

УДК 534-8, 621.647.23

Л.В. Марчук, зав. бак. лаб., **Г.В. Прокопенко**, врач
бактериолог, Конотопская линейная СЭС Юго-западной
железнодорожной, г. Конотоп,

А.Ф. Луговской, д-р техн. наук, проф., **И.А. Гришко**,
аспирант, Национальный технический университет Украины
«КПИ», г. Киев

ВЛИЯНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ КАВИТАЦИИ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Представлены результаты экспериментального исследования воздействия ультразвуковой кавитации на жизнеспособность микроорганизмов. Исследование эффекта обеззараживания жидких сред проводилось с применением различных типов микроорганизмов, на различных установках, при различных интенсивностях ультразвуковой кавитации. Были применены кавитационные установки с использованием трансформаторов скорости и акустических фокусирующих систем.

Ключевые слова: обеззараживание, микроорганизмы, ультразвуковая кавитация, интенсивность, кавитатор.

Проблема и ее связь с научными и практическими задачами.

Бактерии в жизни человека играют большую роль. Так, получение многих пищевых и технических продуктов невозможно без участия в них различных видов микроорганизмов. В результате жизнедеятельности бактерий получают молочные продукты, такие как простокваша, кефир, йогурт, сыр, кумыс. Бактерии образуют множество соединений, которые широко применяются для изготовления инсулина, антибиотиков, аминокислот, всевозможных ферментов, спиртов и т.д. Процессы квашения и брожения пищевых продуктов также связаны с активной деятельностью бактерий. В сельском хозяйстве нашли применения бактерии в качестве гербицидов и инсектицидов, а также в качестве бактериального удобрения, которое способствует усилению биохимических процессов и улучшению корневого питания растений.

Бактерии приносят не только пользу. Наличие в жидкой среде разнообразных патогенных микроорганизмов, грибов и мелких водорослей создает и ряд проблем. Борьба с их массовым размножением, например в пищевых продуктах, технологических средах, в системах слива сточных вод предприятий или водоснабжения городов питьевой водой превратилась в целое направление деятельности науки и техники.

В воде и технологических жидкостях обычно встречаются три группы микроорганизмов, вызывающих заболевания: бактерии, вирусы и «простейшие». Спектр заболеваний, вызываемых ими, чрезвычайно широк - от раздражений кожи до смертельно опасных инфекций, вспышки которых даже в наше время способны вызывать эпидемии. В связи с этим, обеззараживание является обязательным и заключительным этапом при работе с водой и технологическими жидкостями.

Анализ исследований и публикаций. В последнее время все больше внимания уделяется физическим методам обеззараживания жидких сред, так как они не требуют введения в жидкость дополнительных реагентов, которые могут привести к образованию в жидкостях побочных продуктов химических реакций. В частности широко известно применение с целью инактивации ультразвуковой кавитации [1, 3, 4]. Ультразвуковая кавитация благодаря своему комплексному воздействию на микроорганизмы способна обеззаразить любую жидкую технологическую среду, не взирая на ее химический и физический состав, что выгодно выделяет ее среди других физических методов обеззараживания. Различают четыре основных механизма воздействия ультразвука на микроорганизмы, находящихся в жидкой среде [2]:

- разрушительное действие кумулятивной струи, образующейся при схлопывании кавитационного пузырька, находящегося в непосредственной близости от микроорганизма;
- термическое воздействие за счет локального повышения температуры при схлопывании кавитационного пузырька;
- уничтожение за счет перепада давлений по длине ультразвуковой волны;
- активизация окислительных процессов в кавитационной области.

Постановка задачи. Задача настоящей работы заключается в экспериментальном исследовании процесса инактивации микроорганизмов в кавитационной области, создаваемой ультразвуковыми приводами - кавитаторами.

