

УДК 541.182:537

ИССЛЕДОВАНИЕ ОЧИСТКИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЕЙ С ПОМОЩЬЮ МЕТАЛЛОКЕРАМИЧЕСКИХ ФИЛЬТРОВ С ИЗМЕНЯЕМОЙ ЗНАКОМ И ВЕЛИЧИНОЙ ЗАРЯДА ПОВЕРХНОСТИ**В. А. Шабловский¹, А. В. Тучковская¹, В. Н. Беляков², С. Л. Василюк²**

1 - Научно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского Национального Университета, г. Минск, Беларусь

2 - Институт общей и неорганической химии им. В.И.Вернадского, г. Киев, Украина
e-mail: shablovski@bsu.by

*В работе для изучения влияния структурных и электрохимических параметров металлокерамических фильтров на основе металлического титана в качестве объектов были выбраны культуры бактерий *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis*, а также дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae*.*

Установлено, что процесс электрофильтрации протекает при небольших значениях разности потенциалов на пористой металлокерамической мембране и противоэлектроде (-1,5 В). При разности потенциалов на электродах ниже 1,8 В протекает процесс электрофильтрации с интенсивным осаждением бактериальных клеток на фильтре, при разности потенциалов выше 1,8 В начинается процесс электролиза воды, сопровождающийся выделением атомарного кислорода на аноде и, вследствие этого, стерилизацией водного коллоидно-дисперсного раствора микроорганизмов.

Установлено также, что грамположительные бактерии фильтруются лучше грамотрицательных. Все микроорганизмы хорошо отделяются от жидкости, однако живые клетки удерживаются лучше мертвых, подвижные - лучше неподвижных, палочковидные - лучше сферических.

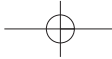
*Ключевые слова: микробиологические жидкости, металлокерамические фильтры, электрофильтрация, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*.*

Вступление

В настоящее время для фильтрационной очистки водных систем в основном используются полупроницаемые мембраны на основе синтетических органических полимеров [1,2], которые наряду с положительными характеристиками имеют ограничения, препятствующие их использованию в ряде технологических процессов. Прежде всего, это очистка жидкостей, в том числе воды, холодная стерилизация водных биологических коллоидно-дисперсных систем, концентрирование ценных компонентов в пищевой, микробиологической, фармацевтической промышленности.

Ограничения связаны преимущественно с низкой механической прочностью указанных материалов, низкой химической и термической устойчивостью и их склонностью к окислительной деструкции, что очень затрудняет фильтрацию вязких и загущенных сред.

Как правило, мелкодисперсные коллоидные образования органического и неорганического происхождения в водных и водно-органических средах имеют определенный заряд. Логичным является создание методов разделения или очистки таких систем с использованием фильтров, имеющих электрический потенциал, который можно изменять по величине и знаку и, тем самым, задавать оптимальный режим разделения. Полимерные мембраны, даже имеющие поверхностный заряд, не позволяют осуществить это в полной мере. Используя токопроводящие фильтры, в том числе с нанесенными на них сорбционно-активными неорганическими полимерами, можно, с одной стороны, просто и прогнозируемо менять электрический потенциал поверхности фильтра, а с другой - регулировать размер пор предлагаемых фильтров путем химического и электрохимического осаждения на их поверхности металлов или соединений. В этом случае можно увеличить производительность фильтрующих установок с сохранением параметров разделения. В



данном случае разделение достигается не за счет геометрической разницы размеров отфильтровываемого целевого компонента и пор фильтра, а в результате управляемого электростатического воздействия, значительно увеличивающего разделительные свойства.

Важным преимуществом металлокерамических фильтров с изменяемым знаком и величиной заряда поверхности является возможность их быстрой, эффективной, практически полной безреагентной регенерации путем смены знака заряда поляризации электродов на обратный.

В биологических суспензиях химическая природа и заряд частиц предопределимы. Теоретически их поверхностный заряд можно изменить путем смещения изоэлектрической точки, но в большинстве случаев это не приемлемо по техническим причинам.

Как известно, коллоидные частицы, в том числе биологического происхождения, при значении pH, близкому к нейтральной среде, имеют отрицательный заряд, также как и мембраны на основе органических полимеров [3]. По этой причине при прохождении фильтруемой среды через такие мембраны имеет место электростатическое отталкивание между коллоидными частицами и поверхностью мембраны. Попытки придать поверхности полимерных мембран положительный заряд резко увеличивают их стоимость, а известные методы изменения знака поверхности не являются универсальными.

