

ІНАКТИВАЦІЯ БАКТЕРІЙ РОДУ *DIPLOCOCCUS* В АТМОСФЕРІ АЗОТУ І ПОВІТРЯ

© Предзимірска Л.М., Шевчук Л.І., 2014

Досліджено вплив ультразвукової кавітації на процес знезараження води від бактерій роду *Diplococcus* в атмосфері азоту та повітря. На основі експериментальних даних запропоновано сумісне застосування азоту і ультразвуку як найефективнішого агента для очищення води.

Ключові слова: ультразвук, природа газу, мікробне число, знезараження, кавітація, бактерії роду *Diplococcus*.

The influence of ultrasonic cavitation on disinfestation from bacterial genus *Diplococcus* in the atmosphere of nitrogen and air has been investigated. Based on experimental data suggested the joint usage of ultrasound with nitrogen flushing is the most effective agent for purification of water.

Key words: ultrasound, nature of gas, number of microorganisms, disinfection, cavitation, bacterial genus *Diplococcus*.

Постановка проблеми. Сьогодні ресурси прісних поверхневих водойм відіграють визначальну роль у забезпеченні потреб національної економіки. Прогресивна діяльність теперішнього та майбутнього поколінь неможлива без стійкого менеджменту водних ресурсів, що дає змогу підтримувати екологічні процеси у водному середовищі у стані, придатному для життя на планеті. Забезпечення необхідної якості використаної води, що скидається у водойми, є одним з ключових завдань управління водними ресурсами.

Застосування існуючих механічних та фізико-хімічних методів очищення стічних вод є економічно недоцільним, оскільки вони не дають достатнього ефекту очищення і призводять до утворення нових відпадків, які потребують додаткової утилізації.

У зв'язку з цим актуальним є дослідження процесу кавітаційного очищення стічних вод і розроблення на цій основі комплексної ресурсощадної технології, що може мати попит у промисловості.

Завдяки кавітаційному очищенню можна не лише знешкодити забруднення у стічній воді, а й відтворити якість води, використаної у промисловому виробництві, побуті, сільському господарстві, чи забрудненої внаслідок техногенних аварій на водоймах. З огляду на його відносну дешевизну, надійність та екологічну бездоганність, кавітаційне очищення води має безумовну перспективу закріпити свою визначальну роль в охороні водного басейну від біогенних речовин.

Мета роботи. Дослідити закономірності впливу азоту і повітря на інактивацію мікроорганізмів з використанням ефекту кавітації.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. В останні роки ультразвук починає відігравати все більшу роль у промисловості та наукових дослідженнях. Успішно проведені теоретичні та експериментальні дослідження в галузі ультразвукової кавітації і акустичних течій, що дали змогу розробити нові технологічні процеси, що перебігають під час поширення ультразвуку (УЗ) у рідкій фазі.

Проведені дослідження дали можливість незаперечно встановити, що стерилізуюча дія УЗ виявляється на частотах 20 кГц і вище, за інтенсивності більше ніж 0,5 Вт/см².

Руйнуються УЗ кишкова (*Escherichia coli*), черевнотифозна (*Salmonella typhi*), дифтерійна (*Corynebacterium diphtheriae*), сінна (*Bacillus subtilis*) палички, палички правця (*Tetanus bacillus*), сальмонели (*Salmonella*), коки (*Staphylococcus*), трипаносоми (*Trypanosoma*), трихомонади (*Trichomonas*), збудник тифу (*Typhus recurrens*) та ін. Ультразвук високої інтенсивності надає руйнівну дію на віруси тютюнової мозаїки (*Tobacco mosaic virus*), енцефаліту (*Encephalitis virus*), висипнотифозні, грипу (*Influentia*). Бактеріофаги великих розмірів також чутливі до дії УЗ. З патогенних мікроорганізмів (МО) найбільшу стійкість до впливу УЗ виявляють різні штами туберкульозних паличок (*Tuberculum bacillus*).

