

УДК 582.288+544.47

**Н.М. Макодай, М.Н. Сапрыкина, Н.М. Соболева,
О.С. Савлук, В.В. Гончарук**

**ИНАКТИВАЦИЯ *CANDIDA ALBICANS* В СИСТЕМЕ
УФ/TiO₂/Fe³⁺**

Институт коллоидной химии и химии воды
им. А.В. Думанского НАН Украины, г. Киев
saprikinam@yandex.ru

Исследован процесс фотокаталитического обеззараживания воды от микроскопического гриба Candida albicans. Определены оптимальные значения pH, установлено влияние концентрации катализатора в растворе на степень инактивации культуры. Изучено влияние системы УФ/TiO₂/Fe³⁺ на инактивацию и репарацию культуры Candida albicans.

Ключевые слова: инактивация, репарация, фотокатализ, *Candida albicans*.

Введение. В связи с возрастающей антропогенной нагрузкой на окружающую среду проблема обеспечения населения качественной питьевой водой в настоящее время особенно актуальна. Установлена высокая степень обнаружения различных видов микромицетов в поверхностных источниках водоснабжения, а также водопроводной воде [1]. Известно, что микромицеты и выделяемые ими токсические вещества – микотоксины способны вызывать ряд тяжелых заболеваний [2]. Существующие классические методы обеззараживания малоэффективны по отношению к этой группе микроорганизмов, в связи с чем возникает необходимость разработки альтернативных способов очистки воды [3]. Одним из перспективных путей повышения степени очистки воды является фотокатализ на основе гомо- и гетерогенных систем с образованием активных кислородсодержащих радикалов, которые приводят не только к разложению большинства химических загрязняющих веществ, но и могут обеспечить полную гибель микроорганизмов.

© Н.М. Макодай, М.Н. Сапрыкина, Н.М. Соболева, О.С. Савлук, В.В. Гончарук, 2015

Бактерицидное и вирулицидное действие кислородсодержащих радикалов, образовавшихся в гетерогенных окислительных системах, основано на их высоком окислительном потенциале: $\text{HO}\cdot$ (2,27 V), $\text{O}_2^{\cdot-}$ (0,83 V), H_2O_2 (1,35 V). Биоцидные свойства указанных радикалов связывают обычно с их способностью повреждать стенки клетки во внешней оболочке микроорганизмов с дальнейшим окислением фосфолипидных компонентов мембраны.

Цель данной работы – оценка фунгицидного действия системы УФ/ $\text{TiO}_2/\text{Fe}^{3+}$ в процессах дезактивации микроскопического гриба *Candida albicans*, а также определение оптимальных условий обеззараживания микромицетов в водных средах [4 – 6].

Методика эксперимента. В качестве тест-культуры для изучения инактивации микромицетов использовали дрожжеподобный гриб *Candida albicans*, полученный из музея микроорганизмов Института эпидемиологии и инфекционных заболеваний им. Л.В. Громашевского АМН Украины. Суспензию *Candida albicans* готовили согласно [7]. После приготовления экспериментального раствора его заражали исследуемой культурой. Концентрация *Candida albicans* в растворе составляла $1 \cdot 10^6$ КОЕ/см³.

Инактивацию микромицетов проводили на экспериментальной установке с облучателем ОИ-18А. В качестве источника света использовали ртутную лампу высокого давления СВД-120 [8]. Действующий свет (289 – 365 нм), близкий по спектральному составу коротковолновой компоненте солнечного излучения, выделяли из эмиссионного потока источника облучения с помощью комбинации светофильтров УФС-1 и БС-4.

Интенсивность света ($\lambda = 289 - 365$ нм), поглощаемого исследуемыми растворами, составляла 22,56 эйнштейн/с. Энергетическая освещенность растворов в указанном спектральном диапазоне – 3,33 мВт/см² [9].

Выживание микроорганизмов определяли по наличию КОЕ при посеве отобранных проб воды на агаризированную среду Сабуро. *Candida albicans* культивировали в течение двух суток при 37 °С. Степень обеззараживания выражали в логарифмах отношения концентрации тест-микроорганизмов, которые остались в растворе после обработки (N_t), к ее исходному значению (N_0).

В качестве фотокатализатора использовали TiO_2 Degussa P-25 с удельной поверхностью 50 ± 5 м²/г. Хлорное железо (FeCl_3 , квалификации "ч") применяли без дополнительной очистки. Исходные значения рН устанавливали водными растворами гидроксида натрия и соляной кислоты.

