

ОЧИСТКА ВОДЫ ОТ БАКТЕРИЙ *ESCHERICHIA COLI* МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОФИЛЬТРАЦИИ

¹-Павловский Н.Д., ²-Панасюгин А.С., ³-Ломоносов В.А.

¹- УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

²- УО «Белорусский национальный технический университет», Минск, Беларусь

³- УО «Белорусский государственный университет», Минск, Беларусь

Целью исследования является изучение эффективности электрофильтрации для очистки воды от бактерий E.coli. Для удаления из воды бактерий E.coli использован метод электрофильтрации в постоянном электрическом поле, основанный на электросорбции микроорганизмов на металлокерамической мембране. Для оценки степени очистки проводился отбор проб фильтрата, которые высевали на питательную среду, после чего определяли число образующихся макроколоний. Определены оптимальные значения напряженности электрического поля, скорости фильтрации, диаметра пор мембраны для наиболее эффективной очистки.

Ключевые слова: *escherichia coli, электрофильтрация, мембрана.*

Объем потребляемой в мире воды достигает 4 трлн м³ в год, поэтому вопрос ее очистки от молекулярных и коллоидно-дисперсных загрязнений стоит очень остро, даже для использования в промышленности. Задача очистки воды от биологических частиц приобретает еще большую актуальность в связи с технологическими нуждами микробиологической и фармацевтической промышленности, в которых проводят выращивание бактерий и дрожжеподобных грибов на различных средах. Решение этой проблемы диктует поиск и создание новых технологических процессов – экологически чистых, безотходных, с замкнутым циклом промышленного водоснабжения. В настоящее время распространение получают безреагентные методы очистки воды [1-7]. На наш взгляд, реальные перспективы практического использования имеют методы электрофильтрации, основанные на способности гидрофобных частиц, а также микроорганизмов к электроадсорбции на поляризованных материалах. Используемые сейчас полупроницаемые мембраны на основе органических полимеров имеют ряд положительных характеристик: высокая пористость, пластичность, проницаемость. Но, наряду с этим, они обладают свойствами, которые ограничивают их применение. Ограничения связаны с неустойчивостью полимерных мембран в окислительных средах, низкой механической прочностью, сложными схемами регенерации самой системы очистки [8, 9]. Металлокерамические мембраны, все чаще используемые в методах электрофильтрации, лишены этих недостатков [10, 11].

К настоящему времени накоплено большое количество данных о высокой чувствительности микробных клеток к электрическим воздействиям. Внешнее электрическое поле вызывает различные электрофизические процессы в жидких дисперсных системах, связанные с ориентацией коллоидно-дисперсных частиц в электрическом поле, образованием длинномерных цепочек и агрегатов микроорганизмов, а также ряд биологических эффектов: нарушение обмена веществ, торможение скорости роста и деления клеток, а в последующем и их гибель. [12-14]. Кроме того, бактерии обладают огромным дипольным моментом, например, значения для *Escherichia coli* (*E.coli*), *Pseudomonas fluorescens* (*Ps. Fluorescens*) и других бактерий во много раз больше дипольного момента воды [15, 16]. Дипольный момент коллоидных частиц, в том числе и микроорганизмов, может возрастать в электрическом поле на

несколько порядков. Такая дополнительная поляризация, возможно, происходит как за счет изменения внутреннего состояния клетки, так и вследствие деформации наружного двойного электрического слоя.

Удерживание микроорганизмов поляризованными материалами сводится к тому, что слой пористого вещества, не представляющий собой никакой реальной фильтрующей перегородки для частиц малого размера, будучи помещенным в электрическое поле, превращается в высокоэффективный фильтр, задерживающий бактерии. Отключение либо изменение полярности электрического поля освобождает микробные клетки и они легко вымываются потоком жидкости в виде густой массы, концентрация клеток в которой может в десятки раз превышать концентрацию исходной суспензии.