За ультразвукової обробки водних суспензій *Mycobacteriaceae* частотою 20 кГц відбувається руйнування 93 % клітин, а за високочастотного ультразвукового впливу (612 кГц) – 35,5 %.[1]

Відомо, що зміна проникності клітинних мембран призводить до порушення іонного складу внутрішньоклітинного середовища, що зумовлює зміну у швидкостях багатьох ферментативних реакцій. У результаті в клітинах виникають репаративні реакції, що супроводжуються новими реакціями синтезу. Істотний і довготривалий вплив ультразвуку призводить до незворотних змін у клітинах [2].

Експериментальна частина. Для моделювання процесу знезараження в умовах кавітації як тест-мікроорганізми доцільно було використати бактерії, які найчастіше зустрічаються у стічній і поверхневій воді. Після ідентифікації МО у стоках пивоварні "Кумпель" і в поверхневих водоймищах Львівської області була виявлена переважаюча кількість МО з родини *Coccaceae*, тому було штучно створене модельне середовище з підвищеним вмістом бактерій роду *Diplococcus*. Наші попередники досліджували вплив природи газу на процес знезараження води від бактерій роду *Diplococcus* [3] в кавітаційних умовах та без них. Досліджуючи процес очищення води від цих бактерій в атмосфері таких газів, як кисень, вуглекислий газ, аргон та гелій, було встановлено, що природа газу істотно впливає на швидкість знезараження. Тому продовжуючи ці дослідження, доцільно було ще дослідити вплив повітря і азоту на ці МО.

Досліди проводились за оптимальних умов, встановлених попередніми дослідженнями: температура ($T=298$ К), атмосферний тиск ($P=1\cdot 10^5$ Па), частота ультразвукових коливань ($\nu=22$ кГц), тривалість процесу ($\tau=2$ год.).

Оскільки початкова кількість МО у досліджуваному розчині під час обробки в атмосфері азоту була 8260 КУО/см³, а за барботування повітря – 1600 КУО/см³, то для порівняння зміни вмісту мікробного числа (МЧ) розраховувалася залежність зміни відносного числа МО до їх початкової кількості в часі. Кількість МО визначали підрахунком колонії у чашках Петрі глибинним культивуванням на м'ясо-пептонному агарі та інкубації за температури 37 °С тривалістю 48 год.

Бактерії роду *Diplococcus* належать до аеробних, тому подача самого повітря протягом першої години веде до активного їх нагромадження (рис. 1) в 1,36 раза, проте подальше барботування газу у водне середовище призводить до зменшення МЧ. Бактерицидний ефект повітря після першої години барботування пояснюється перенасиченням води цим газом за його тривалої подачі, що й зумовило руйнування клітинних структур. За сумісної дії повітря та УЗ на модельне середовище був досягнутий вищий антимікробний ефект ($MЧ_{кін}=1090$ КУО/см³), ніж під час барботування самого газу ($MЧ_{кін}=1510$ КУО/см³).

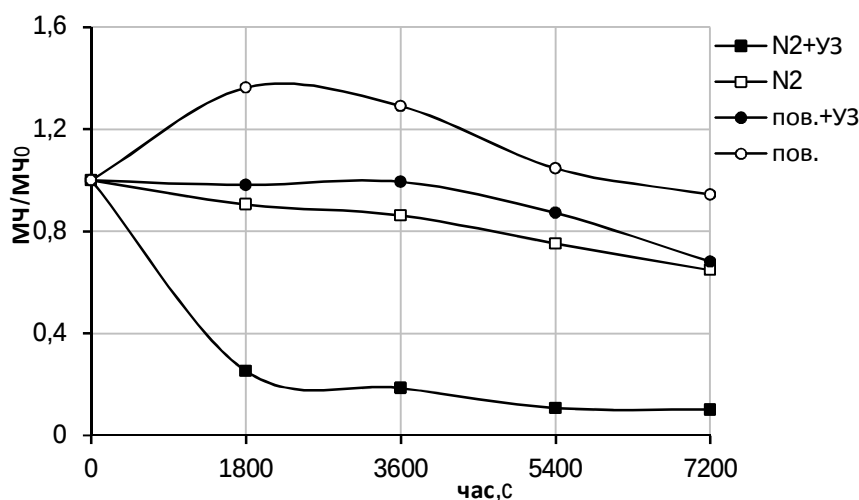


Рис. 1. Залежність відношення $MЧ/MЧ_0$ бактерій роду *Diplococcus* від тривалості процесу за різних умов експерименту

Під час барботування азоту крізь модельний розчин спостерігається кращий ефект порівняно з самим повітрям чи дією повітря та УЗ. Після двогодинного пропускання азоту через модельне середовище МЧ в 1,04 рази більше, ніж повітря та УЗ. У кінцевому результаті подача самого азоту призводить до загибелі клітин в 1,5 рази порівняно з вихідною концентрацією $MЧ_{поч} = 8260 \text{ КУО/см}^3$.

