоген и могут использоваться в качестве консервантов для древесины. Так, смесь в количестве 5 ppm (мг/кг), содержащая вещество (I) и хлорид дидецилдиметиламмония в соотношении 4:1, ингибировала рост *Asreggillus niger*, *Trichoderma*, *Peniccllium luteum* и *Rezopus nigricans* [110].

Предложены следующие триазольные производные как защитные средства для древесины против гниения под действием грибов [100]:



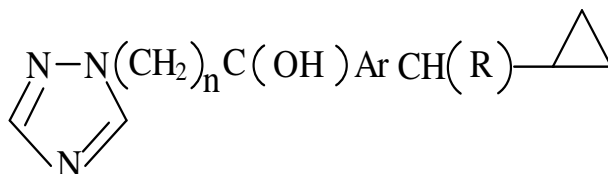
A=HOCCR₃R₄R₅
 CH₂CH₂(OH)CCR₃R₄R₅,
 связанные с бензольным
 кольцом через CH₂CH₂-
 группы R₁₋₂ =H, Cl; R₃₋₄ =H,
 Me, R₅= Me, Et, циклопропил

Консервацию фанеры путем ее импрегнирования производными алифатических соединений предлагается осуществлять в две стадии: на первой стадии листы фанеры обрабатываются триметилолмеланином, на второй стадии диацидфосфатом аммония, после чего листы фанеры выдерживаются 8 ч при 80°C в закрытой камере [111].

Предлагается также консервант для древесины, состоящий из 2-тиоцианпиридин-1-оксида (I), инсектицида-репеллента (отталкивающего насекомых), синергетика для (I) и полимерного производного. Например, консервант для древесины включает в себя 1,5% вещества I, 10% акрилового полимера и 88,5% керосина [112].

Водорастворимый консервант содержит диметилалкиламин, алифатическую C₈₋₂₀ дикарбоновую кислоту и производное триазола. Так, смесь, содержащая 50% диметил(C₁₂/C₁₄)алкиламина, 5% 2-этилгексановой кислоты, 20% себациновой кислот, 10% пропиконазола (пропильное производное триазола), 10% пропиленгликоля и 5% воды была использована как консервант для древесины. После применения этого 3,5% водного раствора в течение 7 дней в качестве консерванта древесины в стальных контейнерах, pH раствора увеличивался с 6,55 до 6,80. Сам раствор оставался прозрачным и бесцветным, содержание железа в нем составляло 1,8 мг/л [113]. Для пропитки для древесины с целью повышения ее устойчивости к горению, гниению и разрушению предлагается использовать сополимер мочевины с формальдегидом, производные фосфорной кислоты и дициандиамида [114].

Предложен также консервант для древесины, содержащий пестициды, который представляет собой смесь химических соединений, состоящих из пестицида, неорганической кислоты и оптимально из других микробиоцидов типа сульфонамидов, бензимидазолов и карбоматов, а также солей цинка и борной кислоты, ПАВ и растворителя. В качестве пестицида могут быть использованы производные триазола общей формулы:



где $n = 1 - 3$, Ar = арил с/или без заместителя Cl, R = низший алкил.

Консервант особенно эффективен для тех лесоматериалов, в которые плохо проникают другие консерванты. В качестве средства, помогающего проникать внутрь древесины триазольным консервантам может быть выбрана одна из алифатических карбоновых кислот, например муравьиная, а в качестве собственно консерванта – производное триазола, например ципроканазол.

Предложен также консервант для древесины, обладающий антисептическим и антимикробным действием, который содержит в своем составе 0,4 – 20% водорастворимой кислоты и 0,2 – 10% цинковой соли 8-оксихинолина. Таким консервантом, например, является водный раствор, содержащий 1% цинковой соли 8-оксихинолина и 1,3% малеиновой кислоты. Время действия такого консерванта свыше 8 мес. Аналогичным действием обладают также арилпиразолы, например, 5-амино-1-(2,6-дихлор-4-трифторметилфенил)-4-трифторметилсульфенил-3-цианпиразол [115].

Относительно новый, описанный в литературе консервант для древесины, содержит антисептик и антиинсектицидную четвертичную соль аммония в качестве основных компонентов, а также небольшое количество микробицида триазольного типа, предназначенного в качестве защитного средства против микроорганизмов почвы. Микробициды ингибируют рост таких микроорганизмов как филаментозные грибы и стрептомицеты, отличные от грибковых культур, разлагающих древесину, например базидиомицетов, без увеличения антисептической активности и антиинсектицидного действия четвертичных солей аммония. Композиция содержит водно-спиртовой раствор смеси 1% хлорида дидецилдиметил аммония и 0,01% тебуканазола (производное триазола). Для проверки эффективности действия тебуканазола композиция вводилась внутрь кусков древесины, которые помещали на 1,5 года во влажную почву (чернозем/перепревшие листья/вермикулит = 5 : 4 : 1) при 28 – 30°C. Потери массы такой древесины составляли 9,1% от первоначального уровня, тогда как древесина, обработанная 3-иод-2-пропилбутилкарбаматом, теряла до 28% исходной массы [116].

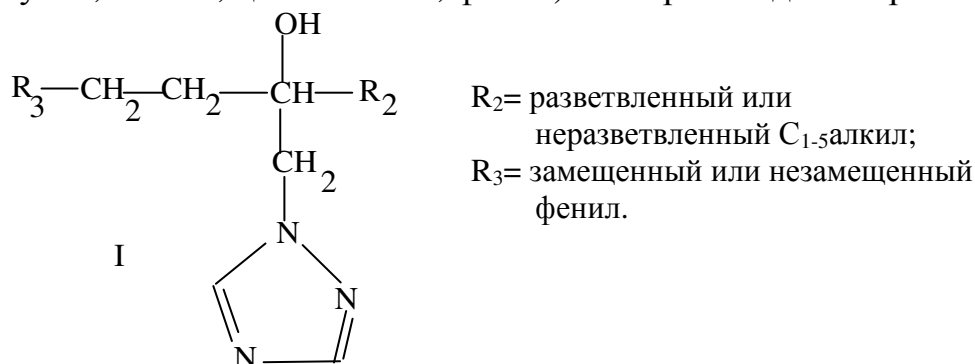
Получены также 3-алкоксиметил-1-алкилимидазол хлориды, обладающие высокой антигрибковой и антиплесневой активностями. Эти препараты были использованы для консервации сосны, ели, бука и березы и показали свою высокую эффективность [117].

Наиболее эффективна композиция для консервации древесины, состоящая из нескольких синергетически действующих реагентов, например производных окситиазина, четвертичного аммонийного производного и производных триазола, например, тебуканазола или пропионилканазола. В качестве производных окситиазина наиболее эффективным оказался 4-окси-3-(бензо[b]-тиен-2-ил)-5,6-дигидро-1,4,2-окситиазин [118].

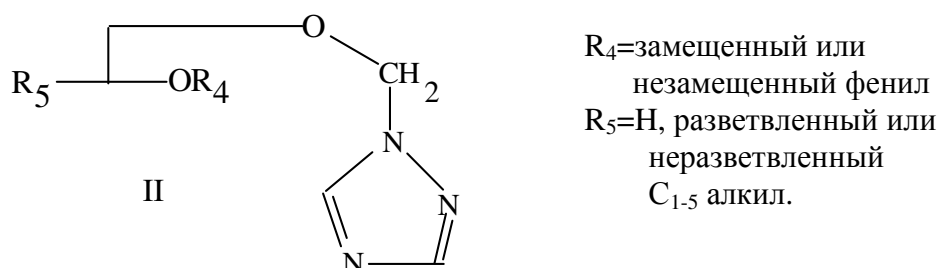
К ним по своей активности, но не структуре, в определенной степени относятся производные пиридилпиримидинов и пиразолкарбоксиамидов. Подобные консерванты содержат смесь 4,6-диметил-2-(6-фенилпиридин-2-ил)пиримидина (I) и N-(1,1,3-триметил-2-окса-4-инданил)-5-хлор-1,3-диметилпиразолил-4-карбоксамида (II). Так, смесь 0,2 ppm (мг/кг) I и 0,1 ppm II подавляла на 95% роста плесеней, тогда как использование

только одного I подавляла рост плесени на 48%, а использование одного II всего на 12% [119].

Композиция для консервации древесины, состоящая из производных иодпрораргила или триазола и антиоксидантов описана в работе [120]. Консервант для древесины состоит, по крайней мере, из одного биоцида, например производного иодпрораргила $I-C\equiv C-CH_2-CH_2-OC(=O)-NH-R_1$ (R_1 = бутил, гексил, циклогексил, фенил) или производного триазола типа I:



или триазольное производное типа II:



Эти производные содержатся в композиции вместе с хотя бы одним антиоксидантом, таким, как замещенный фенол, производное флаваноида или растительное производное полифенола. Консервирующая смесь имеет низкую стоимость и безопасна для окружающей среды.

Консерванты на основе синтетических и природных полимеров, а также микроорганизмов

Консерванты на основе синтетических и природных полимеров стали использоваться сравнительно недавно, но тем не менее уже доказали свою высокую эффективность. Одной из основных трудностей применения таких полимеров в качестве консервантов является их сравнительно низкая проницаемость вглубь древесного материала. Поэтому во многих случаях создают такие условия, когда консервирующая композиция включает в себя мономеры, и затем уже создаются условия для их последующей полимеризации. Природные биополимеры, в ряде случаев, используются в качестве покрытий, например, воска, а в ряде случаев проникают достаточно глубоко внутрь лесоматериала и обеспечивают его

консервирующее действие, как это будет видно из нижеследующих примеров.

В качестве пропитки для древесины с целью повышения ее устойчивости к горению, гниению и разрушению предлагается использовать сополимер мочевины с формальдегидом, производные фосфорной кислоты и дициандиамид [121].

Древесина консервировалась путем ее пропитки раствором стирола или раствором стирола вместе с композицией, предназначенной для последующей сополимеризации, содержащей 1 – 35 ч. ангифунгицидов, инсектицидов, красителей и огнезащитных агентов. Пропитывающий раствор быстро полимеризовался при нагревании древесины или при ее облучении [122].

Предлагается консервант для древесины, состоящий из полиалкиленгликоля, органической кислоты и карбоната, которым обрабатывается деревянный брусок или стержень, для его последующего применения в качестве вставного материала в деревянное изделие, например в строительный материал, для предотвращения его порчи от муравьев и других насекомых. Такой брусок может быть приготовлен из смеси 5% полиэтиленгликоля, 25% NaHCO_3 , 25% янтарной кислоты и 45% борной кислоты [123].

Предложен также метод консервации древесины, в соответствии с которым она вначале обрабатывается 3-иод-2-пропил-трет-бутилкарбонатом, *n*-хлорфенил-3-иод-2-пропилформил и/или 3-бром-2,3-дииод-2-пропилэтилкарбонатом, а затем акриловым полимером, эфирами глицерина и жирных кислот, алкилированными полимерами, уретановыми полимерами и/или канифолью и по выбору инсектицидами и стабилизаторами цвета [124].

Особенно интересны в силу низкой токсичности и относительно высокой антимикробной активности такие природные биополимеры, как силоксан. Так, раствор для консервации древесины, содержащий силоксаны, обладал высокой устойчивостью при консервации древесных изделий, и состоял из смеси анионных и катионных силоксанов с ≥ 1 гидрофобной частью и ≥ 1 водорастворимой частью молекулы. Водный раствор консерванта получают нейтрализацией ангидрида октилянтарной кислоты и аминопропилтриметоксисилана диметилэтанол амином [125].

Среди акриловых и алкидных полимеров акрилатмодифицированные алкил- и алкил/полибутадиеновые масляные системы являются наилучшими антиувлажняющими средствами для тополевой древесины. Полимеры имеют высокую стойкость к вымыванию и не обладают фунгицидным действием. Сочетание водоотталкивающих полимеров с общепринятыми консервантами древесины дает хорошие результаты [126].

Предложен метод консервации фанеры и других видов древесины, например, панелей, путем их пропитки консервантами древесины таким

образом, чтобы катионный консервант, например поликарбоновая кислота, располагался на одной стороне материала, а анионный компонент – на другой, например, соли гуанидина. После пропитки требуется время для выдерживания древесных изделий для получения нерастворимого реакционного продукта. В результате такого метода консервации существенно улучшается качество пропитки изделий и срок их годности [127].

Для покрытия древесины против бактерий и грибов может использоваться полимер, обладающий термопластичностью и содержащий порошкообразный кальций – керамзит. Таково например покрытие, состоящее из сополимера адипиновой кислоты, фталевого ангидрида, триметилфосфата и гидроксиапатита, содержащего 2% Ag [128]. Другой такой полимер, например полиэфир глицерина и малеиновой кислоты, может также использоваться в качестве защитных покрытий для древесины и древесных изделий [129].

Эффективна в качестве консерванта следующая композиция для консервации древесины: водный раствор 0,5 – 30% поливинилпирролидона, 0,3 – 30% полиэтиленгликоля и 5,0 – 10,0% алкилового эфира гликоля с последующей сшивкой с целлюлозой древесины за счет функциональных групп в композиции и самой целлюлозе и последующим удалением из древесины излишней влаги. В композицию может быть также включен химический катализатор для ускорения сшивания полимеров [130].

Дешевая и безопасная композиция для консервации древесины, особенно для обработки лесо- и пиломатериалов состоит из биоцида – канифолевой кислоты и синтетического полимера из ненасыщенного полиэфира, а также ненасыщенной жирной кислоты из растительных масел или ненасыщенной жирной кислоты из высокомолекулярных продуктов переработки нефти и/или воска. Консервант эффективно предохраняет древесину от гнили, насекомых, муравьев и имеет низкую стоимость [131].

Предложена еще одна композиция, защищающая клееную фанеру и другие подобные изделия от плесени и гниения. В состав композиции входят реагент, связывающий переходные металлы, и адгезив для склеивания листов фанеры. Например, 3,5% раствором, состоящим из натриевой соли этилендиаминтетраацетата (ЭДТА), связующего – фенольного полимера и порошкообразного отвердителя – параформальдегида (17 ч. на 100 ч. полимера) обрабатываются листы фанеры перед их склеиванием (кг раствора/м³ фанеры). В результате получают 7-ми слойную фанеру, устойчивую к грибам, вызывающим гниение. Потери в массе после 16-ти недельной экспозиции с белой гнилью *Pleurotus ostreatus* составили 6,3%, с коричневой гнилью *Coniophora pureana* – 1,65% по сравнению с 12,4% и 2,4% соответственно для контрольных образцов [132].

В работе [133] предложено использовать в качестве консерванта для древесины сополимеры, полученные эмульсионной сополимеризацией мономеров акриловой кислоты таких, как этилакрилат, акрилонитрил, бутилакрилат и одну акриловую кислоту вместе с лигносульфатными комплексами, содержащими железо и хром, а также сульфат меди. Показаны высокие антибактерицидные свойства этой композиции.

Химическая модификация древесины проводилась ее импрегнированием стиролом в комбинации со сшивающим реагентом – глицидилметакрилатом (ГМ). Полимеризация осуществлялась в результате нагревания. Определялась формоустойчивость древесины путем оценки объемного набухания (в %) и эффективности сопротивления усадке. Было найдено, что эти показатели существенно лучше, чем у необработанной древесины. Адсорбция воды также значительно понижалась при подобной обработке. Улучшалась также механическая прочность древесины. Показано, что разрушение древесины различными микроорганизмами также существенно понижается при обработке [134].

С целью приближения к пониманию механизмов гниения древесины изучено влияние водоотталкивающих средств на ее стабильность в различных странах, и возможность использования в качестве консервантов разных веществ (гидрофобные полимеры, воска, эмульсии и пр.). Показано, что гниение древесины обычно происходит с увеличением содержания в ней воды свыше 20%. Обычные консерванты для древесины содержат токсические химические соединения: медь, кобальт, мышьяк и т.д. Автор данного сообщения предлагает другой выход из создавшегося положения, а именно – обрабатывать древесину не токсичными химическими консервантами, а водоотталкивающими соединениями, которые, обеспечивают длительную сохранность древесных изделий, например оконных рам. Обработка древесных материалов водоотталкивающими консервантами позволяет уменьшить внутреннюю влажность древесных материалов ниже 20% и увеличивает срок их действия и, кроме того, они более эффективны, чем традиционные консерванты. Использование водных водоотталкивающих средств вместо токсичных биоцидов, более экологически безопасно [135].

Подобный принцип в какой-то мере использован в работе [136]. Обработка древесных изделий восками, предложенная в этой работе, заключалась, например, в обработке смесью антипиренов и/или консервантов в смеси с воском или воскоподобными веществами типа парафина, которые предотвращали вымывание антипиренов и консервантов из древесины водой. В качестве такой смеси может быть использована смесь $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и парафина.

Показана высокая эффективность предварительной обработки древесины ферментами и ее влияние на последующую консервацию. С этой целью бревна и доски из еловой и хвойной древесины предварительно

обрабатывали различными ферментами и после этого пропитывали консервантами. Предварительная обработка древесных изделий ферментами улучшала поглощение и проникновение внутрь древесины консервантов. Наиболее эффективными оказались смеси разных ферментов. Предварительная обработка древесины ферментами облегчала также ее последующую переработку [137].

Изучались различные консерванты древесины, содержащие хитозан и полибораты и показано, что 5% раствор полибората в 0,5% растворе хитозана обладает достаточно высоким защитным действием [138].

Для предотвращения гниения древесины может быть с успехом использована смесь олигосахаридов и борной кислоты, в которой олигосахариды получают за счет расщепления хитозана. Полученная смесь состоит из олигосахаридов с молекулярной массой 320 – 3200 Д, 2,5-ангидроманозы и/или одного хитозана с м.м. 3200 – 48000 Д [139].

Нетоксичный консервант для древесины может быть получен в виде водного раствора, также содержащего 1 ч. низкомолекулярного хитозана и 0,1 – 8,0 ч. силиката натрия, имеющего рН 5 – 12. Этот консервант может быть использован как для покрытия древесины, так и для ее пропитки [140]. Аналогичная композиция для консервации древесины, состоящая из низкомолекулярного хитозана, коллоидного кремния, борной кислоты, металлов и металлоидов, описана в работах [141,142].

Биологические консерванты для древесины. В одной из недавних работ в качестве средства защиты древесины и лесоматериалов от грибов и насекомых предложено использовать природные микроорганизмы: бактерии или споры бактерий, а также их метаболиты. Например, для этих целей могут быть использованы бактерии *Bacillus subtilis* F2B41 DSM 10272 или другие виды *Bacillus* sp., а также актиномицеты [143].

Таким образом, приведенные примеры консервации древесины и лесоматериалов с использованием только таких известных консервантов, как производные нефти, металлов, металлоидов, органических соединений и их комплексов, а также химических соединений, содержащих в своей структуре галоиды, серу, фосфор и другие элементы, позволяют, по мнению многих исследователей, на 25 – 30% сократить гниение и разрушение древесины и, следовательно, существенно снизить вырубку леса для нужд производства лесоматериалов.

Особенно интересны работы, посвященные использованию для консервирования древесины нетоксичных биополимерных консервантов на основе хитозана, полисахаридов, ферментов и даже отдельных видов микроорганизмов, так как подобные консерванты, на наш взгляд, в дальнейшем полностью вытеснят из деревообрабатывающей промышленности токсичные консерванты неорганического и органического происхождения.

Список литературы

1. Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н. Экологические основы производств. Взаимосвязь экологии, химии и биотехнологии. – М.: МГУЛ, 2003. – 367 с.
2. Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н. Экологические основы биотехнологии. – М.: МГУЛ, 2004. – 415 с.
3. Долматов Л.В., Ахметов А.Ф., Терентьев В.С., Карасев В.Н., Кузнецов Н.С., Пестриков А.П.// Патент РФ № 2080250. – 1997. – С1 В27К 3/50. // БИ. – 1997. – №15. – С. 88.
4. Долматов Л.В., Ахметов А.Ф., Терентьев В.С., Фадеева О.С., Карасев В.Н., Кузнецов Н.С., Пестриков А.П., Серегин В.М.// Патент РФ № 2093353. – 1997. – С1 В27К 3/50 // БИ 1997. – 29. – С. 246–247.
5. Nagano M., Murakami M., Kochra M., Sukai Y.// Патент Японии № 0812504 . – 1996. – С1 А01N 33/08. //Chem. Abstr. – 1996. – 124. – 235306х.
6. Mary H.N., Vogel T., Arlt O., Lichtenberg G.//Международный патент № 000 02716 . – 2000. – С1 В27К 3/44. //Chem. Abstr. – 2000. – 132. – 94875.
7. Fookes D. Gnatowski M.J., Pike R.L., Templeton D.A.//Международный патент № 99 43476 . – 1999. – С1 В27К 3/22. // Chem. Abstr. – 1999. – 131. – 186432.
8. Луз К, Короткина Ж., Какесте Ц.// Химия древесины . – 1993. – №5. – С. 64–72.
9. Williams G., Cornfield J.A., Brown J., Ryan N.P.// международный патент № 9302557 . – 1993. – С1 А01N 59/00. //Chem. Abstr. – 1993. – 119. – 51609.
10. Hager B.O.// Патент Великобритании № 2261168.–1993.– С1 А01N 25/00. //Chem. Abstr. – 1993. – 119. – 43364.
11. Matzner W.S., Seepe D.// Патент Германии № 4123867 . – 1993. – С1 В27К 3/32. //Chem. Abstr. – 1993. – 119. – 10685.
12. Ma F., Ayotte M.// Патент США № 5506001 . – 1996. – С1 427-408; А01N25/02. //Chem. Abstr. – 1996. – 125. – 13614с.
13. West M.// Патент США № 5342438 . – 1994. – С1 106-18.3. С09D15/00. //Chem. Abstr. – 1995. – 122. – 58545k.
14. Aceto M., Fedele A.// Fresenius Environ. Bull. – 1994. – V.3. – №4. – С. 389–394.
15. Nisson L.// Патент Швеции № 468839 . – 1993. – С1 В27К 3/02. //Chem. Abstr. – 1993. – 119. – 30315z.
16. Dumri M., Shukla K., Kumar S.// J. Timber Dev. Assoc. India. – 1992. – V. 38. – №2. – С. 14–18.

17. *Kubato A., Usni H., Konishi S., Oonishi K., Pponda R.*// Патент Японии № 06218707 . – 1994. – Cl B27K 3/16. //Chem. Abstr. – 1995. – 122. – 33775x.
18. *Lee D.H., Takahashi M., Tsunoda K.*// *Holzforschung*. – 1992. – V.46. – №6. – С. 467–469.
19. *Simens A.* // *Holz Roh-Werkst.* – 1992. – V. 50. – №7–8. – С. 275–279. //Chem. Abstr. – 1993. – 118. – 171240n.
20. *Smith-Hansen A.*// Международный патент № 9627600 . – 1995. – Cl B27K 3/52. //Chem. Abstr. – 1996. – 124. – 90728.
21. *Tsunoda K., Adachi S., Nomura Y.*// Патент Японии №08231325. – 1996. – Cl A01N 59/16. //Chem. Abstr. – 1996 . – 125. – 295255.
22. *Jin L., Archter K.*// *Proc.-Annu. Meet. Am. Wood-Preserv. Assoc.* 1991 (Publ. 1992) . – №87. – С. 169–184. //Chem. Abstr. – 1944. – 121. – 182129w.
23. *Pizzi A.*// *Holzforschungen*. – 1993. – B. 47. – №3. – С. 253–260.
24. *Pizzi A.*// *Holzforschung*. – 1993. – B. 47. – №4. – С. 343–348.
25. *Kurt O.*//Патент Германии № 4225528 . – 1994. – Cl B27K 3/52. //Chem. Abstr. – 1994. – 121. – 111772.
26. *Tomita K., Tomioka T., Hoshino K., Nishino A., Yonemura M.*// Патент Японии № 05309612 . – 1993. – Cl B27K3/52. //Chem. Abstr. – 1994. – 120. – 194398a.
27. *Chaptan Chemical Co., Ltd.*//Патент Германии № 4126986 . – 1993. – Cl B27K3. //Chem. Abstr. – 1993. – 118. – 256844.
28. *Kamdem D.P., Mcintyre C.R.*// *Wood Fiber Sci.* – 1998. – V. 30. – №1. – С. 64–71.
29. *Soeda M., Ofa M.*//Патент Японии № 10139606 . – 1998. – Cl A01N55/02. //Chem. Abstr. – 1998. – 129. – 50838.
30. *Tohitani K., Ono S.*// Патент Японии № 0578217 . – 1993. – Cl A01N59/14. //Chem. Abstr. – 1993. – 119. – 22828.
31. *Yamaguchi H., Okuda K.*//*Holzforschung*. – 1998. – B.52. – №6. – С. 596–602.
32. *Aoki H., Tanaka K., Echido T.*//Патент Японии № 11 139905. – 1999. – Cl A01N33/08. //Chem. Abstr. – 1999. – 130. – 348547.
33. *Kato K.*//Патент Японии № 11 189504 . – 1999. – Cl A01N37/06. //Chem. Abstr. – 1999. – 131. – 112714.
34. *Nagano Y., Shiraishi T., Arano N.*//Патент Японии № 11 246303. – 1999. – Cl A05 N25/01. //Chem. Abstr. – 1999. – 131. – 210405.
35. *Dimitrescu L., Popa V.I., Petrovci V., Baci G.*//*Bull. Transilvania Univ. Brasov, Ser B.* – 1996. – №3. – С. 63–68.

36. *Marx H.N., Tscholl H.P.*// Европейский патент № 514331 . – 1992. – Cl B27K3/52. //Chem. Abstr. – 1993. – 118. – 207539h.
37. *Leo J.S., Furukawa I., Sakuno T.*// Mukuzai Gakkaishi. – 1993. – V.39. – №1. – P. 103–108. //Chem Abstr. – 1993. – 119. – 141412.
38. *Lin S.Y.*// Патент Канады № 2087637 . – 1993. – Cl B27K3/52. // Chem. Abstr. – 1994. – 120. – 301443k.
39. *Mayer P., Simpson G., Gasborro A., Allen L.*// For. Prod. J. – 1995. – V.45. – №11/12. – С. 53–56.
40. *Nagano M., Murakami M., Kochra M., Sukai Y.*// Патент Японии № 0812504 . – 1996. – Cl A01N33/08. //Chem. Abstr. – 1996. – 124. – 235306x.
41. *Kamdem D.P., Fair R., Freeman M.*// Holz Roh-Werkst. – 1996. – V.54. – №3. – С. 183–187.
42. *Kamdem D.P., Zhang J., Freeman M.H.*//Wood Fiber Sci. – 1998. – V.30. – №2. – С. 210–217.
43. *Barth V., Haertner H., Beez V.*// Европейский патент № 739698 . – 1996. – Cl B27K3/52. //Chem. Abstr. – 1997. – 126. – 20327.
44. *Luse I., Onuzans L., Strods J.*//Патент Латвии № 10840 (1995). Cl B27K3/52. //Chem. Abstr. – 1997. – 126. – 76365.
45. *McIntyre C.*//Holz Roh- Werst. – 1999. – V. 57. – №1. – С. 69–72.
46. *Chow S.* // Патент Канады № 1304893 . – 1992. – Cl B27K3/20. //Chem. Abstr. – 1993. – 118. – 105163p.
47. *Bergervoet A.J., Burton R.J., Oosten S.*// FRI Bull. – 1992. – № 177 (Pacific Rim Bio-Based Composites Symposium, 1992. New Zealand. For. Research Ins. N.Z.) . – С. 89–90. //Chem. Abstr., 1994. – 120. – 247631.
48. *Hsu Wu-hsing F., Plaff F.J.*// Патент Канады № 2095561 (1993). Cl B27N3/02. //Chem. Abstr. – 1994. – 121. – 136491k.
49. *Barnes H., Sanders M.G., Brown B., Lfnders W.*// Proc. –Fnnu. Meet Am. Wood-Preserv. Assoc. 1992 (Publ. 1993) . – № 88. – С. 36–41. Missisipp State. MS. //Chem. Abstr. – 1994. – 121. – 159543t.
50. *Conradi W.E., Terner P., Greef F/W.*// Патент Германии № 4402600 . – 1994. – Cl B27K3/52. – Chem. Abstr. – 1994. – 121. – 258254f.
51. *Kabayashi T.*// Патент Японии № 06247815 . –1994. – Cl A01N 59/14. //Chem. Abstr. – 1995. – 122. – 3586u.
52. *Inoe T., Hamamoto Y.*// Патент Японии № 06170810 . –1994. – Cl B27K3/34. //Chem. Abstr. – 1995. – 122. – 36513q.
53. *Nasheri K.*// Патент Канады № 2153740 . –1997. – Cl B27K3/36. //Chem. Abstr. – 1997. – 126. – 265339.

54. *Schubert D.M., Manning M.J.*// Патент США № 5612094 . –1997. – Cl 427-397; A01N3/00. //Chem. Abstr. – 1997. –126. – 265336.
55. *Mori M., Doi S., Mineki Y.*// Rinsan Shikenjoho (Hokkaido) 1998. – V.12. – № 1. – С. 7–13. //Chem. Abstr. – 1998. – 128. – 155688.
56. *Mueller J.*//Патент Германии 19636702 . –1998. – Cl B27K3/34. //Chem. Abstr. – 1998. – 128. – 193886.
57. *Turner P., Murphy R.J.*//Wood Sci. Technol. – 1998. – V.32. – №1. – С. 25–31.
58. *Thevenon M.F., Pizzi A., Habik J., Zaremski A.*//Hilz-Werkst/ 1998. – V. 56. – №3. – С.162.
59. *Ikeda M., Inoue T., Inoue Th.*//Патент Японии № 10323807. – 1998. – Cl B27K3/52.// Chem. Abstr. – 1999. – 130. – 68038.
60. *Nashery K.*// Патент США № 5871817 . –1999. – Cl 427-317 B05D3/02. //Chem. Abstr. – 1999. –130. – 169744.
61. *Shizawa H., Nishimoto K.*// Патент Японии № 0570301 . –1993. – Cl A01N25/00. //Chem. Abstr. – 1993. – 118. – 228271e.
62. *Ludwig G.W., Exter O., Shmitt H.G.*// Патент Германии № 4122654 . –1993. – Cl A01N43/40. //Chem. Abstr. – 1993. – 118. –207540b.
63. *Lee D.H., Takahashi M., Tsunoda K.*// Holzforschung. – 1992. – B. 46. – №6. – С. 467–469.
64. *Lloyd G.R., Matthews N.S.*// Патент Великобритании № 2257043. –1992. – Cl A01N57/20. //Chem. Abstr. – 1993. – 118. – 96273v.
65. *Su Y., Wang S.*// Патент Китая № 1060487 . –1992. – Cl C09K15/02.//Chem. Abstr. – 1993. – 118. – 105160k.
66. *Militz H., Homan W.J.*// Holz Roh-Werst., 1993, т.51, №1, 14-20.
67. *Manziy S.A., Manziy V.P.* Polum. Congr., Int. 7-th Cong. – 1992. – P.727–729 (Eds: Paturaev V.V., Serykh R.L., M., “BETECOM”, Russia). //Chem. Abstr. – 1994. – 120. – 247569r.
68. *Kennedy G., Dai N.*// J. Radioanal/ Nucl. Chem. – 1994. – V.180. – № 1. – С. 115–119.
69. *Chikusa Y., Umozu K., Saijo S., Moriwaki M., Ohishi T., Tanaka I., Yanagida T.*//Патент Японии № 10237005 . –1998. – Cl C07C43/30. //Chem. Abstr. – 1998. – 129. – 230532.
70. *Urbanik E., Zabielska-Matejuk J., Skrzypezak A., Pernak J.*//Mater. Org. –1997. – V. 31. – №4. – С. 247–263.
71. *Laks P.E., Pollardy R.D.*// FRI Bull. – 1992, . – 177 (Pacific Rim Bio-Based Composites Symposium, 1992. New Zealand. For. Research.
72. *Barnes H.M., Ingram L.L.*// Proc – Annu. Meet. Am. Wood-Preserv. Assoc. – 1995. – № 91. – С.108–119. //Chem. Abstr. – 1996. – 124. – 235109k.

73. *Lee D.H., Takahashi M., Tsunoda K.* // *Holzforschung.* – 1992. – V. 46. – N6. – P.467–469.
74. *Militz H., Homan W.J.* // *Holz Roh-Werst.* – 1993. – V.51. – N1. – P.14–20.
75. *Tsuda K., Yamamoto T., Imamura H., Sekyama T., Mizukami J.* // Патент Японии № 0639811. – 1994. – Cl B27K3/52. // *Chem. Abstr.* – 1994. – 120. – 301448r.
76. *Fumel F.* // Патент Японии № 05329805. – 1993. – Cl B27K3/52. // *Chem. Abstr.* – 1994. – 121. – 86965b.
77. *Kennedy G., Dai N.* // *J. Radioanal/ Nucl. Chem.* – 1994. – V.180. – N1. – P. 115–119.
78. *Покровская Е.Н., Никифорова Т.П., Бельцева Т.Г., Мишелова Г.Н.* // Авторское свидетельство СССР № 1810283. // *БИ.* – 1993. – №15. – С.42.
79. *Nosow W., Czorny N.* // Патент Нидерландов № 9301509. – 1995. – Cl B27K3/34. // *Chem. Abstr.* – 1995. – 123. – 59256z.
80. *Ikeda N.* // Патент Японии № 07117015. – 1995. – Cl B27K3/52. // *Chem. Abstr.* – 1995. – 123. – 115961q.
81. *Barth V., Haertner H., Beez V.* // Европейский патент № 739698. – 1996. – Cl B27K3/52. // *Chem. Abstr.* – 1997. – 126. – 20327.
82. *Uoda N., Inoe M.* // Патент Японии № 0966504. – 1997. – Cl B27K3/50. // *Chem. Abstr.* – 1997. – 126. – 294759.
83. *Schiring U.H.* // Патент международного общества прикладных исследований (PCT Int. Appl. WO) № 9219429. – 1992. – Cl B27K3/34. // *Chem. Abstr.* – 1993. – 118. – 126790f.
84. *Morishita S., Azuma A., Ogawa T., Ppronda T.* // Патенты Японии № 08118318 и 08118319. Cl B27K3/15. // *Chem. Abstr.* – 1996. – 125. – 61279u и 612280 n.
85. *Kinishita W., Wad K., Ishibashi R.* // Патент Японии № 09109112. – 1997. – Cl B27K3/50. // *Chem. Abstr.* – 1997. – 127. – 36135.
86. *Pallaske M.* // Европейский патент № 887163. – 1998. – Cl B27K3/36. // *Chem. Abstr.* – 1999. – 130. – 97072.
87. *Kato K.* // Патент Японии № 1160411. – 1999. – Cl A01N37/02. // *Chem. Abstr.* – 1999. – 130. – 178746.
88. *Oda K., Nushida M., Ishida D.* // Патент Японии № 20006141317. – 2000. – Cl B27K3/50. // *Chem. Abstr.* – 2000. – 132. – 335994.
89. *Иванникова Е.И., Варфоломеев Ю.А., Комова С.Н.* // Патент РФ № 2113984. – Cl A27K3/50. // *БИ.* – 1998. – №18. – 217.
90. *Долматов Л.В., Ахметов А.Ф., Ю Тереньтьев В.С., Карасев В.Н., Кузнецов Н.С., Пестриков А.П.* // Патент РФ № 2080250. – 1997. – Cl B27K3/50. // *БИ.* – 1997. – №15. – 88.

91. Долматов Л.В., Ахметов А.Ф., Тереньтьев В.С., Фадеева О.С., Карасев В.Н., Кузнецов Н.С., Пестриков А.П., Серегин В.М.// Патент РФ № 2093353.–1997. –С1 В27К3/50. //БИ.– 1997.– №9.– 246–247.
92. Chaptan Chemical Co., Ltd.// Патент Германии № 4126986.– 1993. –С1 В27К3. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 256844.
93. Kamdem D.P., Fair R., Freeman M.// Holz Roh-Werkst.– 1996.– V.54.– N3.– P.183–187.
94. Kamdem D.P., Zhang J., Freeman M.H.//Wood Fiber Sci. –1998.– V.30. – N2.– P.210–217.
95. Barnes H.M., Ingram L.L.// Proc – Annu. Meet. Am. Wood-Preserv. Assoc. –1995.– N91.– P.108–119. //Chem. Abstr.– 1996.– 124.– 235109k.
96. Hellwig V., Hiller J.C.// Европейский патент № 529213.–1993.– С1 В27К3/50. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 74920x.
97. Lindberg I.// Европейский патент № 520785.–1992.– С1 А01N37/02. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 141819r.
98. Ludwig G.W., Exter O., Shmitt H.G.// Патент Германии № 4122654.–1993.– С1 А01N43/40. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 207540b.
99. Ikeda M., Kamyama S., Yasui I.// Патент Японии № 05138614.– 1993.– С1 В27К3/34. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 228350a.
100. Goletz P., Naczinski L.// Патент Германии № 4135505.–1993.– С1 В27К3/50. //Chem. Abstr.– 1994.– 120.– 33189.
101. Igarashi R.// Патент Японии № 05345301.–1993.– С1 В27К3/50. //Chem. Abstr.– 1944.– 120.– 220670e.
102. Konishi S., Yanai T.// Патент Японии № 06128107.–1944.– С1 А01N43/08. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 101976.
103. Ootubo T., Murakami Y., Tejima I., Inai S., Ogawa M.// Патент Японии № 06247811.–1994. –С1 А01N47/22. //Chem. Abstr., 1995.– 122.– 3584s.
104. Sukurai M., Kumagai H.// Патент Японии № 06226712.–1994. – С1 В27К5/00. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 58548p.
105. Liu X., Laks P.E., Pruner M.S.// For. Prod. J.– 1994.– V.44.– N6.– P.46–48.
106. Hill R.A., Rohitha B.H.// Международный патент № 9507807.– 1995.– С1 В27К3/34. //Chem. Abstr. –1995.– 123.– 317321s.
107. Mary H.N., Vogel T., Arlt O., Lichtenberg G.//Международный патент № 000 02716 .–2000.–С1 В27К3/44. //Chem. Abstr. – 2000.– 132.– 94875.
108. Paajanen L., Koskela K., Vitaniemi P.//VTT Julk 1999.– № 8366.– P.1–75. //Chem. Abstr.– 2000.– 132.– 124321.

109. *Hagashi Y., Itoh T.*// Европейский патент № 532285.–1993.– Cl B27K3/34. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 74921y.
110. *Mitsu S., Funatsu R., Nishizama K.*// Патент Японии № 0570303.– 1993.– Cl A01N 33/12. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 11271.
111. *Mitsu S., Funatsu R., Nishizama K.*// Патент Японии № 0570303.– 1993. –Cl A01N 33/12. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 11271.
112. *Konishi S., Usui H., Ishikawa H., Oonishi K., Adachi A.*// Патент Японии № 0550404.– 1993.– Cl B27K3/16. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 74922z.
113. *Goettache R., Kober R., Kardarff U.*// Патент Германии № 4441672.–1996. –Cl B27K3/50. //Chem. Abstr.– 1996.– 125.– 89443e.
114. *Fujiki S., Kamata H.*// Европейский патент № 9217325.–1992. – Cl B27K3/52. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 105162n.
115. *Yamashita K., Moeda Y., Mikami K., Makino H., Sakuma K.*// Патент Японии № 08198711.–1996. –Cl A01N43/653. //Chem. Abstr. –1996.– 125.– 240849.
116. *Yamashina K., Maeda Y., Mikami K., Makino H., Sakuma K.*// Патент Японии № 08197509.–1996. –Cl B27K3/50. //Chem. Abstr. –1996. –125.– 250724.
117. *Soeda M., Ofa M.*//Патент Японии № 10139606.–1998.– Cl A01N55/02. //Chem. Abstr. –1998.– 129.– 50838.
118. *Jermannaud A.*//Европейский патент № 956934.–1999. – Cl B27K3/34. //Chem. Abstr.– 1999. –131.– 352721.
119. *Kashima K.*//Патент Японии № 2000347813.– 2000.– Cl A01N43/54. //Chem. Abstr. –2000.– 133.– 204197.
120. *Schulz T.P., Nicholas D.D.*//Международный патент № 00 78140. –2000.– Cl A01N25/22. //Chem. Abstr.– 2001.– 134.– 52627.
121. *Fujiki S., Kamata H.*// Европейский патент № 9217325.–1992.– Cl B27K3/52. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 105162n.
122. *Kozma D.H.*//Патент Венгрии № 78035. –1999.– Cl C08J3/00. //Chem. Abstr.– 2000.– 132.– 167858.
123. *Makita A., Arima Y., Chikada N., Shiotani T.*// Патент Японии № 05310503.–1993.– Cl A01N25/34. //Chem. Abstr.– 1994.– 120, – 127779.
124. *Uchama N., Kurisaki H.*// Патент Японии № 05261705.–1993.– Cl B27K3/52. //Chem. Abstr.– 1994.– 120.– 167112w.
125. *Chang W., Hsuan G.J., Harley M.A.*// Международный патент № 9308006.–1993. –Cl B27K5/00. //Chem. Abstr.– 1994.– 120.– 194345f.

126. *Militz H., Peek R.D.* // Mater. Org. –1993.– V. 28.– N1.– P.54–73.
127. *Kubato A., Usni H., Konishi S., Oonishi K., Pponda R.* // Патент Японии № 06218707.–1994.– Cl B27K3/16. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 33775x.
128. *Tokashima S., Mihashi T., Kaneya T.* // Патент Японии № 06316681 .–1994.– Cl C09D5/14. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 190788w.
129. *Kinoshita W., Sugino H., Nakajima K.* // Патент Японии № 0732314.– 1995.– Cl B27K3/50. //Chem. Abstr.– 1992.– 122.– 268456h.
130. *Liang J.* // Патент США № 5395656.–1995.– Cl 427–393. B05D3/02. //Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 59260w.
131. *Pizzi A., Baecker A.A.* // Европейский патент № 669191.–1995.– Cl B27K3/52. //Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 202602s.
132. *Lehtonen M., Lachteenmacki M., Ritschkoff A.C., Korpella J.* // Европейский патент № 781637.–1997.– Cl B27N1/00. //Chem. Abstr. –1997.– 127.– 123159.
133. *Dimitrescu L., Popa V.I., Petrovici V., Baci G.* //Bull Transilvania Univ. Brasov. Ser B. –1996.– №3.– P.63–68.
134. *Devi R.R., Ali I., Maji T.K.* //Bioresour. Technol.– 2003. V.88.– N3. P.185–188.
135. *Боргин К.* // Химия древесины. –1993.– №5.– С.59–61.
136. *Creff F.W., Conradi W.E.* // Патент Великобритании № 2271579.– 1994.– Cl B27K3/52. –Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 84048y.
137. *Militz H.* // Holz Roh-Werst.– 1993.– V.51.–N5.– P.339–346.
138. *Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н.* // Лесной вестник. – 2005. – N 2. – С. 76–89.
139. *Inoe T., Kyowa T.* // Патент Японии № 06297409.–1994. –Cl B27K3/52. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 109156u.
140. *Inoe T., Tsujimura T.* // Патент Японии № 07148711 (1995). Cl B27K3/52. //Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 147080t.
141. *Popper H., Palaske M., Hoefuer B., Krebs B., Ockhardt A., Scheithauer M.* // Патент Германии № 19536328.–1997.– Cl C12N1/20. //Chem. Abstr.– 1997.– 126.– 294760.
142. *Laks P.E., Pollardy R.D.* // FRI Bull, 1992, 177 (Pacific Rim Bio-Based Composites Symposium.– 1992. New Zealand. For. Research Inst. Rotorua. N.Z. –P.163–171. //Chem. Abstr.– 1994.– 120.– 247565m.
143. *Kumar S., Morell J.J.* // J. Timber Dev. Assoc. India.– 1993.–V. 39.– N3.– P.5–22.

Часть 2

КОНСЕРВАЦИЯ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ

Известно, что сохранение качества пищевых продуктов особенно важно для уменьшения количества отходов, поскольку при получении любых пищевых продуктов количество бросовых отходов составляет не менее 60 – 70%. Эти отходы быстро разлагаются на воздухе и склонны к активной контаминации различными микроорганизмами, включая патогенные. Поэтому консервация пищевых продуктов, как это не парадоксально, является необходимым условием развития получения продуктов питания для человечества, поскольку в иных случаях оно просто вымрет от инфекций [1].

Глава 3

Химические и физические методы консервирования мяса и мясопродуктов

Считается, что лучше всего использовать те продукты, которые не содержат консервантов. Но, если придерживаться этой точки зрения, то сразу же возникает вопрос: как тогда быть с поваренной солью, уксусной, лимонной и другими органическими кислотами или соединениями, которые используются для консервирования пищевых продуктов с глубокой древности, и без использования которых было бы невозможно применение тех видов продуктов, которые ежедневно используются человечеством в его пищевом рационе. Очевидно, все дело в количестве этих консервантов и всесторонним знанием механизмов их действие на те или иные органы и ткани человека. Для того, чтобы наглядно пояснить это утверждение мы попытаемся привести наглядные примеры использования подобных консервантов в мировой практике.

Так, физико-химические основы консервирования пищи и мясных продуктов комбинированными методами описаны в обзоре [2]. Консервирование пищевых продуктов комбинированными методами состоит из комбинации различных параметров, таких как изменение в активности воды (a_w), изменение значения pH, добавления одного или нескольких антимикробных реагентов, изменение температуры пастеризации или стерилизации и т.д. Удачный выбор этих параметров может давать синергетический эффект в ингибировании роста микроорганизмов и стабилизации свойств продукта при комнатной температуре. В данном разделе мы начнем с мяса, поскольку мы никак не можем принять нравоучения вегетарианцев, и считаем, что мясо, в любых его видах считается основным белковым источником питания человечества.

Использование неорганических консервантов и различных технологических приемов для сохранения свежести мяса

Использование неорганических и других видов консервантов подробно опубликовано в книге [3]. Поэтому мы остановимся только на тех примерах, которые не вошли в указанные выше литературные источники.

Так, например, в одной из работ патентуется следующая рецептура солей для посола и консервирования мяса, содержащая: $\geq 50\%$ NaCl, $< 30\%$ $MgCl_2$, $\leq 10\%$ $CaCl_2$ и для баланса $\sim 10\%$ KCl. Использование такого состава, по мнению авторов, существенно лимитирует не только потребление мяса, но и его качество [4].

Водный раствор хлорида и цитрата натрия, смешанный с мельчайшими частицами, содержащими коптильный дым, также с давних пор используется для консервирования мяса, для чего раствор этого дыма вводят в артерию сельскохозяйственных животных или рыб перед их убоем при помощи насоса. Коптильный дым и консерванты адсорбируются белками мяса и превращаются в соответствующее консервирующее депо [5].

Куски солонины в процессе их резки и последующей упаковки под вакуумом могут содержать $10^4 - 10^6$ бактерий/г. Причем развитие бактерий может происходить спустя 2 – 3 нед. после убоя и хранения мяса даже при 5°C . Для уменьшения этого явления предложено облучать мясо, упакованное под вакуумом в пластиковые формы и подвергать их последующему облучению дозами радиации 1, 2 и 4 кГц, что приводит к уменьшения первоначального содержание микроорганизмов в мясных продуктах в 3 – 5 раз. При этом происходит изменение аромата и вкуса мяса. Однако при дозах облучения 2 и 4 кГц эти изменения были либо слабыми, либо умеренными. Мясо, облученное дозой 2 кГц, могло храниться без всякого заражения в течение 5 нед при 5°C [6].

Предложено также консервировать свежее мясо чистым кислородом, подающимся под давлением из специальной емкости. При такой обработке из мяса полностью удаляется CO_2 , а мясо приобретает ярко красную окраску. В зависимости от вида мяса, можно изменять скорость подачи кислорода в емкость и время его контакта с мясом. Процесс подачи кислорода контролируются по скорости его испарения из мяса, так как при быстром испарении может произойти замораживание мяса [7]. Этот метод не является принципиально новым, так как еще раньше было предложено использование активного кислорода и озона, растворенных в воде и превращенных в лед, который, может быть использован в качестве пищевого консерванта. В работе [8] приведена диаграмма для получения льда, содержащего озон и/или активный кислород. Помимо консервации этот лед может быть также использован для стерилизации и дезодорации

пищевых продуктов. Однако эти данные находятся в противоречии с данными других исследователей. Так, в работе [9], предложено использовать специальную смесь для удаления кислорода из упакованных продуктов и тем самым обеспечивать их консервацию. Смесь состоит из 100 ч. порошка активированного железа, 10 – 40 ч. гидроксида алюминия или оксидов алюминия, цинка и/или титана и не содержит воды. Смесь удаляет кислород даже при низких температурах и не портится при использовании. Удаление кислорода предотвращает изменение окраски мясных продуктов особенно при длительном хранении. Приводится специальный пример, подтверждающий утверждения автора: порошок, состоящий из 100 ч. активированного железа, обрабатывали раствором NaCl, высушивали и затем смешивали с 20 ч. $\text{Al}(\text{OH})_3$ или 20 ч. Al_2O_3 и запечатывали вместе с ветчиной, используя ламинированные пленки.

Этого же взгляда придерживаются и другие исследователи, которые считают, что упаковка охлажденного мяса в отсутствие кислорода, который способствует образованию коричневого метмиоглобина в мышцах, можно достичь только в атмосфере с низким содержанием кислорода, что и наблюдается при использовании вакуумной упаковки, т.е. практически в анаэробных условиях. Уменьшении бактериальной контаминации наблюдается также в атмосфере, содержащей преимущественно CO_2 . Однако предотвращение контаминации упакованного мяса требует также и обеспечение условий его хранения при низкой температуре, что в ряде случаев не соблюдается производителями [10]. Очевидно, в первых публикациях основное внимание исследователей было направлено для устранения бактериальной контаминации мясных и пищевых продуктов, тогда как в других публикациях принимались во внимание не только микробная контаминация, но и само качество мяса.

Замораживание мясных продуктов в рассоле также является одним из способов их консервирования. Например, мясные продукты были заморожены в спиртовом рассоле при -40°C , затем центрифугировались для удаления рассола и оставлялись при температуре от 0 до -30°C для консервации. Ледяная корка на поверхности продуктов защищала их от микробной контаминации. Рассол состоял из спиртового раствора соли (%): этанола – 6,9; сорбита – 0,1; янтарной кислоты – 0,1; NaCl – 3 и воды – 27 [11].

Тендеризация (умягчение) и консервирование мяса солями щелочных металлов описано в работе [12]. Для этого мясо обрабатывают хлоридами щелочных металлов, карбонатами щелочных металлов, бикарбонатами щелочных металлов, молочной кислотой и/или лактатом щелочных металлов. После обработки мясо остается мягким в течение длительного времени.

Консервация мяса обработкой его монооксидом углерода предложено в работах [13, 14]. Сырое мясо консервируется в атмосфере

СО, который не только предотвращает контаминацию мяса, но и обеспечивает сохранение его окраски и свежести. Так, говядину следует выдерживать в атмосфере СО в течение 30 мин при 15°C. Например, сырое говяжье мясо или рыбу консервировали путем инъекции СО при помощи шприца в пакеты, где оно и хранилось в дальнейшем. Метод дешевый, легкий и безопасный. Консервированное мясо приобретало хорошую окраску и вкус, и сохранялось в течение длительного времени [15].

Консервацию мяса смесью газов осуществляют следующим образом. Древесный, животный или растительный уголь нагревают при 850 – 1200°C, и горячий газ, содержащий СО, водород, азот, СО₂ и другие соединения, пропускают через холодную воду. Мясо, обработанное таким консервантом, не имеет неприятного вкуса и запаха, и сохраняется в течение длительного времени [16].

Для этих целей может быть также использован и жидкий дым, который является не только консервантом, но и антиоксидантом и предотвращает изменение окраски мяса, не нарушая его вкусовых качеств [17].

Изучение микробного профиля говяжьих сосисок во время их приготовления и хранения при 4°C, показало, что паровая варка сосисок в течение 45 мин эффективна для уменьшения их микробной контаминации. Показано также, что готовые сосиски могут храниться в вакуумной упаковке или в токе СО₂ в течение 31 сут при 4 ± 1°C [18].

Одним из самых распространенных консервантов и антиоксидантов является нитрит натрия, который, однако, следует применять в строго ограниченных дозах. Потенциальный вред этих соединений нейтрализуется их высоким защитным действием против бактерий, образующих токсины, таких как *Clostridium botulinum*. Антимикробное действие нитритов является достаточно сложным. Известно, что бактериальным действием обладают не сами нитриты, а их производные, образующиеся в процессе приготовления пищи. Из большого числа нитрозильных компонентов наиболее сильное ингибирующее действие на *Clostridium botulinum* проявляет анион соли $[\text{Fe}_4\text{S}_3(\text{NO})_7]^-$. Этот компонент активен по отношению к анаэробным и аэробным бактериям, вызывающим порчу мяса. Имеется много возможных участков ингибирования роста бактериальных клеток, на которые действует этот анион: дыхательные цепи, железо- и серосодержащие белки, а также другие металлопротеины, мембраны и генетические структуры [19].

Различные аналитические методы для определения нитритов в мясных продуктах, основанные на экстракции консервантов после обработки мяса при 60 – 80°C с последующим калориметрическим анализом экстрактов, обычно дают недостаточно точные значения из-за низкой степени экстракции (44 – 65%). Поэтому авторами работы [20] предложен усовершенствованный метод, который заключается в

предварительной дезинтеграции и диспергировании говядины с песком перед экстракцией мяса и использовании более высоких концентраций дигидрохлорида N-(1-нафтил)этилендиамина. Предложенный метод, по мнению авторов, позволяет извлекать из мясных продуктов почти 93% применяемых нитритов и обеспечивает вариации в точности анализа около 8%.

Применение органических кислот, молочнокислых бактерий и грибов в качестве консервантов

Органические кислоты и многочисленные производные являются в настоящее время, пожалуй, наиболее широко используемыми консервантами, которым посвящено большинство публикаций, описание некоторых из которых мы считаем целесообразным цитировать в данной главе.

Так, куриные грудки вместе с кожей обрабатывали 1% водным раствором уксусной кислоты, после чего их упаковывали в воздухонепроницаемую тару, которую заполняли смесью 70% CO₂ и 30% N₂, и оставляли на 21 сут при 4°C. В качестве контроля в тех же условиях упаковывали куриные грудки, не обработанные уксусной кислотой. Спустя указанное время образцы вскрывались и анализировались. Те образцы, которые обрабатывали 1% раствором уксусной кислоты, имели слабый приятный запах уксусной кислоты. Образцы без обработки уксусной кислотой имели существенно менее приятный запах. Сделан вывод, что перед упаковкой мясных продуктов их целесообразно опрыскивать 1% раствором уксусной кислоты [21]. Не менее хорошим консервантом для тушек птиц является буферный раствор, состоящий из молочной, уксусной или пропионовой кислот. Буферный раствор получают смешиванием 60% молочной кислоты и 20% лактата натрия и доведением объема смеси до 100% водой. 2%-ный водный раствор этого буфера (pH 2,9; 40°C) распыляют на тушку убитых птиц и тем самым предотвращают их контаминацию в течение 14 дней. Мясо таких птиц обладает хорошими органолептическими свойствами [22]. Показано, что предварительная обработка мясных продуктов смесью растворов 2% лактата натрия и 0,5% ацетата натрия или 2% лактата натрия и 0,25% глюконо-δ-лактона перед их упаковкой в воздухонепроницаемые пакеты в токе 80% азота и 20% CO₂, обеспечивает сохранение этих продуктов от заражения листериями в течение 4 недель при 5°C, а также сохраняет цвет мясных изделий [23].

Для консервирования куриных грудок их вместе с кожей обрабатывали 1% водным раствором уксусной кислоты, после чего упаковывали в воздухонепроницаемую тару, которую заполняли смесью 70% CO₂ и 30% N₂, и оставляли на 21 сут при 4°C. В качестве контроля совершенно в тех же условиях упаковывали куриные грудки, не

обработанные уксусной кислотой. Спустя указанное время образцы вскрывались и анализировались. Те образцы, которые обрабатывали 1% раствором уксусной кислоты имели слабый приятный запах уксусной кислоты. Образцы без обработки уксусной кислотой имели существенно менее приятный запах. Сделан вывод, что перед упаковкой мясных продуктов целесообразно опрыскивать образцы 1% раствором уксусной кислоты [24].

Консервирующее действие смеси уксусной, молочной и пропионовой кислот на говядину, хранившуюся в холодильнике, описано в нижеследующей работе. Очищенная говядина разрезалась на 15 кусков и делилась на 4 группы, по три куска в каждой группе. Куски говядины из групп 1,2,3 и 4 обрабатывали 1,2,3 и 4% смесью уксусной и молочной кислот. 5 группа была взята в качестве контроля. Подобная обработка была сделана и с другими кусками мяса, но со смесью уксусной и пропионовой кислот. Изменения в содержании микроорганизмов, окраски и запахе мяса исследовались через 0, 24, 72 и 168 ч. Установлено, что бактериостатическое и бактерицидное действие смесей кислот увеличивалось с увеличением концентрации смеси, но ее влияние уменьшалось при увеличении времени экспозиции. Обе кислые смеси оказывали более сильное антибактериальное действие на грамотрицательные микроорганизмы. 3% смесь уксусной и молочной кислот значительно уменьшало количество бактерий, не влияя на окраску и вкус говядины. Эта смесь была рекомендована для предотвращения контаминации говяжьих стейков при их хранении в течение семи дней в холодильнике при температуре $7 \pm 1^\circ\text{C}$ [25].

Изменение в запахе, окраске и текстуре мяса при его обработке и хранении с кислыми консервантами показало, что рубленая свинина может быть с успехом обработана растворами молочной и пропионовой кислоты. Контроль изменения окраски, запаха и текстуры мяса проводили спустя 12 ч его хранения в холодильнике при 4°C . Обнаружено, что обработка рубленого свиного мяса консервирующей смесью органических кислот существенно уменьшает его микробную контаминацию, не изменяя запаха и цвета, но уменьшая его влагосвязывающую способность. Антибактериальное влияние смеси кислот увеличивается при увеличении их концентрации, но это влияние уменьшается при увеличении сроков хранения мяса в холодильнике [26].

Различные характеристики молочнокислых бактерий, используемых в качестве стартовых культур и для других целей приведены в обзоре [27]. Среди таких бактерий используются *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Corinobacterium* и *Enterococcus*. Представлены данные по совместному применению низина для увеличения сроков действия этих культур. Молочнокислые бактерии *Lactobacillus helveticus* K₄ в виде жидкости или порошка были использованы как консерванты

пищи. Они подавляли рост других микроорганизмов и улучшали вкус пищи. В том случае, когда они использовались для приготовления мясных изделий, например ветчины, они еще способствовали и ускорению созревания мяса [28]. Дано также описание бактерий рода *Pediococcus*, бактерицидная активность в педиококках, токсичность педиоцина АсН, вид действия педиоцина АсН, генетические закономерности *Pediococcus acidilactice*, антибактериальная эффективность педиоцина АсН и его применение для консервации мяса и др. продуктов [29].

Использование бактериоцина для консервации пищевых продуктов подробно описано в обзоре [30], который посвящен эффективности использования молочнокислых бактерий рода *Carnobacterium* и *Leuconostoc*, и продуктов из них, так называемых бактериоцинов, для консервирования мясных изделий.

Из литературных данных известно о наличии энтерококков в мясных продуктах. Несмотря на известную патогенность этих микроорганизмов, недавние исследования показали, что пищевые и мясные энтерококки, особенно *Enterococcus faecium* обладают существенно меньшей активностью, чем клинические штаммы. Показано, что есть определенная выгода от наличия энтерококков в мясной продукции: многие энтерококки были выделены из фарша и сосисок, чтобы получать с их помощью энтероцины, действующие как антибактериальные агенты против патогенов и гнилостных микроорганизмов. Применение энтероцинов, продуцирующих энтерококки или их очищенных метаболитов, оказалось эффективным в производстве ферментированных колбас и при вакуумной упаковке мясных продуктов для предотвращения интенсивного роста *Listeria monocytogenes* и молочнокислых бактерий, вызывающих липкость мяса. Энтероцины и бактериоциногенные энтерококки обращают на себя внимание как альтернативные заменители традиционных химических консервантов и могут также использоваться для контроля патогенов в мясных продуктах [31].

Новый антибактериальный гриб *Аскоперон Р* был использован в качестве консерванта для пищевых продуктов. В охлажденном курином супе *Аскоперон Р* в концентрации 2000 мг/кг продукта предотвращал рост и развитие *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas fluorescens*, *Salmonella* sp. в течение 60 дней и более. Высокая активность наблюдалась при концентрации 500 – 1000 мг/кг в случае *Listeria monocytogenes*. Никакой активности не наблюдалось по отношению к *Saccharomices cerevisiae*. Активность *Аскоперона Р* понижалась в случае его использования при 20°C, однако при концентрации 2000 мг/кг он был все еще активен против *B. cereus* и *P. fluorescens*. *Аскоперон Р* проявлял меньшую активность в охлажденном вареном мясе, чем в сыром. В сваренном мясе консервант был особенно эффективен при концентрации 2000 мг/г и температуре 8°C против *Salmonella typhimurium*, *E. coli* и

P. fluorescens, но не против *L. monocytogenes* или *Lactobacillus sake*. Активность против грамотрицательных энтеро-бактерий *Аскоперона Р* повышалась при понижении температуры. Для молока и молочных продуктов концентрация консерванта в 2000 мг/г была достаточна для подавления *P. fluorescens* при низких температурах, но не достаточна для температуры окружающей среды. *Аскоперон Р* оказался также активен против дрожжей и плесени *Byssoschlamus* в яблочном соке.

Сделан вывод, что концентрация *Аскоперона Р* 2000мг/кг необходима для проявления его антибактериальной активности в пищевых продуктах при относительно низкой температуре. Показано также, что стабильность *Аскоперона Р* понижается при падении рН ниже 5,5 [32].

Известно, что окраска мяса лучше всего сохраняется в присутствии аскорбиновой кислоты. Однако, при использовании для обработки мяса смеси пропионовой и аскорбиновой кислот отмечено, что поверхность мяса становится более светлой, и наблюдается рост скорости окисления липидов по сравнению с контролем. Кроме того, обработка мяса кислыми растворами во всех случаях понижала водоудерживающую способность мясного сырья [33]. Из приведенной информации становится очевидным правильность выбора органических кислот для обработки мяса, так как при произвольном выборе, вместо синергетического эффекта действия смеси на качество мяса и мясных изделий можно получить обратное действие.

Изучение различных рецептов, использованных для соления свинины показало, что наиболее эффективной оказалась следующая рецептура (г): постная свинина – 1000, обычная соль – 35, уксус – 100 мл, лимонная кислота – 5 г, смесь сухих специй – 35 г, зеленый карри – 50г, горчичное масло 250 мл. Время соления в зависимости от последующего применения мяса составляло от 30 до 120 дней. Не наблюдалось никакого микробного заражения. Дополнительное добавление в смесь консерванта бензоата натрия в количестве 0,1 – 0,2% и нитрита натрия 200 мг/кг вместе или по отдельности не оказывало никакого действия на получаемое соленое мясо [34]. Предложено использовать лактат натрия в количестве 10 – 20 г/кг свиного мяса в качестве антиоксиданта и консерванта, который не уступает таким известным антиоксидантам как бензолгидрокситолуол (ВНТ) и бензолгидроксианизол (ВНА). Предложен возможный механизм действия лактата натрия, заключающийся в восстановлении Fe^{3+} в Fe^{2+} за счет образования лактильного радикала, который затем образует с Fe^{2+} соответствующие хелаты [35].

Хорошо известно, что контаминация мяса является проблемой, которая становится особенно актуальной в теплое время года или при высокотемпературных условиях в промышленных районах. Предложены недорогие методы для устранения такой контаминации, например использование хлора или органических кислот. Из последних, наиболее эффективной является молочная кислота, которая практически не влияет

на вкусовые характеристики мяса и увеличивает время его полуконтаминации. Альтернативным путем использования молочной кислоты является обработка мяса молочно-кислыми бактериями, которые уменьшают микробную контаминацию мяса без существенных изменений его сенсорных характеристик. Обсуждается влияние этих бактерий на контаминацию мяса при температуре выше 15°C [36]. Полученные данные подтверждены и в работе [80]. Так, обработка мяса молочной кислотой или лактатом натрия в концентрации 10 – 20 г/кг мяса способствовала снижению патогенов, и оказывалась эффективной для развития полезной микрофлоры. Приведены исследования деконтаминации мяса молочной кислотой и подавление с ее помощью ряда патогенных бактерий. К молочной кислоте оказались неустойчивы грамположительные и грамотрицательные бактерии, но оказались устойчивы дрожжи. Устойчивость дрожжей и микроорганизмов к действию молочной кислоты можно было расположить в следующий ряд: дрожжи = лактобациллы > психротропные грамположительные бактерии > мезофильные *Enterobacteriaceae* > грамотрицательные бактерии, которые оказались самыми чувствительными [37]. Высокое консервирующее действие лактата натрия на говядину еще раз подтверждено в работе [38]. Это действие усиливается при увеличении концентрации консерванта. Наиболее оптимальной концентрацией лактата натрия является концентрация 4%. Смесь лактата натрия с антибиотиком низином обладает синергетическим действием.

Эффективным консервантом для кускового мяса оказался раствор, имеющий оптимальное значение pH = 1,9 и состоящий из смеси молочной, лимонной, аскорбиновой кислот и сахара. Содержание сахара в смеси составляло 50 – 60% [39]. Известен также консервант, получаемый путем смешения сорбиновой кислоты, бензоата натрия, активированного угля и воды. Этот консервант совершенно безопасен, пригоден для консервации рыбы и мяса и действует в течение долгого времени [40].

Подробному консервирующему действию сорбиновой кислоты посвящен обзор [41], который свидетельствует об эффективности использования как индивидуальных сорбатов, так и в их сочетании с другими консервантами для подавления роста микроорганизмов и образования патогенов в мясе, рыбе и рыбных продуктах. Сорбаты предотвращают образование неприятного запаха, возникающих за счет окисления жиров, и тем самым увеличивают время сохранения этих продуктов. Еще более эффективными консервантами оказались алкиловые эфиры *n*-оксибензойной кислоты. Метод их применения предусматривает консервацию мяса и внутренностей при температуре не выше 40 – 45°C и заключается в обработке мяса водным раствором, содержащим, например смесь метилового и пропилового эфира *n*-оксибензойной кислоты. Эти

эффиры хорошо защищают мясо от микроорганизмов, проникая внутрь мышечных волокон [42].

Предложена также композиция, позволяющая заменить фосфаты в производстве мясных продуктов и обладающая консервирующим действием. В оптимальный состав смеси входят (г): аскорбиновая кислота – 8,1; уксусная кислота – 3,3; лимонная кислота – 0,25; лактоза – 41,3 и Na_2CO_3 в количестве 47,05 г [43].

Применение жирных кислот и растительных масел в качестве консервантов

Использование отдельных видов растительных масел, в также содержащихся в них жирных кислот и их производных совсем недавно получило достаточно широкое распространение.

Так, в одной из работ было изучено ингибирующее действие гвоздичного масла на бактериальную обсемененность мяса и сыра при 30°C и 7°C. В концентрациях от 0,5 до 1% гвоздичное масло ограничивает рост бактерий *Listeria monocytogenes* в мясе и сыре при обеих температурах. Ингибирующее действие масла было более заметно при его применении в концентрации 1%. Сделан вывод, что это масло может быть использовано в качестве консерванта против *Listeria monocytogenes* [44].

Изучение антибактериальной активности отдельных жирных кислот и природных масел на два вида грамотрицательных (*Pseudomonas fluorescens* и *Serratia liquefaciens*) и четыре вида грамположительных (*Brochothrix thermosphacta*, *Carnobacterium piscicola*, *Lactobacillus curvatus* и *Lactobacillus sake*), приводящих к порче мяса, показала, что жирные кислоты и природные масла не влияют на рост *B. thermosphacta*, *P. fluorescens* и *S. liquefaction* через 24 ч хранения мясных продуктов. Среди изученных жирных кислот наибольшим ингибирующим действием в концентрациях 250 – 500 мкг/мл обладали лауриновая и пальмитиновая кислоты, тогда как миристиновая, пальмитиновая, стеариновая и олеиновая кислоты оказались мало эффективны. Среди природных масел наиболее эффективными оказались гвоздичное, коричное, перечное и розмариновое масла. При разбавлении эти масел в концентрации 1/100 они ингибировали рост, по крайней мере, пяти из шести исследованных культур. Найдена прямая взаимосвязь между ингибирующим действием природных масел и наличием в них эвгенола и альдегида коричной кислоты [45].

Эффективным ингибитором роста листерий оказался и изоаналог эвгенола, содержащийся в коптильном дыме.

Для подтверждения этого заключения *Listeria monocytogenes* выращивали на среде, содержащей триптон (ТВ) и затем воздействовали на них водным раствором коптильного дыма. Показано, что в присутствии

0,2–0,6% жидкого дыма их рост подавляется этим компонентом. Из жидкого коптильного дыма методом ГЖХ было выделено 11 индивидуальных фенольных соединений, из которых только изоэвгенол обладал антилистериальной активностью. Эффект этого соединения проявлялся даже в концентрации 100 мг/кг и особенно усиливался при рН 5,8 по сравнению с рН 8,0. Эти исследования подтвердили антибактериальную активность жидкого дыма, основным действующим началом которого является изоэвгенол – производное имидазола [46].

Из других соединений этой группы эффективными пищевыми консервантами для мяса оказались карбоксилаты и пероксикарбоксилаты жирных кислот. Мясные продукты консервируются при их обработке потоком воды, содержащей эти соединения. Такими соединениями могут быть смеси одной или более карбоновых кислот, состоящих из 18 атомов углерода и одной или более пероксикарбоновых кислот, молекулы которых могут состоять из 12 атомов углерода. Предпочтительно в качестве таких кислот использовать смесь C_2 – C_4 пероксикарбоновой кислоты с C_8 – C_{12} пероксикарбоновой кислотой. Новая антимикробная композиция для мясных продуктов представляет собой смесь одной или более C_2 – C_4 пероксикарбоновой кислоты, C_8 – C_{12} пероксикарбоновых кислот и α -окси- моно- или дикарбоновую кислоту. Например, микробиоцидная смесь может содержать пероксиуксусную кислоту и пероксиоктановую кислоты в количестве 4,75%; а также уксусную кислоту – 25,% и октановую кислоту – 3,5%, а также другие консервирующие компоненты [47].

Показано также, что высоким антибактериальным действием обладает аминокислотный аналог одной из жирных кислот миристил-L-метионин. Изучение антибактериального действие этого соединения на рост *Brochothrix thermosphacta* в продаваемых бульонах, водных экстрактах из мышц свиней, в фарше из мышц свиней и на поверхности мышц свиней при их инкубировании с этой бактериальной культурой и консервантом в течение 9 сут при 4°C, показало, что миристил-L-метионин действует как антибактериальный реагент в концентрациях от 5 до 50 мкг/мл. Это действие уменьшается при использовании миристил-L-метионина в качестве консерванта для цельного мяса или кусков мяса даже при использовании этого производного в количестве 500 мкг/мл. Однако при увеличении концентрации этого соединения до 5 мг/мл в виде его натриевой соли, оно с успехом может использоваться как безопасный пищевой консервант для целого мяса и мясных изделий [48].

Для сохранения свежести различных мясных продуктов: гамбургеров, стейков, котлет, фаршей и других изделий предложено использовать следующие консерванты: эфиры жирных кислот и сорбита, эфиры полиглицерина с ненасыщенными жирными кислотами, эфиры сахарозы и жирных кислот и лизоцим, включенный в эти смеси или

отдельные консерванты для сохранения вкуса и аромата консервируемых продуктов. Так, в качестве консерванта для гамбургеров предложено использовать тристеарат гексаглицерина [49].

Антимикробное действие хитозана и его производных

Хорошо известно, что хитозан является полимером N-ацетил-глюкозамина, выделяемого из различных природных источников [50]. В ряде нижеследующих публикаций будет показана его высокая антимикробная активность одного или в смеси с другими консервантами на мясные и пищевые продукты. Так, в одной из работ, предлагается использовать раствор или суспензию консервантов для пищевых продуктов, содержащую смесь 0,5 – 0,6% хитозана, 6 – 9% ацетата натрия, по 3 – 5% уксусной и адипиновой кислот, 1 – 4% этанола. Мясные или другие продукты, предназначенные для консервирования, окунались в 1 – 5% раствор смеси вышеназванных консервантов, содержащий кроме них 1 – 5% морской или другой соли (содержание NaCl ~97%), 0,1 – 5% витамина С, витамина Е, органической кислоты, глицерина и/или эфира глицерина и жирной кислоты, после чего продукты упаковывались в пакеты и могли храниться в таком виде несколько месяцев при комнатной температуре [51].

В более поздней работе изучен индивидуальный эффект самого хитозана в качестве консерванта для мяса. Проведенные исследования показали, что в водной среде хитозан (0,01%) ингибирует рост некоторых спорообразующих бактерий, таких как *Bac. subtilis*, *E. coli*, *Pseudomonas fragi* и *Staphylococcus aureus*. При более высоких концентрациях (0,1 и 1%) он ингибирует рост мясных стартовых культур *Lactobacillus plantarium*, *Pediococcus pentosaceus* и *Micrococcus varians*. В мясных продуктах в концентрации 0,5 – 1% раствор хитозана во время их выдерживания при 30°C в течение 48 ч или при их хранении при 4°C в течение 10 дней подавлял рост спорообразующих бактерий, уменьшал окисление липидов, ингибировал процессы гниения и в результате происходило улучшение сенсорных характеристик исследуемых продуктов. Хитозан также оказывал хороший эффект на развитие красной окраски мяса во время его хранения [52]. Аналогичное действие оказывал хитозан различной степени полимеризации для консервации нежирной свинины и рыбы. Удовлетворительные результаты были получены с хитозаном, имеющим низкую степень полимеризации. Консервация лучше всего происходила при 6 – 7°C [53].

Тщательные исследования показали, что 1,5% раствор хитозана в 0,7% растворе уксусной кислоты ингибировал рост спорообразующих бактерий в свежем мясе и свежих куриных яйцах при комнатной

температуре. Так, время полужараживания свежего мяса увеличивается до 48 ч для говядины, до 96 ч для свинины и до 12 сут для свежих куриных яиц при использовании вышеназванного раствора при 24 – 32°C [54]. Изучено также влияние комбинации хитозана с карноцином (бактериоцин, продуцируемый *Carnobacterium piscicola*) и сульфита в низких концентрациях на консервирование свежего свиного фарша для сосисок. Показано, что 0,6% хитозан в комбинации с низкой концентрацией сульфита (150 мг/кг) подавляет рост гнилостных микроорганизмов более эффективно, чем высокие концентрации одного сульфита в течение 24 сут при 4°C. Антимикробное действие этой смеси еще более усиливается при замораживании фарша. Карноцин не защищал фарш от гнилостных микроорганизмов, но в охлажденных образцах он уменьшал число *Listeria innocua* в первые пять дней их хранения в охлажденном состоянии. Сульфит разрушался в течение 3-х дней хранения в тех образцах сосисок, где применяли один сульфит, но добавление хитозана увеличивало консервирующее действие смеси. Рекомендовано использовать комбинацию хитозана с сульфитом при хранении охлажденного фарша для колбас и сосисок [55].

Консерванты для мяса, содержащие аминокислоты и полипептиды

Эти виды консервантов стали использоваться сравнительно недавно и еще не получили своего широкого распространения, хотя их консервирующее действие является несомненным.

Пищевые консерванты для мяса и других продуктов, содержащие полилизин и аминокислоты, предложены в одной из ранних работ. В качестве аминокислот были выбраны Гли, Ала, Фен, Мет, Трп, Асп, Глн, Лиз, Гис и их соли. В качестве примера использования приводится консервирование соевого молока, содержащего 100 ppm (мг/кг) полилизина и 500 ppm глицина [56].

В качестве нового пищевого консерванта для самых разнообразных пищевых продуктов предложено использовать диметиловый эфир (диметиллол) ангидрида глицина, который получают реакцией глицина с формальдегидом (НСНО) в водном растворе NaOH. Минимальная ингибирующая концентрация этого соединения против *Pseudomonas aeruginosa* составляла 310 ppm [57].

Мясные салаты и другие продукты, содержащие мясо, консервировались предварительным погружением мяса в раствор или опрыскиванием раствором, содержащим ϵ -полилизин, этанол, пищевую органическую кислоту и/или H_3PO_4 , после чего смешивались с другими ингредиентами. Дополнительно к смеси мог быть добавлен изоцианат, который обеспечивал синергетический эффект при консервировании. Так,

для приготовления мясного салата, ветчину погружали в 1% раствор уксусной кислоты на 30 мин, затем смешивали с вареной картошкой, морковью, майонезом, добавляли полилизин и нагревали в течение 50 мин при 80°C. Полученный продукт мог храниться при 10°C в течение 40 сут, сохраняя при этом все свои вкусовые качества [58].

Свойствам молочного белка, ϵ -полилизина, лизоцима, хитозана и их применению в пищевой промышленности в качестве консервантов посвящен обзор с 26 ссылками, описывающий их свойства, антимикробное действие и использование в качестве пищевых консервантов [59].

Показано, что добавление глицина к мясным блюдам в количестве 3% существенно улучшает устойчивость жиров в мясе, особенно в присутствии таких консервантов как H_2O_2 . Предлагается снизить температуру тепловой стерилизации мясных продуктов за счет добавления к ним 2 – 2,7% глицина [60].

Использование глицина для обеспечения свежести мяса зарекомендовало себя и в последующие годы. Мясо, предназначенное для консервирования, прессуют, чтобы удалить из него кровь, и погружают в консервирующую жидкость при pH 7,5 – 10, содержащую металлическую соль глицина, например глицинат натрия, калия и др., и сам глицин, и выдерживают в этом маринаде в течение 1 – 15 сут при 0 – 5°C. После такой обработки мясо может сохраняться в холодильнике в течение длительного времени [61].

В дальнейшем для этих целей было предложено использовать гидроколлоиды. Для этого используют желатин, животные клеи, коллагены, казеинаты, белки пшеницы и/или дополнительно к ним гидролизаты этих белков. В результате у мясных и рыбных продуктов прекращается соковыделение и их высыхание. Рекомендуются обрабатывать мясо 0,2 – 2,5% раствором гидроколлоидов по отношению к весу мяса [62].

Из других эффективных консервантов, в состав которых входят сложные полипептиды следует прежде всего отметить низин.

В обзоре [63] показано, что низин может быть с успехом использоваться как консервант для мясных и пищевых продуктов без их термической обработки и без увеличения риска бактериального заражения. Он может увеличивать полупериод пригодности пищи и не оказывает никаких токсических или аллергических реакций, ингибирует рост лактобацилл, стрептококков, грамположительных спорообразующих бактерий и другие грамположительные бактерии, ухудшающие качество пищи. Действие низина на спорообразующие бактерии сильнее, чем на вегетативные клетки. Этот пептидный лантибиотик позволяет уменьшить температуру тепловой обработки пищевых продуктов, необходимую для их стерилизации и тем самым улучшить их качество. Низин может также использоваться как дополнительный продукт к нитриту натрия при

консервировании и хранении мяса. В обзоре также широко обсуждается возможность использования низина при производстве мясных продуктов, твердых сыров, молока и консервированных продуктов.

В другом, более позднем обзоре [64] показана эффективность применение низина как источника безопасных и эффективных пищевых консервантов и потенциальных антимикробных пептидов, образующихся на рибосомах. Представлена картина применения низина как модели пищевого консерванта, сложность генетического конструирования аналогов низина за счет их необычного аминокислотного состава, пригодности субтилина, как модели для конструирования низина, генам, участвующим в синтезе низина и субтилина. Приведены данные по расшифровке и синтезу переносчиков генов для образования лантибиотиков в других бактериальных штаммах, переносу генов низина в штаммы *Lactococcus lactis*, перенос генов субтилина в штаммы *Bac. subtilis*, кассетной и мутагенезной системе для конструирования мутантов субтилина, получению мутантов субтилина с улучшенными химическими и антимикробными свойствами, механизму действия субтилина и использованию *Bac. subtilis* как промышленных продуцентов лантибиотиков.

Эффективно также использовать лизоцим как консервант для мясных и пищевых продуктов. Лизоцим стабилен при нагревании в кислых растворах, но быстро инактивируется в щелочных растворах. Сахара, соль, полиолы, некоторые аминокислоты стабилизируют лизоцим. С другой стороны мономеры, димеры, тримеры и поливалентные катионы инактивировали факторы, способствующие проявлению активности лизоцима и его использованию в качестве консерванта для пищевых продуктов. Наибольшее антибактериальное действие лизоцим проявлял по отношению к грамположительным бактериям. Предложено добавлять лизоцим к продуктам детского питания, чтобы они лучше имитировали заменитель женского молока. Широко используется лизоцим и для консервации сыров различных марок [65].

Другие консерванты мяса

Выделение катехина из зеленого чая и использование его в качестве консерванта для пищи хорошо известно. Так, в работе [66] описан метод выделения катехина, антиоксиданта и консерванта для пищи, из зеленого чая путем двукратной экстракции листьев чая кипящей водой, последующей адсорбцией на органическом полимере, например на полиамиде, элюцией его с полимера этанолом и концентрированием путем выпаривания под вакуумом. Катехин свободен от кофеина, и метод его получения не влияет на окружающую среду.

Сравнительно недавно предложено также консервировать мясные и пищевые продукты экстрактом из зеленого чая. Особенно эффективен раствор с экстрактом в виде льда. Этим льдом засыпают пищевые продукты. Пищевыми продуктами могут быть рыба, моллюски, морские продукты, мясо и мясные продукты. В чае, как известно, содержится катехин, который и является, по-видимому, основным действующим началом. Для консервирования может быть также использован раствор, содержащий порошкообразный, пульверизированный чай [67].

В одной из работ предложено также использовать флаваноиды: кварцетин, камемпферол, катехин и таксифолин в качестве антиоксидантов и консервантов для пищевых продуктов и мяса. Все эти соединения совершенно безопасны и способны предотвращать токсичность остатков свободного кислорода (активного кислорода) и перекиси водорода в пищевых продуктах [68].

Описано также консервирующее действие паров аллилизотиоцианата (I). Минимальная ингибирующая концентрация (МИК) I при 37°C на *Bac. subtilis*, *St. aureus*, *E.coli*, *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhimurium* варьировала от 45 до 180 нг/мл. Антибактериальное действие I на грамотрицательные бактерии было ниже, чем на грамположительные. МИК I на *Lactobacillus bavaricus* было выше, а именно 720 нг/мл. Понижение температуры инкубации на 10° понижало МИК на большинство из тестируемых бактерий. Споры и вегетативные клетки *Bac. subtilis* ингибировались I при той же самой концентрации. Пары I были использованы для консервации нарезанной капусты, картофельного салата и нарезанной ветчины. Наиболее эффективным консервантом I оказался для нарезанной ветчины [69].

Глава 4

Сохранение свежести пищевых продуктов сочетанными консервирующими смесями

В ряде монографий, опубликованных в последнее время, достаточно подробно описаны свойства и физиологические действие отдельных консервантов, а также рекомендуемые дозы их применения. К сожалению, данные, приведенные в этих монографиях, относятся, прежде всего, к индивидуальным консервантам, а не к их смесям, которые существенно чаще используются для сохранения свежести пищевых продуктов и увеличения сроков их хранения [3, 70–72].

Физиологическое действие консервантов

Действие консервантов и перспективы их использования для подавления активности различных микроорганизмов приведено в

подробном обзоре [73], в котором рассматриваются различные аспекты гомеостаза микробных клеток и их изменения под воздействием микробных реагентов. Во-первых, обсуждаются современные взгляды о молекулярных участках, на которые действуют пищевые ингредиенты. Во-вторых, обсуждаются функциональные геномы, которые позволяют полностью понять механизм клеточных реакций на беспрецедентных уровнях. Примеры слабой устойчивости к органическим кислотам, стресс под действием природных антимикробных реагентов и ответные реакции на физико-химические факторы позволяют наметить пути открытия «черного ящика», которым являются микроорганизмы. И, наконец, в-третьих, как осуществляются сигнальные реакции на клеточном уровне. Используя в качестве аналогов определенные модельные системы, высказано предположение о механизме действия различных сигнальных систем и от влияния на них субстратного «топлива». Показано так же, как эти новые понимания объясняют действие консервантов в отличие от прежних представлений, основанных на эмпирических данных.

Физико-химические методы консервирования пищевых продуктов

Как отмечалось выше, консервирование пищевых продуктов физико-химическими методами заключается в комбинации различных параметров, таких как изменение активности воды (a_w), изменение значения pH, добавлении одного или нескольких антимикробных реагентов, изменении температуры пастеризации или стерилизации и т.д. Удачный выбор этих параметров может давать синергетический эффект в ингибировании роста микроорганизмов, стабилизации свойств и сохранении качества продуктов [74]. Обобщая данные, приведенные в [74] и более поздних публикациях, можно прийти к выводу, что большинство физико-химических методов консервирования пищевых продуктов основано, прежде всего, на ингибировании роста микроорганизмов теми или иными способами. Традиционными способами сохранения качества пищевых продуктов являются: понижение их температуры хранения или замораживание; понижение активности воды за счет частичного высушивания пищевых продуктов или добавления к ним солей, сахаров или других растворимых веществ; удаление кислорода и/или увеличение количества CO_2 в вакуумной упаковке пищевых продуктов, а также помещение их в модифицированную атмосферу, не содержащую кислорода. Немалое влияние оказывает также подкисление пищевых продуктов за счет добавления к ним кислот или за счет их ферментации; добавление консервантов и разрушение микроструктур, например, за счет их эмульгирования и т.д. По-прежнему, одним из самых эффективных способов является способ консервации при помощи нагревания, которое

инактивируют микроорганизмы. Другим подобным способом является радиационное облучение, но последнее используется в ограниченных объемах [72, 75].

Для того, чтобы избежать термообработки пищи в настоящее время предложено использовать ультравысокое гидростатическое давление и суперкритические количества CO_2 в виде газа, в твердом и жидком состоянии, а также комбинированное применение ультразвуковой обработки и умеренных температур нагревания, создания невысокого давления в вакуумной упаковке («монотермосоникация»), пропускание через продукты электрического разряда высокого напряжения («электропорация»), применение лазерное облучения и некогерентного облучения световыми импульсами [75, 76].

Очевидно, что использование подобной техники в дополнении или в синергетической комбинации с традиционными видами консервирования представляет интерес для существенного улучшения условий, как самого консервирования пищевых продуктов, так и качества этих продуктов, а также и обеспечения гарантий их безопасности в будущем.

К физико-химическому консервированию пищевых продуктов относятся также и различные виды упаковок. Однако, учитывая тот факт, что этой проблеме посвящены специальные главы в монографиях [3, 4] мы позволим себе не останавливаться в данной публикации на подробном освещении этой темы.

Смеси неорганических консервантов

Неорганические консерванты и, прежде всего поваренная соль или производные серы, используются для консервации пищевых продуктов с давних времен. Однако в последнее время предложены новые рецептуры консервирующих смесей, обладающие более эффективным действием на многие пищевые продукты и обеспечивающие их лучшую сохранность и вкусовые качества.

С целью консервирования молоко гомогенизируют с такими сульфитами, как NaHSO_3 и $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_5$, помещают в пакеты и стерилизуют нагреванием. Молоко, полученное таким образом, может храниться в открытом виде при комнатной температуре в течение нескольких дней, не изменяясь при этом ни во вкусе, ни в цвете, ни в запахе [77].

Не менее эффективным консервантом оказался и комплекс иода, перекиси водорода и крахмала, использующийся как микробиоцид для жидких или твердых пищевых продуктов. В данной рецептуре крахмал используется как носитель и связующее, а самими консервантами являются иод и перекись водорода, обладающие, как известно, высокими бактерицидными свойствами и действующие в данном случае как синергисты друг к другу. Избыток иода удаляют при помощи

восстанавливающего реагента или адсорбента. Жидкую пищу стерилизуют пропусканием ее через слой с частицами вышеупомянутого носителя [78].

Представляет несомненный интерес использование ионов благородных металлов и газов для консервации пищевых продуктов. В качестве ионов благородных металлов используются ионы золота, серебра, платины, а также газов в ионной и молекулярной формах. В качестве газов могут быть использованы кислород, азот и аргон. Так, добавление ионов серебра в тесто, масло, яйца, сахар и др. продукты приводило к длительной защите этих продуктов от плесневых грибов различного вида [79].

