

ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ ВОДЫ ВЫСОКОЧАСТОТНЫМ УЛЬТРАЗВУКОМ

В работе установлена эффективность высокочастотного ультразвука (мощность 30 Вт, частота 1,7 МГц) для инактивации клеток Escherichia coli без и в присутствии пероксида водорода.

Ключевые слова: обеззараживание, вода, высокочастотный ультразвук, окислитель, пероксид водорода, инактивация, Escherichia coli.

S.A. Astakhova, Cand. Sc. Biology

WATER DISINFECTION BY HIGH-FREQUENCY ULTRASOUND

The efficiency of inactivation of Escherichia coli cells in water by high-frequency ultrasound (power 30Wt, frequency 1,7MHz) with and without hydrogen peroxide has been studied.

Key words: disinfection, water, high-frequency ultrasound, oxidant, hydrogen peroxide, inactivation, Escherichia coli.

Введение

Известно, что водным путем передаются очень опасные инфекционные заболевания бактериальной, вирусной и паразитарной природы. Поэтому наиболее ответственной стадией процесса водоподготовки является ее обеззараживание.

В настоящее время наиболее распространенным методом обеззараживания воды является хлорирование. Технологическая простота хлорирования и доступность хлора обусловили его широкое использование в практике водоснабжения. Серьезным недостатком хлорной обработки воды является образование ряда токсичных побочных продуктов (хлорированных фенолов, тригалометанов, диоксинов и др.). Кроме того, хлор (жидкий и газообразный) относится к токсичным веществам, что требует соблюдения повышенной техники безопасности при его транспортировании, хранении и использовании [1]. Озонирование является более дорогим, но экологически безопасным методом обеззараживания воды. Использование озона, в связи с его высокими реагентными свойствами, требует повышенных мер безопасности для персонала. Тем не менее в результате обработки природной воды озоном также образуются побочные продукты, классифицируемые как токсичные [2].

Поэтому актуальными являются исследование и разработка современных эффективных безреагентных методов обеззараживания, обладающих высоким биоцидным действием, применение которых не приводит к образованию побочных веществ. Одним из известных методов является ультрафиолетовое (УФ) облучение, не вызывающее образования вторичных продуктов и высокоэффективное для инактивации микрофлоры. Недостатком данного метода является то, что при высоких концентрациях бактерий и при наличии в воде механических загрязнений происходит поглощение и рассеивание УФ-излучения [3].

Другим безреагентным методом обеззараживания воды является ультразвуковая (УЗ) обработка. Преимуществом применения данного метода обеззараживания перед остальными является его нечувствительность к таким факторам, как высокая мутность и цветность воды, количество микроорганизмов и присутствие в воде растворенных веществ [4].

В последнее десятилетие бурное развитие получили комбинированные окислительные технологии, или АОТ, которые нашли широкое применение для очистки сточных вод от органических загрязнителей. К ним относится УЗ-обработка воды в присутствии сильных окислителей. Применение АОТ имеет большой потенциал для инактивации патогенных микроорганизмов в водной среде.

Целью данной работы явилось изучение эффективности обеззараживания воды с использованием высокочастотного ультразвука в присутствии пероксида водорода.

Экспериментальная часть

В качестве тест-организма использовали бактерию *Escherichia coli* (*E. coli*). *E. coli* – энтеротоксигенный штамм кишечной палочки, возбудитель острых кишечных заболеваний (эшерихиозов), протекающих в виде различной тяжести энтеритов и энтероколитов в сочетании с синдромом общей интоксикации.

Выращивание чистой культуры *Escherichia coli* осуществляли из лиофилизированного колибактерина на питательной среде Гисса (среда с индикатором Андресэ). Культивирование чистой культуры проводили путем аэробного культивирования в шейкере–инкубаторе BIOSAN ES-20 (180 об/мин, 37⁰С) в питательной среде в течение суток.