Металлокерамические фильтры с размерами пор 0,5-100 мкм могут использоваться в процессах фильтрации и микрофильтрации. Если исходить из классификации мембранных фильтров по принципу задержания частиц определенного размера или массы, то возможности металлокерамических фильтров с регулируемым знаком и величиной заряда становятся шире, и в некоторых технологических областях они могут составить конкуренцию микро- и ультрафильтрационным полимерным мембранам.

Также имеется возможность регулировать с помощью токопроводящей подложки изоэлектрическую точку нанесенных на нее неорганических сорбентов и, тем самым, менять их сорбционную емкость и селективность в различных областях pH, а также генерировать в трехфазной системе «металлическая подложка - протонированный сорбент - раствор» ионы H^+ и OH^- , которые могут изменять поверхностные характеристики дисперсионной среды и, тем самым, улучшать фильтрационные характеристики предлагаемых материалов. Это особенно важно для биологических жидкостей, когда с помощью химических реагентов невозможно изменять кислотность и ионную силу растворов.

Важным преимуществом предлагаемых фильтрующих материалов является не только их безреагентная регенерация при промывке с приложением обратного потенциала, но и возможность автоматизации данного процесса, не требующего вскрытия или разборки фильтрационного аппарата.

Кроме того, вследствие наложения электрического потенциала дальность действия электрического поля предлагаемых фильтров больше, чем при физической адсорбции. Вследствие этого возможно нивелировать отрицательный эффект разброса величин пор по размерам, что может привести к созданию абсолютных стерилизующих фильтров [4].

На основании изложенной концепции в НИИ ФХП БГУ был разработан ассортимент металлокерамических фильтров [5] с изменяющимся знаком и величиной заряда поверхности, а также исследовано влияние этих параметров на очистку микробиологических жидкостей.

Объекты и методы исследований

Эффективность использования пористых металлокерамических мембран на основе титана была апробирована при изучении осветления растворов концентратов фруктовых (яблочного) соков, а также для разделения водно-угольной коллоидно-дисперсной (размер частиц - 5-10 мкм) системы.

При осветлении раствора концентрата яблочного сока максимальная степень очистки, контролируемая по электропроводности фильтрата, наблюдалась при напряженности поля между фильтром с размером пор 100 мкм и противозлектродом +2,0 В/см и -1,0 В/см и



зависела от скорости протекания фильтруемого раствора. Оценочная производительность такого пористого фильтра составила $0,14 \text{ м}^3/\text{м}^2/\text{мин}$ при напряженности поля $+2,0 \text{ В/см}$ и $0,16 \text{ м}^3/\text{м}^2/\text{мин}$ при $-1,0 \text{ В/см}$ и давлении $\sim 2\text{-}5 \text{ кПа}$.

Оптимизация режима разделения дисперсной фазы (угля) от дисперсионной среды (вода) наблюдалась также как при положительном, так и при отрицательном потенциале на фильтрующей титановой мембране с размером пор 40 мкм . Степень очистки системы вода - уголь с концентрацией 1% составила $- 99 \%$ при оптимальных режимах электрофильтрации $+1,2 \text{ В/см}$ и $-0,3 \text{ В/см}$ и производительности $0,05 \text{ м}^3/\text{м}^2/\text{мин}$ и $0,06 \text{ м}^3/\text{м}^2/\text{мин}$ соответственно.

Для изучения влияния структурных и электрохимических параметров фильтров в качестве объектов были выбраны культуры бактерий *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis*, а также дрожжевые клетки *Saccharomyces cerevisiae*.

Культивирование бактерий производили на полноценных питательных средах на основе аминокислотного бульона (АМПБ) и плотных питательных средах на основе АМПБ с добавлением агар-агара с концентрацией $1,5\%$, а культивирование дрожжей - на полноценных питательных средах Сабуро и плотных питательных средах Сабуро с добавлением агар-агара с концентрацией $1,5 \%$.

Для серийных разведений микроорганизмов использовали стерильный физиологический раствор ($0,9 \%$ NaCl в дистиллированной воде). Все среды и растворы стерилизовали методом паровоздушного автоклавирования.

