

УДК 621.384.52

UDC 621.384.52

**ВЛИЯНИЕ ОЗОНовоздушной СМЕСИ НА
ВРЕДНОСНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ,
СОДЕРЖАЩИЕСЯ В СУБСТРАТАХ**

**INFLUENCE OF OZON-AIR MIX ON THE
HARMFUL MICROORGANISMS CONTAINING
IN SUBSTRATA**

Шевченко Андрей Андреевич
доцент, mnpkkgau@mail.ru

Shevchenko Andrey Andreevich
associate professor, mnpkkgau@mail.ru

Сапрунова Елена Анатольевна
доцент, Saprunova2007@mail.ru

Saprunova Elena Anatolyevna
associate professor, Saprunova2007@mail.ru

Денисенко Евгений Александрович
ассистент, denisenko_88@mail.ru
*Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия*

Denisenko Evgeniy Aleksandrovich
assistant, denisenko_88@mail.ru
Kuban state agrarian university, Krasnodar, Russia

Статья посвящена обоснованию воздействия
озоновоздушной смеси при стерилизации
растительных субстратов и фуражного зерна в
процессе биотехнологического производства

Article is devoted to justification of influence of ozon-
air mix at sterilization of vegetable substrata and
fodder grain in the course of biotechnological
production

Ключевые слова: ОЗОНОВОЗДУШНАЯ СМЕСЬ,
СТЕРИЛИЗАЦИЯ КОРМОПРОДУКТОВ,
ГЕНЕРАТОР ОЗОНа

Keywords: OZON-AIR MIX, STERILIZATION OF
FOOD PRODUCTS, OZONE GENERATOR

При дезинфекции растительных субстратов нам необходимо максимально снизить количество вредоносных микроорганизмов, отрицательно влияющих на развитие полезной биомассы. К данным микроорганизмам относят бактерии, бациллы, а так же плесневые грибы и продукты их жизнедеятельности – токсины [7]. Рассмотрим воздействие озона на каждый вид вредоносной микрофлоры.

Бактерии - большая группа микроскопических, преимущественно одноклеточных организмов, обладающих клеточной стенкой, содержащих много дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК), имеющих примитивное ядро, лишённое видимых хромосом и оболочки, не содержащих, как правило, хлорофилла и пластид, размножающихся поперечным делением (реже перетяжкой или почкованием). Подавляющее число видов бактерий имеет палочковидную форму. Однако к бактериям относят также микроорганизмы, имеющие шаровидную, нитевидную или извитую форму [3]. Бактерии разнообразны по своей физиологии, биохимически очень активны и распространены в почве, воде, грунте водоёмов и пр., что

характеризует их значительное присутствие на продуктах сельскохозяйственного производства [1].

Все бактерии имеют клеточную стенку (рисунок 1). Помимо этого у ряда бактерий стенка окружена слизистой капсулой. Данная оболочка защищает бактерию от внешних воздействий и препятствует разрушению клетки.

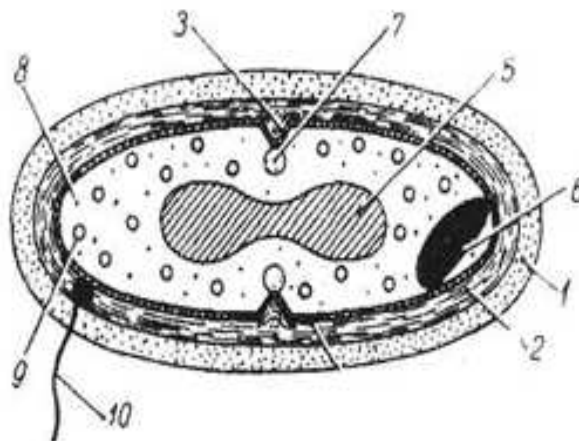


Рисунок 1 - Схема строения бактериальной клетки: 1 - слизистый слой; 2 - клеточная оболочка (стенка); 3 - начало образования поперечных перегородок; 4 - цитоплазматическая оболочка; 5 - ядро в начале деления, 6 - спора; 7 - мезосомы; 8 - частицы РНК; 9 - включения; 10 - жгутик

Существуют сотни различных видов бактерий, которые объединены в 2 основных типа:

