

УДК 66.684

Н.Л. Максимів, В.Л. Старчевський

ОСОБЛИВОСТІ ВПЛИВУ УЛЬТРАЗВУКУ НА ПРОЦЕС РУЙНУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ У ВОДНІЙ СУСПЕНЗІЇ**Вступ**

Пошук ефективного методу для придушення життєдіяльності патогенних та умовно патогенних мікроорганізмів для забезпечення високих показників якості води став особливо актуальним в останні роки. Існує багато способів дезинфекції води, які не завжди є достатньо ефективними, оскільки змінюються в часі і самі мікроорганізми, піддаючись дії природних і штучних факторів [1, 2]. Результати багатьох досліджень свідчать про ефективність застосування ультразвуку (УЗ) для знезараження води [2–4]. Ефективність бактерицидної дії ультразвукових коливань залежить від форми мікроорганізмів, міцності і хімічного складу стінки клітини, інтенсивності озвучування, частоти УЗ-коливань і тривалості озвучування [5]. Для встановлення ефективності застосування ультразвуку в процесах водоочищення актуальним є дослідження впливу акустичної кавітації на руйнування біологічного забруднення води.

Постановка задачі

Метою даної статті було дослідження процесу руйнування мікроорганізмів під впливом ультразвуку.

Отримані результати та їх обговорення

Для дослідження використовувались дисперсії сушених хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* різних концентрацій як модельний вид біологічного забруднення води. Дисперсії готувались диспергуванням наважки дріжджів в 1 л дистильованої води протягом двох годин до повного диспергування і набухання дріжджових клітин. Одержана дисперсія розводилась дистильованою водою для одержання дисперсій з концентраціями 0,1–8 г/л. Вимірювались оптична густина, рН, робився висів для визначення мікробного числа (МЧ) за методикою глибинного висівання на чашках Петрі з суловим агаром. Значення рН проб вимірювались з точністю $\pm 0,5$ на рН-метрі рН-673. Оптична густина дисперсії вимірювалась

на ФЕКН-56М при довжинах хвиль від 364 до 434 нм. Зміна в часі мікробного числа досліджувалась у поверхневому шарі води товщиною 5 см. Коли оптична густина дисперсії перевищувала 0,8, дисперсія розводилась дистильованою водою в певне число раз і вимірювалась повторно. Виміряна величина помножувалась на кратність розведення для одержання істинного значення оптичної густини дисперсії. Дослідження оптичної густини дисперсії показали, що при диспергуванні сухих дріжджів оптична густина дисперсії збільшується протягом двох годин, а далі залишається практично постійною при перемішуванні протягом шести годин. Це свідчить про те, що рівновага досягається через дві години диспергування. Одержані дисперсії залишались у циліндрах висотою 40 см на добу. Більша частина диспергованих дріжджів осідала, утворюючи рихлий осад. Оптична густина води в поверхневому шарі товщиною 10 см близька до нуля. Із поверхневого шару відбирались проби об'ємом 7 мл для визначення кількості бактерій, дисперсія струшувалась та вимірювались рН дисперсії і оптична густина. Процедура повторювалась кожні 24 год. Застосовувався ультразвуковий генератор УЗДН-2Т з робочою частотою 22 кГц та потужністю 40 Вт.

Нами встановлено, що при короткотерміновій обробці ультразвуком (0–30 хв) відбувається руйнування колоній мікроорганізмів, а руйнування окремих клітин ще не відіграє значної ролі, спостерігається швидке збільшення мікробного числа (рис. 1). Експериментальні дослідження дезагрегації колоній мікроорганізмів і руйнування мікроорганізмів показали, що на першому етапі енергія акустичної кавітації витрачається на деструкцію великих колоній до менших колоній, які складаються з двох чи більше клітин для великої частини. Швидкість дезагрегації при ультразвуковій кавітації залежить від області поверхні, що зв'язує мікроорганізми в колонію і числа мікроорганізмів у ній. Диспергуванням ультразвуком дає можливість руйнувати гідрофобні зони між клітинами в колоніях і покращує потрапляння як води, так і поживних речовин у клітину. Таким чином, при невеликій тривалості обробки ультразвуком відбувається збільшення концентрації вегетуючих клітин.

При тривалій обробці дисперсій ультразвуком (30–60 хв) спостерігається як руйнування колоній, так і значне руйнування окремих клітин, при цьому швидкість зростання кіль-

кості мікроорганізмів у часі значно знижується (див. рис. 1). Руйнування мікроорганізмів супроводжується руйнуванням мембран і гомогенізацією клітин у середовище. Інактивація окремих клітин та їх агломератів під час озвучення пов'язана з фізичними, механічними та хімічними ефектами, що виникають при акустичній кавітації. При колапсі кавітаційної бульбашки утворюється енергія, достатня для послаблення чи руйнування бактеріальних клітин; хімічним ефектом кавітації є формування радикалів $\text{H}\cdot$ і $\cdot\text{OH}$. Ці радикали атакують хімічну структуру стінок бактеріальних клітин і послаблюють її, викликаючи деструкцію.

