

УДК 638.15-085

UDC 638.15-085

**ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ ПАРАМЕТРОВ
ЭЛЕКТРООЗОНИРОВАНИЯ НА
ВЫЖИВАЕМОСТЬ ТЕСТ-
МИКРООРГАНИЗМОВ****RESEARCH OF THE INFLUENCE OF THE
PARAMETERS OF ELECTRIC OZONIZATION
ON THE SURVIVAL OF MICROORGANISMS**

Николаенко Сергей Анатольевич
к.т.н., доцент кафедры электрических машин и
электропривода
*Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия*

Nikolaenko Sergey Anatolyevich
Cand.Tech.Sci., associate professor, the Department of
Electrical Machines and Drives
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

Цокур Дмитрий Сергеевич
к.т.н., ассистент кафедры электрических машин и
электропривода
*Кубанский государственный аграрный
университет, Краснодар, Россия*

Tsokur Dmitry Sergeevich
Cand.Tech.Sci., assistant of the Department of
Electrical Machines and Drives
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

В статье представлены: результаты
экспериментальных исследований влияния
параметров озонирования на *Escherichia coli* и
Staphylococcus aureus, оптимальные параметры
озонирования улья по критерию минимальной
энергоёмкости обработки

The article presents: the results of experimental studies
of the influence of parameters on *Escherichia coli*
ozonation and *Staphylococcus aureus*, the optimal
parameters of ozonation have on the criterion of
minimum energy intensity of the treatment

Ключевые слова: ОЗОН, *ESCHERICHIA COLI*,
STAPHYLOCOCCUS AUREUS, МИНИМАЛЬНАЯ
ЭНЕРГОЕМКОСТЬ

Keywords: OZONE, *ESCHERICHIA COLI*,
STAPHYLOCOCCUS AUREUS, LESS ENERGY
INTENSIVE

Для разработки электроозонатора для лечения болезней пчел необходимо определить рациональные параметры озонирования, которые являются основой для алгоритма функционирования системы озонирования [3, 4]. Определение рациональных параметров производилось на базе экспериментальных исследований.

Из таблицы 1 видно, что озон в концентрации 25 мг/м³ при минимальной экспозиции (7 мин) инактивирует в среднем 35% кишечной палочки. При увеличении продолжительности воздействия озона при этой же концентрации количество жизнеспособных бактериальных клеток уменьшается еще в большей степени. Так после 30-минутной обработки погибло 80% клеток *Escherichia coli*. При воздействии озона в течение 120 минут 4% клеток *Escherichia coli* сохранило свою жизнеспособность.

При снижении концентрации озона до 12 мг/м³ отметили увеличение времени, требуемого для проявления бактерицидного эффекта, при этом

7% клеток кишечной палочки сохранило свою жизнеспособность даже по истечении экспозиции 120 минут (рисунок 1).

Таблица 1 – Экспериментальные данные влияния параметров озонирования на санитарно-значимые микробиологические объекты

$N=25$	$C_k, \text{мг/м}^3$	$t, \text{мин}$	$E.coli$	$Staf. Aureus$
№	x_1	x_2	y_1	y_2
контроль	0	0	100	100
1.	6	7	89	56
2.	6	15	75	35
3.	6	30	47	15
4.	6	60	39	5
5.	6	120	19	0
6.	12	7	80	45
7.	12	15	61	22
8.	12	30	20	10
9.	12	60	15	0
10.	12	120	7	0
11.	25	7	65	18
12.	25	15	43	4
13.	25	30	10	0
14.	25	60	6	0
15.	25	120	4	0
16.	50	7	7	0
17.	50	15	3	0
18.	50	30	0	0
19.	50	60	0	0
20.	50	120	0	0
21.	100	7	5	0
22.	100	15	4	0
23.	100	30	1	0
24.	100	60	0	0
25.	100	120	0	0

Уменьшение концентрации озона до 6 мг/м^3 сопровождалось большей выживаемостью тест-микроорганизмов. Даже после 60-минутного воздействия оставались жизнеспособными 39% *Escherichia coli*. После 120-минутного воздействия озоном в концентрации 6 мг/м^3 19% *Escherichia coli* оставались жизнеспособными.

Полученные результаты показали, что между концентрацией озона, временем воздействия и выживаемостью тест-бактерий при экспозиции менее 15–30 минут наблюдается практически линейная зависимость, что, скорее всего, связано с активной гибелью низкорезистентных к озону клеток (молодых и находящихся в стадии естественного отмирания).