1. Непатогенные организмы. Полезные или безопасные виды бактерий, которые выполняют много полезных функций – вроде разложения, которые помогают улучшать и многократно использовать почвенный слой. Безвредных бактерий гораздо больше, чем патогенных (опасных) бактерий (молочнокислые бактерии, пробиотики и др).
2. Патогенные организмы. Известны патогенные (инфицирующие) бактерии, или микробы, которых множество на коже, в воде и в воздухе. Болезнетворные бактерии хотя и находятся в меньшинстве,

но вызывают значительные нарушения, попадая внутрь растения или животного. Патогенные бактерии опасны, поскольку вызывают болезни. К таким бактериям относят:

- Кокки – организмы округлой формы, обнаруживаются одиночно или в группе (рисунок 2).

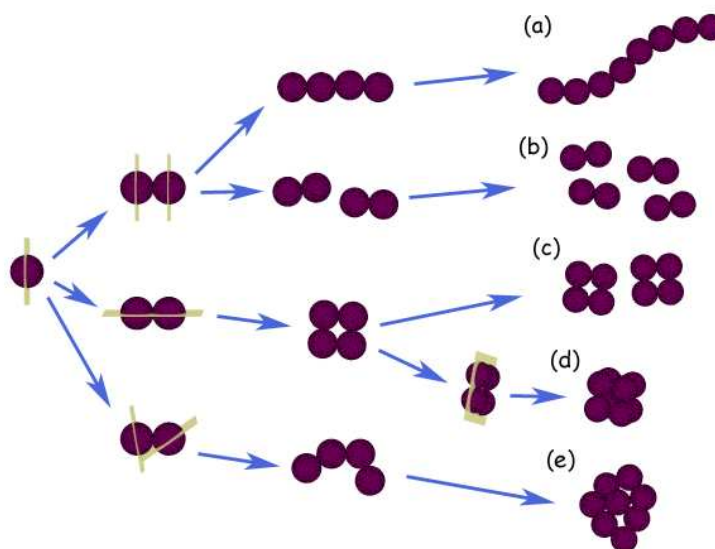


Рисунок 2 – Различные типы структур кокков: (а) стрептококки, (б) диплококки, (с) тетракокки, (д) сарцины, (е) стафилококки

- Бациллы – организмы палочковидной формы, короткие, относительно тонкие или толстые (рисунок 3). Самые распространенные бактерии. Вызывают такие болезни, как столбняк, грипп, тифозная лихорадка, туберкулез, сибирскую язву и дифтерию. Многие бациллы образуют споры.

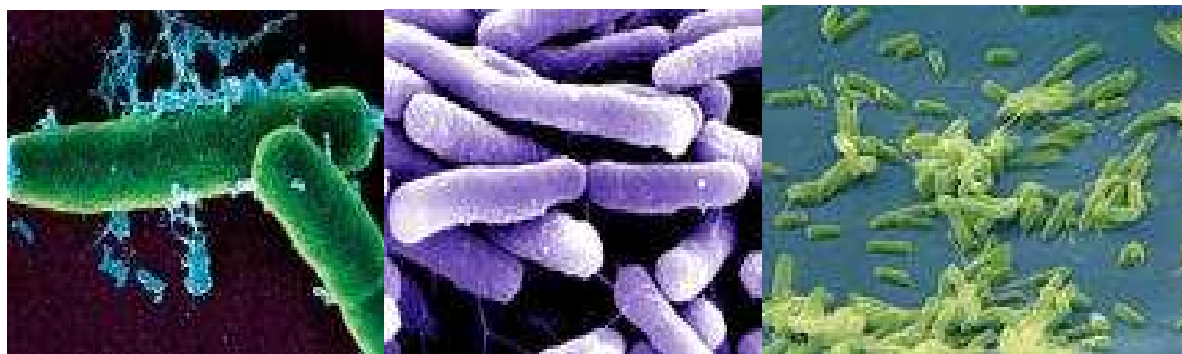


Рисунок 3 - Фото различных бацилл

- Спириллы – организмы спиралевидной формы. Обитают в водоемах, спор не образуют (рисунок 4).