Результаты и их обсуждение. Кинетические кривые обеззараживания *Candida albicans* под действием УФ-света ($\lambda = 289 - 365$ нм) в отсутствие фотокатализатора при различных значениях рН водной среды приведены на рис. 1. Установлено, что степень инактивации культуры при рН 9 выше, чем при рН 3 и 7. Практически полное ее обеззараживание (пять порядков) УФ-излучением наблюдалось при рН 9 за один час контакта, в то время как при рН 3 и 7 степень обеззараживания составила соответственно 3,5 и 4 порядков. Следует отметить, что рН 5 является оптимальным для роста и развития *Candida albicans* [8]. Количественные данные инактивации культуры при рН 5 в системе фото – Фентон, полученные ранее [8], незначительно отличаются от таковых при рН 3 и 7. Вероятно, при этих значениях рН культура имеет максимальную устойчивость к влиянию окружающих факторов.

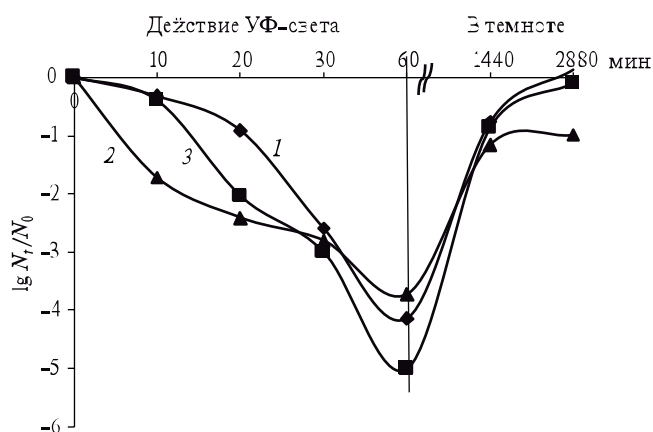


Рис. 1. Кинетика УФ-обеззараживания ($\lambda = 289 - 365$ нм) и репарации культуры *Candida albicans* при рН 3 (1), 7 (2), 9 (3).

Однако в ходе опытов обнаружен процесс репарации культуры *Candida albicans* через 24 и 48 ч после ее облучения.

С целью стабилизации действия УФ-излучения исследовали фотокаталитическое обеззараживание с использованием TiO_2 при различных значениях рН водной среды. Установлено, что максимальная инактивация культуры наблюдалась при рН 3, тогда как степень ее удаления при рН 7 была несколько ниже, а при рН 9 – совсем незначительной (рис. 2). Следует отметить также отсутствие фунгицидного действия катализатора в темновых условиях. Дальнейшее исследование каталитических процессов обеззараживания *Candida albicans* проведено в интервале концентраций TiO_2 0,05 – 0,5 г/дм³ при рН 3, при

котором данный процесс протекает с более высокой эффективностью, и рН 7, характерным для поверхностных источников водоснабжения.

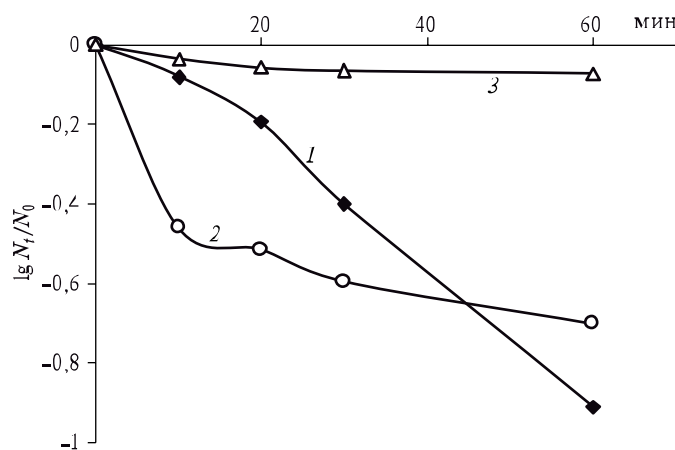


Рис. 2. Кинетика фотокаталитического обеззараживания воды от *Candida albicans* в присутствии $0,05 \text{ г/дм}^3 \text{ TiO}_2$ при рН 3 (1), 7 (2), 9 (3).