Раствор, полученный пропусканием горячего газа, образующегося при нагревании древесного, животного или растительного угля при 850 – 1200°C и содержащий CO, водород, азот, CO₂, а также другие соединения, через холодную воду может быть с успехом использован для консервации мяса, которое после обработки его таким консервантом, не имеет неприятного вкуса и запаха, и сохраняется в течение длительного времени [80].

В качестве консерванта для пищевых продуктов и напитков предлагается также использовать производные кальция, полученные из яичной скорлупы, раковин, съедобных моллюсков, костей животных, рыб, а также кораллов. Эти производные растворяют в винном уксусе или спирте в количестве от 3 до 4 г на каждые 100 – 200 мл раствора. Консервирующий раствор имеет pH 4,5 – 5,5 [81].

Для консервации мяса, рыбы и овощей может быть использована смесь веществ, которая содержит в своем составе ClO₂, растворенный в водном растворе, хлориды щелочных или щелочноземельных металлов и регулятор pH. Особенно эффективна смесь в виде геля, состоящего из LiClO₂, ClO₂, NaClO₃, лимонной кислоты и водорастворимого нетоксичного полимера [82].

В качестве консервантов мясных, рыбных и пищевых продуктов предложено также использовать MgO или Mg(OH)₂, которые ингибируют окисление жиров и расщепление белков под действием автолитических процессов. Кроме того, эти консерванты стабилизируют также значение pH в пищевых продуктах и предотвращают их закисление, происходящие за счет гидролиза белков. Например, такой, легко подвергающейся деструкции продукт, как кровь цыплят, был стабилизирован на несколько часов при добавлении к нему 2500 мг/кг MgO [83]. Еще один сравнительно новый пищевой консервант может содержать смесь (моль/л воды): производных кремниевой кислоты 2,5 – 2,7; производные карбоновой кислоты 2,2 – 5,1, KCl 0,25 – 0,75; сахара 0,15 – 0,81. В качестве производных кремниевой кислоты обычно используют соли натрия или калия, SiO₂. В качестве солей карбоновой кислоты могут быть использованы соли K₂CO₃, Na₂CO₃ и NaHCO₃ [84].

Насыщенные водные растворы гидроксида кальция, содержащего 1,26 г $\text{Ca}(\text{OH})_2$ в 1 л воды, или жидкое стекло (раствор смеси гидросиликатов натрия) также могут использоваться для сохранения свежести куриных яиц. Механизм действия этой синергетической смеси консервантов заключается в том, что на скорлупе яиц гидроксид кальция превращается в карбонат кальция. Поры яиц (стерильных внутри) закрываются, и возбудители порчи не могут проникнуть через них. Причина консервирующего действия жидкого стекла та же — силикаты натрия на яичной скорлупе превращаются в нерастворимую кремниевую кислоту, которая и забивает поры яиц [3].

Предложен метод определения ежедневных доз консервантов в пищевых продуктах, который включает в себя *per capita* (определение на душу населения), двойные дозы, ежедневные потребности, частоту использования пищевых продуктов, общие рационы и методы биомаркеров. Каждый показатель включает в себя множество факторов, которые являются одной из причин наблюдающихся ошибок. Предлагаемый метод позволяет определить ежедневную допустимую дозу для консервантов, особенно таких, как нитриты и нитраты [85].

Сочетанное действие органических кислот, их солей, антиоксидантов и моносахаров

Один из механизмов сочетанного действия органических кислот или их солей заключается в понижении значения pH пищевых продуктов, что губительно сказывается на многих видах патогенных микроорганизмов.

Во многих случаях органические кислоты плохо растворимы в воде и в этом случае используют их соли со щелочными или щелочноземельными металлами, которые также обладают консервирующим действием.

Основной механизм действия антиоксидантов заключается в предотвращении ими окислительных процессов жиров и других лабильных компонентов пищевых продуктов, а также в уменьшении или полном устранении свободных радикалов, образующихся в процессе окисления [71, 72].

Эффективность консервирующего действия различных органических кислот и их солей, функции этих консервантов и механизм их действия подробно обсуждены в [86]. Нельзя исключить из этого списка и такие, давно известные природные пищевые консерванты, как сахар, мед, соль, спирт, глицерин и некоторые природные антиоксиданты, о которых речь будет идти далее [87]. Для усиления действия консервирующей смеси во многих случаях органические консерванты используются совместно с неорганическими соединениями, например антиоксидантами нитритом натрия или сульфитами [88].

Высказано предположение, что использование таких консервантов как бензойная кислота и ее производные, нитриты, сульфиты и аскорбиновая кислота в качестве антимикробных реагентов, и антиоксидантов, например, бутилоксианизола, бутилокситолуола, увеличивают сроки хранения пищевых продуктов. Кроме того, они обладают защитным антибактериальным действием и препятствуют образованию свободных радикалов, которые, как известно, обычно связаны с возникновением рака, сердечно-сосудистых заболеваний и пр. Однако, несмотря на то, что большинство этих соединений считается безвредным, тем не менее, нельзя исключать их аллергенного действия на некоторых людей, особенно бензойной кислоты и сульфитов. Нельзя также исключать возможности образования канцерогенов при использовании нитритов, бутилокситолуола или бутилоксианизола. Высказано предположение об их действии в высоких дозах на ДНК, о роли цитохрома С в реализации механизма их токсического действия [89]. Эти же проблемы обсуждаются и в более поздних публикациях [90].

Изучение влияния метабисульфита калия, бензойной кислоты и бензоата натрия в концентрациях 0,02; 0,06 и 0,1% на образования афлотоксинов грибной культурой *Aspergillus parasitidis* 102506 показало, что метабисульфит калия подавляет образование афлотоксинов во всех концентрациях, тогда как бензойная кислота в концентрациях 0,06 и 0,1%, а бензоат натрия только в концентрации 0,1% [91].

Одним из широко распространенных консервантов, является метиловый эфир *n*-оксibenзойной кислоты, который обладает синергетическим действием при его взаимодействии с другими консервантам. Он является стабильным не летучим компонентом, который используется как пищевой консервант для пищевых продуктов, лекарственных соединений и косметики в течение 50 лет. Метилпарабен легко и полностью всасывается через кожные покровы и из желудочно-кишечного тракта. Он легко гидролизуется до бензойной кислоты, образует конъюгаты, которые потом выделяются вместе с мочой.

Нет никаких данных по накоплению этих соединений. Определение острой токсичности метилпарабена показало, что этот консервант не обладает практически никакой токсичностью при оральном и парентеральном пути введения. Он не оказывает никакого действия даже в дозе 1050 мг/кг. Метилпарабен не обладает карциногенным действием, а также тератогенным, эмбриотоксичным или утеротропным действием.

Считается, что механизм цитотоксического действия парабенов связан с митохондриальным нарушением проводимости мембран. Причем это действие повышается в присутствии других органических кислот [92].

Предложена следующая смесь консервантов для икры рыб состоящая из молочной кислотой и ее солей. Использовались соли молочной кислоты, содержащие следующие катионы: K^+ , Na^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} и Mg^{2+} [93].

Показано также, что большинство органических кислот подавляет рост *Listeria monocytogenes* и может с успехом использоваться в качестве пищевых консервантов. Эффект особенно усиливается при использовании нескольких органических кислот, например уксусной и адипиновой, или уксусной и себадиновой [94]. Описан способ получения нового консерванта для пищевых продуктов, представляющий собой раствор 0,8% лактата натрия и 0,33% уксуснокислого кальция. В качестве уксуса был использован винный уксус, а в качестве источника кальция – кальций, полученный из природных источников (скорлупа яиц, порошок ракообразных моллюсков и пр.) [95].

Предложен консервант для продуктов, содержащих большие количества белка, например, омлетов, гамбургеров и пр. Консервант содержит органическую кислоту или ее соли, а также порошкообразный жир. Например, консервант для яичного рулета содержит 0,1% лимонной кислоты и 0,1% порошкообразного жира или масла [96].

Консервирующая смесь, растворимая в воде, может включать в себя самые разнообразные органические кислоты, общей формулой C_{1-8} , и их соли, а также ингибитор окисления, представляющий собой эфиры C_{8-22} жирных кислот и триметиламиноуксусной кислоты и/или C_{8-22} алкилполигликозиды. Производные триметиламиноуксусной кислоты могут быть использованы в количестве 0,001 – 0,1% от веса основного консерванта; алкилполигликозиды могут быть взяты в количестве 0,1 – 0,5% от массы основного консерванта. Например, консервантом может быть муравьиная кислота, содержащая 0,001 – 0,1% жирного эфира триметиламиноуксусной кислоты и 0,1 – 0,5% полигликозидов [97].

Прогретая молочная или гликолевая кислота и особенно их смесь приобретает более высокое антимикробное действие и может быть использована в виде водного раствора для защиты мясных и других продуктов против микроорганизмов различного вида. Молекулярная масса продуктов, полученных в результате подобного прогревания, равна 700 и представляет собой смесь отдельных молекул кислоты с ее эфирами. Наиболее предпочтительно, чтобы эта смесь содержала 50 – 75% эфиров кислот, образовавшихся при нагревании. Описан метод получения подобной смеси [98].

На основании результатов комплексных научных исследований и производственных испытаний предложен также новый способ хранения говяжьих и свиных черев без использования холодильных установок с применением в качестве консерванта смеси поваренной соли с сорбиновой кислотой [99].

Смесь из сорбата калия (50 – 85%), диметилфумарата (10 – 40%) и монометилфумарата (5 – 10%) является высокоэффективным пищевым консервантом с широким спектром действия [100].

Консервант для пищи может содержать не только ацетат натрия и уксусную кислоту, но также и моноэфиры жирной кислоты и диглицерина. Например, для консервирования вареного риса предложен 0,3% раствор консерванта следующего состава (%): порошкообразного моностеарата диглицерина – 3, винного уксуса, содержащего 14% уксусной кислоты, – 15 и ацетат натрия 82%. Рис после воздействия такого консерванта не приобретает неприятный запах и устойчив к действию бактерий в течение месяца [12].

Предложны консерванты, которые защищают продукты, содержащие крахмал, например изделия из риса, паровые котлеты и пр. от микроорганизмов. Консерванты состоят из смеси солей фосфорной кислоты, органической кислоты или и солей и эфиров глицерина и жирных кислот. Например, смесь консервантов, содержащих 2% лактата натрия, 1,5% пирогосфата натрия, 0,1% монокаприлата глицерина и 96,4% декстрана, используют для длительного подавления роста бактерий при 4°C [101].

Предложены консерванты для пищевых продуктов с широким спектром антимикробной активности, которые получают смешиванием продуктов окисления галактозы глюкозооксидазой, например, галактуроновой кислоты, галактаровой кислоты и пр., вместе с протамином и глицином.

Пищевые продукты при добавлении к ним вышеназванной консервирующей смеси сохраняют свои вкусовые качества и свежесть в течение 54 сут в процессе их хранения при 15°C [102].

Аналогичным действием обладают и продукты ферментативного окисления фруктозы и глюкозы тем же ферментом [103, 104]

Получение углеводных кислот из ксилозы или ликсозы окислением редуцирующего сахара глюкозооксидазой описано в работе [105]. Обычно эти кислоты используются в смеси с другими консервантами: органической кислотой, аминокислотами, низшими эфирами жирных кислот, эфиров сахаров, витамином В₁, эфирами, полимерными фосфатами, этанолом, основными белками и пептидами, такими как протамин, экстрактом из лакрицы, экстрактом из красного перца, экстрактом из хмеля, хитозаном и/или фитиновой кислотой. Добавление хотя бы одного из перечисленных компонентов к водному раствору углеводной кислоты приводит к антибактерицидному синергетическому действию такой смеси без изменения вкуса и запаха пищи.

Подобное консервирующее действие против грамположительных бактерий было отмечено и у 1,5-D-оксифруктозы, в том случае, когда она применялась в виде раствора, порошка или гранул [106].

Антибактериальное действие аминокислот, полипептидов и их смесей с другими консервантами

Аминокислоты и их производные в определенной степени можно отнести к природным консервантам, которые в последнее время приобретают все большее значение в пищевой химии. Правда, если быть строго последовательным, то многие органические кислоты, о которых говорилось ранее, также являются природными консервантами и многие из них были впервые выделены из природных источников. В качестве таких консервантов для пищевых продуктов предложено использовать металлические соли аминокислот. Такими металлами могут быть: бериллий, ванадий, марганец, германий, индий, олово, сурьма, барий, вольфрам, висмут и церий. В качестве аминокислот лучше всего использовать глицин и аланин. Для наиболее благоприятного консервирования эти соли смешивают с этанолом, антиоксидантом и/или уксусной кислотой. Металлические соли аминокислот не токсичны и действуют в течение длительного времени [107].

Эффективный пищевой консервант может содержать в своем составе глицин и глюконат натрия вместе с карбоновыми кислотами или их солями, этанолом, эфирами сахаразы и жирных кислот, эфирами витамина В₁, ϵ -полилизин, протамином, лизоцимом, хитозаном и/или полифосфорными кислотами. Так, сладкий крем, содержащий глюконат натрия в количестве 0,3%; глицин – 0,1% и ацетат натрия – 0,3% обладает хорошим вкусом и не подвергается никаким бактериальным контаминациям в течение 7 сут хранения при 20°C [108].

Предложена синергетическая смесь для консервирования пищевых продуктов, которая состоит из глицина, ϵ -полилизина или его соли, $\geq C_{8-12}$ моноэфиров глицерина и жирной кислоты. Консервант ингибирует рост микроорганизмов, дрожжей и грибковых культур и не оказывает заметного влияния на вкус пищевых продуктов [109]. Аналогичным действием обладают, как уже указывалось выше, пищевые консерванты на основе полилизина или его солей и нейтральных или основных аминокислот, в качестве которых выбраны Гли, Ала, Фен, Мет, Трп, Асп, Глн, Лиз, Гис и их соли. В качестве примера использования таких консервантов приводится пример консервирования соевого молока, содержащего 100 ppm (мг/кг) полилизина и 500 ppm глицина [110].

Синергетическое действие консервантов показано на примере смеси для пищи, которая содержала или его соли и уксус и/или его соли. Рис, сваренный в воде, которая содержала ϵ -полилизин, уксус и ацетат натрия, засеивался *Bac. subtilis* и выдерживался при 30°C. Консервирующая смесь показывала выраженную синергетическую активность [111]. Описан также пищевой консервант, состоящий из смеси ϵ -полилизина, протамин, эфира

глицерина с жирной кислотой и/или эфиром полиглицерина и жирной кислоты [112].

Консервирующее действие ϵ -полилизина вместе с молочными белками (протаминами), и другими подобными соединениями, достаточно подробно описано в работе [113]. Пищевой консервант, содержащий полилизин и желатин, обеспечивал сохранения аромата и текстуры пищи. Пища обрабатывается консервирующей смесью и затем охлаждается. Так, спагетти варились в воде, содержащей консервирующую смесь, охлаждались до 4°C в течение 30 мин и не обладали никаким микробным действием при 30°C в течение 5 сут [114].

Консервант для пищи состоял из ϵ -полилизина, солей, например, ацетата натрия и ≥ 1 компонента, выбранного из класса органических кислот: адипиновой, лимонной, малеиновой, фумаровой, малоновой и др. Например, консервант для гамбургеров имеет состав: 50%-ного порошкообразного ϵ -полилизина – 4 ч., ацетата натрия – 5 ч., смесь лимонной и фумаровой кислот, взятых в соотношении 2 : 1 – 30 ч., декстрин – 6 ч. Эта консервирующая смесь обеспечивает стабильность гамбургеров в течение 96 ч при 30°C [115].

Эмульсию ϵ -полилизина с декстраном как консервант пищевых продуктов пролонгированного действия получали путем связывания ϵ -полилизина с декстраном за счет реакции Майяра. Ковалентное присоединение к декстрану было подтверждено гель-фильтрацией конъюгата на сефадексе G-150 и электрофорезом в полиакриламидном геле (ПААГ) вместе с додецилсульфатом натрия (SDS). Полученный конъюгат декстрана с ϵ -полилизином обладал более высокой эмульсифицирующей способностью по сравнению с обычными эмульгаторами. Эмульгирующая активность конъюгата, не исчезала даже в присутствии 1 M NaCl и при pH выше 7,0. Этот конъюгат оставался высокоактивным антимикробным реагентом пролонгированного действия, который предложено использовать в качестве функциональной пищевой добавки, эмульгатора и антибактериального реагента к пищевым и мясным продуктам [116].

Консерванты, содержащие в своем составе белки и ферменты

К этому виду консервантов обычно относят белки молока, например, протамин, и один из ферментов, обладающим высоким бактерицидным действием – лизоцим, выделенный из белков куриных яиц или других источников. Они могут использоваться в виде консервантов в индивидуальном виде, но, как правило, их эффективность усиливается при сочетании их с другими консервирующими соединениями. Так, применение лизоцима как консерванта для пищи описано в обзоре [117]. Указаны факторы, влияющие на активность лизоцима (температура,

химикаты и комплексы). Показана эффективность его использования как пищевого консерванта. Лизоцим обычно стабилен при нагревании в кислых растворах, но быстро инактивируется в щелочных растворах. Сахара, соль, полиолы, некоторые аминокислоты стабилизировали лизоцим и тем самым увеличивали его активность. Наибольшее антибактериальное действие лизоцим проявлял по отношению к грамположительным бактериям. Лизоцим широко используется в пищевой промышленности в качестве консерванта свежих фруктов, овощей, моллюсков, мяса и сакэ. Его также добавляют к продуктам детского питания, чтобы они лучше имитировали заменитель женского молока. Широко используется лизоцим и для консервации сыров различных марок.

Смесь лизоцима и хелатов, способна действовать как эффективный консервант против анаэробных бактерий, вызывающих ботулизм. В качестве хелатных реагентов предлагается использовать ЭДТА или этилендиамин [118].

Эффективным консервантом оказалась также смесь пищевых консервантов, содержащих лизоцим, эфиры глицерина и жирных кислот, ϵ -полилизин, органические кислоты или их соли и неорганические кислоты и/или их солей. В качестве эфиров кислот могут быть использованы эфиры полиглицерина и жирных кислот, например каприловой, каприновой, лауриловой, миристиновой и др. Консервант рекомендуется использовать для предотвращения порчи, как мяса, так и сладких кремов [119].

Запатентован консервант для пищевых продуктов, например таких, как соевое молоко или творог. Консервант состоит из лизоцима, эфира жирной кислоты и полиглицерина, ≥ 1 части вещества, выбранного из группы, содержащий глицин, органическую кислоту и/или ее соль и неорганическую кислоту и/или ее соль. Например, консервант может состоять из диглицерин-монокаприлата – 10%, лизоцима – 1,5%, глицина – 40%, динатриевой соли дигидроксипирофосфата – 20% и декстрина – 28,5% [120].

В состав другого консерванта входили также лизоцим и карбоновые кислоты или их эфиры. Например, пищевой консервант, состоит из лизоцима, глицина, моноглицерида каприловой кислоты и/или моноглицерида каприновой кислоты, а также ацетата натрия [121].

Запатентован также метод ингибирования роста прокариотов на пищевых продуктах различного происхождения за счет их предварительной обработки синергетической смесью лизоцима и лантибиотика – лантионина [122].

Процесс экстракции α_{s2} -казобиотиков (природных пептидных антибиотиков казеин- α_{s2} -165-203 и казеин- α_{s2} -166-203) из коровьего молока описан в работе [123]. Процесс заключается в преципитации, концентрировании на катионообменнике и очистке при помощи

высокоэффективной жидкостной хроматографии с обращенной фазой. Описан также химический синтез этих пептидов.

Описана система компонентов, основанная на белковых соединениях, обладающая бактерицидными, бактериостатическими, фунгицидными и фунгистатическими свойствами, которая может использоваться в качестве детергентов и также в качестве консервантов для пищи, напитков, пищевых ингредиентов и композиций ферментов. Подобные компоненты состоят из пептидов или белков, способных убивать микробные клетки (например протамина или протамин сульфата) в комбинации с ферментами, расщепляющими клеточные стенки бактерий, или оксидоредуктазами, например эндогликозидазами типа II, лизоцимом, хитиназами, а также системой пероксидазных ферментов (ЕС 1.11.1.7) или ферментом лакказой (ЕС 1.10.3.2) [124].

Бактериоцины и лантибиотики – новые пищевые консерванты, продуцируемые молочнокислыми и другими подобными бактериями

Среди подобных консервантов сравнительно давно известны циклические полипептиды низин и натамицин, обладающие антибактериальными свойствами. Например, смесь натамицина с другими консервантами используется для сохранения многих пищевых продуктов, уменьшая тем самым количество этих консервантов в пище. Так, для консервации салатов предложено использовать смесь натамицина 200 ppm, сорбата калия 300 ppm и бензоата натрия 100 ppm [125]. Как уже отмечалось ранее, в обзоре [63] показано, что низин может быть с успехом использоваться как консервант для мясных и пищевых продуктов без их термической обработки и без увеличения риска бактериального заражения. Он может увеличивать полупериод пригодности пищи и не оказывает никаких токсических или аллергических реакций, ингибирует рост лактобацилл, стрептококков, грамположительных спорообразующих бактерий и других грамположительных бактерий, ухудшающих качество пищи.

Действие низина на спорообразующие бактерии сильнее, чем на вегетативные клетки. Этот пептидный антибиотик позволяет уменьшить температуру тепловой обработки пищевых продуктов, необходимую для их стерилизации и тем самым улучшить их качество. Низин может также использоваться как дополнительный продукт к нитриту натрия при консервировании и хранении мяса. В обзоре широко обсуждается возможность использования низина при производстве мясных продуктов, твердых сыров, молока и консервированных продуктов, а также усиление его действия при использовании в сочетании с другими консервантами.

Этому же эффекту низина посвящен и другой, уже упоминавшийся обзор [64].

Однако в последние 10 – 15 лет были обнаружены другие метаболиты, продуцируемые молочнокислыми бактериями рода *Lactococcus*, *Carnobacterium*, *Leuconostoc* и др., которые также обладали бактерицидным действием и получили общее название бактериоцинов. [30]. В дальнейшем оказалось, что этот класс соединений практически безвреден и может быть широко использован в качестве пищевых консервантов [126].

В последнее десятилетие были идентифицированы и охарактеризованы многие антимикробные пептиды, получившие название бактериоцины или лантибиотики, продуцируемые на рибосомах молочнокислых бактерий. В результате проведенных исследований были созданы биологические и биохимические основы биосинтеза, процессинга и секреции бактериоцинов, а также механизма иммунитета клеток и их структурно-функциональным взаимосвязям. Было также обнаружено, что бактериоцины могут быть эффективными и безвредными пищевыми консервантами. Из общих классов бактериоцинов особое значение в пищевой промышленности получили бактериоцины класса IIa, продуцируемых лактобациллами, которые можно назвать основной группой бактериоцинов не только за счет их многочисленности, но и за счет их высокой биологической активности и широкому применению.

Этому классу бактериоцинов посвящены два обширных обзора, включающих в себя более 140 литературных источников [127, 128].

Запатентован пищевой консервант, содержащий синергетическую смесь бактериоцина, продуцируемого *Propionibacterium* и ≥ 1 компонента, выбранного из группы карбоновых кислот, аминокислот, пептидов, незаменимых жирных кислот и спиртов. Например, смесь 0,3% бактериоцина и 0,5% ацетата натрия были с успехом использованы для продолжительного консервирования гамбургеров [129].

Многочисленные примеры использования бактериоцинов в качестве пищевых консервантов приведены в обзоре [130]. Обзор включает в себя: получение лантибиотиков молочнокислыми бактериями, получение бактериоцинов молочнокислыми бактериями II класса, факторы, усиливающие действие бактериоцинов в пищевой промышленности, новые стратегии в консервации пищевых продуктов и перспективы использования бактериоцинов как пищевых консервантов.

В связи со всем вышеизложенным предложено, вместо традиционных консервантов, таких как нитраты и пропионаты использовать природные продукты, такие как бактериоцины, которые предотвращают развитие патогенных микроорганизмов типа *Listeria monocytogenes* [131].

Выяснена также взаимосвязь между структурой и активностью антибиотиков. Установлено, что антибиотики являются группой синтезируемых на рибосомах, пост-трансляционно-модифицированных пептидов, содержащих необычные аминокислоты, такие как дегидратированные и лантиониновые остатки. Эта группа бактериоцинов привлекает особое внимание в последние годы за счет того успеха, который присущ таким антибиотикам, как низин, в качестве пищевых консервантов.

В настоящее время идентифицированы многочисленные группы антибиотиков, которые отнесены к А и В-типам. К настоящему времени многие из этих антибиотиков хорошо изучены и определены их структурно-функциональные взаимосвязи [132].

Описана также бактерицидная активность педиококков, бактерий рода *Pediosoccus*, токсичность консерванта педиоцина АсН, выделенного из продуктов биосинтеза этих бактерий, вид действия педиоцина АсН, генетические закономерности *Pediosoccus acidilactice*, антибактериальная эффективность педиоцина АсН и его применение для консервации пищи, мяса и др. продуктов [133].

Запатентован и пищевой консервант для мясной продукции, состоящий из смеси рейтерина (I), полученного культивированием *Lactobacillus reuteri* и спирта. Так, варено-копченые колбасы погружались в водный раствор, содержащий I в количестве 1%, этанол – 2% и пропиленгликоль – 2% на 2 мин и высушивался.

Эффективность использования смеси подтверждалась тем фактом, что колбасы, обработанные смесью рейтерина и спиртов, могли быть выдержаны в течение 6 дней при 25°C без контаминации, тогда как время действия одного рейтерина составляло 3 суток. Описан также способ получения рейтерина [134].

Активная композиция для консервирования пищи на его основе, содержала рейтерин, продуцируемый *Lactobacillus reuteri*, протамин и нейтральный микробиоцидный консервант, например экстракт из перца, пептиды, белки и сахара. Консервант безопасен при применении, эффективен в течение длительного периода времени и не изменяет качества пищи [135].

Потенциал бактериоцин-продуцирующих молочно-кислых бактерий (МКБ) с целью их использования для улучшения безопасности и качества пищи подробно обсуждается в работе [136]. Так, МКБ применялись для ферментации различных ежедневно потребляемых продуктов. Консервирующая активность МКБ для пищевых продуктов осуществлялась за счет биосинтеза ими метаболитов, содержащих органические кислоты и бактериоцины.

Бактериоцины обычно проявляют свою антимикробную активность за счет нарушения метаболизма клеток или структуры мембран

микроорганизмов, приводящее к ингибированию биосинтеза клеточных стенок, что в конечном случае может привести к их гибели. Интенсивно изучается использование бактериоцинов как консервантов пищевых продуктов.

В настоящее время показана их эффективность в контроле и уничтожении патогенных микроорганизмов и спор. Однако их внедрение в пищевую промышленность тесно связано с развитием их эффективного производства.

Описаны различные роды и семейства МКБ, которые могут быть использованы в качестве биоконсервантов, а также классификационная система для бактериоцинов. Имеются также проблемы с развитием бактериоцин-продуцирующих культур для некоторых пищевых продуктов и описаны методы, стимулирующие развитие этих культур [30].

Консерванты, содержащие олиго- и полисахариды

К этой группе консервантов относится, прежде всего, уже упоминавшийся выше хитозан – природный продукт неполного кислотного или ферментативного гидролиза хитина, полисахарида, обнаруженного в наружном скелете моллюсков, таких как креветки или крабы. Он представляет собой полимер N-ацетилглюкозамина с широким или узким молекулярно-массовым распределением и высокой или низкой молекулярной массой в зависимости от условий гидролиза хитина.

При исследовании свойств хитозана было обнаружено, что он является природным ингибитором образования жира и может с успехом использоваться в качестве пищевых волокон, адсорбирующих и удаляющих жир из организма человека. Однако в дальнейшем было открыто и его высокое бактерицидное действие, и этот природный полимер стал использоваться также и в качестве пищевого консерванта, особенно в сочетании с другими консервирующими соединениями [137]

Так, было показано, раствор или суспензия смеси консервантов, содержащая хитозан, является эффективным консервантом для многих пищевых продуктов [138].

Жидкая композиция для консервации пищевых продуктов готовилась из хитозана, лаурилсульфата, тиамин, молочной кислоты, ацетата натрия и этанола. Вначале в растворе молочной кислоты растворяли хитозан, а затем в приготовленном растворе – все остальные компоненты. Полученный консервирующий раствор стабилен при низкой температуре и транспортабелен [139].

Изучено также влияние комбинации хитозана вместе с карноцином (бактериоцин, продуцируемый *Carnobacterium piscicola*) и низких концентраций сульфита на консервирование свежего свиного фарша для сосисок. Показано, что 0,6% хитозан в комбинации с низкой

концентрацией сульфита (150 мг/кг) подавляет рост гнилостных микроорганизмов более эффективно, чем высокие концентрации одного сульфита в течение 24 сут при 4°C. Антимикробное действие этой смеси еще более усиливается при замораживании фарша. Карноцин не защищал фарш от гнилостных микроорганизмов, но в охлажденных образцах он уменьшал число *Listeria innocua* в первые пять дней их хранения в охлажденном состоянии. Сульфит разрушался в течение 3-х дней хранения в тех образцах сосисок, где применяли один сульфит, но добавление хитозана увеличивало консервирующее действие смеси. В связи с этим рекомендовано использовать комбинацию хитозана с сульфитом при хранении охлажденного фарша для колбас и сосисок [140].

Представляет несомненный интерес также консервант, состоящий из смеси другого природного полисахарида – альгиновой кислоты и трегалозы. В состав консерванта для пищевых продуктов, фруктов, овощей и пр. вводят 1 – 5% альгиновой кислоты и 95 – 99% трегалозы. Консервант безопасен и имеет низкую стоимость [141].

Запатентован комплекс циклодекстрина с феруловой кислотой в качестве пищевого консерванта пролонгированного действия. Для поддержания pH в интервале 3.0 – 10.0 к комплексу может быть добавлен соответствующий буфер [142].

Смеси консервантов, содержащих многоатомные спирты, жиры, жирные кислоты и их производные

В последнее десятилетие было обнаружено, что сочетанное действие эфиров многоатомных спиртов и жирных кислот обеспечивает консервирующее действие для отдельных видов пищевых продуктов.

Так, например, запатентован пищевой консервант, состоящий из моноглицерида каприловой кислоты и/или моноглицерида каприновой кислоты 0,5 – 10%, глицина 25 – 30% и/или щелочной соли (NaHCO_3 или ацетат натрия) 1 – 15% [143].

Предложено также использовать в качестве консервантов сочетанную смесь с синергетическим действием, которая состоит из C_{2-6} -полиолов (глицерина, пропиленгликоля, бутиленгликоля или сорбита) и моно C_{3-9} -алкил- или алкиниловых эфиров глицерина, таких как 3-[(2-этилгексил)окси]-1,2-пропандиол [144].

Консерванты для яичных продуктов, таких как яичница или омлет, содержит 1 – 20% глицеридного масла, смешанного с 0,1 – 1% фосфолипидов и оптимально содержащего также полимерный ксантан. Яичные продукты могут храниться с этим консервантом в течение долгого времени при низкой температуре. Яичные продукты после консервирования и хранения при низкой температуре вынимают из

холодильника, подогревают и используют по назначению. Все эти продукты сохраняет свой вкус, первоначальную окраску и текстуру [145].

Предложен водорастворимый консервант для пищевых продуктов, состоящий из смеси лаурилсульфата, тиамин и циклодекстрана, растворимого в воде, полученного из мальтозы, обеспечивающего высокую стабильность консервирующего раствора [146].

Изучение влияния растительных масел в качестве природных консервантов показало, что их действие достаточно эффективно по отношению к ряду микроорганизмов [147].

Показано также, что высокое содержание жиров в пищевых продуктах (около 20%) снижают антиботулиновый эффект низина и свободных жирных кислот: каприловой, каприновой, лауриновой, миристиновой, олеиновой и линолевой. Подобное же действие наблюдалось и для сорбата натрия, сорбиновой кислоты, монолауриата, эмульсификатора полифосфата и ЭДТА-лизоцима [148].

Смеси консервантов, полученных экстракцией из растений

Консервирующее действие на пищевые продукты экстрактов из отдельных видов растений известно с глубокой древности. Однако, в последнее время, получение подобных экстрактов и идентификация в них действующего начала привело к созданию безвредных природных консервантов с высокой эффективностью.

Например, получены консерванты, состоящие из экстрактов семян лимона, антимикробного гидролизата пектина и других веществ. Вышеназванные консерванты для пищи, содержат глицериновый экстракт из семян лимона или грейпфрута с/или без этанола, алкилсульфат витамина В₁, экстракт специй, глицин, гидролизат пектина, гидролизат желатина, водный экстракт моркови, протамин, лизоцим, ϵ -полилизин и/или гидролизат крахмала. Консервант вводился в гамбургеры, которые нагревали при 80°C в течение 30 мин, выдерживали при комнатной температуре в течение 5 сут и затем оставляли в холодильнике на 30 сут. Вкус и аромат продуктов оставался неизменным после указанного времени [149].

Экстракцией из папайи, были выделены консерванты, названные цекропинами, которые обладали хорошим ингибирующим действием на большинство грамположительных и грамотрицательных бактерий. Антибактериальная активность была максимальна при pH 3,0 – 6,0 и стабильна в интервале температур 20 – 100°C. Показано, что выделенная смесь цекропинов не токсична и ее предложено использовать в качестве пищевых консервантов [150].

Запатентован также синергетический эффект смеси флаваноидов (экстрактов из хурмы) с токоферолом и галлиевой кислотой в качестве эффективного консерванта для рыбы [151].

Высокоэффективным антимикробным действием обладали также экстракты из хрена в комбинации с другими консервантами, выбранными из группы сорбиновой, бензойной кислот или их солей, а также карбоновых кислот таких, как уксусная, фумаровая, адипиновая или их соли, аминокислоты, такие как глицин, цистеин, эфиры жирных кислот, эфиры сахарозы, эфиры витамина В₁, полифосфаты, этанол, полилизин, протамин, лизоцим, экстракты лакрицы, перца, продукты расщепления пектина, экстракт хитозана, фитиновая кислота и глюкозо- δ -лактон [152].

Показано, что гликозиды, получаемые экстракцией из семян кунжута (I) путем пульверизации семян, обработкой неполярными растворителями для удаления жира и экстракции водой и/или растворителями обладают высоким консервирующим действием. Гликозиды, полученные после очистки экстракта, были идентифицированы как 2'-О- β -глюкопиранозид и 2-О- β -глюкопиранозил (1 \rightarrow 2) β -D-глюкопиранозид, которые обладали высокой антиоксидантной и антимикробной активностью, были безопасны и могли использоваться как пищевые консерванты [153].

Экстракцией из зеленого чая был получен консервант для пищевых продуктов, состоящий из полифенолов и ароматических спиртов, основным действующим началом которого оказался танин. В качестве консерванта для пищевых продуктов предложено использовать смесь таких полифенолов, как танин, и таких ароматических спиртов, как бензиловый спирт [154].

Получение консервантов с пролонгированным действием

Для получения консервантов с пролонгированным действием предложен метод их микроинкапсулирования для контролируемого освобождения консервантов в пищевых продуктах или их иммобилизация. Освобождение иммобилизованных или микрокапсулированных консервантов определяется температурой, влажностью и значением pH реакционной смеси, а также использованием давления, способом резки и добавлением поверхностно активных соединений. В качестве матрицы для инкапсулирования могут быть использованы сахара, камеди, липиды и белки. Посредством инкапсулирования консерванты освобождаются в желаемых участках пищи в необходимое время [155].

В работе [156] обсуждается механизм ингибирования роста микроорганизмов различными консервантами пролонгированного действия. Показано, что при использовании β -циклодекстрина для капсулирования консервантов их защитное действие становится более пролонгированным и эффективным, чем без проведения этой операции.

Запатентовано использование иммобилизованных бактерий, продуцирующих кислоту, например таких, которые продуцируют молочную кислоту, и использование таких бактерий в качестве пищевого консерванта для различных продуктов (соусов, муссов, пудингов и т.д.), если пищевые продукты имеют температуру, пригодную для роста бактерий. Если в процессе хранения пищи температура ее увеличивается до определенного предела, то это приводит к увеличению продукции молочной кислоты и увеличению степени консервирования. Метод заключается в получении эмульсии из бактерий, которая в дальнейшем образует гелеподобный слой между бактериальной системой и пищевым продуктом во время нагревания пищи и переходу геля в раствор при охлаждении пищи [44].

Запатентован также метод получения микрокапсул, внутрь которых предложено включать полифенолы растений, в частности флаваноиды, сшитых внутри молекулы. Сшивающими реагентами являются хлорангидриды или хлориды дикарбоновых кислот, такие как хлорангидриды себаценовой, янтарной и адипиновой кислот. Будучи добавлены к композициям для косметических, фармацевтических и пищевых продуктов микрокапсулы предотвращали ухудшения их качества, особенно изменение в окраске, без изменения растительных полифенолов, и обеспечивали им противорадикальную и антиоксидантную активности [157].

В качестве носителя для консервантов может быть использован также гранулированный лед, содержащий порошкообразный, гранулированный или жидкий аллилизотиоцианат (I), диспергированный в этом носителе. I смешивают с полиоксиэтилен триолеатом сорбита и мальтозой, в результате чего получают порошкообразный I, матрицей для которого является мальтоза. Порошкообразный I смешивают с сухим льдом в виде снега и подвергают сжатию, в результате чего получают лед, с диспергированным в нем I. Этот консервант особенно эффективен для консервирования мяса, рыбы, овощей, печени и пр. Небольшие количества I, освобождающиеся при испарении льда при низких температурах, обладают высоким и продолжительным антимикробным действием [158].

Предложено также использовать комбинированную упаковку для пищевых продуктов из сополимера полиэтилена с метакриловой кислотой после ее обработки бензойной и сорбиновой кислотой. Так, пленка, полученная под действием горячего прессования, была модифицирована 1 моль/л NaOH или 1 моль/л HCl и затем обработана вначале 75 мг/г пленки бензойной, а затем 55 г/г сорбиновой кислотами, используя ацетон в качестве реагента для набухания. Полученный материал обладал высоким антимикробным действием и превосходил большинство других подобных консервирующих упаковок [159].

Таким образом, приведенные примеры свидетельствуют о необходимости применения консервантов в пищевой промышленности и их безопасности при использовании в соответствующих дозах и при определенных условиях. Из представленных материалов также видно, что любые виды упаковок пищевых продуктов становятся существенно более эффективными при предварительной обработке консервантами различной химической структуры и обладающих самыми разнообразными свойствами. Показан также существующий в настоящее время широкий выбор консервантов для мяса и мясных изделий.

Список литературы

1. *Gill C.O., McGinnis J.C., Rahn K, Young D., Lee N., Barbut S* // Meat Science. – 2005. – V.69. – № 4. – P.811–816.
2. *Chirife J., Favetto G.* // Food Res.Int.– 1992. V. 25. – № 5. – P. 386–396.
3. Люк Э., Ягер М. Консерванты в пищевой промышленности. – Санкт-Петербург.: ГИОРД, 2000. – 285 с.
4. *Deveann J., Le Guern L., Jacquet B.* // Европейский патент № 636321. – 1995. – Cl A23L1/237. // Chem. Abstr.–1995. – 122.– 159249.
5. *Yamaoka K., Njimi T.* // Патент Японии № 09149761. – 1997. – Cl A23B4/08. // Chem. Abstr. – 1997. – 127. – 64934.
6. *Wills P.A., Macfarlane J.J., Shay B.J., Egan A.F.* // International J. Food Microbiology. – 1987. – V. 4.– № 4. –P. 313–322.
7. *Schlagel J., Verhaag H., Schwoerer W.* // Патент Германии № 19739789. – 1999. – Cl A23B4/16. // Chem. Abstr. – 1999. – 130. – 209085.
8. *Wakasugi K., Matsuda M.* // Патент Японии № 06174346. –1994.– Cl F25C1/00. //Chem. Abstr. – 1994.– 121. – 178329.
9. *Ueno R., Takada S., Kanayane T., Tabate A., Hatanaka K., Fujugami T.* // Патенты Японии № 07246332 и № 07246333.– 1995.– Cl B01J20/02. //Chem. Abstr.– 1996.– 124.– 85384e и 85385f.
10. *Gill C.O.* // Meat Science. –1996.– V. 43.– Supplement 1.– P. 99–109.
11. *Yokota M., Chicatani T., Muro H.* // Патент Японии № 04325074.– 1992. – Cl A23L3/37. //Chem, Abstr.– 1993.– 118.– 123352.
12. *Nakajima A., Kitani K., Tanaka S., Matsumoto A.* // Патент Японии № 11 192071.–1999. –Cl A23L1/318. //Chem. Abstr. –1999.– 131.– 101560.
13. *Sukgakawa M., Nakatami J.* // Патент Японии № 0549424.– 1993.– Cl A 23L1/16. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 27077.

14. *Shaklai N.* // Патент Международного общества прикладных исследований (PCT Int. Appl. WO) № 9633096.–1996.–Cl B65B31/02. //Chem. Abstr. –1997.– 126.– 30264.
15. *Tada E., Aoki Sh.* // Патент Японии № 05316939.–1993.– Cl A23B4/16. // Chem. Abstr.– 1994.– 120.– 162227.
16. *Kuroiva K.* // Патент Японии № 0994056.–1997.– Cl A23B4/16. //Chem. Abstr. –1997.– 127.– 33221.
17. *Moeller P.W., Hull R.S.* //Патент Международного общества прикладных исследований № 9805216.–1997.– Cl A 23B4/16. // Chem. Abstr.– 1997.– 127.– 35448.
18. *Sachindra N.M., Sakhare P.Z., Yashoda K.P., Rao N.D.* //Food control. –2005.– V. –16.– № 1.– P.31–35.
19. *Cammack R., Joannou C.L., Cui X.Y., Martinez C.T., Maraj S.R., Hughes M.N.* //Biochica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics. –1999. –V. 1411.– № 2–3.– P. 475–488.
20. *Binstok G., Campos C.A., Gershenson L.N.* //Meat Science. –1996. –V. 42.– № 4.– P. 401–405.
21. *Jimentz S.M., Salsi M.S., Tiburzi M., Rafaghelli R.C.* //J. Appl. Microbiol. –1999.– V.87.– N3.– P. 339–344.
22. *Elder R.M., Hughes C.H.* // Патент Великобритании № 2282953.– 1995. –Cl A23B4/12. //Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 31788.
23. *Juncher D., Vestergaard C.S., Soltaft-Jensen J., Weber J., Bertelsen G., Skiber L.H.* //Meat Sci.– 2000.– V.55.– N4. –P.483–491.
24. *Jimentz S.M., Salsi M.S., Tiburzi M., Rafaghelli R.C.* //J. Appl. Microbiol.– 1999.– V.87.–N3.– P. 339–344.
25. *Sutve A.N., Shericar A.T., Bhilegaonakar K.N., Karkare U.D.* //Meat Science.– 1991.– V. 29.– № 4.– P. 309–322.
26. *Ogden S.K., Guerrero I., Taylor A.J., Buendia H.B., Gallardo F.* //Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. –1995.– V. 28.– № 5. –P. 521–527.
27. *Carr F.J., Chill D., Maida N.* //Critical Reviews in Microbiol. – 2002. –V. 28. –№ 4.– P. 281–370.
28. *Ueda M., Tonita M., Ooya K.* // Патент Японии № 04341181.– 1992. –Cl C12N1/20. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 7691k.
29. *Ray B., Hoover D.G.* Bacteriocins Lactic Acid Bact. / Eds. Hoover D.G., Steenson L.R. –Academic: San Diego, Calif., 1993.– P.181 – 210. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 269232.
30. *Stiles M.* Bacteriocins Lactic Acid Bact./Eds. Hoover D.G., Steenson L.R. –Academic: San Diego, Calif., 1993.– P. 211 – 218. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 266010.
31. *Hugas M., Garriga M., Aymerich M.T.* //Internation. J. Food Microbiology. –2003. –V. 88.– № 2–3. –P. 223–233.

32. *Thomas L.V., Ingram R.E., Yu S., Delves-Broughton J.* // *International J. Food Microbiology*. –2004. –V. 93. –№ 3. –P. 319–323.
33. *Henkel A.* // *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. –1996. – V. 29. – № 3. –P. 227–233.
34. *Kumar V., Bachhil V.N.* // *Indian Food Packer*. – 1993. – V.47. –N1. – P. 15–21.
35. *Nnana I.A., Ukuku D.O., McVann K.B., Shelf L.A.* // *Food Sci. Technol. (London)*. – 1994. – V. 27. – № 1. –P. 78–85.
36. *Guerreto I., Taylor A.J.* // *Food Sci. Technol. (London)*. – 1994. – V. 27. – № 3. –P. 201–209.
37. *Van Netten P., Huis I.V., Mossel D.A.* // *J. Food Saf.* – 1994. – V. 14. – № 30. –P. 243–257.
38. *Luo X., Zhu Y.* // *Shipin Yu Fajiao Gongue*. –2000. V. 26. – № 3. – P. 1–5. // *Chem. Abstr.* –2000. – 133. – 149548.
39. *N.V. Food Chemicals, Belg.* // *Бельгийский патент № 1011091*. – 1999. *Cl A23B4/12*. // *Chem. Abstr.* –1999. – 131. – 261160.
40. *Liang F.* // *Патент Китая № 1092942*. –1994. *Cl A23B4/10*. // *Chem. Abstr.* – 1995. – 122. – 238258.
41. *Thakur B.R., Patel Th.* // *Food Rev. Int.* – 1994. – V. 10. – № 1. – P. 93–107.
42. *Orquera F.L.A.* // *Патент США № 5762986*. –1998. – *Cl 426–326; A 23B4/14*.
43. *Yakushiji O.* // *Патент Японии № 08238073*. –1996. – *Cl A23L1/314*. // *Chem. Abstr.* –1996. – 125. – 326995.
44. *Baker R.C., Post L.S.* // *Международный патент № 9409636*. – 1994. – *Cl A23C9/12*. // *Chem. Abstr.* – 1994. – 121. – 81493c.
45. *Yamamoto S., Takamine K.* // *Патент Японии № 06125704*. –1994. – *Cl A23B7/154*. // *Chem. Abstr.* – 1994. – 121. – 107070s.
46. *Nancy G., Yousef A.E., Luchansky J.* // *J. Food Sci.* – 1992. – V. 12. – N4. – P.303–314.
47. *Gutzmann T.A., Anderson B.R., Pamela J., Cjrd B.R., Grab L.A., Richardson E.H.* // *Европейский патент № 985 349*. –2000. – *Cl A23B4/12*. // *Chem. Abstr.* –2000. – 132. – 207224.
48. *Greer G.G., Paquet A., Dilts B.A.* // *Food Microbiol.* – 2000. –V. 17. – № 2. – P. 177–183.
49. *Yakayama T., Sasaki H.* // *Патент Японии № 07255421*. –1995. – *Cl A23L1/31*. // *Chem. Abstr.* – 1996. – 124. – 28683c.
50. *Devlieghere F., Vermeiren L., Debevere J.* // *International Dairy Jorنال*. –2004. –V. 14. – № 4. – P. 273–285.
51. *Kitamuta T., Moeda M.* // *Патент Японии № 052306*. –1993. – *Cl A23B7/153*. // *Chem. Abstr.* –1993. – 118. – 253775c.
52. *Dermadji P., Izumimo M.* // *Meat Sci.* – 1994. – V.38. –N2. –P. 243–54.

53. Yu G., Lou X., Wang Sh., Tian X. // Zhongguo Heigang Yaown.– 1994. –V. 13.– № 3.– P. 45–49. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 104252.
54. Chau V.M., Pham H.D., Trinh D.N., Dang L.H. // Tap Chi Hoa Hoc.– 1997. –V. 35.– № 3.– P. 75–78. //Chem. Abstr. –1998.– 128.– 139877.
55. Roller S., Sagao S., Board R., Mahony T.O., Caplice E., Fitzgerald G., Fogden M., Owen M., Fletcher H. // Meat Science. –2002. –V. 62.– № 2. –P. 165–177.
56. Hiraki J., Sugano E. // Патент Японии № 0568520.–1993.– Cl A25L3/3526. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 48072.
57. Berke Ph.A, Rosen W.E. // Международный патент № 92212.– 1992.– Cl A61 K. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 225661.
58. Ezaki m., Yamaoka Y. // Патент Японии № 04304840.–1992.– Cl A23B7/154. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 100820.
59. Ohnishi T. // Foods Food Ingredients J.– 1993.– V. 155.– № 81–84. // Chem. Abstr.– 1994.– 121. –177917.
60. Tacacsova M., Dudasova S., Yjzova B., Rajniakova A. // Potravin Vedy.– 1993.– V. 11.– № 12. –P. 11–120.
61. Yamamoto T., Saito M. // Патент Японии № 2000.316530.– Cl A23L1/31. //Chem. Abstr.– 2000.– 133.– 334352.
62. Margrander K. // Международный патент № 0119198.–2001.– Cl A23B4/10. //Chem. Abstr.– 2001.– 134.– 206986.
63. Kalra M.C, Mattra H., Singh A. // Indian Food Packer.– 1992.– V. 46.– № 4. –P. 5–15.
64. Hansen J.N. // Crit. Rev. Food Sci. Nutr.– 1994.– Vol. 34.– № 1.–P. 69 – 93.
65. Lesnierowski G., Kijowski J. // Przem. Spozyw.– 1995. –V. 49.– № 4. –P. 116–119. //Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 196811.
66. Lin H., Li G. // Патент Китая № 1067359.–1992.– Cl A23F3/16. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 253783f.
67. Inamoto M. // Патент Японии № 200117074. –Cl A23B4/00. //Chem. Abstr. –2001.– 134.– 85311.
68. Nakayama T., Kawagishi Sh., Oosawa T. // Патент Японии № 06248267.–1994. Cl C09K15/34. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 54685.
69. Tokuoka K., Isshiki k. // Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi.– 1994. –V. 41.– № 9.– P. 525–529. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 279233.
70. Булдаков А. Пищевые добавки.–Санкт-Петербург: ГИОРД, 1996. –295 с.
71. Нечаев А.П., Кочеткова А.А. Ю Зайцев А.Н. Пищевые добавки.– М.: Изд-во МГУПП, 1997.– 62 с.

72. Food Preservatives (second ed.). Kluwer / Eds.: Russell N.J., Gould G.W.. Academic/Plenum Publishers.: New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow, 2003.– 380 p.
73. *Brul S., Coote P., Oomes S., Mensonides F., Yellingwerf K., Klis K.* // International J. Food Microbiology. –2002.– V. 79.– № 1–2.– P. 55–64.
74. *Chirife J., Favetto G.* // Food Res.Int.– 1992.– V.25.–N5.– P. 386–396.
75. *Gould G.W.* // International Biodeterioration & Biodegradation.– 1995. –V. 36.– № 3-4. –P. 267–277.
76. *Knorr D.* Minimal Process Foods Preparing Optim. /Eds Singh R.P., Olivera F. A.R. CRC: Boca Raton, Fla., 1994.– P. 3–15. // Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 155985r.
77. *Seki O., Machida Ch.* // Патент Японии № 05137503.–1993. –Cl A23C3/023. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 115974.
78. *Shanbrom E.* // Международный патент № 9409635.–1994.– Cl A23B4/14. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 81492d.
79. *Shimai Y.* // Патент Японии № 0919279.–1997.– Cl A23L3/358. // Chem. Abstr. –1997.– 126.– 198781.
80. *Kuroiva K.* // Патент Японии № 0994056.–1997. –Cl A23B4/16. // Chem. Abstr. –1997.– 127.– 33221.
81. *Yamada Y.* // Патент США № 5811147.–1998.– Cl 426–532, A23L3/34. //Chem. Abstr. –1998.– 129.– 244400.
82. *Iwamoto H., Iwamoto T.* // Патент Японии N 200050851. –Cl A23L3/3445. //Chem. Abstr.– 2000.– 132.– 165386.
83. *Haasake R.A.* // Патент США № 6066349.–2000. –Cl 426–333; A23B4/02. //Chem. Abstr.– 2000.– 132.– 333706.
84. *Joo J.G., Lee W. H., Koh J.H.* // Патент Японии. № 20003066013.– Cl A23L3/358. //Chem. Abstr.– 2000.– 133.– 134549.
85. *Massey R.C.* // Food Chemistry. –1997.– V. 60.– № 2.– P. 177–185.
86. *Bender H.* // Pharm Ztg.– 1994. –V. 139.– № 12.– P. 9–12.
87. *Dweck C.* // SOFW J. –1995. –V. 121.– № 7.–P. 490–495.
88. *Guo A., Yuon J.* // Shipin Kexue (Beijing).– 1994.– V. 172.– P. 13–16. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 254198.
89. *Darke D., Lewis D.F.V.* // Food Addit. Contamin.– 1992.– V. 9.– № 5. –P. 561–577.
90. *Dalton L.* // Science & Technol. –2002. –V. 80.– № 11.– P. 1213–1216.
91. *Pongpratoom K., Thanaboripat D., Ruaangrattana-matee V.* // Kasetsart Univ. Annu. Conf. 37-th.–1999. –P. 183–188. //Chem. Abstr.– 2000.– 133.– 16553.
92. *Soni M.G., Taylor S.L., Greenberg N.A., Burdock G.A.* // Food Chem. Toxicol. –2002. –V. 40.– № 10.– P. 1335–1373.

93. *Maryama A., Okuno K.*// Патент Японии № 06133741.–1994.– Cl A23L1/328. //Chem. Abstr.– 1994.– 124.– 132703h.
94. *Barakat R.K., Harris L.J.*//Appl. Environ. Microbiol.– 1999. –V. 65. –№ 1. –P. 342–345.
95. *Sakai A., Nakayama M.*//Патент Японии № 10337166.–1998.– Cl A23L1/40. //Chem. Abstr.– 1999.– 130.– 65597.
96. *Yoshimatsu T., Okuno H.*//Патент Японии № 2000312575. –Cl A23L3/3517. //Chem. Abstr. –2000.– 133.– 334344.
97. *Hjornevik L., Anderson T.R., Selmer-Olsen I.*//Международный патент № 99 12435.–1999. –Cl A23L3/3508. //Chem. Abstr.– 1999.– 130.– 222391.
98. *Iannotti E.L., Mueller R.E., Jin Z.*//Международный патент № 00 65924 (2000). Cl A23C4/11. Chem. Abstr. 2000, 133, 321217.
99. *Татулов Ю.В., Крехов Н.М., Кузнецова И.В., Сусь И.В.*//Мясная индустрия.– 2002.– № 8.– P. 15–20.
100. *Huang R.*// Патент Китая № 111395513.–1997.– Cl A011N37/06.// Chem. Abstr. –1998.– 128.– 282107.
101. *Abe T., Nishina A.*//Патент Японии № 2000290115. –Cl A01N59/26. //Chem. Abstr.– 2000.– 133.– 280881.
102. *Yajima M., Nozaki K.*//Патент Японии № 2000245417.– Cl A23L3/3562. //Chem. Abstr.– 2000.– 133.– 207073.
103. *Yajima M., Nozaki K.*//Патент Японии № 2000245416.– Cl A23L3/3562. //Chem. Abstr. –2000.– 133.– 207077.
104. *Yajima M., Nozaki K.*//Патент Японии № 2000245418.– Cl A23L3/3562. //Chem. Abstr.– 2000.– 133.– 207088.
105. *Yajima S., Nozaki K.*//Патент Японии № 200117138.– Cl A23L3/3562. //Chem. Abstr.– 2001.– 134.– 99921.
106. *Hisaku S., Takeda Y., Abe J., Muroya M., Yoshinaga K., Fujisue M.*//Патент Японии № 200189377. –Cl A61K31/7004. //Chem. Abstr. –2001.– 134.– 261228.
107. *Takeda I., Tamija H.*//Патент Японии № 2000325061.– 2000.– Cl A23L3/358. //Chem. Abstr. –2000.– 133.– 362157.
108. *Yoshimura K., Kuwahary Y., Yamashita A., Kimura K.*//Патент Японии № 2000201660.–Cl A23L3/3508.// Chem. Abstr.– 2000.– 133.– 119381.
109. *Matsumoto Y., Fukushi H., Hiraki J.*//Патент Японии № 2000270821.– Cl A23L3/3526.// Chem. Abstr.– 2000.– 133.– 237108.
110. *Hiraki J., Sugano E.*// Патент Японии № 0568520.–1993.– Cl A25L3/3526. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 48072.
111. *Kamioka H., Suga Y., Okuno K.*// Патент Японии № 0541969.– 1993. –Cl A23L3/3526. //Chem. Abstr. –1993.– 118.– 253776.

112. *Murata M.*// Патент Японии 3 07135943.–1995. –Cl A23L3/3526. // Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 168261t.
113. *Ohnishi T.*// Food Ingredients J.– 1993.– № 155.– P. 81–84. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 177917.
114. *Hiraki J., Fukushi H., Kato R.*// Патент Японии № 0998754.– 1997.– Cl A23L3/3526. //Chem. Abstr. –1997.– 127.– 16822.
115. *Fukushi H., Hiraki A., Kato R.*//Патент Японии № 11 123070.– 1999.– Cl A23L3/3526. //Chem. Abstr.– 1999.– 130.– 311007.
116. *Ho Y.T., Ishizaki S., Tanaka M.*//Food Chem. –2000.– V. 68.– № 4. – P. 449–455.
117. *Lesnierowski G., Kijowski J.* // Przem. Spozyw.– 1995.– V. 49.– № 4. –P.116–119. //Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 196811.
118. *Johnson E.A., Dell A.E.*// Патент США № 5393545.–1995.– Cl 426–268. A23B4/00.// Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 238248.
119. *Murata M.*// Патент Японии № 06261725.–1994.–Cl A23L3/3517. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 79687.
120. *Murata M.*// Патент Японии № 06253794.–1994. –Cl A23L3/34.// Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 79690.
121. *Murata M.*// Патент Японии № 06217748.–1994.– Cl A23L3/3517. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 8559.
122. *Monticello D.J.*// Патент США № 5458876.–1995. –Cl 424–94.61.– A61K38/47. //Chem. Abstr.– 1996.– 124.– 28655.
123. *Zucht H.A., Forssmann W.G., Radia M., Adermann K.*//Trends in Food Sci. & Technol. –1997. –V. 8.– № 2.– P. 61.
124. *Johansen C.*// Trends in Food Sci. & Technol.– 1997.– V. 8.– №3.– P. 96.
125. *Cirigliano M.Ch., McKenna R.T., Keller A.M.*//Патент США № 6156362.–2000.– Cl 426–335; A23L3/3463. //Chem. Abstr. – 2000.– 135.– 362144.
126. *Vedamuthu E.R., Henderson J.T., Vanderbergh P.A.*// Европейский патент 3 573768.–1993. –Cl C12N15/31.// Chem. Abstr.– 1994.– 120.– 129447.
127. *Tnnaher S., Sonomoto K., Ishizaki A.*//J. Biosci. Bioeng.– 1999.– V. 87.– № 6. –P. 705–716.
128. *Shillinger U., Geisen R., Holzapfel W.H.*// Trends in Food Sci. & Technol. –1996. –V. 7.– № 5.– P. 158–164.
129. *Yajima M.*// Патент Японии № 07115950.– 1995. //Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 142366f.
130. *Abee T., Krockol L., Hill C.*// Int. J. Food Microbiol.– 1995.– V.28.– N2. – P.169–185.
131. *Barnby-Smith F.M.*//Trends Food Sci. & Technology.– 1992. –V. 3.– № 2. –P. 133–137.

132. *VcAuliffe O., Ross R.P., Hill C.*//FEMS Microbiology Rev. –2001.– V. 25.– № 3.– P. 285–308.
133. *Ray B., Hoover D.G.* Bacteriocins Lactic Acid Bact. /Eds. Hoover D.G., Steenson L.R. –Academic: San Diego, Calif., 1993.– P.181–210.// Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 269232.
134. *Yajima M., Nozaki K.*// Патент Японии № 08256746.–1996. –CI A23L3/349. //Chem. Abstr. –1997.– 126.– 30598.
135. *Yajima M., Nozaki K.*// Патент Японии № 08289770.–1996. –CI A23L3/3571. //Chem. Abstr. –1997.– 126.– 74047.
136. *O'Sullivan L.O., Ross R.P., Hill C.*//Biochemie.– 2002. –V. 84.– № 5–6. –P. 593–604.
137. *Devlieghere F., Vermeiren L., Debevere J.*//International Dairy Journal.– 2004. –V. 14.– № 4.– P. 273–285.
138. *Kitamuta T., Moeda M.* // Патент Японии № 052306.–1993. –CI A23B7/153. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 253775c.
139. *Uemura H.*//Патент Японии № 11 206356.–1999.– CI A23L3/3562. //Chem. Abstr.– 1999.– 131.– 129220.
140. *Lu C., Wu Z., Dai X., Lin Y.*// Weishengwuxue Tongbao.– 1995.– V. 22.– № 1. –P. 36 – 41. //Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 52103.
141. *Wang D.*//Патент Китая № 1259571.–2000.– CI C12N5/04. //Chem. Abstr. –2001.– 134.– 206970.
142. *Wadamori M., Ogata Y., Fujita K., Kondo Y., Hara K., Katanura R.*// Патент Германии № 19501221.–1995.– CI A23L3/3508. //Chem. Abstr.– 1996.– 124.– 85379g.
143. *Murata M.*// Патент Японии № 06271749. – 1994. – CI A23L3/3517. Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 8558.
144. *Von Lecuwen A.V.*// Патент Франции № 2729050.–1996. –CI A01N31/02. //Chem. Abstr.– 1996.– 125.– 256743.
145. *Nasu M., Koriyama T.*// Патент Японии № 09140353.–1997.– CI A23L1/32. //Chem. Abstr.– 1997.– 127.– 49665.
146. *Uemura H.*//Патент Японии № 11 253142.–1999.– CI A23L3//3544. //Chem. Abstr. –1999.– 131.– 213465.
147. *Smith-Palmer A., Stewart J., Fyfe L.*//Food Microbiology.– 2001. – V. 18.– № 4.– P. 463–470.
148. *Glass K., Johnson E.A.*// Food Microbiology.– 2004.– V. 21.– № 6.– P. 675–682.
149. *Ogawa H.*// Патент Японии № 0556773.–1993.– CI A23L3/3472. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 211691.
150. *Yiang M., Shang D., Li J.*// Shipin Kexue (Beijing). –1993.– № 158.– P. 18–20. //Chem. Abstr.– 2003.– 119.– 93892.
151. *Furui S., Hirayama A.*// Патент Японии № 06153884.–1994.– CI A23L3/3472. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 132681z.

152. *Yajima M.*// Патент Японии № 06153882.– 1994. –CI A23L3/34.// Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 156238m.
153. *Kawagishi S., Oosawa T.*// Патент Японии № 06306093.–1994.– CI C07H17/04. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 238247y.
154. *Shur J.P.*//Международный патент № 9858540.– 1998.– CI A01N31/16. //Chem. Abstr. –1999.– 130.– 80679.
155. *Pothakamury U.R., Gustavo V., Barbosa-Canovas V.*// Trends in Food Sci. & Technol. –1995.– V. 6.– № 12. –P. 397–406.
156. *Guo A., Yuon J.* // Shipin Kexue (Beijing).– 1994.– V.– 172.– P. 13–16. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 254198.
157. *Levy M.C., Andry M.C.*// Международный патент № 9521018.– 1995.– CI B01J1/16. //Chem. Abstr.– 1995/– 123.– 312647.
158. *Nabeta K., Minakani Y., Mikami I., Takcuchi N.*//Патент Японии № 11 116226.–1999.– CI C01B31/22. //Chem. Abstr.– 1999.– 130.– 295828.
159. *Weng Y.M., Chen M.J., Chen W.* //Lebensmittel-Wissenschaft. Technol.–1999.– V. 32.– № 4.– P. 191–195.

РАЗДЕЛ 2

ПРОИЗВОДСТВО ТОПЛИВА ИЗ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ

Хорошо известно, что природные ресурсы земли не бесконечны и рано или поздно начнется их истощение. Это прежде всего относится к таким ресурсам как полезные ископаемые – уголь, нефть, газ, которые, в отличие от растительных ресурсов, являются не возобновляемыми, и их количество уменьшается год от года [1, 2]. В связи с этим проблема энергетики будущего заключается в нахождении альтернативных источников энергии, которыми могут быть этанол, метан, водород, некоторые растительные источники нефтеподобных продуктов и пр. Большинство из перечисленных выше альтернативных источников могут быть получены за счет разработки экономичных и экологически выгодных технологий использования органических отходов.

Часть 3

ПРОИЗВОДСТВО ЭТАНОЛА

Производство пищевого этанола известно с глубокой древности и основано на сбраживании дрожжами сиропа, содержащего гексозы, которые в свою очередь получают путем гидролиза крахмалов различного происхождения [1]. Однако производство подобного спирта для решения топливных проблем является слишком дорогим удовольствием и требует иных сырьевых ресурсов [2]. Такими ресурсами

могут выступать отходы лигноцеллюлозы. Описанию реализации этого вида сырьевых источников и будет посвящена первая глава данного раздела.

В последнее столетие постоянно возрастает потребность в энергии, так как постоянно увеличивается прирост населения и многие страны становятся индустриальными. До недавнего времени нефть являлась основным источником потребления энергии. Однако, как известно, ресурсы природной нефти, так же как и газа, ограничены, и, по мнению авторов работы [3], сложности с промышленным получением нефти начнутся уже с 2010 г. В связи с истощением нефтяных ресурсов, вся ежегодная продукция нефти к 2050 г снизится с 25 миллиардов баррелей до 5 миллиардов баррелей. В связи с этим все больший интерес привлекают альтернативные энергетические ресурсы.

В отличие от ископаемого топлива этанол является возобновляемым источником энергии, получаемым ферментацией сахаров. Этанол широко используется в США, Бразилии и других странах в качестве частичного заменителя бензина. Так, например, этанол в качестве горючего, полученный из кукурузы, применяют в США в виде бензоспирта или кислородсодержащего топлива с 1980 г. Этот бензоспирт содержит 10 об. % этанола.

В результате транспортные средства США ежегодно потребляют около 4540 миллионов литров этанола, что составляет около 1% от общего количества потребляемого топлива. Недавно автомобильная промышленность США предложила план, согласно которому автомобили смогут использовать новое топливо – этанолбенд-85 (85% этанола и 15% бензина по объему). Использование этанолбенда для автомобилей может существенно уменьшить потребление бензина и уменьшить количество парникового газа [2]. Этанол является также безопасным заменителем метил-трет-бутиловому эфиру (МТБЭ), широко распространенной добавки к бензину, используемой для обеспечения более легкого возгорания [4]. МТБЭ является токсичным химическим компонентом, и было найдено, что он заражает грунтовые воды. Агентство по охране окружающей среды США недавно объявило о начале мероприятий по удалению МТБЭ из бензина [5]. Однако стоимость этанола как источника энергии является относительно более высокой, по сравнению с бензином. Сложная ситуация с получением этанола из кукурузы препятствует реализации этого сырьевого источника для производства этанола из-за ограниченного пространства сельскохозяйственных угодий, необходимых для производства пищевой продукции. Поэтому потенциальным источником для получения этанола с низкой стоимостью является лигноцеллюлозные соединения, такие как остатки сельскохозяйственных культур, травы, опилки, стружки и твердые отходы скота (табл.10).

Таблица 10

Содержание целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина в остатках сельскохозяйственных культур и отходов [6–9]

Лигноцеллюлозные материалы	Целлюлоза, %	Гемицеллюлоза, %	Лигнин, %
Стебли лиственных деревьев	40 – 55	24 – 40	18 – 25
Стебли хвойных деревьев	45 – 50	25 – 35	25 – 35
Скорлупа орехов	25 – 30	25 – 30	30 – 40
Кукурузные початки	45	35	15
Травы	25 – 40	35 – 50	10 – 30
Бумага	85 – 99	0	0 – 15
Пшеничная солома	30	50	15
Отсортированный мусор	60	20	20
Листья	15 – 20	80 – 85	0
Очесы хлопка	80 – 85	5 – 20	0
Газеты	40 – 55	25 – 40	18 – 30
Отходы бумаги из химических пульп	60 – 70	10 – 20	5 – 10
Первичные твердые отходы сточных вод	8 – 15	Содержание не известно	24 – 29
Отходы свиноводства	6,0	28	Содержание не известно
Твердый навоз скота	1,6 – 4,7	1,4 – 3,3	2,7 – 5,7
Водоросли	25	35,7	6,4
Скошенная трава	45	31,4	12,0

Интенсивные исследования по превращению лигноцеллюлозных соединений в этанол начались в последние два десятилетия [10–18]. Процесс конверсии включает в себя два этапа: гидролиз целлюлозы в лигноцеллюлозное сырье для последующего получения восстанавливающих сахаров и ферментация полученных сахаров в этанол. Гидролиз обычно катализируется целлюлазными ферментами, а ферментация осуществляется при помощи дрожжей или бактерий. Факторами, которые влияют на эффективность гидролиза целлюлозы, являются пористость исходного материала (увеличивает поверхность контакта), степень кристалличности целлюлозы и содержание лигнина и гемицеллюлозы [18]. Присутствие лигнина и гемицеллюлозы затрудняет

контакт ферментов с целлюлозой, что приводит к уменьшению эффективности гидролиза. Содержание целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина в сельскохозяйственных отходах приведено в табл. 10. Удаление лигнина и гемицеллюлозы, уменьшение кристалличности целлюлозы и увеличение пористости в процессе обработки может существенно увеличить эффективность гидролиза [16–18].

Глава 5

Предварительная обработка лигноцеллюлозных соединений

Влияние предварительной обработки лигноцеллюлозных материалов известно уже в течение длительного времени [16–18]. Целью предварительной обработки является удаление лигнина и гемицеллюлозы, уменьшение кристалличности целлюлозы и увеличение пористости материалов. Предварительная обработка должна удовлетворять следующим задачам: 1) увеличивать образование сахаров или доступность материала для получения соответствующих сахаров ферментативным гидролизом; 2) предотвращать деградацию или потери углеводов; 3) обеспечивать отсутствие образования побочных продуктов-ингибиторов последующих процессов гидролиза и ферментации; 4) иметь низкую стоимость. Для выполнения этих задач используют физико-химические, химические и биологические процессы.

Физическая предобработка

Механическое измельчение

Отходы для переработки могут подвергаться самым разнообразным механическим обработкам: расщеплению, измельчению и дроблению для уменьшения кристалличности целлюлозы. Размер материалов после измельчения обычно составляет 10 – 30 мм, после измельчения и дробления – 0,2 – 2 мм. Было обнаружено, что наиболее эффективен вибрационный шаровой измельчитель для уменьшения кристалличности хвойной древесины и щепок лиственных деревьев, а также для последующего измельчения биомассы по сравнению с обычным шаровым измельчителем. Потребление энергии для механического измельчения сельскохозяйственных материалов зависит от конечного размера частиц и характеристик измельчаемой биомассы. Так, в работе [12] показано, что затраты энергии для измельчения сырья в многоцелевом процессе составят около 30 кВт·ч на тонну отходов для достижения конечного размера частиц 3 – 6 мм.

Пиролиз

Для предобработки был также использован пиролиз лигноцеллюлозных материалов. Если исходные вещества обрабатывают при температурах выше 300°C, целлюлоза начинает быстро образовывать газообразные продукты и остаточный уголь [19, 20]. При более низких температурах разложение идет медленнее и происходит меньшая потеря газообразных веществ. В результате кислотного гидролиза остатков после пиролиза при средних условиях (1 н. H_2SO_4 , 97°C, 2,5 ч) удается достичь 80 – 85% конверсии целлюлозы и получить редуцирующие сахара, содержащие более чем 50% глюкозы [21]. Процесс можно сделать еще более эффективным, если повысить присутствие кислорода [20]. В том случае, если к смеси добавляют ZnCl_2 или Na_2CO_3 в качестве катализатора разложения целлюлозы, то процесс можно осуществить и при более низких температурах [22].

Физико-химическая предобработка

Метод парового взрыва (автогидролиз)

Паровой взрыв является наиболее широко используемым методом для предобработки целлюлозы [2, 18]. При этом методе, биомассы в виде щепок обрабатывается насыщенным водяным паром под давлением, затем давление резко сбрасывают, в результате чего материалы подвергаются взрывному распаду. Паровой взрыв обычно осуществляют при температуре 160 – 260°C (соответствующее давление 0,69 – 4,83 МПа) от нескольких секунд до нескольких минут до тех пор, пока в реакторе не установится атмосферное давление. Процесс вызывает расщепление гемицеллюлозы и модификацию лигнина за счет высокой температуры, что приводит в дальнейшем к потенциальному увеличению степени гидролиза целлюлозы. Так, после подобной процедуры удалось достичь 90% эффективности последующего ферментативного гидролиза щепок из тополя в течение 24 ч по сравнению с 15% степенью конверсии того же сырья без парового взрыва [23]. Факторами, увеличивающими эффективность парового взрыва, являются время проведения реакции, температура, размер щепы и содержание влаги [15]. Оптимальные солубилизацию и гидролиз можно достичь либо за счет увеличения температуры и короткого времени реакции (270°C, 1 мин), либо за счет понижения температуры и увеличения времени проведения реакции (190°C, 10 мин) [15]. Последующие исследования показали, что более выгодно проводить паровой взрыв при более низких температурах и более продолжительном времени реакции [10].

Добавление H_2SO_4 (или SO_2) или CO_2 к реакционной смеси в процессе парового взрыва улучшает последующий ферментативный гидролиз, уменьшает содержание ингибиторов в реакционной среде и приводит к полному удалению гемицеллюлозы. Оптимальными условиями для парового взрыва в качестве предобработки жмыха сахарного тростника являются: 220°C , время проведения реакции – 30 с, соотношение воды к твердым продуктам равно 2 и содержание H_2SO_4 – 1% [24]. Выход сахаров составил 65,1 г/100 г исходного жмыха после его предобработки паровым взрывом.

Выгоды использования парового взрыва заключаются в низком потреблении энергии по сравнению с механической обработкой, отсутствие рециклизации и затрат по защите окружающей среды. Соответствующие механические методы требуют на 70% больших затрат энергии для достижения тех же самых результатов [25]. Считается, что паровой взрыв является одним из самых эффективных процессов для предобработки отходов лиственных деревьев и сельского хозяйства, но он менее эффективен для отходов из хвойных пород [26]. К недостаткам парового взрыва относятся частичное разрушение ксилановой фракции, неполное разделение лигнин-углеводной матрицы и накопление в реакционной смеси компонентов, которые могут оказаться ингибиторами для микроорганизмов, используемых в проточном процессе при верхней подаче субстрата [27]. Для уменьшения количества ингибиторов для роста микроорганизмов, ферментативного гидролиза и последующей ферментации сахаров необходимо после подобной предобработки промывать биомассу водой [18]. Однако промывание водой биомассы после предобработки уменьшает общий выход при сахарификации за счет удаления водорастворимых сахаров, таких, которые образуются при гидролизе гемицеллюлозы. Обычно в результате промывания предобработанной биомассы водой теряется 20 – 25% от общего количества сухих веществ [28].

Аммонийный взрыв

Аммонийный взрыв (АВ) является еще одним физико-химическим методом предобработки лигноцеллюлозных веществ, в основе которого лежит использование жидкого аммиака при высокой температуре и давлении в течение определенного периода времени. Затем давление резко сбрасывают. Основная концепция АВ подобна концепции парового взрыва. Количество аммиака обычно составляют 1 – 2 кг/кг сухой биомассы, температура 90°C и время 30 мин. Предобработка АВ может существенно увеличить скорость сахарификации различных стеблей растений и трав. АВ может быть использован для предобработки многих лигноцеллюлозных веществ, включая люцерну, пшеничную солому,

пшеничную мякину [28], ячменную солому, кукурузные корма для животных, рисовую солому [29], городские твердые отходы сточных вод, газетную бумагу из лиственных пород, газетную бумагу из кенафа [30], водоросли, скошенную траву [7], осиновые щепки [31] и жмых после переработки тростникового сахара [32]. Предобработка АВ растворяет меньшее количество гемицеллюлозы по сравнению с кислотной предобработкой и паровым взрывом в присутствии кислого катализатора [28, 29]. Так, в работе [28] сравнивалась предобработка осинового щепка, пшеничной соломы, мякины и стеблей люцерны паровым и аммонийными взрывами для их последующего ферментативного гидролиза. Было обнаружено, что паровой взрыв растворяет гемицеллюлозу, тогда как АВ – нет. Состав продуктов после АВ по существу мало отличался от состава первоначального вещества. Однако степень гидролиза целлюлозы и гемицеллюлозы в бермудских водорослях (около 5% лигнина) и в жмыхе сахарного тростника (15% лигнина) составляла свыше 90% после их предобработки АВ [32]. Однако процесс АВ был не столь эффективен для предобработки газетной бумаги (18 – 30% лигнина) и осинового щепка (25% лигнина). Выход сахаров после последующего ферментативного гидролиза составлял 40% для газетной бумаги и ниже 50% – для осинового щепка [18].

С целью уменьшения стоимости процесса и защиты окружающей среды аммиак должен быть рециклизован после предобработки. Для процесса извлечения аммиака была использована температура 200°C и специальный контроль за оставшимся количеством аммиака в конечном продукте [32]. Преимуществом этого метода является то, что АВ не приводит к получению ингибиторов для последующего биохимического процесса и не требует воды для промывания биомассы [2]. АВ не требует также тонкого измельчения сырья [32].

Углекислотный взрыв

Подобно паровому и аммонийному взрыву для предобработки лигноцеллюлозного материала используют также и углекислотный взрыв в присутствии CO_2 . Основой подобного метода послужила гипотеза, что CO_2 в дальнейшем превращается в карбоновую кислоту и увеличивает скорость гидролиза. Дайл и Морейра [33] использовали этот метод для предобработки люцерны (4 кг CO_2 /кг волокон при давлении 5,62 МПа) и получили 75% выход глюкозы, считая от теоретического при проведении ферментативного гидролиза в течение 24 ч. Выход был относительно более низким по сравнению с выходом после парового или аммонийного взрывов, но достаточно высоким по сравнению с ферментативным гидролизом без подобной предобработки. Авторы работы [34] сравнивали CO_2 -взрыв с паровым и аммонийным взрывами для предобработки рециклизованной смеси бумаги, жмыха после производства сахара и

репульпированных отходов рециклизованной бумаги и пришли к заключению, что CO_2 -взрыв более эффективен по стоимости, чем АВ и не вызывает образование ингибиторов, как это происходит при паровом взрыве.

Химическая предобработка

Озонолиз

Озон может быть использован для расщепления лигнина и гемицеллюлозы во многих лигноцеллюлозных материалах, таких как пшеничная солома [35], жмых после получения сахара, свежее сено, арахис, древесина сосны, хлопковая солома [36] и опилки от тополя [37]. Расщепление обычно ограничивается лигнином и гемицеллюлозой, но мало влияет на целлюлозу. Скорость ферментативного гидролиза увеличивается в 5 раз при 60%-ном удалении лигнина из пшеничной соломы при ее предобработке O_3 [37]. Выход при ферментативном гидролизе увеличивался от 0 до 57% при понижении % содержания лигнина с 29 до 8% после предобработки озонолизом опилок тополя [37]. Предобработка озоном имеет следующие преимущества: 1) она эффективно удаляет лигнин; 2) в результате такой предобработки не образуются токсичные продукты для последующего проведения процесса; 3) реакция проводится при комнатной температуре и атмосферном давлении [37]. Однако этот процесс требует больших количеств озона, что приводит к существенному удорожанию.

Кислотный гидролиз

Для обработки лигноцеллюлозного материала были использованы такие кислоты, как H_2SO_4 и HCl . Хотя они и эффективны для проведения гидролиза целлюлозы, но являются токсичными, коррозионными и опасными, и требуют для своего осуществления специальные реакторы, выполненные из коррозионно-устойчивых материалов. Кроме того, концентрированные кислоты должны быть извлечены после гидролиза, для того, чтобы сделать процесс экономически рентабельным [38].

Гидролиз разбавленной кислотой более приемлем для предобработки лигноцеллюлозного материала. Предобработкой разбавленной серной кислотой можно достичь высоких скоростей реакций и значительно улучшить процесс гидролиза целлюлозы [39]. При умеренных температурах прямая сахарификация мало эффективна из-за низкого выхода за счет разложения сахаров. Высокие температуры при предобработке разбавленными кислотами более удобны для этих целей [18]. Было также показано, что гидролизом разбавленной кислотой можно

достичь высокой степени конверсии ксилана в ксилозу, что выгодно с точки зрения экономики проведения процесса, так как ксилан составляет во многих лигноцеллюлозных материалах примерно 1/3 от общего количества углеводов [40]. Предварительно можно предложить два типа процесса предобработки: высокая температура (выше 160°C), продолжительное время протекания процесса в проточном реакторе при низкой нагрузке сухих веществ (соотношение масс субстрата и реакционной смеси 5 – 10%) [41, 42] и низкая температура (менее 160°C) при высокой нагрузке сухих веществ (10 – 40%) в периодическом реакторе с перемешиванием [39, 43]. Хотя предобработка разбавленной кислотой может значительно улучшить гидролиз целлюлозы, стоимость его значительно выше, чем процессы физико-химической предобработки, например, таких, как паровой или аммонийный взрывы. Для последующего ферментативного гидролиза или процесса ферментации необходима также нейтрализация реакционной массы.

В случае использования процесса кислотного гидролиза для получения этанола могут быть использованы даже городские сточные воды. Предлагаемый процесс основан на гидролизе твердых отходов сточных вод разбавленной кислотой и их последующей ферментации. Найдено, что оптимальными условиями для гидролиза являются: температура 230 – 250°C; давление 30 – 32 атм.; значение pH – 0,5 и время реакции 8 – 15 с. Выход глюкозы при этих условиях составляет около 60% [44].

Изучено также комбинированное тепловое воздействие и кислотный гидролиз биомассы измельченных отходов маниоки (*I*). Гидролиз биомассы *I* осуществляли при высокой концентрации H_2SO_4 (1 – 5 М), но при этом наблюдалась чрезмерная карбонизация или дегидратация биоматериала. Гидролиз биомассы *I* осуществлялся и при концентрации серной кислоты 0,3 – 0,5 М. Частичный гидролиз этого материала происходил и при наиболее низкой концентрации H_2SO_4 (0,3 М), температуре 120°C и давлении 1 атм в течение 30 мин. 60%-ная степень конверсии была достигнута при гидролизе целлюлозы и присутствующего в биомассе лигнина в 0,3 М H_2SO_4 . Сделан вывод, что высокая концентрация кислоты не требуется для гидролиза биомассы *I*. Для гидролиза этой биомассы может быть использована серная кислота с низкой концентрацией, так как низкое содержание HCN в биомассе гидролизата, полученного при помощи 0,3 М H_2SO_4 делает этот процесс достаточно экономичным [45].

Высоко эффективный процесс предобработки биомассы разбавленной кислотой был хорош не только в лабораторных условиях, но и на пилотных установках и показал свою высокую эффективность [46].

Щелочной гидролиз

Для предобработки лигноцеллюлозных материалов могут быть использованы некоторые основания, эффективность щелочной предобработки зависит от содержания лигнина в исходном сырье [18, 21]. Механизм щелочного гидролиза основан на омылении внутримолекулярных поперечных эфирных связей в ксилане гемицеллюлозы и других компонентах, например лигнине и иной гемицеллюлозе. Пористость лигноцеллюлозного материала увеличивается при удалении поперечных связей [2]. Обработка лигноцеллюлозных материалов разбавленной NaOH приводит к набуханию и за счет этого к увеличению внутренней поверхности соприкосновения, снижению степени полимеризации, степени кристалличности, расщеплению структурных звеньев между лигнином и углеводами и разрушению структуры лигнина [21]. Степень ферментативной конверсии предобработанных NaOH лиственных пород увеличивается с 14 до 55% при понижении содержания лигнина с 24 – 25% до 20%. Однако не наблюдалось никакого эффекта при обработке щелочью хвойных пород с содержанием лигнина выше 26% [47]. Предобработка разбавленной NaOH оказалась также эффективна для гидролиза соломы с относительно низким содержанием лигнина (10 – 18%) [14]. В работе [48] авторы использовали комбинацию облучения и воздействия 2% NaOH для предобработки высушенных початков кукурузы, коры маниоки (кассава) и шелухи арахиса. Выход глюкозы после подобной предобработки составил для початков кукурузы 43% после обработки их облучением электронами в дозе 500 кГр и 2% NaOH, но выход глюкозы из коры маниоки и шелухи арахиса был только 3,5 и 2,5% соответственно.

С целью эффективного удаления лигнина был также использован аммиак. Описан рециркуляционный перколяционный процесс (процесс фильтрации) для предобработки смеси кукурузной соломы с измельченными початками и травой (свитчграссом) при температуре 170°C, концентрации аммиака 2,5 – 20% и времени реакции 1 ч. Эффективность расщепления составила 60 – 80% для кукурузной соломы и 65 – 85% для свитчграсса [49].

Окислительная делигнификация

Биодеградация лигнина может катализироваться ферментом пероксидазой в присутствии H_2O_2 [11]. Предобработка сахарного тростникового жмыха пероксидом водорода существенно повышала его предрасположенность к ферментативному гидролизу. Около 50% лигнина и большинство гемицеллюлозы растворялись при обработке сырья 2% перекисью водорода при 30°C в течение 8 ч и был достигнут 95% выход

глюкозы из целлюлозы при последующем проведении реакции в присутствии целлюлаз при 45°C в течение 24 ч [11]. Использовали также совместное окисление и щелочной гидролиз пшеничной соломы (20 г соломы/л; 170°C, 5 – 10 мин). В результате подобного объединенного процесса удалось получить 85% конверсию целлюлозы в глюкозу [14].

В работе [50] был изучен эффект окислительной делигнификации на скорость и степень эффективности ферментативного гидролиза (использованы продажные целлюлаза и β -глюкозидаза) на различные лигноцеллюлозные субстраты, включая крафт-пульпу (модельный субстрат), пульпу после первичного осветления отходов бумажного производства и щепу ели после парового взрыва. Окислительная делигнификация разрушала до 67% лигнина из пульпы после хвойных пород древесины и улучшала скорость и выход сахаров, в частности скорость гидролиза на 111% и выход на 174%. Выход глюкозы увеличивался пропорционально степени удаления лигнина. Окислительная делигнификация первично осветленных отходов производства бумаги увеличивала выход сахаров до 90%. Однако еловые опилки после парового взрыва были устойчивы к гидролизу при низких концентрациях фермента и окислительная делигнификация уменьшала скорость гидролиза и выход сахаров.

Процесс с органическими растворителями

В процессе с органическими растворителями, смесь органических или водных растворителей вместе с неорганическим кислым катализатором (HCl или H₂SO₄) была использована для расщепления внутренних связей лигнина с гемицеллюлозами. В качестве органического растворителя для процесса обычно использовали метанол, этанол, ацетон, этиленгликоль, триэтиленгликоль и тетрагидрофурфуроловый спирт [51, 52]. В качестве органических кислот – катализаторов могли быть также использованы такие кислоты, как щавелевая, ацетилсалициловая и салициловая кислоты [53]. При высоких температурах (около 185°C) добавление катализатора было необходимо для удовлетворительной делигнификации [53, 54]. Обычно высокий выход ксилозы мог быть получен только при добавлении кислоты. Растворители, используемые в этом процессе, необходимо было удалять из реакционной смеси, выпаривать, конденсировать и рециклизовать для снижения стоимости процесса. Удаление растворителей из системы было также необходимо из-за того, что они могли оказывать ингибирующее действие на рост микроорганизмов, ферментативный гидролиз и ферментацию.

Биологическая предобработка

Для биологической предобработки были использованы коричневая, белая и мягкая грибные гнили для деградации лигнина и гемицеллюлозы в отходах [2, 55]. Коричневая гниль действовала, главным образом на целлюлозу, тогда как белая гниль и мягкая гниль действовали как на целлюлозу, так и на лигнин. Наиболее эффективной оказалась белая грибная гниль для биологической предобработки лигноцеллюлозных материалов [21]. Хаттака [56] изучал предобработку пшеничной соломы 19 видами белой грибной гнили и обнаружил, что 35% соломы превращаются в редуцирующие сахара под действием *Pleurotus ostreatus* в течение 5 недель. Подобная конверсия была получена при использовании для предобработки *Phanerochaete sordida* 37 и *Pycnoporus cinnabarinus* 115 в течение четырех недель. Для того, чтобы предотвратить потери целлюлозы был использован мутант, лишенный целлюлазной активности, *Sporotrichum pulverulentum*, который расщеплял лигнин в древесных стружках [57]. Акин с сотр. [58] также сообщили о делигнификации бермудских водорослей при помощи грибов белой гнили. Биорасщепление бермудских водорослей было улучшено на 29 – 32% при использовании *Ceriporiopsis subvermispora* и на 63 – 77% при использовании *Cyathus strecoreus* в течение 6 недель.

