



УДК 577.355; 62.01.94

Эффективность инактивации бактерий в воде УФ излучением эксилампы

Г. Г. Матафонова¹, С. А. Астахова¹, В. Б. Батоев¹, М. Gómez², N. Christofi³

¹ Байкальский институт природопользования СО РАН, г. Улан-Удэ

² University of Murcia, Murcia, Spain

³ Napier University, Edinburgh, UK

E-mail: ngal@yandex.ru

Аннотация. Установлена эффективность инактивации различных бактерий при 10^2 – 10^7 КОЕ/мл в воде УФ излучением КгСl эксилампы при 222 нм без присутствия и в присутствии H_2O_2 . Полная инаktivация *E. coli* O157:H7 и *S. aureus* при 10^2 – 10^5 КОЕ/мл достигнута в течение 15 с облучения. Найдено, что константы скорости УФ/ H_2O_2 инаktivации *B. subtilis* и *B. cereus* в два раза выше констант при УФ обработке без H_2O_2 . Эффект H_2O_2 при облучении 10^7 КОЕ/мл *Bacillus* sp. и *S. pyogenes* не обнаружен.

Ключевые слова: ультрафиолетовое излучение, эксилампа, пероксид водорода, бактерии, инаktivация, вода.

Для обезвреживания патогенных микроорганизмов в воде перспективно использование новых окислительных технологий на основе совместного действия ультрафиолетового (УФ) излучения и сильных окислителей, например, пероксида водорода (H_2O_2) [5]. Эксилампы являются современными безртутными источниками УФ излучения, получаемого за счет распада эксимерных (димеров инертных газов или галогенов) или эксиплексных (галогенидов инертных газов) молекул. Спектр излучения эксиламп, в отличие от ртутных ламп, представляет собой узкую полосу соответствующей молекулы, в которой может быть сосредоточено более 80 % от общей мощности излучения [1]. Инаktivационный эффект УФ излучения эксиламп в присутствии H_2O_2 представляет большой научный и технологический интерес, поскольку может быть использован для экспрессного обеззараживания водных сред. Целью работы являлось изучение эффективности инаktivации бактерий в воде с помощью УФ излучения эксилампы без и в присутствии пероксида водорода (УФ/ H_2O_2).

Материал и методы

В таблице представлены тестовые бактериальные штаммы и условия их культивирования для последующего облучения. Штамм *B. cereus* выделен из пруда-аэратора Байкальского ЦБК как деструктор 2,4-дихлорфенола и идентифицирован нами ранее [2]. Остальные штаммы

предоставлены университетом Нэйпер (Эдинбург, Великобритания).

Источником УФ излучения являлась эксилампа барьерного разряда на молекулах КгСl, излучающая на длине волны 222 нм. Вегетативные клетки каждого тест-штамма были приготовлены в стерильной воде из соответствующих односуточных культур методом предельных разведений. Полученные бактериальные суспензии, содержащие от 10^2 до 10^7 КОЕ/мл (N0), последовательно облучали в кювете в течение 5–300 с при температуре 23–25 °С. Интенсивность УФ излучения при данных условиях составила 1,95 мВт/см².

При обработке по схеме УФ/ H_2O_2 , 100 мкл раствора H_2O_2 помещали в кювету перед внесением бактериальной суспензии. После облучения 100 мкл аликвоты высевали в чашки Петри с агаризованным питательным бульоном и инкубировали при 28 °С (*B. cereus* и *B. subtilis*) или 37 °С (*E. coli* O157:H7, *S. aureus* и *S. pyogenes*) в течение 24 ч в 3–5 повторностях для определения числа КОЕ выживших клеток (N).

Результаты и обсуждение

На рисунке представлены зависимости $\log_{10}(N)$ от продолжительности облучения КгСl эксилампой без и в присутствии H_2O_2 . Определены константы скорости инаktivации первого порядка (k) для линейных зависимостей с коэффициентами корреляции 0,95–0,99 (не приведены).

