

УДК (UDC): 66.084+541.182; 628.1; 658.265

DOI: <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2020-23-10>

І. З. КОВАЛЬ, канд. техн. наук, доц.
Національний університет «Львівська політехніка»
вул. С. Бандери, 12, м. Львів, 79013, Україна

e-mail: iry nazk@gmail.com

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8154-4154>

ВПЛИВ КОНЦЕНТРАЦІЇ АЕРОБНИХ БАКТЕРІЙ НА ПРОЦЕС ЇХ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ В ПРИСУТНОСТІ КИСНЮ

Мета. Дослідити життєздатність аеробних мікроорганізмів в атмосфері кисню з різним їх вихідним вмістом у водному середовищі. Порівняти вплив газу на різну концентрацію бактерій в одиниці об'єму води.

Методи. Досліджуваними мікроорганізмами слугували аеробні бактерії роду *Bacillus cereus*. Модельні водні середовища створені на основі дистильованої деаерованої води при додаванні бактерій конкретного виду. Для досліджень використовувався кисень, який барботували у мікробну воду впродовж всього процесу зі швидкістю 0,2 см³/с. Тривалість дослідження становила 2 години, впродовж якого загальна витрата газу відповідала 1,4 дм³. Число мікроорганізмів (ЧМ) до і після експериментів визначали шляхом підрахунку колоній, які виростили на чашках Петрі.

Результати. Виявлено двохстадійний процес впливу кисню на аеробні бактерії – нагромадження та зменшення їх кількості в одиниці об'єму води в ході експериментів. На першій стадії процесу спостерігалось збільшення ЧМ тривалістю 1800-3600 с з подальшим їх зменшенням (II стадія). При збільшенні мікробного навантаження у воді з 10² до 10⁴ КУО/см³ тривалість процесу нагромадження бактерій зменшилась вдвічі. Досліджено, що при низькій концентрації бактерій у воді відбувається активне розмноження бактеріальних клітин, а при високій – активне їх зменшення, що пояснюється відмиранням клітин в умовах постійної подачі кисню встановленої швидкості.

Висновки. Пояснено вплив кисню на зміну чисельності аеробних мікроорганізмів у водному середовищі. Досліджено, що дія кисню на бактерії у воді поділяє процес їх життєздатності на дві стадії: нагромадження (I стадія) та зменшення їх кількості (II стадія). Показано, що тривалість процесу нагромадження бактерій в атмосфері кисню залежить від вихідної їх кількості у воді, а саме: із збільшенням вихідного ЧМ в одиниці об'єму води тривалість стадії нагромадження мікроорганізмів суттєво зменшується.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: аеробні бактерії, *Bacillus cereus*, кисень, вода

Koval I. Z.

Lviv Polytechnic National University, 12, S. Bandery, Str., Lviv, 79013, Ukraine

INFLUENCE OF AEROBIC BACTERIA CONCENTRATION ON THE PROCESS OF ITS SURVIVAL IN THE PRESENCE OF OXYGEN

Purpose of the study is to study the viability of aerobic microorganisms in an oxygen atmosphere with different initial content in the aquatic medium. Compare the effect of gas on different concentrations of bacteria per unit volume of the water.

Methods. Aerobic bacteria of the genus *Bacillus cereus* bacteria type were the studied microorganisms. Model aqueous media were created on the basis of distilled deaerated water with the addition of bacteria of a particular type. Oxygen was bubbled into the microbial water throughout the process at a rate of 0.2 cm³/s. The duration of the study was 2 hours, during which the total gas consumption corresponded to 1.4 dm³. The number of microorganisms (NM) before and after the experiments was determined by counting the colonies that grew on the Petri dishes.