Щодо дії азоту та УЗ вже у перші 30 хв спостерігається значне зменшення МО (в 4 рази), а після двогодинного впливу УЗ-хвиль та азоту кількість бактерій зменшується до 840 КУО/см^3 , що в 9,8 рази менше порівняно з вихідним значенням. УЗ-оброблення підсилює бактерицидну дію азоту, що й зумовило інтенсивний перебіг процесу. За кавітаційного впливу руйнуються колоїди і частинки, всередині яких можуть міститися бактерії. Вплив озвучування в газовій атмосфері викликає конформаційні зміни у білкових молекулах МО, а тривалість випромінювання УЗ-хвиль підвищує ефективність знезараження модельного середовища.

Фізико-хімічна дія УЗ на біологічні об'єкти насамперед пов'язана з природою газу, в атмосфері якого відбувається кавітація, та морфологією поверхні клітин. Бульбашки газу слугують додатковими центрами для утворення зародків кавітації, внаслідок чого підвищується проникність біологічних мембран та відбувається прискорення процесів обміну речовин із-за дифузії, змінюється концентрація водневих іонів у тканинах, спричиняючи розщеплення високомолекулярних сполук, прискорюється обмін речовин.

В основі біологічної дії ультразвуку можуть лежати також вторинні фізико-хімічні ефекти. Так, під час утворення акустичних потоків може відбуватися перемішування внутріклітинних структур. Кавітація призводить до розриву молекулярних зв'язків у біополімерах та інших життєво важливих сполуках і до розвитку окисно-відновних реакцій. Усі перераховані чинники в реальних умовах діють на біологічні об'єкти в тому чи іншому поєднанні разом, і тому важко, а часом неможливо окремо досліджувати процеси, що мають різну фізичну природу [1].

Хімічний аналіз води має вирішальне значення у практиці водоочищення. Результати аналізу дають змогу встановити придатність води для технічного водопостачання, наявність у воді шкідливих забруднень або сполук, які сприяють її корозійній активності, піненню, утворенню накипу тощо.

Вивчення впливу природи газів в ультразвуковому полі на процес окиснення органічних складових модельного розчину проводили визначенням хімічного споживання кисню (ХСК). Оскільки початкове значення ХСК у досліджуваному середовищі під час обробки в атмосфері азоту і повітря були різними (3200 і $5760 \text{ мг О}_2/\text{дм}^3$ відповідно), то для порівняння зміни вмісту органічних забруднень протягом процесу наводимо залежність зміни $ХСК/ХСК_0$.

В атмосфері різних газів процес очищення від органічних домішок має різний характер (рис. 2). У разі використання повітря вміст органічних сполук почав зменшуватися після 30 хв і в кінці

процесу становив $3840 \text{ мг O}_2/\text{дм}^3$, що в 1,5 раза менше від початкового значення $5760 \text{ мг O}_2/\text{дм}^3$. Вищого ефекту було досягнуто під час продування азотом, після двогодинного барботування ХСК зменшилося в 1,7 раза. При озвучуванні в атмосфері азоту концентрація хімічних домішок зменшилася в 5 разів. Менш ефективним виявився вплив повітря та УЗ – в 2,22 раза.