Изложение материала и результаты. Необходимую для экспериментов зараженную жидкую среду можно получить как минимум двумя способами:

- первый – это искусственно зараженная вода. Этот метод предусматривает добавление в стерильную воду, в которой гарантирова-

но отсутствуют живые микроорганизмы, определенного количества различных видов микроорганизмов для получения, так называемой, «микробной взвеси»;

- второй – использовать естественный источник воды, зараженной всевозможными микроорганизмами.

Первый способ позволяет самим выбирать вид и количество микроорганизмов, которые будут подвергаться озвучиванию. Однако такие, искусственно созданные, микробные взвеси могут и не встречаться в реальных технологических жидкостях, что может привести к некорректности выводов об реальной эффективности того или иного ультразвукового кавитационного оборудования.

Исследование эффективности метода обеззараживания и технологического оборудования на реальных жидкостях, не позволяет оценить весь потенциал разработанной установки по отношению к широкому спектру известных микроорганизмов.

Логично предположить, что эффективность обеззараживания жидкости путем ультразвукового кавитационного воздействия зависит от размеров и структуры микроорганизмов. Поэтому исследование процесса дезактивации микроорганизмов необходимо начинать с воздействия ультразвуковой кавитации на «простейших», которые по своим размерам значительно больше представителей группы бактерий и вирусов. Для этой цели, как нельзя лучше подходит второй способ получения рабочей среды. Необходимый для исследования исходный материал был получен из отстойников свинофермы, в которых находится технологическая вода, использовавшаяся для чистки подсобного хозяйства свинофермы. Эта суспензия является великолепной средой для развития и роста всевозможных микроорганизмов.

Так как на свиноферме установлены две ступени очистки сточных вод, то с целью получения исходного материала с различной степенью бактериального загрязнения, забор исходного материала происходил перед каждым очистным сооружением и непосредственно на выходе после очистных сооружений. Полученный материал был разделен на три группы, в зависимости от места забора, в каждой из которых была предусмотрена одна проба без обработки для выявления наличия простейших и три для озвучивания на протяжении 6, 12 и 30 секунд.

Обработка проводилась в непроточной емкости с помощью экспериментальной установки №1, содержащей высокоамплитудный привод – кавитатор (рис.1), обеспечивающий введение в жидкость

ультразвукових коливань с интенсивностью до 20 Вт/см^2 на резонансной частоте 22 кГц. Потребляемая мощность составляла 100 Вт, объем технологической жидкости составил 800 мл.



Рис.1. Общий вид экспериментальной установки №1

Методика проведения анализа зараженности воды согласно принятым нормам предусматривает получение результатов визуальным способом под микроскопом по контролю пяти точек и суммированию полученных результатов. Согласно этой методике был сделан анализ проб. Данные, полученные в ходе проведения эксперимента, представлены в таб.1.

Таблица 1 - Результаты обеззараживания жидкости

№	Время озвучивания	Результаты
1	Без обработки	Яйца аскариды – 5 шт. в 5-ти полях зрения
2	Без обработки	Амеба – 2-3 в поле зрения
3	Без обработки	Яйца аскариды – 1 шт. в 5-ти полях зрения
1	УЗК – 6 с	Амеба – 1 в поле зрения
1	УЗК – 12 с	Яйца аскариды – 5 шт. в 5-ти полях зрения
1	УЗК – 30 с	Не обнаружено
2	УЗК – 30 с	Не обнаружено
3	УЗК – 30 с	Не обнаружено

где: УЗК - ультразвуковая кавитация;

1 - забор осуществлялся перед первой ступенью очистки;

2 - забор осуществлялся перед второй ступенью очистки;

3 - забор осуществлялся на выходе после очистных сооружений.

Данные, полученные при проведении данного эксперимента, позволяют утверждать, что ультразвуковая кавитация даже при таких сравнительно малых интенсивностях ультразвука является эффективным методом дезактивации «простейших», которые могут находиться в жидкостях различного технологического назначения.

Однако для эффективной дезактивации жидкости в потоке необходимо уменьшить необходимое время пребывания «простейших» в зоне действия ультразвуковой кавитации. Это возможно за счет повышения интенсивности, вводимой в жидкость, ультразвуковой волны.

