

**І. З. Коваль**, к.т.н., доцент

Національний університет "Львівська політехніка"

вул. Степана Бандери, 12, Львів, Львівська область, 79000

## ВПЛИВ АРГОНУ НА ДРІЖДЖІ В УМОВАХ КАВІТАЦІЇ

Наведено експериментальні дані одночасного впливу аргону, барботованого зі швидкістю 0,2 см<sup>3</sup>/с через водне середовище (об'єм 75 см<sup>3</sup>) та ультразвукової кавітації (частота 22 кГц, потужність 35 Вт) на дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* впродовж двогодинної тривалості процесу. Кількість мікроорганізмів в одиниці об'єму досліджуваної води визначалась загальною чисельністю колоній на поживному середовищі на чашках Петрі. Встановлено активне зменшення чисельності клітин на початку процесу (61,84% після 30 хв) при вихідному мікробіологічному забрудненні води 2,07×10<sup>4</sup> КУО/см<sup>3</sup> з досягненням частки загиблих клітин > 98% після обробки води тривалістю 1 година.

**Ключові слова:** вода; очищення; дріжджі; аргон; кавітація.

У відкритих водоймах та виробничих стічних водах, разом з домішками природного походження знаходяться різного складу хімічні забруднення (пестициди, феноли, нафтопродукти, солі важких металів і ін.), що зумовлено скидом у водоймища недостатньо очищених або неочищених виробничих і побутових стічних вод [12]. Окрім наявного хімічного забруднення органічними речовинами, відходами різних виробництв: нафтохімічних, целюлозно-паперових, а також комунально-побутових стоків, відходів тваринницьких ферм, неабиякий негативний вплив на стан водних ресурсів має біологічне забруднення [6]. Такий вид забруднення виникає внаслідок потрапляння у водойми разом зі стічними водами різних хвороботворних мікроорганізмів, бактерій, грибів, дрібних водоростей, хробаків. Декілька мільйонів бактерій виявлено в одиниці об'єму стічних і річкових водах. Основними джерелами біологічних забруднень є комунально-побутові стічні води підприємств. Об'єм бактеріальної маси при кількості 100 млн. бактерій в 1 см<sup>3</sup> складає 0,04 % від об'єму стічних вод [3]. Боротьба з їх масовим розмноженням у системах зливу стічних вод, у технологічних середовищах, у системах водопостачання повинна бути направленою на появу нових економічно вигідних технологій водоочищення.

Перспективним методом очищення води є застосування кавітаційної дії, яка підсилюється з одночасним барботуванням газів. Вплив інертних газів на життєздатність мікроорганізмів практично не вивчався в кавітаційних умовах. Однак, вивчення дії інертних газів викликає значне зацікавлення в наукових цілях саме через їхню природу, через їхню хімічну інертність, оскільки додаткове барботування газу в реакційне середовище призводить до пришвидшення руйнівної дії кавітації на мікроорганізми [11].

Провівши огляд наукового матеріалу щодо теми дослідження, з'ясовано, що кавітаційний вплив на мікроорганізм різного роду представлено як у вітчизняних роботах, так і закордонних. Результати таких досліджень викладені в наукових публікаціях [7–10, 12], в яких досліджувалась дія ультразвукової кавітації на водорості, гриби, бактерії. Інтенсивність ультразвукової кавітації на структуру мікроорганізмів в процесі дезінфекції стічних вод описано в [10].

Вплив кавітаційної дії на дріжджі *Saccharomyces cerevisiae* представлено в роботі [5], в якій дія ультразвуку (УЗ) низької частоти (частота 28 кГц, потужність 140 Вт/л) тривалістю 1 година суттєво зменшує кількості дріжджових клітин [5]. В роботі [1] відзначено активне руйнування бактерій *Bacillus cereus* в атмосфері аргону ( $k_d = (2,3 \pm 0,1) \times 10^{-4} \text{ c}^{-1}$ ), порівняно з гелієм ( $k_d = (8,16 \pm 0,07) \times 10^{-5} \text{ c}^{-1}$ ), незалежно від вихідної кількості бактерій в 1 см<sup>3</sup> досліджуваної води. Оскільки аргон виявив високу ефективність в процесі руйнування мікроорганізмів, цікаво вивчити його дію на дріжджові клітини в поєднанні з кавітаційним процесом обробки води. Окрім того, дріжджі суттєво відрізняються за будовою від бактерій, а експериментальних даних, які б підтверджували вплив інертних газів в кавітаційних умовах на дріжджі в літературі нами не знайдено.