Эксперименты проводились по следующей методике. Вегетативные клетки *E. coli* для УЗ-обработки были приготовлены в стерильной воде из соответствующих суточных культур методом предельных разведений [5]. Полученные бактериальные суспензии, содержащие определенное число клеток, последовательно обрабатывали высокочастотным ультразвуком в течение 1–25 минут. Исходная численность клеток в облучаемых суспензиях варьировала от 10³ до 10⁴ колониобразующих единиц (к.о.е.) на 1 мл. При обработке по схеме УЗ/Н₂О₂, концентрация пероксида водорода в облучаемой суспензии составляла 0,1 г/л. Для определения эффективности обеззараживания суспензию контрольных (не подвергаемых УЗ-обработке) и опытных (подвергаемых УЗ-обработке) клеток высевали методом Коха в чашки Петри с агаризованным питательным бульоном и инкубировали при 37⁰С в течение 24 ч в трех повторностях. Эффект оценивали путем сравнения числа к.о.е., вырастающих из клеток опытного и контрольного вариантов.

Результаты и обсуждение

На первом этапе было установлено, что обработка бактериальных суспензий *E. coli* высокочастотным ультразвуком является эффективной. Так, на рисунке представлено изменение численности клеток *E. coli* при различной продолжительности ультразвуковой обработки. Как видно из рисунка, при исходной численности клеток *E. coli* 10³ к.о.е./мл полная инактивация достигалась уже после 10 мин обработки ультразвуком и при исходной численности клеток 10⁴ к.о.е./мл полная инактивация достигалась после 25 минут обработки.

В результате комбинированной обработки *E. coli* с участием Н₂О₂ наблюдалось заметное повышение эффективности инактивации. Так, при исходной численности клеток 10³ и 10⁴ к.о.е./мл полная инактивация зафиксирована после 5-10 мин обработки (табл.).

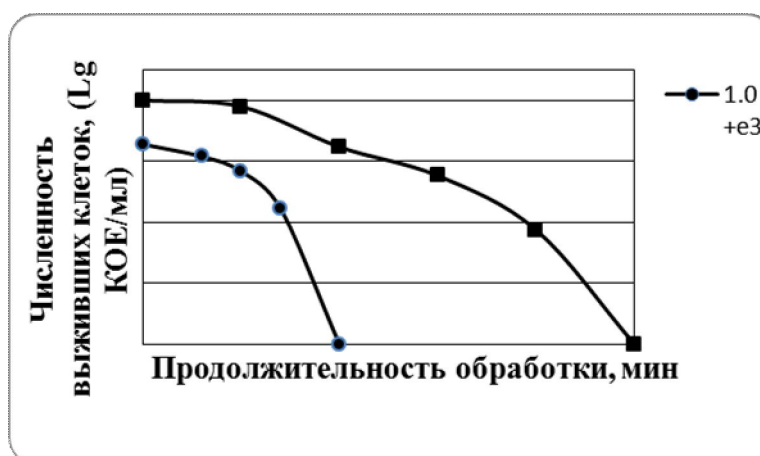


Рис. Изменение численности клеток *E. coli* при различной продолжительности ультразвуковой обработки

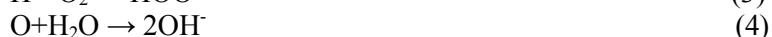
Таблица

Инактивация бактериальных клеток *Escherichia coli* высокочастотным ультразвуком без и в присутствии пероксида водорода

Исходная численность клеток <i>E. coli</i> , к.о.е./мл	Время, необходимое для инактивации 100% клеток <i>E. coli</i> , мин	
	УЗ	УЗ/Н ₂ О ₂
10 ³	10	5
10 ⁴	25	10

Установлено, что скорость инактивации *E. coli* (10³ к.о.е./мл) при обработке по схеме УФ/Н₂О₂ в 2 раза выше найденной при УЗ-обработке без участия Н₂О₂.

При обработке воды ультразвуком в воде возникают короткоживущие парогазовые полости, которые появляются в момент снижения давления в воде и схлопываются при сжатии воды. Скорость схлопывания очень высокая, и в окрестности точек схлопывания возникают экстремальные параметры – высокие температура и давление. Парогазовые полости возникают на неоднородностях, в качестве которых могут служить бактерии, которые, при схлопывании пузырька, оказываются в центре схлопывания, происходит повреждение бактерий. Одновременно при схлопывании в полостях образуются также активные радикалы. Известно, что при высоких температурах около 0,01 % молекул воды внутри пузырька диссоциируют на водородные и гидроксильные радикалы, также образуются пероксильные радикалы и происходит рекомбинация радикалов с образованием пероксида водорода (1-6). Гидроксильный радикал считается наиболее важным окисляющим агентом, обеспечивающим инактивацию клетки [6].