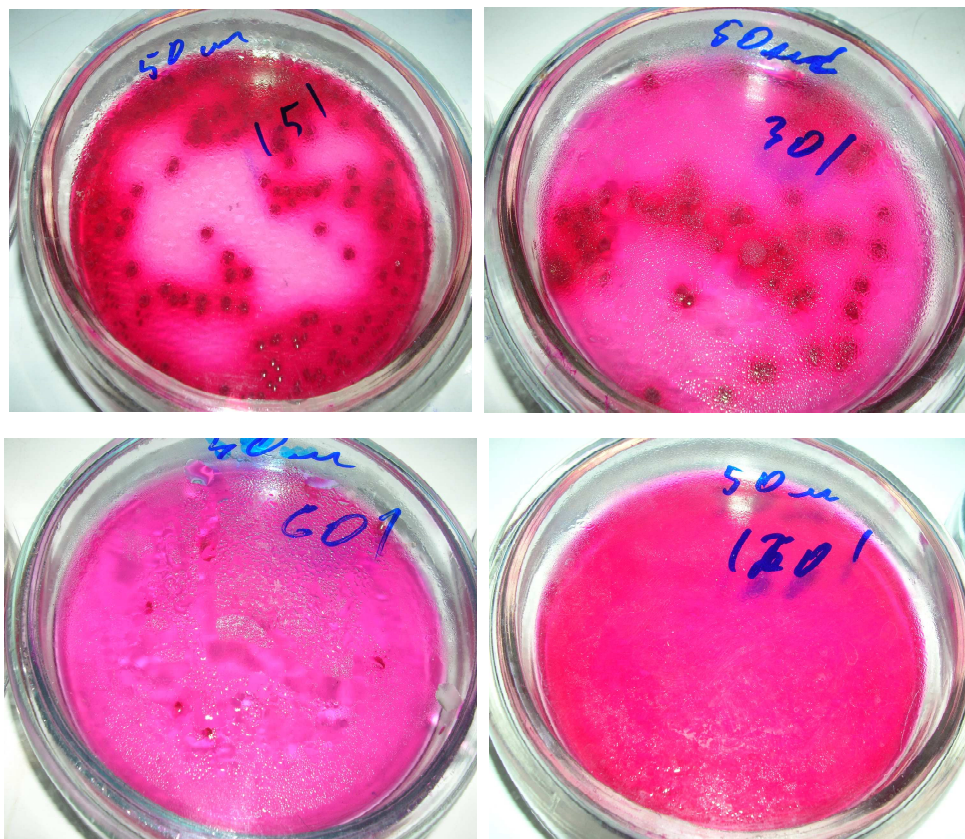
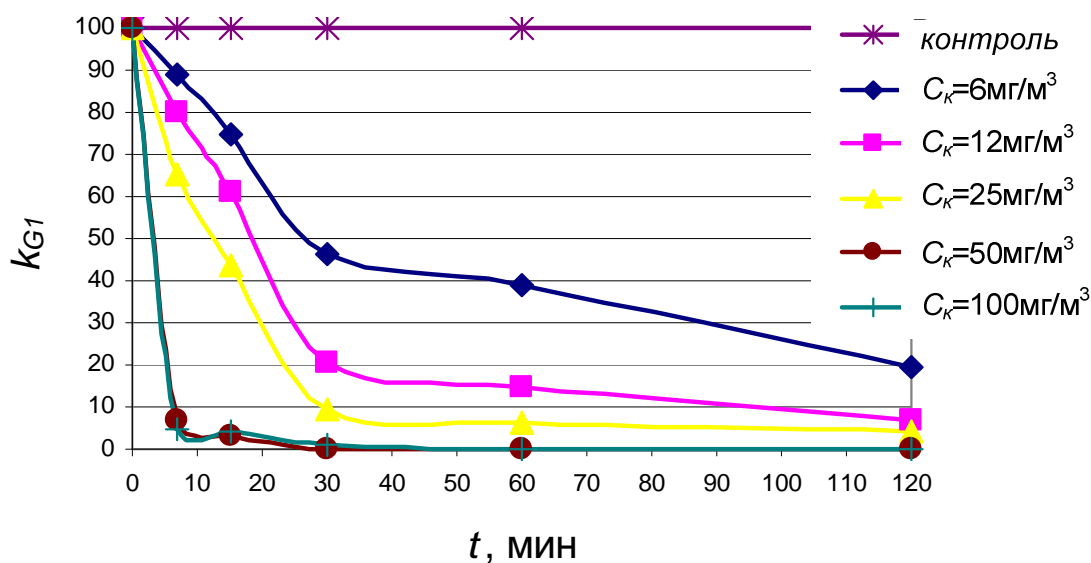


Рисунок 1 – Изображение чашек Петри с посевами тест-бактерий после обработки озоновоздушной смесью с концентрацией озона $50\text{мг}/\text{м}^3$ и экспозициями 15, 30, 60, 120 мин.



Ри

сунк 2 – Диаграмма влияния времени обработки на значение параметра выживаемости *Escherichia coli* при различных значениях концентрации озона.

При использовании озона даже в минимальной концентрации (6 мг/м³) интенсивная гибель бактериальных клеток происходит уже в течение первых 30 минут (рисунок 2).

Однако в дальнейшем инактивация бактерий происходит не столь интенсивно, что по всей вероятности связано с включением у бактерий адаптационных процессов, заключающихся в усилении антиоксидантной системы защиты. Между тем, несмотря на тот факт, что все взятые в опыт тест-микроорганизмы каталазоположительные, а, следовательно, обладают способностью противостоять активным формам кислорода, не все в одинаковой степени оказались устойчивыми к озону. Озон в меньшей степени оказывает воздействие на грамотрицательные бактерии. Из этого следует заключить, что в защите бактериальной клетки от неблагоприятного действия озона участвует не только фермент каталаза, но и другие факторы, в частности, вероятно, непосредственно клеточная стенка, которая у грамположительных микроорганизмов преимущественно состоит из мурамилпептида и тейхоевых кислот, а у грамотрицательных –

из липополисахарида [1].

На базе регрессионного анализа построена математическая модель, описывающая взаимодействие факторов и наблюдаемой величины, представлена в виде уравнения регрессии:

$$y_1 = 101,3 - 2,462x_1 - 2,033x_2 + 0,569x_1x_2 + 1,561x_1^2 + 1,255x_2^2. \quad (1)$$

Уравнение регрессии позволяет оценить степень влияния независимых переменных и их сочетаний на зависимую переменную. Каждый из коэффициентов регрессии в уравнении (1) отражает уровень изменения выживаемости *Escherichia coli* при изменении одного из параметров озонирования на единицу. Коэффициент детерминации составил 88%, что говорит о хорошем качестве построенной модели. Согласно регрессионному анализу наибольшее влияние на выживаемость *Escherichia coli* оказывает концентрация озона x_1 с высоким уровнем значимости $p = 0,000002$. Время обработки x_2 , с уровнем значимости $p = 0,000019$, оказывает незначительно меньшее влияние, чем x_1 .