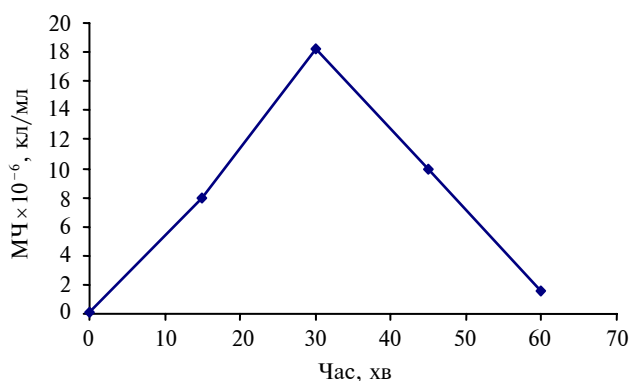


Рис. 1. Залежність МЧ дріжджової дисперсії з концентрацією 1,6 г/л від тривалості озвучування при $T = 298 \text{ K}$, $p = 1 \cdot 10^5 \text{ Па}$

Кількість клітин у дисперсії, не обробленій ультразвуком, за період часу 60 хв не змінюється (рис. 2), оскільки в колоніях є мало вегетуючих клітин, які містяться в зоні контакту з середовищем, гідрофобні зони між клітинами перешкоджають проникненню в зону росту води та поживних речовин.

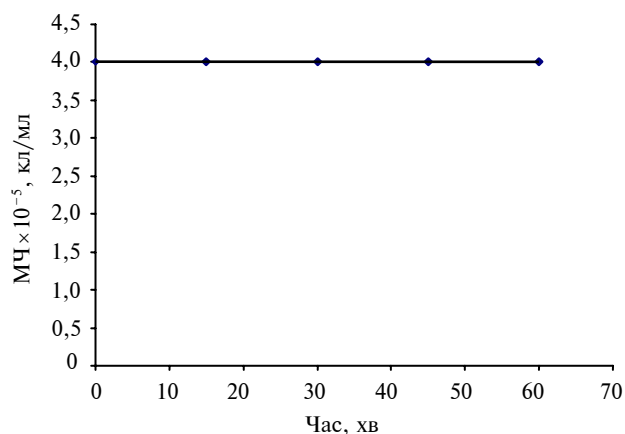


Рис. 2. Зміна МЧ дріжджової дисперсії з концентрацією 1,6 г/л, не обробленої ультразвуком

Руйнування колоній клітин дріжджів протягом 30 хв обробки ультразвуком підтверджують отримані результати вимірювання оптичної густини (рис. 3) і рН (рис. 4). Збільшення оптичної густини протягом озвучування пов'язане з виділенням водорозчинних органічних сполук при руйнуванні агломератів клітин.

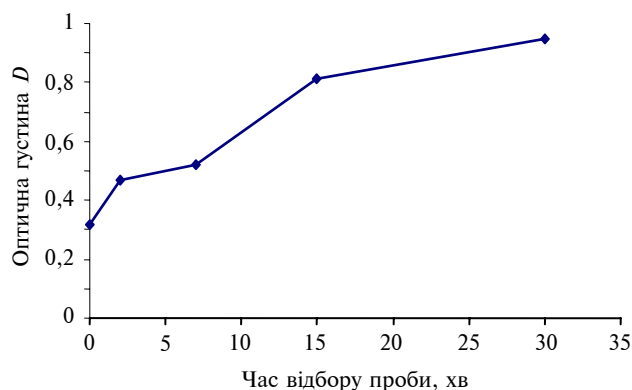


Рис. 3. Зміна в часі оптичної густини D під час озвучування дріжджової дисперсії з концентрацією 1,6 г/л

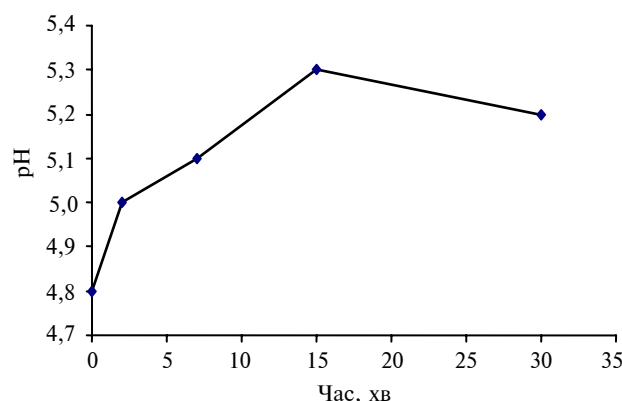


Рис. 4. Зміна в часі рН під час озвучування дріжджової дисперсії з концентрацією 1,6 г/л

Збільшення рН під час озвучування суспензій свідчить про набрякання клітин у воді та адсорбцію в них водорозчинних кислот (рис. 4).