Грибная культура белой гнили *P. chrysosporium* осуществляла биосинтез ферментов, расщепляющих лигнин, лигнин-пероксидазу и марганец-зависимую пероксидазу в процессе вторичного метаболизма при недостатке углерода или азота [59]. Все ферменты были обнаружены во внеклеточных фильтрах грибной культуры белой гнили после расщепления стенок древесных клеток [60, 61]. Другими ферментами были полифенолоксидаза, лакказа, ферменты, продуцирующие H_2O_2 и хинон-редуцирующие ферменты, которые также были способны расщеплять лигнин [62]. Преимущества биологической предобработки заключаются в низком потреблении энергии и среднем влиянии на окружающую среду. Однако скорость гидролиза при биологической предобработке была очень мала [2, 55].

Глава 6

Ферментативный гидролиз целлюлозы

Ферментативный гидролиз целлюлозы осуществляется целлюлазными ферментами высокой специфичности [63]. Продуктами гидролиза обычно бывают редуцирующие сахара, включая глюкозу. Стоимость ферментативного гидролиза существенно ниже по сравнению с кислотным или щелочным гидролизами за счет того, что ферментативный гидролиз обычно протекает при средних условиях (pH 4,8 и температура 45 – 50°C)

и при его проведении не возникает проблем с коррозией [15]. Как бактерии, так и грибы могут продуцировать целлюлазы для гидролиза лигноцеллюлозных соединений. Эти микроорганизмы могут быть аэробными или анаэробными, мезофильными или термофильными. Бактерии, принадлежащие к *Clostridium*, *Cellulomonas*, *Bacillus*, *Thermomonospora*, *Ruminococcus*, *Bacteriodes*, *Erwinia*, *Acetovibrio*, *Microbispora*, и *Streptomyces*, могут продуцировать целлюлазы [55, 64]. *Cellulomonas fimi* и *Thermomonospora fusca* также интенсивно изучаются для получения целлюлаз. Хотя многие целлюлолитические бактерии, в частности, такие целлюлолитические анаэробы как *Clostridium thermocellum* and *Bacteroides cellulosolvens* продуцируют целлюлазы с высокой специфической активностью, они не продуцируют высокие титры с высокой ферментативной активностью [15]. Из-за того, что анаэробы имеют очень низкую скорость роста и требуют для своего роста анаэробных условий, большинство коммерческих целлюлаз производится грибами [15].

Грибы, которые продуцируют целлюлазы, включают в себя *Sclerotium rolfii*, *P. chrysosporium* and разновидности *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Schizophyllum* и *Penicillium* [2, 15, 21]. Из всех этих грибов, грибы рода *Trichoderma* были наиболее изучены на предмет возможности получения целлюлаз [55].

Целлюлазы обычно представляют собой смесь нескольких ферментов. В гидролизный процесс включены, по крайней мере, три основных группы целлюлаз: 1) эндоглюконаза (EG, эндо-1,4-D-глюкангидролаза по классификации ферментов – ЕС 3.2.1.4.), которая атакует участки целлюлозы с низкой кристалличностью волокон, создавая цепи со свободными концевыми группами; 2) экзоглюконаза или целлобиогидролаза (CBH, 1,4-β-D-глюканцеллобиогидролаза – ЕС 3.2.1.91.), которая дальше расщепляет молекулу на целлобиозные субъединицы со свободными концевыми группами; 3) β-глюкозидаза (ЕС 3.2.1.21), которая гидролизует целлобиозу до глюкозы [55]. Дополнительно к этим трем группам целлюлаз осуществляется синтез других ферментов, которые действуют на гемицеллюлозу, таких как глюкуронидаза, ацетилэстераза, ксиланаза, β-ксилозидаза, галактоманназа и глюкоманназа [15]. В процессе ферментативного гидролиза целлюлазы расщепляют целлюлозу до редуцирующих сахаров, которые могут ферментироваться дрожжами или бактериями в этанол.

Интенсификация ферментативного гидролиза

Существуют факторы, усиливающие эффективность ферментативного гидролиза целлюлозы, которые включают субстраты, активность целлюлаз и условия реакции (рН, температура и другие

параметры). Для улучшения выхода сахаров и увеличения скорости ферментативного гидролиза, исследования сосредоточились на оптимизации процесса гидролиза и повышении активности целлюлаз [2].

Субстраты

Концентрация субстрата является одним из основных факторов, способствующих увеличению эффективности гидролиза. При низких концентрациях субстрата увеличение его концентрации приводит к увеличению выхода и скорости реакции гидролиза [8]. Однако повышение концентрации субстрата может привести к ингибированию реакции гидролиза, которое снизит скорость гидролиза, степень ингибирования субстрата зависит от соотношения концентрации субстрата к концентрации фермента [65, 66]. Хуанг и Пеннер [65] обнаружили, что ингибирование субстратом происходит в том случае, когда отношение микрокристаллического субстрата «авицел рН 10,1» по отношению к целлюлазы из *Trichoderma reesei* становится выше 5. Пеннер и Лиан [66] показали, что оптимальное соотношение фермента к субстрату составляет 1,25 г микрокристаллического субстрата «авицел рН 10,1» на 1 ед. целлюлазной активности из *T. reesei*. Приемлемость целлюлозного субстрата к целлюлазам зависит от структуры субстрата, включая кристалличность, степень полимеризации целлюлозы, поверхности контакта и содержания лигнина. Лигнин включается в гидролиз, блокируя доступ целлюлаз к целлюлозе и необратимо связывая ферменты. Поэтому удаление лигнина может существенно интенсифицировать скорость гидролиза [18].

Целлюлаза

Увеличение количества целлюлаз для проведения процесса гидролиза до некоторого избытка может повысить выход и скорость гидролиза, но значительно увеличивает стоимость процесса. Доза целлюлазы в количестве 10 ед./г целлюлозы (1 единица равна мкмоль редуцирующих сахаров в виде глюкозы, образующихся при гидролизе 50 мг фильтровальной бумаги при добавлении к ней 1 мл фермента в течение минуты) приводит к увеличению выхода глюкозы при проведении реакции в течение 48 – 72 ч и обеспечивает приемлемую стоимость процесса [67]. Количество целлюлазы, применяющейся для процесса гидролиза, менялось от 7 до 33 ед./г субстрата в зависимости от типа целлюлаз и концентрации субстрата.

Ферментативный гидролиз целлюлозы состоит из трех стадий: адсорбции фермента на поверхности целлюлозы, расщепления целлюлозы до сахаров и десорбции целлюлазы. Активность целлюлазы понижается в

процессе гидролиза. Причина этого явления частично объясняется необратимой адсорбцией целлюлазы на целлюлозе [42]. Добавление поверхностно активных соединений (ПАВ) в процессе гидролиза может существенно изменить свойства поверхности целлюлозы и уменьшить необратимое связывание целлюлазы на целлюлозе. ПАВ, применяющиеся для ферментативного процесса, включают в себя неионогенные: Твин 20 и 80 [68], полиоксиэтиленгликоль [69], твин 81, эмульген 147, амфотерный Anhitole 20BS, катионный Q-86W [70], софоролипид, бацитрацин и др. [71]. Ингибирующее действие наблюдалось с катионным ПАВ Q-86W при высоких концентрациях и анионным ПАВ Neopelex F-25 [70]. В связи с этим предполагают, что неионогенные ПАВ лучше подходят для гидролиза целлюлозы. Скорость ферментативного гидролиза улучшается при использовании 33% Твин-80 в качестве ПАВ при гидролизе газетной бумаги [72]. В работе [68] изучено влияние Pluronic F-68 и F88, а также Твин-20 и 80 для повышения ферментативного гидролиза предобработанной газетной бумаги. Конверсия целлюлозы с 2% F-68 и 2 г/л целлюлазы достигала 52%, по сравнению с 48% конверсией с 10 г/л целлюлазы в системе без ПАВ. Однако Твин-20 оказался сильным ингибитором *D. clauseni* даже при низкой концентрации 0,1%.

Подробно изучено применение смеси целлюлаз из различных микроорганизмов или смеси целлюлаз с другими ферментами для гидролиза целлюлозных материалов [73–75]. Добавление β -глюкозидаз к целлюлазной системе из *T. reesei* привело к получению лучшей сахарификации, чем система без β -глюкозидазы [74, 75]. Гидролиз целлобиозы, которая является ингибитором целлюлазной активности, был осуществлен при помощи β -глюкозидазы. Применение смеси гемицеллюлаз или пектиназ вместе с целлюлазами приводило к увеличению конверсии целлюлозы [73, 76]. Конверсия целлюлозы на 90% была достигнута при ферментативной сахарификации 8% раствора жмыха сахарного тростника после его предобработки щелочью, в том случае, если была использована смесь целлюлаз (доза 1,0 ед./г субстрата) из *A. ustus* и *T. viride* [77]. Практически полная сахарификация была достигнута после предобработки методом парового взрыва щепы из эвкалипта (концентрация субстрата 6% и количество фермента 10 ед./г целлюлозы), при использовании смеси торговых целлюлазных препаратов Celluclast и Novozym [78]. Бекер с сотр. [79] нашли новую термостабильную эндоглюконазу из *Acidothermus cellulolyticus* E1 и другую бактериальную эндоглюконазу из *T. fusca* E5, которая показывала выраженный синергизм с грибной целлюлазой из *T. reesei* СВН1 при сахарификации микрокристаллической целлюлозы.

Целлюлазы могут быть извлечены из жидкого супернатанта или из твердых остатков, но большинство рециклизованных целлюлаз были получены из жидкого супернатанта. За счет рециклизации фермента может

быть увеличена скорость и выход сахаров при гидролизе и снижена стоимость процесса [28]. Рамос с сотр. [78] сообщили, что смесь ферментов из продажных ферментных препаратов Celluclast и Novozym успешно рециклизуется и может использоваться для пяти циклов гидролиза при времени гидролиза 48 ч между каждым циклом. Эффективность гидролиза целлюлозы заметно понижалась после каждого цикла.

Известно, что D-ксилоза составляет 1/3 восстанавливающих сахаров, полученных в результате гидролиза лигноцеллюлозы. Несмотря на ее присутствие в сельскохозяйственных и лесных культурах, обнаружено, что ксилоза не ферментируется большинством дрожжей. Можно ожидать, что процесс для эффективной ферментации ксилозы значительно улучшит экономику переработки лигноцеллюлозных материалов в этанол и позволит использовать отходы бумаги, полученной сульфитным методом. *Pachysolen tannophilus* были первыми дрожжами, способными ферментировать ксилозу в этанол. В работе [80] дан обзор этих видов дрожжей. Обсуждаются различные методы для биоконверсии ксилозы в этанол при помощи дрожжей этого рода. Предложены также пути создания генетически модифицированных дрожжей этого рода.

Ингибирование целлюлазной активности конечным продуктом

Целлюлазная активность ингибируется целлобиозой и в меньшей степени глюкозой. Были предложены несколько методов для уменьшения ингибирования, включая использование высоких концентраций фермента, добавление β -глюкозидаз в процессе гидролиза и удаление сахаров в процессе гидролиза при помощи ультрафильтрации или одновременной сахарификации и ферментации.

Был изучен одновременный процесс сахарификации и ферментации для уменьшения степени ингибирования конечными продуктами гидролиза [81–85]. При этом процессе редуцирующие сахара, образующиеся в процессе гидролиза целлюлозы или сахарификации, одновременно ферментировали в этанол, что существенно уменьшало ингибирование сахарами процесса гидролиза.

Для осуществления этого объединенного процесса были использованы микроорганизмы из грибной культуры *T. reesei* и дрожжи *S. cerevisiae*. Оптимальной температурой для процесса была температура 38°C, которая является компромиссной температурой между оптимальной температурой гидролиза целлюлозы (45 – 50°C) и оптимальной температурой ферментации (30°C) [86]. Гидролиз обычно был наиболее медленной, лимитирующей стадией в этом объединенном процессе [87]. Были также использованы термотолерантные дрожжи и бактерии для повышения температуры, близкой к оптимальной температуре гидролиза

целлюлозы. Баллестерос с сотр. [88] идентифицировали 27 видов дрожжей *Kluveromyces marxianus* и *K. fragilis*, которые обладали самой высокой способностью продуцировать этанол при 42°C. *K. marxianus* обеспечивал выход этанола в количестве 0,5 г/г целлюлозы в течение 78 ч при 42°C. Кадам и Шмидт в 1997 году обнаружили, что термотолерантные дрожжи *Candida acidothermophilum* продуцируют этанол с 80% выходом при 40°C после предобработки стружек тополя разбавленной кислотой [89]. Было найдено, что штаммы *Kluveromyces* более термотолерантны, чем штаммы *Candida* и *S. cerevisiae* [90].

По сравнению с двух-стадийным методом получения этанола путем гидролиза целлюлозы и ферментации сахаров объединенный метод имеет следующие преимущества: 1) наблюдается увеличение скорости гидролиза в сахара, которые ингибируют активность целлюлаз; 2) более низкие требования к качеству ферментов; 3) более высокий выход продукта; 4) более низкие требования к стерильности системы, так как глюкоза немедленно превращается в этанол; 5) более короткое время проведения процесса; 6) меньшее количество реакторов, так как процесс проводится в одном реакторе. Однако этанол обладал также ингибирующим действием на активность целлюлазы в объединенном процессе. Ву и Ли [91] обнаружили, что при объединенном процессе целлюлаза теряет 9%, 36% и 64% своей первоначальной активности при концентрации этанола в реакционной массе 9, 35 и 60 г/л соответственно при 38°C. Недостатками, которые также следует учитывать при проведении объединенного процесса, являются: 1) не совпадающая оптимальная температура гидролиза и ферментации; 2) устойчивость этанола к микроорганизмам; 3) ингибирование ферментов этанолом.

О подобных преимуществах и недостатках при совмещении двух процессов гидролиза и ферментации в одном реакторе подробно говорится и в статье [17]. За счет относительно простых условий процесса ферментативного гидролиза и ферментации полученных сахаров в этанол можно совместить эти процессы и проводить их в одном ферментере, в результате чего стоимость получения этанола существенно уменьшается. Рассмотрены различные лигноцеллюлозные субстраты, включая картон и отходы бумаги, для получения этанола. Сравнивались два вида штаммов дрожжей, коммерческие пекарские дрожжи и термотолерантные дрожжи *Kluveromyces marxianus* в реакторе двух типов: изотермическом реакторе и реакторе с изменением температуры. В результате было установлено, что отходы картона и бумаги могут быть использованы в качестве субстратов для получения этанола. Не наблюдалось никакой заметной разницы в получении этанола при помощи *Saccharomyces cerevisiae* и *Kluveromyces marxianus*. Выхода этанола достигали 0,31 – 0,34 г/г для обоих штаммов. Однако изотермический процесс обеспечивал более высокий выход этанола по сравнению с неизотермическим процессом [17].

О преимуществе использования бумажных отходов для производства этанола говорится в работах [92, 93]. В работе [92] описан процесс эффективной биоконверсии отходов бумаги в этанол. Сахарификация осуществляется кратковременным действием на отходы бумаги целлюлазами при 45°C и последующей ферментацией в присутствии ферментов при 37°C. Выход этанола достигал 350 – 400 л/т отходов бумаги и конечный раствор имел 8% концентрацию этанола по объему. В отдельных случаях для этих целей была использована продажная целлюлаза, в других случаях, целлюлаза, полученная в лабораторных условиях. Перед сахарификацией не требовалось никакой предобработки, так, как это принято для лигноцеллюлозы. Если учесть, что количество бумажных отходов в США составляет около 100 миллионов тонн в год, то этой биоконверсии достаточно, чтобы заменить 16% бензина на спирт.

В работе [93] обсуждается возможность одновременной сахарификации и ферментации для промышленных отходов бумаги после процесса ее аммоний-сульфитного производства. Процесс стимулировали применением целлюлазы из грибной культуры *Penicillium decembens* JU-A10 вместе с β -глюкозидазой и целлюлазой из *Aspergillus niger* L22. Когда соотношение активности β -глюкозидазы к активности целлюлазы по отношению к фильтровальной бумаги увеличивалось до 1,0 и целлюлазная активность была $\geq 2,0$ ед/мл, удалось получить этанол с максимальной концентрацией 5,4%. Кроме того, расщепление целлюлозы и волокон фильтровальной бумаги увеличивалось соответственно на 33,9 и 15,2%, а выход этанола увеличивался на 42,1% по сравнению с выходом этанола при ферментации с использованием *P. decembens* JU-A10 только при использовании одной целлюлазы.

Предложен также непрерывный процесс производства этанола из отходов ананасов при использовании иммобилизованных клеток дрожжей. Клетки *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 24553 были иммобилизованы в *k*-каррагенан и помещены в клиновидный стеклянный колоночный реактор для получения этанола из отходов фабричного производства ананасов при температуре 30°C и pH 4,5. Максимальная продуктивность этанола достигала 42,8 г/л в час при факторе разбавления 1,5. Объемная продукция этанола была в 11,5 раз выше, чем при использовании свободных клеток. Реактор с иммобилизованными клетками работал в течение 87 сут при факторе разбавления 1,0 без потери активности иммобилизованных клеток. Максимальная специфическая продуктивность этанола и специфическая скорость потребления сахара составляли соответственно 1,2 г этанола/г сухих клеток в час и 2,6 г сахара/г сухих клеток в час при факторе разбавления 1,5 [94].

В настоящее время сконструирована также специальная интегральная установка для расщепления ксилана и производства этанола при помощи дрожжей *Schizosaccharomyces pombe* и *Lentia edodes*.

Дрожжеподобные организмы были успешно получены из протопластов *Schizosaccharomyces pombe* и *Lentia edodes*. Новый микроорганизм мог усваивать 28 источников углерода, существенно лучше, чем исходные дрожжевые клетки. При использовании глюкозы в качестве источника углерода новый штамм мог продуцировать спирт в качестве основного продукта и арабит в качестве побочного продукта. Используя ксилозу или смесь глюкозы с ксилозой (1:5), арабит и ксилит были получены в качестве основного и минорного продуктов, соответственно. При использовании ксилана рост биомассы быстро выходил на плато через 10 сут и составлял 18,2 – 18,4 г/л. Ксилоза, ксилит и арабит получались в результате биосинтеза с арабитом в качестве основного и конечного продукта. Скорость синтеза на одной глюкозе или вместе с другими сахарами изменялась в следующей зависимости: глюкоза ($0,28 \text{ ч}^{-1}$) > ксилоза-глюкоза ($0,21 \text{ ч}^{-1}$) > ксилоза ($0,15 \text{ ч}^{-1}$) > ксилан ($0,11 \text{ ч}^{-1}$). Агроотходы и арабиноза были наиболее приемлемы для расщепления фузантами. Внеклеточная ксилананаза, внутриклеточная ксилоза-редуктаза, ксилит-дегидрогеназа и арабит-дегидрогеназа содержались в больших количествах в полученных химерных дрожжах. Таким образом, можно было получать этанол или другие полиолы данными химерными дрожжами [95].

Дальнейшие перспективы

В работе [16] определен потенциал производства этанола из различных лигноцеллюлозных сельскохозяйственных отходов. Для избегания конфликта между продуктами сельского хозяйства, используемых для пищевых целей человека и индустриально используемыми сельскохозяйственными растениями, были приняты во внимание только отходы этих растительных культур. Биомасса лигноцеллюлозы из сельскохозяйственных растений, таких как их остатки после получения пищевой продукции и жмых сахарного тростника были учтены в качестве сырья для получения этанола. 73,9 триллионов т сухих отходов сельского хозяйства в мире могли потенциально быть использованы для получения 49,1 гигалитров /год биоэтанола. Таким образом, общий потенциал продукции биоэтанола из отходов сельского хозяйства составит 491 гигалитров в год, т.е. в 16 раз выше, чем все мировое производство этанола. Потенциально продукция биоэтанола может заменить 353 гигалитров (Гл) бензина (32% всей продукции нефти), если использовать этанол в топливе марки E85 для имеющих средний размер пассажирских транспортных средств. Кроме того, остатки, богатые лигнином, которые являются побочным продуктом при производстве этанола могут дать из отходов сельскохозяйственных растений и жмыха сахарного тростника еще 458 тонн киловатт-часов электричества (около 3,6% мировой продукции электричества) и 2,6 EJ пара. Азия обладает

наиболее высоким потенциалом для производства биоэтанола из отходов сельского хозяйства и других отходов и может производить 291 Гл/год биоэтанола. Рисовая солома, пшеничная солома и отходы кукурузы являются наиболее удобными источниками энергии для производства биоэтанола в Азии. Другой потенциальный регион – Европа (69,2 Гл биоэтанола), где биоэтанол может быть получен из пшеничной соломы. Отходы кукурузы являются основным сырьем для получения этанола в Северной Америке, из которых можно получить 38,4 гигалитров/год биоэтанола. В глобальном масштабе из рисовой соломы можно получить 205 Гл биоэтанола, который образуется с самым высоким выходом из сырья. Другим высокопродуктивным сырьем для производства этанола является пшеничная солома, из которой можно получить 104 Гл биоэтанола. Цель этих данных – продемонстрировать перспективы возможного получения биоэтанола в глобальном масштабе и по регионам, а также суммировать все эти данные для того, чтобы показать основу получения биосинтетических соединений, таких как молочная кислота, которую можно получать даже в больших масштабах, чем этанол, из отходов сельского хозяйства и других отходов.

Промышленность США выпустила в 2000 г более, чем 6,2 биллиона литров этанола, большинство из которого было получено из кукурузы [96]. Однако увеличение в производстве этанола из кукурузы ограничено площадью посевов. Цена кукурузы для производства этанола увеличивается на 1,2 – 2,0 \$/тонну для каждых 2,5 миллионов тонн кукурузы, используемой для производства этанола [97]. С другой стороны, имеются огромные резервы для получения этанола из лигноцеллюлозных материалов или их отходов. Использование лигноцеллюлозных соединений может заменить не менее 40% бензина [16, 98]. Использование таких лигноцеллюлозных соединений, как остатки сельскохозяйственных культур, трав, отходов лесных насаждений и другой дешевой биомассы может значительно уменьшить (по сравнению с кукурузой и зерном) стоимость сырья для получения этанола.

Уменьшение стоимости получения этанола может быть достигнуто за счет либо уменьшения стоимости сырья, либо за счет увеличения активности целлюлаз. Очевидно, что использование генетически модифицированного сырья с высоким содержанием углеводов в комбинации с улучшением технологии гидролиза может уменьшить стоимость этанола до 0,11\$ за литр в течение ближайших 10 лет [99]. Уменьшение стоимости ферментов также является путем к уменьшению стоимости этанола. Генная инженерия была использована для клонирования целлюлаз, кодирующих последовательности в ряде бактерий, дрожжей, грибов и растений для создания новых систем получения целлюлаз с улучшенной репродукцией и активностью. Вуд с сотр. [100] сообщили об экспрессии генов рекомбинатной эндоглюконазы

из *Erwinia Chrysanthemi* P86021 в *Escherichia coli* KO11 и рекомбинантной системы, продуцирующей 3200 ед./л эндоглюконазы. Термостабильная эндоглюконаза Е 1 из листьев *Arabidopsis thaliana* была клонирована в листья *Arabidopsis thaliana* [101], картофель [102] и табак [103].

Использование генетически модифицированных микроорганизмов, которые могут превращать ксилозу и/или пентозу в этанол может существенно увеличить производство этанола и значительно снизить его стоимость. Сконструированные опероны, повышающие накопление ксилозы и ферментов пентозофосфатного пути получения ферментов были перенесены в бактерии *Zymomonas mobilis* для эффективной ферментации ксилозы в этанол [104]. Рекомбинантный штамм *E. coli* с генами из *Z. mobilis* для превращения пирувата в этанол описан Даен с сотр. [105]. Была также успешно трансформирована рекомбинантная плазмида с генами ксилон-редуктазы и ксилон-дегидрогеназы из *Pichia stipitis* и ген ксилокиназы из *Saccharomices cerevisiae* в *Saccharomices* sp для совместной ферментации глюкозы и ксилозы [106].

Несмотря на то, что биотехнологическая продукция существенно улучшилась за счет новых технологий, имеется еще много проблем, которые требуют дальнейших исследований. Эти проблемы включают необходимость получения стабильных генно-инженерных дрожжей при их производстве для коммерческих целей [107] и необходимость разработки более эффективных технологий предобработки лигноцеллюлозной биомассы и интегрирования оптимальных компонентов в системы экономически выгодных технологий получения этанола.

Глава 7

Кислотные гидролизаты лигноцеллюлозного материала

Ранее мы уже неоднократно упоминали о том, что только эффективная переработка лигноцеллюлозных материалов может уменьшить потребность человечества в невозобновляемых источниках энергии, таких как нефть, газ или уголь, залежи которых, как мы уже упоминали, начинают истощаться, что не может не сказаться на развитии научно-технического прогресса, потребности которого в энергии увеличиваются год от года. Однако, учитывая в настоящий момент слишком высокие цены на целлюлазы и их низкую активность, одновременно с развитием этой промышленности нельзя упускать из виду и традиционные методы предобработки целлюлозы при помощи разбавленных кислот с последующим удалением из них ингибиторов спиртовой ферментации.

Ранее также было упомянуто, что отходы лесных и сельскохозяйственных культур являются повсеместными, воспроизводимыми и недорогими источниками энергии. При их гидролизе

происходит освобождение сахаров (D-глюкозы, D-галактозы, D-маннозы, D-ксилозы и L-арабинозы) и других компонентов, образующихся за счет расщепления сахаров и лигнина (фурфурол, оксиметилфурфурол, уксусная кислота, сиреневая кислота, *n*-оксибензойная кислота, ванилин и другие соединения). Полученные гидролизаты лигноцеллюлозы можно использовать в качестве сред для ферментации при получения ксилита, этанола и других полезных соединений. Однако побочные продукты расщепления сахаров и лигнина оказывают отрицательное влияние на эффективность ферментации за счет их токсичности для микроорганизмов, участвующих в ферментации, и ингибирования метаболизма микроорганизмов. Поэтому знание о структуре и свойствах ингибиторов, образующихся в процессе кислотного гидролиза, могут существенно уменьшить их влияние на процессы ферментации. В связи с этим представленная глава попытается дать представление о видах ингибиторов и путей уменьшения их токсического влияния.

Гидролизаты лигноцеллюлозы

Как хорошо известно из литературы [1, 108, 109], лигноцеллюлоза состоит из трех основных компонентов: целлюлозы, собственно лигноцеллюлозы и лигнина, содержание которых зависит от видов растений. Комплексная структура лигноцеллюлозы в растениях формирует защитный барьер для расщепления клеток бактериями и грибами. Для того, чтобы сделать эту структуру приемлемой для конверсии в процессе ферментации, целлюлоза и гемицеллюлоза должны быть гидролизованы до соответствующих мономеров (сахаров) для их последующего использования микроорганизмами [110].

Хотя в настоящее время предложены несколько методов для гидролиза лигноцеллюлозы, глава посвящена методике гидролиза этих материалов разбавленными кислотами, который является одним из двух процессов гидролиза отходов сельского хозяйства и древесины (другим процессом, как уже говорилось ранее, является ферментативный гидролиз). В общих чертах, кислотный гидролиз лигноцеллюлозных материалов обычно осуществляется при помощи разбавленной серной или соляной кислот в концентрации 2 – 5% при температуре около 160°C и давлении около 10 атм. [111]. В этом процессе концентрация кислоты и температура являются основными факторами для образования токсичных компонентов. Умеренные температуры (<160°C) оказывают благоприятное действие для гидролиза, обеспечивая низкое расщепление сахаров. С другой стороны, температуры около 160°C благоприятны для гидролиза целлюлозы, обеспечивая получение высокого количества сахаров и разложение лигнина [18].

Исходя из этих исследований по гидролизу лигноцеллюлозных материалов, Сан и Ченг [111] пришли к заключению, что концентрированные кислоты, включая серную и соляную, являются коррозионными, вредными соединениями, требующими использования коррозионно-устойчивых реакторов. Кроме того, подобные кислоты должны быть удалены после гидролиза, поскольку только в этом случае процесс становится экономически целесообразным. Другим фактором в процессе гидролиза является время реакции. Если время реакции превышает 1 ч, то концентрация ксилозы уменьшается за счет расщепления [112]. Палмквист и Хак-Хагердал [113] попытались выяснить взаимосвязь между основными и побочными продуктами гидролиза. Согласно их исследованиям, целлюлоза может расщепляться в глюкозу, и гемицеллюлоза может расщепляться в ксилозу, маннозу, уксусную кислоту, галактозу и глюкозу. При более высоких температурах и давлениях глюкоза и ксилоза могут превращаться в фурфурол и оксиметилфурфурол. Когда фурфурол и оксиметилфурфурол расщепляются, то образуется муравьиная кислота. Левулиновая кислота образуется при расщеплении оксиметилфурфурола, и фенольные производные образуются из частичного расщепления лигнина. Кроме этих соединений другие химические вещества образуются в процессе гидролиза, например, такие как сиреневая кислота, ванилин, капроновая, каприловая, пеларгоновая и пальмитиновая кислоты, которые являются токсикантами для микроорганизмов.

Ингибиторы гидролизатов лигноцеллюлозы

Таким образом, основные токсичные компоненты и их концентрации в гидролизатах лигноцеллюлозы зависят от исходного материала и условий гидролиза. Кроме того, процесс ферментации зависит от физиологического состояния клеток, количества растворенного кислорода и pH среды, которые могут также оказать влияние на токсичность образовавшихся компонентов [114]. Токсичные компоненты могут вызвать стресс у микроорганизмов, способных использовать сахара и уменьшить их способность использовать сахара для своего последующего роста. В соответствии с утверждениями, приведенными в работах [115, 116] Олсон и Хак-Хагердал [115], а также Пираджи с сотр. [116], токсичные компоненты можно разделить на четыре группы: продукты расщепления сахаров; продукты расщепления лигнина, соединения, подобные структуре лигнина, и ионы тяжелых металлов.

Продукты расщепления сахаров

В процессе гидролиза пентозные сахара могут расщепляться до фурфурола, токсичность которого зависит от его концентрации в ферментационной среде и который может ингибировать рост клеток и выход клеточной биомассы за счет воздействия на АТФ [113, 117]. При изучении биосинтеза этанола дрожжами *Pichia stipitis* было обнаружено, что концентрация фурфурола ниже 0,5 г/л оказывает положительное влияние на рост клеток, тогда как концентрация 2 г/л почти полностью ингибировала рост клеток [118]. Последующие исследования показали, что концентрации фурфурола 0,5, 1,0 и 2 г/л уменьшают рост *P. stipitis* на 25%, 47% и 99% соответственно [119]. Ниган [120] обнаружил, что концентрация фурфурола 0,25 г/л в ферментационной среде не достаточна для уменьшения выхода этанола и его биосинтеза, но концентрация 1,5 г/л и выше нарушает дыхание микроорганизмов. Выход этанола и его биосинтез снижались соответственно на 90,4% и 85,1%.

Другой токсичный компонент – оксиметилфурфурол образуется за счет расщепления гексоз. В работе [113] сообщено о том, что ингибирующее действие этого компонента подобно ингибирующему действию фурфурола и вызывает длительную фазу лаг-периода в процессе роста. Однако оксиметилфурфурол был менее токсичен, чем фурфурол и его концентрация в гидролизатах гемицеллюлозы обычно была ниже за счет следующих факторов: 1) низкого содержания гексозы в гемицеллюлозе; 2) условий, используемых для гидролиза гемицеллюлоз, при которых обычно не происходило расщепление гексоз в больших количествах и 3) высокой реакционной способности этого компонента.

В соответствии с данными работы [119], рост *P. stipitis* уменьшался на 43%, 70% и 100% когда концентрации оксиметилфурфурола в среде были соответственно 0,5, 0,75 и 1,5 г/л соответственно. Несколько позже было показано, что концентрация оксиметилфурфурола 1 г/л была достаточна для ингибирования роста клеток и ферментации *Saccharomyces cerevisiae* [121]. Мартинец с соавторами [122] заметил, что биосинтез этанола при помощи *E. coli* из гидролизатов гемицеллюлозы жмыха сахарного тростника усиливался за счет фуранов (оксиметилфурфурола и фурана) только в том случае, когда их концентрации были выше 900 мг/л. Каждый из компонентов в отдельности оказывали меньшее токсическое действие в гидролизатах гемицеллюлозы. Кроме того, синергетическое действие наблюдалось и в том случае, когда имело место комбинация фенольных и ароматических компонентов, образующихся при деградации лигнина, и нескольких типов кислот (уксусная, муравьиная и леволиновая). Имеется также сообщение о том, что фурфурол, оксиметилфурфурол и ацетат – все компоненты, производные из кислого гидролиза лигноцеллюлозы – ингибировали рост клеток и ферментацию ксилоты

Pachysolen tannophilus и *P. stipitis*, последний вид дрожжей оказался самым чувствительным [123]. В той же работе имеются данные о том, что влияние токсичных компонентов ксилозы на метаболизм дрожжей весьма сложен и было обнаружено, что процесс ферментации ингибируется за счет синергетического действия этих компонентов [123].

Продукты разрушения лигнина

В процессе гидролиза лигноцеллюлозных материалов образуется большое количество разнообразных компонентов: ароматических, полиароматических, фенольных и альдегидов. Фенольные компоненты оказывают значительное ингибирующее действие на ферментацию лигноцеллюлозных продуктов и наиболее токсичны те компоненты, которые имеют более низкую молекулярную массу. Фенольные компоненты вызывают разрушение и потерю монолитности биологических мембран, лишая тем самым их способности служить селективными барьерами и матрицей для ферментов. В результате уменьшается рост клеток и ассимиляция сахаров [113].

Параджи и соавторы [116] сообщили, что продукты разрушения лигнина более токсичны для микроорганизмов, чем фурфурол и оксиметилфурфурол, даже, если их концентрации ниже. Они заметили также, что метаболизм ксилозы у *S. cerevisiae* на гидролизатах древесины полностью или наполовину ингибировался ванилином в концентрациях 5 или 3,7 г/л, соответственно. Показано и влияние различных концентраций фенолов (от 0,1 до 4 г/л) на биоконверсию ксилозы в ксилит дрожжами *Candida guilliermondii* и установлен тот факт, что фенол при концентрациях ниже 0,1 г/л не оказывает никакого влияния ни на рост клеток, ни на образование ксилита, но при более высоких концентрациях он оказывает сильное ингибирующее действие [109].

Компоненты, производные от лигноцеллюлозных структур

Несколько ингибирующих соединений, таких как экстракты из сырья для гидролиза (кислые смолы, танины и терпеновые кислоты) и производные уксусной кислоты из ацетильных групп, присутствующих в гемицеллюлозе, попадают внутрь гидролизатов в процессе гидролиза. Согласно данным работы [18], эти экстракты оказывают меньшее ингибирование на рост микроорганизмов по сравнению с производными лигнина или уксусной кислоты.

Лауфорд и Роуси [124] сообщили, что при низких значениях pH ферментационной среды, уксусная кислота ($pK_a = 4,7$), по-видимому, находящаяся в недиссоциированной форме, растворяет липиды и диффундирует через мембраны плазмы. Одними из внутри клеточных

соединений, где рН 7,4, являются кислые клеточные диссоциаты, которые, накапливаясь в цитоплазме, разряжают протоны. Как следствие этого, значение рН внутри клетки падает, ингибируя активность клеток и даже вызывая их гибель.

Токсичность уксусной кислоты меняется в зависимости от условий культивирования ферментационного процесса. Ван-Зил с сотр. [125] использовали *P. stipitis* для производства этанола из гидролизатов жмыха сахарного тростника и обнаружили, что степень ингибирования, вызванная уксусной кислотой, зависит не только от ее концентрации, но также и от концентрации кислорода и значения рН среды. При рН 6,4 и концентрации уксусной кислоты свыше 4 г/л наблюдалось падение концентрации этанола на 50% при увеличении концентрации уксусной кислоты в среде до 15 г/л. Однако при рН 5,1 наблюдалось аналогичное уменьшение концентрации этанола, когда концентрация уксусной кислоты в среде была только 1%, и не наблюдалось никакого биосинтеза этанола при концентрации уксусной кислоты в гидролизате 10 г/л.

По данным Филипе с соавторами [126], концентрация уксусной кислоты в среде 1,0 г/л увеличивала биоконверсию ксилозы в ксилит, но концентрация свыше 3 г/л оказывало вредное действие на процесс ферментации. С другой стороны, имеются данные [115], что концентрация уксусной кислоты до 10 г/л в среде, свободной от других токсичных компонентов, увеличивало синтез этанола.

Ионы тяжелых металлов

Ионы тяжелых металлов (железа, хрома, никеля и меди) могут попасть в культуральную среду за счет процессов коррозии реакторов, и ингибировать пути метаболизма микроорганизмов. Ватсон с сотр. [127] изучали влияние катионов металлов на рост клеток *P. tannophilus* и на активность ферментов, участвующих в метаболизме ксилозы. Они показали, что синтетическая среда, содержащая концентрации металлических катионов, подобна той, которая обычно наблюдается в гидролизатах. Микробиологическая активность слегка уменьшалась, когда медь, никель, хром и ионы железа присутствовали в среде в количествах, меньших, чем 4, 5, 100 и 150 мг/л соответственно. С другой стороны, получение этанола уменьшалось на 60% при концентрации никеля в среде 100 мг/л.

Комбинированное действие нескольких токсичных компонентов: синергетическое действие

Максимальные концентрации каждого ингибитора, которым могут противостоять микроорганизмы, сильно зависят от таких факторов, как

вид микроорганизма, его адаптация к среде, типу ферментационного процесса, числу ингибиторов, присутствующих в среде и их синергетическому действию. В соответствии с данными работы [116], продукция этанола стимулируется уксусной кислотой (до 10 г/л) в среде, лишенной фурфурола, и содержащий фурфурол в концентрации г/л без уксусной кислоты. Однако комбинация этих двух компонентов отрицательно сказывается на скорости роста, выходе клеточной биомассы и этанола. Зальдер с сотр. [128] показали, что токсичность гидролизатов гемицеллюлозы является результатом агрегации нескольких токсичных компонентов (спиртов, альдегидов и кислот), но не за счет самих индивидуальных соединений.

Ниган [120] попытался получить этанол из гидролизатов гемицеллюлозы пшеничной соломы и на синтетической среде, которые содержали одни и те же концентрации уксусной кислоты, фурфурола и производных лигнина. В синтетической среде выход этанола и продуктивность были соответственно на 74,4% и 83% ниже, чем та же продуктивность в гидролизатах. Тот же самый автор изучил три других синтетических среды, каждая из которых содержала только один токсичный компонент, и обнаружил, что процент уменьшения выхода и продуктивности были соответственно 30,2% и 59,6% для среды, содержащей уксусную кислоту; на 7% и 12,8% в среде, содержащей фурфурол и на 14% и 44,7% в среде, содержащей производные лигнина. Таким образом, ингибирующее действие этих компонентов было выше при их комбинации за счет синергетического действия.

Методы детоксикации гидролизатов

При сравнении ферментации продажных сахаров и детоксицированных гидролизатов, ферментация не детоксицированных гемицеллюлозных гидролизатов характеризуется более медленной кинетикой с ограниченным выходом и продуктивностью. Это объясняется за счет присутствия различных компонентов в среде, которые действуют как сильные ингибиторы метаболизма микроорганизмов. Поэтому лигноцеллюлозные субстраты необходимо предобрабатывать и нейтрализовать до оптимальных значений pH, которые более подходят для метаболизма микроорганизмов [109, 129–132].

Проведено несколько исследований, посвященных идентификации токсичных компонентов и уменьшению их токсичного действия на процесс ферментации в гидролизатах гемицеллюлозы. В соответствии с данными Тагерзаде с сотр. [114] имеются четыре различных пути уменьшения количества ингибиторов в гидролизатах гемицеллюлозы:

- 1) избегать образования ингибиторов в процессе гидролиза;
- 2) детоксицировать гидролизаты перед ферментацией;
- 3) получить

специальные виды микроорганизмов, устойчивых к действию ингибиторов; 4) превратить токсичные компоненты в соединения, которые не влияют на метаболизм клеток. Эти авторы сообщили также о новых генно-инженерных микробных штаммах, которые могут снизить потребность для детоксикации гидролизатов. Однако, до сих пор не охарактеризованы те компоненты, к которым устойчивы эти генетически модифицированные микроорганизмы.

Большинство детоксикационных методов, включая биологические, физические и химические методы, основаны на трансформации ингибиторов в неактивные компоненты или на уменьшении их количеств. Эффективность детоксикационного метода зависит от типа гидролизата гемицеллюлозы и на специфике используемых микроорганизмов, так как каждый тип гидролизата имеет различную степень токсичности и каждый вид микроорганизма имеет различную толерантность к ингибиторам [133]. Поэтому перед выбором метода детоксификации необходимо, хотя бы приблизительно, знать состав гидролизата, который зависит от состава сырья для гидролиза и условий его проведения.

Биологические методы

Биологические методы обработки, как уже частично упоминалось в предыдущей главе, включают использование специфических ферментов или микроорганизмов, которые действуют на токсичные компоненты, присутствующие в гидролизатах и изменяют их состав. Гидролизаты древесины детоксифицируют лакказой и ферментами пероксидаз из грибных культур белой плесени *Trametes versicolor*, приводящих к увеличению концентрации глюкозы и продуктивности этанола за счет действия этих ферментов на кислоты и фенольные компоненты [134]. Механизм детоксифицирующего действия этих ферментов, возможно, включает окислительную полимеризацию низкомолекулярных компонентов фенола.

Также предложено использование микроорганизмов для селективного удаления ингибиторов из гидролизатов лигноцеллюлозы. Шнейдер [135] сообщил, что концентрация уксусной кислоты в среде снижается от 6,8 г/л до менее, чем 0,4 г/л в гидролизатах древесины за счет селективного удаления ее мутантными культурами *S. cerevisiae*.

Адаптация микроорганизмов к гидролизатам еще один интересный биологический метод для улучшения ферментационной среды гидролизатов гемицеллюлозы [115, 116, 136–138]. Этот метод основан на успешной ферментации, утилизирующей микроорганизмы каждого эксперимента как среду для следующего. Согласно данным Сильва и Роберто [137], адаптация *Candida guilliermondii* к гидролизатам гемицеллюлозы рисовой соломы для продукции ксилита является

эффективным и недорогим методом для предотвращения ингибирующего действия токсичных компонентов при биоконверсии ксилозы в ксилит.

Физические методы

Концентрация гидролизатов под вакуумом является методом физической детоксикации для уменьшения количества таких летучих компонентов, как уксусная кислота, фурфурол и ванилин, присутствующих в гидролизатах. Однако этот метод увеличивает также в определенной степени концентрации нелетучих токсичных компонентов (экстрактов и производных лигнина) и соответственно степень ингибирования ферментации. Объем гидролизата необходимо уменьшить на 1/3 часть, и время ферментации, необходимое для достижения 90% конверсии дрожжей в ксилозу увеличивается с 24 до 94 ч. Ларссону с сотр. [133] удалась попытка полного отделения фурфурола из гидролизата гемицеллюлозы древесины, для чего им понадобилось на 90% уменьшить объем среды за счет концентрации ее под вакуумом. С другой стороны, концентрация оксиметилфурфурола понижалась при этом только на 4%. Сильва и Роберто [139] использовали вакуумное выпаривание гидролизата рисовой соломы в качестве субстрата для микробной конверсии ксилозы (90 г/л) в ксилит. В результате было обнаружено, что процесс получения ксилита резко тормозится за счет увеличения нелетучих компонентов, которые токсичны для микроорганизмов и сильного вмешательства в процесс ферментации.

В работе [140] сообщается о том, что вакуумная выпарка подходит для удаления уксусной кислоты, фурфурола и других летучих компонентов из гидролизатов гемицеллюлозы, улучшая тем самым процесс ферментации для получения ксилита. Авторы работы [140] сообщили ранее, что [141], что выпаривание подходит для удаления уксусной кислоты, фурфурола и других летучих компонентов из гидролизатов гемицеллюлозы, улучшая процесс для биосинтеза ксилита. Родригес и сотр. использовали процесс вакуумного выпаривания до и после обработки гидролизата жмыха сахарного тростника активированным углем [142]. В результате было удалено 98% фурфурола, тогда как содержание уксусной кислоты уменьшалось только частично, так как этот компонент летуч только в недиссоциированной форме.

Химические методы

Химические методы включают осаждение токсичных компонентов и ионизацию некоторых ингибиторов при определенных значениях pH, величина которого имеет большое значение для изменения степени токсичности компонентов [125, 129, 132, 143]. Токсичные компоненты

могут быть также удалены адсорбцией на активированном угле [132, 144, 145], на диатомной земле [146], и на ионообменных смолах [125, 133, 147, 148].

Согласно данным работы [129], значение pH доводят при помощи комбинации кислот и оснований низкой стоимости, в результате чего получают хорошие результаты. При доведении pH в гемицеллюлозном гидролизате жмыха сахарного тростника вначале до 10 при помощи $\text{Ca}(\text{OH})_2$ и затем до 6,5 при помощи H_2SO_4 , эти авторы получили частичное удаление фенольных и других компонентов и достигли выхода ксилита до 48 г/г. Ван Зил с сотр. [125], используя тот же вид гидролизата, вначале доводили значение pH $\text{Ca}(\text{OH})_2$ и затем NaOH, и пришли к заключению, что первая обработка повышает способность гидролизата к ферментации, тогда как последняя повышает осаждение токсичных компонентов.

В работе [117] NaOH и $\text{Ca}(\text{OH})_2$ были использованы для доведения pH до 10,0 у гидролизата ели разбавленной кислотой, что приводило к уменьшению на 22% концентрации кетонов Хибберта и снижению на 20% концентрации фурфурола и оксиметилфурфурола. С другой стороны, концентрация уксусной кислоты при этой процедуре не изменялась. Имеется также сообщение о том, что использование $\text{Ca}(\text{OH})_2$ для изменения pH гидролизата жмыха сахарного тростника до 9,0, является эффективным методом детоксикации [122]. Для проведения своего эксперимента авторы работы [122] нагревали гидролизат до 25 и 60°C. Последняя температура оказалась более приемлемой для подобного вида обработки, так как при этом удалялось около 51% от общего содержания фуранов и 41% фенольных компонентов при потере только 8,7% сахаров. Среди химических методов обработки гидролизатов лигноцеллюлозного материала, широко применяется активированный уголь за счет его низкой стоимости и высокой адсорбционной способности [132, 144, 145].

При изучении синтеза этанола дрожжами рода *Candida* sp., Гонг с соавторами [149] обрабатывали жмых сахарного тростника тремя различными методами: 1) изменением pH; 2) добавлением активированного угля и 3) использованием ионообменных смол. Изменение величины pH (с 8,5 при помощи CaO и до 7,0 при помощи H_3PO_4) вызывало наиболее высокое ингибирование роста клеток в процессе ферментации. Использование ионообменных смол давало в результате лучшие результаты при производстве этанола (0,463 г/л) спустя 96 ч ферментации, но так как ионообменные смолы дороги. Те же самые авторы предложили иной метод обработки кислых гидролизатов из жмыха сахарного тростника: (нейтрализация, обработка активированным углем с последующей нейтрализацией и применение ионообменных смол вместе с нейтрализацией). Большинство токсичных компонентов удалось удалить из реакционной смеси при использовании этих методов, а продуктивность

ксилола была наиболее высокой (0,205 г/л), особенно в том случае, когда гидролизат был обработан активированным углем.

Кроме активированного угля для этих целей была использована и диатомная земля. В работе [146] использовали оба метода обработки для удаления некоторых примесей (пигменты, свободные жирные кислоты и продукты их остатков) из раствора оливкового производства в *n*-гексане и получили наилучшие результаты с активированным порошкообразным углем.

Адсорбция при помощи ионообменных методов также является высокоэффективной техникой, но стоимость этого метода выше, чем стоимость других методов [147]. В соответствии с данными работы [125], ферментация необработанного гидролизата жмыха сахарного тростника, содержащего 9 г/л уксусной кислоты приводит в результате к продуктивности этанола 0,15 г/л в час с выходом 0,27 г/г. В том случае, если гидролизат обрабатывают анионитом, удаляется 85% уксусной кислоты. Продуктивность и выход этанола составляет соответственно 0,56 г/л и 0,37 г/г соответственно. Подобные результаты (0,58 г/л в час и 0,37 г/г соответственно) были получены и в синтетических средах с тем же количеством сахаров и не содержащих уксусную кислоту.

Ларссон с сотр. [133] сравнивали четыре различных метода детоксификации: 1) изменение рН при помощи NaOH или Ca(OH)₂; 2) выпаривание; 3) адсорбция на анионите и 4) использование микроорганизмов. Аниониты удаляли высокий % токсичных компонентов из гидролизатов: уксусную кислоту (96), фенольные компоненты (91), фурфурол (73) и оксиметилфурфурол (70). Кроме того, гидролизаты обрабатывались анионитами, в результате чего достигался наиболее высокий выход этанола (0,49 г/г), объемной продуктивности (1,42 г/л в час) и выход биомассы (0,080 г/г). Другие исследователи [148] применяли аниониты и катиониты при производстве этанола. Аниониты оказались более эффективными, удаляя большие количества фенолов, фуранов, альдегидов и алифатических кислот из гидролизатов, и обеспечивая продуктивность и выход этанола 1,71 г/л в час и 0,46г/г соответственно. Катиониты давали подобные выхода (0,45 г/г), но имели более низкую продуктивность (0,65 г/л в час). Для необработанных гидролизатов продуктивность и выход были соответственно равны 0,21 г/л в час и 0,42 г/г.

Комбинированные методы

Различные комбинации методов обработки были использованы для детоксикации лигноцеллюлозных гидролизатов. В этих экспериментах изучалась биоконверсия ксилозы в ксилит. Алвес с сотр. [121] предложили различные комбинации оснований [CaO или Ca(OH)₂] и кислот (H₂SO₄ или

H_3PO_4) для изменения первоначальных значений pH для гидролизатов жмыхов сахарного тростника вместе с активированным углем или без него. Лучшие результаты были получены, когда значение pH увеличивалось от 0,5 до 7,0 при помощи CaO и затем понижалось до 5,5 при помощи H_3PO_4 , перед этой процедурой к гидролизату добавляли 2,4% активированного угля. В этих условиях выход ксилита и продуктивность системы соответственно были 0,79 г/г и 0,47 г/л в час в течение 63 ч ферментации. По другому методу значение pH увеличивалось от 0,5 до 7,0 при помощи CaO и затем снижалось до 5,5 при помощи H_2SO_4 без добавления активированного угля. Последний метод оказался хуже для обработки гидролизата, давая в результате выход ксилита и продуктивность соответственно 0,58 г/г и 0,35 г/л.

Авторы работы [141] использовали несколько видов дрожжей для получения ксилита из гидролизатов лиственной древесины и обнаружили, что одновременное присутствие продуктов распада лигнина и уксусная кислота препятствуют проведению процесса ферментации. Для очистки гидролизатов и улучшения ферментационной кинетики, предложено использовать комбинацию различных методов. Первоначально pH был доведен до 10,0 при помощи $\text{Ca}(\text{OH})_2$ и затем снижен до pH 5,5 при помощи серной кислоты. К гидролизатам был добавлен активированный уголь и затем происходила их выпарка. Комбинация изменения pH и адсорбция на активированном угле была особенно удобна для удаления производных лигнина. В результате происходило удаление 95,4% этих компонентов. Процесс выпаривания уменьшал концентрацию уксусной кислоты до уровня ниже порога ингибирования (3 г/л) и также позволял удалить фурфурол и другие летучие соединения. Комбинация всех этих видов обработки позволяла осуществлять эффективную конверсию ксилозы в ксилит с объемной продуктивностью 0,41 г/л в час и выходом продукта 0,63 г/г.

Изучена также детоксикация гидролизатов древесины для биосинтеза ксилола *P. tannophilus* [140]. Для этого исследовано влияние следующих параметров: изменение pH до 10,0 при помощи $\text{Ca}(\text{OH})_2$, подкисление до pH 5,5 при помощи H_2SO_4 , добавление сульфита натрия (1 г/л), кипячение до 100°C и добавление активированного угля. Полученные результаты показали, что изменение pH и добавление активированного угля позволяют удалить большие количества продуктов расщепления лигнина (60% и 95% соответственно), тогда как кипячение уменьшало содержание уксусной кислоты и фурфурола до концентраций, лежащих ниже уровней концентраций, вызывающих ингибирование лигнина (содержание уксусной кислоты уменьшалось с 31,2 до 1,0 г/л и фурфурола от 1,2 г/л до 0,5 г/л). Ферментация гидролизата также протекала более эффективно. Так, высокие концентрации ксилита (39,5 г/л) были получены из ксилозы с концентрацией 89 г/л через 96 ч ферментации. В том случае, когда кипение

(100°C) и адсорбция на активированном угле были исключены из операции, то выход ксилита после 96 ч ферментации составлял только 3,1 г/л.

Родригес с соавторами [150] попытались удалить летучие и нелетучие компоненты из гемицеллюлозных гидролизатов жмыха сахарного тростника, используя активированный уголь либо до, либо после выпаривания под вакуумом. Согласно полученным данным, обработка гидролизата активированным углем перед выпариванием более эффективно удаляла фенольные компоненты, тогда как обработка тем же углем после выпаривания была более эффективна для удаления уксусной кислоты.

Для получения ксилита Муссато [109] применял выпаривание, изменение pH и адсорбцию на активированном угле для детоксикации гидролизата гемицеллюлозы из рисовой соломы. При выпаривании происходило удаление фурфурола и некоторое количество уксусной кислоты, тогда как изменение значения pH и активированный уголь позволяли удалить нелетучие компоненты (оксиметилфурфурол и продукты разрушения лигнина). В соответствии с данными этого автора, варьирование значения pH и использование активированного угля обеспечивают детоксикацию гидролизата в большей степени, если они используются в комбинации друг с другом.

В общем, перед тем как выбрать метод детоксикации или комбинацию этих методов, важно идентифицировать те ингибиторы, которые присутствуют в гидролизате. Это знание поможет не только выбрать наиболее дешевый метод, но и обеспечит эффективность условий гидролиза для уменьшения образования ингибиторов. Так как детоксификация увеличивает стоимость, то для детоксификации следует выбирать только те гидролизаты, которые содержат высокие концентрации ингибиторов или очень чувствительные микроорганизмы. Кроме того, методы детоксификации должны быть не высоки по своей стоимости, легко вписываться в процесс и способны избирательно удалять ингибиторы.

Обработка активированным углем

Для очистки или удаления химических компонентов широко используется активированный уголь. Однако эффективность обработки активированным углем зависит от следующих параметров: pH, температуры, времени контакта и концентрации активированного угля. Влияние всех этих параметров описано в следующих разделах.

Влияние pH

Сорбция ингибиторов на активированном угле сильно зависит от значения pH. Если удаляемые компоненты являются слабо кислыми (такие как фенолы или карбоновые кислоты) или слабо основными (такие как амины), тогда pH среды будет влиять на их адсорбцию [151].

Слабые органические кислоты лучше всего адсорбируются в недиссоциированном состоянии и соответственно при низких значениях pH, благоприятных для сорбции. Например, фенолы являются слабыми кислотами и при низких значениях pH, нейтральные и недиссоциированные фенольные молекулы хорошо адсорбируются, тогда как при высоких значениях pH фенолы превращаются в анионы и их адсорбция существенно уменьшается. Однако, согласно данным работы [152], нейтральные соединения (уксусная кислота, молекулы фенола) имеют тенденцию к более сильной адсорбции из водных фаз, которая превращает их в соответствующие ионы (ионы ацетата и фенолята) за счет чего физические и химические свойства компонентов изменяются в результате ионизации, что способствует их адсорбируемости. Слабо основные компоненты также лучше всего адсорбируются в не ионизированной форме, и для их адсорбции наиболее благоприятны щелочные значения pH. Как правило, органические кислоты лучше всего адсорбируются из кислых растворов, а органические основания из основных растворов [153].

Муссато [109] использовал два значения pH (2,0 и 8,0) при обработке гидролизата гемицеллюлозы рисовой соломы активированным углем. Основные компоненты разрушения лигнина сорбировались более интенсивно при pH 2,0. На основе статистического анализа было сделано заключение, что pH оказывает более непостоянное влияние по сравнению с адсорбционными процессами на активированном угле.

Влияние времени контакта

Время контакта является важным параметром при обработке гидролизатов активированным углем. Время контакта между активированным углем позволяет достичь равновесия с адсорбируемым веществом. Во время процесса адсорбции поверхность активированного угля постепенно блокируется адсорбируемым веществом, и через некоторое время полностью покрывается последним. Так как каждая частица угля покрывается некоторым количеством жидкости, увеличивая количество активированного угля (или отношение активированного угля к гидролизату) быстро устанавливается равновесие между адсорбатом и адсорбентом, за счет чего число частиц активированного угля для обработки одного и того же гидролизата увеличивается [154].

Параджо с соавторами [155] изучали влияние времени контакта на удаление токсичных компонентов из гидролизата древесины, обработанной активированным углем. Они обнаружили, что удаление продуктов деградации лигнина достигается через 20 мин, прекращаясь даже в том случае, если время контакта увеличивается до 90 мин. В работе [156] изучено различное время контакта (30, 45 и 60 мин) между ферментируемым гидролизатом жмыха сахарного тростника и активированным углем и установили, что изменение времени контакта оказывает незначительное влияние на процесс осветления. Параджо с соавт. [157] обрабатывали гидролизат древесины различными количествами активированного угля (от 20 до 400 г гидролизата на г активированного угля), применяя время контакта от 1 до 5 дней. В результате они пришли к заключению, что один день контакта достаточен для достижения адсорбционного равновесия во всех проведенных экспериментах.

Влияние температуры

Адсорбция компонентов увеличивается с повышением температуры, так как высокая температура обеспечивает более быструю скорость диффузии молекул адсорбата из раствора к адсорбенту [154]. Гургель с соавторами [156] использовали ферментированный гидролизат гемицеллюлозы сахарного тростника для изучения влияния трех различных температур: 35, 50 и 80°C на степень его осветления при помощи активированного угля. В результате окраска раствора понижалась на 70% при увеличении температуры от 35 до 80°C.

Морейра с соавторами [158] установил, что помимо pH, температура также сильно влияет на удаление токсичных компонентов (главным образом продуктов разложения лигнина) из гидролизата рисовой соломы при обработке его активированным углем. При повышении температуры от 25 до 45°C скорость удаления этих компонентов увеличивалась в 6 раз, возможно, за счет более плотной упаковки молекул на активированный уголь при более высоких температурах.

Влияние концентрации активированного угля

Согласно данным нескольких авторов количество активированного угля, используемого для обработки гидролизатов, может оказать сильное влияние на удаление компонентов [132, 145, 147, 155]. Параджо с соавт. [159] обнаружили, что удаление фенольных компонентов из гидролизатов древесины увеличивается с 15% до 70%, если отношение гидролизата к активированному углю уменьшается с 400 до 10 г/л.

Силва с сотрудниками [145] обрабатывали гидролизат гемицеллюлозы жмыха сахарного тростника с различными пропорциями угля, меняющимися от 1% до 30% и показали, что 1% угля достаточен для удаления 94% фенольных компонентов при потерях сахаров только 0,47%. 30% активированного угля уменьшали содержание сахаров в растворе на 31,3%, что являлось нежелательным со всех точек зрения.

Для уменьшения ингибирующего влияния компонентов, образующихся в процессе предобработки гидролизата древесины, Ли с соавторами [147] также использовали активированный уголь. Наиболее высокая скорость удаления токсичных компонентов наблюдалась при соотношениях, когда количество активированного угля к глюкозе (г/г) увеличивалось от 0,05 до 0,20. Муссато и Роберто [132] применяли гидролизат гемицеллюлозы из рисовой соломы для изучения влияния активированного угля на процесс биоконверсии ксилозы в ксилит и обнаружили, что степень удаления фенольных компонентов увеличивалась, когда соотношение гидролизата к активированному углю уменьшалось со 120 до 24 г/г. Однако наилучшие результаты для процесса ферментации были достигнуты при соотношении гидролизата к активированному углю 40 г/г, при котором удалось удалить 27% фенольных соединений.

Таким образом, подводя итог вышесказанному, можно сказать, что несмотря на кажущуюся простоту и доступность лигноцеллюлозного сырья необходимо при его гидролизе учитывать, что в процессе гидролиза образуются разнообразные ингибирующие соединения, способные влиять не только на сам гидролиз целлюлозы, но и на следующую за ним стадию ферментации. В связи с этим процесс гидролиза необходимо следует оптимизировать так, чтобы образование ингибиторов было минимальным. В том случае, когда в гидролизате присутствуют низкие концентрации ингибирующих компонентов, ферментация протекает быстрее, и процесс становится дешевле. Выбор метода детоксификации гидролизатов должен быть основан на степени ингибирования роста микроорганизмов, вызванного этими ингибиторами. Так как каждый метод детоксификации специфичен для удаления каждого токсичного компонента, лучшие результаты могут быть получены за счет комбинации двух или более методов. Еще одним фактором, влияющим на процесс ферментации являются условия культивирования, которые, если они не адекватны оптимальному процессу ферментации, могут усилить ингибирующее действие токсичных компонентов.

Список литературы

1. Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н. Экологические основы биотехнологии. –М. : МГУЛ, 2004. – 415 с.

2. *Sun Y., Cheng J.* //Bioresour. Technol. – 2002. V. 83. – № 1.– P. 1 – 11.
3. *Campbell C.J., Laherrere, J.H.* // Sci. Am. –1998. –V.3.– № 1.– P. 78 – 83.
4. *McCarthy J.E., Tiemann M.* –1998. // <http://www.epa.gov/taq/consumer/fuels/mtbe/crs-mtbe.pdf>.
5. *Browner C.* – 2000. // <http://www.epa.gov/otaq/consumer/fuels/mtbe/press34b.pdf>.
6. *Dale B.E., Henk L.L., Shiang M.* //Dev. Ind. Microbiol. –1984. –V.26.– P.223 –233.
7. *Reshamwala S., Shawky B.T., Dale B.E.* //Appl. Biochem. Biotechnol. –1995. –V.51/52.– № 1.– P. 43 –55.
8. *Cheung S.W., Anderson B.C.* //Bioresour. Technol. –1997.– V.59.– № 1. – P.81 –96.
9. *Dewes T., Hunsche E.* //Biol. Agric. Hortic. –1998. –V.16. – № 2. –P. 251 –268.
10. *Wright J.D.* // Chem. Eng. Prog. –1998. –V.84. – № 8. –P.62 –74.
11. *Azzam A.M.* //J. Environ. Sci. Health. B. –1989. –V. 24. – № 4. –P.421 – 433.
12. *Cadoche L., Lopez G.D.* // Biol. Wastes. –1989. –V. 30. – № 2. – P.153-157.
13. *Asfour H.M., Tayeb A.M., Mostafa N.A.* //Energy Conv. Manag. –1991. –V. 32. – № 5. – P. 499-504.
14. *Bjerre A.B., Olesen A.B., Fernqvist T.* // Biotechnol. Bioeng. –1996. –V. 49. –P.568 –577.
15. *Duff, S.J.B., Murray W.D.* //Bioresour. Technol. –1996. –V. 55. – № 1. –P. 1 –33.
16. *Kim S., Dale B.E.* //Biomass. Bioenergy. –2004. –V. 26. – № 4. –P. 361-375.
17. *Kadar Zs., Szengyel Zs., Reczey K.* //Indastr. Crops. Prod. –2004. –V. 20. – № 1. –P. 103-110.
18. *McMillan J.D.* Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production. /Eds.: Himmel M.E., Baker J.O., Overend R.P. – Washington, DC: American Chemical Society, 1994. – P.292 –324.
19. *Kilzer F.J., Broido A.* // Pyrodynamics. – 1965. –V. 2. –P.151 –163.
20. *Shaffizadeh F., Bradbury A.G.W.* //J. Appl. Poly. Sci. –1979. –V. 23. – P.1431 –1442.
21. *Fan L.T., Gharipura M.M., Lee Y.-H.* Cellulose. Hydrolysis Biotechnology. Monographs. –Berlin: Springer, 1987. –P.57-65.
22. *Shaffizadeh F., Lai, Y.-Z.* //Carbohydr. Res. –1975. –V. 42. –№ 1. – P. 39 –53.
23. *Grous W.R., Converse A.O., Grethlein H.E.* //Enzyme Microb. Technol. – 1986. –V. 8. – P.274 –280.

24. *Morjano P.J., Gray P.P.*//Biotechnol. Bioeng. –1987. –V.29. –P.733 –741.
25. *Holtzapple M.T., Humphrey, A.E., Taylor J.D.*// Biotechnol. Bioeng. –1989. –V. 33. –P.207 –210.
26. *Clark T.A., Mackie K.L.*//J. Wood Chem. Technol. –1987. –V.7. – P.373 –403.
27. *Mackie K.L., Brownell H.H., West K.L., Saddler J.N.*//J. Wood Chem. Technol. –1985. –V.5. –P.405 –425.
28. *Mes-Hartree M., Dale B.E., Craig W.K.*//Appl. Microbiol. Biotechnol. –1988. –V.29. –P.462 –468.
29. *Vlasenko E.Y., Ding H., Labavitch J.M., Shoemaker S.P.*//Bioresour. Technol. –1997. –V.59. – № 1. – P. 109 –119.
30. *Holtzapple M.T., Lundeen J.E., Sturgis R.*//Appl. Biochem. Biotechnol. –1992. –V. 34/35. – № 1. –P.5 –21.
31. *Tengerdy R.P., Nagy J.G.*//Biol. Wastes. – 1988. – V.25. –P. 149 –153.
32. *Holtzapple M.T., Jun J-H., Ashok G., Patibandla S.L., Dale, B.E.*//Appl. Biochem. Biotechnol. –1991. V.28/29. –№ 1. –P.59 –74.
33. *Dale B.E., Moreira M.J.*//Biotechnol. Bioeng. Symp. –1982. –V.12. – № 1. – P.31 –43.
34. *Zheng Y.Z., Lin H.M., Tsao G.T.*//Biotechnol. Prog. –1998. –V.14. – P.890 –896.
35. *Ben-Ghedalia D., Miron J.*//Biotechnol. Bioeng. –1981. –V.23. –P. 823 –831.
36. *Ben-Ghedalia D., Shefet G.*//J. Agric. Sci. –1983. –V.100. – P.393 –400.
37. *Vidal P.F., Molinier J.*//Biomass. – 1988. –V.16. –P.1 –17.
38. *Sivers M.V., Zacchi G.*//Bioresour. Technol. –1995. –V.51. – № 1. – P.43 –52.
39. *Esteghlalian A., Hashimoto A.G., Fenske J.J., Penner M.H.*//Bioresour. Technol. –1997. –V. 59. – № 2. – P. 129 –136.
40. *Hinman N.D., Schell D.J., Riley C.J., Bergeron P.W., Walter P.J.*//Appl. Biochem. Biotechnol. –1992. –V.34/35. – P.639–649.
41. *Brennan A.H., Hoagland W., Schell D.J.*//Biotechnol. Bioeng. Symp. 1986. –V.17. – № 1. –P. 53 –70.
42. *Converse A.O., Kwarteng I.K., Grethlein H.E., Ooshima H.*//Appl. Biochem. Biotechnol. –1989. –V. 20/21. – № 1. – P. 63 –78.
43. *Cahela D.R., Lee Y.Y., Chambers R.P.*//Biotechnol. Bioeng. –1983. – V.25. – № 1. –P.3 –17.
44. *Green M., Kimchie S., Malester A.I., Rugg B., Shelef G.*// Biol. Wastes. – 1988. –V. 26. – № 4. –P.285-295.
45. *Agu R.C., Amadife A.E., Ude C.M., Onyia A., Ogu E.O., Okator M., Ezejiofor E.*//Waste Managem. –1997. –V. 17. – № 1. –P. 91-96.

46. *Mielenz J.R.*//Curr. Opin. Microbiol. –2001. –V. 4. – № 3. – P. 324-329.
47. *Millet M.A., Baker A.J., Scatter L.D.*//Biotech. Bioeng.Symp. –1976. – V.6. – P.125 –153.
48. *Chosdu R., Hilmy N., Erizal-Erlinda, T.B., Abbas B.*//Radiat. Phys.Chem. –1993. –V.42. –P.695 –698.
49. *Iyer P.V., Wu Z.-W., Kim S.B., Lee Y.Y.*//Appl. Biochem.Biotechnol. – 1996. – V.57/58. –P. 121 –132.
50. *Draude K.M., Kurniawan C.B., Duff S.J.B.*//Bioresor. Technol. – 2001. –V. 79. – № 2. –P.113-120.
51. *Chum H.L., Johnsoon D.K., Black S.*//Biotechnol.Bioeng. –1988. – V.31. –P.643 –649.
52. *Thring R.W., Chorent,E.,Overend R.*//Biomass. – 1990. –V.23. –P.289 –305.
53. *Sarkanen K.V.*//Prog.Biomass Convers. –1980. –V.2. – P.127 –144.
54. *Aziz S., Sarkanen K.*//Tappi.J. –1989. – V.72. –P.169 –175.
55. *Рабинович М.Л, Болобова А.В., Кондращенко В.И.* Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Древесина и разрушающие ее грибы. – М.: Наука, 2001. –263 с.
56. *Hatakka A.I.*//Appl.Microbiol. Biotechnol. –1983. –V. 18. –P.350 – 357.
57. *Ander P., Eriksson K.-E.*//Physiol.Plant. – 1977. –V.41. –P.239 –248.
58. *Akin D.E., Rigsby L.L., Sethuraman A., Morrison W.H.-III., Gamble G.R., Eriksson K.E.L.*//Appl.Environ.Microbiol. –1995. –V.61. – P.1591 –1598.
59. *Boominathan K., Reddy C.A.*//Proc.Natl.Acad.Sci.(USA) –1992. – V. 89. – № 12. – P.5586 –5590.
60. *Kirk T.K., Farrell R.L.*//Annu.Rev.Microbiol. –1987. –V. 41. –P. 465 –505.
61. *Waldner R., Leisola M.S.A., Fiechter A.*//Appl.Microbiol.Biotechnol. – 1988. –V. 29. –P.400 –407.
62. *Blanchette R.A.*//Annu. Rev. Phytopathol. –1991. – N.29 . –P.381 – 398.
63. *Beeguvin P., Auber J.-P.*//FEMS Microbiol.Rev. –1994. –V.13. –№ 1. P.25 –58.
64. *Bisaria V.S.* Bioconversion of Waste Materials to Industrial Products./ Ed Martin A.M.– London: Elsevier, 1991. –P.210 –213.
65. *Huang X.L., Penner M.H.*//J.Agric.Food Chem. –1991. –V.39. – № 12. – P.2096 –2100.
66. *Penner M.H., Liaw E.-T.* Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production./Eds. Himmel M.E., BakerJ.O., Overend R.P.– Washington,DC: American Chemical Society, 1994. –P.292 –324.

67. *Gregg D.J., Saddler J.N.*//Biotechnol.Bioeng. –1996. – V. 51. – P.375 –383.
68. *Wu J., Ju L.K.*//Biotechnol.Prog. –1998. –V.14. –P.649 –652.
69. *Park J.W., Takahata Y., Kajiuchi T., Akehata T.*// Biotechnol.Bioeng. – 1992. –V.39. – P.117 –120.
70. *Ooshima H., Sakata M., Harano Y.*//Biotechnol.Bioeng. –1986. –V.28. – P.1727 –1734.
71. *Helle S.S., Du S.J.B., Cooper D.G.*//Biotechnol.Bioeng. –1993. –V. 42. –P.611 –617.
72. *Castanon M., Wilke C.R.*//Biotechnol.Bioeng. –1981. –V.23. –P.1365 – 1372.
73. *Beldman G., Voragen A.G.J., Rombouts F.M., Pilnik W.*//Biotechnol.Bioeng. –1988. – V.31. – P.173 –178.
74. *Excoffier G., Toussaint B., Vignon M.R.*//Biotechnol.Bioeng. –1991. – V. 38. –P.1308 –1317.
75. *Xin Z., Yinbo Q., Peiji G.*//Enzyme Microb.Technol. –1993. –V. 15. – P.62 –65.
76. *Ghose T.K., Bisaria V.S.*//Biotechnol.Bioeng. –1979. –V. 21. – P.131 – 146.
77. *Mononmani H.K. Sreekantiah K.R.*//Enzyme Microb.Technol. –1987. – V. 9. – P.484 –488.
78. *Ramos J.P., Breuil C., Saddler J.N.*//Enzyme Microb.Technol. – 1993. – V.15. –P. 19 –25.
79. *Baker J.O., Adney W.S., Nieves R.A.*//Appl.Biochem.Biotechnol. – 1994. –V. 45/46. –P.245 –256.
80. *Slinger P.J., Bolen P.L., Kurtzman C.P.*//Enzyme. Microb. Tech. – 1987. – V. 9. – № 1. – P. 5-15.
81. *Takagi M., Abe S., Suzuki S., Emert G.H., Yata N.* Proceedings of Bioconversion of Cellulosic Substances into Energy, Chemicals and Microbial Protein/ Ed. Ghose, T.K. –New Delhi: IIT, 1977. –P.551 – 571.
82. *Blotkamp P.J., Takagi M., Pemberton M.S.*//AIChE Symp. –1978. Series 74. – № 181. – P. 85–90.
83. *Szczodrak J., Targonski Z.*//Acta Biotechnol. –1989.–V. 6.– P.555 – 564.
84. *Philippidis G.P., Smith T.K., Wyman C.E.*//Biotechnol. Bioeng. –1993. –V.41. –P.846 –853.
85. *Zheng Y.Z., Lin H.M., Tsao G.T.*//Biotechnol.Prog. –1998. –V. 14. – P.890 –896.
86. *Philippidis G.P.* Handbook on Bioethanol: Production and Utilization./ Ed. Wyman, C.E. – Washington, DC: Taylor & Francis, 1996. – P.253 – 285.

87. *Philippidis G.P., Smith T.K.*//Appl.Biochem.Biotechnol. –1995. – V. 51/52. –P. 117 –124.
88. *Ballesteros I., Ballesteros M., Cabanas A., Carrasco J., Martin C., Negro M.J., Saez F., Saez R.*//Appl.Biochem.Biotechnol. –1991. –V. 28/29. – P.307 –315.
89. *Kadam K.L., Schmidt S.L.*//Appl.Microbiol.Biotechnol. –1997. –V. 48. –P.709 –713.
90. *Hacking A.J., Taylor I.W.F., Hanas C.M.*// Appl.Microbiol. Biotechnol. 1984. –V. 19. –P.361 –363.
91. *Wu Z., Lee Y.Y.*//Biotech.Lett. –1997. –V.19. – P.977 –979.
92. *Wayman M., Chen Sh., Doan K.*//Process Biochem. –1992. –V. 27. – № 4. –P. 239-245.
93. *Xin Zh., Yinbo Q., Peiji G.*// Enzyme. Microb.Technol. – 1993. – V. 15. – № 1. – P.62–65.
94. *Nigam J.N.*//J. Biotechnol. –2000. –V. 80. – № 2. –P.198-193.
95. *Lin Ch.-Ch., Hsien P.-Ch., Mau J.-L., Teng D.-F.*//Enzyme Microb. Technol. –2005. –V. 36. – № 1. –P. 107–117.
96. *MacDonaldT., YowellG., McCormack M.*// <http://www.energy.ca.gov/reports/2001-08-29/600-01-017.PDF>.
97. *Elander R.T., Putsche,V.L.* Handbook on Bioethanol: Production and Utilization. /Ed. Wyman,C.E. – Washington. DC: Taylor &Francis, 1996. –P.329 –349.
98. *Wheals A.E., Basso L.C., Alves D.M.G., Amorim H.V.*//Trends Biotechnol. –1999. –V.17. – № 12. –P.482 –487.
99. *Wooley R., Ruth M., Glassner D., Sheehan J.*//Biotechnol.Prog. –1999. – V. 15. –P.794 –803.
100. *Wood B.E., Beall D.S., Ingram,L.O.*//Biotechnol.Bioeng. –1997. – V. 55. –N 3. – P.547 –555.
101. *Ziegler M.T., Thomas S.R., Danna K.J.*//Mol.Breed. – 2000. –V. 6. – P.37 –46.
102. *Dai Z.Y., Hooker B.S., Anderson D.B., Thomas S.R.*//Mol.Breed. – 2000. –V.6. – P.277 –285.
103. *Hooker B.S., Dai Z., Anderson D.B., Quesenberry R.D., Ruth M.F., Thomas S.R.* Glycosyl Hydrolases for Biomass Conversion/Eds: Himmel M.E., Baker J.O., Saddler J.N.–Washington.DC: Americal Chemical Society,2001. – P.55 –90.
104. *Zhang M., Eddy C., Deanda K., Finkelstein M., Picataggio S.*//Science. – 1995. –V. 267. – P.240 –243.
105. *Dien B.S., Nochols N.N., O'Bryan P.J., Bothast R.J.*// Appl. Biochem. Biotechnol. –2000. –V.84/86. –P.181 –196.
106. *Ho N.W.Y., Chen Z., Brainard A.P.*// Appl.Environ.Microbiol. –1998. – V. 64. – № 5. – P.1852 –1859.

107. *Dipardo J.* –2000. // <http://www.eia.doe.gov/foiaf/analysispaper/biomass.html>.
108. *Неклюдов А.. Д., Иванкин А.Н.* Экологические основы производств. Взаимосвязь экологии, химии и биотехнологии. – М.:МГУЛ, 2003. – 367 с.
109. *Mussato S.I., Roberto I.C.*//*Bioresor. Technol.* – 2004. –V. 93. – № 1. –P.1-10
110. *Iranmahboob J., Nadim F., Monemi S.*//*Biomass Bioenerg.* –2002. –V. 22. –P.401 –404.
111. *Sun Y., Cheng J.*//*Bioresource Technol.* –2002. –V.83. – №1. – P. 1 – 11.
112. *Cruz J.M., Dominguez J.M., Dominguez H.,Parajo J.C.*//*Food Biotechnol.* –2000. –V.14. – № 1-2. – P.79 –97.
113. *Palmqvist E., Hahn-Hagerdal B.*//*Bioresource Technol.* – 2000. – V.74. – № 1. – P.25 –33.
114. *Taherzadeh M.J., Niklasson C., Liden G.*//*Biotechnol.Bioeng.* – 2000. –V.69. –P.330 –338.
115. *Olsson L., Hahn-Hagerdal B.*//*Enzyme Microb.Technol.* –1996. –V.18. –P. 312 –331.
116. *Parajo J.C., Dominguez H., Dominguez J.M.*//*Bioresource Technol.* – 1998. –V.66. – № 1. – P.25 –40.
117. *Palmqvist E., Hahn-Hagerdal B.*//*Bioresource Technol.* –2000. –V.74. – № 1. – P.17 –24.
118. *Roberto I.C., Lacis L.C., Barbosa M.F.S., Mancilha,I.M.*//*Process Biochem.* –1991. –V.26. – № 1. –P. 15 –21.
119. *Delgenes J., Moletta R., Navarro J.M.*//*Enzyme Microb.Technol.* – 1996. –V. 19. – P.220 –225.
120. *Nigam J.N.*//*J.Biotechnol.* –2001. – V.87. – № 1. –P. 17 –27.
121. *Alves L.A., Felipe M.G.A., Silva J.B., Silva S.S., Prata A.M.R.*//*Appl. Biochem.Biotechnol.* –1998. –V.70–72. – P.89 –98.
122. *Martinez A., Rodriguez M.E., Wells M.L., York S.W., Preston J.F., Ingram L.O.*//*Biotechnol.Progr.* – 2001. –V. 17. –P.287 –293.
123. *Vogel-Lowmeier E.M., Sopher C.R. Lee H.* // *J.Ind.Microbiol. Biotechnol.* –1998. –V.20. –№ 1. –P.75 –81.
124. *Lawford H.G., Rousseau J.D.*//*Appl.Biochem.Biotechnol.* –1998. –V. 70 –72. – P.161 –172.
125. *Van Zyl C., Prior B.A., du Preez J.C.*//*Enzyme Microb.Technol.* –1991. – V.13. – № 1. –P.82 –86.
126. *Felipe M.G.A., Veira M.V., Vitolo M., Mancilha I.M., Roberto I.C., Silva S.S.*//*J.Basic Microb.* – 1995. –V.35. – № 2. – P.171 –177.
127. *Watson N.E., Prior B.A., Lategan P.M., Lussi M.*//*Enzyme Microb.Technol.* – 1984. –V. 6. – P. 451 –456.

128. *Zaldivar J., Martinez A., Ingram L.O.*//Biotechnol.Bioeng. –2000. – V.68. – P.524 –530.
129. *Roberto I.C., Felipe M.G.A., Lacis L.C., Silva S.S., Mancilha I.M.*//Bioresource Technol. –1991. –V. 36. – № 2. –P.271 –275
130. *Kuhad R.C., Singh A.*//Crit.Rev.Biotechnol. –1993. –V.13. – P.51 – 172.
131. *Winkelhausen E., Kuzmanova S.*//J.Ferment.Bioeng. –1998. –V.86. – № 1. –P.1 –14.
132. *Mussatto S.I., Roberto I.C.*//Biotechnol.Lett. – 2001. – V.23. – P.1681 –1684.
133. *Larsson S., Reimann A., Nilvebrant N.,Jonsson L.J.*//Appl.Biochem. Biotechnol. –1999. –V. 77 –79. – № 1. –P.1 –103.
134. *Jhonsson L.J., Palmqvist E., Nilvebrant N.O., Hahn-Hagerdal B.*//Appl. Microbiol.Biotechnol. –1998. –V.49. –P.691 –697.
135. *Schneider H.*//Enzyme Microb.Technol. –1996. – V.19. – P.94 –98.
136. *Felipe M.G.A., Alves L.A., Silva S.S., Roberto I.C., Mancilha I.M., Silva J.B.*//Bioresource Technol. –1996. –V.56. – № 3. – P.281 –283.
137. *Silva C.J.S.M., Roberto I.C.*//Lett.Appl.Microbiol. – 2001. – V.32. – P. 248 –252.
138. *Sene L., Converti A., Zilli M., Felipe M.G.A., Silva S.S.*// Appl.Microbiol.Biotechnol. –2001. –V.57. – P.738 –743.
139. *Silva C.J.S.M., Roberto I.C.*//Biotechnol.Tech. –1999. –V.13. – P.743 – 747.
140. *Converti A., Domínguez J.M., Perego P., Silva S.S., Zilli,M.*//Chem.Eng.Technol. – 2000. – V. 23. – P.1013 –1020.
141. *Converti A., Perego P., Domínguez J.M.*//Appl. Biochem.Biotechnol. – 1999. –V. 82. – P.141 –151.
142. *Rodrigues R.C.L.B., Felipe M.G.A., Silva J.B., Gomez P.V.*// Braz. J.Chem.Eng. –2001. –V. 18. – P.299 –311.
143. *Martinez A., Rodriguez M.E., York S.W., Preston J.F., Ingram L.O.*// Biotechnol.Bioeng. –2000. –V. 69. – P.526 –536.
144. *Dominguez J.M., Gong C.S., Tsao G.T.*//Appl.Biochem.Biotechnol. – 1996. –V.57–58. –№ 1. –P. 49 –56.
145. *Silva S.S., Felipe M.G.A., Vitolo M.*//Agr.Food Energ. Ind. –1998. –P. 1116 –1119.
146. *Ribeiro M.H.L., Lourenco P.A.S., Monteiro J.P., Ferreira-Dias S.*//Eur.Food Res.Technol. –2001. –V.213. –P.132 –138.
147. *Lee W.G., Lee J.S., Shin C.S., Park S.C., Chang H.N., Chang Y.K.*// Appl.Biochem.Biotechnol. –1999. –V. 77–79. –P.547 –559.
148. *Nilvebrant N.O., Reimann A.,Larsson, S. Jonsson L.J.*// Appl.Biochem.Biotechnol. –2001. –V.91–93. –№ 1. –P.35 –49.
149. *Gong C.S., Chen C.S., Chen L.F.*//Appl. Biohem.Biotechnol. –1993. – V.39 –40. – № 1. –P. 83 –88.

150. *Rodrigues R.C.L.B., Felipe M.G.A., Silva J.B., Vitolo G.P.V.*//Braz.J.Chem.Eng. –2001. –V.18. –P.299 –311.
151. *Fox C.R., Kennedy D.C.* Adsorption Technology: A Step-by-Step Approach to Process Evaluation and Application./Ed. Slejko F.L. – NY: Chapter, 1985. – P.91 –166 [151].
152. *Weber W.J.* Adsorption Technology: A Step-by-Step Approach to Process Evaluation and Application./Ed. Slejko F.L. –NY: Chapter, 1985. – P.1 –9 .
153. *Fox C.R.* Adsorption Technology: A Step-by-Step Approach to Process Evaluation and Application./Ed. Slejko F.L. –NY: Chapter, 1985. – P.167 –183.
154. *Bernardin F.E.* Adsorption Technology: A Step-by-Step Approach to Process Evaluation and Application./Ed. Slejko F.L –NY: Chapter, 1985. – P.37-90.
155. *Parajo J.C., Domínguez H., Domínguez J.M.*// Bioprocess Eng. – 1995. –V.16. – № 1. – P.39 –43.
156. *Gurgel P.V., Mancilha I.M., Pecanha R.P., Siqueira J.F.M.*//Bioresource Technol. –1995. –V.52. – № 2. – P.219 –223.
157. *Parajo J.C., Domínguez H., Domínguez J.M.*//Bioresource Technol. – 1996. – V.57. – № 2. – P. 179 –185.
158. *Moreira R.F.P.M., Jose H.J., Soares J.L.* Encontro Brasileiro Sobre Adsorcao. Florian opolis./Ed. Pinto L.T. –Brasil: SC, 2000. – P.85 –91.
159. *Parajo J.C., Domínguez H., Domínguez J.M.*//Enzyme Microb.Technol. –1997. –V.21. – № 1. –P.18 –24.

Часть 4

ПОЛУЧЕНИЕ МЕТАНА, ВОДОРОДА И КОМПОСТОВ АНАЭРОБНЫМ РАЗЛОЖЕНИЕМ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ

Ежегодно количество органических отходов в крупных городах увеличивается в 1,5 – 2 раза [1]. Эти отходы загрязняют окружающую среду и требуют своей обязательной утилизации. Одним из эффективных методов утилизации органических отходов является их анаэробное разложение, позволяющее перерабатывать органические отходы при помощи анаэробных микроорганизмов в биогаз и компосты. Последние с успехом могут быть использованы в качестве удобрений для сельского хозяйства, а также веществ, позволяющих существенно улучшить качество почвы и увеличить ее плодородие [2].

Несмотря на то, что анаэробная переработка органических отходов началась с конца XIX века, научные основы подобной переработки были созданы только за последние 15 – 20 лет.

Глава 8

Получение метана и компостов

Исследования по анаэробному разложению органических отходов начались с конца XIX века, когда возникла проблема очистки сточных вод из-за возросшего количества городов и городского населения. Однако технология подобной очистки была создана только к началу XX-го века, после разработки метода анаэробного разложения осадков сточных вод [2, 3]. Сразу же возникло ряд проблем, обусловленных малой скоростью роста облигатных анаэробных микроорганизмов, использовавшихся для этих целей, и их чувствительностью к различным химическим и физическим воздействиям, а также к изменениям нагрузки сточных вод, которые подвергались очистке при помощи этой системы. Конверсия субстрата происходила довольно медленно и поэтому обходилась слишком дорого. Кроме того, многие проблемы были связаны с неудачными инженерно-конструкторскими решениями.

Одновременно с очисткой сточных вод было замечено интенсивное выделение газа, который был назван биогазом. Он обладал горючестью и мог использоваться для подогрева воды и других целей, включая получение электричества [4, 5].

Практическое использование подобного биогаза началось с середины 40-х годов прошлого столетия, особенно в тех странах, которые не обладали природными сырьевыми источниками, такими как нефть и газ.

В дальнейшем оказалось, что анаэробное разложение отходов успешно протекает при содержании в них 70 – 80% органических соединений и влажности не менее 50% при температурах 30 – 35°C. Подобные органические отходы получили название биомассы [4].

В настоящее время установлено, что наиболее перспективным объектом для воздействия анаэробных микроорганизмов является биомасса, образующаяся при очистке сточных вод, переработке древесины, различных растительных остатков и животноводческих комплексов [5, 6].

При выращивании сообщества различных бактерий на смеси органических соединений происходят сложные биохимические реакции [3].