Установлено, что при рН 3 рост концентрации TiO_2 от $0,05$ до $0,5 \text{ г/дм}^3$ не приводит к повышению степени обеззараживания (рис. 3). В то же время при рН 7 наблюдается стабильное снижение степени обеззараживания с ростом концентрации TiO_2 . Так, максимальная степень обеззараживания (0,7 порядка от пяти исходных) наблюдается при концентрации TiO_2 $0,05 \text{ г/дм}^3$. Инактивация культуры *Candida albicans* при концентрациях TiO_2 $0,5$; $0,25$ и $0,1 \text{ г/дм}^3$ составляет соответственно $0,24$; $0,37$ и $0,5$ порядков, что, вероятно, связано с повышением мутности раствора и, как следствие, снижением эффективности воздействия УФ-излучения на культуру. При этом стоит также учесть влияние рН раствора на заряд поверхности катализатора. Известно, что при рН 7 поверхность катализатора имеет отрицательный заряд [10]. Это препятствует его взаимодействию с отрицательно заряженной поверхностью клетки *Candida albicans*. Однако, несмотря на невысокий эффект фотокаталитической инактивации культуры в сравнении с УФ-обеззараживанием, нами было установлено отсутствие репарации облученной культуры при различных концентрациях TiO_2 с рН 3 и 7 (см. рис. 3).

Полученные данные свидетельствуют, что возрастание концентрации катализатора TiO_2 не приводит к заметному повышению инактивации культуры. Однако его наличие в растворе стабилизирует степень обеззараживания в течение двух суток. Исходя из этого определена рациональная концентрация TiO_2 , которая составляет $0,05 \text{ г/дм}^3$.

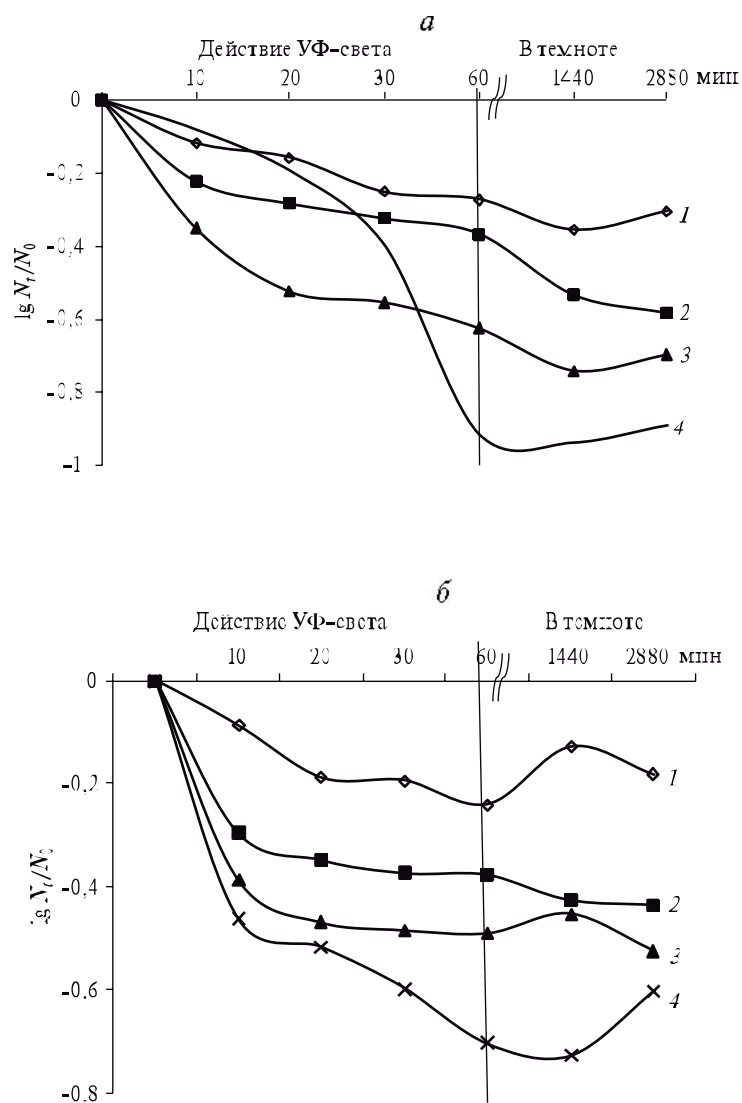


Рис. 3. Влияние TiO_2 при концентрациях 0,5 (1), 0,25 (2), 0,1 (3), 0,05 г/дм³ (4) на кинетику инактивации *Candida albicans* при pH 3 (а) и 7 (б).