Нелинейные зависимости наблюдались при высоких значениях N_0 (10^6 – 10^7 КОЕ/мл) практически для всех тест-организмов, что можно объяснить эффектом экранирования, обусловленным поглощением и рассеянием излучения. Полная инактивация *E. coli* O157:H7 и *S. aureus* УФ излучением без H_2O_2 при 10^2 – 10^5 КОЕ/мл наблюдалась уже в течение 15 с ($29,2$ мДж/см²), о чем свидетельствуют высокие значения констант ($k \geq 1$). При максимальной N_0 (10^7 КОЕ/мл) доза 351 мДж/см² (180 с) в присутствии H_2O_2 обеспечивала снижение числа клеток *S. aureus* на 5,5 порядка (99,9 %). После обработки *E. coli* O157:H7 при этих же условиях достигнута эффективность инактивации 100 %. Облучение без H_2O_2 в течение 180 с было также более эффективно для *E. coli* O157:H7 (снижение на 5,2 порядка) по сравнению с *S. aureus* (снижение на 3,3 порядка). На наш взгляд, это может быть обусловлено большей степенью поглощения и рассеяния излучения на двумерных цепочках и трехмерных кластерах (агломератах), которые, как известно, образуют клетки *S. aureus* (а также *S. pyogenes*) при их высоких концентрациях в воде. Для достижения полной инактивации обоих видов при 10^6 КОЕ/мл по схеме UV/ H_2O_2 потребовалось только 30 с.

В случае *Bacillus* sp. при 10^2 – 10^4 КОЕ/мл константы скорости инактивации по схеме УФ/ H_2O_2 были в два раза выше, чем константы без H_2O_2 . Полная инактивация *B. subtilis* при 10^2 – 10^3 КОЕ/мл наблюдалась уже после 5 с облучения ($9,7$ мДж/см²). Исходная численность *Bacillus* sp. при 10^6 КОЕ/мл после облучения в течение 300 с (585 мДж/см²) снизилась на 4,0 (*B. cereus*) и 3,6 порядка (*B. subtilis*).

После комбинированной обработки УФ/ H_2O_2 отмечен рост лишь двух колоний *B. subtilis*, тогда как в случае *B. cereus* рост не выявлен.

Видимый эффект H_2O_2 после комбинированной обработки *Bacillus* sp. при 10^7 КОЕ/мл не наблюдался, о чем также сообщалось по отношению к энтеробактериям [5]. В этом случае эффективность инактивации составила 99,9 %

после 300 с облучения. Подобная закономерность была установлена и для *S. pyogenes* при высокой исходной численности (10^6 – 10^7 КОЕ/мл). При более низких величинах N_0 (10^4 – 10^5 КОЕ/мл) эффект H_2O_2 также не отмечен, что отражается близкими значениями констант скорости инактивации. В течение первых 10 с облучения наблюдалась выраженная резистентность *S. pyogenes*.

Известно, что в результате фотолиза H_2O_2 генерируются реакционноспособные гидроильные радикалы (ОН•), инактивирующие клетку по двум основным механизмам: 1) окисление и разрушение клеточной стенки и мембраны с последующей дезинтеграцией клетки; 2) их диффузия в клетку, приводящая к инактивации ферментов, повреждению органелл, нарушению синтеза белка и т. д. [5]. Причем наибольший выход ОН• генерируется излучением в области 200–280 нм [4]. Поскольку максимум поглощения H_2O_2 составляет 220 нм, целесообразно использовать УФ лампы, излучающие в диапазоне 210–240 нм. Однако H_2O_2 может абсорбировать фотоны при 222 нм и действовать как светофильтр. С другой стороны, это может способствовать увеличению выхода ОН• и, тем самым, повышать эффективность дезинфекции. В целом, заметное уменьшение эффекта H_2O_2 при увеличении N_0 можно отметить для *Bacillus* sp., тогда как для остальных тест-организмов это не установлено.

Заключение

Эффективность инактивации составила 99,9 % после облучения бактериальных суспензий в течение 5–300 с, несмотря на экранирование при 10^6 – 10^7 КОЕ/мл. Эффект комбинированной обработки UV/ H_2O_2 зависит от тест-организма, его исходной численности в воде и имеет потенциал при обработке воды, содержащей до 10^5 КОЕ/мл и имеющей относительно низкие коэффициенты поглощения.