Материалы и методы. В исследовании для приготовления водных коллоидно-дисперсных растворов бактериальных микроорганизмов была использована чистая культура бактерий *Escherichia coli* из коллекции БелНИИКТИ мясомолочной промышленности РБ. Культивирование бактерий производили на полноценных питательных средах на основе аминокислотного бульона (АМПБ) и плотных питательных средах на основе АМПБ с добавлением агара-агара в концентрации 1,5%. Для серийных разведений микроорганизмов использовали стерильный физиологический раствор (0,9% раствор NaCl в дистиллированной воде). Все среды и растворы стерилизовали методом паровоздушного автоклавирования. Поддержание жизнеспособных микроорганизмов осуществляли при посеве на плотную питательную среду и содержании культуры при температуре 4°C с периодическими пассажами на свежую питательную среду. Подсчет числа колоний, образуемых жизнеспособными клетками в благоприятных для роста условиях, проводили чашечным методом Коха.

Бактерии пересевали бактериальной петлей в 5 мл АМПБ и помещали в термостат на 18 ч при температуре 37°C. Затем суспензию бактерий разводили свежим стерильным АМПБ в отношении 1:10 в необходимом количестве и инкубировали при температуре 37°C аэрацией в течение 2 ч. После этого бактерии осаждали центрифугированием при 5 тыс. об/мин в течение 10 мин. и ресуспензировали исходным объемом физиологического раствора.

Концентрацию бактериальной суспензии определяли по предварительно построенной калибровочной кривой и разводили до необходимой вели-

чины $2 - 4 \cdot 10^3$ кл./мл. Для проведения эксперимента наиболее подходящей была суспензия, содержащая $10^2 - 10^3$ клеток/мл, что соответствует такому количественному наличию бактериальных клеток в природных и промышленных объектах. Она достигалась путем последовательных разведений из исходной концентрированной суспензии (10^8 клеток/мл).

Для построения калибровочной кривой определяли зависимость оптической плотности при длине волны $\gamma = 670$ нм от числа клеток на мл раствора. Для этого проводили измерение оптической плотности образца бактериальной суспензии и одновременно высевали пробу на чашках Петри для определения числа клеток в образце. По результатам измерений строили зависимость оптической плотности от концентрации бактериальных клеток (график 1). Предельная абсолютная погрешность измерений на фотоэлектрическом калориметре КФК-2 (калориметр фотоэлектрический концентрационный) составляет $2 \pm 1\%$.

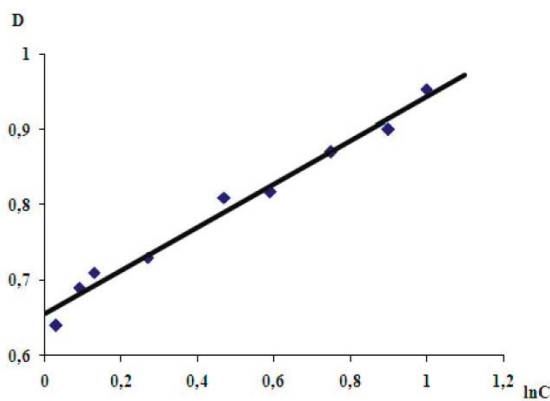


График 1 - Зависимость величины оптической плотности от концентрации бактериальных клеток *E. coli*

Эксперимент по очистке воды от бактериальных микроорганизмов проводился с использованием установки с фронтальным режимом электрофильтрации. Установка представляла собой стеклянный корпус, внутрь которого была помещена титановая мембрана и изолированная сетка из нержавеющей стали. Электрофильтрацию проводили следующим образом: в системе создавалось определенное разряжение за счет подключения перистальтического насоса, с помощью которого исследуемый объем подвергался циркуляции через систему металлокерамическая мембрана – противоэлектрод. После установки разряжения задавался необходимый потенциал стабилизатором напряжения и исходный раствор подавался в систему, после чего производился отсчет начала процесса электрофильтрации.

Определение степени очистки раствора производили путем отбора проб фильтрата через определенные промежутки времени. Равные количества фильтрата из отобранных проб наносились на питательную среду в чашки Петри, которые затем помещались в суховоздушный термостат на ночь, после чего проводился подсчет числа макроколоний, образуемых каждой живой клеткой микроорганизмов. Очистка мембраны осуществлялась путем пропускания горячей дистиллированной воды через систему при обратном потенциале. Стерильность мембран контролировалась путем помещения их в соответствующую код-среду, реагирующую на присутствие хотя бы одной живой клетки микроорганизма. В исследовании использовали титановые мембраны со средним

диаметром пор 100, 40 и 15 мкм. Электрофильтрацию осуществляли при напряженности электрического поля 9,4 В/см, что обеспечивало максимальную электроадсорбцию и не вызывало электролиза воды.