С позиции дальнейшего применения наибольшую ценность представляет эмпирическая математическая модель, представленная полином второй степени в выражении (2). Даная математическая модель позволяет оценить влияние концентрации озона и времени обработки в абсолютных единицах на выживаемость *Escherichia coli*.

$$y_1 = 101,3 - 2,055x_1 - 1,415x_2 + 0,006x_1x_2 + 0,012x_1^2 + 0,007x_2^2. \quad (2)$$

Анализ экспериментально полученных наблюдаемых значений переменной y_1 и предсказанных регрессионной моделью представлен графически на рисунке 3.

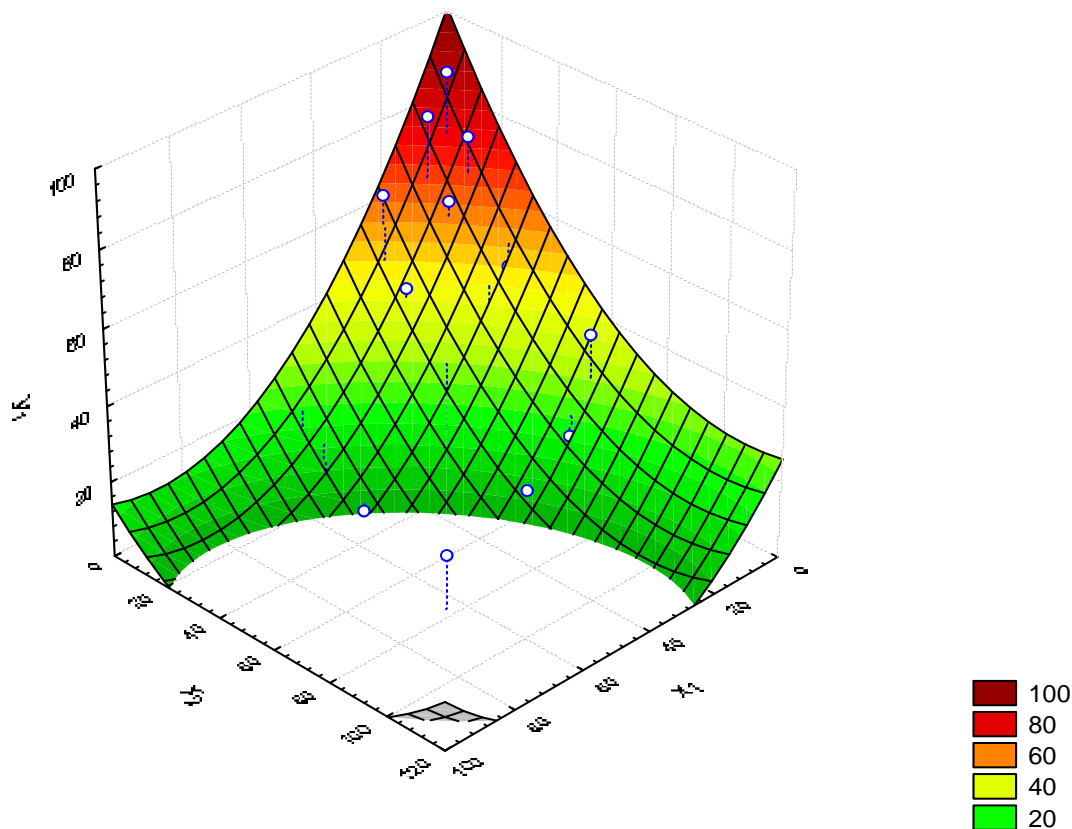


Рисунок 3 – Диаграмма влияния концентрации озона в озоновоздушной смеси, подаваемой в контейнер с чашками Петри, и времени воздействия на значение параметра выживаемости *Escherichia coli*

Диаграмма влияния концентрации озона в озоновоздушной смеси, подаваемой в контейнер с чашками Петри, и времени воздействия на проекцию поля параметра выживаемости *Escherichia coli* представлена рисунком 4.

Полученная математическая модель (2) влияния концентрации озона в озоновоздушной смеси, подаваемой в контейнер с чашками Петри, и времени воздействия на выживаемость *Escherichia coli* обеспечивает достаточно точное прогнозирование результатов воздействия параметров озонирования на зависимую переменную при любых значениях x_1 и x_2 . Модель обосновывает область решений рациональных параметров озонирования для лечения колибактериоза пчел. Из множества вариантов

рациональными параметрами озонирования для уничтожения *Escherichia coli* являются: 1) концентрация озона $C_k = 50 \text{ мг/м}^3$; 2) время воздействия $t = 30 \text{ мин.}$