В процессе получения биогаза (метана, CO₂ и следов H₂S) участвуют, как минимум, четыре основные группы бактериальных сообществ: бактерии, способствующие гидролизу биополимеров, ацидогенные, ацетогенные, и метанобразующие бактерии (рис. 32) [3]. Все эти бактериальные культуры продуцируют несколько классов ферментов, которые и катализируют многочисленные биохимические процессы, происходящие в процессе анаэробного разложения биополимеров. Многие из этих ферментов подробно описаны в недавно вышедшей монографии [7].

Как видно из рис. 32, в процессе анаэробного разложения биомассы, может образоваться не только метан, но и водород при помощи водородобразующих бактерий, а также органические кислоты (уксусная, муравьиная, пропионовая и пр.) и спирты (этиловый, бутиловый и др.) [3].

Таким образом, за счет анаэробного разложения биомассы можно осуществлять сразу несколько процессов: удалять отходы, получать биогаз из возобновляемых источников энергии, а также получать другие ценные органические соединения и компосты, после аэробной обработки остатков, образующихся в результате анаэробного расщепления отходов. Все это делает анаэробную переработку весьма перспективной для реализации ее на практике.

Температурные условия анаэробного разложения отходов и получения метана

Известно, что в природе метан образуется в самых разнообразных условиях: под ледниками и снегом, в отстойниках и болотах, в рубце жвачных животных и в горячих природных источниках. Обычно температура образования этого газа колеблется от 0 до 95°C [8].

Искусственная биометанизация отходов обычно происходит при трех температурных условиях: термофильное анаэробное расщепление, протекающее при температурах 45 – 70°C; мезофильное анаэробное расщепление, протекающее при температурах 20 – 45°C и психрофильное анаэробное расщепление, протекающее при температуре 20°C и ниже [9]. Энергетическая ценность полученного биогаза составляет 6 – 7 кВт·ч/м³, что в два раза ниже этого показателя для дизельного топлива [10].

Наиболее широко используется мезофильное разложение, хотя в последние годы установлено, что термофильное разложение позволяет получать биогаз с большим (до 90%) содержанием метана и, следовательно, с большей теплоемкостью [4, 5]. Немалое внимание стало уделяться и психрофильному разложению, не требующему нагревания и соответствующих сложных реакторов для получения метана [9].

Эффективная деструкция сырья и образование метана происходит при высокой влажности в смесях, имеющих коллоидную структуру, например таких, как илы сточных вод, навоз сельскохозяйственных животных, пищевые и растительные отходы, содержащие в своем составе до 80% воды [2, 3, 5].

Следует также отметить, что в процессе анаэробной конверсии происходит существенное уменьшения запаха отходов и практически полное удаление патогенных микроорганизмов и яиц гельминтов [2, 3]. Так, при сравнении различных методов обработки осадков сточных вод с целью уничтожения в них патогенных микроорганизмов, например сальмонелл и пр. оказалось, что анаэробное разложение более эффективно

для уничтожения патогенных микроорганизмов по сравнению с аэробным процессом [11].

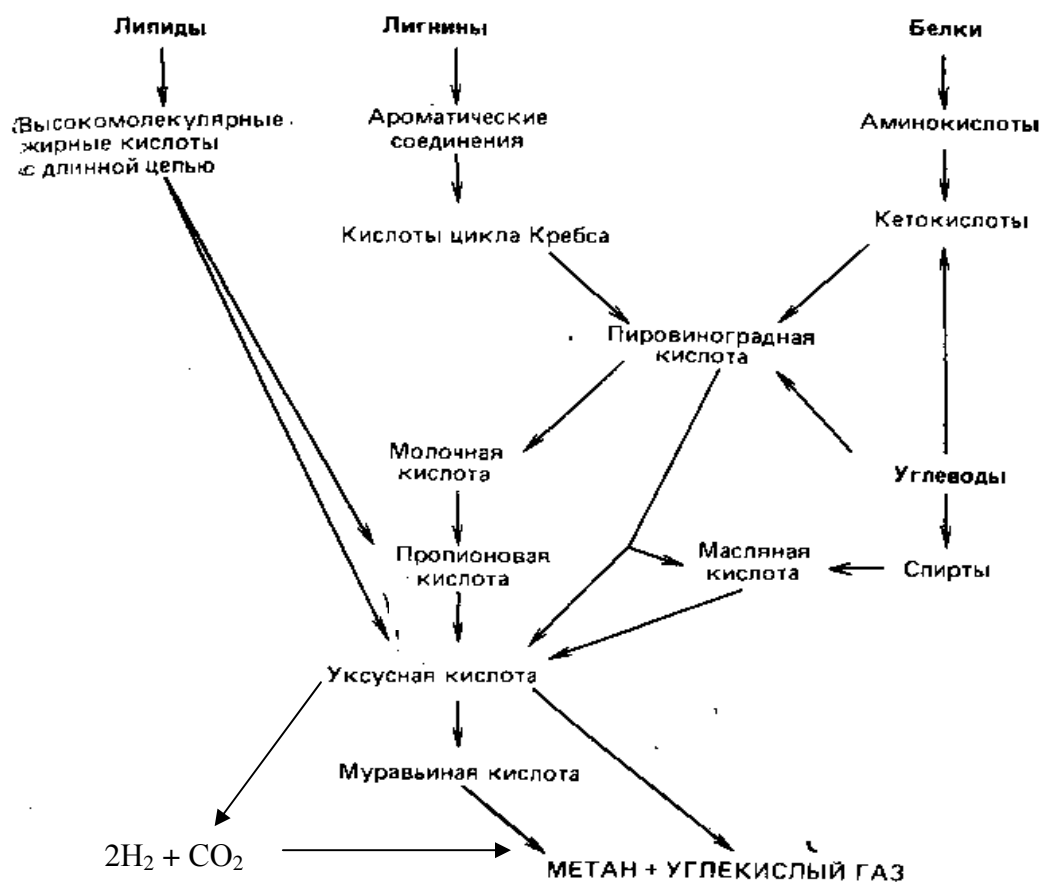


Рис. 32. Анаэробное разложение биополимеров с образованием метана, водорода и углекислого газа при деградации отходов

Показано также, что в процессе анаэробного разложения удается удалить 24 – 33% фекальных колиформ и 34 – 42% фекальных стрептококков. Количество твердых веществ после анаэробной переработки осадков сточных вод увеличивалось с 19% до 93% после 6-ти недельной обработки отходов. Разложение органического углерода составило 41%. Нитриты в продукте, полученном после анаэробного расщепления, полностью отсутствовали. Произошло также полное удаление сальмонелл. Предложено использовать полученный продукт в качестве удобрения [12].

Кроме того, подобный процесс приводит также к существенному уменьшению потребности в природных ресурсах, а также к уменьшению выброса парниковых газов, происходящем при сжигании тех же отходов после их предварительного высушивания до содержания влаги не более 25% [2–4].

Мезофильное анаэробное разложение отходов

Как уже отмечалось ранее, мезофильное разложение органических отходов является наиболее широко распространенным методом их переработки с целью получения биогаза и компостов. Этот метод также широко используется для получения органических кислот и спиртов [3]. В связи с чем, наибольшее количество публикаций посвящено именно этому методу анаэробного расщепления. Следует также отметить, что из-за большого числа различных микробиологических культур, участвующих практически на всех стадиях процесса, большинство исследователей не ставят своей целью идентификацию микроорганизмов, а их интересуется, главным образом, конечный результат (рис. 32).

Изучен процесс мезофильного анаэробного разложения осадков и илов сточных вод с целью получения биогаза и компостов. Процесс мезофильной переработки осадков сточных вод и других органических отходов, как правило, заключается в их собирания в специальных коллекторах и последующей деструкции в анаэробных условиях при 30 – 40°C. Газ, образующийся в процессе ферментации, конденсируется, очищается и используется для различных нужд. Осадок представляет собой твердый продукт, который может затем использоваться для получения компостов [13].

Подобное расщепление, по мнению отдельных исследователей, позволяет перерабатывать на специально сконструированных установках до 4000 т органического материала в год и получать 130 м³ биогаза и 300 кг компоста из 1 т биоотходов [14]. Так, предложено перерабатывать отходы сточных вод, содержащих фекалии, путем добавления к ним коагулянтов, содержащих соли железа, обезвоживанием и анаэробной ферментацией в соответствующем реакторе при мезофильных и других условиях, когда активны все группы бактерий: бактерии, способствующие гидролизу биополимеров, ацидогенные, ацетогенные, и метанобразующие бактерии. Все эти бактерии необходимы для образования CH₄, который в дальнейшем подвергается очистке путем его пропускания через катализаторы, для отделения H₂S за счет реакции с оксидами железа. Образующийся газ содержит до 80% CH₄ и может с успехом использоваться в качестве топлива для генераторов. Продукт, оставшийся после отделения газа, может быть превращен в компост за счет аэробной ферментации при помощи культур *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Musor* и *Chlorella*. и соответствующей карбонизации. Этот продукт может быть использован не только в качестве удобрения, но и в качестве сорбента для отходящих газов и носителя для микроорганизмов, использующихся в дальнейшем для компостирования или улучшения качества почвы [15].

Изучен процесс увеличения концентрации метана в биогазе, получаемом при анаэробном мезофильном разложении осадков и илов

сточных вод, при предварительной аэрации рециркулируемого супернатанта для удаления CO_2 из получаемого биогаза. Для оценки степени биологических изменений, связанных с увеличением количества метана в биогазе, жидкость (эффлюэнт), образующаяся в реакторе, была дважды проанализирована при увеличении содержания в ней метана и при обычном разложении. Анализ включал в себя определение содержания летучих органических кислот (ЛОК), содержание твердых веществ в исследуемом эффлюенте, активность дегидрогеназы, специфическую метаногенную активность (СМА) и иммунный анализ для метаногенных, сульфатредуцирующих и целлюлолитических бактериальных сообществ. Обогащение метаном биогаза происходило до 90%. Не обнаружено никакого влияния при увеличении содержания метана в биогазе на концентрацию СМА в отобранных пробах эффлюэнта. Увеличение содержания метана также не оказывало никакого влияния на уровень содержания твердых летучих веществ (ТЛВ) в составе разлагаемых образцов без рециркуляции воздуха, однако уровень СМА в образцах с рециркуляцией воздуха понижался. Обогащение среды метаном не оказывало никакого ингибирующего влияния на анаэробную популяцию микроорганизмов, не было также обнаружено и никакого ингибирующего действия на микробное сообщество, разлагающее отходы, включая специфическую скорость образования метана, активность дегидрогеназы, и число специфических микроорганизмов, определенных иммунным методом. Сделан вывод, что для увеличения содержания метана в биогазе следует использовать предварительную аэрацию супернатанта, рециркулируемого в реакторе [16].

Ферментативное анаэробное разложение активного ила сточных вод с общим содержанием сухого вещества 7,5% со смесью отходов овощей и фруктов с содержанием сухих веществ около 25% изучалось в параллельных двухстадийных системах. В трубчатых реакторах стабильное анаэробное разложение органических отходов достигалось при 30°C при помощи ацидогенных и метаногенных бактерий при скоростях загрузки 5,7 кг сухих веществ/м³ в день. Процесс продолжался 13 сут (3 дня ацидогенная фаза и 10 дней метаногенная). В течение этого времени происходило расщепление 40% отходов, считая на их сухой вес. Выход биогаза составлял 0,37 м³/кг добавленных отходов, считая по сухой массе. Биогаз содержал 68% метана. С увеличением времени ферментативного разложения до 17 сут и увеличением метаногенной стадии до 13 сут расщепление отходов составило 44% по сухому весу. Для получения большего выхода метана предложено проводить процесс в течение 4 – 26 сут в случае ацидофильной стадии и 10 – 65 сут в случае метаногенной стадии [17].

Изучение кинетики мезофильной анаэробной переработки сточных вод скотобоен в реакторе периодического действия и в реакторе с

восходящим потоком сточных вод показало, что различные концентрации органических веществ в сточных водах не изменяли кинетику анаэробного разложения, которая в обоих случаях протекала по реакции первого порядка. В реакторе периодического действия образование метана и продуктов трансформации азота прекращалось через 30 – 40 и 20 – 30 ч соответственно. В реакторе с восходящим потоком сточных вод этот процесс продолжался в течение 30 – 40 сут. Константы скорости были равны 3,93 и 0,23 ч⁻¹ соответственно для образования метана и продуктов трансформации азота.

Коэффициент выхода Y_p составил 343 и 349 мл для метана/г химических веществ, определенных бихроматным методом (ХПК) при стандартных условиях, для реактора периодического действия и реактора с восходящим потоком субстрата соответственно. Сделан вывод о целесообразности использования реактора с восходящим потоком сточных вод [18].

Для успешного функционирования системы, обеспечивающей анаэробную очистку сточных вод, как при мезофильных, так и при других условиях важны следующие параметры: 1) температура, скорость нагрузки органическими компонентами, гидравлическое время удерживания и скорость восходящего потока; 2) характеристики входящего потока жидкости (инфлюента) такие, как концентрация инфлюента, размер частиц твердого вещества в инфлюенте и величина заряда этих частиц и 3) характеристики ила (распределение размера частиц, внеклеточные полимерные вещества и величина их заряда) [19].

Приведены сравнительные физико-химические характеристики компостов, полученных анаэробным разложением частично обезвоженных осадков и илов сточных вод при мезофильных условиях, и компоста, полученного аэробным компостированием твердых отходов сточных вод обычным методом. Компост, полученный анаэробной переработкой частично обезвоженных осадков и илов сточных вод, отличался более высоким качеством. Так, концентрация общего гумуса в нем составляла 9,5%, а органических веществ 38,2%, тогда как в тех же отходах, полученных обычным компостированием, содержание гумуса составляло 3,5% и органических веществ 32,8%. Кроме того, в компосте, полученном анаэробным компостированием, было более низкое содержание тяжелых металлов. Сделан вывод, что качество компостов, полученных анаэробным разложением сточных вод, существенно выше [20].

Мезофильное анаэробное расщепление отходов животноводства

Трансформация углерода и азота в навозе жвачных животных, содержащих меченый ¹⁵N, в процессе их анаэробной и аэробной

обработки изучалось на трех видах смеси. Смеси с меченым ^{15}N в каловых массах, моче и фракциях соломы были получены после кормления овец сеном, не меченым ^{15}N , и сеном, меченым ^{15}N . Половинная порция из каждого вида смеси превращалась в компост аэробным способом, а вторая половина анаэробным способом при температуре 30 – 40°C. Соотношения азота между каловыми массами, мочой и сеном были 1,0:1,5:0,2 в самом начале исследований. Все смеси компостировались в течение 86 сут. Компостируемая смесь теряла 46% и 53% первоначального содержания азота и углерода соответственно. Потери из смеси, перерабатываемой анаэробным способом, не удалось полностью предотвратить, но, тем не менее, они были существенно меньше: 18% азота и 24% углерода. Потери азота при компостировании мочи были самыми высокими как при анаэробном, так и аэробном компостировании. Однако количество потерь азота в виде газа из каловых масс и фракций соломы увеличивались при длительном компостировании этих смесей. Так, потери азота при компостировании мочи составляли 79% от общих потерь азота в первые 7 дней компостирования, но затем они уменьшались до 64% к концу окончания эксперимента. Общие потери азота при анаэробном компостировании смеси составляли для мочи 94% от общих потерь азота спустя 28 дней после проведения процесса, и 68% к 86 дню компостирования. Различные смеси после компостирования имели одно и то же соотношение C:N и одну и ту же концентрацию общего азота, но анаэробно полученная компостная смесь имела значительно большее содержание неорганического азота, чем смесь, компостируемая аэробным способом. Сделан вывод, что качество компоста, получаемое анаэробной ферментацией, выше [21].

Процесс анаэробного мезофильного разложения отходов животноводства проводился при температуре 35°C. Сырые отходы фракционировались при помощи вибросепаратора с числом отверстий 18 меш, в результате чего концентрация сухих веществ в смеси была равна 15 – 30 г/л. Времена удерживания субстрата составляли 5, 3, 2 и 1 сут при проведении реакции расщепления в 300 л ферментере с мешалкой. Результаты свидетельствовали о получении метана через 3 – 5 сут, но начало его продукции приходилось на 1 и 2 день ферментации. Конец образования метана контролировалось по составу отходящих газов. Продуктивность метана (количество CH_4 /г летучих сухих веществ) повышалась от 0,22 до 0,36 соответственно на 2 и 5 сут проведения реакции. Уменьшение количества сухих веществ было наиболее высоким на 5 сут расщепления и составляло 51,6% и 34,5% на 2 сут переработки. Количество выделяющегося аммиака и общий выход летучих жирных кислот свидетельствовал об отсутствии ингибирования во время расщепления. Уровень щелочности был достаточно низок (1200–2000 мг/л в виде CaCO_3). Хотя вспенивание начиналось на 1 – 2 сут проведения

процесса, уровень летучих жирных кислот оставался низким (<700 мг/л в виде ацетата) и pH было выше 7. Сделан вывод о том, что окончание процесса разложения происходит из-за вымывания бактерий, а не за счет ингибирования процесса органическими компонентами [22].

Мезофильное анаэробное разложение растительных, домашних, пищевых и городских отходов

Описан мезофильный процесс переработки органических отходов в жидком и твердом состоянии, предпочтительно отходов домашнего хозяйства, растений и деревьев, анаэробной ферментацией для получения биогаза и компостов. Отходы превращали в пульпу в специальном устройстве, называемом гидропульпой. Эта операция отделяет нежелательные примеси от компостируемого материала, такие как пластмассы и песок. Полученный биогаз, содержащий не менее 70% метана, собирали и затем превращали в электроэнергию и тепло. Оставшийся осадок компостировали, а жидкие остатки вновь возвращали в производство [23]. В соответствии с другим процессом переработка городских отходов с целью получения биогаза и компоста была осуществлена в две стадии. Первая стадия заключалась в анаэробном разложении отходов для получения биогаза, состоящего из метана и CO_2 , а вторая стадия – в аэробном высушивании остатков и получении из них гумусоподобного материала для удобрения почвы. Полученный гумусоподобный материал имел низкое содержание тяжелых металлов и мог быть использован для удобрения почвы [24].

Была изучена также анаэробная конверсия целлюлозы, целлобиозы, глюкозы, летучих жирных кислот и метанола сообществом ацидогенных, ацетоногенных и метаногенных микроорганизмов, выделенных из пресноводных осадков, при мезофильных условиях. Максимальное уменьшение летучих сухих веществ (ЛСВ) наблюдалось при биоконверсии целлюлозы, целлобиозы и глюкозы, следом за ними шли метанол и другие компоненты с коэффициентом выхода продукта ($Y_{p/s}$), равным $0,59 \text{ м}^3/\text{кг}$ ЛСВ при учете объемной продуктивности, равной $15,7 \text{ ммоль/л} \cdot \text{день}$ после 12 дней конверсии целлюлозы. Максимальное содержание метана в биогазе составляло 86,1% или $82,5 \pm 3,6\%$. Были проанализированы характеристики получения метана в реакторе периодического действия.

Максимальные значения $Y_{p/s}$ из целлобиозы, глюкозы, метанола, формиата, ацетата, пропионата и бутирата были 4,0; 2,2; 0,71; 0,22; 0,90; 1,6 и $1,43 \text{ ммоль/моль}$ субстрата [25].

Описано получение биогаза из водных гиацинтов и водных травяных растений, используемых для фитообезвреживания промышленных стоков.

Известно, что эти растения обычно хорошо растут в стоках, разбавленных на 40%, и часто требуют удаления металлов и токсичных продуктов из сточных вод для их последующего использования. Суспензия из этих двух видов растений продуцировала значительно большее количество биогаза, чем те же растения, выращенные на деионизованной воде. Это действие проявлялось особенно ярко с растениями, используемые для фитообезвреживания 20%-ной пульпы и частично очищенных стоков после производства бумаги. Количество биогаза, полученного из травяных растений, было несколько выше и происходило быстрее (максимально через 6 – 9 сут), чем из водяных гиацинтов (через 9 – 11 сут) [26].

Совместная переработка различных видов отходов, как правило, улучшает разложение перерабатываемых веществ и выход биогаза. Так, разложение смеси пульпы лубяного волокна с рыбными отходами было изучено в реакторе периодического действия при мезофильных условиях. Наиболее высокие выходы метана при разложении пульпы лубяного волокна и отходов рыбы, взятых по отдельности, были 0,32 и 0,39 м³ СН₄/кг твердых летучих веществ соответственно при 5% общем содержании твердых веществ; совместное разложение смеси, содержащей 33% рыбных отходов и 67% пульпы лубяного волокна при общем содержании твердых веществ 16,6% продуцировало 0,62 м³ СН₄/кг твердых летучих веществ.

Таким образом, разложение смеси отходов приводило к увеличению выхода метана на 59 – 94% по сравнению с теми данными, которые наблюдались при расщеплении отдельных компонентов [27, 28].

Термофильное анаэробное разложение органических отходов

Как уже отмечалось ранее, термофильное разложение органических отходов в анаэробных условиях осуществляется реже. Это объясняется более сложным аппаратным оформлением процесса и более высокими затратами энергии для его осуществления. Тем не менее, в ряде случаев термофильное анаэробное разложение позволяет проводить процесс в более короткие сроки и с более высоким выходом биогаза [3 – 5].

Осуществлено сравнение анаэробного разложения целлюлозы при мезофильном и термофильном режиме в реакторах периодического и полунепрерывного действия с неподвижным слоем в виде активированного угля. Было показано, что в периодическом процессе уменьшение количества твердых летучих веществ (%) и количества полученного метана во время мезофильной и термофильной стадий разложения были равны соответственно: 52,2% и 15,9% и 96,7 и 49,2 мл/г общего количества твердого сухого вещества. Показано, что большинство микроорганизмов находилось в иммобилизованном состоянии на

наполнителе, в результате чего производительность процесса увеличивалась [29, 30].

Двухстадийное термофильное и мезофильное анаэробное разложение осадков из сточных вод и отходов кондитерской промышленности осуществлялось вначале в термофильном реакторе, а затем в мезофильном при 35°C. При использовании осадков и илов из сточных вод и концентрированных отходов кондитерской промышленности термофильное расщепление осуществлялось при 55°C в течение 4 часов. Мезофильное разложение осуществлялось в течение 8, 12 и 15 дней. Если судить по количеству сухих летучих веществ, такое проведение процесса было более эффективно, чем разложение отходов в одну стадию в одном реакторе. При определении материального баланса по количеству выделившегося метана ($\text{м}^3 \text{CH}_4/\text{кг}$ сухих веществ) наиболее оптимальным процессом является процесс термофильного предварительного разложения отходов при 55°C и последующего мезофильного разложения при 35°C в течение 12 сут [31].

Для исследования возможности использования солнечной энергии для осуществления процесса анаэробного разложения навоза скота было изучено влияние двух температурных режимов – 50 и 60°C, на термофильное разложение навоза в течение 20 и 10 сут. Результаты показали возможность использования солнечной энергии в дневное время суток для нагревания реакторов без необходимости поддерживать нагревание в ночное время, особенно при операционной температуре 50°C и 20 сут работы реактора [32].

Изучено аэробное и анаэробное компостирование бумажной пульпы и измельченных бумажных отходов при проведении процесса в 6 параллельных 500 л аппаратах с различным соотношением C:N в сырье. Наиболее приемлемым для компостирования бумажных отходов оказалось соотношение C:N равное 25 – 35. При таком соотношении термофильная стадия компостирования наступала через 36 ч и продолжалась 7 сут. При анаэробной обработке в реакторе, объемом 18 м^3 , термофильная стадия наступала через 24 ч. Компостирование считалось эффективным, когда количество компостированных веществ увеличивалось с 31,3 до 63,8% в течение 21 сут.

Анаэробное разложение тех же отходов осуществлялось в двух 5 л ферментерах при 40 – 70°C и компостируемая смесь состояла из городских отходов, пульпы и измельченной бумаги. Количество твердых отходов в процессе компостирования уменьшалось на 27 – 40% и количество образующегося метана составляло 180 л/кг отходов после 80-ти дневного периода. Оба метода оказались достаточно эффективными. Не удалось выявить различий в качестве компостов, полученных тем или другим способом [33].

Психрофильное анаэробное разложение отходов

Публикации по этому виду анаэробной переработки отходов малочисленны, хотя вид подобный переработки актуален для большинства стран с холодным временем года и не требует поддержание температуры реактора для осуществления процесса и получения биогаза.

Систематические исследования по этому виду переработки органических отходов начались в 60–70-х годах прошлого столетия, но наиболее интенсивно стали развиваться в 80-х годах XX века. Так, шведскими исследователями было обнаружено, что психрофильные микроорганизмы могут обеспечить успешное получение биогаза из отходов свиноводства при температурах 15 – 20°C. Однако, микробное сообщество, обеспечивающее получение газа, требует определенного времени для адаптации к психрофильным условиям. Время, требующееся для удовлетворительного получения биогаза анаэробным разложением органических отходов, как правило, в 2 раза выше, чем при мезофильных условиях проведения процесса [9].

В лабораторных условиях было показано, что метан может образоваться при разложении навоза жвачных животных и свиней при температуре 10 – 23°C и концентрации субстрата 0,1 – 0,2 кг сухих веществ/м³ в день [34]. На основе данных, приведенных в этой публикации, предложены несколько режимов получения метана в лабораторных условиях, которые были описаны соответствующими математическими формулами [30, 35].

Как видно из табл. 11, степень конверсии твердых органических отходов несколько увеличивается в случае снижения температуры от 25 до 19°C. Это увеличение становится уже вполне заметным для водорастворимых жидких отходов, что сказывается на их общем суммарном количестве. Однако, увеличивается также и количество скопившихся отходов (в 2 раза). Количество жидкой фракции в реакторе уменьшается почти в 1,5 раза при снижении температуры от 25 до 13°C и та же самая закономерность наблюдается и для образования биогаза при практически равном времени проведения. Этот факт свидетельствует о том, что большинство микроорганизмов, участвующих в процессе, не являются истинными психрофилами и о том, что отсутствует равновесный баланс между ацидогенной и метаногенной стадиями. Сделан вывод, что, скорее всего, многие из микроорганизмов, участвующих в процессе являются мезофилами, адаптировавшимися к психрофильным условиям, которые более правильно называть психротрофами [9, 36]. Показано также, что многие микроорганизмы плохо растут без соответствующей адаптации при психрофильных условиях. При этих условиях, энергия,

необходимая клетки для нормального функционирования, становится существенно меньше, наблюдается расщепление связей некоторых важных для жизнедеятельности биополимерных молекул, а в отдельных случаях – лизис клетки [37]. Однако после соответствующей адаптации к психрофильным условиям посевного материала, микроорганизмы могут быть использованы для получения биогаза. Например, при анаэробной переработке канализационных отходов, удавалось получить до 0,148 м³ биогаза/кг твердых органических отходов в день при 15°C [38].

Адаптация мезофильных микроорганизмов к психрофильным условиям сопровождается уменьшением у них числа ионных пар, изменением заряда и количества боковых цепей на поверхности клеток и появлением аполярных фракций, что, по-видимому, и сказывается на уменьшении активности метаногенных и других микроорганизмов [39].

Проведены также исследования 14 видов анаэробных психрофилов, выделенных из таких экосистем, как арктические экосистемы, северные климатические зоны, тундра и Антарктида и показано, что, по крайней мере, 7 из них могут расти при температуре 1°C. Однако, пока еще не выявлена их способность к продуцированию биогаза при низких температурах [40].

Как известно, биометанизация является многостадийным процессом, основными стадиями которого является этап образования органических кислот и стадия превращения этих кислот в метан и водород. В связи с этим, для изучения психрофильного процесса необходимо выделить и изучить те психрофилы, которые участвуют в этих двух стадиях. Только в этом случае процесс психрофильного анаэробного расщепления органических отходов может стать управляемым процессом [9].

Некоторые кинетические закономерности анаэробного разложения органических отходов

Как известно, определение кинетических параметров реакции позволяет количественно описать эту реакцию и сравнить ее эффективность с другими подобными реакциями [41]. Поэтому не удивительно, что были предприняты попытки количественного описания отдельных стадий анаэробного процесса разложения органических отходов [5].

Так, было показано, что совместное анаэробное разложение осадков сточных вод и органических фракций городских отходов существенно ускоряет ацетогенную и метаногенную стадии разложения, что приводит в конечном итоге к значительному увеличению выхода метана [5, 42]. Лимитирующей стадией в биометанизации, по мнению исследователей,

является первоначальная стадия – стадия гидролиза биополимеров [43]. При непрерывном процессе константы гидролиза сильно зависят от значения pH перерабатываемой смеси отходов, и, в меньшей степени, от времени проведения реакции [5].

Таблица 11

Влияние температуры на степень конверсии органических отходов, определенных бихроматным окислением (ХПК), и выход метана [36]

Вид отходов, степень конверсии и выход метана, %	Температура, °C				
	25	22	19	16	13
Конверсия твердых отходов	83	81	84	77	73
Конверсия жидких растворимых отходов	50	51	52	61	45
Общая конверсия отходов	70	70	72	71	64
Количество скопившихся отходов, г ХПК/м ³	68	67	130	78	103
Количество жидкой фракции, %	58	56	37	46	33
Выход метана, % от теоретического	60	59	52	49	35
Время проведения процесса, сут.	117	–	–	–	110

Описана модель двухстадийного процесса гидролиза органических отходов, включающих в себя стадию гидролиза и стадию ацето-метаногенеза. Описание процесса ферментативного гидролиза включало в себя возможность инактивации ферментов за счет изменения значения pH реакционной смеси и времени проведения процесса [44].

Как видно из табл. 12 [5], процесс гидролиза биополимеров при анаэробном расщеплении отходов происходит по уравнению псевдопервого порядка и зависит от температуры и значения pH.

Определено также, что гидролиз биополимеров ингибируется пропионатом, образовавшимся в процессе реакции [45, 46]. Эффективность гидролиза сильно зависела также от величины скорости адсорбции гидролитических ферментов на поверхности гидролизующихся ими

субстратов, о чем свидетельствует высокая энергия активации процесса, равная 64 ± 14 кДж/моль. [47, 48]. В другой работе показано, что скорость адсорбции крахмала на поверхности стеклянных сферических частиц, используемых в качестве носителя для анаэробных микроорганизмов при разложение этого субстрата в реакторе периодического действия, равна 4 мг крахмала/мкм² в час. [49]. Однако в данной работе не учитывалась возможность истирания стеклянных частиц и связанного с этим изменением процесса адсорбции [5].

Пути интенсификация процесса анаэробного разложения отходов

Одним из видов интенсификации анаэробной переработки отходов является термофильное разложение, о чем уже упоминалось ранее. Другим видом подобной интенсификации, как известно, является аппаратное оформление процесса и разработка конструкций соответствующих реакторов для осуществления этого процесса, чему посвящен сравнительно недавно опубликованный обзор, обсуждающий все преимущества и недостатков реакторов различной конструкции [30]. Однако мы постараемся остановиться в нашей публикации на биохимической стороне этого вопроса.

Таблица 12

Константы гидролиза компонентов некоторых биополимеров, входящих в состав органических отходов [5]

Компонент	Константа гидролиза k , день ⁻¹	Литературный источник
Липиды	0,005 – 0,010	[50]
Белки	0,015 – 0,075	[50]
– « –	0,081 – 0,177 (зависит от значения pH)	[44]
Полисахариды	0,025 – 0,200	[50]
Смесь пищевых отходов	0,4	[43]
Смесь твердых отходов	0,012 – 0,042 (зависит от значения pH)	[51]
Компоненты био- отходов	0,03 – 0,15 (20°C) 0,24 – 0,47 (40°C)	[46]

Исследования отдельных авторов показали, что биометанизацию органических отходов можно увеличить в несколько раз при добавлении к перерабатываемой смеси различных гидролитических ферментов и особенно протеиназ, целлюлаз и пектиназ [3, 7, 41].

Обнадеживающие результаты получены и при предварительном гранулировании органических отходов до размера гранул 20 – 100 мм и проведении анаэробной ферментации гранулированных органических отходов при мезофильных условиях с образованием CH_4 , последующим высушиванием остатка и получением компоста, используемого в качестве удобрения [52]. Эффективным оказался также метод иммобилизации метаногенных бактерий на инертных носителях, таких как полиуретан, пористое стекло, пластмасса и пр. [30, 53]. Например, в том случае, когда в качестве носителя для микроорганизмов были выбраны кубики из полиуретана размером 1 см, удастся провести разложение осадков сточных вод и других органических отходов при времени удержания субстрата в реакторе, равного 4 ч, при температуре $25 \pm 1^\circ\text{C}$ и скорости потока сточных вод, равного 20 л/час.

Удалось также в 1,3 – 1,5 раза увеличить количество метана, образующегося за счет анаэробной переработки барды, при ковалентной иммобилизации метаногенных микроорганизмов на поверхность гранул из поли(акрилонитрил-со-акриламида) при мезофильных условиях. Была исследована кинетика иммобилизованного сообщества микроорганизмов для переработки барды в биогаз. Концентрация клеток в процессе переработки увеличивалась от 12,6 мг/г носителя до 52,1 мг/г носителя. Выход метана увеличивался и достигал $0,33 \text{ м}^3/\text{кг}$ органических отходов, определенных бихроматным методом (ХПК), что соответствовало 95% конверсии барды, считая на ХПК. Отмечено также уменьшение ингибирующего действия кислорода после иммобилизации сообщества метаногенных микроорганизмов [54].

Влияние аммиака на процесс биометанизации отмечено рядом исследователей [2, 5, 16]. Показано, что анаэробное расщепление глюкозы, полученной гидролизом полисахаридов, существенно уменьшалось при увеличении концентрации аммиака в смеси с 740 до 3500 мг азота/л. Сделан вывод, что накопление аммиака в процессе анаэробной переработки отходов оказывает ингибирующее действие на гликолиз и последующую биоконверсию углеводов [55]. Однако метаногенные бактерии оказались устойчивы к высоким концентрациям аммиака за счет их адаптации [5]. Сделан вывод, что оптимальными концентрациями аммиака в перерабатываемой смеси для увеличения количества продуцируемого метана являются концентрации 900 – 1200 мг/л [56]. При таких концентрациях рН реакционной смеси остается нейтральным или слабощелочным, что оказывает благоприятное действие на биосинтез

метана, как при мезофильном, так и термофильном проведении процесса. При соотношении количества биоразлагаемых органических отходов, определенном как ХПК, к азоту аммония, равном 50, количество продуцируемого метана наиболее оптимально и составляет не менее 80% от теоретического [57].

Глава 9

Получение водорода анаэробным разложением органических отходов

Как было видно из рис. 10, одновременно с получением метана имеет место и получение водорода, который является существенно более энергетически и экологически выгодным топливом. В связи с этим получению водорода при анаэробной переработки органических отходов в последнее время стало уделяться существенно большее внимание.

Интересно отметить тот факт, что пути биосинтеза метана и водорода отличаются друг от друга. Так, образование метана лучше протекает при нейтральных или слабощелочных значениях pH и, как уже отмечалось ранее, стимулируются аммиаком, выделяющимся в процессе реакции, тогда как образование водорода существенно снижается при слабощелочных значениях pH и высоких концентрациях аммиака в реакционной смеси.

Для того, чтобы избежать этих изменений, был исследован двухступенчатый процесс, обеспечивающий удаление аммиака и биосинтез водорода. С этой целью, было изучено влияние способности карбонатов нейтрализовывать аммиак, образующийся в ходе реакции. Результаты показали, что присутствие карбоната ускоряет потребление летучих жирных кислот (ЛЖК) и аммиака. Особенно эффективно присутствие карбоната сказалось на потреблении пропионата и/или бутирата. Результаты экспериментов в реакторе периодического действия с двухступенчатым получением водорода показали, что уменьшение количества аммиака усиливает биосинтез водорода. Кроме того, присутствие альбумина в реакционной смеси не ингибировало биосинтез водорода, а наоборот увеличивало скорость его получения. Отношение углерода ЛЖК к азоту NH_4^+ в субстрате, предназначенном для анаэробного разложения при двухступенчатом методе получения водорода должно быть более шести [58].

Показано, также, что при ингибировании анаэробного разложения органических отходов ацетиленом происходит ингибирование метаногенной активности бактерий и вместо метана образуется водород. В качестве органических отходов были использованы отходы лигноцеллюлозных материалов вместе с целлюлозолитическими

анаэробными микроорганизмами. Показано, что ацетилен не оказывает никакого действия на скорость образования водорода при помощи чистой культуры *Clostridium thermocellum*, хорошо растущей при выбранных условиях [59].

Выделены чистые культуры бактерий, продуцирующих водород из анаэробно ферментируемых сточных вод. При использовании редуцирующих сахаров в качестве субстратов удалось добиться образования водорода в количестве 76,4 мл/г субстрата в час. Высказано предположение, что применение подобных культур может с успехом использоваться для получения водорода анаэробной ферментацией [60]. Японские исследователи вообще пришли к заключению, что углеводы являются самыми эффективными предшественниками образования водорода по сравнению с белками и липидами [61] (табл. 12). В результате исследований ими были найдены следующие оптимальные условия биосинтеза водорода из капусты: 26,3 – 61,7 мл/г сухих веществ, из моркови 44,9 – 70,7 мл/г сухих веществ и из риса 19,3 – 96,0 мл/г сухих веществ. Они показали также в своих исследованиях, что в получаемом биогазе отсутствует метан, а содержание водорода составляет 60%. Эти данные были подтверждены и другими исследователями при получении водорода из органических фракций городских отходов [62] (табл. 12).

Изучение влияния pH на превращение глюкозы в водород показало, что при 36°C в течение 6 ч 90% глюкозы расщепляется при значениях pH 4,0 – 7,0, превращаясь в биогаз и эффлюент, содержащий преимущественно летучие жирные кислоты. При оптимальном значении pH 5,5, биогаз состоит на 64±2% из водорода с выходом 2,1±0,1 моль H₂/моль глюкозы и скоростью образования 4,6±0,41 л H₂/г глюкозы/день. Эффлюент был переработан в ацетат (15,3 – 34,1%) и бутират (31,2 – 45,6%) плюс в небольшие количества других летучих жирных кислот и спиртов. Разнообразие микробного сообщества увеличивается при увеличении pH [63]. Проводилось также изучение влияния концентраций солей железа на биосинтез водорода при 37°C и pH 6 в анаэробных условиях смешанными культурами микроорганизмов из сточных вод после производства соевого молока, основной из которых является *Clostridium acetobutylicum*. В качестве субстрата был использован раствор сахарозы. Концентрация соли железа изменялась от 0 до 4000 мг FeCl₂/л. Максимальная скорость образования водорода составляла 24 мл/г сухого вещества в час при концентрации солей железа 4000 мг/л. Однако максимальный выход водорода 131,9 мг/г сахарозы был получен при концентрации FeCl₂ в 800 мг/л.

Скорость образования бутирата увеличивалась вместе с увеличением концентрации железа от 0 до 20 мг FeCl₂/л и затем понижалась при дальнейшем увеличении концентрации FeCl₂ от 20 до 4000 мг/л.

Максимальные скорости образования этанола и бутанола составляли 682 мг/г сухого вещества и 47 мг/г сухого вещества при концентрации FeCl_2 3 и 5 мг/л соответственно. Максимальные выходы ацетата (389,3 мг/г сахарозы), пропионата (37,8 мг/г глюкозы) и бутирата (196,5 мг/г сахарозы) были получены при концентрации 3, 200 и 800 мг FeCl_2 /л. Максимальная скорость расщепления сахарозы достигалась при концентрации FeCl_2 200 – 800 мг/л и максимальное накопление биомассы (0,283 г/г сухого вещества) при концентрации FeCl_2 3000 мг/л [64].

Как видно из данной работы, используя смешанные культуры из сточных вод, можно получать не только водород, но спирты и кислоты, регулируя биосинтез добавлением в реакционную среду солей железа. Последние стимулируют биотрансформацию сахарозы и образование водорода по гидрогеназному пути, который обеспечивает окислительное расщепление сахарозы за счет избыточного количества электронов, донором которых они являются [65]. При сравнении мезофильных и термофильных условий проведения процесса оказалось, что из органических фракций городских отходов, имеющих влажность 65% и выше, удается при помощи смешанной культуры ацидогенных анаэробных микроорганизмов получить биогаз, состоящий только из водорода и CO_2 при полном отсутствии метана в специально сконструированных реакторах. Нагрузка реактора составляла 12,3 г сухих летучих веществ/ кг субстрата в день и слабокислых значениях pH (табл. 4). Содержание водорода в биогазе при мезофильных условиях составляло 43%, при термофильных условиях 60% [66, 67]. Полученные данные совпадают и с данными других исследователей, полученных ранее [68].

Как уже отмечалось ранее и видно из табл. 13, образование водорода, в отличие от образования метана, происходит при кислых значениях pH, когда полностью подавляется рост метанобразующих бактерий. Эта же закономерность отмечена и другими исследователями [69, 70].

Таким образом, переработка отходов анаэробным разложением представляет несомненный интерес, так как позволяет решать сразу же несколько задач: получать энергию из возобновляемых природных ресурсов, существенно уменьшать количество отходов и тем самым защищать окружающую среду, использовать отходы для получения органических удобрений и кормовых добавок, а также для получения органических кислот и спиртов. Особенно интересны исследования по получению водорода из отходов анаэробным способом, обуславливающие возможность получения экологически чистого источника энергии.

К сожалению, в данной главе не уделено большого внимания тем культурам микроорганизмов, которые участвуют в процессе. Это

объясняется тем, что, во-первых в этом процессе участвует слишком большое сообщество различных микробных культур, которые взаимосвязаны и трудны для идентификации, во-вторых тем, что в отличие от аэробного процесса разложения, этот процесс существенно сложнее и еще недостаточно изучен. Кроме того, эффективность протекания этого процесса тесно связана с его аппаратурным оформлением, на описании которого мы вообще не останавливались в данной главе.

Таблица 13

Выход водорода при анаэробном культивировании органических отходов

Субстрат	Посевной материал	Температура, °C	pH	Выход H ₂ , %	Метод культивирования	Максимальный выход H ₂ , мл/г сухих в-в	Лит. источник
Капуста Морковь Рис	Микроорганизмы из сточных вод	37	Не контролировали	55 47 46	Периодический	62 71 96	[61]
Органические фракции городских отходов	-«-	37	5,2	60	-«-	140	[62]
	<i>Clostridium sp.</i>	37	5,2	60	-«-	180	
Фракции городских отходов	Смешанные ацидогенные микроорганизмы: <i>Caldicellus</i> <i>ruptor saccharolyticus</i> и <i>Termotoga</i> <i>elfi</i>	37	5,49	43	Полупрерывный	150	[66, 67]
		55		60	-«-	470	

Таким образом, несмотря на то, что многие работы по получению биогаза реализованы на практике, особенно в развивающихся странах, остается много неясных вопросов, которые следует решить для

окончательного использования отходов в качестве дополнительного, а иногда и единственного, эффективного сырьевого источника для получения дешевой энергии и сельскохозяйственных удобрений.

Список литературы

1. *Guanzon Y., Holmer R.J.*//Proc. National Eco-Waste Multisectoral Conference and Fair at Pryce Plaza Hotel, Cagayan de Oro City, Philippines, 16–18 July 2003.– P. 178–184.
2. *Wilkie A.C.* Proceed. of Animal Residulas Management Conference. – 2000. Water Environment Federation, Alexandria, Virginia. –P. 1–12.
3. *Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н.* Экологические основы производств: Взаимосвязь экологии, химии и биотехнологии. –М.: МГУЛ, 2003. – С. 263–359.
4. *McKendy P.*//Bioresour. Technol. –2002. –V.83. – № 1. –P. 37–46, 47–54.
5. *Mata-Alvarez J., Mace S., Llabris P.*//Bioresour. Technol. – 2000. –V. 74. – № 1. –P. 3–16.
6. *Mahmoud N., Xeeman G., Gijzen H., Lettinga G.*//Bioresour. Tecno. – 2003. –V. 90.– № 1. –P. 1–9.
7. *Болобова А.В., Аскадский А.А., Кондращенко В.И., Рабинович М.Л.* Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Ферменты, модели, процессы. –М.: Наука, 2002. –С. 47– 52.
8. *Zeeman G., Sutter K., Vens T., Koster M., Wellinger A.*// Biol. Wastes.– 1985. – V. 26.– № 1. –P. 15–31.
9. *Kashyap D.R., Dadhich K.S., Sharma S.K.*//Bioresour. Technol. –2003.– V. 87.– № 2. – P. 147–153.
10. *Nand K.* Biotechnology: Food Fermentation Microbiology, Biochemistry and Technology /Eds: Joshi V.K., Pandey A. Vol. II. – Kerala, India: Education publisher and distributors, 2000. – P. 1349–1372.
11. *Dahab M.F., Ponugoti P., Surampalli R.*// Annu. Residuas Biosolids. Manage. 10th-conf.– 1996. –V. 4. –P. 1 – 8. //Chem. Abstr. – 1997.– 127.– 99139.
12. *El-Abagy M.M., Shaban A.M.*// Int. J. Environ. Health Res. –1996. – V. 6. –№3. –P. 245–250.
13. *Shido Y., Yamaguchi U., Uoka K., Suzuki T., Minagava A., Kitabatake S.*//Патент Германии № 4414387.–1994. –Cl C05A17//02. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 16367y.
14. *Muender H., de Bacre L., Six W., Kaendler K.* // Umwelttechnik, 1994.– B.28.– №5.– S. 17–20.
15. *Soeda Y., Moro M., Yamamoto T./ Shibata T.*//Патент Японии № 1333416.–1999.– Cl B09B3/00. //Chem. Abstr. –2000.– 132.– 15179.

16. *O'Keefe D.M., Brigmon R.L., Chynoweth D.P.*//Bioresour. Technol. 2000. –V. 71.– №3. –P. 217–224.
17. *Dinsdale R.M., Premier G.C., Hawkes F.R., Havkes D.L.*// Bioresour. Technol. –2000.– V. 72.– N2.– P. 159–168.
18. *Rodriguez-Martinez J., Rodriguez-Carza I., Balagurasami N., Sosa-Santilian G., Garza-Garcia Y. Pedra-Flores E.*//Bioresour. Technol. – 2002. –V. 85.– N3.– P. 235–241.
19. *Mahmoud N., Zeeman G., Gijzen H., Gatza L.*//Bioresour. Technol. – 2003. – V. 90.– N1.– P. 1–9.
20. *Zorpas A.A., Stamatis V., Zorpas G.A., Vlyssides A.G., .*// Fresenius Environ. Bull. –1999. –B. 8. – №3/4. –S . 154–162.
21. *Thomsen I.K.*//Bioresour. Technol. –2000.–V. 72. –N3.– P. 267–274.
22. *Hill D.T., Bolte J.P.*//Bioresour. Technol. –2000.–V. 74.– N3.–P. 241–247.
23. *Martino V.*//Eau. Ind., Nuisances. – 1997. – №. 204. – P. 103–107.
24. *Rich D., Kayhanian M.* // BioCycle. – 1994. –V. 35. – №3. –P. 82–84, 86–87.
25. *Tabassum R., Rajoka I.*//Bioresour. Technol. –2000. –V. 72. –№ 3. – P. 199–205.
26. *Singhal V., Rai J.P.N. Rai.I* //Bioresour. Technol. –2003. –V. 86. – №3. – P. 221–225.
27. *Mshandete A., Kivasi A., Rubindamayaugi M., Mattiasson B.*// Bioresour. Technol. –2004. – V. 95.–N1.– P.19–24.
28. *Nichols C. E.*//BioCycle. –2004. –V. 45. – № 1. –P. 47–54.
29. *Yang Y., Tsukahara K., Yagishita T., Sawayama S.*//Bioresour. Technol. –2004. –V. 94. –N2.– P.197–201.
30. *James Sh., Kamaraj P.S.*//Bio Energy News. –2002. –V. 6.–№ 3.– P.3–10.
31. *Lafitte-Trouque S., Forster C.F.*//Bioresour. Technol. –2000. –V.71.– №1. –P. 77–82.
32. *El-Mashad H.M., Zeeman G., van Leon W.K.P., Bot G.P.A., Lettinga G.*//Bioresour. Technol. –2004. –V. 95. –N2. – P. 191–201.
33. *Jokela J., Rintala J., Oikari A., Reinikainen O., Mutka K., Nyron T.*//Water Sci. Technol. –1997. –V. 36. – №11. –P.181–188.
34. *Safley L.M., Westerman P.W.*//Bioresour. Technol. –1994. –V. 47. – №2. –P. 165–171.
35. *Hill D.T., Taylor S.E., Grift T.E.*//Bioresour. Technol. –2001. –V. 78. – N2.– P. 127–131.
36. *Uemura S., Harada H.*//Bioresour. Technol. –2000. –V. 72. – № 3. – P. 275–282.
37. *Kanwar S.S., Guleri R.L.*//Bioresour. Technol. –1994. –V. 50. – № 2. –P. 119–121.

38. *Meher K.K., Murthy M.V.S., Gallacota K.G.*//Bioresour. Technol. 1994. –V. 50.– № 2. –P. 103–106.
39. *Gianese G., Bossa F., Pascarella S.*//Proteins. –2002.– V. 47. – № 2. – P. 236–249.
40. *Nozhevnikova A.N., Simankova M.V., Parshina S.N., Kotsyurbenko O.R.*// Water Sci. Technol. –2001. –V. 44. – № 8. –P. 41–48.
41. *Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н.* Биологически активные соединения из природных объектов. Свойства и структурно-функциональные взаимосвязи. –М.: МГУЛ, 2003. – С.143–250.
42. *Kiely G., Tayfur G., Dolan C., Tanja K.*//Water Res. – 1997. –V. 31. – № 3. – P. 534–540.
43. *Вавилин В.А., Румов С.В., Локушина Л.Я.*//Микробиология. –1997. – Т. 66. – № 6. –С. 712–717.
44. *Zeeman G., Palenzuela A.R., Sanders W., Miron Y., Lettinda Broughton M.J., Thiele J.H., Birch E.J., Cohen A.*//Water Res. – 1998. –V. 32. – № 9. – P. 1423–1428.
45. *Salminen E., Rintala J. Lokshina L.Ya., Vavilin V.A.*//Proc. Second Internetal Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Wastes. /Eds.: Mata-Alvares J., Tilche A., Cechi F. Vol. 1. –Barselona: Grafiquet 92, 1999.– 15–18 June. –P. 41–48.
46. *Veeken V.A., Hamelers B.V.M.*//Bioresour. Technol. –1999. –V. 63.– № 3. –P. 249–254.
47. *Veeken V.A., Hamelers B.V.M.*//Proc. Second Internetal Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Wastes. /Eds.: Mata-Alvares J., Tilche A., Cechi F. Vol. 1. –Barselona: Grafiquet 92, 1999.– 15–18 June. –P. 250–257.
48. *Sanders W.T.M., Geerink M., Zeeman G., Lettinga G.*//Proc. Second Internetal Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Wastes. 1999./Eds.: Mata-Alvares J., Tilche A., Cechi F. –P. 25–32.
49. *Kashyap D.R., Vohra P.K., Chopra S., Tewari R.*//Bioresour. Technol. –2001. – V. 77. – № 3. –P. 215–227.
50. *Christ O., Faulstich M., Wilder P.* //Proc. Second Internetal Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Wastes. 1999./Eds.: Mata-Alvares J., Tilche A., Cechi F. Vol. 2. –Barselona: Grafiquet 92, 1999.– 15–18 June. –P. 5–8.
51. *Kalyuzhnyi S., Veeken A., Hamers B.*//Proc. Second Internetal Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Wastes. 1999./Eds.: Mata-Alvares J., Tilche A., Cechi F. Barselona. Vol. 1.–Barselona: Grafiquet 92, 1999.– 15–18 June. –P. 332–339.
52. *Ueno M., Moro M., Soida Y., Yamamoto T.*//Патент Японии № 11197639. –1999. –Cl B09B3/00. //Chem. Abstr. –1999. – 131. – 91988.

53. *Zaiat M., Passing F.H., Foresti E.*// Bioresour. Technol. –2000. –V. 71. – №3. –P.235–243.
54. *Lalov I.G., Krysteva M.A., Phelouzat J.L.*//Bioresour. Technol. –2001. – V. 79. – №1. –P.83–85.
55. *Fujishima S., Miyahara T., Noike T.*//Proc. Second International Symposium on Anaerobic Digestion of Solid Wastes. 1999./Eds.: Mata-Alvares J., Tilche A., Cechi F. Vol. 1.–Barselona: Grafiquet 92, 1999.– 15–18 June. –P. 348–355.
56. *Kayhanian M.*//Environ. Technol. –1999. –V. 20. – № 4. – P. 355–365.
57. *Poggy-Virardo H.M., Gomez-Cisneros E., Fernandez –Villagomez G., Esparza-Gareia F., Rinderknecht-Seijas N.*//Proc. Of 52nd Industrial Waste Conference. Ann Arbor Press, Ann Arbor. –MI. –P. 55–66.
58. *Takabatake H., Suzuki K., Ko I.B., Noike T.*//Bioresour. Technol. – 2004. –V. 95. –№2. –P.151–158.
59. *Sparling R., Risbey D., Poddi-Varalda H.M.*// Int. J. Hydrogen Energy. – 1997. – V. 22. – № 6. –P. 563–566.
60. *Li B., Lu B., Ren N.*// Huanjing Kexue Xuebau . –1997. –V. 17. – № 4. – P. 459–463. //Chem. Abstr. –1998. – 128. – 119036.
61. *Okamoto M., Miyahara T., Mizino O., Noike T.*//Water Sci. Technol. – 2000. –V. 41. – № 1. – P.25–32.
62. *Lay J.J.*// Biotechnol. Bioeng. –2000. –V. 68. – № 3. –P. 269–278.
63. *Fang H.H.P., Liu H.*//Bioresour. Technol. –2002. –V. 82. – №1. – P. 87–93.
64. *Lee Y.J., Miyahara T., Noike T.*//Bioresor. Technol. –2001. –V. 80. – № 3. –P. 227–231.
65. *Kim B.H., Zeikus J.G.*// Dev. Ind. Microbiol. –1985. –V. 26. – № 1. –P. 1–14.
66. *Valdez-Vazquez I., Rios-Leal E., Esparsa-Garcia F., Checchi F., Pavan P.,Poggi-Virardo H.M.*//Proc. of the H2-age Conference/ Ed. Pierucci S. – When, Where, Why.: AIDIC Publ., 16-19 May. Piza. Italy, 2004.– P. 134–148.
67. *Valdez-Vazquez I., Sparling R., Rindernecht-Seijas N., Risbey D., Poggi-Virardo H.M.*//Proc. of the H2-age Conference: When, Where, Why. : AIDIC Publ., 16-19 May. Piza. Italy, 2004.– P. 223–231.
68. *Yu H., Zhu Z., Hu W., Zhang H.*//Int. J. Hydrogen Energy.– 2002. –V. 27. –№ 8. –P. 1359–1356.
69. *Ueno Y., Haruta S., Ishhii M., Igarashi Y.*//J. Biosci. Bioeng. –2001. – V. 92. – № 2. –P. 397–400.
70. *Hawkes F.R., Dinsdale R., Hawkes D.L., Hussi I.*//Int. J. Hidrogen Energy. –2002. –V. 27. –№ 8. – P. 1339–1347.

РАЗДЕЛ 3

ПЕРЕРАБОТКА ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ В КОМПОСТЫ АЭРОБНЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Как уже неоднократно отмечалось ранее, в результате жизнедеятельности человека образуется значительное количество отходов самого различного состава. Все эти отходы требуют последующего уничтожения или могут быть использованы для получения из них различных полезных веществ, способных найти дальнейшее применение в самых различных хозяйственных областях.

Известно, что самым простым способом уничтожения отходов является их сжигание. Но в ряде случаев эти отходы имеют жидкую консистенцию и не способны к возгоранию, либо в процессе их горения выделяется такое количество токсических веществ, обезвреживание которых требует существенных затрат, которые не могут быть компенсированы предлагаемым видом переработки [1].

Одним из наиболее простых способов переработки отходов, популярность которого возрастает год от года, является их *компостирование*. Как правило, оно заключается в естественном биологическом разложении органической составляющей отходов при помощи различных видов микроорганизмов. Конечным продуктом разложения является гумусоподобное вещество, которое с успехом можно использовать, в первую очередь, в качестве средства, стимулирующего восстановление почвенных экосистем, и во вторую – в качестве органического удобрения.

Многие патогенные организмы не выдерживают конкуренции с другими микроорганизмами, образующимися в процессе компостирования, кроме того, тепло, выделяющееся при получении компоста, способствует окончательной гибели этих патогенных микроорганизмов. Неорганические отходы, например, стекло, металлы и пластмассу, отделяют чаще всего до биохимической переработки органических отходов, а затем при необходимости рециклизуют [1].

В настоящее время существуют специальные предприятия, занимающиеся как самим компостированием, так и выпуском оборудования, необходимого для этих целей. Эти предприятия, как показала практика, являются достаточно прибыльными, так как компост, получаемый на этих предприятиях, как уже отмечалось ранее, широко используется при рекультивации пахотных земель в сельском, садовом и парковом хозяйствах [1–7].

Часть 5

ОСНОВНЫЕ МЕТОДЫ КОМПОСТИРОВАНИЯ

Процесс компостирования известен с глубоких времен. Еще древние египтяне обнаружили, что урожаи сельскохозяйственных культур значительно увеличиваются, если обрабатывать почву, где они выращивались, навозом сельскохозяйственных животных. В дальнейшем было также обнаружено, что свежий навоз оказывает существенно меньшее влияние на почву, а иногда даже может принести вред, по сравнению с навозом, предварительно смешанным с илом или растительными остатками. Во многих случаях для увеличения эффективности такой смеси требовалось достаточно длительное время, для ее созревания, иногда достигающее года и более [1, 8].

В дальнейшем оказалось, что при правильно подобранном соотношении компонентов, получение удобрений для почвы может быть осуществлено в более короткие сроки [9]. Однако только после открытия микроорганизмов и создания новой научной дисциплины – микробиологии, стал понятен механизм процесса получения подобных удобрений. Оказалось, что эффективность их производства определяется участием в процессе разнообразных микроорганизмов и целиком зависит от их активности [1, 9, 10]. Этот процесс протекал существенно быстрее с увеличением аэрации перерабатываемых компонентов, и поэтому его стали называть аэробным разложением органических веществ или компостированием [1, 11].

С ростом животноводства, увеличением интенсификации производства сельскохозяйственных культур, развитием городов и появлением все большего количества соответствующих отходов компостирование стало одним из наиболее эффективных средств их переработки, а также улучшения структуры не только самой почвы, но и состояния окружающей среды [1, 8–10].

В настоящее время этот метод стал повсеместно использоваться во всех странах, однако основные закономерности протекания этого процесса удалось выявить только в последние 20 – 25 лет.

Глава 10

Сырьевая база получения компостов

Сырьем для получения компостов могут служить практически любые отходы, содержащие органические вещества: навоз сельскохозяйственных животных и птиц, нечистоты, ил, твердые и жидкие органические отходы из сточных вод, городские отходы, трава, листья, сено, солома, отходы сахарной свеклы, хлопка, жира, бумажной, деревообрабатывающей и

пивоваренной промышленности. Ареал сырьевой базы можно представить в виде табл. 14 [1, 12].

Приведенную таблицу можно дополнить еще и другими видами отходов, количество которых по литературным данным ежегодно увеличивается в 2 – 3 раза [12].

Как правило, все эти отходы содержат до 60 – 80% самых различных органических веществ, главными из которых являются такие высокомолекулярные соединения, как белки, полисахариды и лигнин. Если белки относительно легко подвергаются биохимической деструкции и последующей минерализации, то целлюлоза и особенно лигнин расщепляются существенно хуже и в этом случае при их компостировании встречаются наибольшие трудности [11, 13].

Многие из отходов имеют высокую микробную обсемененность, способствующую после активации населяющих их микроорганизмов, синтезу соответствующих ферментов, которые расщепляют и частично минерализуют содержащиеся в них органические соединения, необходимые, как для развития на них соответствующей микрофлоры, так и для биосинтеза биологически активных веществ. Существенным недостатком компостирования отходов всех видов является длительность самого процесса компостирования, иногда продолжающаяся в течение многих месяцев. Неудивительно, поэтому, что основной целью многих публикаций является ускорение процесса компостирования за счет более глубокого понимания этого процесса, а также, если это возможно, идентификация деятельности микроорганизмов, участвующих в этом процессе, а также выделение и изучение ферментов, способствующих расщеплению и минерализации сложных органических соединений.

Глава 11

Основные параметры компостирования

Основными параметрами аэробного компостирования являются температура, степень аэрации, содержание влаги и значение pH в компостируемой смеси.

Температура является одним из важнейших параметров, обеспечивающих эффективность компостирования. Она меняется в процессе компостирования за счет того теплового эффекта, который проявляется за счет окислительной деструкции ковалентных связей у компостируемых веществ [12].

Известно, что любой процесс компостирования имеет три основных температурных стадии: мезофильную, термофильную и стадию охлаждения или окончательного созревания компоста. Продолжительность всех трех стадий зависит от состава смеси органических отходов, предназначенных для компостирования, и степени аэрирования этой

смеси. Обычно мезофильная стадия начинается сразу же в начале компостирования или после некоторого периода, необходимого микроорганизмам для адаптации и роста [10–12].

Таблица 14

Сырьевые источники для получения компостов

Бытовые органические отходы	Сельскохозяйственные и садово-огородные органические отходы	Торгово-промышленные органические отходы
Отходы фруктов и овощей Скорлупа яиц и орехов Отходы чая и кофе Волосы, перья, шерсть, хлопок, кожа Древесная зола Цветы, садовые растения, растительные остатки Туалетная бумага, упаковочная бумага, оберточная бумага и пр. Пищевые отходы Навоз и подстилки для домашних животных Содержимое туалетов Различные виды домашнего мусора	Листья Обрезки травы Обрезки деревьев и кустарников Сорняки Опавшие фрукты Отходы с рынков Остатки сельскохозяйственных культур (корни, стебли, черенки) Солома Растительные отходы с газонов и парков Различные виды навоза сельскохозяйственных животных и птиц. Трупы умерших животных и птиц.	Агропромышленные: отходы пива, табака, хлопка Отходы из промышленных водоемов (водоросли, водные гиацинты), осадки из сточных вод и дренажных систем Различные виды городского мусора Отходы с агропромышленных комплексов и ферм Отходы бумажного и лесотехнического производства Отходы пищевой промышленности

Температура мезофильной фазы может варьировать от 40 до 55°C. По мнению многих исследователей, именно на этой стадии происходит наиболее активная окислительная деструкция органических отходов [13, 14]. Эта температура характерна и для третьей стадии компостирования – стадии охлаждения компостируемой смеси, когда наблюдается окончательная деструкция органических соединений. Термофильная стадия может продолжаться от 5 до 25 дней и более, температура на этой стадии компостирования может достигать 70°C и выше. Как правило, на этой стадии происходит активное уничтожение патогенных микроорганизмов и наиболее высокие потери летучих органических веществ [15]. Последняя стадия может продолжаться в течение многих

недель и даже месяцев и завершается, когда температура компостируемой смеси достигнет температуры окружающей среды [14].

Аэрация компостируемой смеси тесно связана с температурой компостирования. Например, с увеличением температуры компостирования увеличивается выход вредных соединений и отравление воздушной среды. Такими соединениями, образующимися в процессе компостирования, являются CH_4 , метанол, производные серы, пахучие компоненты. Обычно метанол и 2-бутанон являются основными загрязнителями воздуха при компостировании. Однако, эмиссия пахучих веществ типа диметилсульфида усиливается при увеличении содержания серосодержащих веществ в сырье при компостировании. Высокие концентрации метана, аммиака и серосодержащих веществ в воздухе при компостировании обычно свидетельствуют о плохой аэрации в ходе процесса компостирования [15].

Существует три вида аэрации компостируемых смесей: принудительная аэрация, осуществляемая нагнетанием воздуха в бурты, компостные кучи или соответствующие аппараты для аэробного компостирования; пассивная аэрация, осуществляемая специальным расположением горизонтальных компостных буртов в направлении розы ветров и прокладкой внутри компостируемых горизонтальных буртов широких труб с перфорацией, обеспечивающих пассивное поступление воздуха внутрь компостируемой смеси, и наконец, метод компостирования с естественной аэрацией, без использования каких-либо приспособлений, но с учетом розы ветров [16]. При принудительной аэрации скорость поступления воздуха обычно составляет 0,20 – 1,33 л/мин·кг сухих летучих веществ для компостирования городского мусора и осадков сточных вод и 0,87 – 1,9 л/мин·кг сухих летучих веществ при компостировании смесей, в состав которых входит навоз. При пассивной аэрации скорость поступления воздуха в компостные кучи не велика и составляет 0,04 – 0,08 л/мин·кг сухих летучих веществ [17, 18].

При компостировании пассивная аэрация может существенно удешевить процесс по сравнению с принудительной или активной аэрацией. Пассивная аэрация требует для своего осуществления специальных аэрационных каналов и надлежащего расчета скоростей воздушных потоков, созданных за счет разницы в температуре между компостируемой смесью и окружающим воздухом. Для того, чтобы установить подобную взаимосвязь, были изучены режимы температуры и конвективного потока воздуха в компостируемых смесях с тремя видами наполнителей: деревянных стружек, сена и соломы, а также тремя уровнями содержания влаги: 60%, 65% и 70%. Все эксперименты проводились в пассивном и активном режиме аэрации. Для экспериментов был использован лабораторные реакторы объемом 105 л. Пассивная аэрация осуществлялась при температуре 57°C; при активной аэрации

расход воздуха составлял 4 мл воздуха/с на кг сухого компостируемого продукта. Компост влажностью 60 – 70% имел один температурный пик, возникающий между 2 и 6 сут компостирования. После 6 сут компостирования содержание влаги не оказывало никакого влияния на температурный режим процесса из-за потери влаги в каждой смеси. Была установлена взаимосвязь между числом Гресхольфа (Gr – отношение плавучести к силе внутреннего трения) и скоростью конвективного воздушного потока. В общем случае скорость конвективного воздушного потока варьировала от 1,5 до 0,7 мл сухого воздуха/сек на кг сухого материала компоста от 0 до 20 сут соответственно для всех образцов компоста. Эта скорость потока воздуха обеспечивалась аэрационными каналами, сделанными внутри компостных куч для пассивной аэрации. По сравнению с соломой, где скорость воздушного потока опускалась ниже уровня числа Gr , древесные стружки и сено оказались более эффективны как наполнители. При использовании этих веществ скорость потока воздуха увеличивалась постоянно, относительно числу Gr [19].

С другой стороны, достоинством принудительной аэрации является более высокая скорость компостирования и возможность частичного регулирования температуры компостирования. Недостатком принудительной аэрации является значительные потери летучих органических веществ при проведении процесса компостирования [20].

Влияние принудительной аэрации на степень образования аммиака изучалось при компостировании отходов домашнего хозяйства на пилотной установке. Найдено, что значительное освобождение NH_3 происходило на первых этапах деградации белков и усиливалось с увеличением скорости аэрации в течение этого периода. Показана хорошая корреляция между изменением температуры, освобождением CO_2 и выделением NH_3 [21].

В связи с этим отдельные исследователи рекомендуют проводить компостирования при пассивной или естественной аэрации, которая, хотя и протекает с более медленной скоростью, но обеспечивает более полное созревание компоста и не требует высоких денежных затрат [20, 22, 23].

Параллельные эксперименты по выявлению влияния различных видов аэрации на качество компостов показали, что любые процессы искусственного аэрирования уменьшают время компостирования, и, в отдельных случаях, могут ухудшить качество компоста. Наиболее эффективна аэрация секционного типа вдоль горизонтально-сложенного компостного бурта по сравнению с другими видами аэрации, например, при помощи компрессора, если скорость аэрации контролируется в соответствии со скоростью процесса разложения органического материала. Кроме того, газы, отходящие при контролируемой секционной аэрации компостных буртов, содержат меньшее количество дурно пахнущих и летучих веществ [24].

Различные методы аэробного компостирования обсуждаются в работе [15]. Из обсуждения становится ясно, что самыми подходящими являются методы физической и микробиологической обработки в аэробных термофильных условиях. Основная проблема при таких видах обработки – это пенообразование во время процесса. Предложены достаточно эффективные методы, которые могут решить данную проблему. Аэробное термофильное компостирование является простым и не дорогим методом. Этот метод может помочь разрешить также проблему деконтаминации на фермах и этот метод используется постоянно на многих фермах для удаления отходов.

Содержание воды в компостируемых смесях оказывает существенное значение для получения высококачественного компоста. Обычно компостирование протекает достаточно эффективно при содержании воды в компостируемой смеси 35 – 65% [12]. Поддерживать эти значения во время компостирования особенно важно при принудительной аэрации, когда вода удаляется вместе с отходящим воздухом [21].

Для понимания взаимосвязи между влажностью, температурой, и микробной активностью были проведены исследования при компостировании смеси твердых илистых осадков из городских сточных вод. Микробная активность определялась как скорость потребления кислорода мг/кг·ч. Влажность была доминирующим фактором, влияющим на микробную активность компостируемой смеси. Влажность 50%, по-видимому, является тем минимальным пределом, ниже которого этот показатель не должен опускаться. В этом случае активность микроорганизмов бывает выше, чем 1,0 мг/г·ч. Температура также была важным фактором при компостировании смеси отходов. Однако она оказывала меньшее влияние, чем содержание влаги. В частности, повышение активности микроорганизмов, вызванное увеличением температуры, можно было достичь одним увеличением влажности [25].

Значение pH в компостируемой смеси также является одним из показателей эффективности процесса компостирования. Обычно величины pH в компостируемой смеси меняются от слабокислых до нейтральных и слабощелочных значений за счет образования аммония в ходе компостирования, т.е. в интервале pH 4,5 – 8,1. Как правило, эти значения тесно связаны с теми микроорганизмами, которые участвуют в процессе компостирования [1, 12].

Проведение компостирования в режиме pH-статирования было показано при компостировании различных видов городского мусора. В pH-статируемом процессе к компосту добавляли известь, чтобы обезвредить патогенные микроорганизмы и предотвратить понижение pH ниже 7,0, в особенности на ранних стадиях компостирования. Скорость разложения органических материалов была выше в pH-статируемом реакторе по

сравнению с реактором без контроля рН. Количество потерь азота в рН-стативируемом реакторе повышалось, но степень превращения азотистых компонентов оставалась низкой. Была также изучена рН – зависимость микросорбентов, участвующих в компостировании, которые влияют на скорость созревания компоста. Эта зависимость изучалась на среде, содержащей в качестве питательных компонентов глюкозу и белки. Оптимальным значением рН для проявления максимальной активности микроорганизмов, определяющих скорость образования компоста, и, в частности, деградацию белков, было значение $\text{pH} = 7 - 8$, тогда как наибольшая скорость деградации углеводов, наблюдавшаяся на ранних стадиях созревания компоста, была при значениях рН, равных 6 – 9 [26].

Изменение времени компостирования при переработке домашних отходов за счет инициации фазы низкого значения рН и контроля мезофильной температуры было изучено на первоначальной стадии компостирования домашних отходов. Процесс вели до тех пор, пока значение рН не достигало некоторого постоянного значения. Для этого измерялось значение рН в конденсате, полученном после охлаждения компостного газа. Было выдвинуто предположение, что активность микроорганизмов при низком значении рН подавляется быстрым ростом температуры. Резкое увеличение в значении рН, когда происходит разложение жирных кислот, по-видимому, является хорошим маркером, когда может быть прекращен контроль температуры [27].

Глава 12

Способы аэробного компостирования органических отходов

При изложении многочисленного материала, посвященного аэробным методом компостирования, представленного в отечественной и иностранной периодической печати, мы попытались сгруппировать основные публикации, положив в основу выбора соотношение углерода и азота в компостируемых смесях, так как от этого параметра во многих случаях зависит продолжительность процесса компостирования и качество полученного компоста [1, 8–10, 12].

Компостирование навоза сельскохозяйственных животных

Как уже отмечалось ранее, получение удобрений из навоза сельскохозяйственных животных известно с глубокой древности. Некоторые понятия о составе навоза сельскохозяйственных животных и птиц можно почерпнуть из табл. 15 [1, 12], а также из работ других авторов [28]. Как видно из табл. 15, навоз содержит целый ряд необходимых питательных веществ для растений: значительные количества углерода и азота, из которых 80 – 85% приходится на

органические соединения этих веществ [12, 28], а также значительные количества фосфора. Помимо фосфора, значения которого приведены в табл. 6, навоз содержит также значительные количества калия и магния, а также практически все микроэлементы, необходимые для роста и развития растений [28].

Как видно из табл. 15, отношение углерода к азоту, которое является наиболее важным показателем качества компоста, имеет значения 19 – 25 у различных видов домашней птицы и у кроликов. Свиньи и жвачные животные имеют более высокие показатели: 34 – 44, т.е. в их навозе содержится меньшее количество азота. Однако эти показатели ниже показателей отношения C:N у других видов органических отходов, которые могут достигать значений 50 – 60 и даже 200 – 300 у лигноцеллюлозных материалов.

Определены также количества органических веществ (ОВ), содержащихся в навозе лошади, коровы, свиньи, овцы, козы, кролика, цыплят и страуса, а также общее содержание углерода (ОС), общее количество азота (ОА), соотношение $C_{OC}:N_O$, количество растворимого органического углерода (РОУ), количество органического азота (КОА), соотношение углеводов к КОА, углерода гуминоподобных кислот (УГК), углерода фульвоподобных кислот (УФП), индекс гумификации ($C_{УГК}/C_{OC} \cdot 100$), отношение $C_{УГК}/C_{УФК}$ и соотношение азота NH_4^+/NO_3^- [28].

Таблица 15

Состав навоза некоторых животных

Тип животного	Содержание H_2O , %	Содержание органических веществ, %	Содержание азота, %	Содержание P_2O_5 , %
Рогатый скот	81	16	0,4	0,2
Куры	57	29	1,5	1,3
Утки	54	25	1,0	1,4
Лошади	73	22	0,5	0,4
Свиньи	78 (после сепарирования)	17	0,5	0,4
Кролики	75	23	1,1	1,2
Овцы	64	31	0,7	0,4

К недостаткам этого вида сырья следует отнести излишнее высокое содержание воды в навозе, которое в ряде случаев мешает эффективному компостированию твердых сухих веществ [1, 8–10, 12]. Правда, в отдельных случаях, этот недостаток можно устранить, добавляя к навозу различные наполнители [12, 17]. Другим недостатком компостирования

навоза значительное выделение парниковых газов [29]. Практические примеры подобного компостирования приведены ниже.

Выделение парникового газа (CO_2 , CH_4 , N_2O) в буртах, содержащих унавоженную подстилку для свиней (время хранения 113 сут во время зимнего сезона) определяли количественно, используя тент, которым покрывали весь бурт во время всего периода компостирования. Выделение газа рассчитывалось в виде эквивалентов $\text{CO}_2/\text{кг}$ сухого вещества. Дополнительно определяли время удерживания (используя маркерный газ SF_6) и концентрацию газов в различных частях бурта. Среднее время удерживания газов в бурте было менее 2 ч. Образование и выделение метана наблюдалось только в центральной части бурта, тогда как накопление CO_2 происходило в широком диапазоне. Самые высокие выделения CH_4 , CO_2 и N_2O наблюдались в начале хранения унавоженной подстилки в бурте, когда поднималась температура в бурте и тем самым создавались условия для развития термофильных микроорганизмов. Из этих данных можно было сделать заключение, что термофильные микроорганизмы, прежде всего, влияют на образование парникового газа. Было установлено, что самым важным газом, определяющим глобальное потепление в бурте, является N_2O [29].

В связи с этим к компостируемому навозу, как уже отмечалось ранее, стали добавлять наполнители, обеспечивающие частичную адсорбцию выделяющихся газов и увеличение процессов аэрации, например, солому, опилки, стружки, бытовой мусор и даже осадки сточных вод [12, 17].

Количество NH_3 , выделяющегося в процессе компостирования свиного навоза в компостных кучах без принудительной аэрации наблюдалось на первоначальном этапе компостирования, когда происходило выделение тепла и нагревание компостируемой смеси. Резкое увеличение выделения CH_4 происходило немедленно после того, как свиной навоз был собран в компостные кучи, но высокое выделение метана происходило только в компостных кучах большого объема. Выделение N_2O начиналось на средней стадии компостирования, когда выделение NH_3 и температура компоста начинали снижаться. Скорости выделения каждого газа в компостных кучах небольшого и большого объема были 112,8 и 127,4 г азота $\text{NH}_3/\text{кг}$ общего содержания азота, 37,2 и 46,5 г азота $\text{N}_2\text{O}/\text{кг}$ общего содержания азота и 1,0 и 1,9 г $\text{CH}_4/\text{кг}$ органических веществ соответственно. Показано, что изменение в размерах компостных куч является одним из основных факторов скорости выделения газов [30].

В результате компостирования навоза и отходов животноводческих ферм в буртах или компостных кучах, объемом $0,25 \text{ м}^3$ и высотой 1 м, с естественным аэрированием, удавалось получить компост с удовлетворительными свойствами в течение 10 – 12 нед проведения процесса при содержании сухого материала в начале компостирования 17 –

21% [31]. Предложено также компостировать навоз скота вместе с отходами домашнего и дворового хозяйства в качестве наполнителя компоста, при их соотношении с компостом 1:1. При таком методе получения компост оказался эффективен для восстановления нарушенной структуры почвы, имеющей место при многочисленном севообороте сельскохозяйственных культур [32].

Сокомпостирование сухого навоза крупного рогатого скота с опавшими листьями деревьев проводилось в реакторе для компостирования, который был выполнен из полиуретана толщиной 3 мм. Объем реактора был 108,8 л. Весовое соотношение компонентов составляло 3:1. Компостирование продолжалось в течение 103 дней. Термофильная стадия компостирования наступала через 14 дней и имела протяженность в течение 10 дней, после чего в течение 20 дней температура опускалась до 20°C. Конечное значение pH компоста было 8,89. Соотношение C:N в начале компостирования было 12,86, в конце компостирования 13,27. Индексы прорастания семян были следующие: для райграса – 155,35, для пшеницы – 56,56 и для овса 100% [33].

Учитывая, что свиноводство стало особенно эффективно развиваться во многих странах, особенно в последние два десятилетия, переработка навоза этих животных становится не только актуальной, но и необходимой задачей [17, 34].

При компостировании навоза свиней возникли особенные проблемы, связанные с необходимостью его предварительного сепарирования, так как исходные фракции содержали до 97% воды и только 2 – 3% твердых веществ [12, 17] и последующего обезвреживания жидкой фракции [17], которая может быть добавлена к компостируемой смеси твердых отходов для поддержания необходимого уровня воды [18–20, 34].

Эффективное компостирование достигается также при смешивании свиного навоза с опилками в компостных кучах с обычной и принудительной аэрацией. Обнаружено, что время созревания компоста одинаково для обычной и принудительной аэрации (60 дней), но качество компоста при принудительной аэрации выше. При принудительной аэрации происходит также существенно большее уничтожение патогенных микроорганизмов, таких как *Salmonella* sp. [35].

Компостирование одного свиного навоза и других отходов животноводства с отходами пшеницы и/или пищевыми отходами проводилось в изотермическом реакторе объемом 10 м³. Температура увеличивалась в процессе переработки отходов до 70°C и выше, и могла оставаться такой в течение 19 дней, даже если процесс проводили в зимних условиях, когда температура окружающего воздуха была ниже 0°C. Образовавшееся в процессе переработки количество тепловой энергии было выше, чем необходимое количество электрической энергии, требующейся для подогрева. Гигиенические параметры образовавшегося

продукта полностью соответствовали санитарным требованиям. Процесс протекал удовлетворительно за исключением небольших потерь азота в процессе аэробной переработки. Конечный продукт может использоваться как удобрение и для улучшения структуры и качества почвы. Наилучшие результаты получались при аэробной обработке смеси отходов животноводства, отходов пшеницы и пищевых отходов [36].

Изучено также компостирование свиного навоза, смешанного с рисовой соломой, для того, чтобы определить характеристики трех видов аэрационных систем: принудительная аэрация, пассивная аэрация и природная аэрация. Результаты показали, что температурное прогревание смеси во время компостирования достаточно, чтобы удовлетворить требования стандартов санитарии и обеспечить созревание свиного навоза. Индексы компостирования, включая физические изменения, такие, как: значение pH, величина общего органического углерода, содержание органических веществ в компосте, величина общего азота, содержание влаги, соотношение C:N в твердых частицах, соотношение C:N в водорастворимой части, содержание аммонийного азота, содержание анионов азота ($\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$) меняются незначительно при всех трех уровнях аэрации, за исключением температурного профиля. Экономический анализ показал, что пассивная система аэрации наиболее удобна для небольших свиноводческих ферм, принудительную аэрацию следует проводить на свинофермах средней и большой производительности с высокой степенью индустриализации. Для избежания повышения температуры во время компостирования до высоких значений, необходимо проводить контроль принудительной аэрации в ходе процесса [37].

Вместо свиного навоза с успехом может быть использован птичий помет, который, как это видно из табл. 15, обладает существенно более высокими показателями. Однако при слишком интенсивном использовании птичьего помета интенсивная минерализация азотистых компонентов может привести к контаминации грунтовых и почвенных вод азотистыми солями. В связи с этим обстоятельством компостирование рекомендуется проводить в течение 56 дней. За это время количество минерального азота в компостах увеличивается от 1,4% до 5,8% за счет более медленного освобождения азота и поэтому оказывает меньшее влияние на грунтовые и почвенные воды, т.е. на окружающую среду [38, 39].

Компостирование растительных отходов

Химический состав и структура различных растительных отходов, содержащих в своем составе лигноцеллюлозные материалы, а также

микроорганизмы, участвующие в их трансформации детально изложены в недавно вышедших монографиях [40, 41]. Однако во время компостирования в ряде случаев действие этих микроорганизмов и их ферментов существенно искажается за счет разнообразных факторов, которые часто не удается учесть при составлении компостируемой смеси. Поэтому те закономерности, которые наблюдаются в процессе компостирования, хотя частично и совпадают с данными, опубликованными в монографиях [40, 41], каждый раз требуют дополнительного уточнения.

Как известно, лигноцеллюлозные отходы, содержащие целлюлозу, гемицеллюлозу и лигнин, являются смешанными источниками углерода и азота, необходимыми для компостирования. Однако в большинстве из них содержание азота является недостаточным для получения эффективного компоста и поэтому при компостировании к ним добавляют навоз, мочевины, отходы мясной, молочной, рыбной, пивоваренной промышленности и другие источники углерода [12, 17].

Одним из широко распространенных видов отходов являются отходы бумажной и лесотехнической промышленности. Так, например, производство 10 т бумаги может привести, по одним данным, к появлению 10 – 20 т отходов, включая лигнин, сточные воды, обрезки самой бумаги и пульпу [42], по другим данным эти отходы составляют не менее 80% для небольшой бумажной фабрики [43]. Такое большое расхождение в данных объясняется, прежде всего, тем, что во втором случае учитываются отходы только одной бумаги, тогда как в первом случае практически все отходы бумажного производства. Не меньшее количество отходов образуется и в результате переработки древесины и приготовления из нее различных изделий. Часть этих отходов, особенно в деревообрабатывающей промышленности, идет на изготовление мебели, тогда как большая часть в лучшем случае сжигается, а в худшем отправляется на свалки, являясь одним из многих загрязнителей окружающей среды. Нижеследующие примеры иллюстрируют наиболее типичные случаи компостирования таких отходов.

Компостирование бумажных отходов. Одним из наиболее простых и быстрых методов переработки отходов бумаги является их смешивание с навозом скота в качестве дополнительного источника азота и микроорганизмов. В зависимости от соотношения бумажных отходов и навоза может быть получен компост с различным соотношением углерода к азоту [44]. Вместо навоза могут быть добавлены дополнительные источники азота, например мочевины или отходы пищевой промышленности [45, 46].

Эффективное разложение бумажных и других лигноцеллюлозных отходов в процессе компостирования тесно связано с разложением

лигнина. Деградация лигнина под действием базидиомицетов белой гнили интенсивно исследуется в последние годы [40, 41]. Как известно, органическое вещество подобных отходов превращается в CO_2 , гумус и теплоту при компостировании в присутствии микроорганизмов. Высказано предположение, что гумус образуется преимущественно из лигнина. Таким образом, лигнин является не полностью минерализованным компонентом во время компостирования. Повышенная температура, наблюдающаяся во время термофильной фазы, важна для расщепления лигноцеллюлозы. Комплекс органических компонентов, подобных лигнину, расщепляется главным образом под действием термофильных грибных культур и актиномицетов. Оптимальная температура для термофильных грибных культур 40 – 50°C, которая также является оптимальной температурой для расщепления лигнина в компостах [13]. Еще более сложной задачей является компостирование древесных отходов, которые, как известно, содержат 22 – 27% лигнина [40, 41].

Получение компостов из отходов древесины может быть осуществлен даже в районах крайнего Севера при температуре от –30 до –40°C, так как в процессе компостирования температура внутри компоста достигает 60°C и выше. Продолжительность компостирования 90 – 270 дней, но компост может использоваться в качестве удобрения и после 3-х месяцев компостирования. Использование такого компоста существенно повышало урожайность картофеля, принося плоды с низким содержанием нитратов [47].

Особенно удачный компост удастся получить при биодегградации стружек, опилок и пр. после добавления к ним суперфосфата, нитрата аммония, мочевины, сульфата калия, а также солей микроэлементов: меди, кобальта, молибдена и бора. В этом случае компостирование можно проводить при 23°C под слоем перфорированного полиэтилена. В результате происходит биодеструкция на 50 – 53% легкодоступных полисахаридов и на 65% труднодоступных полисахаридов. Время компостирования составляло 90 сут при периодическом увлажнении компоста. Имело место также удержание компостом питательных веществ и азота. Конечное соотношение C:N варьировало в пределах 20 – 35 в зависимости от состава компостируемых смесей [48]. Близкие результаты получают и после 4-х месячного компостирования гидролизатов древесной целлюлозы, содержащей лигнин [49].

Влияние отношения C:N и влажности на эффективность компостирования изучалось на примере компостирования тополевой древесины. Измельченная древесина (размер частиц около 1,7 мм) компостировалась на пилотной установке. Соотношения C:N были: 10:1, 30:1 и 50:1 при использовании мочевины в качестве источника азота. Для каждой смеси выбиралась своя влажность (30, 50 и 70%). Соотношение

C:N, равное 50:1 или 30:1, и влажность 70% были наиболее эффективны для компостирования. В качестве индикатора уровня минерализации древесины из тополя использовали количество выделяющегося CO_2 [50].

Набухшие щепки, оставшиеся после вырубki деревьев, компостировали в смеси с различными органическими и неорганическими соединениями в аэробном реакторе для компостирования в течение 5 месяцев и затем в буртах тоже в течение 5 месяцев. В качестве органических веществ использовали птичий помет, мочевины, соединения азота с гашеной известью – азотный лайм (цианамид кальция, навоз), а также компост, полученный быстрой переработкой пищевых отходов и мусора в течение 24 ч в бактериальном ферментере. В качестве неорганических компонентов были использованы золы различного происхождения. На основании химических свойств полученного компоста сделано заключение о том, что он соответствует необходимым требованиям [51]. Примеры гидролиза отходов древесных материалов описаны также в работах других исследователей [52, 53].

Компостирование гидролизного лигнина. Лигнин по своей структуре близок к структуре гумуса [13] и поэтому представляет особенно интересный объект для компостирования. Известно, что гидролизный лигнин – продукт кислотной переработки древесины при получении бумаги, состоит из собственно лигнина (88%), остатков поли- и моносахаридов, органических кислот, смол, воска, азотистых веществ и зольных элементов [13]. При компостировании такого лигнина под воздействием ассоциации микроорганизмов происходит изменение молекулярно-массового состава, кислотно-основных свойств, надмолекулярной структуры. Так, к концу третьего месяца компостирования наблюдалось увеличение содержания фенольных гидроксильных и карбоксильных групп, а также количество отрицательных зарядов на макромолекулах. Выращивание ячменя с внесением в почвы компостированного лигнина в качестве удобрения показало, что эти изменения повышали биологическую активность гидролизного лигнина [54].

Гуминовые вещества компоста из лигнина и их влияние на свойства подзолистой почвы было изучено за счет применения компоста из навоза с лигноцеллюлозным материалом и гидролизатом лигнина. ИК-спектральные и другие данные показали, что гидролизированный лигнин, как из компоста, так и полученный прямым путем, отличается по своей структуре от гуминовых кислот, причем в большей степени для соединений, содержащих углерод, чем для соединений, содержащих азот. Однако введение в почву гуминовых веществ оказывает положительное влияние на статус гуминовых компонентов в почве, ее катионообменную емкость и буферную способность [55].