Results. A two-stage process of oxygen exposure to aerobic bacteria was detected - accumulation and reduction of its number per unit volume of water during all experiments. At the first stage of the process, there was an increase of NM during 1800-3600 s with its subsequent decrease (II stage). With an increase in the microbial load in the water from 10² to 10⁴ CFU/cm³, the duration of the process of bacterial accumulation was

© Коваль І. З., 2020



This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

decreased in two times. An active reproduction of bacterial cells was investigated at the low concentration of bacteria in the water, and its active reduction - at the high concentration that is explained by cells destruction under conditions of constant supply of oxygen of the established rate.

Conclusions. The oxygen influence on the change of the number of aerobic microorganisms in the aquatic medium is explained. It is investigated that the oxygen action on bacteria in the water divides the process of its viability into two stages: accumulation (I stage) and reduction of its number (II stage). It is shown that the duration of the process of bacteria accumulation in the oxygen atmosphere depends on its initial amount in the water, namely with increasing of the initial NM per unit volume of the water, the duration of the stage of microorganisms accumulation decreases significantly.

KEY WORDS: aerobic bacteria, *Bacillus cereus*, oxygen, water

Коваль И. З.

Национальный университет "Львовская политехника"

ул. С. Бандеры, 12, г. Львов, 79013, Украина

ВЛИЯНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ АЭРОБНЫХ БАКТЕРИЙ НА ПРОЦЕСС ИХ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ В ПРИСУТСТВИИ КИСЛОРОДА

Цель. Исследовать жизнеспособность аэробных микроорганизмов при различной их концентрации в воде в условиях подачи кислорода.

Методы. Модельные водные среды были созданы на основе дистиллированной деаэрированной воды при добавлении исследуемых бактерий рода *Bacillus cereus*. Для исследований был использован кислород, который в микробную воду барботировали на протяжении всего процесса продолжительностью 2 часа со скоростью 0,2 см³/с с общим расходом газа 1,4 дм³. Число микроорганизмов (ЧМ) до и после экспериментов определялось путем подсчета колоний, выросших на чашках Петри.

Результаты. Во время воздействия кислорода на аэробные бактерии выявлены их накопления продолжительностью 1800-3600 с (I стадия) и дальнейшее уменьшение их количества (II стадия). При увеличении микробной нагрузки в воде с 10² до 10⁴ КОЕ/см³ продолжительность I стадии процесса уменьшилась вдвое. При низкой концентрации бактерий в воде происходит активное их размножение, а при высокой - активное уменьшения количества клеток, что объясняется отмиранием бактерий в условиях постоянной подачи кислорода установленной скорости.

Выводы. Объяснено влияние кислорода на изменение численности аэробных микроорганизмов в водной среде. Доказано, что действие кислорода на бактерии в воде разделяет процесс их жизнеспособности на две стадии: накопление и уменьшение их количества. Показано, что длительность процесса накопления бактерий в атмосфере кислорода зависит от исходного их количества в воде.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: аэробные бактерии, *Bacillus cereus*, кислород, вода

Вступ

У природних та стічних водах, окрім мінеральних та органічних речовин містяться забруднення біологічного характеру [1, 2]. У воді можуть знаходитись різні мікроорганізми (МО), а саме: бактерії, гриби, дріжджі, водорості, інфузорії тощо [3]. Збудники захворювань потрапляють у водойми з побутовими і виробничими стічними водами, без попереднього очищення і знезараження. Підземні води забруднюються при просочуванні стічних вод у ґрунтові води. Патогенні (хвороботворні) МО можуть бути причиною інфекційних захворювань людини (дизентерія, холера, черевний тиф, поліомієліт тощо). Тому біологічний та бактеріологічний показники є досить важливими при оцінці якості води. Для очищення води застосовують різні фізичні [4-7] та хімічні методи її обробки [8-11]. Технології очистки забруднених вод, які суттєво не зміню-

валися впродовж десятиліть, вносять свій вклад в проблему екобезпеки життєдіяльності і здоров'я людини. Тому, на сьогодні актуальними є пошуки нових підходів, розробка нових ефективних технологій і матеріалів для контрольованого підтримування допустимого за нормативними показниками стану відкритих водойм та стічних вод, а також здійснення ряду фундаментальних досліджень в цій сфері [2, 12].