Для оценки степени бактериального загрязнения жидких сред определяют микробиологические показатели загрязнения воды. Они предусматривают определение в ее пробах общего микробного числа (общее количество микробов в 1 мл), общие колиформы (энтеробактерии, расщепляющие лактозу и глюкозу до кислоты и газа при 37°C, не обладающие оксидазной активностью), кишечную палочку (*E.coli*) (расщепляет лактозу до газа при температуре 43-44,5 °C), которая является показателем свежего фекального загрязнения окружающей среды, энтерококки (семейство *Streptococcus*).

Общее микробное число (ОМЧ)- общее число колоний, вырастающих на питательной среде в течение 24 часов при температуре 37°C при посеве 1 мл воды. Гигиеническое значение этого показателя состоит в том, что он характеризует общее количество микроорганизмов, приспособленных жить при оптимальной температуре 37°C, то есть в кишечнике человека и теплокровных животных. В воде незагрязненных и хорошо оборудованных артезианских скважин микробное число не превышает 20-30. В воде сравнительно чистых открытых водоемов микробное число достигает 1000-2000. Кроме оценки качества воды, микробное число используют для оценки работы сооружений по осветлению и обеззараживанию воды. В питьевой воде, прошедшей очистку и обеззараживание, микробное число не должно превышать 100. При таком микробном числе не зарегистрирован ни один случай вспышки кишечных инфекций.

Общие колиформы и кишечная палочка являются специфическими показателями фекального загрязнения воды, так как естественная среда их обитания - кишечник человека и теплокровных животных. Согласно требованиям ДСанПіН 2.2.4-171-10 "Гігієнічні вимоги до води питної, призначеної для споживання людиною" в 100см³ во-

допроводной воды не должны обнаруживаться общие колиформы и кишечная палочка.

Все описанные микроорганизмы и группы микроорганизмов относятся к, так называемым, санитарно-показательным микроорганизмам (СПМ), то есть:

- микроорганизмы обитают в естественных полостях человека и теплокровных животных и постоянно выделяются во внешнюю среду;

- микроорганизмы не должны размножаться во внешней среде (исключая пищевые продукты) или их репродукция носит кратковременный и незначительный характер;

- длительность выживания микроорганизмов во внешней среде должна быть не меньше, а даже несколько больше, чем у патогенных микроорганизмов;

- устойчивость СПМ во внешней среде должна быть аналогичной или превышать таковую у патогенных микроорганизмов;

- у СПМ не должно быть во внешней среде двойников или аналогов, с которыми их можно перепутать;

- микроорганизмы не должны изменяться во внешней среде, во всяком случае в сроки выживания патогенных микроорганизмов;

- методы идентификации и дифференциации СПМ должны быть простыми.

Исходя из этого, для проведения экспериментов по ультразвуковому кавитационному обеззараживанию воды были выбраны следующие музейные штаммы микроорганизмов:

- *Escherichia coli* ATCC № 25922 – как специфический показатель фекального загрязнения воды;

- *Pseudomonas aeruginosa* ATC № 27853 – распространена повсеместно, ее выделяют из почвы, воды, с растений и от животных. Вода имеет существенное значение в циркуляции микроба, в ней он может выживать до года при температуре 37°C, в том числе и во многих растворах, применяемых в практической медицине, вплоть до жидкости для хранения контактных линз. Иногда входит в состав нормальной микрофлоры человека, вызывает до 15-20% всех внутрибольничных инфекций;

- *Bacillus Stearothermophilus* ВКМ-В-718 – как спорообразующий микроорганизм, характеризующийся высокой устойчивостью к повреждающим агентам. Микроорганизмы рода *Bacillus* за счет высокой термо- и химиорезистентности спор считаются одними из самых

устойчивых во внешней среде микроорганизмов. Для опыта нами взята как вегетативная форма микроба так и споровая;

- *Staphylococcus aureus* № 209-Р взят нами в опыт как кокковидный микроорганизм (все остальные – палочковидные) и как санитарно-показательный микроорганизм. Стафилококки определяют в воде водоемов, используемых для купания, как показатель загрязнения воды микрофлорой верхних дыхательных путей и кожных покровов человека. Сигнальное значение для регламентации нагрузки на зону купания имеет наличие свыше 100 стафилококков в 1 литре воды.