Результаты и обсуждение. Было установлено, что наибольшая эффективность процесса очистки воды от бактерий *E. coli* методом электрофильтрации достигается при использовании мембран с диаметром пор 15 и 40 мкм (график 2).

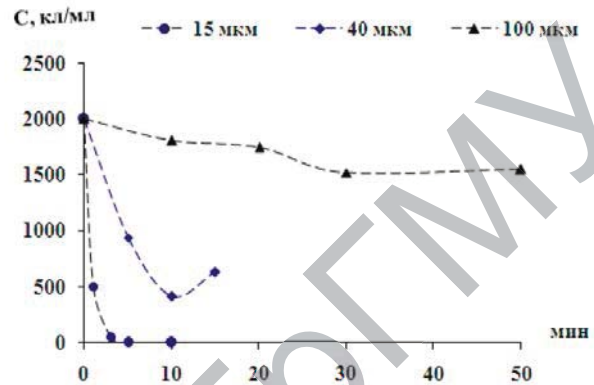


График 2 - Зависимость концентрации бактериальных клеток в фильтрате от времени при использовании фильтров с разным диаметром пор ($d_{пор} = 15, 40$ и 100 мкм, $E = 9,4$ В/см, скорость фильтрации – 10 мл/мин)

Максимально полная и быстрая очистка раствора от бактерий наблюдалась при использовании мембраны с диаметром пор 15 мкм, однако при этом происходит быстрое закупоривание пор, что затрудняет ее дальнейшее использование и требует более частой очистки, что снижает перспективы ее практического использования.

Для определения оптимального режима электрофильтрации были проведены несколько опытов, в которых варьировалась скорость электрофильтрации и определена оптимальная продолжительность процесса. При скорости электрофильтрации 10 мл/мин (график 3а) максимальная степень очистки раствора достигается за 10 мин. Увеличение скорости электрофильтрации приводит к вымыванию адсорбированных клеток новыми порциями раствора, что снижает степень очистки. Полная очистка раствора от бактерий достигалась за 50 мин. при использовании мембран с диаметром пор 40 мкм при скорости фильтрации 1 мл/мин (график 3б).

Для увеличения электроадсорбционных свойств мембраны и снижения времени процесса очистки между электродами помещали инертные непроводящие загрузки – силикагель мелкопористый и березовый активированный уголь (БАУ) – и исследовали их влияние на электросорбцию бактериальных клеток. Для этого пропускали раствор клеток *E. coli* через систему «электрод | загрузка | электрод» и определяли их количество в фильтрате высеванием. Поскольку материалы загрузок обладают сорбционными свойствами, предварительно пропускали определенное количество исходного бактериального раствора при нулевом потенциале для определения количества адсорбированных клеток. Результаты адсорбции также контролировались путем высева фильтрата на чашки Петри. Так, при межэлектродной загрузке из силикагеля концентрация падала от 104 кл./мл до 160 кл./мл, а при загрузке из БАУ – от 4530 кл./мл до 1160 кл./мл.

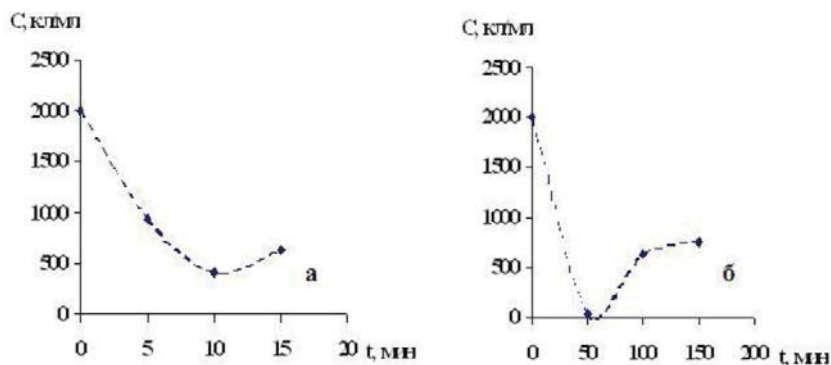


График 3 (а, б) - Зависимость изменения концентрации бактериальных клеток *E.coli* в фильтрате от времени при различных скоростях электрофильтрации ($d_{пор} = 40$ мкм, $E = 9,4$ В/см, а) $V = 10$ мл/мин, б) $V = 1$ мл/мин)