Однак, вода містить також розчинені гази, які впливають на розвиток і життєздатність водної мікрофлори. Окрім того, газоподібні речовини в природних водах є продуктами життєдіяльності бактерій. Вони виникають при перетвореннях органічних речовин, відновленні сульфатів чи інших мінеральних солей. У результаті таких процесів можуть утворюватися CH₄, H₂, H₂S, CO₂, N₂ тощо [13]. Тому вагомим завданням

сьогодення в технології водоочищення є дослідження дії газів на ріст і розвиток різних МО у водному середовищі, оскільки їх вплив на мікрооб'єкти є маловивченим на даний час.

Вплив вуглекислого газу на життєздатність МО вивчено нами в [14], де було досліджено вплив тиску газу в мікробульбашці як найбільш ймовірної причини загибелі клітин. Для вивчення цього процесу використовували вуглекислий газ як найбільш розчинний у воді серед досліджуваних з відомою залежністю розчинності CO₂ у водному середовищі при різних його тисках в газовій фазі. Вплив повітря на суспензію дріжджів роду *Saccharomyces cerevisiae* концентрацією $3 \cdot 10^5$ кл/см³ з одночасним

застосуванням п'єзоквацевого генератора частотою 800 кГц та інтенсивністю 7 Вт/см² в роботі [15] спостерігали загибель клітин 55% після 30-секундного оброблення суспензії, після 2 хв – близько 77%, після 10 хв – 90%. Проте, при барботуванні водню через суспензію в аналогічній умові експерименту виявлено виживання клітин *Sacch. cerevisiae*.

Однак впливу самого кисню на життєдіяльність МО в літературі не знайдено. Тому доцільно вивчити вплив цього газу на життєздатність мікробів, розширюючи дослідження при використанні різної чисельності бактеріальних клітин в одиниці об'єму водного середовища.

Методика дослідження

Для досліджень процесу зміни числа мікроорганізмів (ЧМ) в одиниці об'єму води в присутності кисню готували водні середовища при додаванні до дистильованої деаерованої води мікробів конкретного виду. Тест-мікроорганізмами були аеробні паличкоподібні бактерії роду *Bacillus cereus*, як домінуючий вид серед МО природних вод різних населених пунктів Львівської області [16]. Свіжоприготовлену мікробну воду заливали в скляний реактор, який впродовж всієї тривалості процесу (2 год) барботувався газом. Досліджуваним газом слугував кисень. Загальна витрата барботованого газу становила 1,4 дм³, який подавали зі швидкістю 0,2 см³/с в досліджуваний об'єм води (75 см³). Об'єм досліджуваної дисперсії в скляному реакторі

протягом всього процесу охолоджувався протічною водою. Температура мікробної водної системи становила $T = 288 \pm 1$ К.

Вплив газу на перебіг процесу життєдіяльності МО вивчали при різних концентраціях мікробів: при низькій (ЧМ₀₁ = $2,7 \cdot 10^2$ та ЧМ₀₂ = $5 \cdot 10^2$ КУО/см³) та високій (ЧМ₀ = $7 \cdot 10^4$ КУО/см³) концентраціях МО в одиниці об'єму води, які відрізнялись на два порядки.