Гумификация отходов древесины за счет ее биоразложения.

Проведено компостирование влажных отходов древесины (еловых опилок, гидролизного лигнина, осиновых опилок, коры хвойных деревьев и пр.) с добавлением к компостируемой смеси минеральных соединений, содержащих азот, фосфор и калий. Наиболее приемлемым соотношением C:N является соотношение, равное 20 – 30. Полученный компост был охарактеризован при помощи элементного анализа, ИК-спектроскопии, термогравиметрии и функционального анализа. Содержание гуминовых и фульвокислот в компосте составило 5,8 – 9,2 и 0,3 – 2,5% соответственно в пересчете на сухое вещество [56].

Существенно легче компостировать отходы, содержащие меньшие количества лигнина. Например, компостирование смесей листьев и травы позволяет получать компосты с низким соотношением C:N (менее 40) и более высокой степенью гумификации за счет более высокого содержания в них азота [57]. Подобные результаты были получены и при компостировании смесей древесной коры с минеральными соединениями, содержащими азотистые компоненты [58], а также других травяных культур [59, 60]. Так, для ускорения процесса компостирования соломы, опилок, стружек и другого лигноцеллюлозного материала предлагается вначале подвергать их предобработке растворами NaOH, Ca(OH)₂, KOH, NH₄OH или мочевины, после чего подвергать компостированию, добавив в компостируемую смесь комплекс целлюлаз, содержащих эндо- и экзо-β-глюканазы, целлобиазу и другие ферменты, облегчающие расщепление компонентов, входящих в состав лигноцеллюлозных отходов [61].

Проведены также физические, химические и микробиологические анализы рисовой соломы и осадка сточных вод как возможных веществ для компостирования. Характеристики рисовой соломы были таковы, что дополняли недостающими веществами осадки сточных вод для их последующего применения в качестве компоста. Соотношение C:N было ниже 17 – 24, что вполне подходило для развития в смеси микроорганизмов. Повышение температуры в процессе компостирования до 62°C за 48 ч приводило к удалению патогенных микроорганизмов из смеси рисовой соломы и осадка сточных вод. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования подобной смеси для компостирования [62].

К сожалению, среди большого обилия работ по компостированию различных органических отходов редко встречаются работы, посвященные изучению закономерностей компостирования таких отходов. В связи с этим особый интерес представляет одна из работ, в которой проводили изучение кинетики компостирования смеси некоторых видов сельскохозяйственных отходов: травы (54%), помидор (10,6%), перца (20%) и баклажанов (15,4%). Для проведения реакции были использованы

вертикальные реакторы с принудительной аэрацией и один обычной реактор конвекционного типа. Скорость выделения CO_2 и изменение температуры регистрировали в трех различных местах реакторов. Каждый день контролировали содержание влаги, pH и скорость разложения органических веществ в компостируемой смеси.

Были изучены несколько кинетических моделей процесса. Согласно полученным данным была выбрана наиболее оптимальная модель, математическое описание которой выглядело следующим образом:

$$K_T = \frac{a}{M_c} \exp\left(\left[(T \cdot c) - \left(d \cdot \frac{M_c}{T}\right)\right]\right),$$

$$\frac{1}{T - (C \cdot b)}$$

где K_T – скорость разложения (г общего количества летучих веществ/г общего количества летучих веществ в день); T – температура процесса, °C; M_c – ежедневное содержание влаги в смеси, %; C – ежедневная скорость выделения CO_2 в процессе компостирования органической смеси в реакторе для компостирования, %; a , b и c – константы реакции.

В соответствии с полученными результатами, наивысшая скорость расщепления органических веществ и оптимальное значение температуры компостирования наблюдаются при скорости аэрации 0,41 л/мин·кг органических веществ [63].

Еще одним способом изучения процесса компостирования может быть изменение аминокислотного состава в ходе реакции расщепления отходов. Исследовано влияние условий компостирования на аминокислотный состав двух компостов, полученных из одного и того же лигноцеллюлозного субстрата (отходов хлопка после его вычесывания). Образцы компоста изучались в конце термофильной, мезофильной и заключительной стадии (стадии созревания и консервации) компостирования при двух различных процессах компостирования, включающих принудительное (1) и естественное (2) аэрирование с периодическим перемешиванием компостируемой смеси. Общее содержание аминокислот увеличивалось в обоих процессах компостирования, но большее их количество наблюдалось в компосте 1, достигающее 145,2 г/кг спустя 85 сут протекания процесса. Общее содержание нейтральных аминокислот резко увеличивалось в обоих компостах в процессе первых нескольких дней компостирования и оставалось на том же уровне в течение последующих 40 сут компостирования. В компосте 2 общее содержание основных аминокислот в первой стадии компостирования было в 2 раза ниже, чем кислых аминокислот и имело последующую тенденцию к понижению. Молярное отношение аспарагиновой кислоты к глутаминовой кислоте понижалось во время компостирования во 2 компосте. Резкое увеличение лизина к

общему содержанию аминокислот (140%) было обнаружено в компосте 2 в стадии его консервации, т.е. в заключительной стадии компостирования. С другой стороны, в компосте 1, увеличивалось молярное отношение аспарагиновой кислоты к общему содержанию аминокислот, тогда как содержание лизина уменьшалось на 50%. Как и следовало ожидать, изменение в аминокислотном составе тесно связано с активностью микробной популяции компостируемых компонентов [64].

Для более глубокого понимания процесса компостирования была изучена скорость деградации полисахаридов на ряде модельных субстратов. Как показали исследования, концентрация полисахаридов в процессе их разложения микроорганизмами понижалась на 31,5; 54,4; 61,9 и 16,8% соответственно при 40, 50, 60 и 70°C. Деградация полисахаридов была связана с увеличением активности микроорганизмов и количества АТФ. Наиболее высокая скорость расщепления полисахаридов наблюдалась при 60°C и была равна $9,45 \cdot 10^{-3}$ г/час [65].

Полученные данные послужили основанием для успешного компостирования отходов сахарной промышленности, получающей сахар из различных растительных источников. После извлечения сахара и фильтрации патоки в качестве отхода остается сахарная лепешка и жмых, которые могут быть субстратами для компостирования. Аэробное компостирование этой лепешки в течение 6 нед при ее перелопачивании через каждые 4 сут для обеспечения доступа воздуха, приводило к получению компоста. В начале ферментации отношение C:N составляло 30,6. После 6-ти недельной ферментации оно становилось равным 17,0 – 18,8. Для компостирования не требовалось никаких других дополнительных веществ и материалов [66].

С целью уменьшения соотношения C:N и тем самым уменьшения потерь азота, во время процесса проводилось компостирование сахарной лепешки вместе со жмыхом, взятыми в соотношении 2:1. Компоненты, смешанные друг с другом, анализировали с интервалом в 3 – 5 дней. Оба компоста анализировались каждую неделю для определения температуры в компосте, pH, NH_4^+ , NO_3^- , общего содержания азота, потерей углерода и индекса прорастания семян. Обе смеси имели термофильную стадию в течение 15 – 20 дней и дальнейшую температуру компостирования выше температуры окружающей среды в течение 80 дней. Наблюдалось быстрое расщепление органических веществ в обеих смесях приблизительно в течение 40 сут, после чего наступал период стабилизации. Обе смеси достигали зрелости примерно через 90 дней, на что указывало стабильное соотношение C:N, низкое соотношение $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$, отсутствие выделения тепла и индекс прорастания, который был выше 80%. Смешение фильтрационной лепешки со жмыхом помогало законсервировать потери азота во время компостирования. Так как количество азота даже и в этом

случае было в избытке, то около 12 – 15% терялось во время компостирования. Добавление большего количества жмыха может привести к еще большим уменьшениям потерь азота во время компостирования. Оба компоста могут быть использованы для сельского хозяйства [67].

Сокомпостирование барды сахарной свеклы и влияние природы органического вещества на используемые наполнители изучали на двух компостах, полученных сокомпостированием концентрированных растворов барды сахарной свеклы и двух сельскохозяйственных отходов с различным количеством органических соединений в отходах виноградной лозы и отходов хлопка. Сокомпостирование осуществлялось в аэрированных кучах с механическим перемешиванием при контролируемых условиях в течение 4 мес. После 71 сут компостирования, к кучам добавляли новую порцию барды, аналогичную первоначальной. Изменение в температуре, значениях pH и содержании неорганического азота происходили в обеих кучах. Однако органические фракции зависели от вида добавленных органических соединений к барде. Более низкое разложение органических соединений наблюдалось в компостируемой смеси, к которой были добавлены отходы виноградной лозы, содержащей большее количество лигнина. Не было обнаружено никакой фитотоксичности в обоих видах компостов. Химические и физические свойства компостов свидетельствовали о возможности их дальнейшего использования в качестве удобрений [68]. Подобные результаты были ранее получены и другими исследователями [69–71].

Компостирование пищевых отходов и мусора

Несмотря на то, что многие пищевые отходы содержат достаточное количество азота, при их компостировании к смеси в ряде случаев добавляют навоз и мочевину для увеличения количества микроорганизмов и облегчения их жизнедеятельности, а в качестве наполнителя, обеспечивающего успешную аэрацию, почву, осадки сточных вод или отходы бумажной или деревообрабатывающей промышленности [72–74]. Ниже приведены примеры подобного компостирования.

Для улучшения качества компостирования пищевых отходов может быть использована зола, образующаяся после сжигания растений. В этом случае процесс компостирования не сопровождается выделением дурно пахнущих газов и полученный компост содержит большее количество азота и микроэлементов [75].

С целью изучения процесса компостирования и химического состава компостов из пищевых отходов были проведены следующие

эксперименты: отходы домашнего хозяйства, содержащие не менее 80% органических веществ, были собраны в две компостные кучи. Одна из куч состояла из одних пищевых органических отходов домашнего хозяйства, другая – из смеси пищевых органических отходов домашнего хозяйства и лигноцеллюлозных отходов в соотношении 50:50. Значение pH во время компостирования увеличивалось от 5,0 до 8,3 и содержание золы – с 30% до 61% после компостирования обеих смесей в течение 6 месяцев. Содержание жирных кислот в исследуемых компостах, составляло 8,9% до компостирования и 2,95% после месяца компостирования в пересчете на сухую массу. Содержание натрия в компосте, состоящим из одних органических отходов, было относительно высоким и составляло 0,4 – 0,6%, считая на сухую массу. Наиболее высокая температура во время компостирования поднималась до 68 – 70°C. Спустя 3 мес после начала компостирования температура внутри компоста снижалась до температуры окружающей среды. Содержание тяжелых металлов было много ниже в компосте, полученном из отсортированных пищевых органических отходов домашнего хозяйства, чем в компосте из смеси отходов домашнего хозяйства и обрезков деревьев. Тем не менее, это содержание в обоих компостах было существенно ниже предельно допустимых концентраций, за исключением свинца, которого содержалось около 100 мг/кг в компосте, полученном из смеси органических отходов домашнего и паркового хозяйств. Общие потери газообразного азота составляли при компостировании отходов домашнего хозяйства 50 – 52% и 26,2% при компостировании смеси органических отходов домашнего и паркового хозяйств [76].

Химическая характеристика пищевых отходов супермаркетов показала, что они содержат 81% органических соединений, которые могут быть с успехом подвергнуты последующему компостированию. Установлено, что эти отходы имеют высокую плотность, значительное содержание влаги, низкое значение pH и низкое соотношение между углеродом и азотом. (C:N). Для увеличения соотношения углерода к азоту предлагается перед компостированием этих отходов смешивать их с листвой деревьев в соотношении 1:1 или 1:2, что приводит не только к увеличению соотношения C:N, но и к ускорению биоконверсии этих отходов [77].

Компостирование отходов сточных вод

Для компостирования твердых органических отходов и ила, оставшихся после фильтрации сточных вод, обычно используют анаэробную ферментацию с целью очистки воды и получения биогаза, однако, по мнению отдельных исследователей, для переработки таких отходов может быть с успехом использовано аэробное компостирование.

В этом случае отходы сточных вод обычно смешивают с другими органическими источниками, такими как навоз, отходы лесотехнической промышленности или неорганические сорбенты [78–83]. Примеры подобного компостирования приведены ниже.

Получение компостов из ила сточных вод и навоза. Смесь навоза, нечистот и ила из отходов сточных вод вначале обрабатывают высокоактивным гидроксидом кальция для уничтожения патогенов и затем подвергают ферментации филоментными бактериями, например такими, как *Bacillus badius* или *Cellulomonas* при контролируемом уровне pH. Полученный ферментированный продукт может быть использован как удобрение для почвы [78].

Предложен также простой и дешевый метод частичной очистки сточных вод и последующего получения компоста путем пропускания сточных вод через слой древесных стружек или крупных опилок. Полученный после этого продукт компостируется, а вода после дополнительной очистки может быть использована на различные нужды [79].

Предложен способ получения компоста из городских нечистот. Одна часть нечистот смешивалась с 0,8 г золы и если необходимо, также добавлялась известь до pH 9,5. Затем к смеси добавляли 45% опилок и стружек и 15% бумаги от общего количества нечистот. Затем к полученной смеси добавляли еще 10% ила из сточных вод. Полученная смесь дренировалась (осушалась) под специальным покрытием, проверялась на наличие фекальных бактерий и, если необходимо, еще раз дезинфицировалась известью, после чего использовалась для улучшения качества почв [80].

Компостирование отходов из сточных вод вместе с лигноцеллюлозой. Сухие осадки из городских сточных вод смешивали с лигноцеллюлозным материалом в соотношении 2:1 для последующего компостирования при 28°C и влажности 70%. Источником для получения лигноцеллюлозного материала могут быть обрезки от городских деревьев и/или винной лозы. Компост оказался пригоден для улучшения свойств почвы [81].

Примеси в городских сточных водах в виде растворенных токсичных органических соединений, эмульсий или дисперсий удаляют пропусканием ее через колонки, набитые песком, стеклом и т.д. при контакте с теплым воздухом для увеличения вязкости жидкостей. Полученная вязкая жидкость смешивается с адсорбирующим ее компостируемым субстратом, например сеном, и компостируется обычными методами [82].

Получение компостов из органических примесей сточных вод. Органические примеси из сточных вод измельчались и

гомогенизировались минералами, содержащими калий, такими как полевой шпат, после чего компостировались для получения удобрений для почвы. Смесь может также содержать CaSO_4 (например, отходы от нейтрализации SO_2), бентонит и кремнийсодержащие материалы (например золу, пыль, руду, лавовый материал и т.д.) в количестве $\geq 1\%$, материал, содержащий фосфат, например апатит $\geq 1\%$ и микроэлементы, например руду, шлаки, сплавы, морские водоросли или экстракты из них. Процесс пригоден также и для получения компостов из навоза, отходов сельского хозяйства, бумажных отходов, отходов кожи, текстиля, отходов пищи и пищевой промышленности [83].

Уменьшение потерь азота во время компостирования

Как мы видели из ранее приведенного материала, одной из наиболее сложных проблем во время компостирования является предотвращение потерь азотистых компонентов. В связи с этим следующий раздел настоящей публикации мы решили специально посвятить этой проблеме.

Для уменьшения потерь азота во время компостирования навоза скота, который выделяется в виде аммиака, наиболее эффективными оказались цеолиты, пальмовая волокнистая древесина и квасцы. При покрытии компостируемого навоза 33% цеолита удержание азота составляло 44% от общего его содержания в навозе, при покрытии компостируемого навоза пальмовой волокнистой древесиной в количестве 33% удержание азота составляло 49% и при покрытии компостируемого навоза квасцами в количестве 20% удержание азота составляло 28%. В общем случае удавалось сохранить от 17 до 53% азота в компостируемых смесях. Полученные компосты содержали от 17 до 31 г азота/кг компоста [84].

В настоящее время установлено, что при добавлении наполнителей происходит иммобилизация азотистых компонентов на органических и неорганических наполнителях, которые в дальнейшем служат в качестве депо для азотистых удобрений [12].

В конечном итоге оказалось, что во многих компостируемых смесях навоз скорее играет второстепенную роль и используется, главным образом, как источник азота [12, 13]. Поэтому в дальнейшем при получении многих компостов навоз стал играть вспомогательную роль и смешиваться с источниками различного происхождения, содержащими углерод.

Учитывая проблему обеззараживания и утилизации осадков сточных вод, о которой мы уже говорили ранее, немалый интерес представляет попытка их совместного компостирования со свиным навозом. Трансформация азота при совместном компостировании свиного навоза с

отходами сточных вод, взятыми в соотношении 2:1, для определения изменения органического азота в процессе компостирования показала, что общая концентрация азота в смеси, составляющая 30 кг, увеличивалась на первоначальной стадии компостирования. Спустя 21 сут количество органического азота понижалось, но общее количество азота оставалось тем же. Количество аммоний- и нитрит-окисляющих бактерий увеличивалось во время первой активной стадии компостирования (21 сут), а затем резко уменьшалось при продолжении дальнейшего компостирования. На ранних стадиях количество азота в виде NH_4^+ , а количество неорганического азота в виде $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ увеличивалось. Однако быстрое уменьшение количества аммонийного азота, наблюдающееся особенно сильно в первые 14 сут компостирования, не совпадало с быстрым увеличением нитратных и нитритных ионов. Высказано предположение о том, что подобное явление объясняется иммобилизацией ионов неорганического азота на органический азот компоста. Некоторое количество аммонийного азота улетучивалось в процессе компостирования, а некоторое количество $\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-$ терялось в процессе компостирования за счет денитрификации. Денитрификация происходила только во время первой стадии компостирования и значительно понижалась при увеличении количества подаваемого воздуха в компостную смесь. Были сделаны анализы компоста после 7 нед компостирования. Оказалось, что на поверхности частиц контакта компостируемой смеси популяция денитрифицирующих бактерий была ниже, а содержание аммоний окисляющих бактерий и органического углерода выше, чем в верхнем, среднем и нижнем слоях компоста [85].

Скорость накопления неорганического азота в почве после ее удобрения навозом или компостом, содержащим навоз, может быть вычислена по следующим уравнениям:

$$N = A[1 - \exp(-kt)];$$

$$t \sum \exp[E_a(T - T_s) / RTT_s],$$

где N – степень минерализации азота, %; t – время (сут.), требующееся для накопления азота в почве; k – константа скорости накопления азота, сут^{-1} ; T_s – стандартная температура (абсолютная температура); T – температура исследований; R – газовая постоянная (1,987 кал/моль·К); E_a – кажущаяся энергия активации накопления азота. Константа накопления азота $k = 0,025 - 0,15 \text{ сут}^{-1}$, $E_a = 15 - 23 \text{ ккал/моль}$. Максимальная скорость накопления азота в сутки составляла 55–75% и зависела от вида удобрений. Константа накопления была выше при удобрении почвы отходами мясной и рыбной промышленности и ниже при использовании других отходов животных [86].

Уменьшение потерь аммиака во время компостирования за счет добавления к компостируемой смеси FeCl_3 показано на примере компостирования отходов сточных вод вместе с лигноцеллюлозным материалом. Например, к смеси, компостируемой в реакторе объемом 1000 л, состоящей из сточных вод и опилок, добавляли FeCl_3 . Подобная операция уменьшала потери аммиака в 2,4 раза и увеличивала минерализацию органического азота в 1,6 раза [87]. Следует отметить, что для этих же целей может быть также использован реверсивный осмос, например, так, как это осуществлено в работе [88].

Наблюдалось также генерирование N_2O во время компостирования отходов семян сельскохозяйственных культур при их совместном компостировании с соломой и в течение 7 – 14 сут. Компост из отходов семян имел высокую нитрификационную активность. Воздух во время компостирования подавался снизу. Во время первой стадии ферментации без соломы имела место значительная денитрификация. Потеря азота в виде N_2O составляла 40 – 50%. При добавлении соломы нитрификация начиналась спустя 8 дней компостирования и потери азота в виде N_2O составляли только 10 – 20%. Температура компостирования была выше 60°C во время первоначальной стадии ферментации [89].

Показано также, что для сохранения азотистых соединений при компостировании органических отходов различного происхождения целесообразно добавлять к компостируемой смеси водорастворимые соли магния и фосфора. Эта операция значительно уменьшала потери газообразного аммиака во время компостирования и приводила в результате к увеличению содержания азота в компосте на 1,5%. Оптимальными дозами солей Mg и P могут быть дозы в количестве 20% от первоначального содержания азота в компосте, которые не оказывают никакого отрицательного влияния на реакцию компостирования [90].

Список литературы

1. Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н. Экологические основы производств: Взаимосвязь экологии, химии и биотехнологии. – М.: МГУЛ, 2003. – С. 263–359.
2. Muender H., de Bacre L., Six W., Kaendler K. // Umwelttechnik. – 1994. – V. 28. – N5. – P. 17–20.
3. Winkler U. // Umwelt. – 1995. – V. 25. – N7/8. – P. 300–301.
4. Papi T., Marani G. // Acqua Aria. – 1996. – № 3. – P. 323–325.
5. Volkmer G. // Umwelt. – 1996. – V. 26. – N1/2. – P. 74.
6. Keller-Reinspach H.W., Hoffman P., Kavl N. // Wasser & Abfall (Wiesbaden. Ger.). – 1999. – V. 1. – N.4. – P.12–15.
7. Papi T., Marani G. // Acqua Aria . – 1996. – № 3. – P. 323–325.

8. *Miller F.C.* Microbiol. Solid Waste./ Eds: Palmisano A.C., Barlaz M.A. –Boca Raton, Fla : CRC, 1996. – P. 115–154.
9. *Krogmann U., Korner I.* Biotechnology (2nd Ed). /Eds: Klein J., Winter J., Wirley. V.C. – Weinheim. Germany: Verlag CmbH, 2000. – P. 11, 127–150.// Chem. Abstr. – 2000. –133. –78421.
10. *Singh A., Satyawati S.*//Bioresour. Technol. – 2002. – V. 85 . – N2. – P. 107–111.
11. *Lopez M.J., Elorrieta M.A., Vargas-Garcia M.C., Soares-Estrela F., Moreno J.*//Bioresour. Technol. – 2002. – V. 81 . – N1. – P. 123–129.
12. *Guanzon Y., Holmer R.J.* //Proc. National Eco-Waste Multisectoral Conference and Fair at Pryce Plaza Hotel, Cagayan de Oro City, Philippines, 16-18 July 2003. – P. 178–184.
13. *Tuomela M., Vikman M., Hatakka A., Itavaara M.*//Bioresour. Technol. – 2000. – V. 72. – N2. – P. 169–183.
14. *Mohaibes M., Heinonen-Tanski H.*//Bioresour. Technol. – 2004. – V.95 . –N3. – P.245–254.
15. *Henz L.H., Toffey W.E.*//Annu. Residuas Biosolids Manage. 10th Conf. 1996, 6/17 – 6/28. //Chem. Abstr. – 1997. – 127. – 112444.
16. *Imbeah M.*//Bioresour. Technol. – 1998. – V.63 . –N2. – P.197–203.
17. *Lau A.K., Lo K.V., Liao P.H., Yu J.C.*//Bioresour. Technol. – 1992. – V.41 . –N2. – P.145–152.
18. *Lau A.K., Lo K.V., Liao P.H.*// J. Environ. Sci. Health. – 1993. –V. A28 . – N4. – P.761–777.
19. *Barrington S., Choiniere D., Trigue M., Knight W.*//Bioresour. Technol . – 2003. – V. 86 . – N3 . – P. 259–266.
20. *Liao P.H., Vizcarra A.T., Chen A & Lo K.V.*//J. Environ. Sci. Health. – 1993. – A28. –N9. – 1889-1901.
21. *Von Rheinbaben W.* // Muel Abfall.– 1994.– V. 26.– N8.– P. 468, 470–473.
22. *Liao P.H., Vizcarra A.T., Chen A & Lo K.V.*//Compost Science and Utilization.– 1994.– V.2.– N4.– P. 56–66.
23. *Beline F., Martinez J.*//Bioresour. Technol.– 2002.– V.83.– N3. –P. 225–228.
24. *Knauf S., Beder K., Klaus G., Lauber A., Roth M., Detzer R.*// Korresp. Abwasser.– 1996.– V.43.– N3. P. 434–435.
25. *Liang C., Das K.C., McCledon R.W.*//Bioresour. Technol.– 2003.– V.86. – N2. – P.131–137.
26. *Nakassaki K., Yaguchi H., Sasaki Y., Kubota H.* // Waste Manage Res.– 1993.– V.11.– N2.– P.117–26.
27. *Smars S., Gustafsson L., Beck-Friis B., Jonsson H.* //Bioresour. Technol. – 2002.– V.84.– N3.– P. 237–241.
28. *Moral R., Moreno-Caselles J., Perez-Murcia D., Perez-Espinosa A., Peredes C.* //Bioresour. Technol.– 2005.– V. 96.– N2.– P. 153–158.

29. *Wolter M., Prayitno S., Schuchardt F.* // Bioresour. Technol. – 2004. – V.95. – N3. – P. 235–244.
30. *Fukumoto Y., Osada T., Hanajima D., Haga K.* // Bioresour. Technol. – 2003. – V.89. – N2. – P.109–114.
31. *Schuchardt F., Fereh A.* // Korresp. Abwasser. – 1994. – V.41. – N5. – P. 788–790, 792–4, 796.
32. *Wetterauer D., Killorn R.* // BioCycle. – 1996. – V.37. – N10. – P. 54, 56–57.
33. *Guerra-Rodrigues E., Vazquez M., Dias-Ravina M.* // Bioresour. Technol. – 2001. – V.78. – N1. – P.107–109.
34. *Georgacakis D., Tsavdaris A., Bakouli J., Symeonidas S.* // Bioresour. Technol. – 1996. – V. 56. – N 2–3. – P. 195–200.
35. *Tiquia S.M., Tam N.F.Y.* // Environ. Pollut. – 1998. – V.99. – N3. – P. 329–337.
36. *Heinonen-Tanski H., Kiuru T., Ruuskanen J., Korhonen K., Koivunen J., Ruokajarvi A.* // Bioresour. Technol. – 2005. – V.95. – N2. – P.247–252.
37. *Zhu N., Deng Ch., Xiong Y., Qian H.* // Bioresour. Technol. – 2004. – V.95. – N3. – P.319–326.
38. *Yoshinaga M.* // Патент Японии № 0826867. Cl C05F3/00. // Chem. Abstr. – 1996. – 124. – 231232x.
39. *Guerra-Rodrigues E., Vazquez M., Dias-Ravina M.* // Bioresour. Technol. – 2000. – V.75. – N3. – P. 223–225.
40. *Рабинович М.Л., Болобова А.В., Кондращенко В.И.* Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Древесина и разрушающие грибы. – М.: Наука, 2001. – 263 с.
41. *Болобова А.В., Аскадский А.А., Кондращенко В.И., Рабинович М.Л.* Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Ферменты, модели, процессы. – М.: Наука, 2002. – 343 с.
42. *Dhingra H.K., Shivhare P., Panesar K.S., Mohindru V.K., Pant R.* // IPPTA, 1994 (Conv. Issue), 141-9. // Chem. Abstr. – 1995. – 122– 88545c.
43. *Kavian M.F., Ghatnokav S.D., Kalkarni P.R.* // Indian J. Environ. Prot. – 1996. – V.16. – N5. – P. 330–333.
44. *Wuenschmann G., Hamm U., Goettsching L.* // Wochenbl. Papierfabr. – 1995. – V.123. – N9. – P. 395–403.
45. *Maurizio D.F., Bastioli C.* // J. Environ. Polym. Degrad. – 1996. – V.4. – N1. – 55–63.
46. *Elwell D.L., Keener H.M., Hansen R.C.* Int. Symp. Agric. Food Process. Wastes, Proc. 7-th./ Ed. Ross Ch. C. – St. Josrph, Mich. USA: American Society of Agricultural Engineeers, 1995. – P. 357–565// Chem. Abstr. – 1996. – 124. – 18453n.
47. *Шмаков В.П., Рыбалко Т.М., Мешевкина Ю.В., Рубцов Ю.В.* // Гидролиз. лесохим. пром-ть. – 1992. – №4. – С.10–13.
48. *Кибич М.С., Зарбейглейт М.А., Гонбатенко И.И., Богуш В.Д.* // Деревообрабатывающая пром-ть. – 1995. – №3. – С. 8–10.

49. Орлов Д.С., Аммосова Я.М., Якименко О.С. // Почвоведение.– 1993.– №2.– С.36–44.
50. Rao N., Grethlein H.E., Rtdy C.A.// Biotechnol. Lett.– 1995.– V.17.– N8. –P. 889–892.
51. Suzuki T., Ikumi Y., Okamoto S., Watanabe I., Nobuhide F., Otsuka H.//Bioresour. Technol.– 2004.– V.95. –N2. –P.121–128.
52. Mshandete A., Kivasi A., Rubindamayaugi M., Mattiasson B.// Bioresour. Technol.– 2004.– V. 95. –N1. –P.19–24.
53. Bertran E., Sort X., Soliva M., Trillas I. //Bioresour. Technol. –2004.– V.95.– N2. –P.203–208.
54. Новикова Я.Н., Медведева С.А., Волгатова И.В., Богатырева С.А. // Приклад. биохим. и микробиол.– 2002.– Т.38.– №2.– С.208–212.
55. Якименко О.С., Орлов Д.С., Аммосова Я.М.// Агрохимия.– 1995.– №9.– С. 17–24.
56. Diez T., Krauss M.// Agrobiol. Res. – 1997.– V. 50. –N1.– P. 78–84.
57. Michel F.C., Reddy C.A., Forney L.J. Proc. Biodeterior. Biodegrad. 9 Int. Biodeterior. Bioderad. Symp. (Pub. 1995). /Eds: Boucher A., Chandra M., Edyvean R.– Rugby, UK: Institute of Chemical Engineers, 1993. –P. 380–385.
58. Аммосова Я.М., Бенедиктова А.И., Орлов Д.С.// Агрохимия.– 1995.– № 11.– С. 42–50.
59. Schwab B.S., Ritchie C.J., Kain D.J., Dobrin G.Ch., Christ L.W., Palmisano A.C. // Waste Manage Res.– 1994.– V.12.– N4. – P. 289–303.
60. Nakasaki K, Aok N., Kubota H.//Waste Manage Res.– 1994.– V.12.– N1.– P. 13–20.
61. Godwin-Thomas D., Thomas G. //Европейский патент № 1074532. Cl C05F17/00. //Chem. Abstr.– 2001.– 134.– 147036.
62. Iranzo M., Canizares J.V., Roca-Perez L., Sainz-Pardo I., Mormeneo S., Boluda R.//Bioresour. Technol. –2004. – V.95. –1. – P. 107–112.
63. Kulcu R., Yaldiz O.//Bioresour. Technol. –2004.– V. 93.– N1.– P. 49–57.
64. Baca M.T., Feruandez-Figares I., De Nobili M.// Sci. Total Environ.– 1994.– V.153. –N1–2.– P. 51–56.
65. Tseng D.Y.//Stud. Environ. Sci. –1997.– № 666.– P. 497–509.
66. Bernhardt H.W., Notcutt P.// Proc. Annu. Congr. S. Afr. Sugar Technol. Assoc.– 1993.– N67. – P. 185–187.// Chem. Abstr.– 1994.– 120.– 269089.
67. Meunchang S., Panichsakpatana S., Weaver R.W.//Bioresour. Technol. – 2005.– V.96. –N4. – P.437–442.
68. Madejon E., Diaz M.J., Lopez R., Cabrera F.//Bioresor. Technol.– 2001.– V. 76. – N3. –P. 275–278.
69. Mazur T., Malicki M. // Zesz. Probl. Pasterow Nauk Poln. –1993.– N.409.– P.77–83.// Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 116735.

70. *Madejon E., Diaz M., Lopez R., Murillo J.M., Cabrella F.* //Fresenius Environ. Bull.– 1995.– V.4.–N4. –P. 232–237.
71. *Rodrigues A.M., Ferrita L.L., Fernando A.L., Urbano P., Olivera J.S.* // Bioresour. Technol.– 1995.– V.54.– N1.– P. 21–27.
72. *Brink N.* // Acta Agric. Scand.– Sect. B.– 1993.– V.43.–N2. –P.114–120.
73. *Lamine S.S.M., Jordano C.P., Brune W., Pereira J.L., Bellato C.R.* // Quim Nova.– 1998.– V. 21. –N3. – P.278–283.// Chem. Abstr. –1998.– 129.– 8084.
74. *Taniguchi T., Hino K., Takahashi E.* // Nippon Dojo Hiriyogagaku Zasshi.– 1994.– V. 65.– N1. P. 48–52.// Chem. Abstr.– 1994.– 120.– 297459.
75. *Koivula N., Raikkonen T., Urpilainen S., Ranta J., Hanninen K.* // Bioresour. Technol. – 2004. – V.93. –N3. – P. 291–299.
76. *Kirchmann H., Wider P.* // Swed. J. Agric. Rec.– 1994.– V.24.– N1. –P. 3–12.
77. *Michel F.C., Drew S., Reddy C.A., Forney L., Trondle E.* // BioCycle.– 1995.– V.36. –N1. –P.68–70.
78. *Hiura K, Maeda T.* //Патент Японии № 0702589. Cl C05611/08. //Chem. Abstr. – 1995.– 122.– 273246.
79. *Parten S.* // BioCycle.– 1994.– V35.– N4. P.74–76.
80. *Eckardt L., Loh B., Speer M.* //Патент Германии № 4243768. Cl C05G1/00. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 81973.
81. *Diaz B., Burgos D., Angeles M., Alfredos P.S.* //Патент Испании № 2036925. Cl C05F7/00 // Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 233277.
82. *Schwarzmann G.D., Schwarzmann G., Schroeder J.* //Европейский патент №542162. Cl C02F1. //Chem. Abstr. –1993.– 119.– 209845.
83. *Kuerner R* // Патент Германии № 4133984. Cl C05G1/00. //Chem. Abstr.– 1993.– 119.– 167109.
84. *Rithoma M., Paul J.W., Bomke A.A.* //J. Environ. Qual. –1999.– V.28.– N1. –P.194–201.
85. *Tam N.F.Y., Tiquia S.M.* //Environ. Technol. –1999.– V.20.– N3. – P.259–267.
86. *Ishibachi E., Kimoto H.* // Kinki Chugoku Noggo Kenkyu. – 1997.– № 94.– P.13–17. //Chem. Abstr. –1997.– 127.– 330790.
87. *Kanitz J., Nettelbbeker U.* Международный патент № 99 44945. Cl C02F1/44. //Chem. Abstr. –1999. – 131. – 204116.
88. *Boucher V.D., Regel J.C., Guiresse M., Kaemmerer M., Bailly J.R.* //Water, Air, Soil Pollut. –1999. – V.112. – N.3–4. – P. 229–239.
89. *Oohi S., Watanabe H., Takush K.* //Yosui to Haisui.– 1996. – V.38.– N8. – P. 662–667. //Chem. Abstr. –1996. – 125. – 256149.
90. *Jeong Y.K., Hwang S.J.* // Bioresour. Technol.– 2005. – V.96. – N1. – P.1–6.

Часть 6

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ПРОЦЕССОВ КОМПОСТИРОВАНИЯ

Ранее уже неоднократно упоминалось, что компостирование – это процесс переработки органических отходов под действием аэробных микроорганизмов, который включает в себя три основных стадии: мезофильную, термофильную и стадию охлаждения или стабилизации компоста [1–5].

Эффективность всех этих трех стадий зависит от многих параметров: аэрации, температуры, содержания влаги в компосте, pH процесса компостирования, состава компостируемой смеси, но, прежде всего, от активности и вида микроорганизмов, принимающих участие в этом процессе.

Глава 13

Показатели качества компоста

Основные показатели качества компоста и некоторые закономерности, наблюдающиеся при компостировании, которые прежде всего следует учитывать при проведении процесса компостирования, приведены ниже (табл. 16) [1, 2, 4, 6]:

- общий вид компоста;
- окраска компоста;
- влажность компоста;
- соотношение углерода и азота (C:N);
- степень стабильности компоста;
- запах;
- количество патогенных микроорганизмов и тяжелых металлов по сравнению с некомпостируемой биомассой;
- содержание органических веществ в компосте;
- размер частиц компоста;
- процентное содержание солей;
- содержание питательных компонентов в компосте;
- содержание микроэлементов в компосте.

Получение «идеального» компоста с такими, максимально сбалансированными показателями, на практике удастся за редким исключением, хотя многие компосты удовлетворяют целому ряду показателей из перечисленных требований.

Для получения компоста, пусть даже частично соответствующего этим требованиям, в ходе процесса компостирования были выявлены следующие закономерности [7]:

- 1) для эффективного компостирования требуется поддерживать нейтральное значение pH компостируемой смеси, а также адекватное обеспечение O_2 ;
- 2) нет заметной разницы в скоростях компостирования при комнатной температуре и при температуре 37 – 40°C;
- 3) количество доминантных микроорганизмов в компосте зависит от состава компостируемых отходов;
- 4) наличие одного вида отходов в компосте не достаточно, чтобы получить компост высокого качества;
- 5) использование одних опилок в компосте в качестве наполнителя и дополнительного источника углерода оказывает недостаточное влияние на качество компоста и дезодорирующее действие при проведении процесса компостирования;
- 6) целесообразно дополнительно к опилкам добавлять отходы бумаги, которые, кроме дезодорирующего эффекта, стабилизируют структуру компоста и увеличивают в нем количество органического углерода (табл. 16).

Таблица 16

Оптимальные условия компостирования органических отходов

Основные показатели компостируемых органических отходов	Количественные характеристики компостируемых отходов
Соотношение C:N	От 20 до 40
Содержание воды в компостируемой смеси	От 40 до 60
Температура компостирования на термофильной стадии	Минимум 55 – 60°C, выше 3 – 4 сут
Значение pH	5 – 8
Количество наполнителей	Более 15 % (об.)
Содержание органических веществ в компостируемой смеси	Не менее 40 – 60%
Размер частиц	1 см при принудительном аэрировании, 5 – 10 см при естественном или пассивном аэрировании

При учете всех этих закономерностей удастся получить компост удовлетворительного качества, хотя следует отметить, что не существует универсального компоста, подходящего для всех видов растений и почв. В

связи с этим при выборе компоста для улучшения качества почвы, следует знать не только состав компоста, но и состояние самой почвы. Например, для рециклизации почвы может быть смесь, состоящая из готового компоста растений, биокомпоста и/или компоста из отходов домашнего хозяйства и минерального компоста, состоящего из песка, грунтового материала, измельченного щебня, гравия и кирпичной крошки. Смесь также может включать в себя пульпу от производства бумаги или целлюлозы, обычную бумагу, а также отходы хлопчатника или текстильной промышленности [8]. Необходимо также предусмотреть наличие микроэлементов в компостируемых смесях, важных для нормального роста и развития растений [9]. Причем избыток микроэлементов может ухудшить качество компоста и в этом случае их необходимо удалять, например, за счет добавления активированного угля [10–16].

Глава 14

Основные микроорганизмы, участвующие в компостировании

Получение всех типов компостов невозможно без участия в этом процессе самых разнообразных микроорганизмов, как бактерий, так и грибов, растущих в мезофильных или термофильных условиях. Все сообщество микроорганизмов определяется, прежде всего, составом и соотношением компонентов, подвергающихся биоразложению. В связи с этим многие примеры, характеризующие те или иные микроорганизмы, будут приведены вместе с описанием компонентов, которые подвергаются компостированию.

В настоящее время идентифицированы многие сообщества бактерий, участвующих в аэробной переработке органических отходов. Конкретные примеры идентификации таких бактерий и их участия в сложном, многостадийном процессе разложения и последующей минерализации компостируемых смесей приведены ниже.

Навоз из сточных вод или ил и осадки сточных вод вначале обрабатывались гидрооксидом кальция и затем подвергались ферментации филоментными бактериями, например такими, как *Bacillus badius* или *Cellulomonas* при контролируемом уровне pH. Полученный компост может быть использован как удобрение для почвы [17].

Автотрофные *S* и *H* окисляющие бактерии были выделены из термофильного компоста, полученного из смеси лигноцеллюлозы и навоза, при температуре 60 – 80°C. Все они оказались чувствительны к пенициллину *G*, что свидетельствовало об их принадлежности к классу бактерий. облигатные автотрофные неспорообразующие штаммы принадлежали к грамотрицательным видам, растущим при температурах 60 – 80°C при температурном оптимуме роста 70 – 75°C, но только при

микроаэрофильных условиях (5 кПа O_2). Эти штаммы по своей структуре ДНК были близки к штаммам гидрогенобактерий, полученных из геотермальных районов. Факультативные автотрофные штаммы, выделенные из горячих компостов, были грамвариабильных видов, которые образовывали сферические и другие виды эндоспор в отличие от ранее выделенных палочкообразных облигатных бактерий. Эти виды бактерий росли при 55 – 75°C с оптимумом температуры 65 – 70°C. Вышеназванные бактерии могли быть гетеротрофны или автотрофны для одного водорода, однако они окисляли также тиосульфат при условиях мексотрофного роста (например, пируват или H_2 + тиосульфат). Все эти штаммы по структуре своей ДНК оказались близки штаммам *Bacillus schlegelu* [18].

Предложено также для дезодорации процесса компостирования использовать культуры молочнокислых, фотосинтезирующих и/или филаментозных бактерий [19].

Добавление к смеси, предназначенной для компостирования, термофильного штамма *NH 1* бактерий *Bacillus licheniformis* существенно увеличивало популяцию этих бактерий в процессе компостирования и предотвращало понижение pH на ранних стадиях компостирования. Кроме того, добавление вышеуказанного штамма к компостируемой смеси органических отходов повышало также количество и других термофильных бактерий в компосте, которые обладали высокой способностью к деструкции органического вещества компоста. В результате всего этого скорость компостирования органических отходов при щелочных значениях pH компостируемой смеси существенно возрастала. Найдено, что эффективность компостирования зависит как от концентрации самого штамма *NH 1*, так и от количества других термофильных бактерий в компостируемой смеси. При больших концентрациях *NH 1* компостирование протекает с более высокой скоростью. Отношение *NH 1* к другим термофильным бактериям в сырье, предназначенном для компостирования, должно быть выше, чем 0,05 [20].

Для увеличения срока действия бактериальных культур и толерантности к высоким температурам их иммобилизовали на ракушечнике или силикатных минералах, глиноземах, пористых веществах и гуминовых кислотах. Иммобилизованные микроорганизмы смешивали с готовыми компостами или со смесью органических отходов перед их компостированием. Соотношение актиномицетов и ракушечника, выбранного для иммобилизации, составляло 9:1 [21]. Подобным же методом удалось иммобилизовать почвенные микроорганизмы на носителе, состоящий из смеси 100 ч. стружек и 50 – 100 ч. цеолита [22].

В качестве носителей для иммобилизации микроорганизмов можно использовать также рисовые отруби или отходы картофеля, которые смешивают с дрожжами *Hunsenula*, филаментозными грибами из

Aspergillus, *Rhizopus*, *Mucor* и *Chlorella*. Смесь высушивают и превращают в порошок пульверизацией после перехода микроорганизмов в вегетативную стадию. Порошкообразный материал эффективен в качестве добавок в компосты и для удобрения почвы [23].

При компостировании смеси свиного навоза и опилок в компостных кучах с обычной и принудительной аэрацией обнаружено, что в случае принудительной аэрации происходит уничтожение патогенных микроорганизмов, таких как *Salmonella* sp. [24].

Получены новые микроорганизмы, не имеющие индукционного периода, сразу же переходящие в фазу экспоненциального роста и не обладающие гемолитическим действием. Такими микроорганизмами оказались *Bacillus* sp. ОУК-01-600 (FERM-BP-6394). Приведены физико-химические характеристики этих микроорганизмов, обладающих высокой антимикробной активностью против таких токсичных культур, как *Staphylococcus aureus*, патогенных *Escherichia coli*, *Legionella pneumophila* и *Klebsiella pneumoniae*. Различие в скорости роста бактерий нового вида и патогенных бактерий, а также других микроорганизмов приводит к ингибированию других микробных культур, которые не только патогенны, но и продуцируют дурно пахнущие и токсичные летучие метаболиты. Предложено использовать эти микроорганизмы для компостирования органических отходов с целью ускорения и обеспечения безопасности процесса [25].

Из 76 образцов компостов, полученных ферментацией городских отходов, было выделено 130 термофильных актиномицетов, принадлежащих к 6-ти основным культурам: *Faenia rectivirgula*, *Saccharomonospora viridis*, *Streptomyces thermoviolaceus*, *Thermoactinomyces thalophilus*, *T. Vulgaris* и *Thermomycetozoon cacaeciae*.

Культуры были проанализированы на способность образовывать колонии, а также по биохимическим показателям. Биохимические исследования показали способность культур расщеплять казеин, целлюлозу, гипоксантин, крахмал и другие субстраты [26]. Практически все компосты и компостируемые смеси содержали в своем составе аммоний-окисляющие бактерии рода *Protobacteria*, так как окисление аммония является одной из основных стадий в процессе минерализации органического азота в почве. Сделан вывод, что добавление этих бактерий в компостируемые смеси может существенно ускорить процесс созревания компоста [27].

Основные микробные сообщества в компостируемой смеси твердых городских отходов были следующие: мезофильные бактерии, дрожжи и филаментозные грибковые культуры, споры бактерий, *Salmonella* и *Shigella*. В качестве фекального индикатора бактерий было выбрано содержание в компостируемой смеси общих колиформ, фекальных колиформ и фекальных *Streptococci*. Исследования проводились на

пилотной установке в реакторе с современной системой аэрации в процессе компостирования. Результаты показали, что в процессе компостирования происходит автостерилизация процесса за счет повышения температуры в первой стадии компостирования до 60 – 65°C, приводя к значительным изменениям в бактериальном сообществе. Например, содержание *Eishericchia coli* и фекальных популяций *Streptococci* уменьшалось в процессе компостирования соответственно с $2 \cdot 10^7$ до $3,1 \cdot 10^3$ и с 10^7 до $1,5 \cdot 10^3$ клеток/г сухих отходов. Количество дрожжей и филаментозных грибковых культур понижались с $4,5 \cdot 10^6$ до $2,6 \cdot 10^3$ клеток/г сухих отходов, а количество мезофильных бактерий уменьшалось с $5,8 \cdot 10^9$ до $1,8 \cdot 10^7$ бактерий/г сухих отходов. С другой стороны, число бактериальных спор увеличивалось в начале процесса компостирования, спустя три недели их количество уменьшалось. *Salmonella* полностью исчезала к 25 сут. компостирования, когда температура компоста достигала 60°C. Однако бактериальная популяция вновь увеличивалась во время стадии охлаждения компостируемой смеси. В то время как *Staphylococci* являются доминирующими бактериями во время мезофильной стадии и вначале термофильной, бациллы доминируют на последующей стадии компостирования.

Появление грамотрицательных палочкообразных микроорганизмов (способных сделаться патогенными) в процессе охлаждения компоста является серьезным препятствием для использования конечного продукта для сельскохозяйственных целей. Однако ультразвуковая обработка компоста в течение 3 мин приводила к практически полному уничтожению этих микроорганизмов. Напротив, грамположительные бактерии, особенно микрококки, споры бактерий и грибные культуры выживают при такой обработке компоста и находятся в нем в достаточно высоких концентрациях [28]. В качестве грибных культур для компостирования органических отходов растительного происхождения могут быть использованы различные дрожжевые культуры разлагающие полисахариды [29].

При компостировании пульпы и измельченных отходов бумаги в секционном реакторе после 43-х суточного проведения процесса уровень микроорганизмов в реакционной смеси увеличился в 4 раза. Однако, исходя из анализа отходящего CO₂, ожидалось 19-ти кратное увеличение уровня микроорганизмов. Это расхождение свидетельствовало о лизисе клеток, происходящем во время процесса компостирования. На 22 день компостирования появлялись микроорганизмы *Cellulomonas* sp. Химический анализ компоста показал, что за время компостирования разрушается 33% целлюлозных компонентов и не наблюдается никаких других значительных химических изменений [30].

Подавление выделения зловонных газов при разложении отходов осуществлялось за счет инокуляции отходов с микроорганизмами, принадлежащими к штаммам *Candida*, *Issatehenkia* и *Pieha*. Например, эффективным для этой цели является *Candida krusei* и его производные. Применение этого микроорганизма при компостировании подавляет эмиссию дурно пахнущих соединений [31].

Цитрусовые отходы после добавления к ним $\text{Ca}(\text{OH})_2$ при соотношении углерода к азоту C:N равному 24, pH 6,3 и влажности 60% компостировались в компостных кучах под навесом. Термофильные микроорганизмы, присутствующие при термофильной стадии компостирования, были, главным образом представлены бактериями: *Bacillus licheniformis*, *B. materans*, *B. sterothemophilus* и в меньшей степени такими грибковыми культурами, как *Absidia corymbifera*, *Aspergillus fumigatus*, *Emericella nidulans*, *Penicillium diversum*, *Rhizomucor pusillus*, *Talaromyces thermohyilus* и *Termomyces lanuginosus*. Бактерии, присутствующие на конечной стадии компостирования включают в себя: *B. licheniformis*, *B. macerans*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas auruginosa*, *P. fluorescens*, *P. luteoka* и *Serrata marcescens*, тогда как среди грибковых культур, остающихся в конечной стадии компостирования, наиболее часто встречаются *Aspergillus punceus*, *A. ustus*, *E. nidulans*, *Paecilomys lilacinus*, *T. lamiginosus*, а также дрожжи и базидомицеты, возможно такие, как *Coprinus lagohus* [32].

Показано, что при обработке пшеничной соломы в течение 40 дней микроорганизмами *Pleurotus sajorcaji*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger* и *Azotobacter chroococcum*, получается компост, который пригоден для удобрения почвы, но и для вермикомпостирования [33].

27 филаментных грибковых штаммов, представляющих пять видов: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *myriodontium* и *Pleurotus* были выделены из нескольких источников: илистых отходов коммунально-бытовых сточных вод, экстракта из компостированных отходов переработки пальмового масла, из компоста, полученного при переработке отходов растений и грибковых плодоносящих тел из гнилых деревянных пней. Были идентифицированы 33 штамма и изучена их способность для компостирования илистых отходов из коммунально-бытовых сточных вод. Наилучшими штаммами оказались штаммы, выделенные из *Aspergillus niger*, SS-T2008, WW-P1003 и RW-Pl 512. Эти штаммы были способны к биосинтезу наиболее высокого количества биомассы по содержанию сухих веществ при самых высоких концентрациях илистых отходов в коммунально-бытовых сточных водах. Эти штаммы лучше всего адаптировались и росли при наиболее высоком содержании веществ в илистых отходах и соответственно были наиболее эффективны к биоконверсии и биodeградации илистых отходов [34].

Проведен анализ количества патогенных бактерий, вызывающих различные заболевания, которые находились в очистных сооружениях и сточных водах. Результаты анализа показали, что сточные воды содержат аммонифицирующие, нитрифицирующие и денитрифицирующие бактерии. Определено общее количество бактерий и грибов в обезвоженном иле, в обезвоженном ферментированном иле и в компостированном обезвоженном иле. Компост получали из обезвоженного вторичного ила при добавлении опилок. Микробиологический анализ показал, что количество фекальных палочкообразных бактерий соответственно составляет 6500, 220 и 150 клеток/см³. Количество *Salmonella* были соответственно равны 67,8; 6,48 и 6,6 клеток/см³. Общее количество бактерий было соответственно равно $2,9 \cdot 10^7$, $2,8 \cdot 10^7$ и $2,5 \cdot 10^7$ клеток/мл. Содержание грибных культур в исследованных образцах было соответственно $6,2 \cdot 10^2$, $19,6 \cdot 10^2$ и $7,8 \cdot 10^2$ клеток/см³. Во всех трех видах ила содержались аммонифицирующие, нитрифицирующие и денитрифицирующие бактерии. Из всех бактерий, имеющих в образцах, наибольшее количество принадлежало общим видам бактерий, следом за ними шли аммонифицирующие и нитрифицирующие бактерии. Существенно меньше было денитрифицирующих бактерий. Грибы и патогенные бактерии оказались самыми немногочисленными [35].

При компостировании бумаги вместе с навозом как источником органических веществ в аэрируемом компосте в течение 24 недель были идентифицированы все микроорганизмы и изучена их ферментативные активности (амилазная, протеазная, липазная, пектиназная, полигалактуразная, эндоглюконазная и хитиназная). Установлено, что микроорганизмы, участвующие в биodeградации целлюлозных волокон, являются термофильными актиномицетами и грибами. По сравнению с уровнями азота 0,6 и 0,7%, их количество уменьшается при увеличении количества азотистых компонентов в смеси до 0,9%. Большинство микроорганизмов было гемецеллюлолитическими бактериями, тогда как актиномицеты и грибы оказались способны гидролизовать широкий спектр различных субстратов. Во всех экспериментах увеличение количества азота до 0,9% уменьшало скорость процесса, оказывая неблагоприятное действие на наиболее важные микроорганизмы, участвующие в деградации бумажных волокон [36].

Исследована также биodeградация лигнина с целью определения возможностей использования отходов древесины для получения компостов. Для этого отходы лиственницы и осины обрабатывали грибными культурами различного рода (*Ph. sandninca*, *T. villosus* и др.). Затем были проведены элементарный, функциональный и структурный анализы лигнинов, обработанных и необработанных грибными культурами

с использованием спектроскопии ЯМР ^{13}C и ^1H . Из анализа полученных данных были сделаны следующие заключения. Воздействие грибных культур на лигнин проявляется прежде всего в окислении как низкомолекулярных, так и высокомолекулярных компонентов. Для компостирования древесных отходов необходима комбинация различных микробных культур и сообществ с целью получения зрелого компоста [37].

Предложена система для компостирования городских отходов с помощью специального орошения их теплой водой с температурой $\geq 50^\circ\text{C}$ в присутствии обычных или термофильных бактерий типа *Bacillus sp.* при температуре $\geq 50^\circ\text{C}$ в условиях периодической аэрации компоста и наличии специального средства для контроля теплой воды, поступающей в ферментер [38, 39].

Наиболее подробные характеристики бактериальных и грибных культур, расщепляющих целлюлозу, лигнин и гемицеллюлозу, приведены в монографиях [40, 41], а также в обзоре [42], в связи с чем мы позволим себе не останавливаться подробно на описании и свойствах этих микроорганизмов.

Проведен анализ количества патогенных бактерий, вызывающих различные заболевания, которые находятся в очистных сооружениях и сточных водах. Результаты анализа показали, что сточные воды содержат аммонифицирующие, нитрифицирующие и денитрифицирующие бактерии. Определено общее количество бактерий и грибов в обезвоженном иле, в обезвоженном ферментированном иле и в компостированном обезвоженном иле. Компост получали из обезвоженного вторичного ила при добавлении опилок. Микробиологический анализ показал, что количество фекальных палочкообразных бактерий соответственно составляет 6500, 220 и 150 клеток/см³. Количества *Salmonella* были соответственно равны 67,8, 6,48 и 6,6 клеток/см³. Общее количество бактерий было соответственно равно $2,9 \cdot 10^7$, $2,8 \cdot 10^7$ и $2,5 \cdot 10^7$ клеток/мл. Содержание грибковых культур в исследованных образцах было соответственно $6,2 \cdot 10^2$, $19,6 \cdot 10^2$ и $7,8 \cdot 10^2$ клеток/см³. Во всех трех видах ила содержались аммонифицирующие, нитрифицирующие и денитрифицирующие бактерии. Из всех бактерий, имеющих в образцах, наибольшее количество принадлежало общим бактериям, следом за ними шли аммонифицирующие и нитрифицирующие бактерии. Существенно меньше было денитрифицирующих бактерий. Грибки и патогенные бактерии были самыми немногочисленными [43].

Глава 15

Ферменты и ферментативные процессы при компостировании

Несмотря на подробное описание свойств ферментативных систем, относящихся к окислительно-восстановительным ферментам и гидролазам, участвующим в расщеплении целлюлозы и гемицеллюлозы, а также в окислении и деградации лигнина [40–42], существенно меньшее внимание уделено исследователями собственно ферментативным процессам, а также самим ферментам, участвующим в компостировании. В связи с этим особенно интересны те немногочисленные публикации, которые посвящены этим вопросам.

Протеаза, названная авторами казеиназой, была выделена из компоста, полученного после компостирования твердых городских отходов 5-ти часовым перемешиванием с 0,05 М пиррофосфорной кислотой при pH 9,0 с последующей фильтрацией, ультрафильтрацией и градиентным переосаждением сульфатом аммония. Выделенный, таким образом, фермент растворяли в воде и сравнивали с нейтральной протеазой из *Bac. polymyxa*. Как показали исследования, фермент, экстрагированный из компоста, термически был более стоек, чем нейтральная бактериальная протеаза, и был более стабилен при хранении за счет меньшего самопереваривания. Эти явления авторы объясняют возможной связью фермента с органическими соединениями, оставшимися в компосте, которые могли стабилизировать фермент так, как это имеет место с ферментами почвы. Действие этого стабилизированного фермента, по мнению авторов, имеет большое влияние на минерализацию белков и их использование в качестве легко усвояемого источника азота для микроорганизмов, как в самом компосте, так и после его добавления в почву [44].

Выделены и классифицированы протеазы из *Bacillus stearothermophilus* для процесса термофильного аэробного компостирования и увеличены их ферментативные активности при использовании химических соединений в процессе компостирования. Эти протеазы были поделены на два семейства: сериновые и металлопротеазы. Были изучены различные ионы металлов, способные увеличить протеазную активность. Обнаружено, что ионы Ca^{2+} и Fe^{2+} могут существенно увеличить активность ферментов. Эти ферменты были использованы для ускорения процесса термофильного аэробного разложения промышленных отходов активного ила. Добавление к исследуемой смеси двухвалентных ионов интенсифицировало процесс аэробного разложения отходов активного ила. Наилучшие результаты были получены при добавлении 2 ммоль Ca^{2+} . Сделан вывод, что процесс

термофильного аэробного разложения может быть ускорен добавлением к отходам активного ила ионов двухвалентного кальция [45].

Ферменты, оставшиеся после компостирования, были выделены из компоста экстракцией 0,05 М раствором соли пиродифосфата натрия при двух значениях pH: слабо-кислом (pH 5 – 6) и нейтрально-слабощелочном (pH 7 – 9). Наиболее оптимальным был слабо-щелочной экстракт с концентрацией 0,05 моль/л. С этим экстрактом удалось выделить большое количество как внеклеточных, так и внутриклеточных ферментов. Внеклеточные ферменты в компосте можно было стабилизировать путем их ассоциации с гуминоподобными соединениями, образующимися во время компостирования органических материалов. Их присутствие в зрелом компосте может быть особенно важным после добавления компоста в почву, так как они являются промоторами минеральных органических веществ в компосте и эффекторами его применения в качестве удобрения почв [46].

С помощью различных физико-химических методов из компостов, полученных из грибов, вызывающих деструкцию целлюлозы, был извлечен фермент, расщепляющий гемицеллюлозу и названный ксиланазой. Максимальная активность ксиланазы была обнаружена в экстрактах из компостов, полученных из смеси различных грибов. В этом же экстракте были обнаружены также пероксидаза, ацетилэстераза, расщепляющая разветвленные полисахариды, содержащие ксилан, арабин-фуранозидаза и эндоглюконаза со способностью расщеплять целлюлозу, а также β -глюкозидаза. Экстракты из компостов также обладали способностью освобождать восстанавливающие сахара из полимеров, например глюкозу или сахарозу (12 нмоль/мин г компоста). Максимальные активности ферментов проявлялись при значениях pH между 7 и 9 после их часовой инкубацией с субстратами при 65°C [47]. Полученные данные хорошо согласуются с результатами, приведенными в монографиях [40, 41]. Изучению ферментативной активности в процессе самого компостирования также посвящено небольшое количество печатных работ.

Изучена активность четырех гидролаз (уреазы, фосфатазы, и двух протеаз) в органических отходах, содержащихся в иле сточных вод, которые не компостировались или компостировались в течение 91 и 210 сут. Органический материал, экстрагированный из ила сточных вод, не подвергнутых компостированию, имел более высокую ферментативную активность по сравнению с илами, подвергнутыми компостированию. Органическая фракция с наиболее высокой ферментативной активностью, за исключением уреазы, наблюдалась в интермедиатах с молекулярной массой 10^3 – 10^4 , уреазная активность была наиболее высокой у интермедиата с молекулярной массой ниже 10^3 после 210 сут компостирования. Компостирование оказывало заметное влияние на

активность уреазы и фосфатазы. В некомпостированной смеси гидролазы показывали более высокую активность и, за небольшим исключением, кривая распределения фракций по молекулярной массе, полученная с помощью ультрафильтрации, свидетельствовала о наибольшей активности фракций с молекулярной массой свыше 10^3 . В компостированном материале активность уреазы и фосфатазы была наиболее высокой в органической фракции с молекулярной массой $10^3 - 10^4$. Хорошая корреляция была получена между протеазной активностью, определенной по синтетическому субстрату N- α -бензоил-L-аргининамиду и содержанием органического углерода, а также фосфатазой, как в экстрактах органических материалов, так и в не экстрагированных фракциях [48]. Подобные результаты вполне понятны, так как в процессе компостирования, по сути дела происходят несколько процессов: процесс сорбции или иммобилизации фермента на компостируемую смесь, проявление самой ферментативной активности, которая может ингибироваться как субстратами, так и продуктами, и, наконец, процесс десорбции. Последний может также происходить не полностью, в результате чего ферментативная активность может существенно понизиться. Кроме того, существенную роль в ферментативном процессе играют такие параметры, как температура, pH, ионная сила и пр. [49].

Мониторинг биохимической активности во время компостирования проводился на смеси осадков сточных вод вместе с двумя видами растительных отходов древесины: обрезками деревьев и обрезками виноградной лозы в соотношении 1:2 при контролируемых условиях (температура 28°C, влажность 70%). Исследовалась активность следующих гидролаз: уреазы, фосфатазы, протеазы, гидролазы полисахаридов и других ферментов. Образцы инкубировались в одних и тех же условиях в биореакторе так, чтобы изучить минерализацию углерода путем измерения выделяющегося CO₂. Быстрая фаза минерализации (2 – 3 нед) сопровождалась затем медленной фазой в периоде 4 – 14 нед. Структура компостируемых соединений слегка изменялась. Гидролизованные полисахариды и белки, освобождающиеся при структурной модификации лигноцеллюлозного материала и определенные по реактиву Фолина, можно было контролировать для определения интенсивности и длительности процесса компостирования [50].

Изучали процесс компостирования отходов смеси корма для кроликов, включающие люцерну, измельченные отходы бумаги, песок и компостированный навоз коров. Компостная масса самопроизвольно нагревалась от первоначальной температуры 25 – 27°C до 55°C в первые 34 ч. В первые дни компостирования наблюдалось увеличение микробной биомассы, а также эстеразной, амилазной, протеазной, уреазной,

целлюлазной и других ферментативных активностей за счет минерализации субстратов. Об этом свидетельствовало и понижение соотношения C:N в 1,5 – 2 раза. Все вышеупомянутые параметры имели высокую активность в течение 22-х недельного периода наблюдения [51].

Основываясь на ферментативной активности компостируемых смесей определены также кинетические характеристики компостирования сельскохозяйственных отходов. Рассчитаны максимальные скорости компостирования отходов и кинетические константы Михаэлиса. Показано, что при добавлении в компостируемые смеси микробиологических культур константы Михаэлиса изменялись в незначительной степени и находились в интервале 1,20 – 1,84 ммоль. Рост микроорганизмов, находящихся в компостируемой смеси, например, актиномицетов, бактерий и грибов, увеличивался при введении в компостируемую смесь стартовых микроорганизмов [52].

Глава 16

Физико-химические методы, улучшающие качество компостов и эффективность их получения

Для понимания процессов компостирования особенно важен анализ тех соединений, которые образуются в процессе компостирования, поскольку в этом случае может быть намечена определенная стратегия получения компоста с заданными свойствами и эффективного в качестве удобрения.

Содержание химических соединений в экстрактах из компостов. Был проведен анализ степени гидролиза органических соединений в компостах, полученных из городских отходов. Для этого компост был подвергнут экстракции горячей водой. В ходе процесса компостирования содержание углеводов в компосте сначала уменьшалось от 1/3 до 1/10 и затем увеличивалось до 1/5 от общего количества органических веществ в экстракте. Количество фенольных продуктов изменялось от 0,6 до 3,3% [53].

На основе химического анализа 53 дневного компостирования осадка сточных вод полученные продукты можно было разделить на три фракции:

1) фракция, где наблюдалось быстрое разложение негуминовых, легко разлагающихся органических соединений (2 – 3 недели компостирования);

2) фракция, где наблюдалось гумификация органических веществ и образование поликонденсированных гуминоподобных соединений (следующие 2 недели компостирования);

3) фракция, в которой наблюдалась стабилизация органического материала и слабая микробная активность.

Спектральные характеристики ^{13}C ЯМР гуминовых кислот, содержащихся в компосте, изменяли свою структуру в процессе созревания компоста. Эти изменения были подобны тем, которые имеют место при промышленном получении компоста в буртах [54].

Уменьшение содержания переходных металлов в компосте. Известно, что отходы сточных вод могут содержать значительные количества переходных металлов, что ухудшает качество компоста, полученного из этих отходов. Показано, что совместное компостирование отходов сточных вод и активированного угля уменьшает содержание переходных металлов в компосте за счет их сорбции на угле и тем самым улучшает качество компоста [55]. Предложено также для лучшего компостирования органических отходов добавлять к компостируемой смеси щелочные реагенты, содержащие в своем составе производные кальция и магния, взятые в соотношениях от 3:1 до 10:1, а также производные калия, целлюлозу и/или лигнин [56].

Проведено 5-ти дневное компостирование городских отходов. Количество органических компонентов в 5-ти дневном компосте измерялось в газовой фазе, жидкости и в твердом состоянии. Из девяти проведенных тестов выделенных органических соединений были обнаружены: хлороформ, толуол, метилхлорид, этилбензол и трихлорэтилен. Этилбензол, толуол и трихлорэтилен были обнаружены в жидком экстракте из компоста в количествах 24, 11 и 7 мкг/л соответственно. Этилбензол и толуол были обнаружены в выделенных и адсорбированных образцах компоста после 2-х дневного компостирования в количествах 5 и 25 мг/кг соответственно. Основным механизмом деградации органических отходов, по-видимому, заключался в испарении и биodeградации. Общее количество девяти органических соединений, легко выделяющихся в процессе компостирования, составляло около 385 г/день или 34 г/тону твердых отходов. Эмиссия органических соединений в воздух составляла около 111 г/день [57].

Был также проведен анализ степени гидролиза органических соединений в компостах, полученных из муниципальных отходов, подвергнутых водной экстракции. В ходе процесса компостирования содержание углеводов в компосте сначала уменьшалось, а затем увеличивалось [58].

Быстрый способ компостирования отходов сточных вод. Описан процесс компостирования твердых и илистых отходов сточных вод, которые смешивают с травой, листьями и опилками и помещают в закрытые хорошо аэрированные контейнеры, куда подавался воздух, и где

контролировалось содержание кислорода. В результате получали компост с хорошими показателями качества спустя 9 – 15 сут проведения процесса [59]. Однако в ряде случаев можно использовать вместо воздуха кислород [60] или озон [61], что в еще большей степени ускоряет процесс компостирования.

Описан метод удаления аммиака из отходов сточных вод, предназначенных для компостирования или для производства биогаза, реверсивным осмосом. Перед реверсивным осмосом сточные воды подвергают микрофильтрации через фильтр с размером пор 0,2 мкм. Остаток после стерильной фильтрации нагревают до 60 – 65°C для удаления аммиака и CO₂. Отходящие газы пропускают в нагретом состоянии через Pd-катализатор для превращения NH₄⁺ в N₂, N₂O или (NO)_x с последующим восстановлением (NO)_x в N₂, используя его реакцию с NH₄⁺ или алюмосиликатным катализом. Из очищенных сточных вод после их реверсивного осмоса пермеат, содержащий практически чистую воду, может использоваться в бытовых целях, а концентрат, содержащий соли и другие высокомолекулярные соединения, может после обезвоживания использоваться для компостирования [63].

Метод переработки органических отходов для получения компоста заключается в двухстадийном проведении процесса компостирования органических отходов (травы, веток деревьев, навоза). На первой стадии осуществляется неполное компостирование отходов при температуре 40 – 60°C при интенсивном перемешивании и аэрировании в течение 24 – 72 ч. Затем на второй стадии осуществляется докомпостирование этих отходов при 50 – 80°C и последующее брикетирование. Оптимально на второй стадии компостирования добавлять к ферментируемой смеси предварительно ферментированные кухонные отходы, золу, или карбонизированные материалы [64].

Метод быстрого компостирования органических отходов предусматривает переработку органических отходов с влажностью 60 – 75%, имеющих максимальный размер частиц диаметром 3 – 20 мм, в ферментере с отводом получаемого газа, за счет нагревания органических отходов при температуре ≥40°C, предпочтительно при 55 – 65°C и содержании кислорода в ферментаторе 5 – 20% с последующим высушиванием компоста после окончания ферментации. Предлагаемый процесс в 1,5 – 2 раза уменьшает время компостирования и снижает стоимость компоста [65].

Возможно ускорение процесса компостирования промотором, содержащим железо из крови убойных животных. Промотор компостирования, содержащий железо, связанное с азотом, получают адсорбцией отходов крови убойных животных на пористом носителе SiO₂–

Al_2O_3 и полученную смесь высушивают или карбонизируют. Добавление такого промотора в несколько раз ускоряет процесс компостирования органических отходов [66].

Показана также эффективность компостирования мусора с семенами растений при добавлении к компостируемой смеси мусора семян сельскохозяйственных культур. Семена увеличивали степень разложения органических отходов мусора до 87,5%, тогда как в отсутствии семян это превращение составляло 73%. Сделан вывод, что добавление семян к компостируемому мусору увеличивает скорость созревания компоста в 1,7 – 2,1 раза за счет отсутствия при этом процессе первоначального лаг-периода для микроорганизмов, находящихся в мусоре [67].

Глава 17

Микробиологические и биохимические методы интенсификации процесса компостирования

Вышеописанные методы предлагают интенсифицировать процесс компостирования за счет дополнительного добавления к компостируемой смеси микробных культур или ферментов.

Предложен ускоренный метод компостирования пищевых отходов и отходов от производства напитков при помощи специфического биоценоза, состоящего из смеси компостируемых органических веществ с соответствующей влажностью и значением pH в ферментере, куда добавлены микроорганизмы типа *Bacillus* sp. KHR-10 и *Cellomanas* sp. KHR-15-MX или их штаммы. После проведения процесса компостирования смесь высушивали и использовали как удобрения [68].

В качестве реагента, активизирующего процесс компостирования, предложено использовать силикаты или алюмосиликаты, содержащие $\geq 15\%$ воды после их высушивания в течение 90 мин при 110°C , а также ≥ 6 мг/100 г компоста раствора силикатов. Активирующий реагент должен также обладать высокой адсорбирующей способностью по отношению к NH_3 . Сам же компост получали аэробной ферментацией смеси, содержащей органические отходы, такие как отходы сточных вод, экскременты из стоков, пищевые и городские отходы, а также различные культуры бактерий и грибов [69].

Быстрое компостирование мусора при помощи микроорганизмов осуществляется за счет ферментации сырого мусора в ферментере вместе с микроорганизмами, устойчивыми к высоким температурам в нативном или иммобилизованном состоянии. В качестве микроорганизмов используют *Penicillium*, *Bacillus*, *Thermoactinomyces* и *Streptomyces* с последующей ферментацией при перемешивании и поддержании температуры $50 - 70^\circ\text{C}$

с отводом образующегося газа из ферментера в циклон для удаления влаги и затем введением этого же сухого газа в ферментер с добавлением свежего воздуха [70].

Стерилизованные отходы домашнего хозяйства, содержащие 65 – 70% органического вещества инокулируют с аэробными или термофильными микроорганизмами, например такими, как *Bacillus stearothermophilis*, после чего компостируют и получают высококачественный компост [71].

Подобным образом осуществляют также компостирование городского мусора при добавлении к нему бактерий типа *Bacillus* на целлюлозной основе, таких как шелуха гречихи, опилки или шелуха риса в водной среде при 30 – 60°C аэрацией смеси ≥ 24 ч, фильтрацией, обезвоживанием и затем высушиванием на воздухе [72].

Для ускорения компостирования и качества полученного компоста предложено добавлять к компостируемой смеси гранулированные микроорганизмы (размер гранул 10 мкг) с влажностью 5 – 30%, которые получают культивированием плесневых грибов и/или актиномицетов. Гранулы могут также содержать инсектициды [73].

Предложена система для быстрого компостирования городских отходов с помощью специального орошения их теплой водой с температурой $\geq 50^\circ\text{C}$ в присутствии обычных или термофильных бактерий типа *Bacillus* sp. при температуре $\geq 50^\circ\text{C}$ в условиях периодической аэрации компоста и наличии специального средства для контроля теплой воды, поступающей в ферментер [74]. Подавление выделения зловонных газов при разложении отходов осуществляется за счет инокуляции отходов с микроорганизмами, принадлежащими к штаммам *Candida*, *Issatehenkia* и *Pieha*. Например, эффективным для этой цели является *Candida krusei* и его производные. Применение этого микроорганизма при компостировании подавляет эмиссию дурно пахнущих соединений [75].

Эффективный метод ферментации органических отходов для получения компоста заключается в двухстадийной ферментации органических отходов (травы, веток деревьев, навоза). На первой стадии осуществляется неполная ферментация отходов при температуре 40 – 60°C при интенсивном перемешивании и аэрировании в течение 24 – 72 ч. Затем на второй стадии осуществляется докомпостирование этих отходов при 50 – 80°C и последующее брикетирование. Оптимально на второй стадии компостирования добавлять к ферментируемой смеси предварительно ферментированные кухонные отходы, золу, или карбонизированные материалы [76].

Метод быстрого компостирования органических отходов аэробной ферментацией предусматривает переработку органических отходов с

влажностью 60 – 75%, имеющих максимальный размер частиц 3 – 20 мм. Ферментер сконструирован так, что в нем предусматривается отвод получаемого газа, за счет нагревания органических отходов при температуре $\geq 40^{\circ}\text{C}$, предпочтительно при $55 - 65^{\circ}\text{C}$ и содержании кислорода в ферментаторе 5–20% с последующим высушиванием компоста после окончания ферментации. Предлагаемый процесс в 1,5 – 2 раза уменьшает время компостирования и снижает стоимость компоста [77].

Быстрое компостирование кухонных отходов осуществляется за счет добавления к компостируемой смеси аэробных бактерий, гранулированием полученной смеси, покрытием гранул сухим компостом (с содержанием влаги 10 – 20%) и температурной обработкой гранул при 60°C и последующим высушиванием полученной смеси. Метод уменьшает затраты энергии и предотвращает вторичную контаминацию получаемых компостов [78].

Показано, что экструзия сырых остатков после обмолота семенных культур совместно с микроорганизмами, в качестве которых могут быть использованы молочно-кислые бактерии, фотосинтезирующие бактерии и/или филаментозные бактерии, обеспечивает быстрое получение высококачественного компоста и предотвращает образование пахучих продуктов во время компостирования [79].

Добавление к компостируемой смеси бактерий *Bacillus licheniformis* предотвращало понижение pH на ранних стадиях компостирования и повышало количество термофильных бактерий в компосте, которые обладали высокой способностью к деструкции органического вещества компоста [80]. Улучшение качества компоста при его инкубации с лигнолитическими или целлюлозолитическими микроорганизмами осуществлялось добавлением к незрелому компосту лигнолитических или целлюлозолитических микроорганизмов рода *Trichoderma viridae* или *Bacillus sp.*, что приводило к улучшению качества такого компоста и увеличению степени гумификации входящих в него органических соединений. Полученный компост способствовал улучшению качества почвы и более высоким урожаям латука, особенно в присутствии азотфиксирующих бактерий рода *Azotobacter chroococcum*, которые, по-видимому, адсорбировались на компосте. Последний действовал в качестве депо для этих микроорганизмов [81].

Глава 18

Определение зрелости компоста

Известно, что применение незрелого компоста может отрицательно сказаться на росте и развитии сельскохозяйственных культур. К

сожалению, до настоящего времени не существует простой и быстрый метод определения зрелости компоста. Методы, предлагаемые для этой цели, достаточно кропотливы и не всегда надежны. Тем не менее, наиболее прогрессивные из них с нашей точки зрения, представлены ниже.

В качестве показателя зрелости компостов предложена следующая методика: высушенные образцы компостов, полученных компостированием отходов на различных стадиях компостирования, доводились водой до влажности 50% и выдерживались в течение 5 сут при 25°C. В увлажненном компосте экстрагируемый углерод микробной биомассы (V_C) до выдерживания увеличивался с 11296 мкг/г компоста до 41601 мкг/г, но затем уменьшался по мере созревания компоста после его выдерживания до значений 2704 – 5837 мкг/г в увлажненном компосте, содержащем навоз. Процентное содержание V_C к общему количеству органического углерода в компосте менялось от 2,5 до 9,5% в исходном материале, но затем уменьшалось по мере выдержки компоста и составляло в конечном продукте менее 1,7% во всех исследуемых смесях. Экстрагируемые компоненты микробной биомассы, реагирующие с нингидрином, (V_{NN}), имели ту же закономерность, что и V_C , изменяясь от 504 – 2044 мкг/г в исследуемых образцах в начале выдержки до 90 – 303 мкг/г к концу опыта. Процент V_{NN} к общему количеству азота в компосте составлял в начале опыта 2 – 9,8% и к концу опыта менее 1,1%. Эти данные хорошо совпадали с данными, полученными после применения компостов на культивируемых почвах с коэффициентом корреляции $r = 0,99$; $P < 0,01$. Выдерживание компостов при высоких температурах (53°C) оказывало отрицательное влияние на V_C и V_{NN} во всех видах компостов и мало влияло на химический состав биомассы. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что большинство используемых компостов являются недостаточно зрелыми и могут оказаться не эффективными при их применении для улучшения качества почвы [82].

Изучена возможность использования термического метода анализа для быстрого определения изменений в органических веществах в процессе реакции компостирования. Для этого используются методы дериватографии и дифференциальной сканирующей микрокалориметрии (ДСК). Потеря массы в процессе компостирования, связанная с двумя экзотермическими реакциями, хорошо коррелировала с обоими методами исследований и могла использоваться для определения зрелости компоста, когда прекращалось изменение в весе компостируемой смеси [83].

Определение физических, химических и микробиологических характеристик для оценки степени зрелости компоста проводили на компосте, полученном из смеси ячменной соломы и отходов птицефабрик, которые компостировали в течение 150 сут. На основании данных

физических, химических и биологических характеристик определяли зрелость компоста. Содержание органического вещества, NO_3^- , NH_4^+ , pH, C:N и активность дегидрогеназы были выбраны в качестве основных параметров для определения зрелости. Еще одним параметром, характеризующим зрелость компоста может быть выбрана температура разложения органических веществ [84].

Совсем недавно предложен спектрофотометрический метод определения зрелости компоста, суть которого заключается в сравнении неизвестного спектра компоста с тремя реперными спектрами. Эти показания сравнивают с показаниями созревания компоста, определенными как величина общей экстракции гуминовых веществ (скорость экстракции), индексом полимеризации или соотношением гуминовых кислот к фульвокислотам. Этот новый показатель, который достаточно легко определить, позволяет судить о степени зрелости компоста. По сравнению с соотношением гуминовых кислот к фульвокислотам, полученным химическим способом, новый индекс, полученный при помощи Уф-спектров, показывает более правильные результаты соотношения гуминовых и фульвокислот [85].

Пример использования компоста из органических отходов и торфа, полученного во Всероссийском научно-исследовательском институте удобрений и агропочвоведения им. Д.И. Прянишникова, приведен в работе [86].

Глава 19

Агрохимические и агроэкологические свойства компоста «Биофорт» [86]

Компост «Биофорт», полученный из органических отходов в результате биоконверсии смеси птичьего навоза с торфом, представляет собой высокоэффективное органическое удобрение, обеззараженное от яиц и личинок гельминтов, патогенной микрофлоры и не содержит жизнеспособных семян сорняков.

Он имеет pH 6,7 – 8,4, высокое содержание органического вещества (67 – 78% в расчете на сухую массу), общего азота ($>2 - 3\%$), аммонийного азота (до 1,2%), общего фосфора (1 – 3% в пересчете на P_2O_5) и калия (0,4 – 1,8% в пересчете на K_2O).

Наряду с макроэлементами, в компостах содержатся необходимые для растений микроэлементы – медь, цинк, молибден, бор и др.

Содержание тяжелых металлов в «Биофорте» низкое. В сухой массе его содержится в среднем: кадмия 0,1 – 0,8 мг/кг, никеля 5 – 12 мг/кг, свинца 27 – 34 мг/кг, ртути 0,11 мг/кг, что значительно ниже принятых

предельно (ориентировочно) допустимых концентраций для почв, утвержденных Госсанэпиднадзором России ГН 2.1.7.020–94 (табл. 17).

Следует учитывать, что биоудобрения, получаемые методом ускоренного компостирования, имеют преимущества в экологическом отношении перед исходным органическим сырьем, в частности перед птичьим пометом.

Как известно, птичий помет относят к органическим удобрениям с высоким содержанием питательных веществ для растений. Вместе с тем он обладает рядом неблагоприятных свойств. Так, сырой птичий помет имеет сильный неприятный запах, содержит большое количество семян сорных растений и микроорганизмов, среди которых встречаются возбудители опасных инфекционных болезней птицы, сельскохозяйственных животных и человека. Установлено, что в 1 мл помета содержится до 10^3 микробных клеток, возбудителей инфекций, других патогенных бактерий, вирусов и грибов [86].

Таблица 17

Химический состав биокомпоста БИОФОРТ
(по данным испытательной лаборатории ВНИПТИХИМ)

рН	8,4
Влажность, %	62
Сухое вещество	33,1
Содержание в сухом веществе:	
Зола, %	24,2
Азот общий, %	3,9
Азот аммонийный ($N-NH_4^+$), %	1,2
Азот нитратный ($N-NO_3^-$), %	0,05
Органическое вещество, %	75,8
Органический углерод, %	43,3
C:N	11
Фосфор (P_2O_5) общий, %	3,5
Фосфор (P_2O_5) подвижный, %	0,6
Калий (K_2O) общий, %	1,2
Калий (K_2O) обменный, %	0,9
Медь (Cu), мг\кг	4,6
Цинк (Zn), мг\кг	57,2
Кобальт (Co), мг\кг	0,3
Марганец (Mn), мг\кг	75,8
Железо (Fe), мг\кг	327,9

Устранение неблагоприятных свойств помета достигается с помощью его переработки методом ускоренного компостирования при

температуре 55 – 70°C с применением активного вентилирования воздухом, когда происходит обеззараживание массы от фитопатогенов и жизнеспособных семян сорных растений. Приготовленный с помощью ускоренного компостирования компост свободен от сорняков и патогенной микрофлоры, т.е. экологически безопасен.

Влияние компоста «Биофорт» на плодородие почвы

Об улучшении агрохимических свойств почв и грунтов под влиянием применения в качестве удобрения компоста «Биофорт» и других ему подобных компостов свидетельствуют следующие проведенные исследования.

Так, при внесении компоста в полевых условиях в дозах 8 – 10 т/га наблюдалась тенденция к увеличению содержания гумуса, повышалось количество водопрочных агрегатов, численность микроорганизмов. При этом количество аммонифицирующих бактерий на контроле без удобрений составляло 41,3 млн. на 1 г абсолютно сухой почвы, а при внесении 10 т/га компоста оно возрастало до 54,5 млн. Численность наиболее важных в агрономическом отношении нитрифицирующих бактерий по той же дозе компоста увеличилась в 2 раза. Под влиянием компоста было отмечено повышение ферментативной активности и азотфиксирующей способности почвы.

Эффективность компоста «Биофорт» и других компостов при выращивании сельскохозяйственных культур

В настоящее время накоплен значительный опыт успешного применения компостов в качестве органического удобрения под сельскохозяйственные культуры.

Проверка компоста «Биофорт» в условиях полевого опыта ВНИИ картофельного хозяйства показала, что внесение его в дозах 3 – 5 т/га под картофель Невский обеспечивало прибавку урожая клубней на уровне 20 – 26% по отношению к контролю. Доза компоста 3,6 т/га по своему действию на урожайность соответствовала минеральным удобрениям, вносимым в количестве 60 кг азота, 60 кг P_2O_5 и 90 кг K_2O (по действующему веществу).

Выход товарной фракции картофеля при использовании компоста составлял 75%. Клубни отличались высоким содержанием крахмала и более низкой, чем при внесении минеральных удобрений, концентрацией нитратов.

В опыте с картофелем в Тверской области (ВНИИМЗ) изучали эффективность компоста на дерново-подзолистой легкосуглинистой почве. Согласно полученным данным, при внесении компоста прибавка урожая

картофеля по отношению к контролю без удобрений составила 54 ц/га, или 32%.

Таблица 18

Влияние биокомпоста на урожайность и качество томата

Варианты опыта	Урожайность, г/м ²	Прибавка		Содержание нитратов NO ₃ ⁻ , мг/кг
		г/м ²	%	
Контроль – без удобрений	2067	–	–	19
Биокомпост 25 г/растение	2289	222	11	23
Биокомпост 50 г/растение	2078	11	0,5	21
Биокомпост 75 г/растение	2042	0	0	23
Биокомпост 100 г/растение	3164	1097	53	23
Биокомпост 125 г/растение	2658	591	29	26

При сравнительном изучении эффективности традиционного органического удобрения – навоза и компоста, внесенных в эквивалентных по азоту количествах, в Подмосковье, по данным ВНИПТИХИМ и НИИ сельского хозяйства Центральных районов Нечерноземной зоны, было установлено преимущество компоста. Если 1 т навоза давала прибавку урожая зеленой массы кукурузы 1 ц, то 1 т компоста – 3,2 ц. Следует указать при этом, что доза компоста была в 5 раз меньше, что позволило снизить затраты на вывозку, погрузку и внесение удобрения, а также увеличить удобряемую площадь.

Положительные результаты при использовании компоста «Биоформ» получены при выращивании овощных культур. В результате проведенных исследований было установлено, что компост оказывает положительное влияние на урожайность испытываемых культур (табл. 18, 19).

Оптимальные дозы компоста в данном эксперименте под томат и огурец при локальном внесении составляли на уровне 100 – 125 г в расчете на одно растение.

Возрастающие дозы компоста вызывали некоторое увеличение содержания нитратов в продукции, однако, даже при максимальных дозах удобрения их концентрация не превышала допустимых уровней.

Таблица 19

Влияние биокомпоста на урожайность и качество огурца

Варианты опыта	Урожайность, г/м ²	Прибавка		Содержание нитратов NO ₃ ⁻ , мг/кг
		г/м ²	%	
Контроль – без удобрений	2583	–	–	47
Биокомпост 25 г/растение	3550	967	37	75
Биокомпост 50 г/растение	3767	1184	46	79
Биокомпост 75 г/растение	3783	1200	46	99
Биокомпост 100 г/растение	4817	2234	87	114
Биокомпост 125 г/растение	5367	2784	108	143

Таблица 20

Влияние биокомпоста на накопление биомассы салата и содержание в ней нитратов

Варианты опыта	Биомасса салата, г	Прибавка		Содержание нитратов, мг/кг сырой массы
		Масса, г	%	
Контроль – без удобрений	730	–	–	540
Биокомпост 0,5 кг/м ²	1280	550	75	329
Биокомпост 1,0 кг/м ²	1575	846	116	214
Биокомпост 1,5 кг/м ²	1580	850	116	220
Биокомпост 2,0 кг/м ²	1601	871	119	266

При испытании компоста под картофель эффективной была доза при локальном внесении – 200 г/растение, при сплошном (разбросном) внесении с последующим перемешиванием с почвой – 1 кг/м². При применении компоста под столовую свеклу сплошным способом с последующей заделкой в почву его оптимальная доза составила 500 кг/м².

Исследования с рассадой томата показали, что наиболее эффективным оказалось использование компоста в составе грунта при соотношении компост/грунт, равном 1:10.

Положительные результаты по действию компоста получены при выращивании салата. Исследования проводили в вегетационном опыте при постоянном режиме температуры (24°C) и влажности воздуха (60%). Световой режим в течение 10 ч поддерживали с помощью ртутной лампы, остальное время суток растения выращивались при естественном освещении. В опыте использовалась дерново-подзолистая почва. Дозы компоста, содержащего 55% органического вещества, 1,5% общего азота, 1,5% фосфора, 1,4% калия, составляли от 0,5 до 2 кг/м².