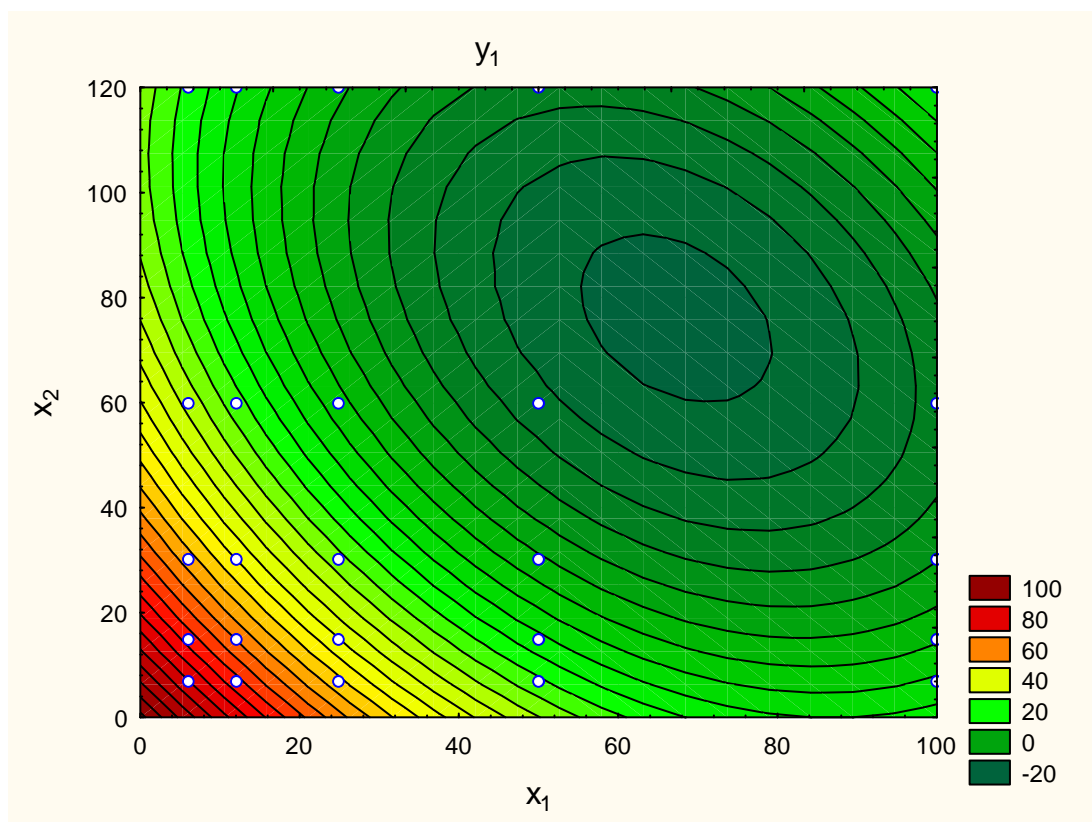


Рисунок 4 – Диаграмма влияния концентрации озона в озоновоздушной смеси, подаваемой в контейнер с чашками Петри, и времени воздействия на проекцию поля параметра выживаемости *Escherichia coli*.

Результаты экспериментальных исследований параметров озонирования на возбудителя *Staphylococcus aureus* показывают, что озон в концентрации 25 мг/м^3 при минимальной экспозиции (7 мин) инактивирует в среднем 82% колониеобразующих клеток. При увеличении продолжительности воздействия озона при этой же концентрации количество жизнеспособных бактериальных клеток уменьшается еще в большей степени. Так после 30-минутной обработки погибли все стафилококки. При снижении концентрации озона до 12 мг/м^3 отмечено увеличение времени, требуемого для проявления бактерицидного эффекта.

Так в отношении золотистого стафилококка бактерицидное действие озона в концентрации 12 мг/м^3 наступало через 60 минут (рисунок 5).

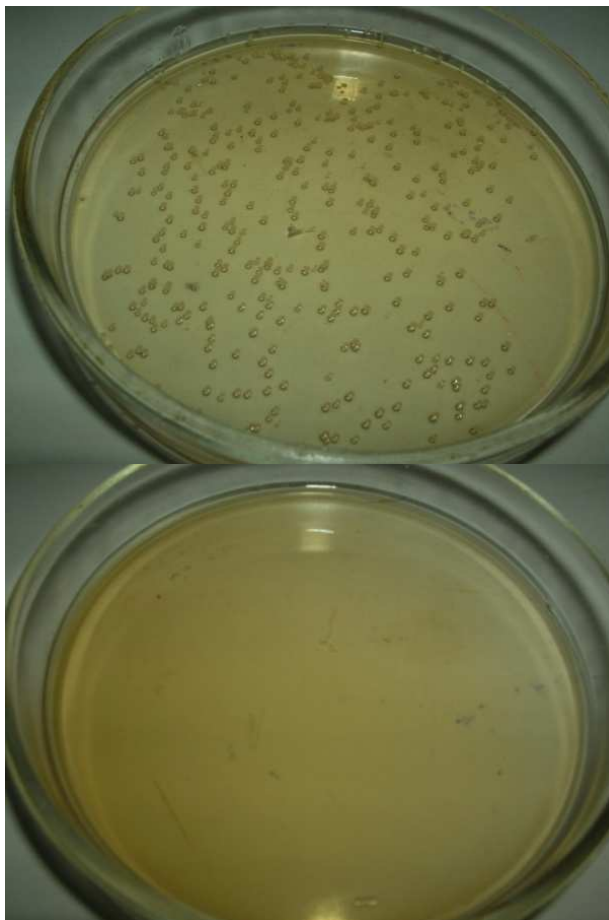


Рисунок 5 – Изображение чашек Петри с посевами тест-бактерий контрольной группы и после обработки озоновоздушной смесью с концентрацией озона 50 мг/м^3 и экспозицией 15 мин.

Уменьшение концентрации озона до 6 мг/м^3 сопровождалось большей выживаемостью тест-микроорганизмов. Даже после 60-минутного воздействия оставались жизнеспособными 5% клеток *S. Aureus*. После 120-минутного воздействия озоном в концентрации 6 мг/м^3 установили полную гибель золотистого стафилококка.

Полученные результаты показали, что между концентрацией озона, временем воздействия и выживаемостью тест-бактерий при экспозиции менее 15–30 минут наблюдается практически линейная зависимость, что,

скорее всего, связано с активной гибелью низкорезистентных к озону клеток (молодых и находящихся в стадии естественного отмирания).

При использовании озона даже в минимальной концентрации (6 мг/м³) интенсивная гибель бактериальных клеток происходит уже в течение первых 30 минут (рисунок 6).

Однако в дальнейшем инактивация бактерий происходит не столь интенсивно, что, по всей вероятности, связано с включением у бактерий адаптационных процессов, заключающихся в усилении антиоксидантной системы защиты.