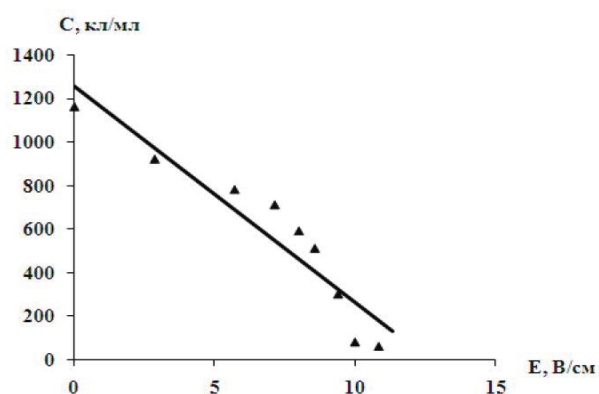


График 4 - Зависимость концентрации бактериальных клеток *E.coli* в фильтрате от напряженности поля с использованием в качестве загрузки БАУ ($d_{пор} = 40$ мкм; $C_{исх} = 4530$ кл/мл; $t = 10$ мин; $V = 10$ мл/мин; d гранул загрузки = 125 мкм; m загрузки = $0,5$ г)

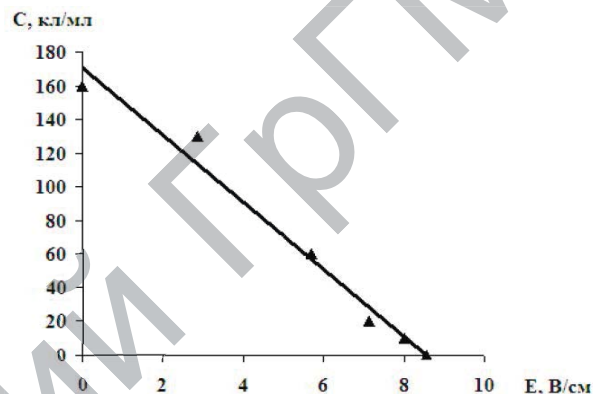


График 5 - Зависимость концентрации бактериальных клеток *E.coli* в фильтрате от напряженности поля с использованием в качестве загрузки силикагеля мелкопористого ($d_{пор} = 40$ мкм, $C_{исх} = 104$ кл/мл, $t = 10$ мин, $V = 10$ мл/мин, d гранул загрузки = 125 мкм, m загрузки = $0,5$ г).

Таким образом, силикагель в данном случае является более сильным адсорбентом.

Было установлено, что использование БАУ увеличивает степень очистки раствора от бактериальных клеток, однако полная очистка не наблюда-

ется даже при напряженности поля более 9,4 В/см (график 4). Использование силикагеля в качестве межэлектродной загрузки позволяет полностью очистить раствор от бактериальных клеток при более низком значении напряженности электрического поля 8,6 В/см (график 5).

Закключение. Таким образом, в результате исследования установлено, что более перспективным в плане практического использования является применение пористых титановых мембран со средним диаметром пор 40 мкм с межэлектродной нагруз-

Литература

1. Цхе, А.В. Способ безреагентной очистки и обеззараживания воды путем создания эффекта взрывной кавитации и устройство для его осуществления / А.В. Цхе, А.А. Цхе, А.А. Шукин // Вода и экология: проблемы и решения. 2010. № 3. С.34-42.
2. Белинский, В.В. Импульсный коронный разряд на поверхности электропроводящей жидкости и его использование для обработки воды/ В.В. Белинский, И.В. Божко, Д.В. Чарный // Техническая электродинамика. 2010. №3. С.21-27.
3. Иванова, И.П. Анализ активных продуктов излучения плазмы искрового разряда, определяющих биологические эффекты в клетках/ И.П. Иванова, С.В. Трофимова, Н.Карпель Вель Лейтнер, Е.В. Архипова // Современные технологии в медицине. 2012. № 2. С.20-30.
4. Бойко, Н.И. Высоковольтные импульсные электротехнологии очистки и обеззараживания воды и газовых выбросов / Н.И. Бойко // Вода и экология: проблемы и решения. 2008. № 1. С.60-72.
5. Коликов, В.А. Пролонгированная микробная устойчивость воды, обработанной импульсными энергетическими разрядами/ В.А. Коликов, В.Е. Курочкин, Л.К.Панина и др.