Таблица 21

Урожайность редиса в зависимости от возрастающих доз биокомпоста

Варианты опыта	Масса корнеплодов, г	Прибавка		Содержание нитратов, мг/кг сырой массы
		Масса, г	%	
Контроль – без удобрений	71,8	–	–	620
Биокомпост 0,5 кг/м ²	85,9	14,1	20	403
Биокомпост 1,0 кг/м ²	91,7	19,9	28	374
Биокомпост 2,0 кг/м ²	95,6	23,8	33	430
Биокомпост 5,0 кг/м ²	97,4	25,6	36	487
Биокомпост 10,0 кг/м ²	98,1	26,3	37	507

Исследования показали (табл. 20), что с ростом доз компоста увеличивалась биомасса салата, причем заметный ее прирост (116% по отношению к контролю) наблюдался уже при дозе 1 кг/м².

При испытании компоста в качестве удобрения под редис (табл. 21) в микрополевым опыте на дерново-подзолистой почве в Московской области было установлено, что с возрастанием его дозы повышалась урожайность корнеплодов редиса. Однако наибольшие темпы роста урожайности отмечались до дозы 2 кг/м².

В вариантах первых трех доз биокомпоста – от 0,5 до 2 кг/м² прибавки урожая редиса составляли от 20 до 33%. Дальнейшее повышение

доз компоста – до 5 – 10 кг/м² не привело к существенному увеличению урожайности.

Экологическая оценка действия компоста на качество продукции

При оценке качества растительной продукции, наряду с содержанием важных для организма человека питательных веществ и витаминов, учитывается концентрация в ней таких ограничительных показателей, как нитраты и тяжелые металлы.

Исследования ВИУА показали, что возрастающие дозы компоста с 25 до 125 г/растение при внесении под огурцы повышали содержание нитратов в плодах с 47 до 143 мг/кг сырой массы, т.е. в 3 раза (табл. 19). При этом увеличение концентрации нитратов в продукции не было адекватным повышению доз компоста. При внесении оптимальной в данном опыте дозы компоста 100 г/растение содержание нитратов в плодах было ниже гигиенических нормативов качества и безопасности продовольственного сырья (400 мг/кг). В томатах при удобрении компостом (табл. 20) содержание нитратов было значительно ниже гигиенических нормативов, соответствующих для защищенного грунта 300 мг/кг.

Результаты исследований с другими овощными культурами также свидетельствуют о снижении концентрации нитратов в продукции при внесении компоста по отношению к неудобренным растениям. Отмечается и снижение содержания нитратов в культурах, удобренных компостом, по сравнению с культурами, выращиваемыми при внесении минеральных удобрений в эквивалентных дозах.

Важно также указать, что компост в отличие от исходного сырья (птичьего помета) позволяет получать растительную продукцию с более низкой концентрацией нитратов.

Оценка действия компоста на содержание тяжелых металлов в продукции проводилась при выращивании культур огурца и томата (табл. 22).

Исследования показали, что внесение компоста в возрастающих дозах оказало неоднозначное влияние на концентрацию тяжелых металлов в овощах. При внесении оптимальных доз компоста по сравнению с неудобренным контролем в плодах огурца и томата снижалось содержание цинка, никеля и хрома. В целом содержание тяжелых металлов в овощах не выходило за пределы гигиенических нормативов, причем по цинку и меди оно было на порядок ниже допустимых значений.

Обобщение результатов научных исследований по агроэкологической оценке компоста показывает, что он является высокоценным и экологически безопасным органическим удобрением. Содержит в своем составе необходимые для растений макроэлементы.

Таблица 22

Влияние биокомпоста на содержание тяжелых металлов в овощах
натуральной влажности, мг/кг

Доза биокомпоста	Кадмий	Цинк	Никель	Медь	Хром
Огурец					
Контроль	0,02	1,7	0,1	0,4	0,09
Биокомпост 25 г/растение	0,02	1,5	0,1	0,4	0,08
Биокомпост 50 г/растение	0,015	1,5	0,1	0,3	0,07
Биокомпост 70 г/растение	0,03	1,6	0,1	0,4	0,09
Биокомпост 100 г/растение	0,02	1,6	0,1	0,4	0,07
Биокомпост 125 г/растение	0,02	1,4	0,1	0,3	0,08
Томат					
Контроль	0,02	0,9	0,1	0,3	0,06
Биокомпост 25 г/растение	0,02	0,8	0,1	0,3	0,05
Биокомпост 50 г/растение	0,02	0,7	0,1	0,3	0,07
Биокомпост 70 г/растение	0,02	0,8	0,1	0,3	0,05
Биокомпост 100 г/растение	0,02	0,8	0,1	0,3	0,05
Биокомпост 125 г/растение	0,02	0,8	0,1	0,3	0,06
Гигиенические нормативы	0,03	10,0		5,0	

С каждой тонной компоста вносится 38 – 40 кг NPK. Значительная часть питательных веществ компоста представлена подвижными формами, что отличает его от других органических удобрений, в частности от сапропеля, содержащего доступного азота и фосфора меньше в 2 – 3 раза. Компост содержит также медь, цинк, кобальт, другие необходимые для растений микроэлементы.

Таблица 23

Возможный состав почвенных смесей для защищенного грунта

Ва- риант смеси	Соотношение компонентов по объему, %					
	Дерновая, суглинистая или супесчаная почва	Пере- гной или био- компост	Полевая сугли- нистая или супесча- ная почва	Торф	Незара- женная почва из теплиц	Квар- цевый песок
Для выращивания огурца						
1	65 – 75	35 – 25	–	–	–	–
2	60	35	–	–	–	5
3	70	25	–	–	–	5
4	–	30	50	20	–	–
5	–	20	80	–	–	–
6	–	20	30	50	–	–
7	–	40	40	20	–	–
Для выращивания томата, перца, баклажана						
1	70	20	–	–	–	10
2	–	30	50	20	–	–
3	–	20	70	–	–	10
4	–	20	80	–	–	–
5	–	30	40	20	–	10
Для выращивания зеленых растений						
1	40	60	–	–	–	–
2	40	40	–	20	–	–
3	–	60	40	–	–	–

В то же время содержание тяжелых металлов в компосте невысокое, не превышает допустимых значений для почв. Компост положительно характеризуется и с санитарной стороны, т.к. не содержит жизнеспособных семян сорняков, гельминтов и патогенной микрофлоры. При внесении в почву или грунт компоста в оптимальных дозах улучшаются их агрохимические и биологические свойства, повышается урожайность и качество овощных культур. Получаемая при этом растительная продукция содержит меньше нитратов по сравнению с сырым птичьим пометом и минеральными удобрениями.

Рекомендации по практическому применению компоста под овощные культуры

В защищенном грунте выращивают свыше 20 овощных культур, среди которых по площади и валовому сбору преобладают огурец, томат, зеленый лук. В последнее время получают распространение перец и баклажан. Кроме того, в защищенном грунте выращивают рассаду различных овощных культур. При эксплуатации тепличных грунтов характерно их бессменное использование, которое возможно, наряду с ежегодной дезинфекцией (пропариванием), при научно обоснованном применении удобрений.

К грунтам в тепличном овощеводстве предъявляются повышенные требования. Наиболее благоприятные свойства для выращивания овощных культур имеют грунты, состоящие из смеси торфа (20 – 40%) с легкими почвами (20 – 30% и более) и органической составляющей – перегноем, компостом, компостом (от 10 до 30% объема). Возможный состав смесей для защищенного грунта приведен в табл. 23.

Введение в грунты органических компонентов в виде торфа, компоста, перегноя и др. улучшает многие их свойства: влагоемкость, воздухопроницаемость, содержание питательных веществ, поглонительную способность, структуру.

Оптимальное содержание органического вещества в грунте составляет для огурца 20 – 30%, для томата и перца 10 – 20%. При длительном использовании тепличные грунты уплотняются, ухудшаются их физические и агрохимические свойства. В частности падает содержание органического вещества, ежегодная убыль которого достигает 15% и более от общего содержания.

Система удобрения овощных культур включает основное удобрение перед посадкой и подкормки в период вегетации.

Расчет доз удобрений под культуру проводят исходя из выноса элементов питания планируемым урожаем данной культуры с учетом коэффициентов использования этих элементов из вносимых удобрений, а также их запаса в тепличном грунте.

В табл. 24 приведен вынос элементов питания овощными культурами.

Таблица 24

Вынос элементов питания овощными культурами, г/кг продукции

Культура	N	P	K
Огурец	1,4	0,37	2,2
Томат	3,2	0,4	5,2
Перец	4,0	0,6	4,7
Салат кочанный	2,3	0,3	3,3
Редис	3,3	0,7	4,0

При основном внесении доз удобрений, рассчитанных в зависимости от уровня обеспеченности грунта элементами питания растений, можно ориентироваться на данные табл. 25.

Исходя из имеющегося опыта в тепличном овощеводстве, оптимальный запас водорастворимых элементов питания на площади 1 м² в слое 0 – 30 см составляет N – 40 г, K₂O – 60 г, P₂O₅ – 9 г.

Приведенные в табл. 16 дозы удобрений действительны для грунтов 5 – 7 летнего срока использования. Для свежих грунтов дозы увеличивают на 30 – 50%, а для старых – уменьшают на 25 – 40%.

Подкормки удобрениями начинают при выращивании огурца через 4 недели, томата и перца – через 5 – 6 нед после посадки рассады. В подкормку вносят азотные, калийные, реже фосфорные удобрения и микроэлементы. Целесообразно также внесение в подкормку компоста, обеспечивающего растения азотом, фосфором, микроэлементами.

Таблица 25

Дозы удобрений для основного внесения, кг/га действующего вещества

Уровень обеспеченности тепличного грунта питательными веществами	N	P ₂ O ₅	K ₂ O
Огурец			
Низкий	110 – 160	350 – 500	180 – 270
Нормальный	0 – 60	0 – 200	0 – 80
Повышенный	0	0	0
Томат			
Низкий	120 – 170	350 – 500	320 – 450
Нормальный	30 – 80	0 – 200	60 – 200
Повышенный	0 – 3	0	0 – 60
Салат			
Низкий	40 – 120	350 – 500	100 – 130
Нормальный	0 – 40	0 – 200	0 – 40
Повышенный	0	0	0

Необходимо учитывать, что на режим питания растений влияет освещенность. При солнечной погоде растения поглощают больше азота и меньше калия, в пасмурные дни – наоборот. Поэтому в разные периоды роста и развития растений в течение вегетации изменяют соотношение азота к калию. Так, для огурца оно составляет в феврале-марте 1:2, позднее 1:1, для томата – в апреле 1:2, начиная с мая 1:1.

Применение подкормок удобрениями при выращивании овощных культур заканчивается за 2 – 4 нед до окончания сбора урожая.

При выращивании рассады огурца, которое производится, как правило, горшечным способом без пикировки, подкормку проводят в 1 –

2 приема из расчета (в г на 10 л воды) аммиачной селитры – 10, суперфосфата – 30, сульфата калия – 15, сульфата магния – 5, борной кислоты – 2, перманганата калия – 1. Для оптимизации минерального питания рассады важно проводить поливы, поддерживая относительную влажность воздуха 70 – 80%. Стандартная рассада должна иметь 2 – 3 настоящих листа и хорошо сохранившийся горшочек.

При выращивании рассады томата относительную влажность воздуха поддерживают на уровне 50 – 60%, что достигается умеренным поливом. Грунты для томата должны быть плодородные, но более легкого гранулометрического состава, для чего требуется введение рыхлящих добавок – торфа, компоста, песка, измельченной соломы. Характерной особенностью растений томата является их слабая способность поглощать фосфор, поэтому важное значение имеют подкормки фосфорными удобрениями. С учетом этой особенности при приготовлении грунта под томаты, наряду с органическими компонентами – торфом, компостом или перегноем, в грунт также вводят суперфосфат – 5% по массе.

Рекомендуемые дозы компоста с учетом результатов проведенных исследований составляют при высадке рассады огурца локально 100 – 200 г под растение, рассады томата, сладкого перца и баклажана 150 – 200 г под растение с обязательным смешиванием компоста в лунке с грунтом.

При выращивании зеленых культур эффективные дозы компоста колеблются от 0,5 до 2 кг на 1 м².

Для создания рассадных грунтов компост целесообразно применять из расчета 5 – 10% к общей их массе при необходимости с добавлением песка в количестве 5% и более в зависимости от гранулометрического состава.

При подкормке овощных культур дозы компоста составляют от 200 до 400 г/м². обязательным условием при этом является смешивание внесенного удобрения с верхним слоем грунта при рыхлении.

Подкормка компостом может проводиться при разбавлении его водой (в соотношении 1 кг удобрения на 25 – 50 л воды) после настаивания в течение 2 – 3 суток.

С учетом того, что эффективность действия компоста повышается от сочетания его с минеральными удобрениями, целесообразны вегетационные подкормки минеральным азотом и калием 2,5 – 5 г на 1 м².

Для удлинения сроков эксплуатации тепличных грунтов в качестве улучшителя компост применяют в количестве 15 кг на 1 м². Следует иметь в виду, что внесение доз компоста меньше рекомендуемых может снижать урожайность овощных культур без ухудшения их качества. Превышение рекомендуемых доз компоста может сопровождаться ростом урожайности культур, однако при этом не исключено ухудшение их потребительских свойств: увеличение содержания нитратов, некоторых тяжелых металлов –

кадмия, меди и др. При избыточном внесении удобрений возможно некоторое ухудшение вкусовых свойств плодов, в т.ч. снижение их сахаристости.

Таким образом, на основании приведенных примеров можно прийти к заключению о том, что процесс аэробной переработки органических отходов является сложным, многостадийным процессом, в котором участвуют, как сами микроорганизмы или беспозвоночные животные, так и продукты их жизнедеятельности. Эффективность проведения этого процесса зависит от многих факторов, важнейшими из которых являются:

- выбор самих органических отходов, предназначенных для последующей деструкции;
- соотношение углерода к азоту в выбранном сырье;
- активность микроорганизмов и беспозвоночных, принимающих участие в этом процессе;
- условия для их роста и размножения;
- температура, аэрация, содержание влаги и значение pH в компостируемых отходах;
- стабильность полученного компоста при хранении;
- химический состав и структура компоста.

Эти, далеко не полные показатели, лишний раз убеждают нас в необходимости отношения к процессу компостирования со всей серьезностью, присущей проведению любого микробиологического и биохимического процесса.

Список литературы

1. Неклюдов А.Д. Иванкин А.Н. Экологические основы производств: Взаимосвязь экологии, химии и биотехнологии. –М.: МГУЛ, 2003. – С.263–359.
2. Lopez M.J., Elorrieta M.A., Vargas-Garcia M.C., Suares-Estrela F., Moreno J.//Bioresour. Technol. – 2002.– V. 81.– N1.– 123-129.
3. Guanzon Y., Holmer R.J.//Proc. National Eco-Waste Multisectoral Conference and Fair at Pryce Plaza Hotel, Cagayan de Oro City, Philippines, 16–18 July, 2003.– P. 178–184.
4. Mohaibes M., Heinonen-Tanski H.//Bioresour. Technol.– 2004.– V.95.– N3.– P.245–254.
5. Mohaibes M., Heinonen-Tanski H.//Bioresour. Technol.– 2004.– V. 95. N3.– P. 245–254.
6. Cgaul P.J., Swizenbaum M.S.// BioCycle.– 1996.– V.37.– N12.– P.44–47.
7. Kitano M., Miyamoto S., Kurado K.// Annu. Rep. Osaka City Inst. Public Health Environ. Sci. –1996.– P.581–586. //Chem. Abstr. –1997.– 126.– 161618.

8. *Maeir-Stolle G.*//Патент международного общества прикладных исследований (PCT Int. Appl. WO.) № 9502565.–1995.– Cl CO5D9/00.// Chem. Abstr. –1995. –122.– 186452.
9. *Shiralipour A., McConnoll D.B., Smith W.H.*// Biomass Bioenergy.– 1992.– V.3.–N3–4.– P.262–6.// Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 58704.
10. *Wong J.W.C., Fang M., Li G.X., Wong M.H.*// Environ. Technol.– 1997.– V.18.– N5.– P.563–568.
11. *Kirchmann H., Wider P.*// Swed. J. Agric. Rec.– 1994.– V.24.–N1.– P.3–12.
12. *Shiralipour A., McConnoll D.B., Smith W.H.* // Biomass Bioenergy.– 1992.– V.3.– N3–4.– P. 262–6. //Chem. Abstr.– 1993.– 118.– 58704.
13. *Allievi L., Marehescini A., Solard C.*// Bioresour. Technol. –1993.– V.43.– N1. – P. 85–89.
14. *Madejon E., Diaz M., Lopez R., Murillo J.M., Cabrella F.*// Fresenius Environ. Bull.– 1995.– V. 4. –N4. P.232–237.
15. *Zbytniewski R., Buszewski B.*//Bioresour. Technol.–2005.– V96.– N4.– P.471–478.
16. *Zbytniewski R., Buszewski B.*//Bioresour. Technol. –2005.– V.96.– N4.– P.479–484.
17. *Hiura K, Maeda T.*// Патент Японии № 0702589.–1995.– Cl C05611/08. //Chem. Abstr.– 1995.– 122.– 273246.
18. *Beffa T., Blanc M., Agarno M.*// Arch. Microbiol. –1996.– V.165.–N1.– P.34–40.
19. *Nagai Y., Hanayama Y., Oosumi K.*// Патент Японии № 0925188.– 1997.– Cl C05F9/02. //Chem. Abstr. –1997.– 126.– 203359.
20. *Nakasoki K., Ohtaki A.*// Konkyo Gijutsu.– 1997.– V.26.– N3.– P.195–201.//Chem. Abstr. –1997.– 126.– 333834.
21. *Moshida K.*// Патент Японии № 09188585.–1997.– Cl C05F17/00. //Chem. Abstr. –1997.– 127.– 135287.
22. *Hotta M.*//Патент Японии № 1000448.–1998.– Cl B09B3/00. //Chem. Abstr. –1998.– 128.– 131935.
23. *Okabe K., Okabe M.*//Патент Японии №11255572.–1999.– Cl C05F11/08. //Chem. Abstr. –1999.– 131.– 213661.
24. *Tiquia S.M., Tam N.F.Y.*//Environ. Pollut. –1998.– V.99. –N3. –P.329–337.
25. *Ono K., Yamanaka N., Watanabe K.*//Международный патент № 9911759.–1999.– Cl C12N1/20. //Chem. Abstr. –1999.– 130.– 194227.
26. *Ararwai R., Gangwar M., Sodhi H.S.*//Indian J. Ecol. –1997.– V.24.– N2. P.157–164.
27. *Kowalchuk G.A., Naumenko Z.S., Darikx P.J.L., Felske A., Stephen J.R., Arkhipenko I.A.*//Appl. Environ. Microbiol. –1999.–V. 65.– N2.– P.396–403.

28. *Hassen A., Belguith K., Jedidi A., Cherif M., Boudabous A.*// Bioresour. Technol. –2001.– V.80.– N3.– P.217–225.
29. *Ozaki K., Yamada Y., Tagawa K.*// Патент Японии № 08157285.–1996.– Cl C05F5/00. //Chem. Abstr. –1996.– 125.– 176513.
30. *Atkinson C.F., Jones D.D., Gauthier B.*// World J. Microbiol. Biotechnol. –1997.– V.13. –N5. –P.519–525.
31. *Arai K., Nakasaki K.*//Патент Японии № 11346761.– 1999.– Cl C12N1/16. //Chem. Abstr. –2000.– 132.– 19971.
32. *Van Heerden I., Cronje C., Swart S.H., Kotze J.M.*//Bioresour. Technol. 2002.– V.81.–N1. –P. 71–76.
33. *Singh A., Satyawati S.*//Bioresour. Technol. –2002.– V.85.– N2.–P. 107–111.
34. *Molla A.H., Fakhru-Razi A., Abd-Aziz S., Hanafi M.M., Roychoudhury P.K., Akan M.Z.*//Bioresour. Technol. –2002.– V.85.–N3.– P. 263–272.
35. *Piontek M., Loc N.T.B.*//Acta Microbiol. Pol. –2000.–V. 49.–N1.– P.83–89.
36. *Charest M.H., Antoun H., Beauchamp C.J.*//Bioresour. Tecnol. – 2004.– V. 91.– N1.– P. 53–57.
37. *Timofeeva S.S., Medvedeva S.A., Volchatova I.V., Simenov V.*//Toxicol. Environ. Chem. –1999.– V.71.– N1–2.– P.95–103.
38. *Motoda K.*//Патент Японии № 11300327.–1999.– Cl B09B3/00.// Chem. Abstr. –1999.– 131.– 313844.
39. *Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н.* // Прикладн. биохим. и микробиол. – 2006. –Т.42.–N6. – С. 519–525.
40. *Рабинович М.Л., Болобова А.В., Кондращенко В.И.* Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Древесина и разрушающие грибы. – М.: Наука, 2001.– 263 с.
41. *Болобова А.В., Аскадский А.А., Кондращенко В.И., Рабинович М.Л.* Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Ферменты, модели, процессы. –М.: Наука, 2002.–343 с.
42. *Katzner H.J.* Biotechnology (2-nd Ed) /Eds: Klein J., Winter J.– Weinheim. Germany: Wirley-VCH. Verlag CmbH, 2000.– P. 35–100. //Chem. Abstr. –2000.– 133.– 78420.
43. *Piontek M., Loc N.T.B.*//Acta Microbiol. Pol. –2000. –V.49. –N1. – P.83–89.
44. *Rad J.C., Navarro-Gonzales M., Gonzales-Carcedo J.*// Geomicrobiol.– 1995.– V.13.– N1.– P.45–46.
45. *Kim Y.K., Bae J.H., Oh B.K., Lee W.H., Choi J.W.*//Bioresour. Technol. –2002.– V.82. –N2. – P.157–164.
46. *Rad J.C., Navarro-Gonzalez M., Gonzalez-Carudo S.* Eff. Miner.- Org. – Microorg. Interact. Soil Freshwater Environ., [Proc. Int. Symp.] 2 nd 1996, Ed: Berthekin J.– N.Y., Kluwer Academic/Plenum. Publisher, 1999. – P.349–359.

47. *Ball A.S., Jackson A.M.* // Bioresour Technol. –1995.– V.54.– № 3.– P.311–314.
48. *Bernhardt H.W., Notcutt P.* // Proc. Annu. Congr. S. Afr. Sugar Technol. Assoc.– 1993.– N67.– P.185–187// Chem. Abstr.– 1994.– 120.– 269089m.
49. *Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н.* Биологически активные соединения из природных объектов. Свойства и структурно-функциональные взаимосвязи. – М.:МГУЛ, 2003.– С.143–203.
50. *Diaz-Burgos M.A., Ceccanti B., Polo A.* // Fertil Soil.– 1993.– V.16.–N2.– P.145–150.
51. *Schwab B.S., Ritchie C.J., Kain D.J., Dobrin G.Ch., Christ L.W., Palmisano A.C.* // Waste Manage Res.– 1994.– V.12.– N4. – P. 289–303.
52. *Agamuthu P., Cheoug L.C., Yasan S., Praven V.V.* // Environ. Technol. – 2000.– V.21.– N2.– P.185–192.
53. *Haenninen K., Mikki V., Kovalainen J.* // Fresenius Environ. Bull.– 1995. – V.4.– N9. –P.570–575.
54. *Zbytniewski R., Buszewski B.* //Bioresour. Technol. –2005.– V.96.– N4.– P.471–478.
55. *Wong J.W.C., Fang M., Li G.X., Wong M.H.* // Environ.Technol. –1997.– V.18.–N5. –P. 563–568.
56. *Hieda M.* //Патент Японии № 11147781.–1999.– Cl C05F3/00.// Chem. Abstr. –1999.– 130.– 365568.
57. *Kim J.Y., Park J.K., Emmons B., Armstrong D.E.* // Water Environ Res., 1995.– V. 67. –N7.– P.1044–1051.
58. *Haenninen K., Mikki V., Kovalainen J.* // Fresenius Environ. Bull.– 1995.– V.4. –N9.– P. 570–575.
59. *Volkner G.* // Umwelt.– 1996.–V. 26.– N3. –P. 47.
60. *Arantes D.R., Desse B.* // Патент Бразилии № 9402329.–1996. – Cl C02F/26. //Chem. Abstr. –1996.– 125.– 203722.
61. *Ishida M., Saito S.* // Патент Японии № 07126092.–1995. –Cl C05F17/00. //Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 152022.
62. *Hieda M.* //Патент Японии № 06-199586.–1994.– Cl C05F7/00.
63. *Kanitz J., Nettelbbeker U.* //Международный патент № 9944945.– 1999.– Cl C02F1/44. //Chem. Abstr. –1999.– 131.– 204116.
64. *Ono O., Sadakata T., Yamada J., Fujita K., Tanaka K.* //Патент Японии № 09249496 .–1997. –Cl C05F9/04.// Chem. Abstr. –1997.– 127.– 322449.
65. *Hagashi E., Morita T., Obara M., Inoe T.* // Патент Японии, № 06199586.– 1994.– Cl C05F7/00. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 307604.
66. *Fukuchi H., Tada A.* //Патент Японии № 200084593. –2000. – Cl C02F11/02. //Chem. Abstr. –2000.– 132.– 236494.
67. *Shin Y.S., Hwang E.J., Park B.S., Sakai T.* //Environ. Technol. – 1999.– V.20. – N3. –P. 283–300.
68. Патент Республики Корея № 9700590.–1997. –Cl C12N1/20. //Chem. Abstr. –2000.– 133.– 154839.

69. *Ishiyama M., Takahashi M., Sato H.*//Патент Японии № 2000119085. – Cl C05F11/08. //Chem. Abstr. –2000.– 132.– 218095.
70. *Hakmung T.*// Патент Японии № 09155323.–1997. –Cl B09B3/00. //Chem. Abstr. –1997.– 127.– 152549.
71. *Matsumoto T., Ichi M., Tsukagoshi T.*// Патент Японии № 08188481.–1996. –Cl C05F9/04. //Chem. Abstr. –1996.– 125.– 220618.
72. *Mizushima M., Moriyama Y.*//Патент Японии № 11347524. – Cl B09B3/00. //Chem. Abstr. –2000.– 132.– 54310.
73. *Oda K., Takagi S., Ishida D., Taei K.*// Патент Японии № 08224564.– 1996. –Cl B09B3/00. //Chem. Abstr. –1996.– 125.– 338187.
74. *Motoda K.*//Патент Японии № 11300327.–1999.– Cl B09B3/00. //Chem. Abstr. –1999.– 131.– 313844.
75. *Arai K., Nakasaki K.*//Патент Японии № 11346761.–1999.– C12N1/16. //Chem. Abstr. –2000.– 132.– 19971.
76. *Ono O., Sadakata T., Yamada J., Fujita K., Tanaka K.*// Патент Японии № 09249496.–1997. –Cl C05F9/04.// Chem. Abstr. –1997.– 127.– 322449.
77. *Hagashi E., Morita T., Obara M., Inoe T.* // Патент Японии № 06199586. –1994.– Cl C05F7/00. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 307604f.
78. *Ishida M., Saito S., Shindo Y., Kitahara S.* // Патент Японии № 06199587.–1994.– Cl C05F9/04. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 307606h.
79. *Nagai Y., Hanayama Y., Oosumi K.*// Патент Японии № 0925188.– 1997.– Cl C05F9/02. //Chem. Abstr. –1997.– 126.– 203359.
80. *Nakasoki K., Ohtaki A.*// Konkyo Gijutsu.–1997.– V.26. – N3. – P.195–201.//Chem. Abstr. –1997.– 126.– 333834.
81. *Requena N., Baca T.M., Azcon R.*// Biol. Fertil. Soils.– 1997.– V.24. N 1.– P.59–65.
82. *Moundini C., Sanchez-Monedero A., Leita L., Bragato G., De Nobili M.*// Commun. Soil Sci. Plant Anal. –1997.– V.28. – N1–2.– P.113–122.
83. *Dell'Abate M.T., Benedetti A., Sequi P.*//J. Therm. Anal. Calorim. –2000.– V.61. – N2. – P.389–398.
84. *Zaied H., Van den Wegh H.*//Muel Abfall.– 2000.– V.32. –N8.– P.464–468.
85. *Domeizel M., Khalil A., Prudent P.*//Bioresour. Technol. –2004.– V.94.– N2. –P.177–184.
86. Заключительный отчет НИИ удобрений и агропочвоведения им. Д.И. Прянишникова. –2003. //По материалам www.biofort.ru.

РАЗДЕЛ 4

ЗЕМЛЯНЫЕ ЧЕРВИ И ВЕРМИКОМПОСТИРОВАНИЕ

Земляными червями называется семейство крупных почвенных малощетинковых червей Люмбрицида (*Lubricidae*), которые

филогенетически относятся к классу малощетинковых червей (Олигохета, *Oligochaeta*), подтипу поясковых (Клиттелата, *Clitellata*), типу кольчатых червей (Аннелида, *Annelida*). Они являются крупными почвенными беспозвоночными животными, самыми древними и многочисленными на Земле. Только на территории России их насчитывается около 100 видов. Их деятельностью создавались и создаются почвы. Питаются черви мертвыми разлагающимися растительными тканями, поступающими в почву в виде опада, корневых и пожнивных остатков [1–3].

Известно, что ежегодно на земле образуется около 230 млрд. т сухих органических веществ (листьев, стеблей, плодов, ягод, корнеплодов и т.д.), содержащих все необходимые пищевые компоненты (белки, жиры, углеводы, минеральные соли, витамины, ферменты, биологически активные вещества). Вся эта растительная органическая масса попадает в почву и достается микроорганизмам и почвенным животным, тогда как на долю людей и наземных животных из этого количества остается не более 10% [4, 5].

Следует также упомянуть о навозе скота и помете птиц – огромном источнике органических соединений. Коровы, овцы, свиньи, домашние птицы используют лишь 25...50% питательных веществ, заключенных в потребляемом корме. Остальное количество выводится из их организма с экскрементами. Так, в навозе крупного рогатого скота из использованных кормов содержится 40...50% органических питательных веществ, 80...90% азота, 70...80% фосфора, 95...98% калия, 70...85% кальция [6].

Каждая тонна сухого навоза содержит 800 кг клетчатки, 94 кг сырого протеина и 91 кг легкоусвояемых углеводов, жиров, витаминов, ферментов, минеральных веществ с полным набором элементов питания необходимых для растений [7–9].

В естественных условиях обитания видовой состав и численность земляных червей зависят от типа почвы. На пастбищах в суглинках, легких суглинистых и супесчаных почвах численность их бывает максимальной и составляет до 450 особей на 1 м², в глинистых значительно меньше – до 230 и в кислых наименьшей – 25 особей на 1 м².

В зависимости от слоев почвы, где наиболее широко обитают те или другие земляные черви, они носят названия эпигенных (*epigenic*), эндогенных (*endogenic*) и анесисогенных (*anecic*) червей. Эпигенные черви обычно обитают в поверхностных слоях почвы и питаются, главным образом, растительными отходами. К ним относятся черви рода *Eisenia sp.* и др. Эндогенные виды земляных червей обитают в более низких слоях почвы в разветвленных норах.

Эти виды червей пропускают через свой кишечник большие количества почвы, обеспечивая ее большим количеством органических соединений. Основными источниками питания таких видов червей являются корни умерших растений, но они могут также питаться и поверхностными растительными отходами. Анесисогенные черви строят долговременные вертикальные норы, которые проникают глубоко в почву. Эти типы червей обычно выползают ночью на поверхность почвы в поисках пищи, в качестве которой может быть навоз сельскохозяйственных животных или опавшие листья. К ним относятся черви рода *Lumbricus* sp. и *Aporrectoderma* sp. [5].

Земляные черви очень плодовиты. Каждая половозрелая особь, например, навозных червей, откладывает за летний период по 18...24 кокона. В каждом коконе находится от 1 до 21 яйца. Через 2...3 недели из яиц появляются новые особи, а еще через 7...12 недель "новорожденные" черви уже сами способны приносить потомство. Взрослые особи живут 10...15 лет, длина их составляет от нескольких до десятков сантиметров, а масса – до десятка граммов. Молодые особи по достижении половой зрелости весят до 1 г [4].

Часть 7

ИДЕНТИФИКАЦИЯ И ВЫДЕЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ИЗ ЗЕМЛЯНЫХ ЧЕРВЕЙ

В последнее время внимание исследователей все больше привлекают земляные черви, являющиеся не только инструментами переработки органических отходов и получения вермикомпостов [1, 2], но и основой для идентификации и получения ценных биологически активных соединений. Среди последних, прежде всего, привлекают внимание ферменты беспозвоночных, которые в ряде случаев оказываются более активными биокатализаторами, чем ферменты, полученные из животных и микробных объектов.

Земляные черви в качестве источника получения различных биологически активных веществ, например, биологически активных пептидов, белков, ферментов и полиненасыщенных жирных кислот, стали применяться сравнительно недавно. Однако, учитывая перспективность подобного направления исследований и возможность получения ценных биологически активных соединений, эти исследования, на наш взгляд, получили в настоящее время не только научную, но и практическую значимость.

Глава 20

Биологически активные пептиды и белки из земляных червей

При помощи иммунологических методов было обнаружено наличие в кишечной ткани земляного червя *Lumbricus terrestris* гастриноподобных пептидов. Сделан вывод, что в кишечнике этого земляного червя может содержаться гастрин или ему подобные пептиды [10].

Из клеток и жидкости брюшной полости земляных червей различных видов, в том числе и *Eisenia fetida* (*foetida*), были выделены биологически активные пептиды, близкие по своим свойствам к синтетическим энкефалинам, которые могут быть использованы на практике [11]. В дальнейшем было показано, что из червей того же рода может быть выделен биологически активный олигопептид, родственник вазопрессин-окситоцину, названный **аннотацин** со следующей структурой цикла 1 – 6: Cys – Phe – Val – Arg – Asp – Cys – Pro – Thr – Gly – NH₂. Аннотацин вызывает не только спонтанные сокращения кишечника, но также оказывает влияние на почечную систему и мочевого пузыря [12].

Описание выделения из земляного червя *Eisenia foetida* аннотацина приведено в работе [13]. Расшифровано строение гена этого пептида и структура предшественника аннотацина – **проаннотацина**, 37,4 – 45,8% аминокислот которого гомологичны другим прогормонам этого типа. Установлено, что экспрессия аннотацина происходит исключительно в нейрогенных участках ЦНС и, скорее всего, включается в регуляцию репродуктивности земляных червей этого рода. Полученные данные свидетельствуют о том, что аннотацин принадлежит к семейству пептидов, родственных вазопрессин-окситоцину.

Семь белково-пептидных фракций были выделены из земляного червя *Eisenia foetida*, и был изучен их цитотоксический эффект (ингибирование синтеза ДНК и РНК) на ацидные опухолевые клетки Эрлиха, а также влияние на синтез белка в изолированных клетках хроматина хлопчатника. Установлено, что из 7 фракций 4 фракции ингибировали синтез ДНК и РНК в опухолевых клетках Эрлиха, и одна из фракций ингибировала синтез белка в хроматине хлопка [14].

В работе [15] показано, что коэлоциты (эритроциты) земляных червей могут образовывать прочные связи с рядом клеток злокачественных опухолей человека типа К 562, И 937, BSM, SEM. Были идентифицированы два вида клеток у земляных червей, способных образовывать связи с опухолевыми клетками человека: а) небольшие электронно-плотные клетки (8 – 11 мкм) CD 11a, 45RA⁺, CD249b⁺, CD54⁺, β₂-m и Thy-1 и б) большие электронно-прозрачные клетки (12 – 15 мкм). Оба типа клеток были способны узнавать опухолевые клетки человека, образовывать с ними перекрестную связь и умерщвлять их при 4, 20 и

37°C. Высказано предположение, что подобное противоопухолевое действие было уже заложено в ранней эволюции жизни.

Парентеральное введение антигенов земляным червям *Lumbricus terrestris* и *Eisenia fetida* вызывало у них образование антиген-связующих белков (антител). Антиген эффективно связывался в брюшных жидкостях червей обоих видов. Спустя 24 ч после введения, антиген обнаруживается во всех тканях червей, а спустя 4 дня – в тканях вокруг желудочного тракта и в дорсальной вене [16].

Прямое введение белковых антигенов земляным червям *Lumbricus terrestris* и *Eisenia foetida* приводило к образованию в них антигенсвязывающих белков (АСБ) с максимальным их образованием через 4 – 8 дней. Высокая протеолитическая активность наблюдалась как в коэломоцитах, так и в коэломной жидкости, за счет быстрой деградации антигенов. Была изучена роль подобной протеолитической активности, вызванной введением белковых антигенов *in vitro*. Для этого интактный антиген так же, как его протеолитические фрагменты, были добавлены к культуре тканей. Образование АСБ наблюдалось с помощью метода ELISA, используя превращение в АСБ интактного антигена. В дальнейшем оказалось, что образование АСБ на интактный антиген полностью блокируется не токсичным ингибитором сериновой протеиназы, тогда как ответная реакция на небольшие фрагменты расщепленного антигена уменьшается в незначительной степени. Кинетика ответной реакции на интактный антиген также сильно отличалась от кинетики ответной реакции, вызванной его небольшими фрагментами с молекулярной массой менее 3 кД. Высказано предположение о том, что протеолитические процессы включаются в стимуляцию образования АСБ при введении интактного антигена [17].

Показано, что 40% цитолитической активности в коэломной жидкости у земляного червя *Eisenia foetida* составляет коэломный цитолитический фактор с молекулярной массой 42 кД, который присутствует в клетках коэломной полости, а также в свободных коэломоцитах [18].

Этот фактор, названный коэломным литическим фактором 1, обладает цитолитическим, опсониновым и фибринолитическим действием. Показано, что он является аналогом фактора G из червей *Limus polyphemus* и белком, связывающим грамотрицательные бактерии из *Bombux mori*, которые участвуют в защитном механизме беспозвоночных. Установлено, что фактор 1 эффективно связывает как β -1,3-гликан, так и липополисахариды. Кроме того, фактор 1 участвует в активации профенолоксидазы. Сделан вывод, что фактор 1 из земляного червя *Eisenia*

foetida играет роль протектора против микроорганизмов, патогенных для этого вида червя [19].

Новый белок, вызывающий сокращение полос аорты крыс и вызывающий смерть крыс при его внутривенном введении, был выделен из коэломной жидкости земляного червя *Eisentia foetida*. Он был очищен анионообменной хроматографией высокого давления и имел молекулярную массу 41 кД, определенную по электрофорезу с додецилсульфатом натрия. Сокращение полос аорты белок вызывал в концентрации 10^{-9} М. 6 концевых аминокислот, определенных в белке, свидетельствовали об отсутствии каких-либо подобий с белками, выделенными ранее, что позволило сделать заключение об обнаружении нового биологически активного белка, который был назван **ЛИЗИНИНОМ**. Кроме него, из того же объекта был выделен другой белок с молекулярной массой 42 кД, который был похож на лизинин, но отличался от него слабым сокращающим действием на полоски из аорты [20]. Иммунохимическим методом с помощью антисыворотки, полученной при иммунизации лизинином кроликов, было изучено распределение нового белка лизинина в земляных червях рода *Eisentia foetida* и *Paratima communissima*. Иммунные реакции были обнаружены только у червя *E. foetida*. У червей другого рода не наблюдалось никаких иммунных реакций ни в тканях, ни в коэломоцитах. Сделан вывод, что лизинин синтезируется и депонируется только в больших коэломоцитах червя рода *E. foetida* [21].

В работах [22, 23] описаны биологическое действие коэломной жидкости из земляного червя *Eisenia foetida* и свойства лизинина. Показано, что лизинин специфически связывается со сфингомиелином клеточных мембран и может быть использован для изучения его действия у земляных червей. Приведены данные аминокислотного состава лизинина и родственных ему белков, содержащихся в коэломной жидкости *E. foetida*, и смертельные дозы этого белка для сперматозоидов, позвоночных и беспозвоночных животных.

Из биологически активных экстрактов земляного червя *Eisenia foetida* был выделен полипептид со структурой, подобной иммуноглобулину, который был назван G-90/4. Установлено, что G-90/4 в нанограммовых концентрациях стимулировал пролиферацию клеток в существенно большей степени, чем обычный иммуноглобулин. В микрограммовых концентрациях G-90/4 вызывал лизис клеток. Сделан вывод, что G-90/4 действует как связующая молекула между рецепторами близко расположенных клеток. Увеличение пролиферационной активности сопровождалось выделением цитоплазматического белка, содержащего тирозин. Иммунный и гистохимический анализы показали наличие

иммуноглобулиновой трансмембранной структуры в соединительных и мышечных тканях *E. foetida* [24].

Установлено, что экстракты из земляных червей обладают противоопухолевой, анальгетической, жаропонижающей и антиопухолевой активностью, а также оказывают влияние на циркуляцию крови. Экстракт из земляного червя *Lumbricus rubellus* обладал также антикоагуляционным действием и полученный антикоагулянт являлся термо- и кислотно-стабильной молекулой с гидрофильными свойствами. Для того, чтобы изучить свойства этого антикоагулянта, он был подвергнут воздействию трипсина, дезоксинуклеазы, рибонуклеазы и лизоцима. Затем расщепленные образцы были проанализированы при помощи иммунологических и электрофоретических методов. Антикоагулянт при расщеплении ДНКазой давал относительно гомогенный фрагмент с размером молекулы, соответствующим 72 парам оснований. Активность антикоагулянта увеличивалась при обработке его трипсином. ДНКазы не увеличивали время действия этого коагулянта. Было высказано предположение, что фрагмент ДНК, выделенный из экстракта, может служить альтернативным антитромбиновым заменителем гепарина, который обладает побочным действием – усилением кровоточивости [25].

Способ выделения и очистки коэломного цитолитического фактора CCF-1, обладающего противоопухолевой активностью, из земляного червя *Eisenia foetida* с молекулярной массой 42 кД и пептид из этого фактора, содержащий 13 аминокислотных остатков (SGEIDIIETIGNR), описан в работе [26]. Фактор CCF-1 связан с липополисахаридом и β -1,3-глюканом и имеет также трипанолитическую активность. Оба эти соединения обладали противоопухолевым действием и рекомендованы для использования в противоопухолевой терапии.

Установлено, что парентеральное введение чужеродных белков земляным червям *Lumbricus terrestris* и *Eisenia foetida* приводит к значительному увеличению уровня антиген-связывающих белков. Земляные черви при их активации чужеродными белками активируют синтез различных белков, в числе которых имеются и антиген-связывающие белки. Появление этих белков приводит к появлению моноклональных антител для антигенов и связыванию всех этих белков в присутствии биотина. Молекулярные массы антиген-связывающих белков составляют 56 кД для *Lumbricus terrestris* и 60 кД для *Eisenia foetida* [27]. Описан процесс выделения и хроматографической очистки на фенил-сефарозе CL-4В и ДЕАЕ-анионообменнике двух кальций-связывающих белков: кальмодулина (I) и нового кальций-связывающего белка (II) из земляного червя *Eisenia foetida*. При помощи электрофореза в ПААГ и иммуноэлектрофореза показана гомогенность этих белков. Молекулярные

массы I и II были соответственно равны 18,9 и 16 кД, а значения pI для I и II были 3,6 и 4,3. N-концевой аминокислотой у обоих белков был Gly, а C-концевой аминокислотой у белка I был Met. Электрофоретическая подвижность I и II увеличивалась под воздействием ионов Ca^{2+} , так, как это имело место у кальцитонина, выделенного из мозга быка. I активировал циклическую нуклеотид-фосфодиэстеразу в сердце быка. II обладал тем же действием. Отношение Phe/Tyr составляло 8:1 у I и 7:2 у II. Представлены также данные УФ-спектров этих белков [28].

Известно, что **небулин** является белком с молекулярной массой 500–900 кД и встречается только у позвоночных. Однако, как было показано авторами статьи [29], подобные белки, но с более низкой молекулярной массой, содержались также и в мышцах клеточной стенки и во внутреннем мышечном слое псевдосердца земляного червя *Eisenia foetida*. Структура белка была установлена при помощи электронной микроскопии и иммунохимических методов.

Из земляного червя *Lumbricus rubellus* был выделен новый антимикробный полипептид. Он был очищен до гомогенного состояния на аффинной колонке с иммобилизованным гепарином и препаративной ВЭЖХ на колонке с C_{18} при помощи обращенной фазы. Полученный полипептид был назван люмбрицидом I, он содержал значительные количества пролина и имел молекулярную массу 7231 Д. Показано, что у червей полипептид продуцируется в виде своего предшественника пролюмбрицина, содержащего 76 аминокислотных остатков. Пептид, содержащий 14 аминокислотных остатков, отщепляется и образуется люмбрицин I, содержащий 62 аминокислотных остатков. Люмбрицин I обладает антимикробным действием против широкого спектра микроорганизмов, включая и его гемолитическую активность. Показано также, что пептид с меньшей молекулярной массой, полученный из люмбрицида I и содержащий 20 аминокислотных остатков (16–24), обладает еще более высокой антимикробной активностью. Установлено, что экспрессия гена люмбрицина I характерна только для взрослых особей земляных червей, но не для коконов и молодых особей [30].

Глава 21

Выделение протеаз, фибринолитических, тромболитических и других подобных им белков и ферментов

Выше были частично описаны гемолитические свойства некоторых белков и пептидов. Однако, учитывая практическую значимость подобных белков и белковых фракций и возможность их последующего использования в медицинской практике, было решено посвятить этим

биополимерам специальный раздел данной монографии, представленный в виде наглядных примеров, взятых из литературных источников.

Исследования, проведенные с земляным червем *Lumbricus terrestris*, показали, что в теле этого червя содержатся не менее 20 ферментов, расположенных в разных участках: дегидрогеназа, каталаза, протеаза, супероксид-дисмутаза, β -D-глюкозидаза, щелочная фосфатаза, эстераза, δ -аминолевулин-дегидротаза, порфирин-синтетаза, изоцитрат-дегидрогеназа, глутамат-дегидрогеназа, НАДН и НАДНР-диафараза и др., некоторые из которых могут быть выделены и иметь практическое значение [31]. Показано, что лиофильно высушенный порошок из земляного червя *Lumbricus rubellus* при его испытаниях на лабораторных животных (крысы, мыши) в дозах 0,5–1 г/кг/день в течение 4-х дней при пероральном введении, проявлял сильное фибринолитическое и антитромболитическое действие. Сделан вывод о том, что этот порошок может быть рекомендован для предотвращения и/или лечения тромбоза различного вида [32].

Обнаружено также, что автолизат дрожжевого червя *Lumbricus rubellus* обладает высокими фибрино- и тромболитической активностями. Было выделено три активных компонента с молекулярными массами 40000, 21000 и 15000. В дальнейшем с помощью электрофореза в ПААГ с SDS выделена фракция с м.м. 35000. N-концевая последовательность этого фрагмента (16 аминокислотных остатков) была подобна проэластазе из поджелудочной железы свиней [33].

Коэломоциты земляных червей рода *Lumbricus* и *Eisentia* расщепляли белки антигенов *in vitro*. Протеолитическая активность была обнаружена как в коэломной жидкости, не содержащей клеток, так и в клеточных структурах свободных коэломоцитов, которые, по-видимому, являются эффекторами механизма иммунодефицита земляных червей. Антиген расщепляется либо внутри клеток, либо протеазами, освобождающимися из коэломоцитах в окружающую среду. Протеолиз наблюдался как в не стимулированных, так и в антиген-стимулируемых культурах. Освобождение протеолитических ферментов усиливалось при увеличении количества антигенов в среде [34].

Отмечено заметное увеличение активности плазмينا в эоглобулиновой фракции лабораторных животных, к которой был добавлен экстракт земляного червя *Lumbricus rubellus* в концентрациях 0,5; 1,0 и 2 мг/мл плазмы. Показано, что фермент в экстрактах земляных червей может попасть во фракцию эоглобулина и активировать плазминоген. Изучены антикоагулянтная и фибринолитическая активности кроветворной системы кроликов при введении им 5, 30 и 120 мг/кг экстракта из земляного червя. Время образования протромбина в

этих случаях составило в соответствии с вышеприведенными дозами $19,7 \pm 3,8$; $22,5 \pm 2,5$ и $24,5 \pm 5,0$ сек.

Время действия частично активированного тромбопластина составило $25,7 \pm 5,9$; $28,7 \pm 5,2$ и $36,5 \pm 19,1$ сек. После 15 дней введения экстракта кроликам синтез D-димера был равен $242,3 \pm 17,4$; $250,0 \pm 11,9$ и $250,8 \pm 12,2$ мг/мл плазмы соответственно. Полученные данные свидетельствуют о том, что экстракт из земляного червя *L. rubellus* действует на фактор внутренней и внешней системы коагуляции крови [35].

Значение рН-оптимума для протеолитических ферментов из брюшной полости кольчатых земляных червей *Lumbricus trestles* и *Eisentia fetida* оказалось равным 8,0 – 10,0. Согласно свойствам и специфичности эти ферменты были отнесены к сериновым протеазам. Протеолитическая активность была выше у *E. fetida* по сравнению с *L. terrestris*. Электрофорез в присутствии SDS также показал различие в особях обоих видов. Авторами не обнаружено никаких изменений в протеолитических активностях обоих видов червей при действии на них белковых антигенов [36].

Изучено специфическое расщепление двух субстратов: β -амилоида 1–40 и окисленной формы В-цепи инсулина двумя фибринолитическими ферментами из *Lumbricus rubellus*. Сериновая протеаза F-III-2 расщепляла β -амилоид на шесть фрагментов, второй субстрат расщеплялся этим ферментом на пять фрагментов. Второй фермент – F-II расщеплял первый субстрат на 6 фрагментов и второй субстрат на 10 фрагментов. Специфичность расщепления субстратов F-III-2 было характерно для расщепления этого субстрата трипсином и α -химотрипсином. F-II обладал более широкой субстратной специфичностью, чем F-III-2, и расщеплял связи между нейтральными и гидрофобными аминокислотами. Кроме того, сам F-III-2 расщеплялся в результате автолиза или под действием других протеаз преимущественно на 2 фрагмента при расщеплении связи между Arg (144) и Tyr (145), которые продолжали расщепляться в дальнейшем за счет автолиза [37].

Гомогенная протеаза из земляного червя *Lumbricus rubellus* была выделена при использовании меченого ^{125}I -лактальбумина в качестве субстрата. Протеаза имела м.м. 27 кД и активизировалась поли-L-лизином или поли-L-аргинином. Было установлено, что эта протеаза подобна химотрипсину. Ее активность проявлялась в желудочно-кишечном тракте земляного червя, в частности, в брюшинной жидкости, но относительно мало в козломоцитах [38].

Кинетические зависимости активности протеаз из козломной жидкости земляного червя *Lumbricus terrestris* представлены в работе [39].

После очистки козломной жидкости при помощи высокоэффективной гель-хроматографии высокого давления (ВЭЖХ) и ионообменной очистки на DEAE-анионообменнике из жидкости было выделено 8 протеаз с различной электрофоретической подвижностью в ПААГ. Способность этих протеаз расщеплять специфические синтетические субстраты, характерные для специфической активности трипсина и химотрипсина, свидетельствует об их структурной близости к этим ферментам.

Описан универсальный метод получения фермента с тромболитической активностью из земляных червей, состоящий из процесса компрессионной детоксикации, осаждением сульфатом аммония, хроматографией на КМ-катионите и ДЕАЕ-анионите и гель-фильтрацией на сефакриле S-200. После электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) было обнаружено, что белковая фракция, обладающая ферментативной активностью, содержит семь фрагментов с м.м. 15000, 26900 ± 300 , 27000, 27900 ± 300 , 32000 ± 300 , 33000 и 70000 Д [40].

Фибринолитическая протеаза, выделенная из земляного червя *Lumbricus rubellus*, была модифицирована химическим методом фрагментами альбумина сыворотки человека (м.м. 10 – 30 кД). Модифицированный фермент утрачивал свою антигенность и реагировал с антителами сывороточного альбумина человека. Конъюгат фермента из земляного червя с фрагментами альбумина плазмы человека был устойчив к инактивации ингибиторами протеаз при введении его в плазму сыворотки крыс. Фермент не является геморрагическим белком и не оказывает влияние на агрегацию тромбоцитов. Фермент также обладал более высокой протеазной активностью по отношению к фибрину и фибриногену по сравнению с активностью к плазмину человека. Фермент легко растворял истинные сгустки фибрина (тромбина) в крови лабораторных животных, вызванных искусственным введением тромбина в русло крови крыс. Продолжительный фибринолиз суспензии фибрина в биореакторе, где фермент был иммобилизован на шарики из полиакриловой смолы, продолжался в течение месяца без всякой потери активности фермента. Были изучены N-концевые аминокислоты в белке, которые оказались подобны сериновым протеазам плазмينا и химотрипсина [41].

Метод модификации фибринолитической протеазы из земляного червя *Lumbricus rubellus* фрагментами альбумина человека (молекулярная масса 10 – 30 кД) описан также и в работе [42]. Полученный конъюгат был устойчив к инактивации ингибиторами протеаз в плазме крыс. Фермент был негемморрагическим белком, не вызывал агрегации тромбоцитов и обладал более высокой протеолитической активностью для фибрина и фибриногена, чем плазмы человека. Он легко растворял сгустки фибрина (тромбы) в цельной крови, вызванных тромбином в центральной вене

крыс. Показана также стабильность модифицированного фермента и предложена рецептура фибринолитического компонента и рациона, содержащей модифицированный фермент.

Колоночной хроматографией был выделен и очищен фибринолитический фермент из земляного червя *Lumbricus rubellus*. Этот фермент был идентифицирован и получил название **люмброкиназа**. Молекулярная масса фермента составляла 34 кД. Фермент был стабилен в интервале рН от 2 до 11 и температуре до 65°C. Он имел трипсиноподобные характеристики и высокую субстратную специфичность по отношению к фибрину, позволяющему считать его как фибринолитический реагент. Был также исследован процесс расщепления фибриногена в присутствии этого фермента [43].

Показано, что фибринолитические ферменты из земляного червя *Lumbricus rubellus* являются группой протеаз. Для изучения они были выделены экстракцией из тела земляного червя и очищены аффинной хроматографией с использованием соевого ингибитора химотрипсина в качестве матрицы и сефарозы 4В в качестве носителя. Этот метод был пригоден и для промышленного выделения этих ферментов. На электрофореграмме элюента после аффинной хроматографии в ПААГ было видно 11–13 белков, каждый из которых обладал фибринолитической активностью. Все ферменты оказались гликопротеинами. Количество сахаров составляло 5%, и было представлено главным образом гексозой. Изоэлектрическая точка смеси ферментов лежала несколько ниже области рН 4,0. Смесь ферментов содержала в своем составе большое количество остатков метионина, триптофана и лизина. Фибринолитическая активность 1 мг смеси соответствовала 200–300 ед. урокиназы [44].

Фибринолитический фермент с высокой активностью был выделен также и из земляного червя *Lumbricidae bimastos*. Процесс очистки включал тепловую селективную денатурацию, аффинную хроматографию на колонке из сефадекса 4В с иммобилизованным на нем соевым ингибитором химотрипсина, ионообменную очистку на ДЕАЕ-целлюлозе и аффинную хроматографию на L-аргинил-сефарозе 4В. Очищенный компонент был гомогенным на электрофореграмме в ПААГ. Молекулярная масса и изоэлектрическая точка этого фермента имели значения 32 кД и 3,3 соответственно. Фермент был термостабилен, стабилен в широком интервале рН и сильно ингибировался соевым ингибитором химотрипсина. Сделан вывод, что фермент представляет собой сериновую протеазу [45].

Дальнейшее изучение свойств фибринолитических сериновых протеиназ из земляного червя *Lumbricus rubellus* показало, что эти ферменты представляют собой шесть видов изоферментов и

продуцируются различными генами. Ферменты проявляют свои активности в широком интервале рН 2 – 11, стабильны при температуре ниже 60°C и устойчивы к органическим растворителям, таким как толуол или гексан, а также к детергентам. Кроме того, они в течение долгого времени сохраняют свою активность в водном растворе при комнатной температуре. Они являются сериновыми протеиназами и могут расщеплять различные субстраты, например такие, как эластин, и гемоглобин, а также фибрин, и катализировать гидролиз эфиров, например этилацетата. Ферменты способны расщеплять такие полимеры, как поли-[(R)-3-оксибутирин], β -амилоид 1–40 и растворимые фибриновые сгустки крови в венозной крови крыс [46].

Были выделены и изучены структуры кДНК, обеспечивающие биосинтез этих ферментов. Их последовательность оказалась близка генам, обеспечивающим биосинтез этих ферментов у млекопитающих. Однако в участках белков, подверженных автолизу, отсутствовали остатки аргинина и лизина. Найденные ферменты в отсутствие микроорганизмов вносят свой вклад в получение автолизатов земляного червя, обладающих антиоксидантной способностью и протеазной активностью, и компоненты которого близки компонентам, входящим в состав соевого соуса. Экстракт из автолизата земляного червя может быть использован в качестве пептона для культивирования микроорганизмов [47].

Изучено также ингибирующее действие человеческого α_2 -макроглобина (α_2 M), содержащегося в плазме, на один из фибринолитических ферментов, в частности фермента III-1, выделенного из земляного червя *Lumbricus rubellus*.

Показано, что активность фермента III-1, уменьшается на 65% при инкубации раствора фермента с раствором α_2 M, тогда как в реальных условиях при инкубации фермента с плазмой его активность уменьшалась только на 30%.

Изучение кинетики ингибирования показало, что при ингибировании фермента α_2 M освобождается белковый фрагмент с молекулярной массой 90 кД, который затем переходит в высокомолекулярный комплекс (моль масса 700 кД) по уравнению первого порядка. Высказано предположение, что образование комплекса α_2 M/III-1 протекает по механизму необратимого ингибирования. Дальнейшие исследования свидетельствовали о том, что 1 моль-эквивалент α_2 M связывается с 1 моль-эквивалентом III-1 и что α_2 M является одним из наиболее важных ингибиторов фермента при его поступлении в кровоток [48]. В дальнейшем оказалось, что подобные ферменты могут быть выделены и из земляного червя *Eisenia foetida*. Так, из экстрактов этого червя были выделены 5 фибринолитических ферментов: I, YII, YIII, IX и X.

Очистка и фракционирование белков осуществлялись их дробным осаждением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и препаративным электрофорезом. Все белки были гомогенны, о чем свидетельствовало наличие одной полосы на электрофореграмме, полученной в ПААГ. α , β и γ – цепи фибриногена расщеплялись фракциями УІІ, УІІІ, ІХ и Х. Наиболее высокое сродство и степень расщепления наблюдалось в α – цепи фибриногена. Фермент Х не способен был расщеплять фрагменты фибриногена с молекулярными массами 43,5; 40 и 24,5 кД. Фермент І имел высокое сродство и способность к расщеплению α – цепи фибриногена, но не расщеплял γ – цепь этого белка [49].

Более подробное описание физических и химических свойств 5-ти фибринолитических ферментов (І, УІІ, УІІІ, ІХ и Х), выделенных из земляного червя *Eisenia foetida*, приведено в более поздней работе тех же авторов [50]. Все пять ферментов были гомогенны на электрофореграмме в ПААГ. Все они содержали высокое количество дикарбоновых аминокислот и тирозин. Молекулярные массы 5-ти ферментов, определенные электрофорезом в ПААГ с SDS были 34000, 30500, 27000, 24500 и 21500 соответственно. Изоэлектрические точки ферментов находились в области рН 3,8 – 4,5. Максимальная адсорбция в УФ-спектре была при 276 нм. Ферменты были относительно стабильны в интервале рН 6,0 – 10,0 и при температурах ниже 50°C. Наибольшая активность проявлялась у фермента І в течение 10 мин при 70°C. Этот фермент был также наиболее устойчив к денатурации и не ингибировался обычными протеазными ингибиторами. Оптимум рН этого фермента был 8,5, а оптимальная температура действия 65°C.

Показано, что частицы синтетического 2-оксиэтилметакрилата могут приобрести гемолитические функции опсонина после их пропускания через желудочно-кишечный тракт земляного червя вида *Eisenia foetida*. Так, жидкость из брюшинной полости этого червя после ее инкубации с вышеназванным полимером частично теряла свою гемолитическую функцию и количество опсонов за счет сорбционных процессов. Снижение гемолитической функции могло компенсироваться добавлением к жидкости экзопсонов, выделенных из того же червя. Как показали исследования, сами опсоны не обладали гемолитическими свойствами, но их добавление к окологрудинной (коэломной) жидкости или к жидкости, полученной из желудочно-кишечного тракта червя, свидетельствует о том, что, по крайней мере, один из опсонинных белков включается в гемолитический процесс [51].

Предложен простой метод определения протеазной активности в земляном черве *Eisenia foetida*. Раствор фермента получали суспензированием и центрифугированием высушенного земляного червя в трис-буфере (рН 8,5). Каплю раствора добавляли в среду, состоящую из

казеина и агара, после чего эту среду инкубировали до тех пор, пока она не посветлеет при 25 – 30°C. Скорость реакции определяется временем инкубации. Оптимальное значение pH для фермента 8,5 и температура 25 – 30°C [52].

Установлено, что гемолитическая активность в коэломной жидкости из земляного червя *Eisenia foetida* определялась тремя белками Н₁, Н₂ и Н₃ с молекулярными массами 46, 43 и 40 кД соответственно. Эти белки были выделены препаративным электрофорезом. Показано, что Н₁ и Н₂ стабильны по отношению к SDS, тогда как Н₃ расщепляется на два фрагмента с молекулярной массой 18 и 21 кД. Иммуноэлектрофорез показал, что каждый из выделенных белков состоял из различных изоформ с pI 5,1 – 6,2. Н₃ является бифункциональным белком, который может расщеплять и связывать (лизировать и агглютинировать) эритроциты. Активность всех трех белков инактивировалась при 50°C, но агглютинирующая активность Н₃ оставалась стабильной. Внутривентрикулярная инъекция червям эритроцитов уменьшала число гемолизинов с 3 до 2. Была получена неспецифическая антисыворотка для изолированных гемолизинов. Использование полученных антител и углеводов как ингибиторов биологической активности молекул показало близкое структурное родство агглютининов и гемолизинов в коэломной жидкости земляного червя [53].

Препаративным электрофорезом в ПААГ удалось также выделить из *Eisenia foetida* 6 фибринолитических изоферментов. Среди них наиболее высокой фибринолитической активностью обладал фермент с молекулярной массой 30 кД, выход которого составлял 19,1%. Специфическая активность этого фермента была 6670 ед/мг. Фермент оказался стабилен при pH 4 – 11 и температуре 25 – 55°C [54].

Выделение фибринолитического фермента из земляного червя *Eisenia foetida* описано в работе [55]. Фермент был выделен и очищен гель-фильтрацией на сефакриле S-200 и ионообменной хроматографией на ДЕАЕ-сефарозе в быстром потоке. Он не только гидролизует фибрин, но также активировал переход плазминогена в плазмин. Фибринолитическая активность фермента составляла 2800 ед/мг. Молекулярная масса фермента, определенная электрофорезом в SDS-ПААГ составляла 29 кД. Изоэлектрическая точка фермента pI = 4,0. Фермент был термостабилен. Изучение свойств фермента при помощи ингибиторов протеаз показало, что фермент принадлежит к классу сериновых протеаз. Было показано также, что люмброкиназа содержится в земляном черве *Eisenia foetida*, из которого этот фермент был выделен вместе с креатинин-киназой, аргинин-киназой и гликоциамицин-киназой. Фермент был очищен до гомогенного состояния и оказался димером, состоящим из двух субъединиц с молекулярной массой 40 кД. При помощи анализа фрагмента ДНК,

кодирующего синтез этого фермента, была определена аминокислотная последовательность 370 фрагментов этого фермента [56].

Универсальный метод выделения подобных ферментов предложен в работе [57]. Многоступенчатая гель-фильтрация и ионообменная хроматография на различных производных полисахаридов позволяла получать гомогенный ферментный препарат с высокой тромболитической активностью, который с успехом был использован в клинической медицине для лечения острых тромбозов в виде инъекций в количестве 2 – 5 мг белка на одну инъекцию.

Описан также процесс выделения четырех ферментов, обладающих высокой фибринолитической активностью, составляющей 1000 ед фибринолитической активности урокиназы. Очистка и выделение киназ осуществлялась различными видами хроматографии на различных носителях [58].

Кинетика расщепление синтетических субстратов этилового эфира бензоил-L-аргинина и этилового эфира N-ацетил-L-тирозина активатором плазминогена из земляного червя *Eisenia foetida* описано в работе [59]. Полученные данные свидетельствуют о присущей этому ферменту эстеразной активности.

Фибринолитический и тромболитический фермент из *Eisenia foetida* в дальнейшем был выделен и получен в кристаллическом при помощи вакуум-диффузионной техники с $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в качестве затравки и осадителя. Фермент имел орторомбическую структуру с параметрами решетки: $a = 40,6$; $b = 127,5$ и $c = 129,2$ ангстрема и количеством 3 М на асимметрическую единицу. Разрешение рентгенограммы составляло $1,97 \cdot 10^{-10}$ м [60, 61].

Глава 22

Прочие ферменты из земляных червей

Из земляного червя вида *Lumbricus rubellus* был выделен и очищен фермент сукцин-семиальдегид-дегидрогеназа комбинацией хроматографических методов на ДЕАЕ – сефарозе, голубой сефарозе и АМР-сефарозе. Выделенный фермент состоял из идентичных субъединиц с м.м. 56000 Д. рН-Оптимум для фермента был 9,5 и константа Михаэлиса K_M для янтарного полуальдегида была равна 1 мкмоль. Изучение субстратной специфичности показало, что ароматический альдегид имел более высокое значение K_M (от 20 до 40 мкмоль), чем альдегид с короткой боковой цепью (0,5–1 мкмоль). Фермент ингибировался щелочной формой дисульфирама и тиол-блокирующими реагентами, например, 5,5'- дитиол – (2-нитробензойной кислотой). Каталитические функции фермента также

инактивировались пиридоксаль-5'-фосфатом. Однако присутствие NAD^+ в реакционной смеси могло защитить фермент от инактивации [62].

Выделены и очищены препаративным электрофорезом в ПААГ две каталазы из земляного червя *Eisenia foetida*. Обе каталазы являлись гликопротеинами. Их молекулярные массы были равны 390 и 400 кД. Детектирование с помощью кислородного электрода показало, что значение K_M для обеих каталаз равнялось 143 ммоль. Каталитическая активность каталаз ингибировалась NaN_3 и KCN , а также, но в менее сильной степени, солями двухвалентных металлов Cu , Cd , Zn и Ni . При инъекции некоторых из этих солей внутрь червя наблюдались несколько иные зависимости. Так, Zn(II) и Ni(II) повышали активность этих ферментов в 4 раза, а кадмий и в этом случае понижал общую каталазную активность [63].

Целлюлаза была экстрагирована из земляного червя *Pheretima asiatica* и очищена гель-фильтрацией на сефадексе G-50 и ионообменной хроматографией на ДЕАЕ – сефадексе А-25. Оптимальное значение pH для фермента было 6,1 и оптимальная температура 55°C [64].

Из земляных червей рода *Eisenia sp.* был выделен и очищен новый белок, который обладал всеми свойствами лизоцима. Молекулярная масса этого белка, определенная электрофорезом в ПААГ с SDS, была равна 13 кД. N-концевая последовательность 33-х аминокислотных остатков полностью соответствовала лизоциму. Белок содержал 133 аминокислотных остатков и имел 14 остатков цистеина, стабилизирующих его структуру за счет образования S-S связей. Выделенный лизоцим обладал высокой стабильностью и всеми свойствами, присущими лизоциму из куриного белка [65].

В экстрактах из земляных червей *Eisenia andrei*, которые питались органическими отходами, обнаружено, что самым активным ферментом является ксилиназа (2,06 ед/г), более низкими активностями обладают ацетилксиланэстераза (0,55 ед/г), β -глюкоронидаза (0,17 ед/г), α -L-арабинозидаза (0,04 ед/г) и β -ксилозидаза (0,03 ед/г). Все эти ферменты увеличивают свою активность при кормлении земляных червей ксилансодержащей пищей. Ксилиназа, α -L-арабинозидаза и ацетилксиланэстераза имели pH оптимумы при нейтральных значениях pH, тогда как β -ксилозидаза и β -глюкоронидаза имели pH оптимум при pH 3,0 и 4,0 соответственно. Наиболее высокой ферментативной активностью все ферменты обладали при температуре 35 – 40°C. Определены также значения K_m и V_{max} . Для ксиланолитических ферментов кинетические параметры были определены из экстрактов земляного червя, которого кормили обычной пищей ($K_m = 679$ мг/мл, $V_{max} = 0,05$ ед/мг), и для тех же

червей, которых кормили пищей, содержащей ксилан ($K_m = 5,6$ ед/мг, $V_{max} = 0,12$ ед/мг) [66].

Показано, что в кишечном тракте земляных червей присутствуют целлюлазы как эндо-, так и экзо- видов, а также целлобиоза, которая в конечном итоге превращает целлюлозу в D-глюкозу. Активности этих ферментов увеличиваются при появлении в почве органических удобрений или остатков корней растений. Существенно меньшее количество у большинства земляных червей содержится в кишечном тракте гликолитических ферментов, что их существенно отличает от ферментов микроорганизмов самой почвы [67].

Показано также, что земляные черви *Lumbricus terrestris* содержат фермент церамид-глюканазу. В работе [68], описан препаративный метод выделения этого фермента из червя. Установлено, что фермент катализирует расщепление связей между полисахаридами церамидом и гликаном. Оптимум pH этого фермента лежал в интервале между 4,0 и 4,5. Сам фермент содержался преимущественно в мышечной части тела земляного червя. Предложено использовать земляных червей этого рода в качестве доступного и недорогого сырьевого источника для получения подобных ферментных препаратов.

Из кишечника земляного червя *Pheretima communissima* выделен и идентифицирован фермент аргиназа, который представляет собой белок с молекулярной массой 25 кД, определенной гель-фильтрацией на сефадексе G-100. Значение K_m этого фермента составляло для L-аргинина 8,5 ммоль при pH 9,5 и 54 ммоль при pH 7,5 соответственно. Активность фермента обратимо ингибировалась L-орнитином и L-лизином и имела смешанный тип ингибирования аминокислотами L-лейцином, L-изолейцином и L-валином при обоих значениях pH [69].

С помощью электрофореза в ПААГ были идентифицированы ацетилэстеразы (ЕС 3.1.1.6), содержащиеся в земляных червях *Eisenia andrei*, *E. fetida* и *E. veneta*. В экстрактах из земляных червей *E. andrei* и *E. fetida* были обнаружены четыре белковых полосы с ацетилэстеразной активностью, тогда как в земляных червях *E. veneta* содержались только три полосы, соответствующих ацетилэстеразе [70].

Из экстрактов земляного червя *Eisenia foetida* была выделена холинэстераза, которая отличалась по своим свойствам от ацетилхолинэстеразы и бутирилхолинэстеразы, выделенных из того же земляного червя [71].

Более детальные исследования показали, что этот земляной червь содержит две различных холинэстеразы E1 и E2. Эти ферменты были выделены и идентифицированы. Фермент E1 оказался пропионилхолинэстеразой и по своим свойствам был близок ацетилхолинэстеразе (ЕС 3.1.1.7) млекопитающих. Фермент E2 был неспецифической холинэстеразой и отличался по своим свойствам от специфической

холинэстеразы (ЕС 3.1.1.8). За счет того, что E2 реагировал с ингибиторами двухфазным путем, высказано предположение, что этот фермент состоит из двух изоферментов. Ионы кальция активировали и стабилизировали фермент E2, но не оказывали никакого влияния на фермент E1 [72].

Изоферменты глутатион-трансферазы (ГТФ) были выделены из земляных червей *Eisenia andrei* и *Eisenia veneta* и частично очищены при помощи аффинной и ионообменной хроматографии, а также при помощи ВЭЖХ с обращенной фазой. Экстракт из *E. veneta* содержал пять фракций белков, обладающих ферментативной активностью, которые были соответственно идентифицированы как E_vГТФ Ia, Ib, II, III и IV. Экстракт из *E. andrei* содержал шесть белковых фракций, обозначенных как E_aГТФ I – VI. При помощи ВЭЖХ с реверсивно-обращенной фазой экстракты ГТФ из *E. andrei* и *E. veneta*, частично очищенные аффинной хроматографией, были разделены на 14 субъединиц, обозначенных как E_{a1} – E_{a14} и E_{v1} – E_{v14} соответственно. В дальнейшем E_a ГТФ I, II, IV и E_v ГТФ Ia были полностью охарактеризованы. Эти фракции обладали различной субстратной специфичностью по отношению к субстратам: 1-хлор-2,4-динитробензолу (ХДБ), 1,2-дихлор-4-нитробензолу, этакриловой кислоте (ЕК) и гидроксиперекисикумолу, так же как и составом субъединиц, определенных при помощи электрофореза в ПААГ с SDS и ВЭЖХ с реверсивно-обращенной фазой. E_a ГТФ IV и E_v ГТФ обладали наиболее высокой активностью по отношению к ЕК по сравнению с другими фракциями. E_a ГТФ представлял собой гомодимерный белок, включающий субъединицу E_{a6}, с молекулярной массой 26,5 кД, тогда как E_{v1a} состоял из двух различных субъединиц (E_{v9} и E_{v10}). Аминокислотный состав и анализ 33 концевых N-аминокислотных остатков E_{a6} свидетельствовал о том, что этот фермент родственен рi – классу. Субъединица E_{v10} на 67% была идентична субъединице E_{a6}, за исключением участка, состоящего из 12 аминокислотных остатков, и на 90% идентична ГТФ нескольких нематод. Инкубация обеих фракций с оксидом *транс*-стильбена, 3-метилхлорантреном и фенобарбиталом в течение 3-х недель не влияла на активность ГТФ, измеренной по синтетическим субстратам ХДБ и ЕК [73].

При помощи гель-фильтрации из земляного червя *Eisenia veneta* были выделены два изофермента (I и II), относящиеся к кислой фосфатазе (КФ), и один фермент (III), относящийся к щелочной фосфатазе (ЩФ). Все три фермента были подвергнуты дальнейшей очистке и концентрированию на колонке с Соп А сефарозой 4В. Фермент I ингибировался тартратом, имел рН оптимум между 4,0 и 5,0 и был отнесен к лизосомальным ферментам. Фермент II был основным ферментом с наиболее высокой активностью из всех трех ферментов. Он также имел лизосомальное происхождение. Молекулярная масса этого фермента составляла 113 кД, а он сам состоял из нескольких полипептидных цепей с молекулярной

массой 36 кД каждая. Этот фермент также ингибировался тартратом, имел оптимальное значение pH, лежащее в интервале 6,0 – 7,5, и медленно разлагался при температуре 40°C. Фермент III то же ингибировался тартратом и имел значение pH оптимума, лежащее выше 9. Субклеточная локализация этого фермента находилась в цитозоле [74].

Из хвостовой части земляного червя *Allolobophora caliginosa* был выделен фермент, обладающий коллагенолитической активностью. Специфические ингибиторы для трипсина и химотрипсина, также как и ЭДТА, не оказывали никакого влияния на выделенный фермент. Цистеин в концентрации 10 ммоль слегка ингибировал этот фермент. Высказано предположение, что этот фермент может иметь практическое значение [75].

Методом фракционного осаждения сульфатом аммония с последующим фракционированием ацетоном, адсорбции на геле из фосфата кальция, хроматографией на DE-52 и кристаллизацией была получена кристаллическая каталаза из земляного червя *Lumbricus terrestris*. Кристаллы имели игольчатую структуру и слабое двоякопреломление. Полученный фермент имел молекулярную массу 230 кД и состоял из четырех субъединиц с молекулярной массой 57,7 кД. Фермент по своим спектрам преломления был типичным железосодержащим белком с максимума поглощения при 620, 540, 500, 405 и 280 нм. Соотношение E_{405}/E_{280} составляло 1,4, что напоминало каталазу печени быка, но с более низкой молекулярной массой. По своим свойствам полученная каталаза также напоминала каталазу из печени быка [76].

Были получены экстракты из двух видов земляных червей: *Microscolex kerguelensis* и *Dendrodrilus rubidus temus*, в которых была обнаружена карбогидразная активность. Экстракты гидролизovali крахмал, мальтозу, ламинарин и N-ацетилглюкозамин и не гидролизovali лактозу, сахарозу и целлобиозу. Они также обладали слабой целлюлазной и ксиланазной активностями [77].

Глава 23

Синтез липидов земляными червями

Земляные черви могут быть источниками не только физиологически активных белков, но и липидов.

Так, земляных червей рода *Lumbricus terrestris* кормили меченной ^{14}C -лабильной пальмитиновой кислотой. Распределение метки показало, что земляные черви способны к синтезу следующих липидов: глицеридов, эфиров стерола, церебризидов, сульфатидов, фосфатидилэтаноламина, фосфотидилсерина, фосфатидилинозитола, фосфатидилхолина и

спинголинолина. Свободные жирные кислоты обладали высокой активностью [78].

Биомасса основного земляного червя *Eisenia foetida* может быть источником эйкозапентаеновой кислоты – одной из важнейших полиненасыщенных кислот, имеющих большое значение в медицинской промышленности для лечения склероза. Для получения этой жирной кислоты биомасса земляного червя была подвергнута действию двух ферментов: вначале протеазой, а затем липазой, что привело в результате последующей очистке и отделению примесей к получению эйкозапентаеновой кислоты или ее эфиров с 40 – 45% выходом от общего количества биомассы [79].

Анализ липидных композиций из земляного червя *Pheretina asiatica* показал, что они содержат четыре новых гликофосфолипида, которые относились к классу 1-алкил-2-ацилглицерофосфохолинам, содержащим остатки С 17:0 и С 18:1 жирных кислот. Изучена структура этих липидов и геометрия двойной связи [80].

Показано, что коэломная жидкость из земляного червя *Lumbricus terrestris* содержит липидные агглютинины, которые представляют собой гликолипиды. Эти соединения присутствуют в коэломной жидкости иммунизированных и неиммунизированных земляных червей. Липидные агглютинины были частично очищены экстракцией по Фолчу и последующей хроматографией на кремниевой кислоте. Установлено, что высокие концентрации этих соединений присутствуют и в ацетоновом и в метанольном экстрактах земляного червя, но отсутствуют в хлороформном экстракте [81].

Показано, что земляной червь *Eisenia foetida* содержит большие количества таких фосфолипидов, как алкилацилглицерофосэтаноламин (61,3% гликофосфолипидов холина) и алкилацилглицерофосэтаноламин (66,0% гликофосфолипидов этаноламина). Обнаружено также значительное количество эфирсодержащего липидного фактора активации тромбоцитов (I), уровень которого увеличивался при травматизме земляных червей. Этот фактор состоит непосредственно из самого I и его аналогов, содержащих короткоцепочечные жирные кислоты. Земляные черви также содержат ферменты, активно участвующие в биосинтезе I и его аналогов, причем активность ацетилтрансферазы не ингибируется высокими концентрациями I [82].

Из тканей земляного червя *Pheretina hilgendorfi* были выделены и очищены новые амфотерные гликолипиды, содержащие фосфат холина. Была установлена их полная химическая структура. Липиды представляли собой 6-(Man- α 1-4)Gal- β 1-6-Gal- β 1-1Cer (холинфосфорилнеогалактозилцерамид) (I) и 6-Gal- β 1-6-Gal- β 1-6-Gal-1-1Cer (холинфосфорилнеогалактозилцерамид) (II), в состав которых входили остатки сахара,

жирной кислоты и сфингозида. Структура липидов была установлена их расщеплением HF, частичным кислотным гидролизом, метилированием, экзогликозидным расщеплением и ЯМР-спектроскопией. Церамидная часть этих липидов состояла из 22:0, 23:0 и 24:0 жирных кислот и разветвленных октадека- и нонадека-4-сфингенинов и октадека-4-сфингенина. Так как олигосахаридная и церамидная части I и II были идентичны нейтральным гликосфинголипидам, найденным в других организмах, сделано заключение, что биосинтез амфотерных гликолипидов может происходить при добавлении фосфата холина к соответствующим нейтральным гликолипидам, Man- α 1-4-Gal- β 1-6-Gal- β 1-1-Cer или Gal- β 1-6-Gal- β 1-1-Cer [83].

Изучено также влияние температуры на липидный состав двух земляных червей *Lumbricus rubellus* и *Eisenia nordenskioeldi*. С этой целью земляных червей выдерживали в течение 28 дней при 0 и 20°C и затем анализировали состав свободных и этерифицированных жирных кислот, а также других липидов. Показано, что полиненасыщенные жирные кислоты в высоких концентрациях присутствуют в земляных червях при 0°C, тогда как линейные насыщенные жирные кислоты в больших количествах содержались в земляных червях при 20°C [84].

Из приведенных литературных примеров следует, что некоторые виды земляных червей могут быть источниками ценных биологически активных соединений. Особенно интересны исследования, связанные с идентификацией, выделением, очисткой и положительными результатами биологических исследований фибринолитических и тромболитических ферментов из земляных червей рода *Lumbricus sp* и *Eisenia sp*. Судя по достигнутым результатам, ферментные препараты из этих земляных червей могут стать доступными лекарственными средствами для лечения тромбозов и некоторых заболеваний крови у человека.

Интересны также сведения о высоком содержании у земляных червей полиненасыщенных жирных кислот, которые, как известно, могут быть ценными лекарственными препаратами для лечения атеросклероза и других заболеваний внутренних органов, связанных с нарушением обмена липидов.

Список литературы

1. Неклюдов А.Д. Иванкин А.Н. Экологические основы производств: Взаимосвязь экологии, химии и биотехнологии. – М.: МГУЛ, 2003. – С. 263–359.
2. Dominguez J., Edwards C.A., Subber S.// BioCycle.– 1997.– V. 38.– № 4. –P. 57–59.
3. Wilkie A.C.//Proceed. of Animal Residulas Management Conference. –Alexandria, Virginia: Water Environment Federation, 2000.–P. 1–12.

4. *Werner M. R.*//Sustainable Agriculture. –1990. –V. 3.– № 1. –P. 10–14.
5. *Weerner M.R.*//Am. J. Alternative Agriculture. –1996.– V.11.– № 2.– P. 176–181.
6. *Guanzon Y., Holmer R.J.*//Proc. National Eco-Waste Multisectoral Conference and Fair at Pryce Plaza Hotel, Cagayan de Oro City, Philippines, 16-18 July 2003.– P. 178–184.
7. *Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н., Федотов Г.Н., Леонов А.Ю.* //Экологические системы и приборы.–2005.–N 12.
8. *Moral R., Moreno-Caselles J., Perez-Murcia D., Perez-Espinosa A., Peredes C.*//Bioresour. Technol.– 2005.– V. 96. –N2. –P.153–158.
9. *Андреев А.М.* Биогумус. – М.: Рипол Классик, 2000. –32 с.
10. *Rzasa P., Kaloustian K.V., Prokop E.K.*// Comp. Biochem. Physiol., Part A: Physiology. – 1982.– V. 71. – № 4.– P. 631–634.
11. *Cooper E.L., Leung M., Suzuki M., Vicc K., Cadet P., Stefano G.* // Der. Comp. Immunol.– 1993. –V. 17.– № 3.– P. 201–209.
12. *Oumi T., Ukena K., Matsushima O., Ikeda T., Fujita T., Minakata H., Nomoto K.* //Biochem. Biophys.Res.Commun.– 1994.– V. 198.– № 1. –P. 393–399.
13. *Satake H., Takuwa K., Minakata H., Matsushima O.*//J. Biol. Chem.– 1999. –V. 274. – № 9. –P. 5605–5611.
14. *Цуавиттидинов Ж.Ф., Таканаев А.А., Вескурова О.Н., Сагдеев Н.Ж., Мирзахмедов Ш.Я., Евграфова Н.А., Саликов Ш.И.* //Химия природных соединений. – 1994.– №1.– P.118–120.
15. *Cossarizza A., Cooper E.L., Suzuki M.M., Salvioli S., Capri M., Gri G., Quaglio D., Franceschi C.*// Exp. Cell Res. –1996.– V. 224.– № 1.– P.179–182.
16. *Rejnek J., Tukova L., Sima P., Bilej M.*// Immunol. Lett.– 1993. –V. 36.– № 2.– P. 131–135.
17. *Tuckova L., Bilej M.*//Immunol. Lett.– 1994.– V. 41.– № 2–3.– P. 273–277.
18. *Bilej M., Rossmann P., Sinkora P.*// Immunol. Lett. –1998.– V. 60.– № 1. –P. 23–29.
19. *Beschin A., Bilej M., Hanssens F., Raymakers J., Van Dyck E., Revets H.*//J. Biol. Chem. –1998.– V. 278.– № 38.– P. 24948–24954.
20. *Sekizawa Y., Hagiwara K., Nakajima T.*// Biomed. Res. –1996.– V. 17.– № 3. –P. 197–203.
21. *Sekizawa Y., Ohta N., Natori S.*// Biomed. Res. –1996. –V. 17.– № 4. – P. 327–330.
22. *Kobayashi H., Sekizawa Y.*//Kagaku to Seibutsu.– 1999.–V. 37.– № 10. – P. 660–665.// Chem. Abstr.– 1999.– 131.– 296570.
23. *Kabayashi H., Umeda M.*//Tanpakushitsu Kakusan Koso.– 2001.–V. 46.– № 4. –P. 455–462. //Chem. Abstr. –2001.– 134.– 205175.

24. *Popovic M., Hrzenjak T., Grdisa M., Vukovic S.* // Gen. Pharmacol. – 1998. – V. 30. – № 5. – P. 795–800.
25. *Paik S.R., Woo J.I., Kim G.M., Cho J.M., Chang C.S.* // J. Biochem. Mol. Biol. – 1997. – V. 30. – № 1. – P. 37–40.
26. *De Bactselier P.* // Международный патент № 99 31229. – 1999. – CI C12N15/12. // Chem. Abstr. – 1999. – 131. – 41281.
27. *Kahlerova P., Tuckova L., Bilej M.* // Folia Microbiol. (Praga). – 1999. – V. 44. – № 4. – P. 435–440.
28. *Wang C., Zhang T.* // Beijing Daxue Xuebao Ziran Kexueban. – 1996. – V. 32. – № 6. – P. 741–748.
29. *Royuela M., Fraile B., Paniagua R.* // Eur. J. Cell Biol. – 1997. – V. 73. – № 3. – P. 276–280.
30. *Cho J.H., Park C.B., Yoon Y.G., Kim S.C.* // Biochim. Biophys. Acta. – 1998. – V. 408. – № 1. – P. 67–76.
31. *Prento P.* // Comp. Biochem. Physiol., Part A: Physiology. – 1987. – V. 87. – № 1. – P. 135–142.
32. *Kim Y.S., Pyo M.K., Park M., Hahn B.S., Yang K.Y., Yun-Choi H.S.* // Arch. Pharmacol. Res. – 1998. – V. 21. – № 4. – P. 374–377.
33. *Sumi H., Nakajima N., Mihara H.* // Comp. Biochem. Physiol., B: Comp. Biochem. – 1993. – V. 106B. – № 3. – P. 763–766.
34. *Biley M., Tuckova L., Rejnek J.* // Immunol. Lett. – 1993. – V. 35. – № 1. – P. 1–5.
35. *Chang C.S., Lee C.K., Shin J.S., Cho H.H., Suh J.L.* // Yakhak Hoechi. – 1995. – V. 39. – № 6. – P. 666–670. // Chem. Abstr. – 1996. – 124– 135278.
36. *Leipner C., Tuckova L., Rejonec J., Langner J.* // Comp. Biochem. Physiol., B: Comp. Biochem. – 1993. – V. 106B. – № 3–4. – P. 637 – 641.
37. *Nakajima N., Sugimoto M., Ishibana K., Nakamura K., Hamada H.* // Biotechnol. Biochem. – 1999. – V. 61. – № 11. – P. 2031–2033.
38. *Wao K.M., Yi W., Sohn Y.J., Chang C.S., Kang M.S., Ha D.B., Chang Ch.H.* // Comp. Biochem. Physiol., B: Biochem. Mol. Biol. – 1994. – V. 109B. – № 1. – P. 71–80.
39. *Kanschka E., Porliara P., Stabili L., Cooper E.L.* // Comp. Biochem. Physiol., B: Biochem. Mol. Biol. – 1997. – V. 116B. – № 2. – P. 235–242.
40. *Niu Bo, Cheng N., Zheng G.* // Патент Китая № 1080956. – 1994. – CI C12N9/64. // Chem. Abstr. – 1994. – 121. – 77249.
41. *Nakajima N., Ishida K., Sugimoto M., Sumi H., Mikuni K., Hamada H.* // Biosci., Biotechnol., Biochem. – 1996. – V. 60. – № 2. – P. 293–300.