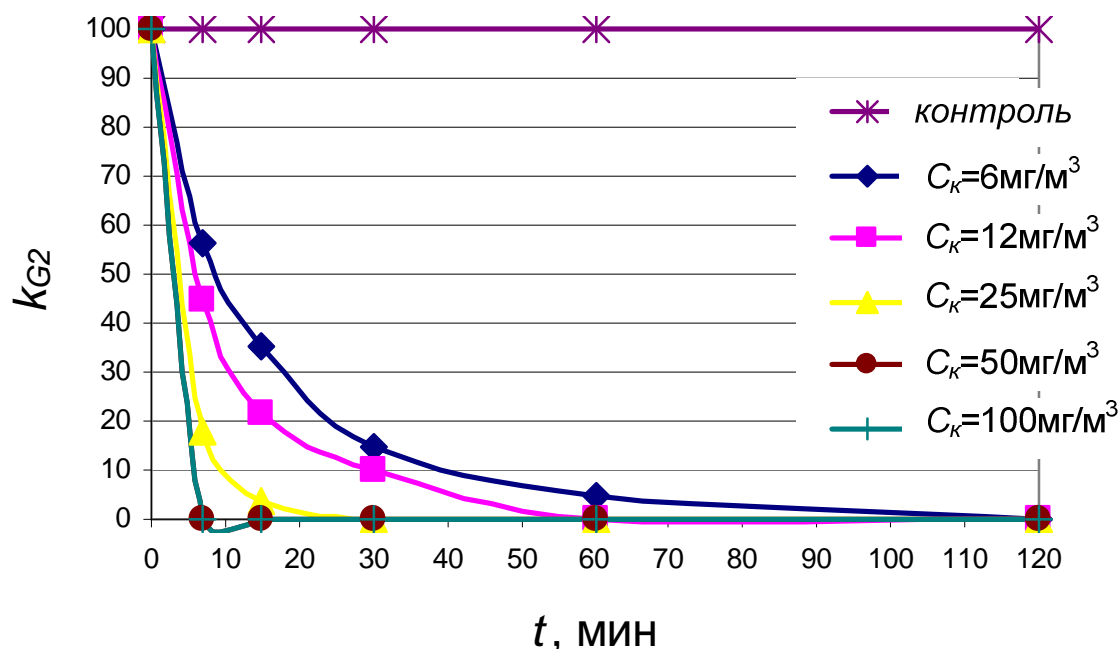


Рисунок 6 – Диаграмма влияния времени обработки на значение параметра выживаемости *Staphylococcus aureus* при различных значениях концентрации озона.

Между тем, несмотря на тот факт, что все взятые в опыт тест-микроорганизмы каталазоположительные, а следовательно, обладают способностью противостоять активным формам кислорода, не все в одинаковой степени оказались устойчивыми к озону. В большей степени

озон оказывал бактерицидное действие на грампозитивные микроорганизмы – золотистый стафилококк и сенную палочку, в меньшей степени на грамотрицательные бактерии – кишечную и синегнойную палочку. Из этого следует заключить, что в защите бактериальной клетки от неблагоприятного действия озона участвует не только фермент каталаза, но и другие факторы, в частности, вероятно, непосредственно клеточная стенка, которая у грамположительных микроорганизмов преимущественно состоит из мурамилпептида и тейхоевых кислот [2].

Произведен регрессионный анализ влияния параметров x_1 и x_2 озонирования на y_2 выживаемость возбудителя *Staphylococcus aureus*.

На базе регрессионного анализа построена математическая модель, описывающая взаимодействие факторов и наблюдаемой величины, представлена в виде уравнения регрессии:

$$y_2 = 48,58 - 2,32x_1 - 2,22x_2 + 0,686x_1x_2 + 1,49x_1^2 + 1,4x_2^2. \quad (3)$$

Полученное уравнение регрессии позволяет оценить степень влияния концентрации озона, подаваемого в контейнер с чашками Петри, времени обработки и их сочетаний на зависимую переменную. Коэффициент детерминации составил 0,75%, что говорит о нормальном качестве построенной модели.

Эмпирическая математическая модель представлена полином второй степени в выражении (4). Даная математическая модель позволяет оценить влияние концентрации озона и времени обработки в абсолютных единицах на выживаемость *Staphylococcus aureus*.

$$y_2 = 48,58 - 1,03x_1 - 0,82x_2 + 0,004x_1x_2 + 0,006x_1^2 + 0,004x_2^2. \quad (4)$$

Анализ экспериментально полученных наблюдаемых значений переменной y_2 и предсказанных регрессионной моделью представлен графически на рисунке 7.