Чтобы смоделировать естественную загрязненность природной воды, для проведения эксперимента были приготовлены с помощью стандарта мутности и последующих десятикратных разведений микробные взвеси вышеперечисленных микроорганизмов в стерильной водопроводной воде, где количество микроорганизмов в 1 мл составляет 2×10^3 . Доза для посева составляла 0,1 мл (200 микробных клеток). Такое количество микробных клеток легко позволяет сделать подсчет выросших колоний, так как на одной чашке Петри можно учесть не более 300 колоний. Большее количество микроорганизмов может давать сливной рост.

Была разработана экспериментальная установка №2 (рис.2), представляющая собой ультразвуковой привод – кавитатор в виде кольцевого трубчатого вибратора, возбуждаемого на частоте радиального резонанса. С этой целью на наружной образующей поверхности вибратора были закреплены четыре полуволновые пьезоэлектрические привода с ножевидными ступенчатыми трансформаторами колебательной скорости. Резонансная частота вибратора, рассчитанная в соответствии с зависимостью [5] составляет 25 кГц, потребляемая мощность 100 – 500 Вт., интенсивность ультразвука вдоль оси вибратора – до 40 Вт/см^2 , объем кавитационной камеры - 260 мл.

В работе [6] при проведении аналитического исследования по распределению ультразвукового поля, получены выражения для потенциала скорости и звукового давления, возникающих в жидкости, заполнившей трубчатый вибратор, при прохождении звуковой волны деформации для условия неразрывности потока жидкости:

$$\Phi_m(r, \varphi, z, t) = A_m J_m(\mu_p r) \cos m_T \varphi \cdot e^{j\gamma_p z} \sin \omega t ;$$

$$p(r, \varphi, z, t) = A_m \rho \omega J_m(\mu_p r) \cos m_T \varphi \cdot e^{j\gamma_p z} \cos \omega t ,$$

где r - радиус-вектор; φ - полярный угол; z - координата вдоль оси вибратора; $A_m = A \cdot C \cdot U$ - константы, определяемые с помощью граничных условий; $J_m(\mu_p r)$ - цилиндрическая функция Бесселя порядка m ; $\omega = 2\pi f$ - круговая частота; $\gamma_p = \sqrt{\frac{\omega^2}{c^2} - \mu_p^2}$; μ_p - некоторая постоянная величина; c - скорость звука в жидкости; $m_T = 0, 1, 2, 3, \dots$

Полученные выражения позволяют получить картину распределения звукового давления по сечению трубчатого вибратора, в частности, для нулевой моды колебаний (рис.2). Графическое решение иллюстрирует фокусировку, т.е. концентрацию ультразвуковой энергии вдоль оси вибратора и ее минимальный уровень на внутренней поверхности вибратора.