42. *Nakajima N., Hamada H, Mikuni K, Hara K.*// Патент Японии № 0965879.-1997.- Cl B12N9/64.// Chem. Abstr.- 1997.- 126.- 274170.
43. *Park Y.D., Kim J.W., Min B.G., Seo J.W., Jeong J.M.*//Biotechnol. Lett. -1998. V. 20- № 2. -P. 169-172.
44. *Zhao X.Y., Jing T.Y.*//Zhongguo Shengwu Huaxue Yu Fenzi Shengwu Xuebao.- 1998. -V. 14.- № 4.- P. 407-411.// Chem. Abstr. -1998.- 129.- 272189.
45. *Wu R., Luo X., Chen S.*//Yaowu Shengwu Jishu.- 1998.- V. 5.- № 2.- P. 84-88.// Chem. Abstr. -1998.- 129.- 327579.
46. *Nakajima N., Sugimoto M., Ishihara K.*//J. Biosci. Bioeng.- 2000. - V. 90.- № 2.- P. 174-179.
47. *Nakajima N., Sugimoto M., Ishihara K.*//J. Molecular Catalysis B: Enzymatic. -2003. -V. 23.- № 2-6. P. -191-212.
48. *Wu C., Li L., Fan Q., Tian W.H., Qiao R.Q.*//Inter. J. Biological Macromolecul. -2002. -V. 31.- № 1-3. -P. 71-77.
49. *Peng Y., Yang J., Tao J., Peng Y., Bao J.*//Huaxi Yaoxue Zazhi.- 1999.- V. 14.- № 1.-P. 16-18. //Chem. Abstr. -1999.- 131.- 29182.
50. *Peng X., Tao J., Yang J., Peng Y., Bao J.*//Huaxi Yaoxue Zazhi - 1999. -V. 14.- № 2.-P. 98-101.// Chem. Abstr.- 2000.- 132.- 60813.
51. *Sinkora M., Bilej M., Tuchova L., Romanovsky A.* // Cell Biol. Int.- 1993. -V. 17.- № 10. -P. 935-939.
52. *Iton T., Asano T., Kanda N., Nakajima N.*// Kagaku to Kyoiku.- 1994.- V. 42.- № 12.- P. 841-843.// Chem. Abstr.-1995.- 122.- 159743.
53. *Enu I., Kauschke E., Mohrig W., Cooper E.L.*//Dev. Comp. Immunol. -1998.- V. 22.- № 1.- P. 13-25.
54. *He Z., He Z., Zhong Y., Jiang Q.*//Zhongguo Yaoke Daxue Xuebao 1997. -V. 28.- № 6.- P.362-365.// Chem. Abstr.- 1998.- 129.- 158312.
55. *Xing B., Yin S., Ru B.*//Shengwu Huaxue Yu Shengwu Willi Xuebao -1997.- V. 29.- № 6.- P. 609-612.// Chem. Abstr. -1998.- 129.- 105811.
56. *Suzuki T., Kawasaki Y., Furukohri T., Ellington W.R.*//Biochem. Biophys. Acta.- 1997. -V. 1342.- № 2.- P. 152-159.
57. *Jiang P., Song J.*//Патент Китая № 1225821.-1999. -Cl A61R35/64. //Chem. Abstr. -2000.- 133.- 168420.
58. *Sun Q., Feng L.*//Патент Китая № 1229852.-1999.- Cl C12N9/68. //Chem. Abstr.- 2000.- 133.- 116713.
59. *Yang J.S., Li L.Y., Ru B.G.*//Zhongguo Shengwu Huaxue Yu Fenzi Shengwu Xuebao.- 1998. -V. 14.- № 4. -P. 412-416 и 417-421.// Chem. Abstr.- 1998.- 129.- 272180 и 272182.

60. Tang Y., Zhang J., Cui L., Wu Ch., Fan R., Chang W., Liand D.//Acta Crystallogr. Sect. D: Biol. Crystallogr. –2000. –V. D56.– № 12. –P. 1659–1661.
61. Tang Y., Liang D., Jiang T., Zhang J., Gui L., Cang W// J. Molecular Biology.– 2002.– V. 321.– № 1.– P. 57–68.
62. Koh Y.S., Joo Ch. N., Choi S.Y., Kim D.S.// Korean Biochemical J.– 1994.– V. 27.– № 1.– P. 75–79.
63. Xu W., Yang Q., Li Y., Chien P.// Huandong Shifan Daxue Xuebao, Ziran Kexueban.– 1996.– № 4.– P. 95–101.// Chem. Abstr.– 1997.– 127– 231048.
64. Yang J.//Shaanxi Shifan Daxue Xuebao, Ziran Kexuebau.– 1998.– V. 26.– № 2.– P. 78–80. //Chem. Abstr.– 1998.– 129.– 272155.
65. Ito Y., Yoshikawa A., Hotani T., Fukuda S., Sugimura K., Imoto T.// Eur. J. Biochem. –1999.– V. 259.– № 1/2.– P. 456–461.
66. Merino-Trigo A., Sampedro L., Rodrigues-berrocal F.J., Mato S., Paez M.//Soil. Biol. Biochem. –2000. –V. 31.– № 12. –P. 1735–1740.
67. Lattaund C., Mora Ph., Garvin M., Locati S., Rouland C.//Pedobiologia.– 1999. –V. 43.– № 6.– P. 842–850.
68. Li Y.T. IshikawaY., Li S. Ch. //Biochem. Biophysical. Resour. Communication. –1987.– V. 149.– № 1.– P. 167–172.
69. Iino T, Shimadate T.//Comperative Biochem. Physiol. Part B: Biochemistry and Molecular Biology.– 1986.– V. 83.– № 1. –P.79–84.
70. Engelstad F., Stenersen J.//Soil. Biol. Biochem. –1991.– V. 23.– № 3. –P. 243–247.
71. Anderson R.A., Aune T., Barstad A.B.//Comp. Biochem. Pysiol., Part C: Comp. Pharmacology.– 1978.– V. 61.– № 1.– P. 81–87.
72. Stenersen J.// Comp. Biochem. Pysiol., Part C: Comp. Pharmacology. –1980. –V. 66.– № 1.– P. 37–44.
73. Borgeraas J., Nilsen K., Stenersen J.// Comp. Biochem. Pysiol., Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology.–1996.– V. 114.– № 2.– P. 129–140.
74. Stubberud H.E., Honsi T.G., Stenersen J.// Comp. Biochem. Pysiol., Part B: Biochemistry and Molecular Biology.– 2000.– V. 126.– № 4. –P. 487–494.
75. Kaloustian K.V.//Comp. Biochem. Physiol., Part A: Physiology – 1981.– V. 68.– № 4. –P. 669–672.
76. Prento P., Prento A.// Comp. Biochem. Pysiol., Part B: Biochemistry and Molecular Biology. –1984.– V. 77– № 2.– P. 325–328.
77. Prat P., Charrier M., Deleporte S., Frenot Y.//Pedobiologia.– 2002.– V. 46.– № 5. –P. 417–427.

78. *Albro P.W., Corbett J.T., Schroder J.L.*// Biochem. Cell Biol.– 1993. –V. 71.– № 3–4. –P. 220–221.
79. *Komeng S., Simdndi B., Deak A., Havas G., Feketa J., Topar J., Hurtai A.*// Патент Венгрии № 68711.–1995.– Cl C11B1/00.// Chem. Abstr.– 1996.– 124.– 85059c.
80. *Sekizawa Y., Hagiwara K., Nakajima T.*// Biomed. Res. –1996. –V. 17.– № 3.– P. 197–203.
81. *Stein E.A., Morovati A., Rahimian P., Cooper E.L.*// Comp. Biochem. Pysiol., Part B: Biochemistry and Molecular Biology.– 1989. –V. 94.– № 4.– P.703–707.
82. *Sugiura T., Yamashita A., Kudo N., Fukuda T., Miyamoto T., Cheng N., Kishimoto S., Waku K., Tanaka T., Tsukatai H., Tokamura A.*// Biochem. Biophysical Acta. –1995. –V. 1258.– № 1.– P. 19–26.
83. *Sugita M., Fujii H., Dulancy J.T., Inagaki F., Suzuki M., Suzuki A., Ohta S.*//Biochem. Biophysical Acta .–1995. –V. 1259.– № 3.– P. 220–226.
84. *Petersen S.O., Holmsrup M.*//Soil Biol. Biochem. –2000.– V. 32.– № 11–12.– P. 1787–1791.

Часть 8

ЗЕМЛЯНЫЕ ЧЕРВИ И ПЛОДОРОДИЕ ПОЧВЫ

С давних времен известно, что наличие земляных червей тесно связано с плодородием почвы. Пропуская через свой кишечник почву вместе с органическими остатками растительных культур, микроорганизмов, органических и неорганических удобрений, земляные черви обогащают эти остатки калием, магнием, фосфором, микроэлементами, а также биологически активными соединениями, образующимися в организме червей. В результате чего выделяемые ими копролиты приобретают свойства, существенно отличающие их от широко используемых органических удобрений, и могут во многих случаях оказать значительно более эффективное действие на сельскохозяйственные растения и способствовать их существенно более высокой урожайности [1].

Как мы уже упоминали ранее, земляные черви являются главными потребителями мертвых растительных остатков. Поглощая вместе с почвой огромное количество растительного детрита, микробов, грибов, водорослей, простейших нематод и т.д., они переваривают их, выделяя с копролитами (копрос – испражнение, литос – камень) большое количество собственной кишечной микрофлоры, ферментов, витаминов, биологически активных веществ, которые обладают антибиотическими свойствами и препятствуют развитию патогенной (болезненной) микрофлоры,

гнилостных процессов, выделению зловонных газов, обеззараживают почву и придают ей приятный характерный запах земли [2–6].

Вышесказанное продемонстрировано в работе [7], где был исследован механизм защиты при внутрибрюшинной инъекции патогенных бактерий земляным червям вида *Eisenia foetida*. Бактерии быстро теряли свою способность к размножению и превращались в специфические агрегаты. В клетках червей происходил синтез двух видов белковых молекул (лектинов) с молекулярными массами 40000 и 45000 Д, которые, по мнению авторов, являлись медиаторами антибактериальной защиты. Однако некоторые бактерии избежали этой участи за счет быстрого проникновения в ткани, окружающие брюшную полость червя, а также в продольные мышцы клеточных стенок. Наиболее полному исследованию способности земляных червей противостоять патогенным бактериям за счет клеточной и гуморальной защиты посвящен специальный обзор [8].

Глава 24

Условия обитания земляных червей

В предыдущем разделе мы коротко уже упоминали об условиях обитания земляных червей. Однако, учитывая многие параметры их успешного функционирования в почве, в этой главе мы остановимся на более детальном их описании. Как уже упоминалось ранее, видовой состав и численность земляных червей зависят от типа почвы. На пастбищах в суглинках, легких суглинистых и супесчаных почвах численность их бывает максимальной и составляет до 450 особей на 1 м², в глинистых значительно меньшей – до 230 и в кислых наименьшей – 25 особей на 1 м² [1–6].

Для питания червей требуются не только органические источники углерода, но и источники азота. Причем потребность земляных червей в азотсодержащей органике достаточно велика. Это определяет пространственную локализацию и уровень плотности популяций червей в разных местностях. В субстрате, богатом азотом, темпы индивидуального роста и плодовитость червей резко увеличиваются. Этот факт является одной из причин их высокой концентрации в смесях экскрементов жвачных животных с растительными остатками на пастбищах [9].

Особенно важным условием для жизни червей является достаточная влажность субстрата. Влажность почвы ниже 30...35% тормозит их развитие, а при влажности 22% они погибают в течение недели. При выращивании земляных червей в лабораторных условиях максимальная масса и производство коконов достигаются при влажности субстрата, равной 70...85%, т.е. близкой к содержанию воды в теле червя.

В среде со значениями pH 5 или более 9 все черви погибают в течение недели. Оптимальной для их роста является нейтральная среда с нейтральными значениями pH [10].

Считается, что в умеренных широтах период активной деятельности червей продолжается 6,5 – 7 месяцев. Они не уходят в глубокие слои почвы на спячку, пока земля не промерзнет на глубину в 5 – 6 см и не появится снежный покров в 8 – 10 см, т.е. пока зима не установится окончательно. Кроме того, достаточно оттепели, чтобы черви перешли в активное состояние, причем они могут выползать даже на снег. Но, как правило, черви при 5°C освобождают кишечник и близки к состоянию зимнего покоя. Они уходят в глубокие слои почвы и впадают в "спячку". Весной черви возобновляют свою активность за 10 – 15 дней до исчезновения мерзлого слоя, т. е. "просыпаются" сразу, как только внешние воды и теплый воздух проникают к ним через почвенные поры в глубокие слои [11].

Концентрация растворимых солей более 0,5% смертельна для червей. Однако соли, используемые для коагуляции жидких органических удобрений, такие, как углекислый кальций, углекислое железо, сернокислый алюминий, хлорное железо, безвредны даже при более высокой концентрации, чем принято в сельском хозяйстве для обработки сточных вод [3].

Например, при действии водного раствора NaCl в концентрациях 20, 40, 60 и 80 ммоль на земляные черви *Eisenia foetida* происходило понижение репродуктивности этих червей, особенно при концентрациях NaCl 60 и 80 ммоль, тогда как массы тела червя становилась даже выше, чем в контроле. Концентрация NaCl 100 и 120 ммоль приводила к 15 и 70%-ному уменьшению численности земляных червей при 10-ти недельной инкубации с этими растворами. Обнаружено, что 60 ммоль KCl и 120 ммоль CaCl₂, MgCl₂, BaCl₂, MnCl₂, SnCl₂ и SrCl₂, также как 180 ммоль AlCl₃ и FeCl₃ не оказывают никакого летального действия на червей, однако их репродуктивная способность значительно понижается. Таким образом, сублетальная концентрация вышеперечисленных хлоридов металлов не оказывала заметного влияния на массу тела червей, но за счет своего осмотического действия подавляла их репродуктивную способность. CoCl₂, CuCl₂ и NiCl₂ в концентрации 80 ммоль, также как LiCl, TlCl в концентрациях 10, 5 и 1 ммоль оказались особенно токсичны для этих червей, приводя к заметному понижению массы тела червей и тотальному ингибированию их репродуктивной способности [12].

Основным продуктом переработки органических веществ почвы, удобрений или отходов земляными червями червей является

гумусоподобное органическое удобрение под названием биогумус или вермикомпост. В свежеприготовленном биогумусе (50% влажности) содержится 12 – 15% гумуса, а в абсолютно сухом – $30 \pm 5\%$.

Такое гумусное удобрение содержит в пересчете на сухое вещество: 0,8 – 2% азота, 0,8 – 2% пятиоксида фосфора, 0,7 – 1,2% оксида калия, 0,3 – 0,5% оксида магния, 2 – 3% оксида кальция, а также все необходимые для растений другие микроэлементы питания в сбалансированном виде в общем количестве 60 – 80 кг на 1 т абсолютно сухого удобрения. Кроме того, гумус является и микробиологическим удобрением. Внесение его в почву нормализует развитие процессов, свойственных здоровой почве [6, 13, 14].

Использование биогумуса, полученного в результате вермикомпостирования листы, приводило к ускорению формирования колоса при возделывании овса на 7 – 10 дней, а также к увеличению урожайности на 12 – 14%. Обнаружено положительное влияние на энергию прорастания и всхожесть семян, которое зависело от дозы внесения биогумуса. Растения, испытывающее влияние отрицательных температур от -5 до -10°C , а также засухи разной длительности, при использовании биогумуса лучше переносили неблагоприятные воздействия, чем контрольные растения. Оценка всхожести семян, испытывавших воздействие экстремальных температур, показала, что она на 5–7% превышала всхожесть семян в контроле [15].

Глава 25

Влияние земляных червей на некоторые физико-химические свойства почвы

Известно, что в силу способности земляных червей прорывать глубокие норы в почве, они в ряде случаев влияют на структуру и некоторые свойства почвы в местах их обитания. Что наглядно иллюстрируют нижеследующие примеры.

Изучение структуры истощенных почв под действием видов земляных червей *Lumbricus terrestris*, *Aporrectodea lag.* и *Aporrectoria collegians* показало влияние земляных червей на устойчивость почвенных агрегатов и разрушение земляными червями связей, стабилизирующих эти агрегаты. Однако функция земляных червей была эффективна на определенном этапе для стабилизации этих агрегатов. Грубая песчаная фракция уменьшалась под действием земляных червей, в результате чего содержание в ней мелких частиц значительно увеличивалось. Содержание

органического углерода увеличивалось на 4,1 – 20% для исследуемого материала и на 21,2 – 43% для отходов почвы. Содержание карбонатов в агрегатах почвы уменьшалось почти на 50,0% под действием *L. terrestris*. Другие виды червей, например *A. longa* не вызывали заметного уменьшения содержания карбонатов исследуемых образцов. Действие *A. caliginosa* увеличивало содержание карбонатов более, чем на 60%. Общее содержание полисахаридов увеличивалось на 35 – 87% в копролитах червей и на 33 – 46% в почвенных структурах материалов под действием земляных червей указанных видов. Из идентифицированных моносахаридов преобладали глюкоза, галактоза и глюкозамин. Авторами сделан вывод, что черви вида *L. terrestris* оказывают наибольший эффект на предел прочности и стабильность связи исследуемых агрегатов почвенных частиц с водой и другими элементами [16].

На примерах проникновения брома в разные виды почвы также показано влияние различных видов земляных червей на удержание воды в почве при ее искусственном дождевании и борьбу с эрозией почвы путем ее структурирования и удержания воды за счет образования червями многочисленных вертикальных нор в почве [17].

Известно, что горнорудные работы, особенно при открытом способе добытия угля могут привести к ухудшению качества почвы. При этом популяция земляных червей уменьшается радикальным образом и ухудшает физико-химические свойства почвы. В связи с этим было показано, что активность земляных червей увеличивает пористость почвы и обеспечивает накопление в ней воды. Органический материал при этом перераспределяется с поверхности почвы на глубину. Корневая система растений и содержание микробной биомассы также увеличивались [18].

Установлены следующие закономерности основных механизмов воздействия червей на почву: разрыхление почвы, деструктурирование, удобрение своими отходами и последующая ее переработка [19]. Влияние земляных червей на разложение органического материала в почве было определено по выделению CO_2 из почвы, инкубированной в присутствии или без земляных червей. Была установлена корреляция между содержанием земляных червей в почве и степенью разложения органического вещества. Земляные черви, по мнению авторов, повышают степень разложения органического материала в почве на 23% при 15°C [20].

Предложена гипотеза о том, что земляные черви стимулируют образование песчаной поверхности почвы путем получения глиноподобных отходов, которые более устойчивы к эрозии. Почвы водораздела, взятые в качестве эксперимента, были подвержены сильному выветриванию и имели кислое значение pH. Содержание в них бурого железняка (железистых солей) и глины, органического материала и

питательных веществ для растений понижалось в направлении понижения склона. Выделение червей увеличивалось в том же самом направлении. Выделения из земляных червей были богаты глиноземом, илистым и органическим материалом, а также содержанием N, P, Ca и Mg по сравнению с окружающей почвой. Выделения из червей легко дезинтегрировались обычным дождем, и эти выделения содержали после их распределения в почве $0,12 \text{ кг/м}^2$ суспензированного органического материала. Селективная эрозия выделений дрожжевых червей оказалась более значительной, чем удаление глинозема с поверхности почвы. Высказано предположение, что увеличение продукции и дезинтеграция выделений земляных червей, возможно, играет основную роль в сохранении плодородия почвы и поступающих в нее питательных компонентов, а также в уменьшении эрозии почвы [21].

Показано, что на почвах, где в качестве удобрения использовался навоз, земляные черви играют решающую роль в усвоении из этого навоза основных питательных компонентов и прежде всего органического углерода. Установлено так же, что земляные черви оказывают значительное влияние на дыхательный процесс микроорганизмов почвы, обеспечивая их кислородом воздуха и оттоком CO_2 , причем этот процесс не связан с усвоением углерода и удержанием азота в почве [22].

Изучено влияние земляных червей на химические свойства почвы на глубине 15 см. Добавление к почве земляных червей вида *Eisenia foetida* приводит к заметному увеличению в почве ионообменного кальция, увеличению содержания фосфора, неорганического азота и азота, доступного для его усвоения в верхних слоях почвы. В нижних слоях почвы наблюдалось увеличение эффективного фосфора и неорганического азота [23].

Изучение влияния земляных червей на распределение частиц почвы по их размеру и распределение общего азота и углерода в почвах, на которых в течение нескольких лет выращивали сою, показало, что земляные черви способны усиливать структурирование этих почв и ее частиц, а также влиять на степень поглощения почвой углерода и азота. Это влияние тем сильнее, чем выше популяция червей в почве [24].

Изучение влияния земляных червей *Lumbricus terrestris*, *Aporrectodea longa*, *Aporrectodea caliginosa* и *Allolobophora chlorotica* на свойства почвы при различных условиях ее возделывания показало, что во все случаях наблюдается значительное увеличение скорости роста и количества биомассы у растительных культур. При использовании земляных червей *Eisenia fetida* (Sav.), *Eudrilus engeniae* (Kinberg), *Perioninix excavatus* (Michaelsen) и *Dendrobaena veneta* (Rosa) вместе с органическими отходами происходит, как увеличение популяции этих земляных червей,

так и ускорение цикла оборота органических веществ в почве, что положительно сказывается на рост и развитие растений. Предложено использование земляных червей в качестве показателя влияния различных химических удобрений, гербицидов, пестицидов и пр. на качество и плодородие почвы [25].

Добавление земляных червей *Lumbricus terrestris* к почве, на которой выращивали кукурузу, пшеницу и сою, усиливало ее структурирование и инфильтрацию. В результате наблюдалось увеличение скорости роста зерновых культур. Добавление земляных червей влияло также на соотношение C:N в почве. Подобное действие объяснялось увеличением пористости почвы за счет действия анесисогенных земляных червей [26].

В результате изучения движения воды в песчано-глинистых почвах, в которых обитают земляные черви *Lumbricus terrestris*, было обнаружено, что трещины в почве необходимы для движения воды вглубь почвы. Чем выше популяция земляных червей, тем лучше происходит попадание воды вглубь почвы за счет ее дренирования норами земляных червей. Величина инфильтрации воды хорошо коррелировала с количеством и биомассой земляных червей в почве. Наиболее высокие скорости инфильтрации воды в почве, измеренные при помощи красителей, достигали величины 1080 мл/мин [27].

Глава 26

Влияние земляных червей на активность ферментов почвы

Земляные черви влияют не только на физико-химические свойства почвы, но и на активность почвенных ферментов, как это будет видно из нижеследующих примеров. Так, в работе [28] изучено количество и распределение органического углерода, углерода микробной биомассы, активности протеазы, арилсульфатазы и арилфосфатазы, а также количества и биомассы земляных червей в почве, на которой в течение 57 лет пасся скот, при ежегодном добавление к ней суперфосфатов со скоростью 188 и 376 кг/га. Полученные результаты сравнивались с контролем, т.е. с той же почвой, но без добавления суперфосфатов, с «дикой» необработанной почвой, не использовавшейся для посевов сельскохозяйственных культур и с участками почвы, на которых интенсивно культивировались сельскохозяйственные растения в течение 11 лет. Обнаружено, что в 60–65 см слое почвы содержание органического углерода меняется следующим образом: культивируемая почва < дикая почва = контролю < выпасная почва с низким содержанием суперфосфата = почве с высоким содержанием суперфосфата. Биологическая активность почвы изменялась в той же закономерности. Например, активность протеазы и арилсульфатазы, а также углерод микробной биомассы

изменялись следующим образом: культивируемая почва < дикая почва < контроль < почва с низким содержанием фосфатов = почва с высоким содержанием фосфатов. Наибольшая активность в контроле по сравнению с необработанной, дикой почвой, по-видимому, объяснялась более регулярным круговоротом органического материала в течение года за счет выпаса на ней животных. Популяция земляных червей увеличивалась следующим образом: культивируемая почва < дикая почва < контроль < почва с низким содержанием фосфата = почва с высоким содержанием суперфосфата. На участках выпаса с фосфатами преобладали земляные черви вида *Aporrectodea caliginosa* (77 – 89%), хотя популяция *Lumbricus rubellus* также имела тенденцию к росту популяции при увеличении скорости поступления суперфосфата в почву выпаса и достигала 44%. Остальные 56% приходились на *A. caliginosa*. Популяции *Octolasion cyaneum* и *A. rosea* присутствовали в малых количествах на выпасных почвах, обработанных суперфосфатом, тогда как на диких почвах и на культивируемых почвах они вообще отсутствовали. Вид *A. caliginosa* был единственным представителем земляных червей на культивируемых почвах. Значение количества биомассы червей распределялось следующим образом: культивируемая почва < контроль < почва с низким содержанием фосфора = почва с высоким содержанием фосфора < дикая почва, однако пропорции молодых особей в популяциях были выше в культивируемой почве и существенно ниже в участках с дикой почвой.

Изучение влияния земляных червей *Allolobophora caliginosa* (Savigny) при культивировании райграсса на почву, у которой был удален верхний пахотный слой на глубину 15 см, показали, что в подпочве без червей во время испытаний потребление кислорода значительно уменьшалось, снижались также ферментативные активности ксиланазы, уреазы, фосфатазы и сульфатазы, но увеличивалась активность инвертазы. В присутствии земляных червей увеличивалось потребление кислорода, содержание целлюлазы и сульфатазы.

Присутствие райграсса повышало все биохимические показания почвы. Эти характеристики улучшались в еще большей степени при добавлении к почве земляных червей, при этом особенно возрастали активности инвертазы, амилазы, уреазы и фосфатазы.

Земляные черви, кроме того, увеличивали биохимическую активность и пищевой цикл и тем самым содействовали в восстановлении продуктивности почвы после удаления из нее верхнего пахотного слоя [29].

Изучению уреазной активности в почве, отходах и в брюшинной полости земляного червя посвящена работа [30]. Уреазная активность была на 30 – 40% выше в только что выделенных земляных червях вида *Aporrectodea caliginosa* по сравнению с необработанной почвой. Уреазная

активность в отходах во время их пребывания в почве оставалась на одном и том же уровне. В брюшной полости червей *Lumbricus terrestris* и *A. coliginosa* уреазная активность была в 2 – 12 раз выше, чем в необработанной почве. Эти значения сравнивали со значениями уреазной активности в выделениях червя *L. terrestris*, в результате чего было установлено, что в дрилоферах этого червя наблюдается высокая микробиологическая активность.

Изучены также активности целлюлазы, протеазы, хитиназы, кислой и щелочной фосфатазы в кишечнике и копролитах земляных червей *Metaphire guillelmi* и *Eisenia foetida* и в почве, инкубированной с этими земляными червями. Количество микробной биомассы при инкубации с вышеназванными земляными червями понижалось, что сопровождалось увеличением количества питательных веществ в почве. Соотношение грибов и бактерий было немного выше в почве, инкубированной с земляными червями. Целлюлазная активность была выше в кишечнике *E. foetida*, чем у *M. guillelmi*, тогда как активности протеазы и фосфатаз были выше в кишечнике *M. guillelmi*. Активность целлюлозолитических ферментов была выше в копролитах земляных червей, чем в самой почве, тогда как активности протеазы, кислой (6,5) и щелочной (9,0) фосфатаз были ниже на 7 – 10% в копролитах земляных червей, чем в почве после ее инкубации с земляными червями. Сделан вывод о том, что микроорганизмы почвы используются земляными червями в качестве вторичных пищевых ресурсов и, проходя через пищеварительную систему земляных червей, они уменьшают общее количество биомассы в почве, но увеличивают количество активных компонентов почвы [31].

В одной из опубликованных работ показано [32], что ферментативная активность была существенно выше в копролитах земляных червей, чем в почве, на которой выращивали сельскохозяйственные растения, в частности, кукурузу. В копролитах земляных червей также были выше концентрации углерода, азота и фосфора. Ферментативная активность земляных червей была тесно связана со свойствами самой почвы и ее физико-химическими характеристиками, в частности, с влажностью почвы и доступностью азота почвы, а также его влиянием на микробную активность почвы.

Изучение видового состава и численности микромицетов, а также активности ферментов (протеазы, уреазы, полифенолоксидазы и пероксидазы) в копролитах и экскретах земляных червей: *L. terrestris*, *A. caliginosa* и *E. foetida*, населяющих почвы Северо-запада России показало обилие и видовое разнообразие грибов в копролитах и экскретах *L. terrestris*. Общий список микромицетов насчитывал 7 видов, принадлежащих к родам: *Alternaria alternate*, *Cladosporium herbarum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium*

chryzogenum, *Fusarium solani*, *Mucor racemosus*. При этом доминировали *Cladosporium herbarum* и *Penicillium cyclopium*. В экскретах *E. foetida* грибы не были обнаружены. В целом из всех видов земляных червей копролиты и экскреты у *L. terrestris* были наиболее благоприятными для развития почвенных микроорганизмов и характеризовались наибольшим содержанием необходимых питательных элементов: органического углерода и аммонийного азота.

Высокая активность протеазы и пероксидазы в копролитах земляных червей уменьшалась по мере освобождения кишечника земляных червей. В экскретах дождевых червей обнаружено снижение активности этих ферментов, тогда как активность уреазы и полифенолоксидазы сохранялись на стабильном уровне. Высказано предположение, что высокая активность пероксидазы в копролитах является результатом привнесения этого фермента не столько дождевыми червями, сколько микроорганизмами.

Показано, что в присутствии *A. caliginosa* концентрация гуминовых кислот в почве с относительно низким уровнем плодородия возрастала на 26%, тогда как в почвах с относительно высоким уровнем плодородия не обнаружено этого влияния на гумификацию. Высказано предположение, что прямое участие земляных червей в образовании гуминовых кислот связано, скорее всего, с экскрецией этими животными полифенолоксидазы, чем пероксидазы. Подобные результаты наблюдались и при применении земляных червей *E. foetida* [33].

Глава 27

Взаимосвязь земляных червей с наличием органических соединений в почве и их усвоением червями

В настоящее время стал совершенно очевидным тот факт, что популяция, распределение и активность земляных червей в самых разнообразных почвах определяется, прежде всего, количеством и качеством органических веществ, находящихся в почве, а также содержанием в ней влаги и температурными условиями [34, 35]. Причем как сами земляные черви влияют на кругооборот и усвоение различных органических соединений в почве, так и органические и неорганические соединения и методы их введения в почву в качестве удобрений оказывают существенное влияние на свойства и поведение земляных червей. Эта взаимосвязь, на наш взгляд, видна из нижеследующих примеров.

Изучено влияние четырех способов добавления азотистых удобрений (0, 40, 80 и 120 кг/га) и трех способов добавления фосфорных удобрений (0, 13 и 26 кг/га) на химические характеристики почвы и копролитов на

непахотную и пахотную почвы. Копролиты земляных червей по сравнению с верхним слоем почвы содержали в 1,5 – 2,3 раза больше органического вещества, в 1,2 – 1,8 раза больше азота, в 1,3 – 1,6 раза больше фосфора, имели в 2,1 – 3,2 раза большую катионообменную емкость по Ca^{2+} , в 2,5 – 3,8 раза катионообменную емкость по Mg^{2+} , в 2,2 – 3,1 раза более высокую катионообменную емкость по K^{+} и в 1,2 – 1,4 раза большую катионообменную емкость по Na^{+} . Причем эти величины были особенно заметны у не вспаханной почвы [36].

Показано также, что эндогенные земляные черви *Pontoscolex corethrus* ускоряют минерализацию органического вещества в почвах, на которых в течение ряда лет культивировали маис. Так, в контрольной почве количество органического вещества понижалось всего на 4%, тогда как в почве с земляными червями *Pontoscolex corethrus* количество органического вещества уменьшалось на 24%. Этот эффект был особенно заметен на почвах с размером частиц 200 – 2000 мкм [37].

Этим же свойством обладают и другие виды червей, например земляные черви *Lumbricus terrestris*, которые усиливали минерализацию азота в почве при внесении в нее минеральных удобрений при использовании мочевины и $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$. Количество минерального азота в почве под действием земляных червей увеличивалось значительно сильнее в присутствии мочевины, чем $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ [38].

Изучение фиксации азота в кишечнике земляных червей различных видов приведено в работе [39]. У червей *Lumbricus terrestris* аэробная нитрогеназная активность была в 3 раза выше, чем у червей другого вида и у них же наблюдалось более высокое усвоение азота. Эти свойства зависели от видов почвы, в которой находились черви. Так, в сильно минерализованной почве активность этого вида червей была наиболее низкой.

В других работах подтверждена та роль, которую играют земляные черви в круговороте азота и других органических веществ. Они не только связывают и выделяют уже измененный азот в виде его соединений с копролитами, но также участвуют и в биоразложении мертвых органических тканей и корней растений. В почвах, содержащих большое количество земляных червей, урожайность сельскохозяйственных культур была значительно выше, чем в почвах, в которых содержалось мало червей, даже при высоких уровнях неорганических или органических удобрений [40].

Этот же факт подтвержден и в более ранней публикации, в которой показано, что земляные черви существенно увеличивают респираторную способность почвы, количество азота, усваиваемого почвой из органических и неорганических удобрений, а также усиливают обмен веществ и минерализацию микробных тканей в почве [41].

Окончательно установлено влияние земляных червей на доступность азота и величину биомассы в почве. В одной из недавних работ показано, что земляные черви существенно увеличивают количество доступного минерального азота в почве, на которой в течение ряда лет выращивали различные злаковые культуры, например, пшеницу, кукурузу, сою и некоторые другие [42].

Для изучения влияния земляных червей на образование гумуса в почвах были проведены следующие экспериментальные исследования на двух видах почвы (А и Б) с тремя концентрациями калиевых солей в данных почвах. В конце эксперимента (180 дней) содержание минерального азота в виде NO_3^- было много ниже, чем это отмечалось в начале эксперимента, но содержание аммонийного азота в виде NH_4^+ было одинаково в почве Б и слегка выше в почве А. Влияние калия очевидно важно для обеспечения нитрификации азота в почве А. Сделан вывод, что во влиянии калия на нитрификацию азота оказывают немалую роль земляные черви, которые способствуют более быстрому образованию гумуса в почвах [43].

На примере лигнина, меченного ^{14}C , показана роль земляных червей в его разложении при биопереработке листьев, сухой травы и других растительных отходов. Изучены два вида земляных червей *Octolasion lactenium* и *Lumbricus castaneus*. Показано, что переработка червями лигнина приводит к увеличению содержания минерального азота в почве и высвобождению $^{14}\text{CO}_2$ из лигнина [44].

Метаболизм пищевых веществ в земляных червях изучали в работе [45]. Земляные черви (*Lumbricus terrestris*) помещались в стеклянные сосуды, имитирующие их норы. Червей кормили листьями маиса, сеном и частично к кормам добавляли почву. Измеряли степень выделения CO_2 , количество поедаемого корма и количество материала, выделенного из червей (casts). Пища и выделения анализировались на содержание в них Р, Са и N. Обнаружено, что черви этого вида потребляют небольшие количества этих элементов. Содержание Са, Р и N было больше в копролитах, чем в самой пище. Во время прохождения пищи через кишечник значение pH его содержимого и содержимого отходов понижалось. Содержание кальция в отходах и в кишечнике не оказывало влияния на pH.

На культивированной почве (содержание органического С 1,5%, годовые осадки 2000 – 3000 мм) было изучено влияние органических удобрений в виде навоза и неорганических удобрений, содержащих N, Р, К (NPK), на популяцию, биомассу и выделения земляных червей (вид не приведен). Использование удобрений вызывало значительное увеличение биомассы земляных червей, их численности и количества выделений. Азот один или в комбинации с Р и К, также сильно влиял на вышеназванные

параметры. Неорганические удобрения в комбинации с органическими удобрениями оказывали существенно большее влияние на вышеназванные параметры, чем НРК. Сделан вывод, что для улучшения качества почвы необходимо использовать смесь органических и неорганических удобрений [46].

В лабораторных условиях осуществлялся мониторинг между активностью кормления и копролитами земляного червя вида *Amyntas alexandri*. Кормление осуществлялось побегами пшеницы, проросшими семенами и травяными смесями. Испражнения собирались в специальные контейнеры. Ежедневная пищевая нагрузка варьировалась от 36,5 до 69 мг/г веса живого червя. Ежедневное количество испражнений составляло от 3,5 до 5,9 мг/г веса живого червя. Отношение C/N в испражнениях в лабораторных условиях составляло 11,2. В полевых условиях это соотношение было 8,84, т.е. ниже, чем соответствующее соотношение в пахотном (13,2) или плодородном слоях почвы (10,5). По мнению авторов, подобную разницу можно объяснить, скорее всего, минерализацией органического материала из растений при его прохождении через внутренности земляного червя при проведении экспериментов в лабораторных условиях [47].

На примере пшеницы показано преимущество использования копролитов земляных червей по сравнению с использованием обычного компоста на рост и развитие растений. Копролиты оказались более эффективными источниками для питания растений и, кроме того, оказывали меньший солевой стресс на растения по сравнению с обычными компостами и минеральными удобрениями [48].

Показано также, что количество и продуктивность земляных червей *Aporrectodea trapezoids* и *Aporrectodea rosea* могут служить показателем продуктивности сельскохозяйственных растений и эффективности усвоения азотистых минеральных удобрений на различных видах почвы [49].

Предложена процедура, которая позволяет количественно оценить недостаток в почве тех или иных химических элементов или контаминации ее различными поллютантами. В качестве основного показателя всех этих веществ был выбран земляной червь рода *Eisenia foetida*, в частности влияние всех этих химических соединений на рост и размножение этого червя. Приведена подробная методика определения потребности почвы в питательных элементах и ее количественная характеристика зараженности поллютантами [50].

В качестве контроля количества земляных червей в торфе и других видах почв предложен метод определения количества и жизнеспособности земляных червей при помощи таниновой кислоты. Таниновые кислоты,

выделенные из различных источников, были разбавлены в 20 раз водой, и 25 мл смеси вводилось *in vitro* в 100 г песка, где были помещены земляные черви. Этот метод, по мнению авторов работы [51], позволяет обеспечить общий контроль количества земляных червей родов *Pheretina communissima* и *Eisenia foetida*.

Земляные черви оставляют от 2,7 до 19,3 кг выделений в пересчете на сухой вес на м² почвы в зависимости от района их обитания. Эти выделения характеризуются значением pH 6,4 и отношением C:N = 10,3. Они обогащены азотом, фосфором и калием, элементами, легко доступными для растений. Обогащение выделений кальцием имело место в почвах, pH которых был ниже 6; обогащение фосфором в почвах с низким содержанием фосфора (0,8 – 1,6 мг P₂O₅) наблюдалось на тех почвах, которые содержали большое количество червей и имели соответственно большее количество выделений. Высокое содержание питательных компонентов в отходах земляных червей наблюдалось в тех районах, где в качестве удобрений использовался навоз, являющийся источником пищи для земляных червей [52].

Глава 28

Земляные черви как биомаркеры заражения почвы поллютантами

В целом ряде работ высказано предположение, что земляные черви могут быть эффективными биомаркерами для определения степени заражения почвы различными поллютантами, например такими, как пестициды, тяжелые металлы и пр. Этой теме посвящен специальный обзор, в котором обсуждается возможность использования земляных червей в качестве биомаркеров, характеризующих состояние почвы и ее зараженность тяжелыми металлами и различными другими загрязнителями [53].

На основе своих собственных и работ других исследователей авторы одной из публикаций пришли к выводу, что беспозвоночные животные наиболее пригодны для токсического изучения химических поллютантов за счет своих высоких иммунных свойств. В связи с этим предложено создавать биомаркеры на основе внутренних органов земляных червей, например, таких как коэломициты (клетки брюшной полости), которые могут быть чувствительными индикаторами для определения сублетальной (LC) иммунотоксичности отдельных химических соединений и их смесей [54].

Предложено использовать земляные черви различного вида в качестве мониторинга накопления тяжелых металлов в почве, таких как

кадмий, цинк и свинец, так как черви способны аккумулировать эти металлы в своих органах [55].

Изучено влияние ряда тяжелых металлов на рост, размножение и выживание земляных червей вида *Eisenia foetida*. Смертность, рост и продукция коконов измерялась через 56 дней после начала опыта на специально выбранной почве. Продуктивность коконов была наиболее чувствительным показателем для всех 4-х видов металлов (Cd, Cu, Pb и Zn) по сравнению со смертностью червей. Особенно сильное влияние проявляли Cd и Cu. Однако эти металлы не оказывали никакого влияния на жизнеспособность оставшихся коконов. Вес земляных червей снижался во всех экспериментах, что, возможно, было связано с отсутствием подходящей еды в почве. Значение LC_{50} для цинка после 14-дневного эксперимента на почве, покрывающей район в 75 м^2 по сравнению с $4,2 \text{ км}^2$ для меди и $4,7 \text{ км}^2$ для свинца. Кадмий нигде не достигал значения LC_{50} в исследуемом районе [56].

Сделано заключение, что красный калифорнийский червь *Eisenia foetida* и анесисогенный червь *Lumbricus terrestris* могут служить прекрасным биомаркером заражения почвы пестицидами, тяжелыми металлами и другими токсичными фоллиантами [57, 58].

Изучено накопление и выделение кадмия, хрома и цинка и их влияние на рост и размножение земляного червя *Eisenia andrei*. Кадмий в концентрации 10 мг/кг (очевидно, почвы) значительно уменьшал продуктивность червей и количество коконов. После 3-х недельной экспозиции кадмий появлялся и в самом черве. Однако репродуктивность полностью восстанавливалась к концу 3-х недельного периода, хотя содержание кадмия в теле червя было достаточно высокой. Сделан вывод, что кадмий сильно связывается с внутренними органами червя и поэтому плохо выводится из организма. При концентрации хрома 100 мг/кг наблюдалось также значительное накопление этого металла в теле червя и снижение репродуктивности. Однако, в отличие от кадмия, хром полностью выводился из организма червя к концу 3-х недельного периода, и после этого репродуктивность червя полностью восстанавливалась. Цинк уменьшал репродуктивность червя при концентрации 560 – 1000 мг/кг. Червь оказался не способен регулировать содержание цинка в организме, и только при концентрации 1000 мг/кг сухой почвы и выше наблюдалось накопление цинка в теле червя. Однако и в этом случае концентрация цинка возвращалась к исходному уровню после 3-х недельного периода и полностью восстанавливалась репродуктивность земляного червя [59].

Изучение влияния 62 различных химических соединений на несколько видов земляных червей, как возможных индикаторов химических соединений и удобрений, вносимых в почву, показало, что

такими индикаторами могут быть земляные черви следующих видов: *Allolobophora tuberculata*, *Eisenia fetida*, *Eudrilus eugeniae* и *Perionyx excavatos*. Наиболее чувствительными оказались черви *Eisenia fetida*, которые могли использоваться как индикатор влияния токсичности химических соединений на обитателей почвы и саму почву [60].

Изучение ряда земляных червей, относящихся к виду *Lubricidae* как инструмент биомониторинга почвы вблизи заводов, выплавляющих свинец, показало, что черви этого вида способны накапливать значительные количества свинца в своих тканях в зависимости от концентрации его в почве. В этом случае эффективными для биомониторинга оказались земляные черви *Aporrectodea caliginosa*, которые могут накапливать и выделять значительные количества Pb [61].

Показано также, что в земляных червях в окрестностях ферм наблюдались высокие концентрации Cd, Cu, Pb и Zn по сравнению с почвами в диких местах, не получающих удобрений. Однако концентрация всех тяжелых металлов в почвах, удобряемых отходами с ферм, имеет тенденцию к снижению концентрации этих металлов во времени. Концентрации Cd и Pb были значительно выше в земляных червях, собранных из почв, подвергнутых обработке фермерскими отходами. Однако и у них концентрация тяжелых металлов имела тенденцию к понижению после 5-ти летнего периода наблюдений. Подобные закономерности, очевидно, зависят от культивирования на этих почвах растений, а также органических соединений, внесенных на эту почву [62].

Земляные черви как индикаторы трансформации ксенобиотиков описаны в работе [63]. Высказано предположение, что земляные черви могут быть лучшими индикаторами трансформации ксенобиотиков в почве.

Изучение способности земляного червя *Lumbricus rubellus* потреблять полихлорированные дифенилы (ПД) из почвы, обработанной этими поллютантами, показало, что биоаккумуляция ПД у земляных червей имеет пассивный характер и, возможно, контролируется диффузионными процессами. Время полураспада ПД в трехфазной системе почва/почва с водой/земляной червь составляло 3–4 дня. Фактор биоконверсии тетра- и октахлорированных дифенилов изменялся от 4 до 20 и мало зависел от их коэффициента распределения в смеси октановый спирт – вода [64].

Эксперименты с хлорорганическими пестицидами на земляных червях вида *Endibus cugense* и *Eisenia foetida* показали, что пестицид дильдрин вызывает повреждения в ультраструктуре спермы червей вида *Endibus cugense*, что было обнаружено с помощью электронной

микроскопии. Черви, подвергнутые обработке дильдрином в количестве 7,27 мг/кг и выше, показывают более, чем 10%-ное повреждение в сперме. Экспозиция червей вида *Eisenia foetida* при сублетальных концентрациях дильдрина не приводила к повреждению спермы, и при этом наблюдалось увеличение в росте червей и репродуктивной активности. Сделан вывод, что для отдельных видов червей сперма может служить индикатором загрязнения почвы, но увеличение в росте и репродуктивности определенных видов червей может быть ответом на введение пестицидов для восстановления экологического баланса [65].

Для определения влияния пестицидов на дыхательную способность земляных червей были проведены специальные лабораторные исследования, где в качестве контроля была взята способность земляных червей выдыхать CO_2 . Три вида червей кормились растениями с пестицидами тетрабутилазином и карбофураном. После 12 недель кормления определяли выход CO_2 из земляных червей при помощи газовой хроматографии. Высокие концентрации тетрабутилазина обычно увеличивали количество выделяющегося CO_2 , тогда как низкие концентрации приводили к понижению выхода CO_2 во всех трех видах червей. Низкие концентрации карбофурана напротив увеличивали количество выдыхаемого CO_2 для всех трех видов земляных червей. Высокие дозы этого пестицида отрицательно влияли на респираторную способность *Lumbricus terrestris* и *L. rubellus* через три недели экспозиции и на *Eisenia andrei* после 4-х недель экспозиции [66].

Как известно, алюминий, несмотря на его плохую растворимость, является токсичным для многих видов растений. Изучено влияние алюминия на поведение земляных червей *Eisenia foetida* в почве при трех значениях pH: 4,0; 5,5 и 6,5. Были получены следующие результаты:

- LD_{50} при pH 4,2 имело значение 2000 – 4000 мг/кг;
- высокие концентрации алюминия в почве ингибируют откладывание коконов при pH 6,0 – 7,0;
- низкие концентрации алюминия в почве ингибируют выведение и рост молодых особей при низких значениях pH;
- жизнеспособность коконов и появление молодых особей стимулируется чувствительностью родителей к различным уровням концентрации алюминия в почве при pH 6,0 – 7,0 [67].

Влияние агрохимии на земляных червей достаточно подробно обобщено в работе [68]. Показано, что карбаматы являются существенно более токсичными веществами для земляных червей по сравнению с органофосфорными инсектицидами. Некоторые соединения оказывают экстремальное влияние на нервную систему земляных червей. Земляные черви могут накапливать в своем организме тяжелые металлы из почвы в значительном количестве по сравнению с другими животными.

Установлено, что ртуть для земляных червей в 20 раз токсичнее, чем кадмий.

Глава 29

Влияние земляных червей на продуктивность растений

Изучение влияния земляных червей *Aporrectodea rosea* и *A. trapezoides* на концентрацию микроэлементов в листьях и рост пшеницы спустя 27 дней после ее посева на песчаной почве показало, что присутствие *A. rosea* и *A. trapezoides* (при плотности 314 и 471 особь/м² соответственно) приводило к значительному увеличению роста пшеницы. Присутствие *A. rosea* и *A. trapezoides* (при плотности 314 и 157 особей/м² соответственно) также было связано со значительным увеличением сухого веса корней пшеницы. Присутствие *A. rosea* вызывало значительное увеличение содержания концентрации в листьях Ca, Cu, K, Mn, N, Na и P, но не влияло на концентрацию в листьях Al, B, Fe, Mo, Mg, S и Zn. Присутствие в почве *A. trapezoides* было тесно связано с увеличением в листьях микроэлементов Al, Ca, Fe, K, Mn, N и Na, но не влияло на концентрацию B, Cu, Mo, Mg, P, S и Zn. Эти результаты показали, что потенциально *A. rosea* и *A. trapezoides* увеличивают рост пшеницы на песчаных почвах и подтверждают, что механизм в соответствии с которым они увеличивают рост растений, объясняется, в частности, тем, что имеет место доступность и увеличение питательных ингредиентов из того вида почвы под их влиянием [69]. Показано также, что земляные черви *Aporrectodea trapezoides*, *Eisenia rosea*, *Perionyx corethrurus* и *Diploptrema* sp. увеличивают на 64,4% выход сельскохозяйственных злаков, например овса при обычных условиях культивирования [70].

На примере увеличения численности земляных червей *Lumbricus terrestris* показано, что они положительно влияют на урожайность таких культур, как латук, маис, рис и др. Это влияние объясняется иммобилизацией на их поверхности компонентов, содержащих азот, и затем постепенном его освобождении в почву, а также за счет содержания в их экскрементах K, P, Ca, Mg, Fe, которые наиболее доступны для питания растений, чем эти же элементы, внесенные в почву в виде минеральных удобрений [71].

Влияние земляных червей на продуктивность пастбищных растений изучалось путем создания трех видов плотности земляных червей: низкой – 37, средней – 114 и высокой 169 земляных червей на м² пастбища и влажности почвы 30 л/м² пастбища. Активность земляных червей оценивалась по количеству копролитов на м² пастбища в год. Показано, что количество копролитов увеличивается при увеличении плотности земляных червей, но мало меняется при увеличении влажности почвы.

Однако это увеличение количества копролитов мало влияло на увеличение роста пастбищных растений. Сделан вывод, что влияние копролитов земляных червей на структуру и продуктивность пастбищных растений происходит постепенно, когда увеличивается способность пастбищных растений к усвоению питательных веществ из копролитов [72].

Показано также, что анесисогенные земляные черви *Mortiodrillus* n. sp., обитающие на пастбищах, стимулируют продуктивность почвы и рост растений. Это влияние обусловлено копролитами этих червей, а также и способностью создавать глубокие норы и тем самым удерживать влагу в почве. По мнению авторов статьи, черви этого рода являются «инженерами почвенных экосистем», так как обеспечивают условия для существования другим почвенным организмам и создание соответствующих биоструктур почвы [73].

Сравнение эффективности биогумуса, получаемого вермикомпостированием в вермигрядах и затем вносимого в почву в виде органического удобрения, с биогумусом, получаемым непосредственно в самой почве под пропашной культурой в результате ее инициированного вермикомпостирования показало, что вариант с инициированным вермикультивированием по всем показателям был эффективнее варианта, с внесением в почву готового вермикомпоста. Урожай картофеля в зависимости от сорта в первом случае был на 38% (сорт Невский) и на 80% (сорт Адретта) больше и составлял соответственно 475 и 456 ц/га. При этом содержание крахмала в клубнях было в среднем на 20% выше.

Вариант с инициированным вермикультивированием отличался также более высокими показателями биомассы микроорганизмов, «дыхания» почвы, активности несимбиотической фиксации азота, а также численности таких агрономически важных групп микроорганизмов, как фосфатмобилизующие бактерии и деструкторы целлюлозы. Это свидетельствует о более высоком уровне биологической активности почвы, обрабатываемой в системе полевого вермикультивирования по сравнению с почвой, в которую вносили готовый вермикомпост [74].

Взаимосвязь между земляными червями, полезными микроорганизмами и патогенами для корней растений приведена в работе [75], в которой показано, что земляные черви существенно увеличивают в почве содержание полезных микроорганизмов и понижают степень заболевания корневой системы пшеницы.

Высказано предположение, что положительное влияние земляных червей на плодородие и урожайность почвы может быть обусловлено тем, что отдельные виды земляных червей продуцируют в процессе их жизнедеятельности не только ферменты, но и другие биостимуляторы. Так было показано, что земляные черви *Nicodrilus caliginosus* и *Allolodfphora roseas* осуществляют биосинтез гуминовых веществ, действующие как

гетероауксин и ему подобные соединения. Применение этих веществ для роста моркови *in vitro* и *in vivo* показало эффективность их использования, сравнимую с синтетическими ауксинами [76].

Аккумуляция других биостимуляторов, например полиолов земляными червями описано в работе [77]. Так, коконы пяти видов земляных червей накапливали полиолы, возможно, сорбит и другие ему подобные соединения, при их обезвоживании или обезвоживании почвы при -3°C и $+20^{\circ}\text{C}$. Низкая температура (0°C) не вызывала накопление полиолов, когда отсутствовало обезвоживание. Сделано заключение, что накопление полиолов уменьшает потери воды в клетках, увеличивает способность земляных червей к выживанию при холодных или сухих условиях и тем самым влияет на плодородие почвы.

Таким образом, из приведенных литературных источников видно, что земляные черви, несомненно, оказывают положительное влияние на структуру, сохранение почвы и увеличению ее урожайности, о чем говорил еще Чарльз Дарвин в своей последней книге «The formation of vegetable mould through the action of worms with observations on their habits». Механизмы этого влияния весьма противоречивы, но можно со всей уверенностью сказать, что мы, живя с этими древними животными, обязаны их всячески сохранять, так как во многом урожаи наших сельскохозяйственных культур зависят от присутствия и количества этих беспозвоночных.

Список литературы

1. Feller C., Brown G.G., Blanchart E., Deleporte P., Chernyanskii S.S.//Agriculture, Ecosystem & Environment. – 2003. – V. 99. – № 3.– P. 29–49.
2. Werner M. R.//Sustainable Agriculture. –1990. – V. 3. – № 1.– P. 10–14.
3. Weerner M.R.//Am. J. Alternative Agriculture. –1996.– V.11.– № 2.– P. 176–181.
4. Guanzon Y., Holmer R.J.//Proc. National Eco-Waste Multisectoral Conference and Fair at Pryce Plaza Hotel, Cagayan de Oro City, Philippines, 16–18 July 2003.– P. 178–184.
5. Moral R., Moreno-Caselles J., Perez-Murcia D., Perez-Espinosa A., Peredes C.//Bioresour. Technol. –2005.– V.96.– N2.– P.153–158.
6. Андреев А.М. Биогумус. – М.: Рипол Классик, 2000. – 32 с.
7. Valembois P., Lassegue M., Hirrogouenberry F., Segmour J.// Comp. Biochem. Physiol., C: Comp. Pharmacol. Toxicol.– 1993.– V. 106C.– № 1. –P.255–260.
8. Bilej M., De Baetseler P., Beschin A.//Folia Microbiol. (Praga).– 2000.– V. 45.– № 4.– P. 283–300.

9. *Tripathi G., Bhardwaj P.*//Bioresour. Tecnol. –2004.– V. 92.– № 2.– P. 215–218.
10. *Lee K.*// Earthworms: Their Ecology and Relationships with Soil. –NY.: Academic Press, 1985. – 432 p.
11. *Edwards C.A., Lofti J.R.*//Biology of Earthworm.– London.: Chapton A.& Holl B, 1977. – 282 p.
12. *Fisher E., Molnar L.*// Soil Biol. Biochem.– 1997. – V. 29. – № 3/4.– P. 667–670.
13. Богатый урожай. – 2003. – № 3. – С.16–20.
14. *Игонин А.М.* Как повысить плодородие почвы в десятки раз с помощью дождевых червей. – М.: ИКЦ «Маркетинг», 2002.– 32 с.
15. *Дубровский Н.Г., Потапова С.С.* Почвы. Национальное достояние России. Материалы IY съезда Докучаевского общества почвоведов 9–13 августа 2004. Кн. 1. – Новосибирск: Наука-центр, 2004.– С. 296.
16. *Zhang H., Schrader S.* // Biol. Fertil. Soil.– 1993. –V. 15.– № 3. –P. 229–334.
17. *Carter M.M., Mele P.M., Steed G.R* // Soil Sci.– 1994. –V. 157.– № 4.– P. 224–231.
18. *Scullion J.* // Int. Symp. Environ. Biotechnol. Three-Day Symp., 2-ed 1994, 49-51. Ins. Chem. Eng.: Rugby, U.K. //Chem. Abstr.– 1994.– 121.– 254668.
19. *Broun G.G* //Plant Soil. –1995.– V. 170.– № 1.– P. 209 – 231.
20. *Eguchi S., Hatano R., Sakuma T.* // Nippon Dojo Hiriyogaku Zasshi.– 1995. – V. 66. – № 2.– P. 165–167. //Chem. Abstr.– 1995.– 123.– 8538.
21. *Nooren C., Breemen N., Stoorvogel J.J. Jangmans A.C.*// Geoderma.– 1995.–V. 65.– № 1–2. –P. 135–148.
22. *Hendriksen N.B.* // Soil Biol. Biochem.– 1997.– V. 29.– № 3/4.–P. 347–351.
23. *Sasaki H., Ando H., Kobayashi S.*// Nippon Dojo Hiriyogaku Zasshi.– 1994. –V. 65.– № 2. –P. 184–186. //Chem. Abst.– 1994.– 121.– 8049.
24. *Ketterings Q.M., Blair J.M., Marinissen J.C.Y.*// Soil Biol. Biochem.– 1997.– V. 29.– № 3/4.–P. 401–408.
25. *Edwards C.A., Bater J.E.*//Soil Biol. Biochem. –1992.– V. 24.– № 12.– P. 1683–1689.
26. *Shuster W.D., Subler S., McCoy E.L.*//Soil and Tillage Resear.– 2000. –V. 54.– № 3–4.– P. 179–189.
27. *Shipitalo M.J., Nuutinen V., Butt K.R.*//Appl. Soil Ecology. –2004. –V. 26.– № 3. –P. 209–217.
28. *Fraser P.M., Haynes R.J., Williams P.H.*// Biol. Fertil. Soil.– 1994.– V. 17.– № 3. – P. 185 –190.
29. *Ross D.J., Annette C.*//Soil Biol. Biochem. –1982. –V. 14.– № 6. –P. 583–587.
30. *Тиунов А.В.*// Изв. Акад. Наук. Сер. биол.– 1993.– №5.– С. 472–475.

31. Zhang B.C., Li G.T., Shen T.S., Wang J.K., Sun Z.//Soil Biol. Biochem. – 2000. –V. 32.– № 14.– P. 2055–2062.
32. Dkhar M.S., Mishra R.R.// J. Indian Bot. Sci.–1992.– V. 71.– № 1–4.– P. 303–304.
33. Битюцкий Н.П., Соловьева А.Н., Лукина Е.Н., Лапина И.Н., Кудряшова Н.В.// Почвы. Национальное достояние России. Материалы IV съезда Докучаевского общества почвоведов 9–13 августа 2004. Кн. 1. – Новосибирск: Наука-центр, 2004. – С.601.
34. Ortiz-Ceballos A.I., Frago C., Eguihuea M., Brown G.G.//Pedobiologia – 2005. –V. 49.– № 1.– P. 89–95.
35. Wever L.A., Lysyk J.T., Claperton M.J.//Pedobiology.– 2001.– V. 45.– № 2. –P. 121–133.
36. Lal R., De Vleeschauwer D.//Soil and Tillage Resear. –1982.– V. 2.– № 1. – P. 37–52.
37. Desjardins T., Charpentier F., Pashanasi B., Pando-Bahuon A., Lavelle P., Mariotti A.//Pedobiologia.– 2003.– V. 47.– № 5–6.– P. 835–841.
38. Helling B.//Verh. Ges. Oecol. –1997.– № 27.– S. 107–112.
39. Стриганова Б.Р., Деримова Т.Д., Тиунов А.В. // Известия АН СССР. Сер. биол.– 1993.– №2.– С. 257–263.
40. Bhadauria T., Ramakrishnan P.S.// Biol. Fertil Soil. –1996.– V. 22.– № 4. – P. 350–354.
41. Bohlen P.J., Edwards C.A.// Soil Biol. Biochem. –1995.– V. 27.– № 3.– P. 341–348.
42. Subler S., Baranski C.M., Edwards C.A.//Soil Biol. Biochem. –1997.– V. 29.– № 3–4. – P. 413–421.
43. Sempere A., Gomez I., Burlo F., Mataix J.// Agrochimia.– 1995.– V. 39.– № 2–3. – P. 153–160.
44. Sehen S. // Soil Biol. Biochem. – 1993. – V. 25.– № 12.– P. 1703–1711.
45. Heine O., Laric O. // Pedobiologia.– 1993. – V. 37.– № 4.– P. 245–256.
46. Tiwari S.C // Biol. Fertil. Soils.– 1993.– V. 16.– № 4.– P. 293–295.
47. Kaushai B.R., Bisht S.P.D., Kalia S. // Biol. Fertil. Soil. –1994. –V. 17.– № 1. – P. 14–17.
48. Chaoui H.I., Zibilske L.M., Ohno T.//Soil Biol. Biochem. – 2003.– V. 35.– № 2. – P. 295–302.
49. Subler S., Baranski C.M., Edwards C.A.//Soil Biol. Biochem. – 1997.– V. 29.– № 3–4. – P. 413–421.
50. Gibbs M.H., Wicker L.F., Steward A.J.// Environ. Toxicol. Chem.– 1996.– V. 15.– № 3.– P. 360–368.
51. Yoshizaki M. // Патент Японии № 0812516.–1996.– Cl A01N65/00. //Chem. Abstr.– 1996.– 124.– 223755e.
52. Nowak E. //Ecol. Pol. –1995 (publ. 1996). –V. 43.– № 3–4.– P. 205–215.

53. *Kammenga J.E., Dallinger R., Donker M.H., Kohler H.R., Simonsen V., Triebekorn R., Week J.M.* // *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*—2000.— № 164.— P. 93–147.
54. *Goven A.J., Fitzpatrick L.C., Venables B.J.* // *Ann. N.Y. Acad. Sci.*—1994.— № 712.— P. 280–300.
55. *Morgan J.E., Morgan A.J.* // *Environ. Pollut.*—1993.— V. 82.— № 1.— P. 1–7.
56. *Cartan F.* // *Environ. Pollut.*—1994.— V. 84.— № 20.— P. 123–130.
57. *Honeycutt M.E.* // *Avail Univ. Microfilms Int.*— № DA943088.— 1993.— 150. // *Diss. Abstr. Int. B.*—1995.— V. 55.— № 7.— P. 2624. // *Chem. Abstr.*—1995.— 122.— 183658g.
58. *Varschaeve L., Gilles J.* // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*—1995.— V. 54.— № 1.— P. 112–119.
59. *Van Gestel C.A., Dirven-van Breemen E.M., Baerselman R.* // *Sci. Total Environ.*—1993.— Suppl., pt. 1.— P. 585–597. // *Chem. Abstr.*—1994.— 120.— 184922.
60. *Callahan C.A., Shirazi M.A., Neuhauser F.F.* // *Environ. Toxicol. Chem.*—1994.— V. 13.— № 2.— P. 291–298.
61. *Terhivuo J., Pankakoski E., Hyvarinen H.* // *Environ. Pollut.*—1994.— V. 85.— № 1.— P. 87–96.
62. *Brewer S.R., Barrett G.W.* // *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*—1995.— V. 54.— № 1.— P. 120–127.
63. *Viswanathan R.* // *Chemosphere.*—1994.— V. 28.— № 2.— P. 413–420.
64. *Larsen B., Pelusio F., Sreja H., Paya-Perez A* // *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*—1992.— V. 46.— № 1–3.— P. 144–162.
65. *Reineke A.J., Reinecke S.A., Froneman M.* // *S-Afr. Tydskr. Natuurwet Tegnol.*—1994.— V. 13.— № 1.— P. 21–24. // *Chem. Abstr.*—1994.— 121.— 29470.
66. *Brunniger R., Viswanathan R., Beese F.* // *Ecotoxicol. Environ Saf.*—1995.— V. 32.— № 1.— P. 68–72.
67. *Phillips D.R., Bolger T.* // *Pedobiologia.*—1998.— V. 42.— № 2.— P. 125–130.
68. *Dureja P., Patra D., Jonson S., Tomar S.S.* // *Toxicol. Environ. Chem.*—1999.— V. 71.— № 3–4.— P. 397–404.
69. *Stephens P.M., Davoren C.W., Double B.M., Ryder M.M.* // *Biol. Fertil. Soils.*—1994.— V. 18.— № 2.— P. 150–154.
70. *Buckerfeld J.C., Lee K.E., Davoren C.W., Hannay J.N.* // *Soil Biol. Biochem.*—1997.— V. 29.— № 3–4.— P. 547–554.
71. *Devlieger W., Verstrache W.* // *Soil Biol. Biochem.*—1996.— V. 28.— № 4/5.— P. 489–496.
72. *Blakemore R.J.* // *Soil Biol. Biochem.*—1997.— V. 29.— № 3–4.— P. 603–608.

73. *Birand M., Hauser S., Amougou D.L.*// *Pedobiologia.*– 2003.– V. 47.– № 5–6.– P. 819–824.
74. *Терещенко Н.Н., Чичерин Г.М., Бубина А.Б.*// *Почвы. Национальное достояние России. Материалы IV съезда Докучаевского общества почвоведов 9–13 августа 2004 г. Кн.1.*– Новосибирск: Наука-центр, 2004.– С. 686.
75. *Edwards C.A., Bate J.E.*// *Soil Biol. Biochem.* –1992.– V. 24.– № 12.– P. 1683–1689.
76. *Muscolo A., Bovallo F., Gionfriddo F., Nardi S.*// *Soil Biol. Biochem.* – 1999. –V. 31.– № 9. –P. 1303–1311.
77. *Holmstrup M.*// *Comp. Biochem. Physiol.*– A: *Physiol.* – 1995.– V. 111 A.– № 2.– P. 251–255.

ЧАСТЬ 9

ВЕРМИКОМПОСТИРОВАНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ И КОРМА ДЛЯ ЖИВОТНЫХ

Считается, что вермикомпостирование является наиболее прогрессивным методом переработки органических отходов. Учитывая, что этот метод имеет косвенное отношение к микробиологии, мы позволим себе остановиться только на наиболее значимых работах, проводимых в этом направлении.

Как уже отмечалось ранее, ежегодно в больших городах количество отходов увеличивается в 1,5 – 2 раза. Не меньшее количество отходов образуется и в сельских местностях [1]. Многие из этих отходов содержат значительное количество воды и не могут быть уничтожены за счет сжигания. Кроме того, сжигание отходов, как правило, сопровождается образованием дурно пахнущих газов, которые не только ухудшают условия окружающей среды, но и приводят к существенному увеличению общего количества парниковых газов [2].

Одним из выходов из существующего положения является частичное или полное превращение этих отходов в компосты или биогаз, которые, в этом случае, можно считать как возобновляемые источники энергии [3]

Считается, что одним из наиболее эффективных методов переработки отходов, содержащих до 80% органического углерода и 50 – 80% воды, является их вермикомпостирование при помощи земляных червей.

Как известно, основным продуктом переработки органических отходов с помощью технологических земляных червей является биогумус или вермикомпост, который превосходит по своим свойствам обычные органические удобрения. Внесение биогумуса в почву нормализует

развитие процессов, свойственных полноценной почве и повышает ее урожайность [4, 5].

Глава 30

Отдельные примеры получения вермикомпостов

Для вермикомпостирования используются разнообразные виды земляных червей, в зависимости от региона, климата и их доступности. Многие из этих червей получены скрещиванием нескольких видов червей. Например, такими искусственно полученными видами червей являются красный калифорнийский червь или его близкий аналог «старатель», приспособленный к более холодной среде обитания. Обычно черви в зависимости от их вида могут переносить значительные температурные перепады от -5 до 50°C [6].

Таким образом, вермикомпостирование является достаточно оптимальным методом переработки твердых отходов с последующим использованием вермикомпостов для улучшения качества почвы.

Сравнение вермикомпостирования с обычным компостированием показало, что полученный биокомпост превосходит по своим показателям обычный компост, особенно по степени минерализации азота и включению его в биогумус, а также по степени разрушения патогенов и уменьшению содержания тяжелых металлов в биокомпосте по сравнению с обычным компостом, полученным аэробной переработкой отходов [7].

Компостирование отходов бумажного производства и их смесей вместе с навозом сельскохозяйственных животных

Для компостирования отходов бумажного производства предложен метод вермикомпостирования при помощи земляных червей. В качестве отходов использовались отходы из сточных вод бумажного производства, образующиеся при промывании сырья для получения бумаги [8].

При сравнении эффективности получения вермикомпостов, скорости вермикомпостирования и содержание питательных веществ и биомассы в вермикомпостах, полученных при помощи 18 рас *Eisenia foetida*, 2-х семейств *Pheretina* и др. видов было установлено, что наиболее высокая скорость компостирования отходов бумажного производства наблюдается при использовании земляных червей расы *Anju* и при вермикомпостировании субстратов с высоким содержанием белка расой *Sariowon*. Содержание питательных компонентов в таких вермикомпостах оказалось равным (%): С 11,9 – 13,3; общий N 0,028 – 0,029; К 11,3 – 11,8 и Р 0,08 – 0,1 [9].

Показано влияние соотношения углерода к азоту при вермикомпостировании бумажных отходов с использованием земляного червя *Eisenia foetida*. При оптимальной загрузке аппарата для вермикомпостирования 1,6 кг земляных червей/м² и оптимальной подаче пищевых веществ для земляного червя в количестве 0,75 кг питательных веществ/кг земляного червя в день эффективным соотношением C:N является соотношение, равное 25. В этих условиях вермикомпост получается наиболее стабильным, может быть хорошим удобрением и обладает наименьшим влиянием на окружающую среду.

Сделан вывод, что при использовании различных видов земляного червя и различных субстратов для вермикомпостирования требуется в каждом конкретном случае подбирать соотношение C:N [10].

Добавление навоза или других биоотходов к отходам бумажной промышленности, например, пульпы, приводит к получению идеальной среды для того, чтобы земляные черви переводили этот субстрат в органический вермикомпост, эффективный для почвы [11].

Изучение процесса вермикомпостирования отходов бумажной промышленности вместе с навозом под действием земляных червей *Eisenia andrei*, проводимые в течение 6 месяцев на пилотной установке, показало, что соотношение углерода к азоту для оптимального вермикомпостирования должно находиться в пределах 20 – 60. При проведении вермикомпостирования на пилотной установке количество земляных червей увеличилось в процессе вермикомпостирования в 22 – 36 раз, а общая биомасса компоста увеличилась в 2,2 – 3,0 раза. Вермикомпост был богат азотом и фосфором, имел хорошую структуру, низкое содержание тяжелых металлов, низкую электропроводность, высокое содержание гуминовых кислот, хорошую стабильность и влажность. Сделан вывод о том, что отходы бумажной промышленности вместе с азотсодержащими субстратами могут быть хорошим сырьем для получения высококачественных вермикомпостов [12].

Результаты исследований по вермикомпостированию отходов бумажной промышленности вместе с навозом земляными червями *Eisenia andrei* при различных условиях представлены в работе [13]. За время компостирования количество земляных червей увеличилось в 24 – 36 раз и их биомасса в 2,1 – 3,6 раза. Вермикомпост имеет хорошую структуру, высокое содержание азота и фосфора, содержит количество переходных металлов ниже допустимых норм, высокое содержание гумуса, оптимальную стабильность и влажность. Земляные черви улучшали текстуру субстратов и ускоряли процесс гумификации по сравнению с обычным компостом из тех же видов сырья. Показано также, что земляные черви могут быть хорошим источником белка для животных. Сделан

вывод, что этот тип отходов может служить хорошим сырьем для вермикомпостирования. Так, например, были предприняты попытки переработать отходы небольшой бумажной фабрики производительностью 30 т бумаги/сут, отходы от которой составляли в сут 1 – 1,5 т, при помощи их вермикомпостирования земляными червями *Lumbricus terrestris*. Проведенные исследования показали, что 25% отходов используется червями в качестве пищи для своего роста и размножения, а 75% превращается в биоудобрение [14].

Изучены вторые поколения четырех видов земляных червей, обитающих в Индии: *Eudrilus eugeniae*, Kinberg, *Drawida willsi* Michaelsen, *Lampito mauritii*, Kinberg и *Perionyx excavatus*, Herrier для вермикомпостирования бумажных отходов в течение шести месяцев. Результаты исследований показали, что у второго поколения всех червей, за исключением *D. willsi*, у которых второе поколение имело только незначительное отличие от первого поколения взрослых особей, существенно повышался выход копролитов, рост животных и репродуктивность по сравнению с первым поколением. Сделан вывод, что смесь бумажных отходов с коровьим навозом является адекватной питательной смесью для земляных червей, как первого, так и второго поколения. Новорожденные черви быстро росли, размножались и продуцировали высокое количество биокомпоста в вермиреакторах [15].

Глава 31

Компостирование растительных отходов

Лигноцеллюлозные отходы (обрезки ветвей клена) были компостированы обычным методом и вермикомпостированы в присутствии земляных червей *Eisenia fetida andrei* в течение 10 месяцев при контролируемых условиях. Для характеристики трансформации органического материала при компостировании были использованы методы химического анализа и анализ при помощи ^{13}C ЯМР. Общее количество органического материала и углеродная масса сравнительно быстро уменьшались в объеме, что свидетельствовало о начале их разложения. Одновременно с ними происходила деструкция полисахаридов, включая целлюлозу. Разложение ароматических структур и лигнина начиналось после месяца компостирования. В последующие 3 месяца происходило ускорение этого процесса. Анализ ^{13}C ЯМР показал, что более интенсивное разрушение лигнина и ему подобных материалов происходит при вермикомпостировании, что трудно определить при помощи обычных химических анализов. Соотношение C:N понижалось, свидетельствуя об изменении в углеродной фракции. Одновременно происходило увеличение количества азотистых компонентов в компостах.

В последней стадии компостирования наблюдались поликонденсация и неосинтез.

При сравнении двух методов компостирования было показано, что в вермикомпосте содержится большее количество полисахаридов, более низкое содержание ароматических компонентов и более высокое содержание белка в ионной форме по отношению к общему количеству органического материала, что позволяет сделать вывод о более высокой степени гумификации органического материала при вермикомпостировании [16].

Вермикомпостирование различных растительных отходов было проведено в специально приготовленных для этой цели полиэтиленовых контейнерах. В качестве отходов были выбраны отходы после производства сои, пшеницы, маиса и растительные отходы городского мусора, а в качестве земляных червей были выбраны тропические эпигенные черви рода *Perionyx excavatus*. Было показано, что отходы маиса являются самым эффективным органическим материалом для вермикомпостирования, хотя процесс может протекать и с другими органическими отходами. Популяция земляных червей существенно повышалась при 24 – 30°C, а при температуре свыше 30°C происходил сам процесс вермикомпостирования. Под действием земляных червей происходило ускорение процесса деструкции органического материала, о чем свидетельствовало понижение соотношения C:N, увеличение водорастворимой углеродной фракции, увеличение содержания углеводов, увеличение зольности компоста и его катионообменной емкости по сравнению с контролем [17].

Свежесрезанные отходы деревьев или растений (дворовые отходы) компостировались в течение 16 нед при перемешивании. Скорость разрушения органического материала определяли по уменьшению объема твердого материала в компостируемой смеси. Образцы свежесрезанных веток деревьев были также вермикомпостированы с использованием земляных червей *Eisenia fetida andrei*, репродуктивность которых измерялась обычными методами. Анализ процесса компостирования по уменьшению объема твердых отходов проводился каждые две недели. Вермикомпостирование отходов деревьев через 8 нед компостирования приводило к получению материала со значительно более низким содержанием твердых отходов по сравнению с обычным компостированием за тот же период. Было обнаружено также, что рост и репродуктивность земляных червей хорошо сочетается с количеством твердых отходов в вермикомпосте, т.е. при наличии свежих органических отходов в компостируемой смеси. При вермикомпостировании частично компостированных органических отходов обычным методом компостирования (в течение 2 нед) после 6 нед компостирования

происходит уменьшение объема твердого материала в компосте в значительно большей степени, чем это имело место при 8-недельном получении компоста обычным методом при его перемешивании. Качество полученного вермикомпоста было выше и в нем содержалось меньшее количество твердого материала. Сделан вывод, что для успешного получения хорошего вермикомпоста предварительное обычное компостирование органических отходов должно быть минимально и требуется, главным образом, для санитарной обработки отходов [18].

Проведено 6-ти месячное исследование переработки различных форм водных гиацинтов в различных вермиреакторах при помощи земляных червей *Eudrilus eugeniae*, Kinberg. Были исследованы следующие формы водных гиацинтов: а) свежие целые гиацинты, б) высушенные целые гиацинты, в) измельченные свежие растения, г) частично переработанные остатки растений, взятых из реакторов после удаления из них летучих жирных кислот, д) прекомпостированные свежее использованные растения и е) прекомпостированные и уже частично разложившиеся растения. Исследования показали, что прекомпостированные формы водных гиацинтов были наилучшим кормом для земляных червей, по сравнению со свежими гиацинтами. Добавление в компостируемую смесь 14 % (по отношению к общей массе) коровьего навоза оказывает положительное влияние на разложение различных форм водных гиацинтов и на выход вермикомпоста, увеличению количества биомассы червей и их репродуктивности. Во всех вермиреакторах взрослые черви постоянно росли и увеличивались в размерах в течение всего времени компостирования и постоянно давали потомство. Эти эксперименты свидетельствуют о том, что водные гиацинты могут быть с успехом вермикомпостированы с любыми видами земляных червей *Eudrilus eugeniae* [19].

При вермикомпостировании также наблюдалась быстрая деградация полисахаридов и низкая скорость деградации ароматических компонентов. Отношение C:N снижалось, что характеризовало изменения в углеродной фракции и увеличение количества азота при использовании вермикомпостирования. Сделан вывод, что при вермикомпостировании биологическая ценность компоста как удобрения увеличивается [20].

Показано, что три вида земляных червей *Eisenia foetida*, *Perionyx excavatus* и *Dicogaster bolani* способны с успехом получать вермикомпост из лесного опада. Наиболее эффективными из трех видов червей оказался земляной червь *Eisenia foetida*. Скорость роста и увеличение популяции этого земляного червя увеличивалась в 2 раза за 12 недель компостирования. Процесс компостирования сильно зависел от вида лесного опада и его химического состава. Копролиты этого червя содержали такие важные питательные компоненты, как азотистые

компоненты: NH_4^+ и NO_3^- , а также соединения фосфора и калия. Зрелый компост характеризовался соотношением C:N 11,3 – 24,8 и высокую катионообменную емкость. Содержание лигнина увеличивалось в процессе компостирования, тогда как содержание целлюлозы уменьшалось, приводя к увеличению соотношения лигнин/целлюлоза [21].

Глава 32

Вермикомпостирование и сочетанное компостирование навоза, илов сточных вод и других органических отходов

Вермикомпостирование отходов, например илов сточных вод, в присутствии земляных червей рода *Eisenia foetida* приводит к получению продукта, в котором значительно уменьшена патогенность, общее и фекальное количество колибактерий, отсутствуют *Escherichia coli*, *Salmonella*, вирус брюшного тифа и личинки глистов [22]. Показано также, что фильтрация бытовых сточных вод, содержащих самые различные патогены и фекалии, через твердые органические отходы этих же самых сточных вод, в виде вермикомпоста, полученного при помощи земляных червей *Eisenia foetida* и содержащего биомассу этих же самых земляных червей, в 15 – 30 раз снижало содержание патогенов в бытовых сточных водах. Предложено использовать подобную фильтрацию для очистки бытовых сточных вод в промышленном масштабе [23].

Изучены изменения в ферментативной активности и биомассе земляных червей *Eisenia foetida* в процессе вермикомпостирования илов из сточных вод. Показано, что при уменьшении количества органического материала в процессе компостирования уменьшалась ферментативная активность в компосте гидролаз (β -глюкозидазы, уреазы, протеазы и фосфатазы) и дегидрогеназы. Сделан вывод, что активности гидролаз и дегидрогеназы могут быть индикатором состояния и трансформации органического вещества в компосте и показателем его зрелости [24].

При вермикомпостировании навоза в присутствии земляных червей *Eisenia foetida* и их интенсивном увеличении наблюдалось значительное уменьшение общего количества навозной массы скота. Процесс приводил к получению двух продуктов: вермикомпоста и самих земляных червей в больших количествах. Были опробованы различные виды вермикомпостирования навоза, что привело в конечном итоге к уменьшению массы навоза на 30% по сухой массе и увеличению количества живых червей на 4,9% к общему количеству навоза. В самих червях происходило увеличение общего количества C, N, S и P на 7, 18, 7 и 2% соответственно. Получение вермикомпоста из навоза скота приводило

к смещению рН компоста ближе к нейтральному, уменьшение электропроводности компоста, увеличению окислительного потенциала и уменьшению водорастворимых химикатов, которые, возможно, являются контаминантами окружающей среды [25].

В работе [26] изучены физические и химические характеристики вермикомпоста из навоза скота. Рассмотрены величины рН, катионообменная емкость, содержание органического вещества, электропроводность и элементный химический состав. Вермикомпост был использован для возможного удержания и конкуренции микрокомпонентов металлических пищевых веществ и поллютантов (Cu и Zn) из растворов нитратов этих металлов. Удержание усиливалось при увеличении рН и времени контакта, тогда как конкурентный характер удержания был тесно связан с рН исследуемых почв.

Проведено вермикомпостирование сухой лепешки, остающейся после фильтрации оливкового масла, в присутствии земляных червей *Eisenia foetida*. В качестве источников азота были выбраны навоз скота (I), компосты, полученные после анаэробной ферментации сточных вод (II) и компосты, полученные после аэробного ферментирования сточных вод (III). Соотношение этих компонентов в вермикомпосте было следующим: сухая лепешка/I 2:1 или 1:1; сухая лепешка/II 16:1, 12:1 и 8:1; сухая лепешка/III 16:1 и 12:1. Время вермикомпостирования составляло 35 дней, в результате чего сухой остаток субстратов уменьшился на 21 – 28% и соответственно понизилось соотношение C:N, которое в начале вермикомпостирования для разных субстратов варьировало в абсолютных значениях от 4 до 49. Сделаны выводы, что вермикомпостирование сухой лепешки, оставшейся после фильтрации оливкового масла, в комбинации с источниками азота может быть достаточно успешным [27]. Разнообразные отходы после производства оливкового масла были также использованы для вермикомпостирования в присутствии земляных червей *Eisenia andrei*. Показано, что только сухая лепешка, оставшаяся после фильтрации оливкового масла, смешанная с навозом скота, была пригодна для вермикомпостирования. Во всех других случаях, когда черви помещались в остатки от производства оливкового масла, смешанного с соломой, они, как правило, погибали. В процессе компостирования соотношения C:N уменьшалось и улучшались условия применения этого вермикомпоста в качестве удобрения почвы [28].

В работе [29] приведены результаты исследований по получению вермикомпостов из органических отходов домашнего хозяйства и мусора с помощью земляных червей *Eudrilus eugeniae*. Исследования проводились в секционном реакторе с контролируемыми параметрами. Оптимальными для вермикомпостирования оказались условия, когда температура реакции была 20 – 30°C, влажность 48 – 52% и количество червей 4,5 – 10 кг/м³.

Изучено вермикомпостирование при помощи земляных червей *Eisenia foetida* смеси остатков горчицы и остатков сахарного тростника с овечьим навозом, в течение 90 сут. Вермикомпостирование приводило к значительному уменьшению в соотношении C:N и увеличивало количество минерального азота за это время компостирования по сравнению с обычным компостированием без земляных червей. Микробная активность, определенная по активности дегидрогеназы, увеличивалась к 60 сут компостирования и затем понижалась при дальнейшем проведении процесса. Вермикомпост также имел большее количество общего азота. Общее содержание P, K и Ca в вермикомпосте не имело существенных различий по сравнению с обычным компостом [30].

Результаты вермикомпостирования смеси твердых отходов текстильных фабрик с 30% (по сухому остатку) коровьего навоза приведены в работе [31]. Как и в большинстве других сообщений, качество полученного вермикомпоста значительно лучше качества обычного вида компостирования. Снижено содержание C:N, увеличено количество общего азота в вермикомпосте, а также содержание P. Общее содержание K и Ca в конечном продукте ниже, чем в исходной смеси для компостирования. Компостирование продолжалось в течение 75 сут. Теми же авторами изучена способность эпигенных земляных червей *Eisenia foetida* переводить твердые отходы текстильных фабрик, смешанных с коровьим навозом и остатками сельскохозяйственных растений, в вермикомпост. Максимальный рост и репродуктивность, достигающая 100%, были достигнуты при вермикомпостировании одного коровьего навоза, но черви хорошо росли и размножались в смесях, состоящих из 80% коровьего навоза и 20% твердых текстильных отходов и 70% коровьего навоза и 30% твердых текстильных отходов. Добавление к смеси сельскохозяйственных отходов оказывало неблагоприятное влияние на рост и репродуктивность земляных червей. Вермикомпостирование приводило к существенному снижению соотношения C:N, увеличению количества доступного азота, фосфора и калия и общего содержания кальция после 77 сут компостирования во всех видах компостов. Предложено перерабатывать отходы текстильной промышленности в вермикомпосты в виде их смеси с навозом [32].

Были изучены различные вермиреакторы с различным количеством водных гиацинтов (I) и коровьего навоза (КН) в течение 6 месяцев. Все реакторы были снабжены устройством, приспособленным для постоянного увеличения выхода выделений у червей (копролитов). Изменение в соотношения между I и КН изменялось от 4:1 до 6:1 и не оказывало заметного влияния на процессы, происходящие в реакторе. Были также сделаны попытки улучшить эффективность реакторов при получении копролитов в единицу времени на единицу объема реактора. Эти попытки

увенчались успехом и привели к получению «высокоскоростного» вермиореактора, производительность которого по копролитам/ед. времени в ед. объема реактора была в 5,6 раза выше. Этот реактор также предусматривал постоянный выход копролитов, рост земляных червей и их воспроизведение [33].

Для обезвреживания летучей золы предложено использовать в качестве биофильтра земляных червей *Eisenia foetida* в комбинации с сельскохозяйственными отходами. Полученный вермикомпост не токсичен и может в дальнейшем использоваться как улучшитель почвы в сельском хозяйстве [34].

Вермикомпост в виде опилок, смешанных с навозом и активным илом из отстойника, гидролизовали 6 М HCl. Общее содержание азота в вермикомпосте до гидролиза составляло 21 г/кг вермикомпоста. После гидролиза общий азот в гидролизате составлял 92,5%. Соотношение компонентов, содержащих азот, по отношению к общему азоту составляло: NH_4^+ – 19,4%, NO_3^- – 1,8%, аминокислот – 34,4%, аминсахаров – 20,54% и неизвестного вещества – 11,8% [35].

Глава 33

Интенсификация процесса вермикомпостирования

Для интенсификации процесса вермикомпостирования были предложены нижеследующие методы и изучены соответствующие приемы вермикомпостирования.

Описан двухстадийный метод вермикомпостирования пищевых отходов из ресторанов и городских рынков, в соответствии с которым пищевые отходы смешивали с древесными опилками и компостировали в бункере в течение 10 дней. Спустя указанное время к компосту добавляли земляных червей и продолжали дальнейшее компостирование до созревания компоста. При непрерывном осуществлении двухстадийного метода производительность установки составляет 200 кг/день [36].

Влияние инокуляции вермикомпоста с азотфиксирующими бактериями штаммов *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum lipoferum* и фосфат солубилизирующими бактериями *Pseudomonas striata* на содержание в вермикомпосте азота и фосфора приводила к обогащению вермикомпоста азотом и фосфором. Во время периода инкубации штаммы бактерий быстро размножались, фиксировали азот и растворимые соединения фосфора [37].

Сделана попытка создания экономически выгодной системы переработки больших количеств водных гиацинтов при помощи земляных червей. Для этого водные гиацинты вначале были компостированы

высокоскоростным методом и затем подвергнуты вермикомпостированию в реакторах с большей плотностью земляных червей, чем это было рекомендовано ранее: 50, 62, 75, 87,5, 100, 112,5, 125, 137,5 и 150 взрослых червей *Eudrilus engenae*, Kinberg на литр объема аппарата для вермикомпостирования.