С целью повышения степени фотокаталитического обеззараживания исследовано влияние Fe^{3+} на инактивацию *Candida albicans* в присутствии TiO_2 (pH 3).

Инактивация заметно возрастает при повышении концентрации Fe^{3+} от $1 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-2}$ М. При наличии в исследуемом растворе TiO_2 в концентрации 0,05 г/дм³ и Fe^{3+} — $1 \cdot 10^{-4}$ М наблюдается незначительное повышение степени обеззараживания от 0,5 до 1 порядка через соответственно 60 и 120 мин контакта (рис. 4). В аналогичных условиях

при концентрации $\text{Fe}^{3+} 1 \cdot 10^{-2} \text{ М}$ культура инактивируется на 2,8 и 3,8 порядков соответственно через 60 и 120 мин контакта.

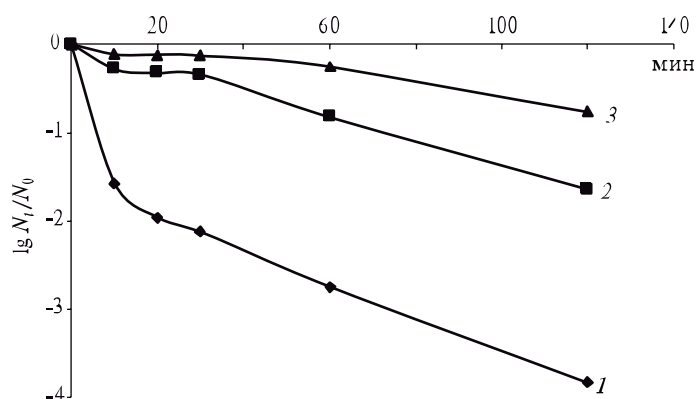


Рис. 4. Фотокалитическая инактивация *Candida albicans* в присутствии TiO_2 ($0,05 \text{ г/дм}^3$) и Fe^{3+} при концентрациях: $1 \cdot 10^{-2}$ (1), $1 \cdot 10^{-3}$ (2), $1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ (3).

Установлено, что эффект репарации культуры зависит от концентрации Fe^{3+} в растворе. При концентрации $\text{Fe}^{3+} 1 \cdot 10^{-2} \text{ М}$ через 24 и 48 ч восстановление культуры в растворе не наблюдается, аналогичная тенденция характерна для концентрации $\text{Fe}^{3+} 1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$. Однако при уменьшении концентрации железа до $1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$ степень обеззараживания на вторые сутки наблюдения заметно снижается (таблица).

*Влияние системы УФ/ TiO_2 / Fe^{3+} на инактивацию и репарацию культуры *Candida albicans**

Обеззараживание, КОЕ/см ³		Репарация, КОЕ/см ³	
τ, Ч			
0	1	24	48
$C(\text{TiO}_2)=0,05 \text{ г/дм}^3$; $C(\text{Fe}^{3+})=1 \cdot 10^{-2} \text{ М}$			
$1,1 \cdot 10^6$	$2,0 \cdot 10^3$	0	0
$C(\text{TiO}_2)=0,05 \text{ г/дм}^3$; $C(\text{Fe}^{3+})=1 \cdot 10^{-3} \text{ М}$			
$1,1 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^5$	$3,0 \cdot 10^5$	0
$C(\text{TiO}_2)=0,05 \text{ г/дм}^3$; $C(\text{Fe}^{3+})=1 \cdot 10^{-4} \text{ М}$			
$9,6 \cdot 10^5$	$5,2 \cdot 10^5$	$8,2 \cdot 10^4$	$2,8 \cdot 10^5$

Облучение раствора, содержащего *Candida albicans*, $\text{TiO}_2/\text{Fe}^{3+}$ приводит к образованию гидроксильных радикалов [11]. Установлено отсутствие фунгицидного действия TiO_2 и ионов Fe^{3+} на микромицеты *Candida albicans* в темновых условиях во всем диапазоне исследуемых концентраций.

Выводы. Таким образом, изучена кинетика фунгицидного действия системы УФ/ $\text{TiO}_2/\text{Fe}^{3+}$ на культуру *Candida albicans* ($\lambda = 289 - 365$ нм).

