УДК 57.043

Вивчення впливу ультразвуку на популяцію мікроорганізмів

Ігнатова Т.М. Херсонський національний технічний університет,
Глазкова В.В. Херсонський національний технічний університет

UDC 57.043

Influence of ultrasound on the population of microorganisms

Ignatova T.M Kherson National Technical University,
Glazkova V. V. Kherson National Technical University

Анотація. В роботі дана оцінка впливу ультразвука на динаміку роста дріжджових мікроорганізмів. За допомогою методу світлової мікроскопії проаналізована залежність чисельності популяції клітин від часу впливу.

Ключові слова: мікроорганізми, ультразвук, випромінювання, клітини.

Summary. The paper assessed the influence of ultrasound on the dynamics of growth of yeast microorganisms. By means of light microscopy analyzed cell population size dependence on the time of exposure.

Keywords: microorganisms, ultrasound, radiation, cell.

Вступ. Одним з факторів, здатним впливати на функціональний стан мікроорганізмів, є ультразвук. Незважаючи на те, що УЗ давно використовують у різних галузях науки, техніки, медицини; його вплив на мікроорганізми вимагає більш детального вивчення. Ультразвукові хвилі володіють великою механічною енергією і викликають ряд фізичних, хімічних і біологічних явищ. Тому не випадковий інтерес до вивчення впливу та механізмів дії цього фізичного фактора на біологічні об'єкти [1].

Ультразвуковими називаються пружні акустичні хвилі, здатні поширюватися в матеріальних середовищах (твердих, рідких, газоподібних). Нижня межа УЗ лежить в області 16-20 кГц, верхня досягає сотень мегагерц. Обидві межі достатньо умовні і знаходяться за межами чутності людини. Пружність забезпечує повернення у вихідне положення частинок середовища,

зміщених під впливом зовнішніх сил. Частинки середовища при цьому не переносяться в напрямку поширення хвиль, а лише коливаються біля положення рівноваги. Обурення від частинок, що коливаються в кожному шарі біля положення рівноваги, передається від шару до шару з напрямом поширення хвилі. Таким чином в акустичній хвилі відбувається перенос енергії без переносу речовини. При проходженні УЗ в біологічних об'єктах частинки середовища здійснюють інтенсивні коливальні рухи з великими прискореннями, при цьому на відстанях, рівних половині довжини звукової хвилі, в опромінюваному середовищі можуть виникати різниця тисків від одиниць до десятків атмосфер. Настільки інтенсивні впливу на структуру біологічних об'єктів призводять до різних ефектів, фізична природа яких пов'язана з дією факторів, супутніх поширення ультразвуку в середовищі: механічного, теплового, фізико-хімічного.

Біологічну дію ультразвукових хвиль пов'язують в більшій мірі з явищем кавітації. Кавітацією називають процес утворення в рідкому середовищі порожнин, заповнених парами самої рідини, які виникають під дією великих розривають напругу і в наступну мить змикаються, супроводжуючись великими тисками і локальним нагріванням середовища. [2].

Хімічна дія УЗ при кавітації, можливо, обумовлена утворенням на стінках кавітаційної порожнини електричних мікрозарядів з подальшим електронним пробоєм. Ультразвукові коливання можуть застосовуватися для ініціювання хімічних реакцій, здійснення ряду нових методів синтезу та прискорення повільних реакцій в органічній системі.

Крім хімічного впливу, в залежності від інтенсивності та тривалості опромінення, УЗ надає різне механічне вплив на біологічні об'єкти.

При поширенні УЗ в біологічних середовищах відбувається його поглинання і перетворення акустичної енергії в теплову. Характерно, що утворення тепла здійснюється не рівномірно по всій товщі тканин, а проявляється найбільш помітно на межах середовищ з хвильовими опорами. Однак значне підвищення інтенсивності УЗ і збільшення тривалості його впливу можуть призвести до надмірного нагрівання біологічних структур і до їх руйнування.

Тому тепловий ефект поряд з кавітацією використовують в якості основних діючих чинників у ряді ультразвукових хірургічних операцій, наприклад для регенерації пошкоджених тканин.

Причиною змін, що виникають в біологічних об'єктах під дією УЗ, можуть бути також вторинні ефекти фізико-хімічного характеру. Так, завдяки утворенню акустичних потоків, відбувається енергійне перемішування внутрішньоклітинних мікроскопічних структур. Кавітація в середовищі призводить до розриву молекулярних зв'язків, молекули води, як вже описувалося вище, розпадаються на вільні радикали ОН- і Н+, що є першопричиною дії УЗ. Подібним же чином відбувається розщеплення під дією УЗ високомолекулярних сполук у біологічних об'єктах.