Таблица

Тест-штаммы и условия культивирования

Штамм	Условия культивирования в питательном бульоне, 180 об/мин
<i>Bacillus cereus</i> BIP507	28 °С, аэробно, 1 сут
<i>Bacillus subtilis</i> NCIMB 3610	28 °С, аэробно, 1 сут
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 NCTC 12900	37 °С, аэробно, 1 сут
<i>Staphylococcus aureus</i> NCIMB 6571	37 °С, аэробно, 1 сут
<i>Streptococcus pyogenes</i> NCIMB 8884	37 °С, аэробно, 1 сут

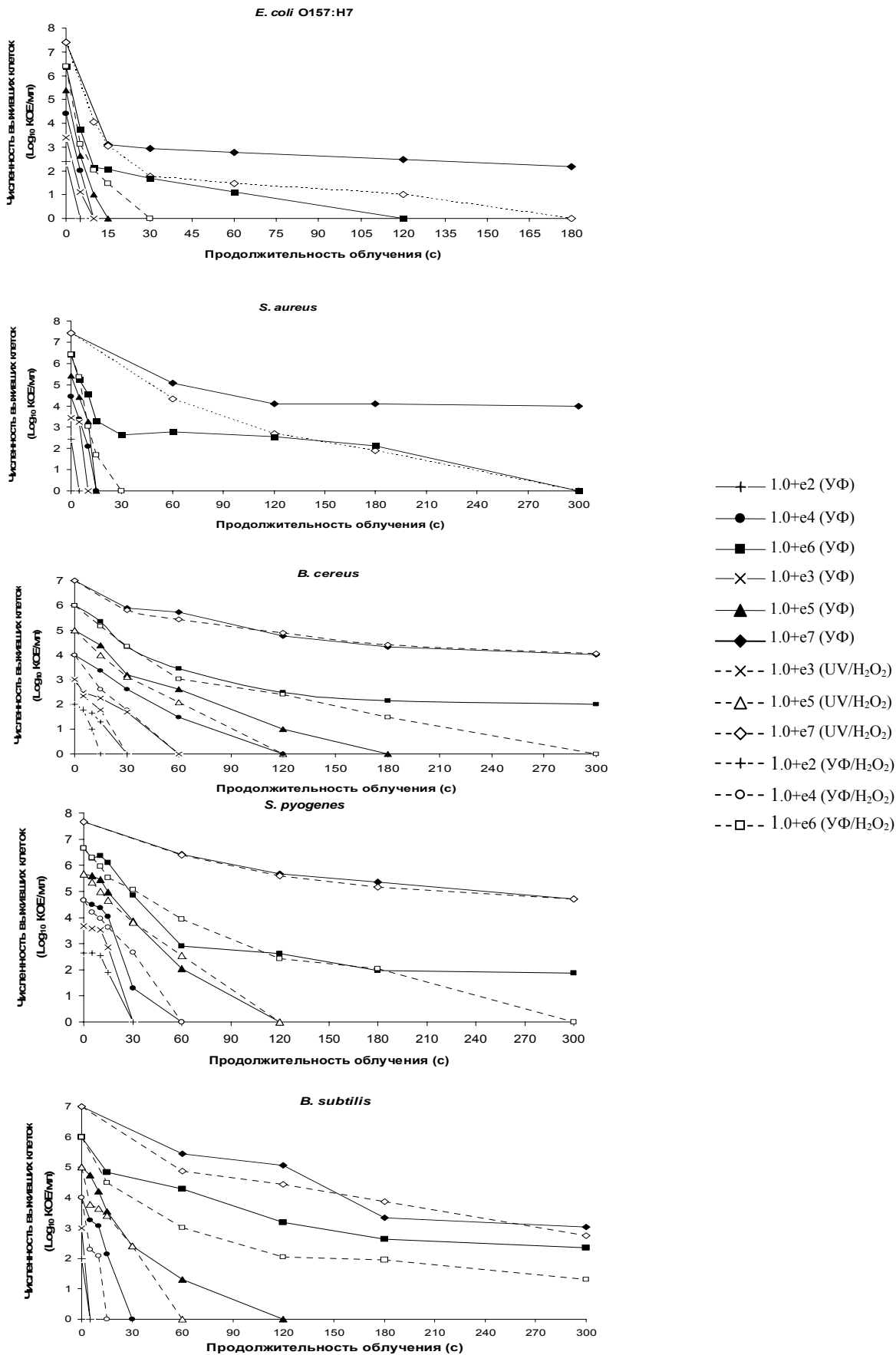


Рис. Кривые выживания клеток *E. coli* O157:H7, *S. aureus*, *B. cereus*, *B. subtilis* и *S. pyogenes* в воде после УФ облучения без и в присутствии пероксида водорода