Дріжджі забруднюють стічні води продуктами своєї життєдіяльності, зокрема продуктами органічного походження. Тому стічні води пивоварної промисловості є концентрованими за органічними забрудненнями, що потребує додаткового їх очищення перед скиданням до відкритих водойм. В зв'язку з тим, виникла необхідність пошуку альтернативного методу обробки води з підвищеним вмістом дріжджових клітин, який би очистив таку воду до показників, допустимих для скидання стічних вод до водойм. Саме тому, в роботі запропоновано здійснити процес обробки дріжджових клітин за одночасної дії аргону та кавітації, оскільки спільна дія кавітації та газу інтенсифікує руйнівні процеси на мікроорганізми у водному середовищі в процесі її обробки [5].

### Матеріали та методи досліджень

Для досліджень використані мікроскопічні об'єкти – дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, які були виділені з стічних вод пивоварного виробництва. Чисті культури мікроорганізмів вирощували в пробірках у лабораторних умовах при 30 °С протягом 96 годин на сусло-агарі з подальшим зберіганням при 4 °С. Чисту культуру мікроорганізмів вносили до стерильної природної води, готуючи таким чином суспензію клітин дріжджів у стерильній воді. Вихідне число мікроорганізмів (ЧМ) на 1 см<sup>3</sup> досліджуваної води становило  $2,07 \times 10^4$  КУО. Методика здійснення розведень суспензії мікроорганізмів та умови їх культивування детально описані в [2].

Умови експериментів:  $T = 298 \pm 1 \text{ K}$ ,  $P = 0,1 \text{ МПа}$ , загальна тривалість процесу становила 2 години. Джерелом кавітації слугував УЗ генератор УЗДН-2Т з частотою 22 кГц і потужністю 35 Вт.

Досліджуваним газом для барботування реакційного середовища обрано інертний газ аргон, який продемонстрував високі результати в процесах очищення води від бактеріальних клітин у попередніх дослідженнях [1].

Приготований зразок досліджуваної води наливали в скляний реактор, ємністю 75 см<sup>3</sup>, який постійно охолоджувався протічною водою для підтримування в реакційному середовищі постійної температури (T=298±1K). УЗ коливання від низькочастотного генератора передавали за допомогою магнітострикційного випромінювача, зануреного в об'єм досліджуваного зразка води. Одночасно включаючи УЗ генератор забезпечували подачу аргону. Загальна витрата газу становила 1,4 дм<sup>3</sup>, який подавали зі швидкістю 0,2 см<sup>3</sup>/с в досліджуваний об'єм води впродовж всієї тривалості процесу. Далі періодично (кожні 30 хв) відбирали проби води для аналізу. Для узагальнення результатів даний експеримент повторювався тричі. Статистичне опрацювання здійснювалось на основі розрахунку середнього арифметичного для серії експериментальних даних.

Частку загиблих клітин визначали за формулою:

$$Dd = 100 - \frac{ЧМ \times 100}{ЧМ_0}, [\%]$$

де ЧМ<sub>0</sub> – початкове число мікроорганізмів, КУО/см<sup>3</sup>.

ЧМ визначали за кількістю колонієутворювальних одиниць (КУО) в одиниці об'єму досліджуваної води при рості клітин на чашках Петрі з суцло-агаром. Для визначення кількості живих клітин у пробах після обробки здійснювали висів у три паралельні чашки Петрі з кожного відбору проб.

### Результати досліджень та їх обговорення

Зразки води піддавали одночасній Аг/УЗ-дії з вихідним вмістом дріжджів 2,07×10<sup>4</sup> КУО/см<sup>3</sup>. Як бачимо, за табличними даними, ЧМ після 1800 с обробки зменшилося в 2,6 разів, а після години – в 51,8 разів.

Рисунок демонструє стрімке зростання частки загиблих клітин на початку процесу, тривалістю до однієї години. Так, після 1800 с обробки ЧМ суттєво зменшилося, частка загиблих клітин становить 61,84 %, а через годину – 98,07 % (Рисунок). Після години Аг/УЗ-обробки крива виходить на плато, тобто частка знижених клітин коливається в межах одиниці.