Определение числа живых клеток микроорганизмов проводилось путем подсчета числа колоний, образуемых жизнеспособными клетками в благоприятных для роста условиях.

Получение суспензии микроорганизмов для эксперимента осуществляли следующим путем: бактерии пересевали бактериальной петлей в 5 мл АМПБ и на сутки помещали в термостат при температуре $37 \text{ }^\circ\text{C}$ (*E. coli*) и $28 \text{ }^\circ\text{C}$ (*B. subtilis*). Затем суспензию бактерий разводили свежим стерильным АМПБ в отношении $1:10$ в необходимом количестве и инкубировали при температуре $37 \text{ }^\circ\text{C}$ (*E. coli*) и $28 \text{ }^\circ\text{C}$ (*B. subtilis*) с аэрацией в течение 2 ч , после этого бактерии осаждали центрифугированием и ресуспензировали исходным объемом физиологического раствора.

Для проведения эксперимента сохраняемую культуру дрожжей ресуспензировали в 20 мл жидкой среды Сабуро и инкубировали в термостате при температуре $24 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение $4\text{-}5$ суток.

Концентрацию бактериальной и дрожжевой суспензий определяли фотокориметрически по предварительно построенной калибровочной кривой и разбавляли до необходимой величины $(2\text{-}4) \cdot 10^3 \text{ кл/мл}$.

Электрофильтрационные процессы исследовались в циркуляционном режиме при фронтальном прохождении фильтруемого раствора через систему «титановый фильтр - противоэлектрод».

Электрофильтрацию проводили на титановых мембранах с определенным диаметром пор. Характеристики мембран указаны в [5]. Установка представляла собой металлический корпус, внутри которого помещались изолированные мембрана и сетка из нержавеющей стали (противоэлектрод для фильтра). На них от источника стабилизированного питания Б5-44 подавалось напряжение. Величина тока определялась по комбинированному прибору Ф-4372, разность потенциалов на электродах - параллельно включенным в электрическую схему цифровым вольтметром Щ-4313. В системе создавалось разряжение за счет подключения перистальтического насоса, с помощью которого исследуемый объем подвергался циркуляции через систему металлокерамическая мембрана - противоэлектрод. Таким образом задавалась необходимая скорость прохождения исследуемой жидкости через мембрану. Отсчет начала электрофильтрации производился после установки необходимого потенциала стабилизатором напряжения и подачи в систему исходного раствора. Для исследования эффективности процесса отбирали пробы через определенные промежутки времени. Очистку мембраны осуществляли промывкой системы горячей дистиллированной водой при обратном потенциале. Стерильность мембраны контролировали путем ее помещения в соответствующую код-среду, реагирующую на присутствие даже одной живой

клетки микроорганизма. Для исследования бактериальной и дрожжевой суспензии использовали титановую мембрану пористостью 37,0 % и средним диаметром пор 100 мкм.

Результаты и их обсуждение

Экспериментальные результаты зависимости концентрации различных видов бактерий от величины напряженности поля и времени циркуляции приведены на рис. 1 (рабочая площадь фильтра - 2,5 см).

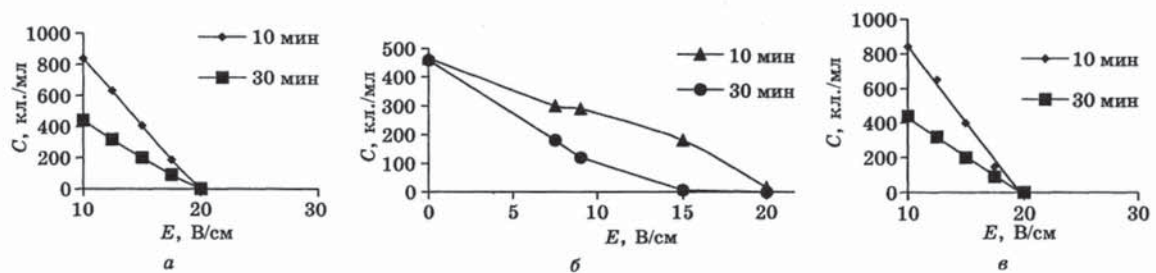


Рис.1. Зависимость концентрации клеток *E.coli* (а), *B.subtilis* (б) и *V. sereviciae* (в) от величины напряженности поля при разном (10 мин, 30 мин) времени циркуляции пробы (100 мл).