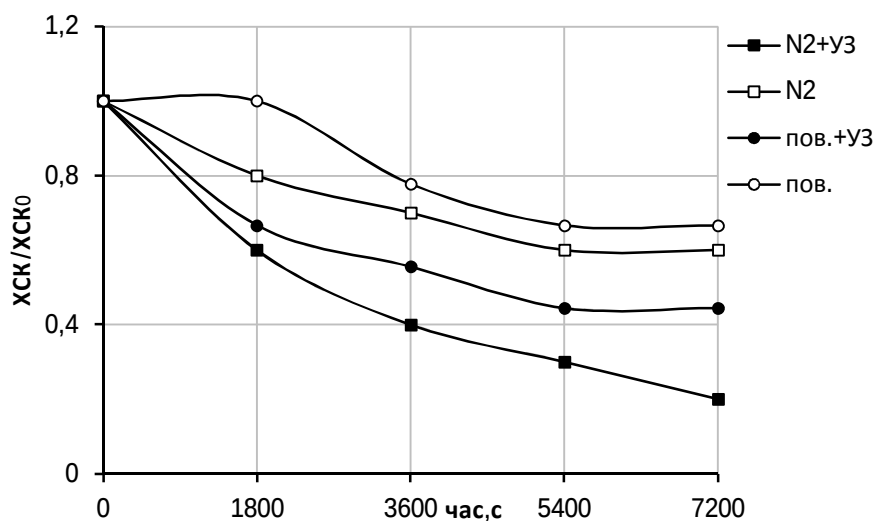


Рис. 2. Залежність деструкції органічних складових модельного розчину від тривалості процесу за різних умов експерименту

Щодо механізму хімічної дії кавітації на водні розчини органічних речовин, то при заплескуванні бульбашки парогазова суміш, що знаходиться в середині, адіабатично (не встигаючи обмінятися теплом з оточуючим середовищем) стискається до тиску 10^5 Па (300 атм) і нагрівається до температур $8000 \dots 12000 \text{ К}$. Відомо, що вже за температури 2000 К , близько 0,01 % молекул H_2O в середині бульбашки дисоціюють на водневі $\text{H}\cdot$ і гідроксильні $\text{OH}\cdot$ вільні радикали. Ці радикали можуть дифундувати у розчин і вступати в реакції з розчинником чи розчиненою речовиною, ініціюючи радикальні хімічні реакції [2]. Швидкість утворення H і OH радикалів залежить від природи газу, який барботується в озвучуване середовище. Як було показано на рис. 2, в атмосфері азоту і УЗ досягається найвища швидкість руйнування органічних речовин, що зумовлено, ймовірно, і найвищою швидкістю утворення азотної і азотистої кислот. Підкислення середовища сприяє інтенсифікації цього процесу і, як наслідок, досягнення бажаного кінцевого значення ХСК.

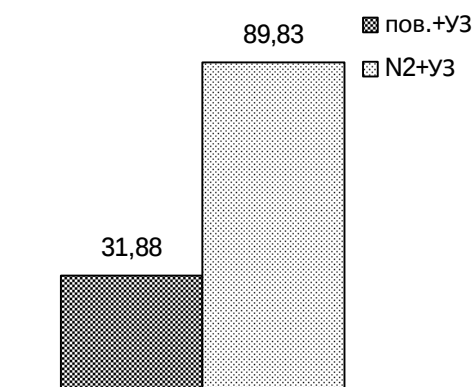


Рис. 3. Ступінь знезараження модельного розчину бактерій роду *Diplococcus* після двох годин озвучування в атмосфері повітря і азоту

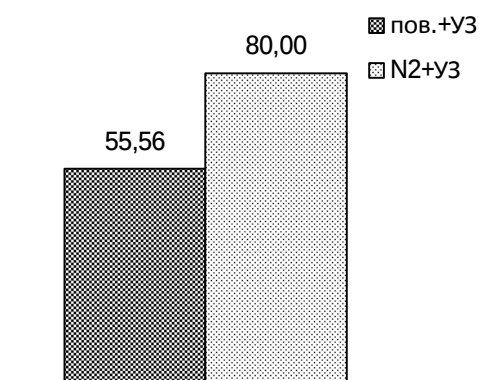


Рис. 4. Ступінь деструкції хімічних складових модельного розчину бактерій роду *Diplococcus* після двох годин озвучування в атмосфері повітря і азоту

Як бачимо з рис. 3, вплив азоту характеризується високою бактерицидною дією і досягнутим високим ступенем водоочищення (89,83 %) порівняно з впливом повітря – 31,88 %. Меншу ефективність озвучування за подачі повітря можна пояснити достатнім вмістом залишкового газу, яким живляться резистентні до дії УЗ аеробні бактерії, що й зумовило їх виживання.