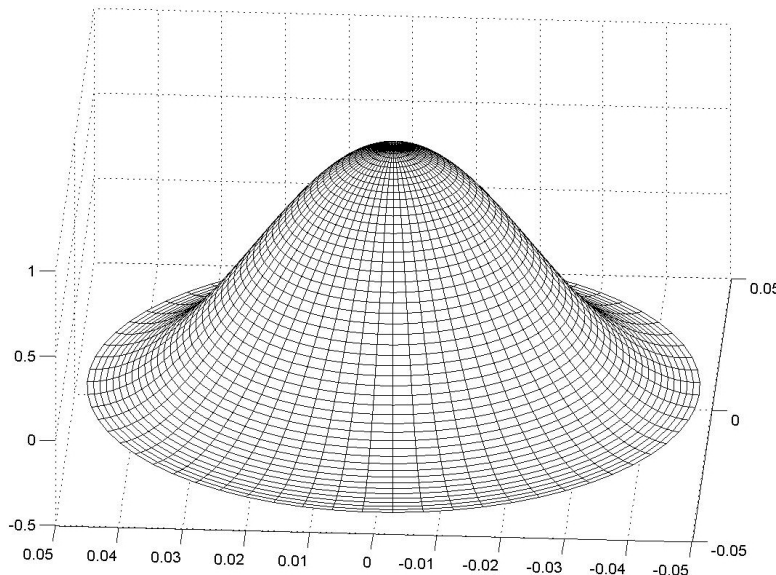


Рис. 2. Распределение звукового давления по сечению трубчатого вибратора при радиальных колебаниях стенки

В кавитационную камеру (рис. 3) экспериментальной установки помещалась микробная взвесь (2×10^3 микробных клеток в одном мл.) и подвергалась воздействию ультразвуковой кавитации мощностью 200 Вт в течение 5 минут.

До воздействия на микробную взвесь ультразвукового облучения было высеяно по 0,1 мл. микробной взвеси каждого из исследуемых нами микроорганизмов на чашки Петри с соответствующей питательной средой (для - *Escherichia coli* АТСС № 25922, *Pseudomonas aeruginosa* АТСС № 27853 – среда Эндо, для *Bacillus Stearothermophilus* ВКМ-В-718- мясо-пептонный агар- далее МПА, для *Staphy-*

Staphylococcus aureus № 209-P – желточно-солевой агар – далее - ЖСА). Эти посевы служат контролем. Сразу после воздействия на микробную взвесь ультразвуковым облучением высеяно по 0,1 мл взвеси каждого образца. Чашки с посевами помещались в термостат с температурой 37° на 24 часа для инкубации. Через 24 часа произведен подсчет выросших колоний, результаты исследования представлены в таблице 2.