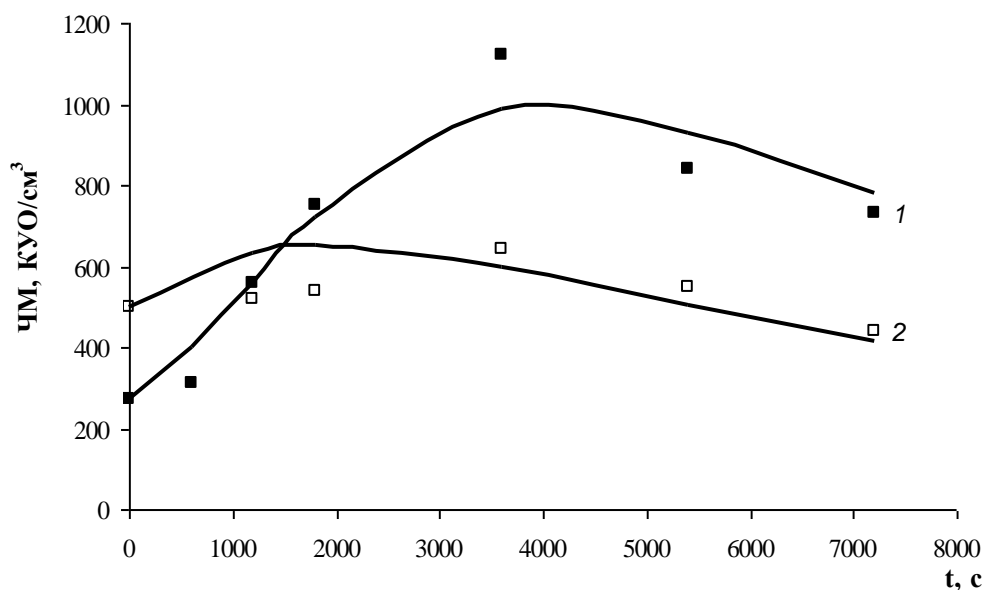
ЧМ визначали за кількістю колоній на поживному середовищі в чашці Петрі і виражалось в колоній-утворюючих одиницях (КУО). Поживним середовищем для бактерій є м'ясо-пептонний агар. Методику кількісного визначення МО у воді детально описано в [17].

Результати досліджень

Зміна чисельності бактерій роду *Bacillus* від тривалості барботування кисню через мікробну водну систему з різним вихідним ЧМ представлено на рис. 1 та 2. В усіх випадках спостерігаємо нагромадження МО на початковому етапі (I стадія) процесу з повільним зменшенням чисельності клітин на другій стадії.

Форми кривих зміни ЧМ при барботуванні кисню через систему з різним ЧМ₀ мають схожий характер, незалежно від вихідної концентрації бактеріальних клітин у воді, але відмінність полягає в тривалості стадії нагромадження клітин. Перша стадія дії кисню на мікробну систему веде до їх

розмноження, що пов'язано зі споживанням кисню аеробними клітинами досліджуваних МО. Очевидно кисень слугував поживними речовинами на даному етапі процесу (I стадія), необхідних для розмноження та росту МО. Найбільш тривале нагромадження клітин в часі виявлено під час барботування кисню тривалістю 3600 с при низьких концентраціях бактерій у вихідній воді (рис. 1, крива 1 та 2). Це, очевидно, пов'язано з достатнім насичення води киснем зі швидкістю його барботування 0,2 см³/с для мікробного навантаження води в межах 10² КУО/см³. У випадку високої концентрації бактерій у вихідній воді (рис. 2) максима-