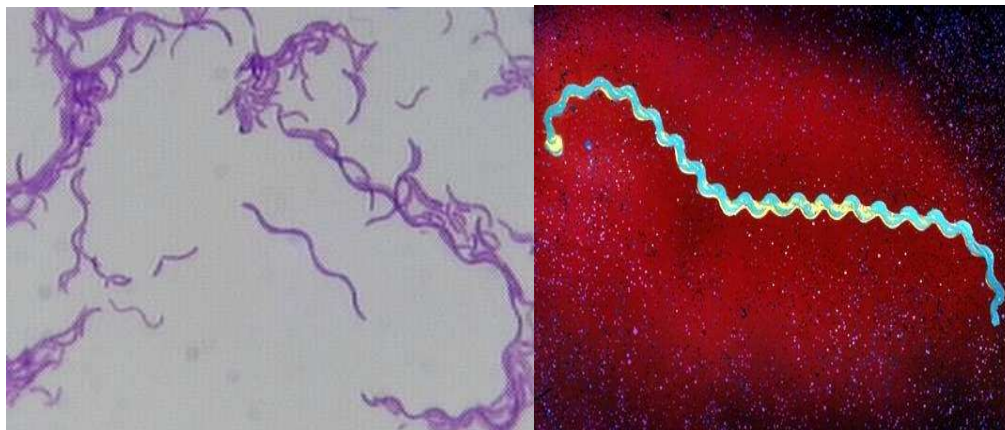


Рисунок 4 – Фото различных спирилл

На растительных субстратах наиболее распространены различные виды кокки и бациллы. Но наиболее опасными для человека и животных являются бациллы [6].

Бацилла - палочковидная бактерия, способная образовывать споры. Бациллы могут образовать парные соединения - диплобациллы и цепочки - стрептобациллы. Примером стрептобациллы, дающей характерные и очень длинные, в виде извитых нитей, цепочки, является сибироязвенная палочка.

Образование спор служит одним из существенных признаков для классификации микробов. В зависимости от положения споры в клетке изменяется форма бациллы. Это и у возбудителя столбняка *Clostridium tetani*, у которого споры обычно находятся на концах клеток, придавая последним форму барабанных палочек. Такие формы бактерий называются клостридии.

У других форм, например у маслянокислых, споры образуются в средней части клеток, отчего последние получают веретенообразную форму - плектридии.

Бациллы являются аэробами или факультативными анаэробами, большинство представителей хемоорганогетеротрофы и растёт на простых питательных средах. Некоторые виды способны к нитратредукции. Крупные и среднего размера прямые или слабоизогнутые палочки, способные к образованию устойчивых к неблагоприятным воздействиям эндоспор (экстремальным температурам, высушиванию, ионизирующим излучениям, химическим агентам), большинство видов подвижно и обладают жгутиками расположенными перетрихиаально.

В процессе жизнедеятельности клетки бактерий и бацилл осуществляют клеточное дыхание - это процесс высвобождения химической энергии, запасенной в «пищевых» молекулах, для ее дальнейшего использования в жизненно необходимых реакциях. Дыхание может быть аэробным и анаэробным. В первом случае для него необходим кислород. Он нужен для работы т.н. электронотранспортной системы: электроны переходят от одной молекулы к другой (при этом выделяется энергия) и в конечном итоге присоединяются к кислороду вместе с ионами водорода - образуется вода. Анаэробным организмам кислород не нужен, а для некоторых видов этой группы он даже ядовит. Высвобождающиеся в ходе дыхания электроны присоединяются к другим неорганическим акцепторам, например нитрату, сульфату или карбонату, или (при одной из форм такого дыхания - брожении) к определенной органической молекуле, в частности к глюкозе. Необходимость дыхания бактерий и бацилл способствует проникновению окружающих газов под их клеточную оболочку, что при обработке озоном позволит беспрепятственно доставить его внутрь клетки.

Озон, попадая внутрь клетки, разрушает ее клеточную оболочку, что приводит к ее гибели. Причиной нарушения целостности оболочек бактериальных клеток, является окисление фосфолипидов и липопотеидов [4].

Липопротеиды – липидно-белковые комплексы. Отдельные представители этой большой группы веществ различаются по физическому и химическому строению. Все липопротеиды очень чувствительны к действию различных факторов: нагревание, замораживание, высушивание, реакция среды, действию окислителей, органических растворителей.

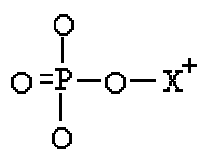
Характер связи между липидным и белковым компонентами может быть различным: в одних случаях липидные молекулы (жирные кислоты и др.) связаны с определенными функциональными группами белковой молекулы; в других – белок соединяется с целым комплексом липидных молекул, образующих мицеллярные агрегаты или пленочные структуры.