Кінцеве ЧМ не перевищує 100 КУО/см<sup>3</sup>, а розрахована величина D<sub>d</sub> після двох годин Аг/УЗ-обробки становила 99,52 % (Рисунок). Ці дані вказують на практично повне очищення води та на ефективність барботування аргону в кавітаційних умовах, тоді як після Аг/УЗ обробки води з підвищеним вмістом спорогенних бактерій *Bacillus cereus* (ЧМ<sub>0</sub> = 1,77×10<sup>4</sup> КУО/см<sup>3</sup>) відсоток загибелі становить 85,15 % в аналогічних умовах експерименту [1].

Отже, при барботуванні аргону в кавітаційних умовах вдалося досягнути практично повного очищення води від дріжджів. Високу ефективність дії аргону можна обґрунтувати тим, що аргон характеризується більшим виходом

Таблиця

**Життєздатність клітин *Saccharomyces cerevisiae* за різних режимів обробки**

Тривалість Аг/УЗ обробки, с	ЧМ, КУО/см <sup>3</sup>
0	$2,07 \cdot 10^4$
1800	$7,9 \cdot 10^3$
3600	$4 \cdot 10^2$
5400	$3 \cdot 10^2$
7200	$1 \cdot 10^2$

Примітка: коефіцієнт кореляції експериментальних даних за умов Аг/УЗ обробки дріжджової суспензії становить 0,926.

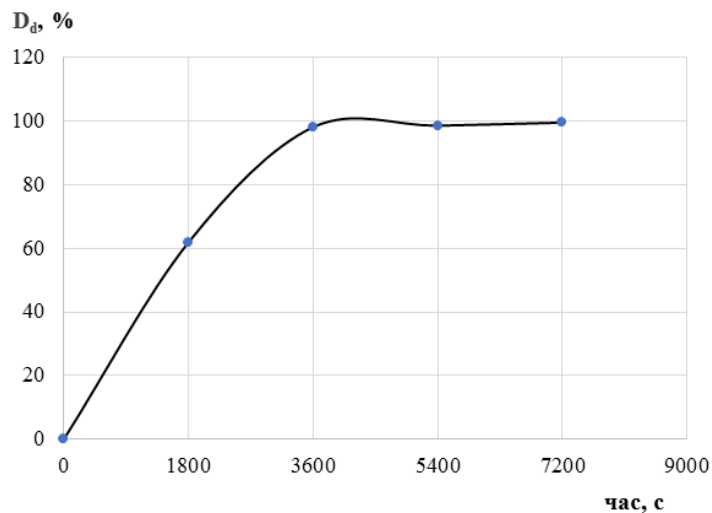


Рисунок. Залежність частки загиблих клітин від тривалості одночасної дії аргону і кавітації

продуктів піролізу [11], за рахунок нижчої теплопровідності, порівняно з гелієм. Тобто насичення водного середовища з вмістом дріжджів інертним аргонном веде до утворення додаткових кавітаційних зародків в реакційній зоні, що зумовило активне руйнування мікроорганізмів. Також аргон відрізняється меншим іонізаційним потенціалом (15,7 еВ), ніж гелій (24,5 еВ), що значно полегшує електронний пробій в каверні, сприяє більш інтенсивному розпаду молекул води в ній, в результаті якого збільшується ефективність знезараження води. Розриви щільності потоку з утворенням парогазових бульбашок відбуваються у місцях неоднорідності середовища, а неоднорідностями виступають самі клітини дріжджів, які при кавітаційному вибуху (імпульсі) виявляються в центрі розтріскування [11]. У результаті біля точки розтріскування повністю

знищуються мікроорганізми. Згідно з [5], кавітаційна дія зумовлює значні механічні руйнування клітинної стінки, цитоплазматичної мембрани, вивільнення внутрішньоклітинних компонентів.

Проведене дослідження дозволяє описати процеси відмирання дріжджових клітин в умовах спільної дії аргону та кавітації. Одержані результати вказують на інтенсивне кавітаційне очищення води від мікроорганізмів в умовах барботування аргону. Наведені експериментальні дані також узгоджуються з результатами попередніх дослідів [1], згідно з якими дія аргону на воду з вмістом бактерій *Bacillus cereus* описується більшою величиною ефективної константи швидкості відмирання клітин:  $k_d(\text{Ar}) > k_d(\text{He})$ , що пояснюється природою дії самого газу в умовах експерименту [1].

### Висновки

1. Досліджено життєздатність дріжджів в умовах кавітації та барботуванні аргону через водну систему. Розраховано та здійснено порівняння частки загинувших клітин впродовж двогодинної обробки забрудненої дріжджами води за різних режимів обробки.