Литература

1. Ломаев М. И. Эксилампы – эффективные источники спонтанного УФ- и ВУФ-излучения / М. И. Ломаев, В. С. Скакун, Э. А. Соснин и др. // Успехи физ. наук. – 2003. – Т. 173, № 2. – С. 201–217.
2. Матафонова Г. Г. *Bacillus cereus* – микроорганизмы-деструкторы 2,4-дихлорфенола / Г. Г. Матафонова, В. Б. Батоев, Г. С. Ширапова, G.-W. Kohring, F. Giffhorn, В. Ж. Цыренов // Изв. РАН. Серия биол. – 2007. – № 5. – С. 534–538.
3. Koivunen J. Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical / UV treatments / J. Koivunen, H. Heinonen-Tanski // Water Research. – 2005. – № 39. – P. 1519–1526.
4. Litter, M. I. Introduction to photochemical advanced oxidation processes for water treatment / Litter, M. I. // Handbook of Environmental Chemistry. – 2005. – Vol. 2. – Part M. – P. 325–366.
5. Mamane H. Inactivation of *E. coli*, *B. subtilis* spores, and MS2, T4, and T7 phage using UV/H₂O₂ advanced oxidation / H. Mamane, H. Shemer, K. G. Linden // J. of Hazardous Materials. – 2007. – Vol. 146, № 3. – P. 479–486.

Efficiency of inactivation of bacteria in water using uv radiation of excilampG. G. Matafonova¹, S. A. Astakhova¹, V. B. Batoev¹, M. Gómez², N. Christofi³¹ Baikal Institute of Nature Management SB RAS, Ulan-Ude² University of Murcia, Murcia, Spain³ Napier University, Edinburgh, UK

Abstract. The efficiency of inactivation of bacteria at initial populations of 10²–10⁷ CFU/ml in water by UV radiation of KrCl excilamp at 222 nm with and without hydrogen peroxide has been studied. At populations of 10²–10⁵ FU/ml the total inactivation of *E. coli* O157:H7 and *S. aureus* was achieved during 15 s of irradiation. The UV/H₂O₂ inactivation rate constants for *B. subtilis* and *B. cereus* were two times higher than those observed for UV treatment alone. No effect of H₂O₂ was observed at 10⁷ CFU ml⁻¹ for *Bacillus* sp. and *S. pyogenes*.

Key words: ultraviolet radiation, excilamp, hydrogen peroxide, bacteria, inactivation, water.

Матафонова Галина Георгиевна
 Байкальский институт природопользования
 СО РАН, Аналитический центр
 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6
 кандидат биологических наук, научный сотрудник,
 тел.: (3012) 60–25–68.
 E-mail: ngal@yandex.ru

Matafonova Galina Georgievna
 Baikal Institute of Nature Management
 SB RAS, Analytical Center
 670047, Ulan-Ude, 6, Sakhyanovoi St.
 Ph. D. in Biology, research scientist
 phone: (3012) 60-25-68
 E-mail: ngal@yandex.ru

Астахова Светлана Александровна,
 Байкальский институт природопользования СО РАН
 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
 ведущий инженер
 тел.: (3012) 60–25–68.

Astakhova Svetlana Aleksandrovna
 Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
 670047, Ulan-Ude, 6, Sakhyanovoi St.
 leading engineer
 phone: (3012) 60–25–68.

Батоев Валерий Бабудоржиевич
 Байкальский институт природопользования
 СО РАН,
 670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6,
 доктор биологических наук, заведующий
 аналитическим центром
 тел.: (3012) 60–25–68, (3012) 33–61–04,
 E-mail: vbat@bsc.buryatia.ru

Batoev Valery Babudorzhevitch
 Baikal Institute of Nature Management SB RAS,
 670047, Ulan-Ude, 6, Sakhyanovoi St.
 D. Sc. in Biology, Head of Analytical Center
 phone: (3012) 60–25–68, (3012) 33–61–04
 E-mail: vbat@bsc.buryatia.ru

Maria Gómez
 University of Murcia, Campus de Espinardo,
 Murcia 30071, Spain
 PhD, Chemical Engineering Department

Maria Gómez, PhD
 University of Murcia, Campus de Espinardo
 Murcia 30071, Spain
 Chemical Engineering Department

Nick Christofi
 Pollution Research Unit, School of Life Sciences,
 Napier University,
 Edinburgh EH10 5DT, Scotland, UK
 PhD, Professor

Nick Christofi
 Pollution Research Unit, School of Life Sciences,
 Napier University
 Edinburgh EH10 5DT, Scotland, UK
 PhD, Professor