Literatura

1. Tskhe, A.V. Sposob bezreagentnoy ochistki i obezrazzhivaniya vody putem sozdaniya effekta vzryvnoy kavitacii i ustroystvo dlya ego osuschestvleniya / A.V. Tskhe, A.A. Tskhe, A.A. Schukin // Voda i ekologiya: problemy i resheniya. 2010. №3. S.34-42.
2. Belinskiy, V.V. Impul'sniy koronniy razryad na poverhnosti elektroprovodyashey zhidkosti i ego ispol'zovanie dlya obrabotki vody/ V.V. Belinskiy, I.V. Bozhko, D.V. Charniy // Tehnicheskaya elektrodinamika. 2010. №3. S.21-27.
3. Ivanova, I.P. Analiz aktivnyh produktov izlucheniya plazmy iskrovogo razryada, opredelyayuschih biologicheskie efekty v kletkah/ I.P. Ivanova, S.V. Trofimova, N.Karpel' Vel' Leitner, E.V. Arhipova // Sovremennye tehnologii v medicine. 2012. №2. S.20-30.
4. Boiko, N.I. Vysokovol'tnye impul'snye elektrotehnologii ochistkii obezrazzhivaniya vody i gazovyh vybrossov/ N.I. Boiko // Voda i ekologiya: problemy i resheniya. 2008. №1. S.60-72.
5. Kolikov, V.A. Prolongirovannaya mikrobnaya ustoichivost' vody, obrabotannoy impul'snymi energeticheskimi razryadami/ V.A. Kolikov, V.E. Kurochkin, L.K. Panina i dr. // Zhurnal tehnicheckoy fiziki. 2007. T.77, vyp.2. S.118-125.

// Журнал технической физики. 2007. Т. 77, вып. 2. С. 118-125.

6. Брык, М.Т. Неорганические мембраны: получение, структура и свойства / М.Т. Брык, А.П. Волкова, А.Ф. Бурбан // Химия и технология воды. 1992. Т. 14. № 8. С. 583-604.

7. Животинский, П.Б. Пористые перегородки и мембраны в электрохимической аппаратуре / П.Б. Животинский. Л.: Химия. 1978. 144 с.

8. Вербич, С.В. Проблемы электрофильтрации / С.В. Вербич, О.В. Гребенюк // Химия и технология воды. 1991. Т. 13. № 12. С. 1059 - 1076.

9. Дятлова, Е.М. Влияние технологических факторов на структуру и свойства проницаемой керамики / Е.М. Дятлова и [др.] // Материалы международной научно-технической конференции Ресурсо- и энергосберегающие технологии и оборудование, экологически безопасные технологии: в 2 ч. / – Минск, 2005. ч. I. С. 274.

10. Пористые проницаемые материалы: справочное издание / под ред. С.В. Белова. М.: Metallurgiya, 1987.- 335 с.

11. Голиков, А.Л. Исследование селективности керамических мембран при очистке воды от бактериальных загрязнений / А.Л. Голиков, Е.А. Комягин, Н.П. Какуркин, А.В. Десятов // Успехи в химии и химической технологии. 2000. Вып. 14. Ч. 3. С. 16.

12. Ротмистров, М.Н. Микробиология очистки воды / М.Н. Ротмистров, П.И. Гвоздяк, С.С. Ставская –К.: Навук. Думка, 1978. С. 184 - 241.

13. Гузев, В.С. Изучение поверхности микробных клеток микроэлектрофорезом / В.С. Гузев, Г.Г. Жарикова, Д.Г. Звягинцев // Микробиология. 1972. Т. 41. № 4. С. 723-726.

14. Интенсификация процессов обеззараживания / Под ред. Л.А. Кульского. – К.: Навук. думка. 1978. 96 с.