Образующиеся реакционноспособные гидроксильные радикалы инактивируют клетку по двум основным механизмам: 1 – окисление и разрушение клеточной стенки и разрыв цитоплазматической мембраны с последующей дезинтеграцией клетки, и 2 – их диффузия в клетку, приводящая к инактивации ферментов, повреждению органелл, нарушению синтеза белка и т.п. [7].

Выводы

Показана эффективность обработки *E. coli* высокочастотным ультразвуком. Инактивация 100% клеток *E. coli* при их исходной численности 10³ – 10⁴ к.о.е./мл за 10–25 минут обработки соответственно. Продемонстрирована эффективность применения комбинированного метода с участием пероксида водорода для инактивации клеток *E. coli*.

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить перспективность использования высокочастотного УЗ в комбинированных окислительных процессах для эффективного обеззараживания воды.

Библиография

1. Луцевич И.Н. Гигиеническая оценка трансформации сложных органических веществ, образующихся в результате обеззараживания питьевой воды хлором // Казанский медицинский журнал. – 2003. – Т. 84, № 2. – С. 142–145.
2. Апельцина Е.И., Алексеева Л.П., Черская Н.О. Проблемы озонирования при подготовке питьевой воды // Водоснабжение и сантехника. – 1992. – №4. – С. 18–24.
3. Shin Gwy-Am, Bohrerova Z., Linden K.G. et al. (2005). DNA repair of UV-irradiated *Giardia lamblia* cysts detected by both infectivity and molecular biological assays. Third International Congress on ultraviolet Technologies.

4. *Drakopoulou S., Terzakis S., Fountoulakis M.S. et al.*, (2009) Ultrasound-induced nactivation of gram-negative and gram-positive bacteria in secondary treated municipal wastewater. *Ultrasonics Sonochemistry*. 16, 629–634.
5. *Егоров Н.С.* Руководство к практическим занятиям по микробиологии. – М.: МГУ, 1995. – 224 с.
6. *Olvera M., Eguia A., Rodriguez O. et al.*, (2008) Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water using ultrasonic treatment, *Bioresource Tehnology*, 99, 2046-2049.
7. *Koda S., Miyamoto M., Toma M. et al.*, (2009) Inactivation of *Escherichia coli* and *Streptococcus* mutants by ultrasound at 500 kHz, *Ultrasonics sonochemistry*, 16, 655-659.

Bibliography

1. *Lutsevich I.N.* Hygienic evaluation of transformation of complex organic substances formed as a result of drinking water disinfection with chlorine. // *Kazan Medical Journal*. – 2003. – Vol. 84, N 2. – P. 142– 145.
2. *Apeltsina E.I., Alekseeva L.P., Cherskaya L.P.* Problems of ozonation in preparation of drinking water // *Water Supply and Sanitary Technique*. – 1992. – N 4. – P. 18–24.
3. *Shin Gwy-Am, Bohrerova Z., Linden K.G. et al.*, (2005). DNA repair of UV-irradiated *Giardia lamblia* cysts detected by both infectivity and molecular biological assays. Third International Congress on ultraviolet Technologies.
4. *Drakopoulou S., Terzakis S., Fountoulakis M.S. et al.*, (2009). Ultrasound-induced nactivation of gram-negative and gram-positive bacteria in secondary treated municipal wastewater. *Ultrasonics Sonochemistry*. 16, 629–634.
5. *Egorov N.S.* Guide to practical training in microbiology. – М.: Moscow State University, 1995. – 224 p.
6. *Olvera M., Eguia A., Rodriguez O. et al.*, (2008) Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water using ultrasonic treatment, *Bioresource Technology*, 99, 2046-2049.
7. *Koda S., Miyamoto M., Toma M. et al.*, (2009). Inactivation of *Escherichia coli* and *Streptococcus* mutants by ultrasound at 500 kHz, *Ultrasonics sonochemistry*, 16, 655-659.