Озон – как один из сильнейших окислителей разрушает (расщепляет) сложные органические соединения на фрагменты. При воздействии даже кислорода воздуха (менее сильного окислителя, чем озон) макромолекулы липопротеидов разрушаются по месту связей липидной части и белковой, затем расщепление идет на более мелкие фрагменты[5]. Липидная часть окисляется до появления низкомолекулярных летучих веществ, образуются перекисные соединения, оксикислоты, альдегиды, кетоны. Фрагменты макромолекул – это среда для жизнедеятельности микроорганизмов. Разрушение структуры белка называется денатурацией.

Фосфолипиды (фосфатида) – сложные липиды, являющиеся сложными эфирами фосфорной кислоты и глицерина или сфингозина. В зависимости от природы спирта, лежащего в основе химической структуры того или иного фосфатида, различают глицерофосфатида и сфингофосфатида.

Молекула любого фосфатида состоит из 2 частей:

1) Гидрофильной «головы» - полярные остатки фосфорной кислоты



и азотистого основания или спирта.

2) Гидрофобного, липофильного «хвоста», образованного длинными алифотическими цепями остатков высших жирных кислот.

Фосфатиды легко образуют комплексы с белками.

Озон подавляет бактерии и вирусы, частично разрушая их оболочку. Прекращается процесс их размножения и нарушается способность соединяться с клетками организма. Грам-положительные бактерии более чувствительны к озону, чем Грам-отрицательные, что видимо связано с различием в строении их оболочек. Таким образом, можно сделать вывод, что озоновоздушная обработка оказывает отрицательное влияние на процессы жизнедеятельности бактерий и способствует их уничтожению.

Помимо бактерий на поверхности субстрата находятся споры плесневых грибов. Грибы составляют большую группу организмов, которые выделены в отдельный подвид Микота (*Mycota*). Грибы широко распространены в природе, они являются эукариотами. В подвид грибов входят микроскопические мицелиальные грибы (ранее их называли плесневыми грибами).

Представителями микроскопических мицелиальных грибов являются грибы родов *Аспергиллус* (*Aspergillus*), *Пенициллиум* (*Penicillium*), *Мукор* (*Mucor*), *Фузариум* (*Fusarium*) и другие, которые относятся к различным классам (рисунок 5).



Рисунок 5 – Фото плесневых грибов

Многие плесневые грибы вырабатывают вторичные метаболиты — антибиотики и токсины, угнетающе или токсично действующие на другие живые организмы.

О проблеме токсинов известно более 40 лет. Но уже многие сельхозтоваропроизводители убедились на практике, что токсины в кормах далеко не редкость и об этой проблеме уже не спорят, а принимают различные меры для профилактики вызываемых ими заболеваний и снижения экономического ущерба.

Токсины - это группа химических веществ, которые продуцируются некоторыми плесневыми грибами, в частности многими видами *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps* и *Alternaria*, реже другими. При этом надо указать, что образование грибами токсинов всегда является результатом сложных взаимодействий между влажностью, температурой, уровнем pH, концентрациями кислорода и углекислого газа, наличием насекомых, распространенностью грибов в объеме корма и длительности его хранения.

Микотоксины, образующиеся в кормах, являются вторичными метаболитами жизнедеятельности грибов и представляют довольно устойчивые вещества, которые обладают тератогенным, мутагенным и канцерогенным эффектами, способные нарушать белковый, липидный и минеральный обмен веществ и вызывать регрессию органов иммунной системы.

Микотоксикозы в зависимости от их природы, концентрации микотоксинов в рационе, вида животного, возраста, условий кормления и состояния иммунитета проявляются:

- снижением продуктивных параметров с/х животных и птиц;
- снижением эффективности использования кормов на производство продукции;
- нарушением репродуктивно-воспроизводительных функций;

- ослаблением иммунной системы организма;
- повышением восприимчивости к заболеваниям (кокцидиоз, колибактериоз и др.);
- увеличением материальных затрат на лечение и профилактические мероприятия;
- приводят к ослаблению действия вакцин и медикаментов.