Характерной особенностью исследуемого процесса электрофильтрации является то, что он протекает при небольших (~1,5 В) значениях разности потенциалов на пористой металлокерамической мембране и противоэлектроде. Высокие значения напряженности поля достигаются за счет небольшого расстояния между электродами. При разности потенциалов на электродах выше 1,8 В начинается процесс электролиза воды, сопровождающийся выделением атомарного кислорода на аноде и стерилизацией водного коллоидно-дисперсного раствора микроорганизмов. Это наглядно видно из экспериментальных данных, представленных на рис. 2.

При отсутствии потенциала на фильтре наблюдается полный пропуск бактериальных клеток. Характерно, что на фильтрах с минимальным (40 мкм) размером пор удержание бактерий более эффективное, чем на фильтре с диаметром пор 100 мкм (рис. 3). Однако фильтр с диаметром пор 40 мкм забивается за очень короткий промежуток времени, что затрудняет его применение для изучения процесса электрофильтрации.

Полученные зависимости концентраций суспензий от величины напряженности поля, времени циркуляции пробы позволяют оптимизировать процесс освобождения жидкости от микроорганизмов. Эффективность электроудерживания в случае чистой культуры микроорганизмов существенно зависит от величины напряженности поля на начальных стадиях фильтрации. Можно выделить наличие двух зон: в первой протекает процесс электрофильтрации с интенсивным осаждением бактериальных клеток на фильтр, во второй - процесс электрофильтрации сопровождается процессом обеззараживания. Примерной зоной раздела является величина напряжения электрического поля, равная 1,8 В, соответствующая началу электролиза водного коллоидно-дисперсного раствора микроорганизмов.

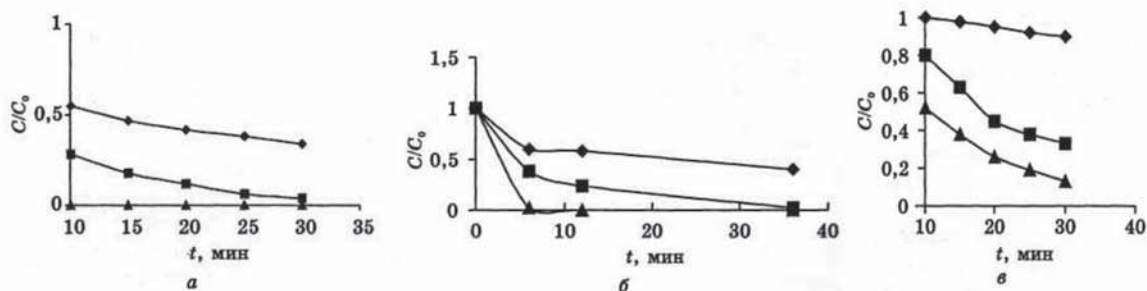


Рис. 2. Зависимость концентрации клеток *E.coli* (а), *B.subtilis* (б) и *V. sereviciae* (в) от времени циркуляции пробы (100 мл) при различных значениях величины напряженности поля:

◆ - 10 В/см, ■ - 15 В/см, ▲ - 20 В/см.

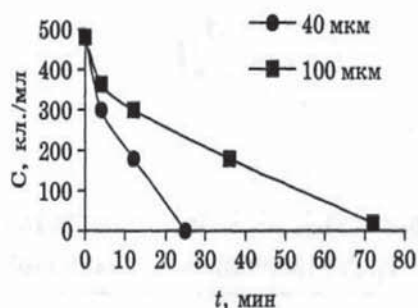


Рис. 3. Зависимость концентрации живых клеток *V.subtilis* в фильтрате от времени циркуляции пробы (100 мл) на фильтрах со средним диаметром пор 40 и 100 мкм, $E = 9$ В/см.

Выводы

В процессе эксперимента были выявлены следующие общие закономерности: грамположительные бактерии фильтруются лучше грамотрицательных, микроорганизмы хорошо отделяются от жидкости, однако живые клетки удерживаются лучше мертвых, убитых в автоклаве, подвижные - лучше неподвижных, палочковидные - лучше сферических.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать вывод, что предлагаемый метод фильтрации позволяет при достаточно высокой производительности эффективно очищать или стерилизовать микробиологические жидкости, содержащие бактерии или дрожжи.