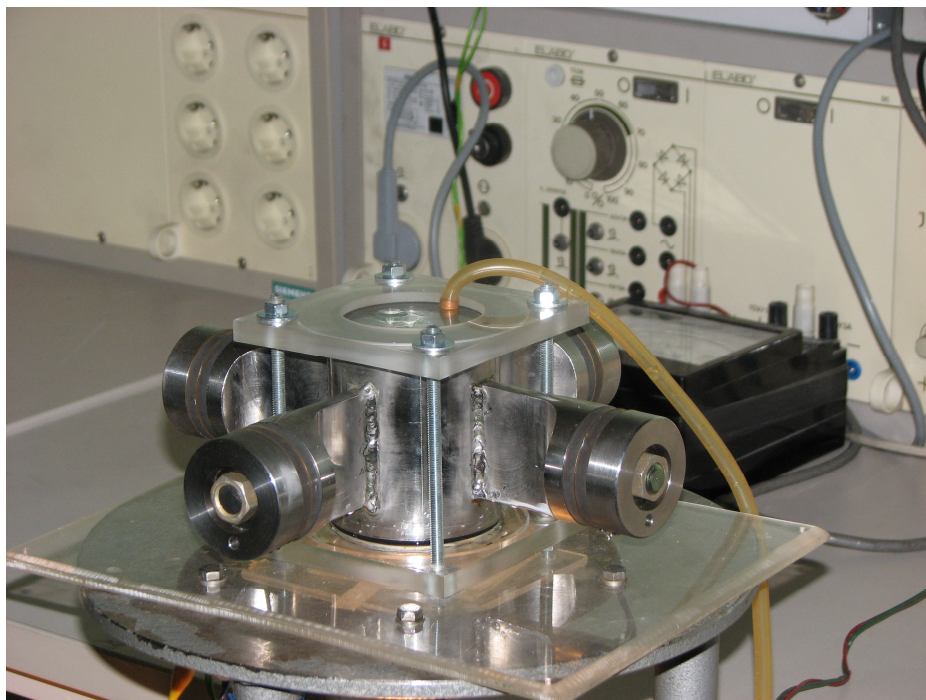


Рис. 3. Общий вид экспериментальной установки №2

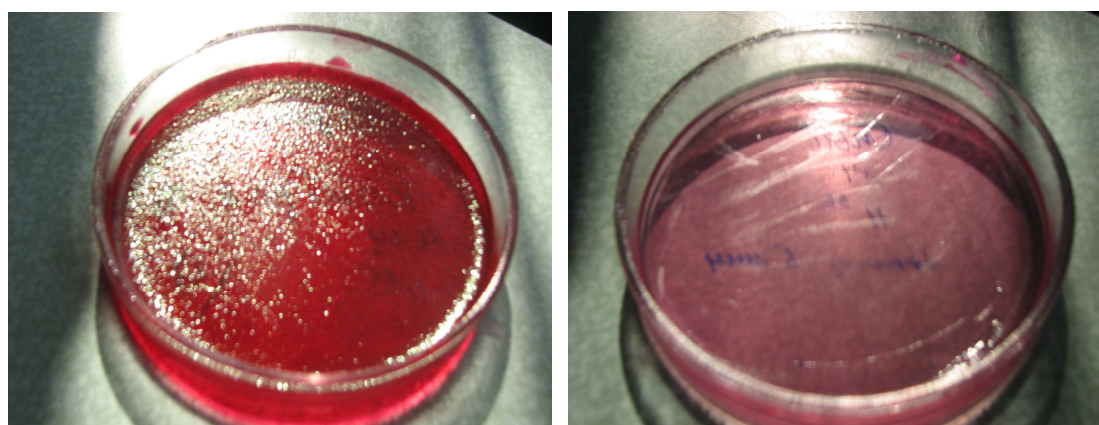
Полученные результаты свидетельствуют о том, что при данных условиях опыта микроорганизмы сохранили жизнеспособность и свои биохимические свойства. Это свидетельствует о том, что для инактивации бактерий, в отличие от «простейших», подведенной мощности явно недостаточно.

Для дальнейших экспериментальных исследований была выбрана одна санитарно-показательная культура *Escherichia coli* ATCC № 25922 в таком же разведении и таким же временем озвучивания, но при подведенной мощности равной 400 Вт. В данном экспериментальном исследовании производился замер температуры обрабатываемой жидкости, которая составила - 49°C. По вышеописанной программе был высеян контрольный образец и обработанная микробная взвесь. Через сутки были получены результаты которые, представлены на рис. 4.

Таблица 2 – Результаты воздействия ультразвуковой кавитации на жизнеспособность музейных штаммов микроорганизмов

№ п/п	Название культуры	Мощность УЗИ (Вт)	Экспозиция (минут)	Кол. взвеси, подлежащая обработке (мл)	Кол. инокуляту посеянного на чашку (мл)	Кол. микробных клеток в высеваемом объеме (шт)	Среда для посева	Кол. КОЕ до обработки	Кол. КОЕ после обработки
1	<i>Escherichia coli</i> ATCC № 25922	200	5	260	0,1	200	Эндо	210	200
2	<i>Bacillus Stearotherophilus</i> ВКМ-В-718, вегетативная форма	200	5	260	0,1	200	МПА	200	196
3	<i>Bacillus Stearotherophilus</i> ВКМ-В-718, споровая форма	200	5	260	0,1	200	МПА	180	160
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATC № 27853	200	5	260	0,1	200	Эндо	190	176
5	<i>Staphylococcus aureus</i> № 209-Р	200	5	260	0,1	200	ЖСА	168	156

КОЕ (колониобразующие единицы) - количество микробных клеток



а)

б)

Рис. 4. Чашки Петри с высеянными бактериями *Escherichia coli* после 24 часовой инкубации

(а - контрольный образец; б - микробная взвесь, обработанная ультразвуковой кавитацией в течении 5 минут)

На контрольном образце наблюдался сплошной рост колоний, как и в предыдущих экспериментах. Чашка с посевом микробной взвеси после ультразвуковой кавитационной обработки оказалась чистой, что свидетельствует о полной дезактивации бактерий *E. coli*.