Опасность микотоксинов, помимо снижения продуктивных качеств в животноводстве и птицеводстве, заключается и в переходе их в биотрансформированном или неизменном виде в продукцию животноводства и птицеводства, что представляет собой опасность для здоровья людей.

В животноводстве наиболее осязаемое (видимое) негативное действие наблюдается от афлатоксинов и зеараленона (рисунок 6). Из четырех основных представителей афлатоксинов, а именно (В1, В2, G1, G2) наиболее токсичным и обнаруживаемым в кормах в наибольшем количестве является афлатоксин В1. Он же является самым токсичным из всех микотоксинов и вообще из ядовитых веществ в кормах.

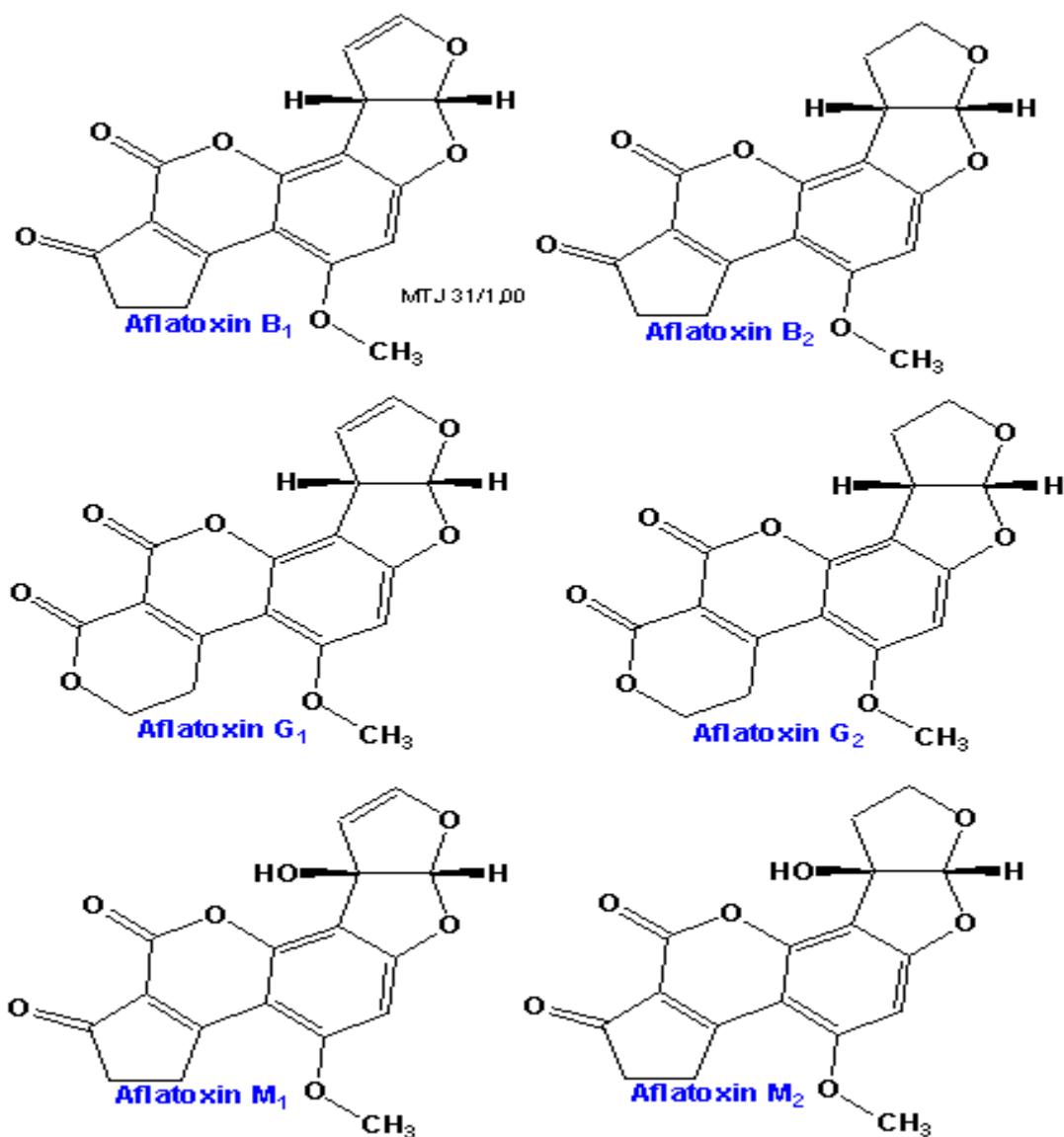


Рисунок 6 – Химические структуры различныхафлатоксинов

Опасность афлатоксина В1 и зеараленона в животноводстве на сегодняшний день недооценена. В практике животноводства есть мнение о том, что жвачные животные менее восприимчивы к вредным действиям микотоксинов, из-за высокой активности микрофлоры рубца. Однако, анализ имеющейся научной литературы показывает, что метаболиты токсинов образующиеся в рубце, могут быть также или еще более ядовитыми, чем первоначальные токсины. Это позволяет утверждать, что жвачные животные не защищены эффективно от афлотоксинов, в том

числе и от В1. В первую очередь это связано с ограниченной деградацией афлатоксина В1 в рубце.