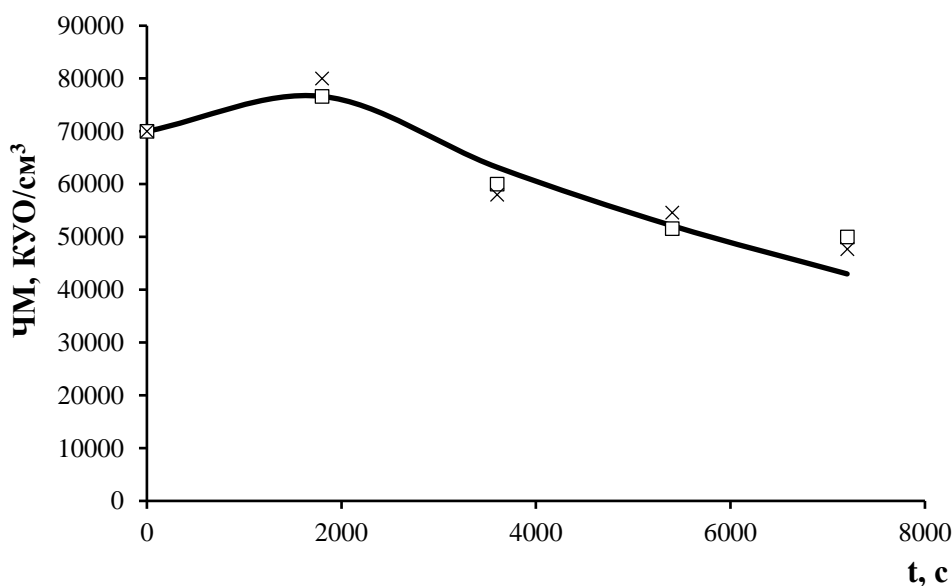


Експериментальні дані представлені точками. Вихідні дані:

$ЧМ_{01} = 2,7 \cdot 10^2$ КУО/см³ (1); $ЧМ_{02} = 5 \cdot 10^2$ КУО/см³ (2).

Умови процесу: $T = 288 \pm 1$ К.

Рис. 1 – Залежність чисельності бактерій *Vacillus* від тривалості барботування кисню через систему з низьким $ЧМ_0$.



Експериментальні дані представлені точками. Вихідні дані: $ЧМ_0 = 7 \cdot 10^4$ КУО/см³.

Умови процесу: $T = 288 \pm 1$ К.

Рис. 2 – Залежність чисельності бактерій *Vacillus* від тривалості барботування кисню через систему з високим $ЧМ_0$.

льне їх нагромадження виявлено на 1800 с процесу. Таким чином, тривалість стадії нагромадження клітин зменшується із збільшення мікробного навантаження у воді.

Збільшення $ЧМ_0$ з 10^2 до 10^4 КУО/см³ призвело до зменшення тривалості I стадії з 3600 до 1800 с. Отже, при збільшенні мікробної кількості у вихідній воді на два по-

рядки тривалість нагромадження МО суттєво зменшилась (вдвічі), що вказує на недостатність концентрації кисню для активного їх розмноження в умовах високого мікробного забруднення води.

Як бачимо за графічним матеріалом, другі стадії всіх процесів описуються спадними кривими, що вказує на руйнування бактеріальних клітин при тривалому і ста-

більному барботуванні кисню з однаковою швидкістю подачі його у воду.

Отже, при постійній подачі кисню через воду з низьким мікробним забрудненням активніше перебігає процес нагромадження клітин, порівняно з їх відмиранням, а при збільшенні мікробного забруднення до двох порядків активніше перебігає процес відмирання клітин.

Висновки

Показано вплив концентрації бактеріальних клітин на процес їх життєздатності в умовах барботування кисню. Експериментально виявлено, що дія кисню на аероби веде до збільшення їх чисельності у воді на початку процесу, однак тривале і постійне барбо-

тування кисню через бактеріальну водну систему зі швидкістю 0,2 см³/с веде до їх відмирання. Таким чином, здійснені дослідження дозволили виявити та описати процеси нагромадження та зменшення у воді мікробного числа за умов доступу кисню.

Конфлікт інтересів

Автор заявляє, що конфлікту інтересів щодо публікації цього рукопису немає. Крім того, автор повністю дотримувався етичних норм, включаючи плагиат, фальсифікацію даних та подвійну публікацію.