Якщо порівнювати вплив обох газів на ці мікроорганізми, то потрібно зазначити, що азот проявляє вищу ефективність порівняно з повітрям. Ступінь окиснення органічних домішок у присутності азоту в УЗ-полі (рис. 4) становить 80 %, а в атмосфері повітря – 55,56 %. Незважаючи на достатньо високий вміст азоту у повітрі за сумісної дії повітря і УЗ ефективність окиснення органічних речовин є значно нижчою порівняно з дією азоту і УЗ. Тобто фізико-хімічні властивості газу мають неабиякий вплив на кавітаційне руйнування як органічних, так і мікробіологічних забруднень.

Результати дослідження оброблялися згідно з рівняннями для оптимальних режимів, щоб встановити порядок реакції по субстрату. Побудовані кінетичні криві, які мають лінійний характер, що підтверджує перебіг процесу за рівнянням 1-го порядку. Аналогічними є дані, одержані під час вивчення на модельне середовище дії повітря в УЗ-полі та без нього.

Зведена таблиця ефективних констант швидкостей відмирання МО та руйнування органічних домішок в УЗ-полі

Досліджуванний газ	МЧ $k \cdot 10^4, c^{-1}$		ХСК $k \cdot 10^4, c^{-1}$	
	з УЗ	без УЗ	з УЗ	без УЗ
Повітря	0,37	-	1,34	0,62
Азот	3,81	0,12	1,99	0,79

Якщо порівнювати ефективні константи швидкості відмирання клітин в присутності повітря та азоту (таблиця), то потрібно відмітити, що значення для повітря $0,37 \cdot 10^{-4} c^{-1}$ в 10,3 раза менше від величини константи швидкості інактивації, характерної для азоту $3,81 \cdot 10^{-4} c^{-1}$. Це вказує на слабшу бактерицидну дію УЗ в атмосфері повітря порівняно з азотом. Ультразвук змінює швидкість процесів на границі газ-рідина. Дія ультразвуку підвищує розчинність азоту у воді на 12 %, що збільшує кількість зародків кавітації і тим самим зменшує поріг кавітації [1].

Застосування явища акустичної кавітації сумісно з барботуванням газу дає змогу інтенсифікувати процеси очищення води від біологічних і органічних забруднень. Ультразвукові хвилі виявляють згубну дію на мікроорганізми: зумовлюють розпад високомолекулярних сполук, коагуляцію білка, інактивують ферменти, токсини, спричиняють розрив клітинної стінки та пришвидшують процеси руйнування органічних речовин.

Висновки. Отримані результати дають можливість стверджувати, що барботування газу в ультразвуковому полі призводить до інтенсифікації процесу очищення, що виражається у зменшенні кількості мікроорганізмів і прискоренні розщеплення забруднювальних речовин.

Пропускання газу через досліджувану воду запобігає агрегації мікробних клітин та перешкоджає утворенню застійних зон у процесі знезараження води. Такий комплексний підхід забезпечує більшу ефективність процесу загалом та відкриває перспективу практичного застосування дії УЗ в атмосфері газів.

1. Хмелев В.Н., Сливин А.Н., Барсуков Р.В., Цыганок С.Н., Шалунов А.В. Применение ультразвука высокой интенсивности в промышленности // Алт. гос. техн. ун-т, БТИ. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та. – 2010. – 203 с. 2. Акоюн Б.В., Еришов Ю.А. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами: Ультразвук в медицине, ветеринарии и экспериментальной биологии. – М.: Изд. МГТУ им Н.Э. Баумана, 2005. – 224 с. 3. Шевчук Л.І., Старчевський В.Л., Никулишин І.Є., Коваль І.З. Дослідження впливу газів різної природи на процес знезараження води від бактерій роду *Diplococcus* // Хімія, технологія речовин та їх застосування: зб. наук. пр. // Вісник НУ "Львівська Політехніка". – 2009. – № 644. – С.159–161.