Афлатоксины продуцируются грибами *Aspergillus flavus* и *A. parasiticus* и являются производными кумарина и относятся к стерололактонам. Они являются одними из сильных гепатропных ядов (поражают печень, вызывая ее жировое перерождение, обладают выраженными канцерогенными свойствами, так же отмечены поражения и других органов - сердца, почек, селезенки). В связи с тем, что субстраты для биотехнологического производства получают из сельскохозяйственной продукции, они также заражены токсичными веществами.

Рассмотрим вопрос влияния озона на токсины образованные в процессе жизнедеятельности плесневых грибов *Aspergillus flavus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Claviceps*, *Alternaria* и др.

Был произведен анализ наиболее опасных афлотоксинов и мы обнаружили, что у всех них похожая химическая структура. Поэтому на примере афлотоксина В1 рассмотрим его взаимодействие с озоном и атомарным кислородом. На рисунке 7 видно, что при взаимодействии афлотоксина В1 с атомарным кислородом происходит разрушение химических связей с образованием молекулы воды.

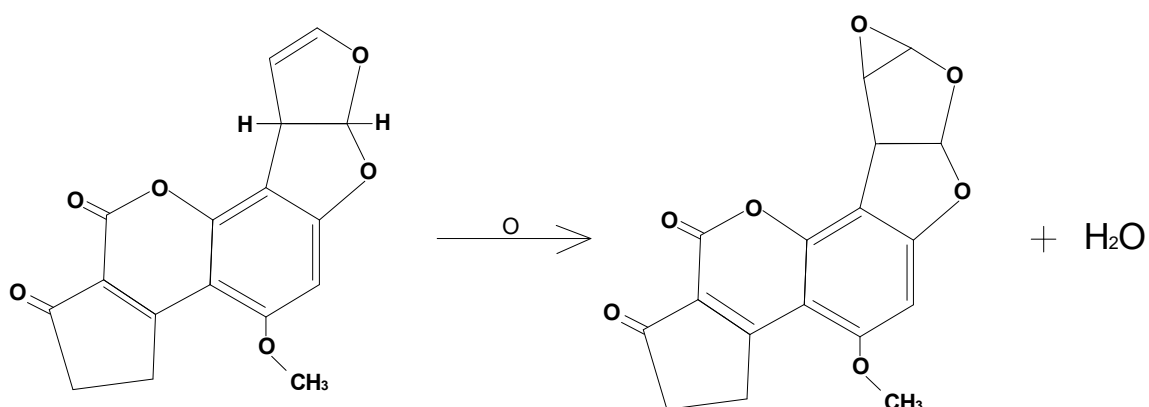


Рисунок 7 – Окисление афлотоксина В1 атомарным кислородом

При взаимодействии афлотоксина В1 с более сильным окислителем – озоном, происходит также разрушение химических связей с образованием молекулы воды и молекулы кислорода [2] (рисунок 8).

При контакте афлотоксина с озоном или атомарным кислородом происходит разрушение функциональных групп, обуславливающих токсические свойства. Образующиеся при этом метаболиты характеризуются высоким содержанием гидрофильных групп, вследствие чего легко вымываются из субстрата.