Література

1. Блажко А. П. Гідрохімічний режим та екологічний стан поверхневих вод в басейні річки Когильник Одеської області. *Вісник Одеського національного морського університету*. 2018. Т. 54. №1. С. 106-120.
2. Кравченко М. В. Фізико-хімічний аналіз природної питної води різних джерел водопостачання. *Екологічна безпека та природокористування*. 2015. Т. 19. № 3. С. 52-60. URL: <http://es-journal.in.ua/issue/viewIssue/9691/4237>
3. Ashbolt N. J. Microbial contamination of drinking water and human health from community water systems. *Curr. Environ. Health Rep.* 2015. Vol. 2. No 1. P. 95-106. URL: <https://doi.org/10.1007/s40572-014-0037-5>
4. Kong, Y., Peng, Y., Zhang, Zh. Removal of *Microcystis aeruginosa* by ultrasound: Inactivation mechanism and release of algal organic matter. *Ultrasonics Sonochem.*, 2019. Vol. 56. P. 447-457. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.04.017>
5. Park, J., Son, Y., Lee W. H. Variation of efficiencies and limits of ultrasonication for practical algal bloom control in fields. *Ultrasonics Sonochem.*, 2019. Vol. 55. P. 8-17. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.03.007>
6. Dirisu G. B., Okonkwo U. C., Okokpuije I. P., Fayomi S. I. Comparative analysis of the effectiveness of reverse osmosis and ultraviolet radiation of water treatment. *Journal of Ecological Engineering*. 2019. Vol. 20. No. 1. P. 61-75. URL: <https://doi.org/10.12911/22998993/93978>
7. Marois-Fiset J.-T., Carabin A., Lavoie A. and Dorea C. C. Effects of temperature and ph on reduction of bacteria in a point-of-use drinking water treatment product for emergency relief. *Appl Environ Microbiol.* 2013. Vol. 79. No. 6. P. 2107-2109. URL: <https://doi.org/10.1128/AEM.03696-12>
8. Іванченко Л. В., Кожухар В. Я., Брем В. В. Хімія і технологія води : навч. посіб. Одеса : Екологія, 2017. 208 с.
9. Shin G.-A., Sobsey M. D. Inactivation of norovirus by chlorine disinfection of water. *Water Research*. 2008. Vol. 42. No. 17. P. 4562-4568. URL: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.08.001>
10. Mohsen I. H., Mohsen A. H., Zaidan H. K. Health effects of chlorinated water: a review article. *Pac. J. Biotechnol.* 2019. Vol. 16. No. 3. P. 163-167. URL: <http://doi.org/10.34016/pjbt.2019.16.3.24>
11. Wei C., Zhang F., Hu Y., Feng C., Wu H. Ozonation in water treatment: The generation, basic properties of ozone and its practical application. *Reviews in Chemical Engineering*. 2017. Vol. 33. No. 1. P. 302-315. URL: [10.1515/revce-2016-0008](https://doi.org/10.1515/revce-2016-0008)
12. Андронов В. А., Макаров Є. О., Данченко Ю. М., Обіженко Т. М. Дослідження закономірностей формування та хімічного складу стічних вод молокопереробного підприємства. *Науково-технічний журнал «Техногенно-екологічна безпека»*. 2020. Т. 7. № 1. С. 13-21.
13. Мягченко О. П. Основи екології : навч. посіб. Київ : Центр учбової літератури, 2010. 312 с.

14. Koval I. Z., Kislenco V. N., Starchevskii V. L., Shevchuk L. I. The effect of carbon dioxide on the viability of bacteria of Bacillus and Diplococcus genera. *Journal of Water Chemistry and Technology*. 2012. Vol. 34. No. 2. P. 112-116. URL: <https://doi.org/10.3103/S1063455X12020075>
15. Dai Ch., Xiong F., He R., Zhang W., Ma H. Effects of low-intensity ultrasound on the growth, cell membrane permeability and ethanol tolerance of Saccharomyces cerevisiae. *Ultrasonics Sonochem.* 2017. Vol. 36. P. 191-197. URL: <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.11.035>
16. Koval I., Starchevskyy V. Gas nature effect on the destruction of various microorganisms under cavitation action. *Chemistry & Chemical Technology*. 2020. Vol. 14. No. 2. P. 264-271. URL: <https://doi.org/10.23939/chcht14.02.264>
17. Koval I. Вплив кисню та вуглекислого газу на очищення води від бактерій та дріжджів в кавітаційних умовах. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна серія «Екологія»*. 2020. № 22. С. 75-82. URL: <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2020-22-07>