Для вивчення та аналізу впливу кисню повітря на розвиток бактерій в осаді циліндрів було проведено експерименти в анаеробних умовах.

Дослідження оптичної густини дисперсії та рН (рис. 5, 6) показало, що в анаеробних умовах руйнування дріжджів відбувається із значно меншою швидкістю і при цьому, на відміну від дисперсій, які зберігались в аеробних умовах, їх рН знижується, що свідчить про інший механізм утворення і склад водорозчинних органічних речовин. Таким чином, аерація осаду на дні циліндрів відбувається з достат-

ньою швидкістю для окислювального руйнування дріжджових клітин. Це свідчить про те, що швидкість дифузії кисню з поверхні до дна циліндра значно вища, ніж швидкість окиснення дріжджових клітин та продуктів їх розпаду в умовах експерименту, тобто концентрація кисню на дні циліндрів забезпечує близьку до максимальної швидкість окиснення органічного середовища.

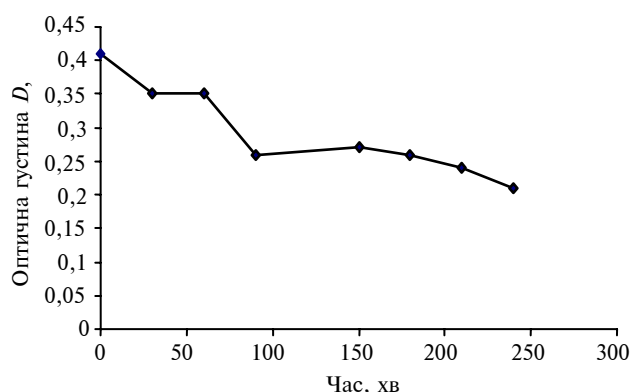


Рис. 5. Зміна в часі оптичної густини D дріжджової дисперсії концентрацією 0,2 г/л, не обробленої ультразвуком

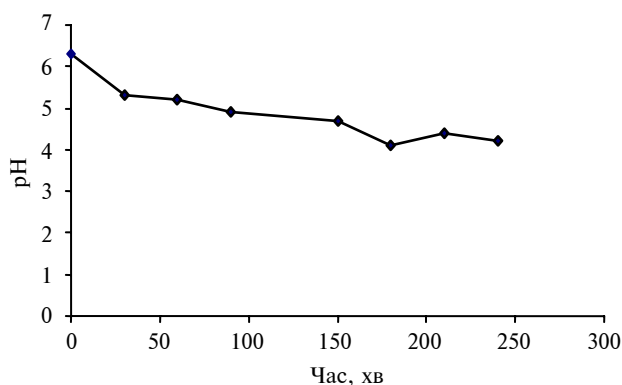


Рис. 6. Зміна в часі pH дріжджової дисперсії з концентрацією 0,2 г/л, не обробленої ультразвуком

Цитологічне дослідження суспензії дріжджів, оброблених з допомогою ультразвуку, показало, що основні зміни спостерігались всередині клітини: механічна деформація та часткова деструкція ядра. Протягом нетривалого озвучування мала місце структуризація вакуолі, на другому етапі обробки руйнувались стінки клітини і вимивався її вміст.

Оптична густина залежить від початкової концентрації дріжджів. Чим менша концентрація дріжджових клітин, тим більша швидкість осідання, оскільки концентрація агрегатів дріжджових клітин нижча.

При автолізі дріжджів та окислювальному декарбоксилюванні виділених ними амінокислот (рис. 6) переважно виділяються аміни, оскільки pH дисперсії зростає із збільшенням кількості розкладених дріжджових клітин.