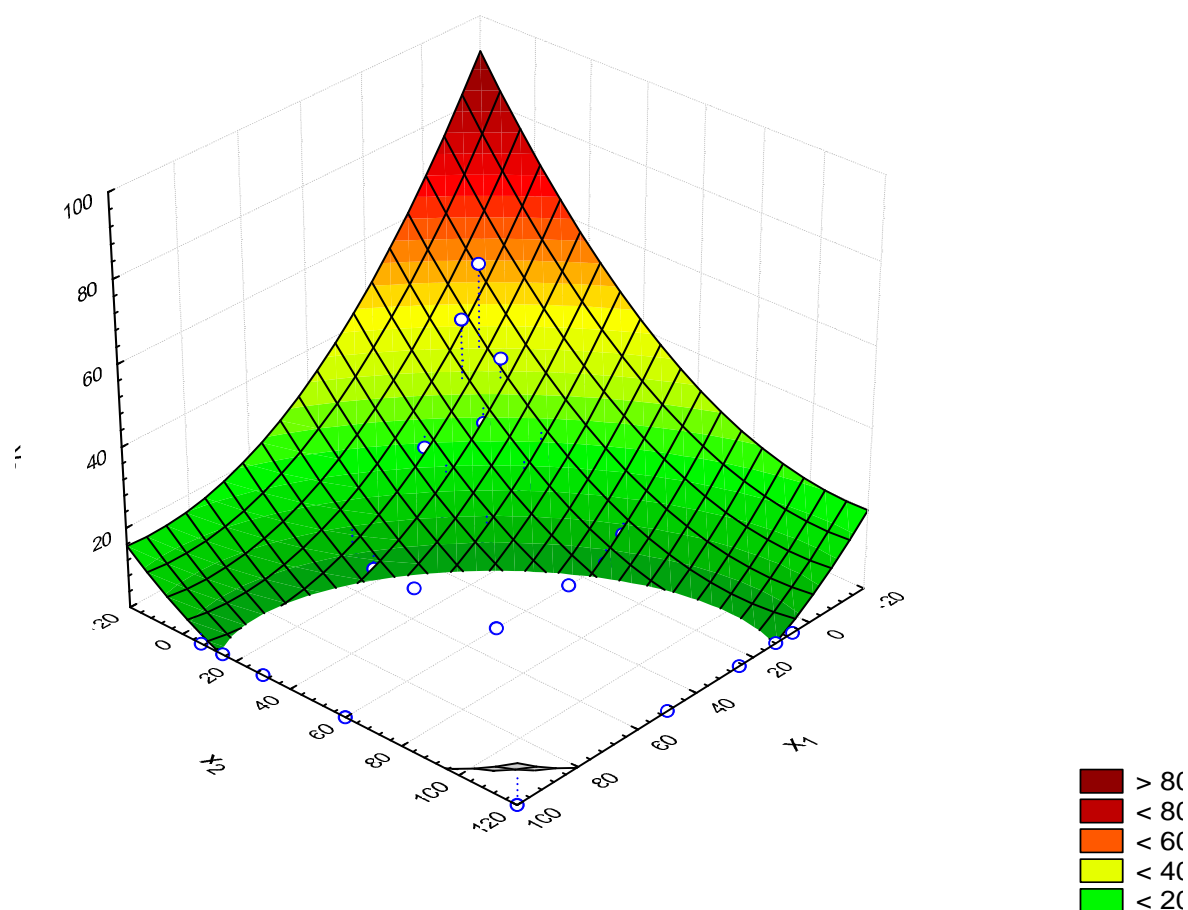


Рисунок 7 – Диаграмма влияния концентрации озона в озоновоздушной смеси, подаваемой в контейнер с чашками Петри, и времени воздействия на значение параметра выживаемости *Staphylococcus aureus*

Полученная математическая модель (4) влияния концентрации озона в озоновоздушной смеси, подаваемой в контейнер с чашками Петри, и времени воздействия на выживаемость *Staphylococcus aureus* обеспечивает достаточно точное прогнозирование результатов воздействия параметров озонирования на зависимую переменную при любых значениях x_1 и x_2 . Модель обосновывает область решений рациональных параметров озонирования для лечения бактериозов пчел. Из множества вариантов рациональными параметрами озонирования для уничтожения *Staphylococcus aureus* являются: 1) концентрация озона $C_k = 50 \text{ мг/м}^3$; 2) время воздействия $t = 30 \text{ мин}$.

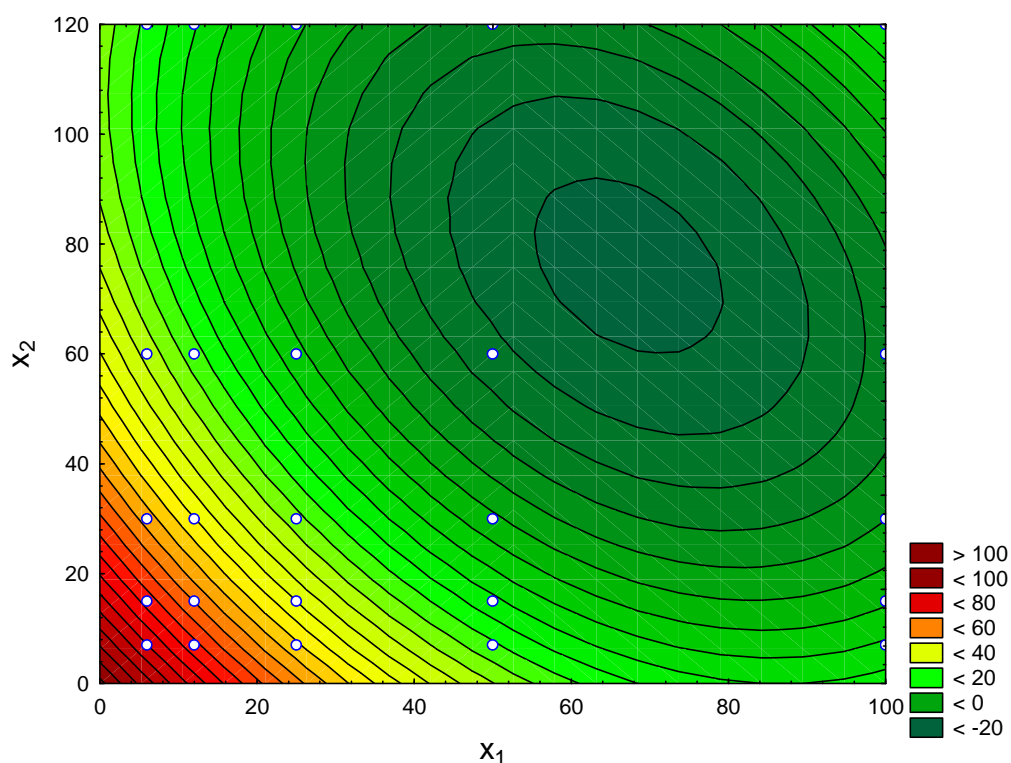


Рисунок 8 – Диаграмма влияния концентрации озона в озоновоздушной смеси, подаваемой в контейнер с чашками Петри, и времени воздействия на проекцию поля параметра выживаемости *Staphylococcus aureus*.