2. Встановлено зменшення мікробіологічного забруднення води на два порядки (з  $2,07 \cdot 10^4$  до  $1 \cdot 10^2$  КУО/см<sup>3</sup>), що дозволяє скидати оброблену воду у відкриті водойми.

3. Відзначено практично повне руйнування дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* у водному середовищі ( $D_d = 99,5\%$ ), що вказує на високу ефективність застосування спільної Ar/UЗ-дії в процесах водоочищення.

Стаття надійшла до редакції 12.07.2020

### Список використаної літератури

1. Коваль І. З. Життєздатність спорогенних бактерій в атмосфері інертних газів / І. З. Коваль // Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи). – 2020. – Т. 12, Вип. 1. – С. 8–13. <https://doi.org/10.31861/biosystents.2020.01.008>
2. Коваль І. Вплив кисню та вуглекислого газу на очищення води від бактерій та дріжджів в кавітаційних умовах / І. З. Коваль // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна серія «Екологія». – 2020. – № 22. – С. 75–82. <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2020-22-07>
3. Койнова І. Б. Водойми міста Львова: сучасний геоекологічний стан та можливості його покращення / І. Б. Койнова, А.-К. Чорна // Людина та довкілля. Проблеми неоекології. – 2019. – № 32. – С. 6–15. <https://doi.org/10.26565/1992-4224-2019-32-01>
4. Chaudhry F. N. Factors affecting water pollution: a review / F. N. Chaudhry, M. F. Malik // J. Ecosyst. Ecography. – 2017. – Vol. 7(1). – P. 225–231. doi: 10.4172/2157-7625.1000225
5. Dai Ch. Effects of low-intensity ultrasound on the growth, cell membrane permeability and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae* / Ch. Dai, F. Xiong, R. He, W. Zhang, H. Ma // Ultrasonics Sonochem. – 2017. – Vol. 36. – P. 191–197. doi: 10.1016/j.ultsonch.2016.11.035
6. Haseena M. Water pollution and human health / M. Haseena, M. F. Malik, A. Javed // Environmental Risk Assessment and Remediation. – 2017. – Vol. 1(3). – P. 16–19. doi: 10.4066/2529-8046.100020

7. Iorio M. C. A case study on the use of ultrasound for the inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in almond milk / M. C. Iorio, A. Bevilacqua, M. R. Corbo // *Ultrasonics Sonochem.* – 2019. – Vol. 52. – P. 477–483. doi: 10.1016/j.ultsonch.2018.12.026
8. Kong Y. Removal of *Microcystis aeruginosa* by ultrasound: Inactivation mechanism and release of algal organic matter / Y. Kong, Y. Peng, Zh. Zhang // *Ultrasonics Sonochem.* – 2019. – Vol. 56. – P. 447–457. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.04.017>
9. Li Y. Enhanced coagulation by high-frequency ultrasound in *Microcystis aeruginosa* – laden water: Strategies and mechanisms / Y. Li, X. Shi, Zh. Zhang // *Ultrasonics Sonochem.* – 2019. – Vol. 55. – P. 232–242. doi: 10.1016/j.ultsonch.2019.01.022
10. Luhovskyi O. F. Enhancing the Efficiency of Ultrasonic Wastewater Disinfection Technology / O. F. Luhovskyi, I. A. Gryshko, I. M. Bernyk // *Journal of Water Chemistry and Technology.* – 2018. – Vol. 40. – P. 95–101.
11. Naddeo V. Water and wastewater disinfection by ultrasound irradiation – a critical review / V. Naddeo, A. Cesaro, D. Mantzavinos // *Global Nest Journal.* – 2014. – Vol. 16, No 3. – P. 561–577.
12. Park J. Variation of efficiencies and limits of ultrasonication for practical algal bloom control in fields / J. Park, Y. Son, W. H. Lee // *Ultrasonics Sonochem.* – 2019. – Vol. 55. – P. 8–17.

### I. Z. Koval

Lviv Polytechnic National University,  
st. S. Bandery, 12, Lviv, Ukraine, e-mail: irynazk@gmail.com

## THE EFFECT OF ARGON ON THE YEAST UNDER CAVITATION

### Abstract

**Introduction.** The process of water purification from contaminants, in particular microbiological, is still relevant. One of the promising and effective physical methods of water disinfection is the use of cavitation, which is characterized by numerous positive results in water purification technology.

**Aim.** To investigate the effect of cavitation and inert argon on the viability of *Saccharomyces cerevisiae* in water. To determine the effectiveness of argon during cavitation treatment of the water system.