References

1. Blazhko, A. P. (2018). Hydrochemical regime and ecological status of surface waters in the Kohylnyk river basin of Odesa region. *Visnyk of Odessa Maritime National University*, 54(1), 106-120. (In Ukrainian)
2. Kravchenko, M. V. (2015). Physico-chemical analysis of natural drinking water from different sources of water supply. *Ecological safety and nature management*, 19(3), 52-60. Retrieved from <http://es-journal.in.ua/issue/viewIssue/9691/4237> (In Ukrainian)
3. Ashbolt, N. J. (2015). Microbial contamination of drinking water and human health from community water systems. *Curr. Environ. Health Rep.*, 2(1), 95-106. <https://doi.org/10.1007/s40572-014-0037-5>
4. Kong, Y., Peng, Y. & Zhang Zh. (2019). Removal of Microcystis aeruginosa by ultrasound: Inactivation mechanism and release of algal organic matter. *Ultrasonics Sonochem.*, 56, 447-457. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.04.017>
5. 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, 8-17. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.03.007>
6. Dirisu, G. B., Okonkwo, U. C., Okokpujie, I. P. & Fayomi, S. I. (2019). Comparative analysis of the effectiveness of reverse osmosis and ultraviolet radiation of water treatment. *Journal of Ecological Engineering*, 20(1), 61-75. <https://doi.org/10.12911/22998993/93978>
7. Marois-Fiset, J.-T., Carabin, A., Lavoie, A. & Dorea, C. C. (2013). Effects of temperature and ph on reduction of bacteria in a point-of-use drinking water treatment product for emergency relief. *Appl Environ Microbiol.*, 79(6), 2107-2109. <https://doi.org/10.1128/AEM.03696-12>
8. Ivanchenko, L. V., Kozhukhar, V. YA. & Brem, V. V. (2017). Chemistry and water technology. Odessa : Ecology. (In Ukrainian)
9. Shin, G.-A. & Sobsey, M. D. (2008). Inactivation of norovirus by chlorine disinfection of water. *Water Research.*, 42(17), 4562-4568. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.08.001>
10. Mohsen, I. H., Mohsen, A. H. & Zaidan, H. K. (2019). Health effects of chlorinated water: a review article. *Pac. J. Biotechnol.*, 16(3), 163-167. <http://doi.org/10.34016/pjbt.2019.16.3.24>
11. Wei, C., Zhang, F., Hu, Y., Feng, C. & Wu, H. (2017). Ozonation in water treatment: The generation, basic properties of ozone and its practical application. *Reviews in Chemical Engineering*, 33(1), 302-315. <https://doi.org/10.1515/revce-2016-0008>
12. Andronov, V., Makarov, Ye., Danchenko, Yu. & Obigenko, T. (2020). Research of the regularities of forming and chemical composition of sewage water of a dairy processing company. *Scientific and technical journal «Technogenic and Ecological Safety»*, 7(1), 13-21. (In Ukrainian)
13. Myahchenko, O. P. (2010). Fundamentals of ecology. Kyiv: Center for Educational Literature. (In Ukrainian)
14. Koval, I. Z., Kislenco, V. N., Starchevskii, V. L. & Shevchuk, L. I. (2012). The effect of carbon dioxide on the viability of bacteria of Bacillus and Diplococcus genera. *Journal of Water Chemistry and Technology*, 34(2), 112-116. <https://doi.org/10.3103/S1063455X12020075>
15. 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, 191-197. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.11.035>
16. Koval, I. & Starchevskyy, V. (2020). Gas nature effect on the destruction of various microorganisms under cavitation action. *Chemistry & Chemical Technology*, 14(2), 264-271. <https://doi.org/10.23939/chcht14.02.264>
17. Koval, I. (2020). Influence of oxygen and carbon dioxide on water purification from bacteria and yeast under cavitation conditions. *Visnyk of V. N. Karazin Kharkiv National University series «Ecology»*, 22, 75-82. <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2020-22-07> (In Ukrainian)

Надійшла: 24.09.2020

Прийнята: 20.10.2020