В результате анализа экспериментальных данных определено множество сочетаний концентрации озона в улье и времени обработки, при которых достигается снижение выживаемости возбудителей бактериозов пчел до нулевого значения. Выбор конкретного режима следует произвести по критерию минимальной энергоёмкости обработки пчелиных семей. Это особенно существенно при автономном электроснабжении, так как влечет за собой выбор более мощного автономного источника и, следовательно, резкое увеличение капитальных вложений и эксплуатационных затрат.

$$\varepsilon = A_{ПС} = \frac{t \cdot (P_{пу} + P_k)}{n_{нс}} = \frac{t \cdot (P_{пу} + Q_k A_{удк})}{n_{нс}} \quad (5)$$

Целевая функция будет иметь вид:

$$\varepsilon^* = \frac{t \cdot \left(\frac{C_{BY} \cdot A_{y\partial}}{(Q_k + V_{BY} \cdot 0,1538 \cdot e^{0,22 \cdot T})1000} + Q_k A_{y\partial k} \right)}{n_{nc}} \rightarrow \min$$

(6)

$$\varepsilon^* = \frac{x_2 \cdot \left(\frac{x_1 \cdot A_{y\partial}}{(Q_k + V_{BY} \cdot 0,1538 \cdot e^{0,22 \cdot T})1000} + Q_k A_{y\partial k} \right)}{n_{nc}} \rightarrow \min \quad (7)$$

$$\begin{cases} y_1 = 101,3 - 2,055x_1 - 1,415x_2 + 0,006 x_1 x_2 + 0,012x_1^2 + 0,007x_2^2 \\ y_2 = 48,58 - 1,03x_1 - 0,82x_2 + 0,004 x_1 x_2 + 0,006x_1^2 + 0,004x_2^2 \\ \varepsilon = \frac{x_2 \cdot \left(\frac{x_1 \cdot A_{y\partial}}{(Q_k + V_{BY} \cdot 0,1538 \cdot e^{0,22 \cdot T})1000} + Q_k A_{y\partial k} \right)}{n_{nc}} \end{cases} \quad (8)$$

$$\begin{cases} y_1 = 101,3 - 2,055x_1 - 1,415x_2 + 0,006 x_1 x_2 + 0,012x_1^2 + 0,007x_2^2 \\ y_2 = 48,58 - 1,03x_1 - 0,82x_2 + 0,004 x_1 x_2 + 0,006x_1^2 + 0,004x_2^2 \\ \varepsilon = \lambda_1 x_1 x_2 + \lambda_2 x_2 \end{cases} \quad (9)$$

$$\begin{cases} y_1(0-100) \rightarrow 0 \\ y_2(0-100) \rightarrow 0 \\ \varepsilon(0-400) \rightarrow \min \end{cases} \quad (10)$$

$$\begin{cases} 0 = 101,3 - 2,055x_1 - 1,415x_2 + 0,006 x_1 x_2 + 0,012x_1^2 + 0,007x_2^2 \\ 0 = 48,58 - 1,03x_1 - 0,82x_2 + 0,004 x_1 x_2 + 0,006x_1^2 + 0,004x_2^2 \\ 75 = \lambda_1 x_1 x_2 + \lambda_2 x_2 \end{cases} \quad (11)$$

где $\lambda_1 = 0,0123$ и $\lambda_2 = 1,75$

Первое и второе уравнение необходимо привести к виду уравнения эллипса. Для этого вначале сделаем замену:

$$\begin{cases} x_1 = x \\ x_2 = y \end{cases}$$

Перейдём к новой системе координат при помощи следующих формул:

$$x = x' \cos \alpha - y' \sin \alpha$$

$$y = x' \sin \alpha + y' \cos \alpha$$

Таким образом, первое уравнение принимает вид:

$$0,012(x' \cos \alpha - y' \sin \alpha)^2 - 2,055(x' \cos \alpha - y' \sin \alpha) + 0,007(x' \sin \alpha + y' \cos \alpha)^2 - 1,415(x' \sin \alpha + y' \cos \alpha) + 0,006(x' \cos \alpha - y' \sin \alpha)(x' \sin \alpha + y' \cos \alpha) + 101,3 = 0$$

В результате преобразований получаем:

$$x'^2(0,012 \cos^2 \alpha + 0,007 \sin^2 \alpha + 0,006 \cos \alpha \cdot \sin \alpha) + y'^2(0,012 \sin^2 \alpha + 0,007 \cos^2 \alpha - 0,006 \cos \alpha \cdot \sin \alpha) + x'y'(-0,024 \cos \alpha \cdot \sin \alpha + 0,014 \sin \alpha \cdot \cos \alpha + 0,006 \cos^2 \alpha - 0,006 \sin^2 \alpha) + x'(-2,055 \cos \alpha - 1,415 \sin \alpha) + y'(2,055 \sin \alpha - 1,415 \cos \alpha) + 101,3 = 0$$

Найдём α из уравнения:

$$-0,24 \cos \alpha \cdot \sin \alpha + 0,014 \cos \alpha \cdot \sin \alpha + 0,006 \cdot \cos^2 \alpha - 0,006 \cdot \sin^2 \alpha = 0$$

В результате решения получаем два корня:

$$\operatorname{tg} \alpha_1 = 0,46837$$

$$\operatorname{tg} \alpha_2 = -2,13504$$

Значения $\operatorname{tg} \alpha$ соответствуют двум взаимно перпендикулярным направлениям. Поэтому, взяв $\operatorname{tg} \alpha_1 = 0,46837$ вместо $\operatorname{tg} \alpha_2 = -2,13504$, мы только меняем ролями оси x' и y' .