**Methods.** Ultrasonic generator UZDN-2T was used for cavitation treatment of yeast-containing water at frequency of 22 kHz, power 35 W,  $T = 298 \pm 1$  K,  $P = 0.1$  MPa, the total duration of the process was 2 hours. A suspension of yeast cells in sterile water taken from a natural water body was used for research. Inert gas (argon) was bubbled into the water throughout the process with simultaneous action of cavitation. The results of calculating the number of the cells before and after the experiments are expressed in colony-forming units.

**The main results of the study.** Treatment of water with high content of yeast with simultaneous action of inert gas and ultrasonic cavitation was carried out. The studied microobjects were *Saccharomyces cerevisiae* yeast with an initial content of  $2.07 \times 10^4$  cells per unit volume of water. It is shown that after 30 min of Ar/US action the number of the microorganisms decreased 2.6 times relative to its initial number. The efficiency of the combined action of argon and cavitation was 99.5% ( $NM_{\text{end}} = 100$  CFU/cm<sup>3</sup>) in the end of the process.

**Conclusions.** Cavitation action in an argon atmosphere on the water purification from yeast was shown. The proportions of dead cells which allowed to describe the process of water disinfection were calculated and active water purification under conditions of argon supply with high yeast content in 1 cm<sup>3</sup> of aqueous medium was noted. Almost complete purification of water after two hours of treatment was achieved.

**Key words:** water; cleansing; drizhi; argon; cavitation

### References

1. Koval I. Z. (2020) «Viability of sporogenic bacteria in an inert gas atmosphere» [«Zhytlyezdatnist' sporohennykh bakteriy v atmosferi inertnykh haziv»], *Scientific Herald of Chernivtsy University. Biology (Biological Systems)*, 12(1), pp 8-13.
2. Koval I. Z. (2020) «Influence of oxygen and carbon dioxide on water purification from bacteria and yeast in cavitation conditions» [«Vplyv kysnyu ta vuhlekysloho hazu na ochyshchennya vody vid bakteriy ta drizhdzhiv v kavitatsiynykh umovakh»], *Visnyk of V. N. Karazin Kharkiv National University Series «Ecology»*, 22, pp 75-82.
3. Koinova, I., Chorna, A.-K. (2019) «Lviv Reservoirs: Current Geo-Ecological Status and Opportunities for its Improvement» [«Vodoymy mista L'vova: suchasnyy heoekolohichnyy stan ta mozhyvosti yoho pokrashchennya»], *Man and Environment. Issues of Neoecology*, 32, pp 6-15.
4. Chaudhry F. N., Malik M. F. (2017) «Factors Affecting Water Pollution: A Review», *J. Ecosyst. Ecography*, 7(1), pp 225-231.
5. Dai Ch., Xiong F., He R., Zhang W., Ma H. (2017) «Effects of low-intensity ultrasound on the growth, cell membrane permeability and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*», *Ultrasonics Sonochem.*, 36, pp 191-197.
6. Haseena M., Malik M. F., Javed A. (2017) «Water pollution and human health», *Environmental Risk Assessment and Remediation*, 1(3), pp 16-19.
7. Iorio M. C., Bevilacqua A., Corbo M. R. (2019) «A case study on the use of ultrasound for the inhibition of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* in almond milk», *Ultrasonics Sonochem.*, 52, pp 477-483.
8. Kong Y., Peng Y., Zhang Zh. (2019) «Removal of *Microcystis aeruginosa* by ultrasound: Inactivation mechanism and release of algal organic matter», *Ultrasonics Sonochem.*, 56, pp 447-457.
9. Li Y., Shi X., Zhang Zh. (2019) «Enhanced coagulation by high-frequency ultrasound in *Microcystis aeruginosa* - laden water: Strategies and mechanisms», *Ultrasonics Sonochem.*, 55, pp 232-242.
10. Luhovskyi O. F., Gryshko I. A., Bernyk I. M. (2018) «Enhancing the Efficiency of Ultrasonic Wastewater Disinfection Technology», *Journal of Water Chemistry and Technology*, 40, pp 95-101.
11. Naddeo V., Cesaro A., Mantzavinos D. (2014) «Water and wastewater disinfection by ultrasound irradiation - a critical review», *Global Nest Journal*, 6(3), pp 561-577.
12. Park, J., Son, Y., Lee W. H. (2019) «Variation of efficiencies and limits of ultrasonication for practical algal bloom control in fields», *Ultrasonics Sonochem.*, 55, pp 8-17.