ДОСЛІДЖЕННЯ ОЧИСТКИ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ РІДИН ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТАЛОКЕРАМІЧНИХ ФІЛЬТРІВ ЗІ ЗМІННИМИ ЗНАКОМ І ВЕЛИЧИНОЮ ЗАРЯДУ ПОВЕРХНІ

В. О. Шабловський¹, А. В. Тучковська¹, В. М. Бєляков², С. Л. Василюк²

¹ - Науково-дослідний інститут фізико-хімічних проблем Білоруського Національного Університету, м. Мінськ, Білорусія

² - Інститут загальної та неорганічної хімії ім. В. І. Вернадського, м. Київ, Україна

e-mail: shablovski@bsu.by

*У роботі для вивчення впливу структурних та електрохімічних параметрів металокерамічних фільтрів на основі металевого титану в якості об'єктів були обрані культури бактерій *Escherichia coli* і *Bacillus subtilis*, а також дріжджові клітини*

Saccharomyces cerevisiae.

Встановлено, що процес електрофільтрації протікає при невеликих значеннях різниці потенціалів на пористій металокерамічній мембрані і протиелектроді (- 1,5 В). При різниці потенціалів на електродах нижче 1,8 В протікає процес електрофільтрації з інтенсивним осадженням бактеріальних клітин на фільтрі, при різниці потенціалів вище 1,8 В починається процес електролізу води, що супроводжується виділенням атомарного кисню на аноді і внаслідок цього стерилізацією водного колоїдно-дисперсного розчину мікроорганізмів.

Встановлено також, що грамозитивні бактерії фільтруються краще грамнегативних. Всі мікроорганізми добре відділяються від рідини, проте живі клітини утримуються краще мертвих, рухливі - краще нерухомих, паличкоподібні - краще сферичних.

Ключові слова: мікробіологічні рідини, металокерамічні фільтри, електрофільтрація, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*.

TREATING MICROBIOLOGICAL FLUIDS WITH METAL FILTERS, CHARACTERIZED BY VARIABLE SIGN AND MAGNITUDE CHARGE OF SURFACE

V. A. Shablovski¹, A. V. Tuchkovskaya¹, V.N. Belyakov², S.L. Vasilyuk²

1 - Research Institute for Physical-Chemical Problems of the Belarusian State University, Minsk, Belarus

2 - Vernadsky Institute of general and inorganic chemistry NAS Ukraine, Kiev, Ukraine

e-mail: shablovski@bsu.by

*In the paper, to study the effect of structural and electrochemical parameters of metal-ceramic filters based on titanium as the objects were selected cultures of bacteria *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*, and yeast cells *Saccharomyces cerevisiae*.*

It was found that the electrofiltration process proceeds at small values of potential difference on the porous metal-ceramic membrane and the counter electrode (-1.5 V). When the potential difference <1.8 V - takes place electrofiltration process with intensive sedimentation of bacterial cells to filter, when a potential difference >1.8 V begins the electrolysis of water, accompanied by anode deposition of atomic oxygen and thereby sterilized aqueous colloid-disperse solution of microorganisms.

We had found that Gram-positive bacteria are filtered better than Gram-negative. All microorganisms are separated from the liquid well, but living cells keep better than dead, mobile keep better than immobile, rodlike bacterium - better than spherical.

*Key words: microbiological fluids, metal-ceramic filters, electrofiltration, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*.*

Список литературы:

1. Дытнерский Ю. И. Обратный осмос и ультрафильтрация / Дытнерский Ю. И. – М. – 1978. – 251 с.
2. Хвант С. Т., Каммермейер И. Н. Мембранные процессы разделения / Под ред. Ю. И. Дытнерского.- М., -1981. 464 с.
3. Брык М. Т., Цапюк Е. А. Ультрафильтрация. Киев, 1989. 288 с.
4. Дзяцько Ю.С., Беяков В.Н., Стефаняк Н.С., Василюк С.Н. Зарядселективные свойств неорганических композиционных мембран // УкрХим журнал.- 2006.- Т.72, № 5-6, С 26-31.
5. Шабловский В. О., Полуян А. Ф., Пилинович Л. П., Анащенко М. П. Исследование сорбционных свойств микрофильтров титан – фосфат титана. // Порошковая металлургия: Респ. межвуз. сб. научн. тр.- 2002.- Вып. 25, С. 113-116.