Выводы и направление дальнейших исследований.

По результатам данной работы можно сделать следующие выводы:

- полученные экспериментальные данные подтверждают эффективность ультразвукового кавитационного способа инактивации «простейших». Однако при интенсивности ультразвука до 40 Вт/см² ультразвуковая кавитационная инактивация эффективна при применении в статической жидкости или при циклическом многократном прокачивании жидкости через проточный кавитационный аппарат;

- уменьшение времени обработки жидкости возможно добиться за счет фокусирующих особенностей кольцевого вибратора, возбуждаемого на радиальной моде колебаний;

- проведенные исследования позволили подтвердить факт дезактивации бактерий в кавитационной среде, созданной ультразвуковой волной высокой интенсивности.

Список литературы

1. Эльпинер И.Е. Ультразвук. Физико-химическое и биологическое действие / И.Е. Эльпинер. – М., Физматгиз, 1963. – 490 с.
2. Луговской А.Ф. Оценка методов обеззараживания воды / А.Ф. Луговской, А.Ф. Мовчанюк, И.А. Гришко // В кн.: Вестник Национального технического университета Украины «КПИ». Машиностроение. – К.: НТУУ «КПИ» 2007 - 52. – С.103-112.
3. Вітенько Т.М. Гідродинамічна кавітація у масообмінних, хімічних і біологічних процесах / Т.М. Вітенько. – Тернопіль: видавництво тернопільського державного університету імені Івана Пулюя, 2009. – 224с.
4. Луговской А.Ф. Проблемы создания технологического оборудования для ультразвукового кавитационного обеззараживания воды / А.Ф. Луговской, И.А. Гришко // В кн.: Промислова гідраліка і пневматика. – 2009. – № 4 (26). – С.3-6.
5. Колебания в инженерном деле / Тимошенко С.П., Янг Д.Х., Уивер У.; пер. с англ. Л.Г. Корнейчука; Под ред. Э.И. Григолюка. – М.: Машиностроение, 1985. – 424 с.
6. Луговской А.Ф. Ультразвуковая кавитация в современных технологиях / А.Ф. Луговской, Н.В. Чухраев. – К.: ВПЦ «Київ. ун-т», 2007. – 244 с.

Стаття надійшла до редколегії 14.10.2011.

Рецензент: д-р техн. наук, проф. В.Б. Струтинський

Л.В. Марчук, Г.В. Прокопенко, О.Ф. Луговської, І.А. Гришко. Вплив ультразвукової кавітації на життєздатність мікроорганізмів. Представлені результати експериментального дослідження впливу ультразвукової кавітації на життєздатність мікроорганізмів. Дослідження ефекту знезаражування рід-

ких середовищ проводилися із застосуванням різноманітних типів мікроорганізмів, на різних установках, при різних інтенсивностях ультразвукової кавітації. Були застосовані кавітаційні установки з використанням трансформаторів швидкості й акустичних фокуруючих систем.

Ключові слова: знезаражування, мікроорганізми, ультразвукова кавітація, інтенсивність, кавітаційна установка.

L. Marchuk, G. Prokopenko, A. Lugovskoy, I. Grishko. Influence of the Ultrasonic Cavitation on Viability of Microorganisms. *The results of experimental investigation of the influence of ultrasonic cavitation on the viability of microorganisms are provided. Investigation of the effect of decontamination of liquid media was carried out using different types of microorganisms in different settings and at different intensities of ultrasonic cavitation. We applied ultrasonic cavitation installation using transformer vibration velocity and acoustic focusing systems.*

Keywords: disinfecting, microorganisms, ultrasonic cavitation, intensity, cavitation installation.

© Марчук Л.В., Прокопенко Г.В, Луговской А.Ф.,
Гришко И.А., 2011