Стадия компостирования осуществлялась в течение 20 сут, полученный продукт вермикомпостировался в 3 раза быстрее, чем предварительно не компостированные водные гиацинты. Исследования показали эффективность такого двухступенчатого метода переработки водных гиацинтов. В течение первых 4-х не наблюдалось никакой смертности у земляных червей, несмотря на их высокую плотность. В последующие 3 мес умерло 79 червей из общего количества 1650, что соответствовало менее 1,6% смертности в месяц. Результаты свидетельствуют о том, что увеличение количества земляных червей в биореакторах может существенно увеличить производительность этих реакторов [38].

Двухстадийное компостирование отходов сельскохозяйственных культур путем их переработки при помощи микроорганизмов и дальнейшего вермикомпостирования были проведены с пшеничной соломой. Пшеничная солома обрабатывалась вначале в течение 40 сут микроорганизмами *Pleurotus sajorcaji*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger* и *Azotobacter chroococcum*, взятыми в различных сочетаниях. Следующая стадия вермикомпостирования продолжалась в течение 30 дней. Химический анализ образцов показал значительное уменьшения содержания целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнина во время первого периода обработки сена микроорганизмами и последующего его превращения вермикомпост. Содержание N, P, и K значительно увеличивалось в первом периоде компостирования при помощи микроорганизмов. Компост с наилучшими свойствами был получен при обработке сена всеми четырьмя микроорганизмами и последующем вермикомпостировании. Результаты исследований показали, что комбинация двух этих методов приводит к уменьшению времени компостирования и ускоряет компостирование лигноцеллюлозных отходов в течение зимнего периода. В результате сочетания этих двух методов удастся получить высококачественный компост, обогащенный питательными элементами [39].

В традиционных низко- и высокоскоростных вермиреакторах, пространство для вермикомпостирования было уменьшено за счет толстого слоя смеси для земляных червей на дне реактора и, следовательно, небольшого объема для копролитов земляных червей. В усовершенствованном реакторе имеется только толстая влажная байка на дне реактора вместо толстого слоя смеси, что позволяет компостировать

большее количество органических отходов по сравнению с традиционным вермикомпостированием. Лабораторные исследования показали, что в усовершенствованном биореакторе, по сравнению с традиционным вермиреактором, удавалось получать больший выход копролита с единицы объема реактора в день [40].

Глава 34

Земляные черви – источник полноценного белка для животноводства, птицеводства и рыбоводства

Интерес к дождевым червям, как к объекту культивирования, возник в связи с возможностью использования их в качестве источника полноценного белка для удовлетворения потребностей животноводства, птицеводства и рыбоводства. Особенно сильно он стал возрастать в связи с уменьшением уловов рыбы в морях и океанах и резким вздорожанием мясокостной и рыбной муки, являющейся источником полноценного белка для скота [41].

Как известно, растительный белок составляет в общем балансе кормового белка около 90%. Остальные 10% должны приходиться на долю источников полноценного животного белка. Но именно эти 10% животного белка определяют эффективность использования остальных 90%, т.е. сотен миллионов тонн кормов, в том числе многих десятков миллионов тонн зерна, наиболее ценной продовольственной культуры [42].

К сожалению, ресурсы животного белка ограничены. Однако новым мощным источником полноценного животного белка для сбалансирования кормовых рационов животных могут служить дождевые черви. Если гектар пшеницы, например, дает в умеренном климате 350 кг, кукурузы (в виде зерна) – 390 кг, клевера – более 1000 кг, люцерны – 1500 кг [43], то гектар поверхности культиваторов червей дает в год 400 центнеров белковой муки (5% влажности) с содержанием 67 ($\pm 5\%$) белка [4].

Проведенными исследованиями установлено, что с 1 т субстратов, приготовленных на основе птичьего помета, навоза крупного рогатого скота или свиного навоза, при культивировании в них специализированных (технологических) штаммов земляных червей получается 8 ± 2 кг живой биомассы за цикл их развития 160 ± 20 суток на площади культиватора, равной 1 м^2 . В течение года черви могут осуществить два размножения. В связи с чем, их общее количество и масса за год возрастут примерно в 1000 раз.

При переработке 750 млн. т органических отходов (75% влажности) с помощью земляных червей можно получать от 4,5 до 7,5 млн. т в год товарной биомассы живых червей для нужд птицеводства и животноводства.

Из этого следует, что черви, при их промышленном культивировании, могут восполнить в кормовом балансе дефицит его белковой части и повысить КПД использования кормов в среднем на 25%.

Изготовленный из дождевых червей порошок содержит белков больше (61...72%), чем рыбная мука (61%), мясная мука (60%), белковый концентрат сои (45%) или сухие дрожжи (44%).

Интерес к дождевым червям, как к объекту культивирования, возник в связи с возможностью использования их в качестве источника полноценного белка для удовлетворения потребностей животноводства, птицеводства и рыбоводства. Особенно сильно он стал возрастать в связи с уменьшением уловов рыбы в морях и океанах и резким вздорожанием мясокостной и рыбной муки, являющейся источником полноценного белка для скота [41].

Изучение питательной ценности земляных червей рода *Eisentia foetida* как источник белка для лабораторных животных показало, что крысы, которым вводили в рацион высушенных червей и крысы, которым вводили в рацион казеин как источник белка усваивают белок на одном уровне. Дополнительные токсикологические исследования не выявили никаких вредных последствий от кормления крыс земляными червями. Гистологические исследования внутренних органов животных также не выявили никакой разницы и никаких изменений. Сделан вывод, что питательная ценность сухих земляных червей не уступает питательной ценности казеину. Предложено использовать муку из земляных червей для кормления животных [44].

Дальнейшие исследования показали, что культивируемые черви обладают столь же полноценным белком аналогичного аминокислотного состава, как мясная и рыбная мука, что они могут практически использоваться в качестве источника полноценного белка для балансирования кормовых рационов домашней птицы, свиней, прудовой рыбы [44].

Как видно из табл. 26, аминокислотный состав кормовой муки из червей по содержанию некоторых незаменимых аминокислот превосходит другие виды животных кормов и может быть с успехом использован в качестве корма [42].

Черви могут скармливаться домашним животным и птице в сухом и вареном виде в количествах, полностью удовлетворяющих их потребность в полноценном белке за счет отходов животноводства.

Таблица 26

Сравнительный аминокислотный состав кормов различного происхождения

Аминокислотный состав, г/100 г белка	Вид кормов				
	Мука из червей	Рыбная мука	Мясная мука	Казеин	Соевый белок
Аспарагиновая кислота	12,07	12,33	11,95	7,19	7,45
Глутаминовая кислота	17,76	21,48	22,69	22,41	9,71
Серин	8,53	6,61	6,21	6,90	9,13
Глицин	13,94	8,75	9,33	4,48	7,17
Гистидин	4, 23	2,92	4,07	2,91	2,79
Треонин	8,11	3,76	7,22	6,27	4,37
Аланин	9,83	10,27	10,66	4,96	7,53
Пролин	11,11	6,88	8,36	14,36	5,63
Тирозин	3,96	3,34	3,35	3,83	1,29
Валин	6,81	7,34	7,40	7,59	5,39
Метионин	4,47	3,92	3,35	2,83	3,03
Изолейцин	3,92	5,51	5,97	4,83	5,58
Лейцин	8,74	11,56	12,35	10,77	7,51
Фенилаланин	2,88	4,80	5,73	4,74	1,28
Лизин	9,11	10,83	10,74	4,94	6,38
Триптофан	1,57	1,76	1,67	—	—
Аргинин	7,98	6,27	6,90	6,54	6,31

Черви – это естественная белковая пища для прудовой рыбы. Многие виды прудовых рыб роются в донном иле, выискивая червей и личинок насекомых. Эту способность прудовой рыбы выискивать себе корм в донном иле рыбоводы используют довольно широко. С целью повышения продуктивности прудов рекомендуется в урез воды ссыпать органические удобрения, навоз для подкормки фитопланктона, основного корма для рыбы. Рыбоводами замечено, что в местах выкладки этих удобрений пасутся карпы, выискивая белковый корм.

Для подкормки рыбы рекомендуется использовать субстрат с червями из промышленных культиваторов. Черви не боятся длительного затопления, они остаются жизнеспособными под водой в течение нескольких недель. Биологический урожай червей и органическое гумусное удобрение будут в этом случае использоваться полностью без дополнительных затрат на выборку червей, их сушку и приготовление комбикорма.

Есть еще одно достоинство у вермикультуры – она лишена патогенной для рыбы микрофлоры и зоофауны, а навоз или простые компосты такой гарантии не имеют.

Показано, что количество Zn, Cu, Fe и Ca в земляных червях соответственно равны 0,311; 0,421; 21,47 и 9630,4 мг/кг. Сравнивали питательный скор для этих микроэлементов с их питательным скором в рисе, сое, молоке и других пищевых продуктах. Показано, что питательный скор всех этих элементов в земляных червях был выше, чем в обычных пищевых продуктах. Показан также высокий пищевой эффект при кормлении детей в возрасте до 3 лет. Рекомендуется ежедневно использовать земляные черви для пищевых целей [43]. Мука из червей – это превосходный стартовый корм для молоди (от личинок до сеголеток, уходящих под зиму) [4, 42].

Как видно из приведенного материала, вермикомпостирование является одним из наиболее эффективных и сравнительно недорогих методов переработки отходов различного вида и происхождения, содержащих достаточно много (не менее 70%) органических соединений и 50% воды. В результате такой переработки могут быть получены высококачественные удобрения для сельского хозяйства и полноценный белок. Последний может быть использован не только для кормления сельскохозяйственных животных, птиц и рыб, но, очевидно, после соответствующей очистки и в качестве питательной добавки для пищевых рационов человека.

Список литературы

1. *Guanzon Y., Holmer R.J.* Proc. National Eco-Waste Multisectoral Conference and Fair at Pryce Plaza Hotel, Cagayan de Oro City, Philippines, 16–18 July 2003.– P. 178–184.
2. *Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н.* Экологические основы производств: Взаимосвязь экологии, химии и биотехнологии. –М.: МГУЛ, 2003.– С. 263–359.
3. *Wilkie A.C.* Proceed. Animal Residuals Management Conference.– Alexandria, Virginia: Water Environment Federation, 2000. – P. 1–12.
4. *Неклюдов А.Д., Иванкин А.Н., Федотов Г.Н., Леонов А.Ю.*//Экологические системы и приборы. – 2005.– № 6. –С. 3–10.
5. *Андреев А.М.* Биогумус. – М.: Рипол Классик, 2000. –32 с.
6. *Игонин А.М.* Как повысить плодородие почвы в десятки раз с помощью дождевых червей. – М.: ИКЦ Маркетинг, 2002.– 32 с.
7. *Dominguez J., Edwards C.A., Subber S.*// BioCycle.– 1997.– V. 38.– № 4.– P. 57–59.
8. *Rosa J.* // Papel.– 1994. – V. 55.– № 6.– P. 22–30.
9. *Ri Y.D., Ri M.S., Tong Y.H.*//Choson Minjujuni Inmin Konghwaguk Kwahagwon Tongbo.– 1997.– №2.– P. 43–46.//Chem. Abstr.– 1998.– 128.– 127522.
- 10.*Ndegwa P.M., Thompson S.A.*// Bioresour. Technol.– 2000.– V.– 75.– № 1.– P. 5–12.
- 11.*Elvira C., Dominguez J., Sampedro L., Mato S.* // BioCycle.– 1995.– V. 36.– № 6.– P. 62–63.
- 12.*Elvira C., Sampedro L., Denitez E., Nogales R.*//Bioresour. Technol.– 1998.– V. 63.– № 3.– P. 205–211.
- 13.*Nogales R., Elvira C., Mato S.*//Util. Aguas Regenerades Biosolides.– 1997.– № 9.– P. 29–40.
- 14.*Kavian M.F., Ghatnokav S.D., Kalkarni P.R.*//Indian J. Environ. Prot. – 1996.– V. 16.– № 5.– P. 330–333.
- 15.*Gajalakshmi S., Abbasi S.A.*//Bioresour. Technol.– 2004.– V. 94.– № 1. – P. 53–56.
- 16.*Birer M.*// Soil Biol. Biochem. –1997.– V. 29.– № 3/4.–P. 751–758.
17. *Manna M.C., Singh M., Kundu S., Tripathi A.A., Takkar P.*// Biol. Fertil. Soil.– 1997.– V.24.– № 1.– P.129–131.
- 18.*Frederickson J., Butt K.R., Morris R.M., Daniel C.*// Soil Biol. Biochem.– 1997.– V. 29.– № 3/4.– P.725–730.
- 19.*Gajalakshmi S., Ramasamy E.V., Abbasi S.A.*//Bioresour. Technol. –2002. – V. 82.– № 2.– P.165–169.
- 20.*Viceslas-Akra M., Loquet M.*// Eur. J. Soil Biol.– 1994.– V. 30.– № 1. – P.17–28.
- 21.*Manna M.C., Jha S., Ghosh P.K., Acharya C.L.*//Bioresour. Technol. – 2003.– V. 88.– № 3.– P. 197–206.

22. *Riggle D.* // BioCycle .–1996.– V. 37.– № 10.– P.67–68.
23. *Eastman R.R.* // WEFTEC'99, Annu. Conf. Expo 72-nd (computer optical disk).– 1999.– P.265–273. // Chem. Abstr.– 2000.– 132.– 198524.
24. *Benitz E., Nogales R., Elvira C., Masciandar G., Ceccanti B.* // Bioresour. Technol. –1999.– V. 67.– № 3.– P. 297–303.
25. *Mitchell A.* // Soil Biol. Biochem.– 1997.– V. 29.– № 3/4.– P.763–766.
26. *Lamine S.S.M., Jordano C.P., Brune W., Pereira J.L., Bellato C.R.* // Quim Nova.– 1998.– V. 21.– № 3.– P.278–283. // Chem. Abstr.– 1998.– 129.– 8084.
27. *Nogales R., Thompson R., Calmet A., Benitez E., Gomez M., Elvira C.* // J. Environ. Sci. Health, Part A: Toxic/Hazard. Subst. Environ. Eng. – 1998.– V. 33.– № 7.– P. 1491–1506.
28. *Moreno R., Benitez E., Melgar R., Polo A., Gomez M., Nogales R.* // Fresenius Environ. Bull. –2000.– V. 9.– № 1/2.– P. 1–8.
29. *Datar M.T., Rao M.N., Reddy S.* // J. Solid Waste Technol. Manage. – 1997.– V. 24.– № 2.– P. 89–93.
30. *Bansal S., Kapoor K.K.* // Bioresour. Technol.– 2000.– V. 73.– № 2.– P. 95–98.
31. *Kaushik P., Garg V.K.* // Bioresour. Technol.– 2003.– V. 90.– № 3.– P. 311–316.
32. *Kaushik P., Garg V.K.* // Bioresour. Technol.– 2004.– V. 94.– № 2.– P. 203–209.
33. *Gajalakshmi S., Ramasamy E.V., Abbas S.A.* // Bioresour. Technol.– 2001.– V. 80.– № 2.– P. 131–135.
34. *Saxena M., Chanchan A., Asokan P.* // Pollut. Res.– 1998.– V. 17.– № 1.– P. 5–11.
35. *Kolemba D.* // Folia Univ. Agric. Stetin.– 2000.– № 204.– P.129–132.
36. *Fargell M.* // BioCycle.– 1998.– V. 39.– № 11.– P. 76, 78–79.
37. *Kumar V., Singh K.P.* // Bioresour. Technol.– 2001.– V. 76.– № 2.– P. 173–175.
38. *Gajalakshmi S., Ramasamy E.V., Abbasi S.A.* // Bioresour. Technol.– 2002.– V. 83.– № 3.– P. 235–239.
39. *Singh A., Satyawati S.* // Bioresour. Technol.– 2002.– V. 85.– № 2.– P. 107–111.
40. *Jain K., Singh J., Gupta S.K.* // Bioresour. Technol.– 2003.– V. 90.– № 3.– P. 335–337.
41. *Sabine J.R.* Earthworm ecology: from Darwin to vermiculture. /Ed. J.E. Satcel.– London:Chapman and Holl., 1983.– P. 285–296.
42. О дождевых (земляных) червях и биогумусе. Экопоселение Подмоскovie и ближайших областей.– 2004. // <http://svoe.bzl.ru>.
43. *Толстогузов В. Б.* Искусственные продукты питания. – М.: Наука, 1978. – 229 с.

44. *Ibanez I., Herreta C.A., Velasquez L.A. // Anim. Feed Sci. Technol.*– 1993.– V. 42.– N1–2.– P. 165–242.
45. *Lin Ch., Liang J., Chen Y., Ding Sh., Zhang G., Yu Z., Fen Y. // Guangdong Yiyao Xueyuan Xuebao.*– 1994.– V.10.– N1.– P.17–19.// *Chem. Abstr.*– 1995.– 122.– 186005w.

Приложение 1

Переработка органических отходов в жидкое биотопливо

Развитие исследований в области химической технологии получения жидкого моторного топлива, позволяет сегодня получать новые виды компонентов топлив, том числе из возобновляемых видов сырья.

Сегодня, в качестве добавок к минеральному топливу существует два продукта – биоэтанол, вырабатываемый путем анаэробного брожения из отходов растительного сырья, образующихся в сельскохозяйственном производстве, а также биодизель, также получаемый из растительного, животного или рыбного сырья, но путем превращения масла, как правило, рапсового, в алкиловые эфиры жирных кислот переэтерификацией. Наличие больших ресурсов масличных культур, а также их интенсивное культивирование в различных странах позволяет сегодня производить биодизель марок B100 (содержание алкиловых эфиров – 100%), а также смешанные виды моторных топлив с 20 – 50 % содержанием алкиловых эфиров растительных жирных кислот.

Большое количество отходов животного происхождения на мясо и рыбоперерабатывающих предприятиях, позволяет рассматривать отходы таких жиров в качестве перспективного сырья для получения высокоэнергоемких продуктов, которые также могут быть использованы как в качестве добавок к минеральным видам топлива, так и самостоятельно в качестве эффективного топлива, например, для малых энергетических установок и мини котельных.

Липиды природного происхождения на 96–98% представлены смесью триглицеридов формулы $\text{ROCH}_2\text{CH(OR)CH}_2\text{OR}$ с R-алифатическими остатками жирных кислот. Химически такие триглицериды представляют собой глицерин, этерифицированный R-остатками C8-C26 жирных кислот.

Из литературных данных известно, что природное липид содержащее сырье может быть трансформировано в свободные жирные кислоты, которые затем, в присутствии метанола (или этанола) превращают, в алкиловые эфиры для последующего сжигания в технических устройствах. Этот процесс протекает с недостаточным выходом из-за многостадийности и ингибирующего влияния примесей воды и биополимеров, содержащихся в сырье. Поэтому процесс трансформации осуществляют, как правило, в присутствии различных катализаторов.

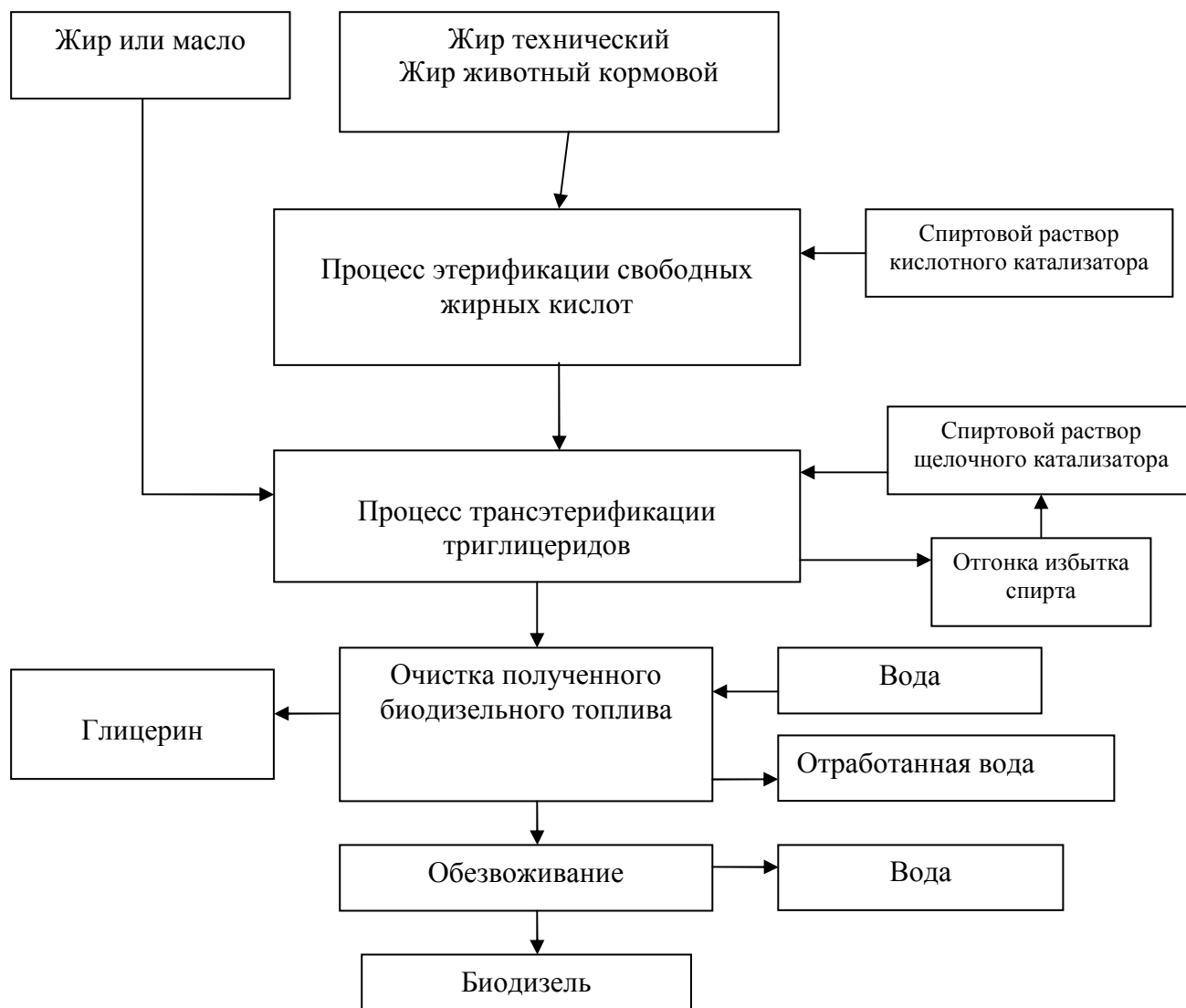
В качестве готового продукта биодизельное топливо выпускают следующих видов:

Биодизель из метиловых эфиров жирных кислот природного жира.

Биодизель из этиловых эфиров жирных кислот в случае замены метилового спирта на этиловый.

Сопутствующим продуктом является сырой глицерин.

Получение биодизельного топлива путем алкоголиза животных жиров в моноалкиловые эфиры (метиловые или этиловые эфиры жирных кислот) осуществляется по следующей схеме:



В соответствии с международными требованиями, по физико-химическим показателям биодизельное топливо должно иметь: цетановое число – не менее 55, кинематическая вязкость при 40°C – не более 4,8 мм²/с; температура застывания не выше –10°C; температура помутнения – не выше 12°C; температура вспышки, определяемая в закрытом тигле – не ниже 125°C; коррозия (медной пластины 3 часа при 50°C) – класс 1; кислотное число – не более 0,5 мг КОН/г; йодное число – не более 100 г I₂/100 г; сульфированная зола – не более 0,02%; общее загрязнение – не более 24 мг/кг; содержание воды – не более 500 мг/кг; плотность при 20°C – не более 895 кг/м³; содержание серы – не более 15 мг/кг; содержание эфиров жирных кислот – не менее 97,0%;

коксуемость 10%-ного остатка разгонки, (по массе), не более 0,3%; стабильность к окислению, при 110°C – не менее 6 часов; содержание эфиров пальмитиновой кислоты – не более 35%; содержание эфиров стеариновой кислоты – не более 35%; содержание эфиров олеиновой кислоты – не более 45%; содержание эфиров линоленовой кислоты – не более 10%; содержание полиненасыщенных эфиров жирных кислот (более 4-х двойных связей) – не более 1%; содержание остатков спирта – не более 0,2%; содержание моноглицеридов – не более 0,8%; содержание диглицеридов – не более 0,2%; содержание триглицеридов – не более 0,2%; содержание свободного глицерина – не более 0,02%; содержание общего глицерина – не более 0,25%; содержание щелочных металлов (Na + K) – не более 5 мг/кг.

Для получения небольших партий жидкого моторного топлива из природного жирового сырья порядок осуществления операций следующий:

1. Растопить жиромассу животных, птичьих, рыбных жиров (с образованием 15 кг исходной жидкой массы с содержанием жира >80...90%).

2. Добавить 3 л спирта содержащего 0,3 кг серной кислоты. Перемешивать при 75°C (этанол) и 65°C (метанол) в течение 2 ч.

3. Отстоять смесь 30 мин и отделить образовавшийся серный глицерин из нижней части реактора, сливая около 2 л нижнего слоя из общего объема смеси 18,3 л.

4. Повторить операцию 2, добавив 3 л спирта с 0,3 кг серной кислоты, нагревать 1 час.

5. Повторить операцию 3.

6. Повторить операцию 2, добавив 3 л спирта с 0,3 кг серной кислоты, нагревать 1 час.

7. Повторить операцию 3.

8. Добавить 1 л спиртового раствора содержащего 0,1 кг КОН, перемешать 30 мин при 75°C и оставить на 18 ч при комнатной температуре до расслоения массы с образованием в верхней части реактора слоя биодизеля.

9. Слить с нижней части реактора водно-глицериновый слой с осадком примесей.

10. Декантировать биодизель.

Хранить Б100 в стеклянной емкости.

Выход – составляет 70...85% от теории.

Полученное биодизельное топливо насосом подается в отстойник для очистки. Для удаления глицерина осуществляют отстаивание в течение 2 ч при комнатной температуре 20– 25°C. Образовавшуюся нижнюю фракцию глицерина перекачивают насосом в резервуар для его хранения.

Очистку оставшейся в отстойнике фракции биодизельного топлива осуществляют двукратным перемешиванием с 1:1 объемом воды при 25–30°C в течение 10–15 мин и последующим отстаиванием в течение 1 ч при комнатной температуре для удаления образовавшейся нижней фракции отработанной воды.

Для удаления остатков воды проводят температурную обработку биодизельного топлива в реакторе путем нагревания продукта при температуре 105–110°C в течение 30 мин.

Готовое биодизельное топливо перекачивают насосом в топливные цистерны или резервуары для его транспортировки и хранения. Срок хранения – 1 год.

Типичный жирно-кислотный состав жидкого биодизельного топлива, полученного из отходов жиров животного происхождения может быть записан (%): C4:0 - 0,03; C6:0 - 0,05; C8:0 - 0,1; C10:0 - 0,12; C12:0 - 0,17; C14:0 - 0,64; C15:0 - 0,06; C16:0 - 22,8; C17:0 - 1,1; C18:0 - 16,3; C19:0 - 1,5; C20:0 - 0,1; C22:0 - 1,88; C14:1 - 0,03; C15:1 - 0,1; C16:1 - 4,1; C17:1 - 0,4; C18:1n9c - 28,5; C20:1 - 0,7; C22:1n9 - 0,43; C18:2n6c - 4,2; C18:3n6 - 0,4; C18:3n3 - 0,3; C20:2 - 0,3; C20:3n6 - 0,5; C20:4 - 1,5; C22:2 - 0,5; C20:5n3 - 0,4; C22:6 - 1,3.

Приложение 2

Переработка белок содержащих отходов в биологически активные добавки. Белковые гидролизаты

Природные объекты растительного, животного, рыбного или микробного происхождения содержат в своем составе от 5 до 20% белка. Такое количество белка может содержаться практически в любых отходах при производстве продуктов питания, получении микробиологической продукции или медицинских органопрепаратов. Соответствующая технологическая переработка может вернуть этот белковый резерв для использования человеком.

Большой интерес представляют мясокостные отходы переработки скота, которые включают в себя до 10% относительно легко перерабатываемой животной ткани и большое количество трудно перерабатываемой костной ткани. 15–25% таких белковых отходов перерабатывают, получая сперва ферментативные гидролизаты, затем осуществляют кислотную переработку непрореагировавших остатков.

В качестве фермента на первой стадии используют поджелудочную железу. Приготовление и активацию ферментного препарата из поджелудочной железы свиней проводят следующим образом. В реакционную колбу вместимостью 250 мл помещают 60 г измельченной свиной поджелудочной железы, 30 мл дистиллированной воды и 4 мл этилового спирта в качестве консерванта; при перемешивании нагревают

до температуры 50°C и термостатируют в течение 2 ч. Первую порцию (30 мл) суспензии полученного ферментного препарата подают на стадию гидролиза в реактор. Оставшуюся суспензию продолжают термостатировать при 50°C. Через 3 ч в реактор подают вторую порцию суспензии поджелудочной железы (30 мл), а еще через 3 часа туда же подают последнюю порцию суспензии (34 мл). Таким образом, в реакционной колбе температура 50°C поддерживается в течение 8 ч.

Ферментативный гидролизат получают обработкой суспензии обезжиренного мясо-костного фарша ферментным препаратом, полученным из свиной поджелудочной железы, и протосубтилином Г20Х.

Предварительное обезжиривание мясо-костного сырья проводят в 5 л емкости, куда помещают 1 кг мясо-костного фарша (20% белка), добавляют 2 л дистиллированной воды, нагревают при перемешивании до температуры 95°C и термостатируют в течение 30 минут. Горячую смесь центрифугируют в центрифуге в течение 30 минут при 5000 об/мин, затем быстро охлаждают до застывания жира. Твердый жир удаляют, а суспензию фарша направляют для ферментативного гидролиза.

В реактор с мешалкой помещают суспензию предварительно обезжиренного мясо-костного фарша, добавляют 70 мл этилового спирта в качестве консерванта, устанавливают температуру 50°C и подают 1-ю порцию (30 мл) активированной в течение 2 ч суспензии ферментного препарата из поджелудочной железы. Проводят ферментативный гидролиз при температуре 50°C в течение 3 часов, затем в реактор подают 2-ю порцию (30 мл) суспензии ферментного препарата. Продолжают ферментативный гидролиз при температуре 50°C в течение 3 ч, затем в реактор подают 3-ю порцию (34 мл) суспензии ферментного препарата, проводя гидролиз еще в течение 3 ч. Снижают температуру в реакторе до 45°C, добавляют 10 г протосубтилина Г20Х и проводят гидролиз в течение 3 ч при температуре 45°C. Общая продолжительность гидролиза – 12 ч, pH 7.0–8.0.

По окончании ферментативного гидролиза смесь в реакторе нагревают до 95°C и выдерживают при этой температуре в течение 15 мин. Далее смесь ферментативного гидролизата, белкового коагулята и негидролизованного остатка направляют на центрифугу, где центрифугируют в течение 30 мин при 5000 об/мин. Супернатант подают на фильтрование на бейтинг-фильтр, получая 2 л фильтрата. Влажный осадок, содержащий белковый коагулят и негидролизанный остаток (125 г, 17% белка), направляют на стадию кислотного гидролиза.

Жидкий ферментативный гидролизат из фильтра подают на сублимационную сушилку, получая сухой порошок ферментативного гидролизата (сухая аминокислотно-пептидная смесь) в количестве 75 г (содержание белковых веществ – 60%, аминокислот – 30%).

Получение кислотного гидролизата. Кислотный гидролиз проводят обработкой остатка, полученного после отделения ферментативного гидролизата, раствором серной кислоты, добавляя к остатку 1,394 л 12%-ного раствора серной кислоты. Гидролиз проводят при температуре 120°C. в течение 5 часов. Смесь охлаждают до комнатной температуры.

К охлажденной до комнатной температуры смеси при постоянном перемешивании подают 0,115 кг сухого оксида кальция, продолжая перемешивание в течение 15 минут. Суспензию нейтрализованного кислотного гидролизата направляют в центрифугу, центрифугируют в течение 30 мин при 5000 об/мин. Супернатант фильтруют на бельтинг-фильтре, получая 0,7 л фильтрата и 60 г влажного осадка гипса.

Жидкий гидролизат после фильтра подают на сублимационную сушилку, получая сухой порошок кислотного гидролизата (сухая смесь аминокислот) в количестве 65 г с содержанием аминокислотно-пептидных веществ, преимущественно свободных аминокислот – более 65%.

Гидролизаты представляют собой однородный порошок от желтого до светло-коричневого цвета. Запах и вкус – специфический, грибной. Содержание общего азота – не менее 7.0%. Содержание азота аминокрупп, аминокислот и низших пептидов – не менее 4.0%. Содержание растворимых белковых веществ (в пересчете на сухое вещество) – не менее 60.0%. рН 1%-ного водного раствора 5.0–6.0. Содержание золы – не более 18.0%, влаги – не более 10.0%.

Содержание аминокислот в г/100г условного белка:	Ферментативный гидролизат	Кислотный гидролизат
Аспарагиновая кислота	1.10	21.20
Треонин	0.29	0.72
Серин	0.59	1.28
Глутаминовая кислота	7.38	2.64
Пролин	3.01	3.76
Глицин	0.33	9.68
Аланин	0.89	7.36
Цистин	0.02	0.00
Валин	1.63	5.36
Метонин	0.44	1.44
Изолейцин	0.58	4.80
Лейцин	1.82	5.60
Тирозин	1.37	4.72
Фенилаланин	0.96	2.72
Гистидин	1.54	12.24
Лизин	1.88	4.96
Аргинин	2.71	1.44
Триптофан	1.03	0.00
ИТОГО	27,5	90,0

Остаток гипса, ферментативный и кислотный гидролизаты используют в качестве компонентов животных кормов, а также биологических стимуляторов роста с\х растений и животных.

Приложение 3

Переработка отходов целлюлозно-бумажной промышленности

Современное развитие теории и технологии целлюлозно-бумажного производства (ЦБП), вопреки распространенному мнению, позволяет добиться полного исключения образования отходов и токсичных промышленных выбросов. При этом то, что еще лет 50 назад считалось «отходами», теперь является «побочными продуктами», переработка которых приносит существенный экономический эффект.

С другой стороны, полная очистка и рекуперация промышленных выбросов ЦБП может составлять до 50% в доле себестоимости основной продукции (целлюлоза и бумага), требует существенных капиталовложений, трудо- и энергозатрат. Кроме того, характерная для России и других «сырьевых» стран повсеместная эксплуатация морально устаревших мощностей, срок амортизации которых давно истек, не позволяет в полной мере реализовать существующие теоретические и технологические достижения, касающиеся переработки побочных продуктов производства. Это осложняется нежеланием «инвесторов» делать серьезные капиталовложения в российскую ЦБП, вместо чего они предпочитают «выжать» максимум прибыли из старого оборудования, причем «здесь и сейчас». Это приводит к тому, что предприятия выпускают только наиболее рентабельные виды продукции, причем на них мощности по переработке вторичных продуктов производства имеются, но не эксплуатируются, а экологические законы всеми возможными способами «обходятся». Как говорил автор этих строк в относительно недавнем интервью одному из московских телеканалов, «экологическая опасность ЦБК прямо пропорциональна жадности их владельцев». Действительно, при современной стоимости очистки выбросов около 30-50% от себестоимости основной продукции они до сих пор стремятся «вписаться» в еще «советские» 12-15%. Естественно, в таком случае образования «отходов», которые могут никогда не стать «побочными продуктами», не избежать.

Переработка отходов производства сульфитной целлюлозы.

Гемицеллюлозы и лигнин древесины в процессе сульфитной варки целлюлозы переходят в сульфитный щелок в виде продуктов, пригодных для дальнейшей переработки. В результате гидролиза гемицеллюлоз и частично целлюлозы образуются пригодные для биохимической утилизации моносахариды и органические кислоты, а сульфонированный лигнин щелока (лигносульфонаты) представляет собой

высокомолекулярное поверхностно-активное вещество. Таким образом, органические вещества сульфитного щелока могут быть комплексно переработаны с получением ценных продуктов: белковых кормовых дрожжей, этилового спирта, жидкой и твердой углекислоты, растворителей и органических кислот, ванилина и сиреневого альдегида, дубителей и т. д.

В результате проведения сульфитной варки целлюлозы нормального выхода из древесины ели в щелоке присутствуют пять моносахаридов в следующем примерном соотношении, %: гексозы – манноза 50, галактоза 15, глюкоза 5; пентозы – ксилоза 25, арабиноза 5. Концентрация редуцирующих веществ (РВ) в сульфитном щелоке в зависимости от условий варки еловой древесины составляет 2,5...3,0 %, концентрация уксусной кислоты – 0,3...0,4 %.

Полное превращение сахаров в моносахариды – питательные продукты для микроорганизмов – и создание среды, обеспечивающей возможность их активной жизнедеятельности – это главная задача подготовки сульфитных щелоков к биохимической переработке, также как и подготовки гидролизата. Сюда входят операции по удалению избытка диоксида серы из щелока, его нейтрализации и обогащению питательными солями.

Щелок подготавливается следующим образом. Он поступает с целлюлозного завода и собирается в сборнике сырого щелока. Подогретый в теплообменнике до 95...97 °С, он подается в специальную колонку, где продувается паром. Обработкой щелока паром осуществляется извлечение SO₂ (до 50 % общего содержания SO₂ в щелоке) и одновременное его облагораживание за счет удаления летучих компонентов (фурфурола и др.). Расход пара составляет 40...50 кг/м³ щелока. Для удаления избытка сульфата в щелоках на растворимых основаниях после обработки паром щелок окисляют кислородом воздуха, продуваемым через него в окислительном баке. После этого щелок поступает в нейтрализатор, где нейтрализуется известковым молоком вначале до pH = 3,5. В емкостях-выдерживателях завершается процесс нейтрализации и происходит укрупнение осаждаемых частиц CaCO₃ (шлама), которые затем легче осаждаются и удаляются при осветлении щелоков в отстойниках. Необходимые для жизнедеятельности дрожжей минеральные питательные вещества – раствор хлористого калия и вытяжку суперфосфата – добавляют в выдерживатель. Осветленный щелок до температуры 35...37°С охлаждается в теплообменниках, нейтрализуется 25%-ным раствором аммиака до pH = 4,0...5,5, одновременно обогащаясь азотным питанием, и поступает в сборник щелока. Таким образом получают щелок, имеющий указанные параметры и обогащенный питательными солями, то есть готовый к биохимической переработке. Подобно гидролизату, в гидролизном производстве его называют суслом или субстратом.

Переработка гидролизата и сульфитных щелоков биохимическими методами проводится одинаково и заключается в использовании микроорганизмов для получения кормовых белковых дрожжей, этилового спирта и углекислоты, средой жизнедеятельности которым служит сусло.

Лигносульфонаты из сульфитного щелока после выпаривания представляют собой коричневый порошок, хорошо растворимый в воде, со слабым характерным запахом, напоминающим запах пережженного кофе. Они производятся большим тоннажем и стоят дешево. Имеется информация об их использовании в производстве пищевых продуктов, например, ванилина. Также лигносульфонаты – основа превосходного и дешевого связующего для производства упаковочных видов бумаги и картона.

В настоящее время имеются разработки на уровне лабораторных экспериментов по переработке лигноуглеводной составляющей сульфитных щелоков различными штаммами грибов и бактерий. Указывается на возможность получения таким способом «грибного белка». При этом не учитывается, что технология выращивания белковых кормовых дрожжей на основе углеводной составляющей сульфитных щелоков существует уже не одно десятилетие, причем это производство является многотоннажным. В связи с этим подобные разработки являются интересными с теоретической точки зрения, но мало что вносят нового в технологию.

Технологическая схема дрожжевого производства. Технология получения товарных дрожжей состоит из трех основных стадий: выращивание, выделение дрожжей из бражки и их обезвоживание.

В дрожжерастильных чанах (инокуляторах) осуществляется выращивание биомассы и делится на два процесса: получение засевных дрожжей в отделении чистой культуры и выращивание товарных дрожжей. Выделение дрожжей делится на две ступени: извлечение из бражки флотацией; сгущение на сепараторах. Обезвоживание также состоит из нескольких операций: сначала дрожжи плазмолизуются, затем упариваются на выпарной установке и после этого окончательно высушиваются на распылительной сушилке.

Выращенная в лаборатории чистая культура дрожжей, засеивается в малую дрожжанку 1, где ведется выращивание периодическим способом. Затем дрожжи из малой дрожжанки подаются в большую 2, а из большой – в малый инокулятор (засевной чан) 3. В нем выращивание дрожжей ведется непрерывным способом. Засевные дрожжи, выращенные в отделении чистой культуры, непрерывно подаются из малого инокулятора в производственный инокулятор 4. Сюда же поступают из сборника 19 сусло, воздух при помощи воздуходувки, питательные соли 6, аммиачная вода 5; пар отводится из конденсатора 18. Дрожжи, выросшие в инокуляторе, непрерывно отбираются в виде дрожжевой пены и самотеком

поступают во флотатор 17. В нем происходит расслоение пены на бражку без дрожжей и пену, обогащенную дрожжами по сравнению с той, что поступила из инокулятора. Во внутреннем стакане флотатора пена гасится.

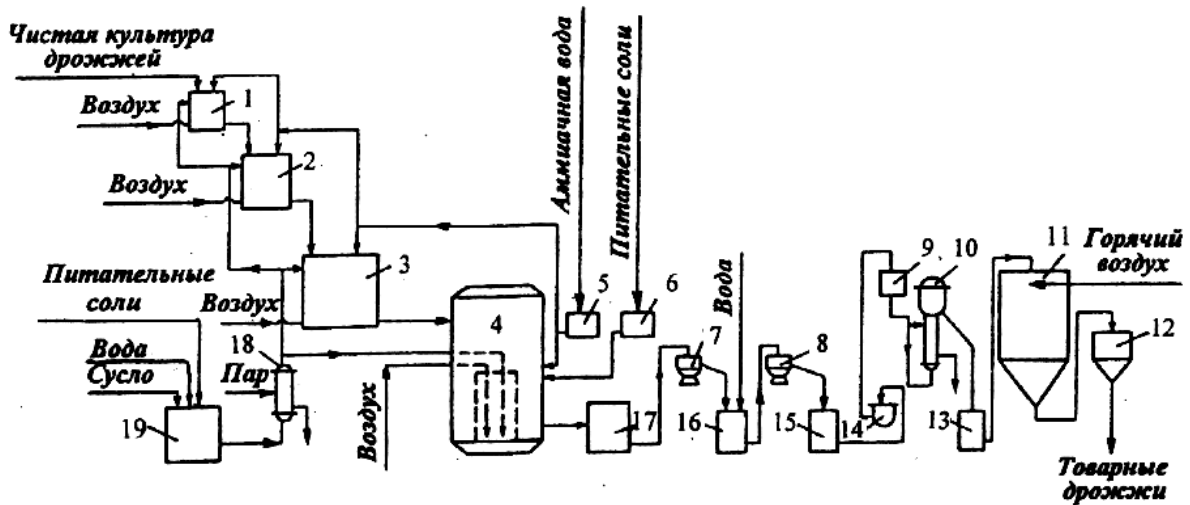


Рис. 4 Схема дрожжевого производства

Полученная суспензия с концентрацией дрожжей 60...80 г/л отбирается из него насосом и подается для сгущения на первую ступень сепарации 7, где отделяется еще часть бражки. После первой ступени сепарации (150...250 г/л) суспензия поступает в промывной чан 16, куда для промывки дрожжей подается вода. Суспензия после разбавления водой подается насосом на вторую ступень сепарации 8, где происходит сгущение дрожжей до 500...600 г/л. Готовая дрожжевая суспензия промывается и насосом 15 подается в плазмоллизатор 14. Сюда же подается пар. Здесь происходит подогрев суспензии до 80 °С, при этом дрожжевые оболочки разрушаются, содержимое клеток вытекает, и суспензия становится более текучей. Из сборника 9 плазмоллизат поступает на вакуум-выпарную установку 10 для упаривания до концентрации 12,5 % сухих веществ. Упаренный плазмоллизат подается в емкость 13, а затем на распылительную сушилку 11, где высушивается в токе горячего воздуха до содержания влаги 8...10 %. Готовые сухие дрожжи из сушилки поступают на упаковку 12 и расфасовываются в бумажные мешки по 20...25 кг.

Факторы технологического режима производства дрожжей. Эти факторы имеют первостепенное влияние на жизнедеятельность дрожжей и их выход.

Состав среды. В промышленности в качестве питательных составов применяются три вида гидролизных сред: гидролизат, сульфитный щелок, сульфитно-спиртовая барда. Они служат источником набора дрожжами биомассы. Дрожжи в процессе жизнедеятельности усваивают такие входящие в состав гидролизных сред соединения, как сахара и

органические кислоты (главным образом уксусная). Основное различие между этими средами заключается в количестве содержащихся в них питательных веществ и в соотношении сахара (РВ) и органических кислот. Так, в гидролизате содержится 3...3,5 % РВ и только 0,3...0,45 % органических кислот. В барде содержится РВ 0,6...0,7, органических кислот около 0,2 %. Состав сахаров сульфитных щелоков, барды и гидролизата также различается. В барде содержатся только пентозные сахара, в гидролизате и щелоке около 20 % сахаров составляют пентозы, около 80 % – гексозы.

Чтобы развитие дрожжей на какой-либо питательной среде протекало нормально, необходимо, чтобы эта среда содержала источники всех элементов, которые входят в состав дрожжевой клетки. Поэтому все питательные среды обогащаются такими элементами питания, как азот, фосфор, калий, магний и т.д. Все элементы вводятся в виде солей в определенном количестве. Для обеспечения 50%-ного выхода дрожжей от РВ следует обеспечить не менее 4 % азота и 2 % фосфора в пересчете на P_2O_5 от РВ или с учетом необходимого избытка 5 % азота и 2,5 % P_2O_5 от РВ сусла. Соли дозируются в сборник сусла или инокуляторы в виде водного раствора, в котором отдельные элементы находятся в необходимом для дрожжей соотношении.

На гидролизных заводах используются следующие реагенты – источники питательных солей: аммиачная вода (с содержанием азота 16...20%); сульфат аммония (с содержанием азота 20%); диаммонийфосфат (с содержанием 50 % усвояемого P_2O_5 и 13,5 % азота); суперфосфат (19...20% P_2O_5); хлорид калия (61% калия в пересчете на K_2O).

Кислотность среды. Оптимальное значение рН принимается 3,8...4,6. Дрожжи при этом быстро развиваются и дают высокий выход биомассы.

Температура. Оптимальная температура выращивания дрожжей зависит от их расы. Для принятых в промышленности культур она находится в пределах, °С: *Candida scottii* 37...38; *Candida tropicalis* 34...36; *Candida utilis* 30...32.

Время роста. Выход дрожжей от РВ и производительность инокулятора определяются временем роста дрожжевой клетки. При соблюдении оптимального режима для удвоения биомассы дрожжей достаточно 2 ч. На практике время роста дрожжей в гидролизных средах находится в пределах 3,5...5 ч, меньшее значение для выращивания на средах с содержанием РВ < 1 % и большее при выращивании на средах с РВ 2...3 %.

Расход воздуха и производительность инокулятора. Воздух является источником кислорода, необходимого для жизнедеятельности дрожжей, и одновременно служит для перемешивания содержимого инокулятора.

В промышленности расход воздуха принят около 25 м^3 на 1 т товарных дрожжей. На практике эта цифра колеблется от 17 до $40 \text{ м}^3/\text{т}$.

Инокуляторы с аэрлифтной системой распределения воздуха обеспечивают высокую производительность. В промышленности достигнута выработка товарных дрожжей на инокуляторах вместимостью 320 м^3 5 т в сутки, а на инокуляторах вместимостью 600 м^3 9...10 т в сутки.

Получение этанола. Переработкой гидролизатов и сульфитных щелоков от варок древесины хвойных пород, содержащих гексозные (сбраживаемые) моносахариды, получают этанол (этиловый спирт). Спиртовое брожение осуществляется с помощью фермента зимазы (спиртообразующих дрожжей), расщепляющего гексозные сахара до этилового спирта и углекислого газа по реакции:



Реакция брожения не полностью изучена. Из суммарной реакции следует, что из 110 кг гексоз может быть получено 51,14 кг этилового спирта или при плотности спирта $0,792 \text{ г/см}^3$ и температуре 15°C – 69,34 л. Реальный же выход вследствие побочных реакций не превышает 61 л (по бражке). При этом в бражке наряду с этиловым содержится от 4 до 7 % метилового спирта. Брожение ведется непрерывным методом при температуре $32...35^\circ\text{C}$ в бродильной батарее, состоящей из двух параллельно работающих головных чанов и одного дображивающего (хвостового) чана. Вместимость каждого чана в среднем равна 300 м^3 . Для улавливания образующегося углекислого газа головные чаны закрываются.

В процессе брожения сусло непрерывно подается сверху в головные чаны и смешивается в них с непрерывно поступающей дрожжевой суспензией. Концентрация дрожжей в этих чанах 15...20 г/л (в пересчете на прессованные). Из головных чанов сбраживаемую жидкость непрерывно подают в дображивающий чан, в котором завершается процесс брожения, и далее на сепараторах отделяют дрожжи от сульфитно-спиртовой бражки, содержащей спирт в концентрации 1...1,3 %. Дрожжевую суспензию, отделенную на сепараторах, возвращают в головные чаны, сульфитно-спиртовую бражку направляют в брагоректификационное отделение. Продолжительность брожения составляет 6...8 ч.

Процесс отгонки и очистки спирта осуществляются в брагоректификационном отделении на перегонных и ректификационных колоннах. В общем случае процесс представляется отгонкой спиртовой фракции (этиловый и метиловый спирт) паром в бражной колонне. Обесспиртованное сусло (спиртовая барда) поступает в дрожжевой цех, а спиртовой конденсат направляют в специальную колонну (эпюрационную) для удаления из него эфиров и альдегидов, после чего направляют в спирторектификационные колонны. В этих колоннах этиловый и метиловый спирты разделяют, концентрируют, очищают и получают на выходе товарные продукты. Остаточный метанол, не отделяемый от

этанола перегонкой, можно удалить пропусканием через колонны, заполненные активированным углем. Таким образом получают этанол высокой степени очистки.

В процессе спиртового брожения в количестве 96 % массы спирта образуется углекислый газ, являющийся побочным продуктом. Его улавливают и после очистки превращают в жидкую или твердую углекислоту. Выход продукта составляет 50...60 % теоретического.

Газ, выходящий из бродильных чанов собирают, в газгольдере. Технология получения жидкой углекислоты включает операции чистки, компримирования и конденсации газа. Для очистки газ последовательно пропускают через ряд колонок, в которых содержащиеся в углекислоте летучие органические вещества окисляются разбавленным раствором KMnO_4 . Затем газ промывают водой, обезвоживают его в слое древесного угля и освобождают от пахнущих примесей, сорбирующихся на активном угле. Очищенный газ сжимают в компрессоре в три ступени, последовательно увеличивая давление до 490, 1770 и 7000 кПа, охлаждают в холодильнике и дополнительно очищают его после каждой ступени сжатия. Сухой углекислый газ, сжатый до 7000 кПа (69 ат), охлаждают водой и при критической температуре 27,8 °С конденсируют в жидкость, заполняют ей баллоны и отправляют их на склад готовой продукции.

Переработка отходов производства сульфатной целлюлозы.

Современное сульфатцеллюлозное производство отличается высокой степенью автоматизации и представляет собой непрерывный цикл последовательных технологических операций со строгим регулированием качества товарной продукции, составов реагентов, сырья и т.п. В отличие от некогда эксплуатировавшихся варочных котлов периодического действия, современные высокопроизводительные непрерывно действующие варочные установки практически полностью позволяют исключить негативное влияние «человеческого фактора» на технологический процесс. В связи с этим образование «отходов» в этом случае является полностью контролируемым, а технологии их утилизации – отработанными, и при проектировании целлюлозного завода они уже закладываются в его конструкцию, причем заказчики проектов всегда стремятся выйти на минимальные ресурсо- и энергозатраты. Поэтому все попытки кардинально изменить технологию переработки побочных продуктов сульфатцеллюлозного производства, предпринятые в 1980-1990-х гг., в частности, найти различные способы использования сульфатного лигнина, так ни к чему и не привели. Продукты из этого лигнина никак нельзя назвать рентабельными, но исключение самого сульфатного лигнина из технологического цикла с целью его переработки кардинально нарушало весь технологический цикл производства основного продукта – сульфатной целлюлозы, доля которой в настоящее время составляет около 85% от всей целлюлозы, выпускаемой в мире.

Образующийся в результате сульфатной варки т.н. черный щелок представляет собой дисперсию сульфатного лигнина в воде, стабилизированную т.н. сульфатным мылом – смесью натриевых солей смоляных и жирных кислот древесины с различными примесями. Собственно сульфатное мыло в настоящее время является единственным по-настоящему востребованным компонентом черного щелока. Оно подвергается глубокой многостадийной переработке с получением высокорентабельных продуктов, причем производство это является многотоннажным. То же самое касается и сульфатного скипидара. Черный щелок после отбора сульфатного мыла подвергают упариванию с последующим сжиганием, при этом наряду с образованием тепловой энергии происходит регенерация реагентов, используемых для варки целлюлозы.

Выделение сульфатного мыла производится в две стадии. Вначале щелоки отстаивают до выпарки, предварительно доведя их плотность путем смешивания с упаренными щелоками до $1100...1120 \text{ кг/м}^3$, после чего щелок упаривают до плотности $1160...1180 \text{ кг/м}^3$. В результате этого появляется возможность выделения дополнительного количества мыла. Отстаивание мыла производится в отстойниках при температуре около 80°C , для чего щелок из выпарной станции вводится в среднюю часть отстойника, а всплывающее в виде плотной пены мыло отводится по лотку через отверстие в верхней части стенки отстойника. На практике выделяют до 70 % мыла, содержащегося в щелоках. Выход сульфатного мыла составляет от 50 до 140 кг с относительно равным соотношением жирных и смоляных кислот на 1 т сульфатной целлюлозы, вырабатываемой из сосновой древесины. Из древесины лиственных пород получается до 30 кг на 1 т целлюлозы с преобладанием солей жирных кислот.

В качестве товарного продукта сырое сульфатное мыло почти не применяется и, как правило, перерабатывается на сырое талловое масло, получаемое путем разложения сульфатного мыла серной кислотой, для чего после промывки масло при нагревании острым паром и хорошем перемешивании обрабатывается 30%-ной серной кислотой. Реакционная смесь разделяется на сырое талловое масло (верхний слой), лигнин, который после растворения в белом щелоке возвращается в процесс или отделяется для последующего использования, и раствор сульфата натрия, используемый для промывки исходного сульфатного мыла. Талловое масло отделяется, промывается горячей водой и подсушивается при нагревании.

При использовании непрерывного способа разложения сульфатного мыла его промывают раствором дисульфата натрия, подщелоченным белым щелоком до $\text{pH} = 10$ или слабым белым щелоком для удаления остатков черного щелока. Промытое масло подвергают гомогенизации, фильтруют для отделения от механических примесей и подвергают

разложению серной кислотой в смесителе. Реакционная смесь разделяется в центробежном сепараторе на сырое талловое масло, кислый раствор дисульфата натрия с лигнином и механические примеси. Полученное талловое масло, как и при периодическом способе, отстаивают, промывают горячей водой, снова отстаивают и подсушивают при нагревании. Расход серной кислоты составляет около 230 кг (в расчете на моногидрат) на 1 т сырого таллового масла, выход масла – 45...55 % от перерабатываемого мыла и зависит в основном от его влажности.

По внешнему виду сырое талловое масло – темная вязкая жидкость с плотностью 0,96...0,99 г/см³, содержанием влаги до 2 % и с незначительным количеством примесей дурнопахнущих сернистых соединений и терпенов. Оно применяется в качестве флотореагента, в производстве эмульгаторов, смазочно-охлаждающих жидкостей, сокативов. Большая часть сырого таллового масла подвергается ректификации с получением талловой канифоли, талловых жирных кислот и других продуктов.

Через фильтр и подогреватель сырое талловое масло направляется в сушилку, где от него при 150 °С отгоняются легколетучие вещества, терпены и влага. Затем масло, высушенное и нагретое до температуры 250...260 °С, через высокотемпературный подогреватель поступает в отгонную ванну, где при остаточном давлении 0,5...0,7 кПа и с присадкой водяного пара отгоняются летучие вещества. С основного конденсатора отгонной ванны дистиллят направляется в первую колонну для выделения канифоли, а дистиллят с дополнительного конденсатора – в емкость дистиллированного таллового масла. Внизу ванны отбирается талловый пек.

Из первой колонны дистиллят через подогреватель поступает на вторую колонну, из верхней части которой отбираются легкие масла, а из нижней – смесь смоляных и жирных кислот, разделяемая на третьей колонне на жирные кислоты и дистиллированное талловое масло. Ректификационные установки работают под вакуумом, создаваемым с помощью эжекторов.

От сырого таллового масла выход канифоли составляет около 24 %, жирных кислот – 12 %, дистиллированного таллового масла – 22 %, легких масел – 7 %, пека – 27 %. Талловая канифоль может быть использована наряду с живичной и экстракционной, а учитывая сравнительно низкую ее себестоимость и многотоннажное производство, во многих случаях применение ее предпочтительнее. Жирные кислоты используют в производстве линолеума, компонента жирующих смесей для выделки кож, в производстве ПАВ, а смесь легких масел – в композициях смягчителей, в литейном производстве и т.д. Температура размягчения талловой канифоли 60...70 °С, кислотное число 160...175, цвет по стеклянной шкале Wg – G.

Талловый, или сульфатный скипидар получают с выходом 5...10 кг на 1 т вырабатываемой целлюлозы в зависимости от вида перерабатываемой древесины. При непрерывном процессе производства сульфатной целлюлозы скипидар улавливают путем дробной конденсации паров из пропарочной камеры, паров самоиспарения щелока из расширительного циклона, а также парогазовой смеси из пеносборников и вакуум-фильтров.

Кипячением такого скипидара в аппарате, снабженном обратным холодильником, отгоняют продукты, образовавшиеся в результате воздействия сернистого натрия на метоксильные группы лигнина: метилмеркаптан H_3CSH , диметилсульфид H_3CSCH_3 и другие, имеющие резкий и неприятный запах. Отогнанный скипидар промывают раствором щелочи, отстаивают и ректифицируют в двухколонном аппарате.

Скипидар, полученный при ректификации, промывают раствором гипохлорита натрия или перекисью водорода, отстаивают во флорентине и вновь промывают раствором щелочи в промывной колонне. Затем очищенный скипидар пропускают через сушильную башню, заполненную поваренной солью, где он освобождается от остатков влаги.

Товарный талловый скипидар имеет следующий состав, %: альфа- и бета-пинен – 65...75; дельта-3-карен – 12...15; дипентен – 3...6; прочие терпены – 2...5.

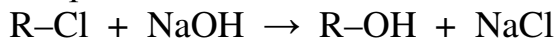
Плотность таллового скипидара при температуре 20 °С составляет 885...865 кг/м³, температура начала кипения 148...156 °С, объем отгона до 170 °С не менее 93 %.

Из-за наличия в талловом скипидаре незначительного количества сернистых соединений даже хорошо очищенный продукт имеет своеобразный запах, отличающийся от запаха живичного скипидара.

Отходы, образующиеся при отбелке целлюлозы. Большая часть производимой в настоящее время в мире целлюлозы подвергается отбелке и используется для производства писче-печатных и санитарно-гигиенических видов бумаги, а также для химической переработки. Не подвергается отбелке только крафт-целлюлоза, используемая для производства высокопрочной упаковки, но ее доля в мировом производстве неуклонно снижается. В последнее время всё больший интерес наблюдается к беленой крафт-целлюлозе.

Отбелку целлюлозы можно рассматривать как продолжение процесса делигнификации, протекающего при варке. Но принцип воздействия в данном случае отличается, т.к. необходимо удалить остаточный лигнин, имеющий прочную химическую связь с целлюлозой и содержащий хромофорные группы. Если при получении целлюлозы для химической переработки остаточный лигнин из нее при отбелке удаляется практически полностью, то при получении целлюлозы для бумаги – лишь частично, при этом стремятся максимально ликвидировать хромофорные

группы остаточного лигнина, представляющие собой системы сопряженных двойных связей. Наиболее простой и действенный путь здесь – окислить двойные связи, потому процесс отбели – это воздействие на техническую целлюлозу сильных окислителей. Долгое время для этого использовали молекулярный хлор Cl_2 , очень легко присоединяющийся по двойным связям, с последующим разрушением хлорорганических связей воздействием растворов щелочей:



Теоретически должны образовываться чистые продукты и нетоксичные отходы, однако в настоящее время молекулярный хлор для отбели бумажной целлюлозы запрещен, в т.ч. и в России, т.к. он образует неразрушимые щелочью соединения с остаточным лигнином и гемицеллюлозами, являющиеся токсичными наподобие диоксинов. Хотя в бумаге этих соединений так обнаружено и не было, все предприятия, в т.ч. и в России, в начале 2000-х гг. были подвергнуты обязательной сертификации по стандарту ISO 9001, который не допускал использование молекулярного хлора в технологии отбели целлюлозы. И это притом, что он до сих пор используется как самое надежное средство обеззараживания питьевой воды, а на ЦБК Северной и Южной Америки повсеместно используются гипохлорит натрия NaClO и диоксид хлора ClO_2 , также при определенных условиях способные образовывать хлорорганические соединения с компонентами древесины. В Европе же эти соединения не используются вовсе по той причине, что после 1992 г. там были закрыты почти все целлюлозные заводы, а бумажные фабрики переоборудованы на переработку макулатуры, для отбели которой применяют дорогостоящие и малоэффективные пероксиды водорода, натрия или перкарбонат натрия (в США – всё тот же гипохлорит натрия).

Как уже было указано выше, при строгом соблюдении технологии отбели целлюлозы даже с использованием хлорсодержащих окислителей на выходе из отбельного цеха не образуется токсичных продуктов и отходов. Органическая составляющая этих отходов, содержащаяся в отходящем отбельном щелоке, представлена продуктами окислительной деструкции лигнина и полисахаридов (в основном гемицеллюлоз). В основном это натриевые соли низших алифатических и ароматические кислоты, легко разрушаемые биологическими методами или связываемые коагулянтами.

При нарушении технологии отбели целлюлозы в отходящие сточные воды могут попасть токсичные хлорорганические соединения. Многие из них являются безусловными клеточными ядами, при выходе на биологические очистные сооружения они способны отравить активный ил и полностью вывести из строя их работу. Также они способны накапливаться на дне водоемов и почве, вызывая постепенное их заражение. В современной российской литературе высокая концентрация

таких веществ в сточных водах отбелных цехов описывается как нечто вполне естественное, то есть надлежащая подготовка сточных вод для снижения их токсичности на российских предприятиях, по-видимому, не проводится вовсе.

Переработка отходов производства бумаги и картона.

Современное бумажное производство является полностью экологически безопасным. Оно использует нетоксичное сырье природного происхождения, стоки из бумажных цехов легко очищаются на типовых очистных сооружениях предприятия и могут быть возвращены обратно в производство (бессточная технология).

Потери сухого вещества в производстве бумаги из свежего волокна сравнительно невелики, большая часть отходящих с водой веществ возвращается обратно в производство. Однако эти потери значительно возрастают при производстве бумаги из вторичного волокна (макулатуры). В процессе переработки макулатуры образуется очень много «мелочи» – волокна, измельченного иногда до порошкообразного состояния, не способного к полноценному бумагообразованию. До определенного количества она бывает полезна, поскольку служит в качестве своеобразного «волокнуистого наполнителя» для печатных видов бумаги, улучшая ее свойства, влияющие впоследствии на печатный процесс. Но в случаях, когда бумага проходит многократные циклы переработки, что характерно для стран с высокой степенью возврата макулатуры, волокно в процессе многократного механического воздействия на него повреждается и мелочи образуется слишком много – до 50% от общей массы всего волокна. Такая масса малопригодна для производства бумаги, поэтому мелочь в данном случае является естественным отходом, который выводят из технологического потока механическими и физико-химическими методами. Однако переработка ее осложнена тем, что она всегда содержит минеральные включения в разных пропорциях в зависимости от сорта производимой бумаги. Для печатных бумаг, где используется минеральный наполнитель, доля минеральных примесей, выводимых из потока вместе с мелочью, превышает ее количество.

Для российского бумажного производства указанная проблема не актуальна, поскольку реальная степень возврата макулатуры в стране не превышает 12-15%. И это при относительно малых объемах переработки вторичного волокна по сравнению со странами-лидерами и практическим отсутствием административного регулирования утилизации отходов этого производства.

В странах ЕС утилизация скопа (осадка) от переработки макулатуры представляет собой реальную проблему. Печатные виды бумаги содержат до 30% и более минерального наполнителя вместе с мелованным слоем, без которого печатная бумага там выпускается теперь очень редко. Ввиду очень больших скоростей буммашин и всё растущего содержания

наполнителя в бумажной массе его провал под сетку очень высок, поэтому содержание минеральных примесей в скопах бумажных фабрик ЕС достигает 70-75% и более. Состав этих примесей – в основном мел CaCO_3 и примесь каолина (белой глины) разной степени гидратации $\text{Al}_2(\text{SiO}_3)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Судя по литературным источникам, неизвестно до сих пор, что делать с этими осадками. Если в странах Северной Америки их подвергают обжигу в печах с последующим использованием в качестве компонентов строительных смесей, то в странах ЕС действуют строгие лимиты на такой обжиг и на выделение CO_2 по реакции:



В связи с этим обжиг выполнять нерентабельно. Также как нерентабельно эти отходы транспортировать.

Дело осложняется тем, что основной минеральный компонент данных отвалов – мел, причем сильно загрязненный. Это – достаточно бесполезный балласт, во многом осложняющий переработку осадков. В частности, органическую составляющую из-за его присутствия в таком количестве не подвернуть гидролизу ввиду побочной реакции, приводящей к большому расходу дорогостоящей кислоты и опять же выделению CO_2 .



Продуктами реакции являются гипс CaSO_4 или хлорид кальция CaCl_2 , если для гидролиза использовать соляную кислоту HCl .

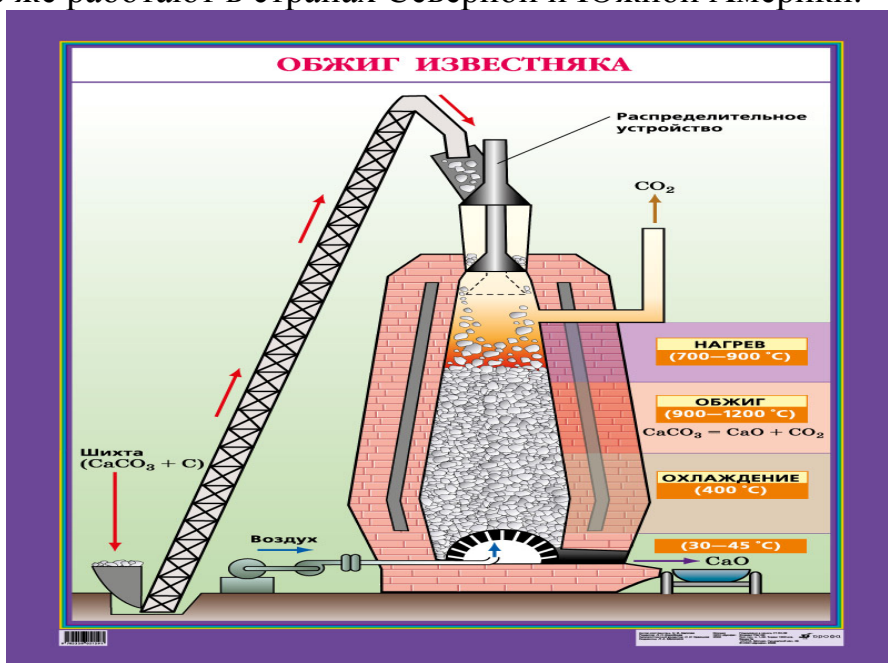
Таким образом, мы сейчас наблюдаем настоящую катастрофу, постигшую бумажную промышленность стран ЕС. А началось всё еще в 1950-х гг., когда ряд американских концернов, в первую очередь компания HERCULES, настойчиво продвигали на европейском рынке свои технологии, якобы несущие огромные прибыли, поскольку позволяли использовать в качестве минерального наполнителя бумаги мел, дешевый и отличающийся высокой белизной. Традиционная же технология, в которой используются алюмосодержащие растворимые коагулянты-катализаторы, подразумевает применение наполнителя каолина (белой глины). В то время продвижение технологии с использованием мела сдерживалось тем, что существовали поставки дешевого и качественного каолина из СССР в страны Европы. Несмотря на это, европейские химические концерны, такие, как BASF (Германия), KEMIRA NOVO (Финляндия), AKZO NOBEL (тогда еще Швеция, в настоящее время – США) под давлением банковских кредитных организаций вынуждены были купить у HERCULES лицензии на использование этой технологии.

После известных событий 1991 г. хорошо разработанные месторождения каолина остались на Украине, и на этот наполнитель тут же была в несколько раз поднята цена. Вместе с этим после вступления в действие Маастрихтского договора о создании ЕС с 1993 г. были остановлены целлюлозные заводы Германии, а в 1995 г. та же судьба постигла почти все целлюлозные заводы Швеции и Финляндии. Все эти

ЦБК впоследствии были переоборудованы на переработку макулатуры. Это заставило производителей всё-таки перейти на упомянутую американскую технологию с использованием мела (которая в самих США не очень-то активно применяется), и ее доля составила в Финляндии – более 90%, в Швеции – более 80%, в Германии – более 75%.

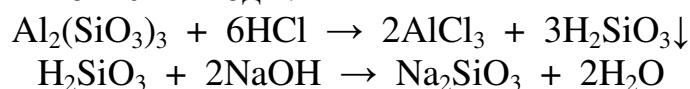
В результате еще в 2002 г. в отвалах бумажных фабрик Европы уже скопилось огромное количество загрязненного мела, применение которому невозможно найти. Со стороны европейских производителей замена каолина на мел стала серьезнейшей стратегической ошибкой, последствия которой сказались лишь спустя несколько лет. Немаловажно также то, что мел по сравнению с каолином гораздо хуже удерживается на целлюлозном волокне и «сам просится в отвал», плюс к этому абразивные свойства его частиц способствуют более быстрому износу бумагоделательного оборудования. Повышение цен на многие реагенты, используемые в бумажной промышленности, в сочетании с падением их качества (производство многих из них перенесено в Китай и соседние с ним страны) привело к тому, что технология производства бумаги с использованием мела в результате стала более дорогой, чем традиционная. Однако европейских производителей бумаги к этому времени уже связывали долгосрочные контракты и кредиты, поэтому они оказались в безвыходной ситуации.

Отвалы мела продолжают копиться в Европе и не находят применения. Современная печь для обжига известняка (см. рис.) подразумевает высокий расход тепловой энергии и выделение большого количества CO_2 , что не проходит по европейским экологическим стандартам. На рисунке представлена современная китайская печь, подобные же работают в странах Северной и Южной Америки.



Если бы в Европе вместо мела использовался каолин, то проблемы его утилизации не возникало бы. Каолин – высокоценное сырье для химической промышленности. Производство продуктов из него высокорентабельно.

Растворяя каолин в избытке соляной кислоты с последующими очищением и концентрированием, можно получить широкий набор коагулянтов и катализаторов на основе хлорида алюминия AlCl_3 , имеющих очень широкое применение в химической, бумажной промышленности, а также в технологии очистки воды.



Каолин – сырье для производства многих видов керамики (см. рис.):



Как видно, переработка каолина почти безотходная, тем более достаточно чистого каолина, используемого в бумажной промышленности. Практически все осадки растворяются либо в кислоте, либо в щелочи. Силикат натрия (жидкое стекло), производимое на этой же линии переработки, кроме своих традиционных направлений использования, может с успехом применяться в бумажной промышленности при производстве высокосортной печатной бумаги как исходный компонент получения синтетического нанокаолина прямо на целлюлозных волокнах

бумажной массы. Несмотря на более высокую цену, кроющая способность синтетического нанокаолина в сотни раз выше, чем у природной белой глины, а в конечном итоге – меньше расход электроэнергии при его использовании и в целом ниже общая стоимость технологии, а качество продукции очень высокое. Разработки этой технологии были достаточно неуверенно начаты в СССР еще в конце 1980-х гг. и почти тут же заброшены. Новую жизнь эта технология получила благодаря ученым Московского государственного университета леса, когда ими, кроме использовавшегося ранее жидкого стекла, были разработаны комбинации новых катализаторов и полимеров. В 2014 г. были получены первые образцы бумаги, изготовленные по этой технологии. Это была бумага для декоративного слоя бумажно-слоистого пластика, содержание минерального наполнителя в которой достигает 30% и более. При этом часть использующегося для нее наполнителя диоксида титана TiO_2 (рутильная форма), который очень дорог, была заменена на синтетический нанокаолин. Оптические свойства такой бумаги (непрозрачность и др.) остались на уровне промышленных образцов, зато механические свойства выросли на 30-40%. При этом удержание нанокаолина на целлюлозном волокне приближается к 100%, то есть он практически не попадает в стоки и отвалы. Исследования в этой области до сих пор продолжаются.

Переработка отходов сортирования макулатуры. Макулатура – это вторичное волокнистое сырье самого разного происхождения. В международной классификации принято четкое разделение ее на 2 сорта, в зависимости от чего технологии ее переработки кардинально отличаются:

1. Макулатура, не бывшая в употреблении (обрезь с бумажных фабрик, типографий, не использованные по каким-либо причинам рулоны бумаги со складов и т.п.).
2. Макулатура, бывшая в употреблении (ее происхождение может быть практически любое).

Интересный факт – согласно законам США, любая печатная бумага должна содержать в своей композиции не менее 50% вторичного волокна, но при этом в законе не прописано, какого происхождения должно быть это волокно. Поэтому производители высококачественных печатных бумаг поступают следующим образом. Чуть более половины произведенной на фабрике бумаги, поступающей на промежуточный склад, маркируют и «отправляют потребителю» (как правило, фиктивная фирма по экспорту бумажной продукции, типография и др.). На самом же деле бумага так и не покидает пределы фабрики и, какое-то время полежав на складе, снова отправляется в производство, распускается на волокна, и из нее делается продукция. Формально закон соблюден. Из-за этого в мировой статистике такой высокий процент использования макулатуры, «не бывшей в употреблении» (для офисных сортов приближается к 100%), что ее даже

специально выделили в отдельный сорт, хотя реально ее доля в общем перерабатываемом потоке макулатуры ничтожна.

Что касается макулатуры, бывшей в употреблении, то отходы, образующиеся при ее сортировании, могут быть самой различной природы. В зарубежной литературе среди перечисляемых примесей фигурируют такие, как «обертки от Сникерсов», «пивные банки», «остатки мебели» и др. В зарубежной практике их сортируют и пытаются переработать. В российской практике участь таких отходов – мусорная свалка.

Что касается органической составляющей таких отходов, то более 90% из них приходится на макулатуру, не подлежащую переработке. Это влагопрочные виды бумаги и картона, а также всевозможные ламинаты, содержащие полиэтилен, битум и т.п. По мнению ученых американской ассоциации TAPPI, лучший способ их переработки – это печь для сжигания с получением тепловой энергии. Предложены способы биохимической переработки таких отходов, например, измельчение с последующим гидролизом и сбраживанием, но из-за большого количества разнородных примесей на практике такое применить трудно. Ведутся разработки по анаэробному сбраживанию таких отходов. В настоящее время все предложенные способы нерентабельны. Известно, что бактерии, «работающие» в реакторах анаэробного брожения (метантенках), очень «капризные» и чувствительные к малейшим изменениям условий среды. Поэтому существующие промышленные очистные сооружения, где применяется этот способ, рассчитаны в основном на бытовые отходы, состав которых более-менее постоянен, или на не слишком загрязненные промышленные отходы, например, на «чистую» растительную биомассу без битума, полиэтилена и т.п.

Оглавление

Авторы книги.....	3
Предисловие.....	4
Введение в переработку органических отходов.....	5
Переработка отходов, образующихся в процессе очистки воды и воздуха.....	6
Аэробная переработка отходов.....	6
Перколяционные фильтры.....	7
Активный ил.....	9
Принцип «псевдооживленного слоя».....	14
Анаэробное разложение.....	15
Биологический контроль за системами микробиологической переработки отходов.....	21
Контроль за патогенностью.....	24
Извлечение полезных веществ.....	27
Вода.....	27
Удобрения.....	28
Корма для животных.....	29
Биологическая переработка промышленных отходов.....	30
Отходы молочной промышленности. Сыворо́тка.....	34
Отходы целлюлозно-бумажной промышленности.....	35
Отходы от производства красителей.....	38
Биологическая очистка газов.....	40
Биодеградация ксенобиотиков в окружающей среде.....	41
Участие микробных сообществ в биодеградации ксенобиотиков.....	42
Хлорпроизводные углеводов.....	44
Другие замещенные простые ароматические соединения.....	45
Полиароматические углеводороды.....	46
Биодеградация нефтяных загрязнений.....	47
Пестициды.....	48
Биодеградация поверхностно-активных веществ.....	50
Аэробная переработка отходов в сельском хозяйстве. Проблема хранения и переработки отходов.....	52
Системы переработки отходов в аэробных условиях.....	53
Водоем для окисления.....	53
Каскадные бассейны.....	54
Канавы Пасвира (<i>Pasveer ditch</i>).....	54
Переработка отходов сельского хозяйства в анаэробных условиях. Главные особенности процесса.....	55
Переработка отходов сельского хозяйства.....	55
Микробиологические основы процесса.....	57
Современные разработки.....	57
Использование протопластов в селекции растений. Вегетативное размножение.....	58
Изменчивость.....	59
Регенерация растений из протопластов.....	60
Выращивание растений для опытов.....	60
Среды для выделения и размножения.....	60
Выделение протопластов.....	61
Рост каллуса.....	61
Получение соматических гибридов.....	64
Захват протопластами микроорганизмов и ДНК.....	65

	Переработка отходов, образующихся при загрязнении почвы.	66
	Пути ликвидации твердых отходов.....	66
	Открытые горящие свалки.....	67
	Захоронения.....	67
	Проблемы, связанные с захоронением отходов.....	68
	Вымывание веществ и загрязнение грунтовых вод.....	68
	Образование метана.....	70
	Просадка грунта.....	70
	Усовершенствование захоронений – попытка закрепить порочную практику.....	70
	Возрастание стоимости захоронений.....	71
	Возможные решения. Рециклизация.....	72
	Трудности на пути рециклизации.....	72
	Пути решения проблем.....	73
	Юридические аспекты рециклизации отходов.....	76
	Компостирование.....	77
	Отходы как источник энергии.....	78
	Сокращение объема отходов.....	79
	Бутылки одноразового и многоразового использования.....	80
	Другие способы.....	81
	Комплексная программа ликвидации отходов.....	82
	Отходы мясоперерабатывающих предприятий и их реализация.....	84
	Активация ферментного комплекса из поджелудочной железы убойных животных.....	85
	Гидролиз мясокостного фарша.....	87
	Технологическая схема получения пептона.....	94
	Переработка бумаги и древесины.....	95
Раздел 1	Консервация древесины и пищевых продуктов как основа предотвращения количества отходов.....	96
Часть 1	Уменьшение количества отходов лесного хозяйства за счет предварительной консервации.....	96
Глава 1	Консерванты для древесины на основе солей и комплексов металлов с переходной валентностью.....	96
	Консерванты древесины, содержащие производные бора.....	106
	Консерванты древесины, содержащие галогены, серу и производные фосфора.....	109
Глава 2	Органические консерванты древесины.....	110
	Консерванты, полученные на основе алифатических соединений и их производных.....	111
	Консерванты на основе ароматических соединений и их производных.....	113
	Консерванты на основе гетероциклических соединений.....	117
	Консерванты на основе синтетических и природных полимеров, а также микроорганизмов.....	120
	Список литературы.....	125
Часть 2	Консервация пищевых продуктов.....	133
Глава 3	Химические и физические методы консервирования мяса и мясопродуктов.....	133
	Использование неорганических консервантов и различных технологических приемов для сохранения свежести мяса.....	134
	Применение органических кислот, молочнокислых бактерий	

	и грибов в качестве консервантов.....	137
	Применение жирных кислот и растительных масел в качестве консервантов.....	142
	Антимикробное действие хитозана и его производных.....	144
	Консерванты для мяса, содержащие аминокислоты и полипептиды.....	145
	Другие консерванты мяса.....	147
Глава 4	Сохранение свежести пищевых продуктов сочетанными консервирующими смесями.....	148
	Физиологическое действие консервантов.....	148
	Физико-химические методы консервирования пищевых продуктов.....	149
	Смеси неорганических консервантов.....	150
	Сочетанное действие органических кислот, их солей, антиоксидантов и моносахаров.....	152
	Антибактериальное действие аминокислот, полипептидов и их смесей с другими консервантами.....	156
	Консерванты, содержащие в своем составе белки и ферменты.....	157
	Бактериоцины и лантибиотики – новые пищевые консерванты, продуцируемые молочнокислыми и другими подобными бактериями	159
	Консерванты, содержащие олиго- и полисахариды.....	162
	Смеси консервантов, содержащих многоатомные спирты, жиры, жирные кислоты и их производные.....	163
	Смеси консервантов, полученных экстракцией из растений.....	164
	Получение консервантов с пролонгированным действием.....	165
	Список литературы.....	167
Раздел 2	Производство топлива из органических отходов.....	175
Часть 3	Производство этанола.....	175
Глава 5	Предварительная обработка лигноцеллюлозных соединений.....	178
	Физическая предобработка. Механическое измельчение.....	178
	Пиролиз.....	179
	Физико-химическая предобработка. Метод парового взрыва (автогидролиз).....	179
	Аммонийный взрыв.....	180
	Углекислотный взрыв.....	181
	Химическая предобработка. Озонолиз.....	182
	Кислотный гидролиз.....	182
	Щелочной гидролиз.....	184
	Окислительная делигнификация.....	184
	Процесс с органическими растворителями.....	185
	Биологическая предобработка.....	186
Глава 6	Ферментативный гидролиз целлюлозы.....	186
	Интенсификация ферментативного гидролиза.....	187
	Субстраты.....	188
	Целлюлаза.....	188
	Ингибирование целлюлазной активности конечным продуктом.....	190
	Дальнейшие перспективы.....	193
Глава 7	Кислотные гидролизаты лигноцеллюлозного материала.....	195
	Гидролизаты лигноцеллюлозы.....	196
	Ингибиторы гидролизатов лигноцеллюлозы.....	197
	Продукты расщепления сахаров.....	198
	Продукты разрушения лигнина.....	199

	Компоненты, производные от лигноцеллюлозных структур.....	199
	Ионы тяжелых металлов.....	200
	Комбинированное действие нескольких токсичных компонентов:	
	синергетическое действие.....	200
	Методы детоксикации гидролизатов.....	201
	Биологические методы.....	202
	Физические методы.....	203
	Химические методы.....	203
	Комбинированные методы.....	205
	Обработка активированным углем.....	207
	Влияние pH.....	208
	Влияние времени контакта.....	208
	Влияние температуры.....	209
	Влияние концентрации активированного угля.....	209
	Список литературы.....	210
Часть 4	Получение метана, водорода и компостов анаэробным разложением органических отходов.....	218
Глава 8	Получение метана и компостов.....	219
	Температурные условия анаэробного разложения отходов и получения метана.....	220
	Мезофильное анаэробное разложение отходов.....	222
	Мезофильное анаэробное расщепление отходов животноводства.....	224
	Мезофильное анаэробное разложение растительных, домашних, пищевых и городских отходов.....	226
	Термофильное анаэробное разложение органических отходов.....	227
	Психрофильное анаэробное разложение отходов.....	229
	Некоторые кинетические закономерности анаэробного разложения органических отходов.....	230
	Пути интенсификация процесса анаэробного разложения отходов.....	232
Глава 9	Получение водорода анаэробным разложением органических отходов.....	234
	Список литературы.....	238
Раздел 3	Переработка органических отходов в компосты аэробными микроорганизмами.....	242
Часть 5	Основные методы компостирования.....	243
Глава 10	Сырьевая база для получения компостов.....	243
Глава 11	Основные параметры компостирования.....	244
Глава 12	Способы аэробного компостирования органических отходов.....	249
	Компостирование навоза сельскохозяйственных животных.....	249
	Компостирование растительных отходов.....	253
	Компостирование пищевых отходов и мусора.....	260
	Компостирование отходов сточных вод.....	261
	Уменьшение потерь азота во время компостирования.....	263
	Список литературы.....	265
Часть 6	Интенсификация процессов компостирования.....	270
Глава 13	Показатели качества компоста.....	276
Глава 14	Основные микроорганизмы, участвующие в компостировании.....	272
Глава 15	Ферменты и ферментативные процессы при компостировании.....	279
Глава 16	Физико-химические методы, улучшающие качество компостов и эффективность их получения.....	282
Глава 17	Микробиологические и биохимические методы интенсификации процесса компостирования.....	285

Глава 18	Определение зрелости компоста.....	287
Глава 19	Агрохимические и агроэкологические свойства компоста «Биофорт» [86].....	289
	Влияние компоста «Биофорт» на плодородие почвы.....	291
	Эффективность компоста «Биофорт» и других компостов при выращивании сельскохозяйственных культур.....	291
	Экологическая оценка действия компоста на качество продукции....	295
	Рекомендации по практическому применению компоста под овощные культуры.....	298
	Список литературы.....	301
Раздел 4	Земляные черви и вермикомпостирование.....	305
Часть 7	Идентификация и выделение биологически активных соединений из земляных червей.....	307
Глава 20	Биологически активные пептиды и белки из земляных червей.....	308
Глава 21	Выделение протеаз, фибринолитических, тромболитических и других подобных им белков и ферментов.....	312
Глава 22	Прочие ферменты из земляных червей.....	320
Глава 23	Синтез липидов земляными червями.....	324
	Список литературы.....	326
Часть 8	Земляные черви и плодородие почвы.....	331
Глава 24	Условия обитания земляных червей.....	332
Глава 25	Влияние земляных червей на некоторые физико-химические свойства почвы.....	334
Глава 26	Влияние земляных червей на активность ферментов почвы.....	337
Глава 27	Взаимосвязь земляных червей с наличием органических соединений в почве и их усвоением червями.....	340
Глава 28	Земляные черви как биомаркеры заражения почвы поллютантами.....	344
Глава 29	Влияние земляных червей на продуктивность растений.....	348
	Список литературы.....	350
Часть 9	Вермикомпостирование органических отходов и корма для животных.....	354
Глава 30	Отдельные примеры получения вермикомпостов.....	355
	Компостирование отходов бумажного производства и их смесей вместе с навозом сельскохозяйственных животных.....	355
Глава 31	Компостирование растительных отходов.....	357
Глава 32	Вермикомпостирование и сочетанное компостирование навоза, илов сточных вод и других органических отходов.....	360
Глава 33	Интенсификация процесса вермикомпостирования.....	363
Глава 34	Земляные черви – источник полноценного белка для животноводства, птицеводства и рыбководства.....	365
	Список литературы.....	369
Приложение 1	Переработка органических отходов в жидкое биотопливо.....	372
Приложение 2	Переработка белок содержащих отходов в биологически активные добавки. Белковые гидролизаты	375
Приложение 3	Переработка отходов целлюлозно-бумажной промышленности.....	378
	Оглавление.....	395

Учебное издание

Иванкин Андрей Николаевич
Неклюдов Андрей Дмитриевич
Тарасов Сергей Михайлович
Жилин Юрий Николаевич

**ИНЖЕНЕРНАЯ ЭКОЛОГИЯ.
ПЕРЕРАБОТКА ОРГАНИЧЕСКИХ ОТХОДОВ**

Редакция авторов

Оригинал-макет подготовил А.Н. Иванкин

Компьютерная верстка А.Н. Иванкина, А.Д. Неклюдова

По тематическому плану внутривузовских изданий учебной литературы
на 2016 год, поз.доп.

Подписано в печать 2016 . Формат 60х90 1/16. Бумага 80 г/м²
Гарнитура «Таймс». Ризография. Усл. печ. л. 25,0
Тираж 100 экз. Заказ №
Издательство Московского государственного университета леса. 141005,
Мытищи–5, Московской обл., 1-я Институтская, 1, МГУЛ
Телефоны: (495) 588-5762, 588-5348, 588-5415. Факс 588-5109
E.mail: izdat@mgul.ac.ru

ENGINEERING ECOLOGY.

Processing of the Organic Wastes

Prof. Andrew N. Ivankin

Moscow Forest State University

Prof. Andrew D. Neklyudov

Moscow Forest State University

Assistant professor Sergey M. Tarasov

Moscow Forest State University

Assistant professor Yuri N. Zhilin

Moscow Forest State University

MFSU Publishers – Moscow – 2016