Степень инактивации дрожжеподобного гриба *Candida albicans* УФ-светом зависит от pH водной среды. Величина обеззараживания составляет 4,99; 3,7 и 4,1 порядков от пяти исходных при pH соответственно 9; 7 и 3. При этом, однако, уже через сутки наблюдается процесс репарации культуры.

Установлен незначительный, но достаточно стабильный эффект УФ-обеззараживания воды от *Candida albicans* в присутствии TiO_2 (0,05 – 0,5 г/дм³) даже на вторые сутки наблюдения. Рациональная концентрация TiO_2 составляет 0,05 г/дм³.

Показано, что эффективность обеззараживания зависит от концентрации железа в растворе: степень инактивации культуры повышается от 0,3 до 2,7 порядков при изменении концентрации Fe^{3+} соответственно от $1 \cdot 10^{-4}$ до $1 \cdot 10^{-2}$ М.

Степень инактивации *Candida albicans* в системе УФ/ $\text{TiO}_2/\text{Fe}^{3+}$ ниже степени инактивации культуры, полученной при воздействии УФ-света, и составляет соответственно 99,9 и 99,99%. Наличие в системе фотокатализаторов способствует полной инактивации культуры (при концентрации Fe^{3+} в диапазоне $1 \cdot 10^{-2} - 1 \cdot 10^{-3}$ М) даже на вторые сутки наблюдения.

Принимая во внимание доступность и экологичность фотокаталитических методов, а также высокую устойчивость микромицетов при использовании классических методов обеззараживания, для разработки эффективных технологий получения питьевой воды и обеззараживания сточных вод, содержащих живые клетки микромицетов, необходимы дальнейшие исследования различных каталитических систем с целью повышения инактивации микромицетов в воде.

Резюме. Досліджено процес фотокаталітичного знезараження води від *Candida albicans*. Визначено оптимальне значення pH, встановлено вплив концентрації каталізатора в розчині на величину інактивції культури. Досліджено вплив системи УФ/ $\text{TiO}_2/\text{Fe}^{3+}$ на інактивцію і репарацію культури *Candida albicans*.

**INACTIVATION OF *CANDIDA ALBICANS*
IN UF/TiO₂/Fe³⁺ SYSTEM**

Summary

The process of photocatalytic decontamination of water from *Candida albicans* has been studied. The optimal pH value, the effect of the concentration of the catalyst in the solution on the degree of inactivation of culture have been defined. The influence of the system UF/TiO₂/Fe³⁺ on the inactivation and the reparation of the culture of *Candida albicans* has been studied.

Список использованной литературы

- [1] *Гончарук В.В., Руденко А.В., Савлук О.С., Сапрыкина М.Н.* // Вода: гігієна та екологія. – 2013. – № 2(1). – С. 34 – 48.
- [2] *Oliveira B.R., Barreto Crespo M.T., San Roma M.V. et. al.* // Water Res. – 2013. – 30. – P. 1 – 10.
- [3] *Гончарук В.В., Руденко А.В., Савлук О.С. и др.* // Доп. НАН України. – 2008. – 11. – С. 187 – 191.
- [4] *Zan L., Fa W., Peng T.P., Gong Z.K.* // J. Photochem. Photobiol., B. – 2007. – 86, N 2. – P. 165–169.
- [5] *Hajkova P., Spatenka P., Horsky J. et. al.* // Plasma Process. Polym. – 2007. – 4. – P. 397–401.
- [6] *Cho M., Chung H., Choi W., Yoon J.* // Appl. Environ. Microbiol. – 2005. – 71, N1. – P. 270–275.
- [7] *Saprykina M.N.* // J. Chem. Water and Technol. – 2012. – 34, N 5. – P.240 – 245.
- [8] *Soboleva N.M., Saprykina M.N., Kosinova V.N. et. al.* // Ibid. – 2012. – 34, N 2. – с.96 – 102.
- [9] *Nosonovich A.A., Soboleva N.M., Goncharuk V.V.* // Ibid. – 2011. – 33, N5. – P. 273 – 280.
- [10] *РусакOVA С.М., Артамонова И.В., Горичев И.Г.* // Материалы 65-ой Международ. науч.-техн. конф. "Автотракторостроение – 2009". (Секция 8. Наноматериалы и нанотехнологии в автотракторостроении). – М.: МГТУ "МАМИ", 2009. – С. 21 – 26.
- [11] *Rincon A.G., Pulgarin C.* // Appl. Catal., B. – 2006. – 63, N 3/4. – P. 222–231.

Поступила в редакцию 21.03.2014 г.