Найдём $\sin \alpha$ и $\cos \alpha$:

$$\cos \alpha = \sqrt{\frac{1}{1+0,46837^2}} = 0,90558$$

$$\sin \alpha = \sqrt{1-0,90558^2} = 0,42415$$

Таким образом, имеем:

$$0,0134 x'^2 + 0,00559 y'^2 + 0 - 2,46116 x' - 0,40976 y' + 101,3 = 0$$

В результате преобразований получаем:

$$0,0134 (x' - 91,79944)^2 + 0,00559 (y' - 36,62009)^2 = 19,16975$$

Применив формулы преобразования координат:

$$\begin{cases} x' = x + 91,79944 \\ y' = y + 36,62009 \end{cases}$$

получим первое уравнение в виде уравнения эллипса:

$$0,0134 x^2 + 0,00559 y^2 = 19,16975$$

Таким же образом к уравнению эллипса приводится и второе уравнение. В этом случае система уравнений (11) примет вид:

$$\begin{cases} 0,0134x^2 + 0,00559y^2 = 19,16975 \\ 0,00723x^2 + 0,00276y^2 = 12,66499 \\ 0,0123xy + 1,75y = 71 \end{cases}$$

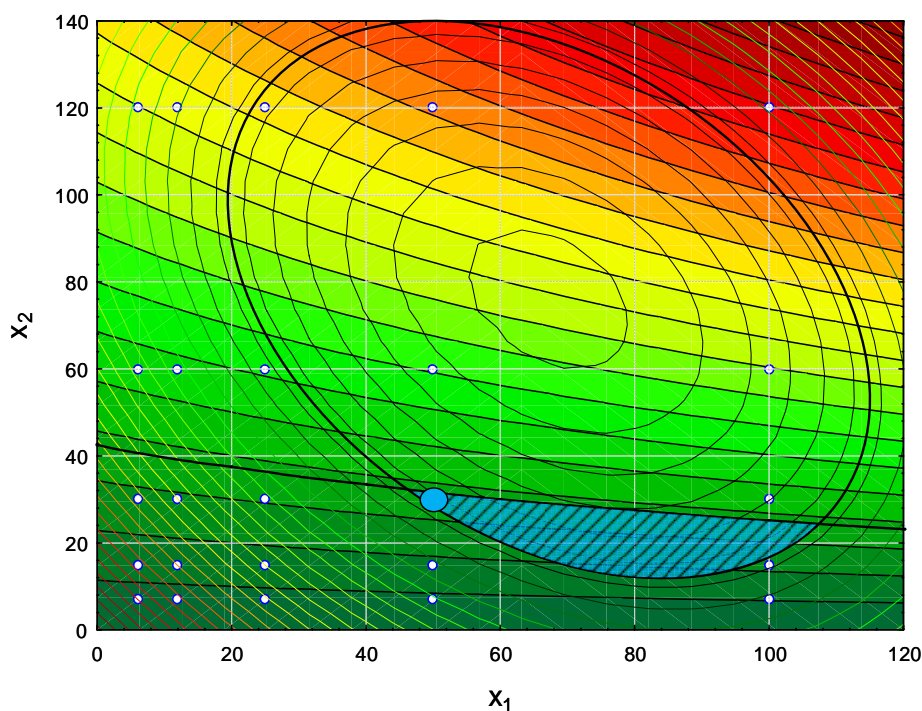


Рисунок 9 – Диаграмма влияния концентрации озона в озоновоздушной смеси, подаваемой в контейнер с чашками Петри, и времени воздействия на проекцию поля параметра выживаемости *Staphylococcus aureus*

Таким образом, определены оптимальные параметры озонирования улья по критерию минимальной энергоемкости обработки: концентрация озона 50 мг/м^3 ; время обработки 30 минут, энергоемкость 71 Вт·ч/улей (рисунок 9).

Список литературы

1. Болотской Е. Н. Новые технологии дезинфекции и лечения болезней пчел / Е. Н. Болотской // Пчеловодство. – 2001. – № 4. – С. 3–32.
2. Болотской Е. Н. Пчелы в окружении микробов / Е. Н. Болотской, В. М. Бахир, А. М. Кожемякин // Пчеловодство. – 2002. – № 3. – С. 25–28 .
3. Овсянников Д. А. Режимы озонирования для лечения колибактериоза пчел / Овсянников Д. А. – В 16Н.: Материалы второй международной научно-практической конференции «Основы достижения устойчивого развития сельского хозяйства». – ВГСХА Волгоград, 2008. – 4 с.
4. Овсянников Д. А. Способ борьбы с аскосферозом пчел / Овсянников Д. А., Нормов Д. А., Лисицын В. В. – В 16Н.: Материалы четвертой региональной научно-практической конференции молодых ученых «Научное обеспечение агропромышленного комплекса». – Краснодар: КГАУ, 2003. – 4 с.

References

1. Bolotskoj E. N. Novye tehnologii dezinfekcii i lechenija boleznej pchel / E. N. Bolotskoj // Pchelovodstvo. – 2001. – № 4. – S. 3–32.
2. Bolotskoj E. N. Pchely v okruzhenii mikrobov / E. N. Bolotskoj, V. M. Bahir, A. M. Kozhemjakin // Pchelovodstvo. – 2002. – № 3. – S. 25–28 .
3. Ovsjannikov D. A. Rezhimy ozonirovanija dlja lechenija kolibakterioza pchel / Ovsjannikov D. A. – V N.: Materialy vtoroj mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoi konferencii «Osnovy dostizhenija ustojchivogo razvitija sel'skogo hozjajstva». – VGSXA Volgograd, 2008. – 4 s.
4. Ovsjannikov D. A. Sposob bor'by s askosferozom pchel / Ovsjannikov D. A., Normov D. A., Lisicyyn V. V. – V N.: Materialy chetvertoi regional'noj nauchno-prakticheskoi konferencii molodyh uchenyh «Nauchnoe obespechenie agropromyshlennogo kompleksa». – Krasnodar: KGAU, 2003. – 4 s.