15. Брык, М.Т. Ультрафильтрация / М.Т. Брык, Е.А. Цыпюк // К.: Наукова Думка. 1989. 288 с.

16. Эстрела-Льопис, В.Р. Об энергии взаимодействия двух сферических коллоидных частиц во внешнем поле / В.Р. Эстрела-Льопис, С.С. Духин, В.Н. Шилов // Коллоид. журн. 1974. Т. 36. С. 1140 - 1143.

6. Bryk, M.T. Neorganicheskie membrany: poluchenie, struktura i svoistva / M.T. Bryk, A.P. Volkova, A.F. Burban // Himiya i tehnologiya vody. 1992. T. 14. №8. S. 583-604.

7. Zhivotinskiy, P.B. Poristye peregorodki i membrany v elektrohimicheskoy apparature / P.B. Zhivotinskiy. L.: Himiya. 1978. 144 s.

8. Verbich, S.V. Problemy elektrofilytratsii / S.V. Verbich, O.V. Grebenuk // Himiya i tehnologiya vody. 1991. T. 13. №12. S. 1059 - 1076.

9. Dyatlova, E.M. Vliyaniye tehnologicheskikh faktorov na strukturu i svoistva pronitsaemoy keramiki / E.M. Dyatlova i [dr.] // Materialy mezhdunarodnoy nauchno-tehnicheskoy konferentsii Resurso- i energosberegayushchie tehnologii i oborudovanie, ekologicheskii bezopasnyye tehnologii: v 2 ch. / – Minsk, 2005. ch. I. S. 274.

10. Poristye pronitsaemye materialy: spravochnoe izdanie / pod red. S.V. Belova. M.: Metallurgiya, 1987. - 335 s.

11. Golikov, A.L. Issledovanie selektivnosti keramicheskikh membran pri oчитke vody ot bakterial'nyh zagryazneniy / A.L. Golikov, E.A. Komyagin, N.P. Kakurkin, A.V. Desyatov // Uspehi v himii i himicheskoy tehnologii. 2000. Vyp. 14. Ch.3. S. 16.

12. Rotmistroy, M.N. Mikrobiologiya oчитki vody / M.N. Rotmistroy, P.I. Gvozdyak, S.S. Stavskaya – K.: Navuk. Dumka, 1978. S. 184 - 241.

13. Guzev, V.S. Izucheniye poverhnosti mikrobynykh kletok mikroelektroforezom / V.S. Guzev, G.G. Zharikova, D.G. Zvyaginцев // Mikrobiologiya. 1972. T. 41. №4. S. 723-726.

14. Intensifikatsiya processov obezrazhivaniya / Pod red. L.A. Kul'skogo. – K.: Navuk. dumka. 1978. 96 s.

15. Bryk, M.T. Ul'trafil'tratsiya / M.T. Bryk, E.A. Tsypuyuk // K.: Navukova Dumka. 1989. 288 s.

16. Estrela-Liopis, V.R. Ob energii vzaimodeistviya dvuh sfericheskikh kolloidnykh chastits vo vneshnem pole / V.R. Estrela-Liopis, S.S. Duhin, V.N. Shilov // Kolloid. zhurn. 1974. T. 36. S. 1140 – 1143.

ELIMINATION OF BACTERIA *E. COLI* FROM WATER BY ELECTROFILTRATION

¹Pavlovskiy N.D., ²Panasiugin A.S., ³Lomonosov V.A.

¹Educational Establishment «Grodno State Medical University», Grodno, Belarus

²Educational Establishment «Belarusian National Technical University», Minsk, Belarus

³Educational Establishment «Belarusian State University», Minsk, Belarus

*The objective of the research work was studying the efficacy of elimination of bacteria *E. coli* from water. For elimination of bacteria *E. coli* from water, the method of electrofiltration based on the sorption of microorganisms on metalloceramic membrane in the constant electric field was used. For assessment of the degree of purification, the taken filtrate samples were sowed onto the nutrient medium after which the number of macrocolonies formed was calculated. Optimal values of the intensity of electric field, velocity of filtration, and diameter of membrane pores for the most efficient purification were determined.*

Key words: *Escherichia coli, electrofiltration, membrane.*

Адрес для корреспонденции: pavlovskij-nic@mail.ru

Поступила 13.05.2014