Для повного описання процесу ми прийняли, що при кавітації бульбашок у рідині агрегати руйнуються не тільки за рахунок їх розриву, а й при зіткненні двох агрегатів з утворенням чотирьох нових агрегатів за рахунок перерозподілу енергії між ними. Такий процес можна описати виразом

$$W = dN/dt = kd_1N + kd_2N^2. \quad (1)$$

Швидкість зміни кількості агрегатів у системі розраховувалась із залежності кількості агрегатів у часі. Перетворення рівняння (1) приводить до формули

$$W/N = kd_1N + kd_2N. \quad (2)$$

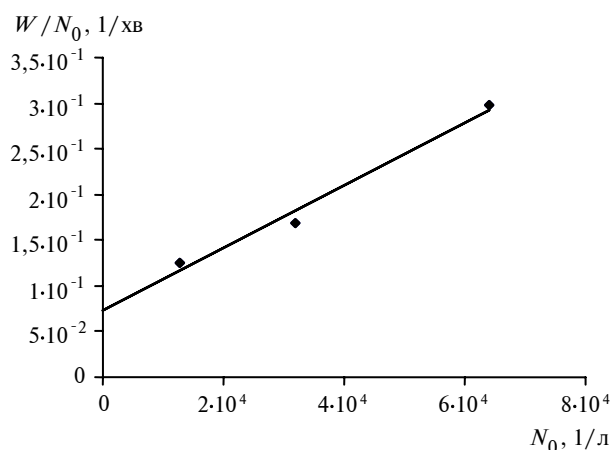


Рис. 7. Залежність швидкості зміни кількості колоній у системі від початкової концентрації бактерій у координатах рівняння (2)

Як видно з рис. 7, експериментальні дані добре описуються виразом (2). Коефіцієнт кореляції дорівнює 0,981, а константи kd_1 і kd_2 — $3,434 \cdot 10^{-6}$ і $7,279 \cdot 10^{-2}$, що підтверджує наше припущення.

Висновки

З даної статті можна зробити такі висновки.

Озвучення має два основні ефекти на суспензії дріжджів: перший — руйнування клітинних агломератів з утворенням агломератів меншого розміру або окремих клітин у суспензії; другий — інактивація клітин дріжджів,

пов'язана із зменшенням індивідуальної здатності клітин до відтворення.

Руйнування клітин мікроорганізмів відбувається за допомогою фізичних, механічних та хімічних ефектів, що виникають при акустичній кавітації, оскільки при колапсі кавітаційних бульбашок утворюється енергія, достатня для послаблення чи руйнування клітин.

При невеликій тривалості обробки ультразвуком, коли руйнування клітин не відіграє

особливої ролі, відбувається збільшення концентрації вегетуючих клітин, тоді як тривала обробка суспензій ультразвуком викликала значне зменшення числа мікроорганізмів і руйнування їх клітин.

Актуальним є дослідження впливу водорозчинних продуктів руйнування мікроорганізмів на процес очищення води.

Н.Л. Максимив, В.Л. Старчевский

ОСОБЕННОСТИ ВОЗДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКА НА ПРОЦЕСС РАЗРУШЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ В ВОДНОЙ СУСПЕНЗИИ

Установлено, что озвучивание имеет два основных эффекта на процесс разрушения микроорганизмов: дегруппирование, которое разрушает агрегаты клеток микроорганизмов в большое число отдельных клеток в суспензии, и инактивация микроорганизмов, связанная с уменьшением индивидуальной способности клеток к размножению. Показано, что общий эффект применения ультразвука связан с продолжительностью озвучивания.

N.L. Maksymiv, V.L. Starchevsky

SPECIFICITY OF ULTRASOUND INFLUENCE ON BACTERIAL AGGLOMERATES DESTRUCTION IN AQUEOUS SUSPENSION

Sonication has two main effects on bacterial suspensions. The first effect is bacterial declumping which breaks up agglomerates into a large number of individual bacteria in a suspension and the second one is bacterial inactivation which depends on reducing of individual ability of cells' reproduction. The general effect of applying ultrasound is connected with the sonication time.

1. *Маляренко В.В., Яременко В.А., Жукова Е.Н., Гончарук В.В.* О механизме воздействия ультразвука на водные системы // Химия и технология воды. — 2004. — 26, № 3. — С. 275–285.
2. *Кульский Л.А.* Основы химии и технологии воды, 1991. — С. 298–303.
3. *Шевчук Л.І., Старчевський В.Л.* Вплив ультразвуку на хімічний та мікробіологічний стан води // Вопр. хімії і хімічної технології. — 2005. — № 3. — С. 213–216.
4. *Brown Jess C. and Salveson A.* Emerging Disinfection Technologies July 2006 // Florida Water Resources Journal. — 2006. — N 7. — P. 4–8.
5. *Mohammad Hadi Dehghani.* Effectiveness of Ultrasound on the Destruction of *E. coli* // American Journal of Environmental Sciences. — 2005. — 1(3). — P. 187–189.
6. *Кльопа Т.П.* Дослідження впливу ультразвуку на стан біологічних обростань систем оборотного водопостачання підприємств азотної промисловості // Вопр. хімії і хімічної технології. — 2006. — № 5. — С. 237–239.

Рекомендована Радою
факультету біотехнології і біотехніки
НТУУ “КПІ”

Надійшла до редакції
15 квітня 2009 року