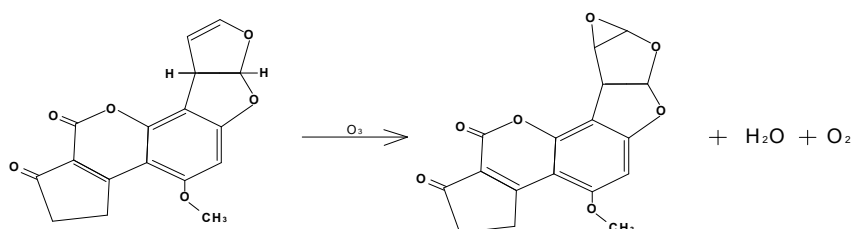


Рисунок 8 – Окисление афлотоксина В1 озоном

Проведенные теоретические исследования позволяют говорить о эффективности использования озона с целью дезинфекции биотехнологических субстратов кормовых добавок.

Для подтверждения теоретических исследований необходимо провести экспериментальное исследование влияния озона на вредоносную микрофлору субстратов. Помимо этого необходимо выявить параметры, влияющие на нагрев электроозонатора и определить пути снижения их влияния на температуру диэлектрических барьеров, что позволит увеличить срок службы генераторов озона.

Литература

1. Нормов Д.А. Обеззараживание зерна озонированием / Д.А. Нормов, А.А. Шевченко, Е.А. Федоренко // Комбикорма – М.: Фолиум, 2009. - № 4. - С. 44.
2. Нормов Д.А. Озон против микотоксикозов фуражного зерна / Д.А. Нормов, А.А. Шевченко, Е.А. Федоренко // Сельский механизатор. – М.: 2009. - № 4. - С. 24-25.
3. Нормов Д.А. Влияние озонозоооздушной обработки на фитопатогенную микрофлору в овощехранилище / Д.А. Нормов, А.А. Шевченко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – Краснодар: КубГАУ. - 2008. - № 13. - С. 208-210.
4. Нормов Д.А., Шевченко А.А., Шхалахов Р.С., Квитко А.В. Способ обработки яиц в инкубаторах / Патент на изобретение RUS 2343700. 08.10.2007
5. Потапенко И.А., Усков А.Е., Шевченко А.А., Квитко А.В. Устройство для предпосевной обработки семян / Патент на полезную модель RUS 97237. 13.10.2009
6. Шевченко А.А. Воздействие озонозоооздушной смеси на популяцию плесневых грибов / А.А. Шевченко, Е.А. Денисенко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – Краснодар: КубГАУ. - 2011. - Т. 1. № 29. - С. 191-195.
7. Шевченко А.А. Дезинфекция субстратов озонозоооздушной смесью перед приготовлением биопрепаратов / А.А. Шевченко, Денисенко Е.А. // Научное обозрение. – М.: ООО «АПЕКС 94». - 2013. - № 1. - С. 102-106.

References

1. Normov D.A. Obezrazazhivanie zerna ozonirovaniem / D.A. Normov, A.A. Shevchenko, E.A. Fedorenko // Kombikorma – M.: Folium, 2009. - № 4. - S. 44.
2. Normov D.A. Ozon protiv mikotoksikozov furazhnogo zerna / D.A. Normov, A.A. Shevchenko, E.A. Fedorenko // Sel'skij mehanizator. – M.: 2009. - № 4. - S. 24-25.
3. Normov D.A. Vlijanie ozonozodushnoj obrabotki na fitopatogennuju mikrofloru v ovoshhehranilishhe / D.A. Normov, A.A. Shevchenko // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – Krasnodar: KubGAU. - 2008. - № 13. - S. 208-210.
4. Normov D.A., Shevchenko A.A., Shhalahov R.S., Kvitko A.V. Sposob obrabotki jaic v inkubatorah / Patent na izobretenie RUS 2343700. 08.10.2007
5. Potapenko I.A., Uskov A.E., Shevchenko A.A., Kvitko A.V. Ustrojstvo dlja predposevnoj obrabotki semjan / Patent na poleznuju model' RUS 97237. 13.10.2009
6. Shevchenko A.A. Vozdejstvie ozonozodushnoj smesi na populjaciju plesnevych gribov / A.A. Shevchenko, E.A. Denisenko // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. – Krasnodar: KubGAU. - 2011. - T. 1. № 29. - S. 191-195.
7. Shevchenko A.A. Dezinfekcija substratov ozonozodushnoj smes'ju pred prigotovleniem biopreparatov / A.A. Shevchenko, Denisenko E.A. // Nauchnoe obozrenie. – M.: ООО «АПЕКС 94». - 2013. - № 1. - S. 102-106.