Ультразвукові хвилі при частоті коливання 1-1,3 МГц протягом 10 хвилин надають бактерицидний ефект на зазначені мікроорганізми. Це дозволяє використовувати його для інактивації та дезінтеграції вірусів та інших мікроорганізмів з метою отримання антигенів, вакцин і діагностикумів. Піддаючи бактерії ультразвукового впливу певної частоти та інтенсивності, можна виділити з них не тільки антигени, але і токсини. Більш того, дія ультразвуку на виділені токсини патогенних мікроорганізмів може призводити до зміни їх біологічних властивостей, що особливо важливо для боротьби із збудниками небезпечних інфекцій [4].

Матеріали та методи дослідження. В якості об’єкту дослідження було обрано дріжджовий розчин клітин сухих пекарських дріжджів «Саф-Момент».

Дослідження проводились шляхом підрахунку клітин в дріжджовій суспензії (0,5 мг/л) в лічильній камері Горяєва під мікроскопом Ergolux.

В якості джерела ультразвуку застосовувалася ультразвуковий переносний апарат УТП-1. Потужність ультразвуку при вимірюванні у воді від 2 Вт/см^2. Частота ультразвукових коливань 830 ± 15 кГц. Частота повторення імпульсу – 50 імпульсів в секунду в неприливному режимі.

Час впливу склав 120 хвилин. В якості контролю використовували дріжджову суспензію, що не оброблена ультразвуком.

Результати та їх обговорення.

При проходженні УЗ в біологічних об'єктах частинки середовища здійснюють інтенсивні коливальні рухи з великими прискореннями, при цьому на відстанях, рівних половині довжини звукової хвилі, в опромінюваному середовищі можуть виникати різниця тисків від одиниць до десятків атмосфер. Настільки інтенсивні дії на структуру біологічних об'єктів призводять до різних ефектів, фізична природа яких пов'язана з дією факторів, супутніх поширенню ультразвуку в середовищі: механічного, теплового, фізико-хімічного.

Хімічна дія УЗ при кавітації, можливо, зумовлено утворенням на стінках кавитаційної порожнини електричних мікрозарядів з подальшим електронним пробоєм. При високій температурі молекули води всередині кавітаційного пухирця переходять в збуджений стан і розщеплюються на радикали Н +, ОН-, а також, можливо, іонізуються з утворенням гідратованих електронів, т. б. електронів з приєднаними до них нейтральними молекулами води. Частково радикали рекомбінують, причому склад кінцевих радикальних і молекулярних продуктів розкладання води в ультразвуковому полі залежить від природи розчиненої у воді газу. Так, при впливі УЗ на воду, в якій розчинене повітря, утворюються оксиди азоту і перекис водню [1].

Крім того, пропускання ультразвуку через речовини прискорює хід деяких хімічних реакцій. Таким чином, ультразвукові коливання можуть застосовуватися для ініціювання хімічних реакцій, здійснення ряду нових методів синтезу і прискорення повільних реакцій в органічній системі.

Є дані, що утворення вільних радикалів ОН- і Н + під дією УЗ викликає зміна pH в біологічних тканинах в лужну або кислу сторону в залежності від інтенсивності і тривалості впливу. Зміна pH запалених тканин в лужну сторону викликає аналгезуючий ефект внаслідок різкого зменшення запальних явищ, що використовується у фізіотерапії [3].

Крім хімічного впливу, залежно від інтенсивності і тривалості опромінення, УЗ надає різний механічний вплив на біологічні об'єкти. Так, при малих інтенсивностях (до 2-3 Вт / см2) на частотах порядку 105-106 Гц коливання частинок біологічного середовища виробляють своєрідний мікромасаж тканинних елементів, що сприяє кращому обміну речовин. Для організму людини і тварин такий вплив покращує постачання тканин кров'ю і лімфою. Підвищення інтенсивності УЗ може призвести до виникнення в біологічних середовищах кавітації, а отже, і до механічного руйнування клітин і тканин; кавітаційними «зародками» при цьому служать завжди наявні в цитоплазмі біологічних клітин газові бульбашки.

До проведення досліджень дріжджові клітини мають вигляд, представлена на рис. 3 (збільшення 200).

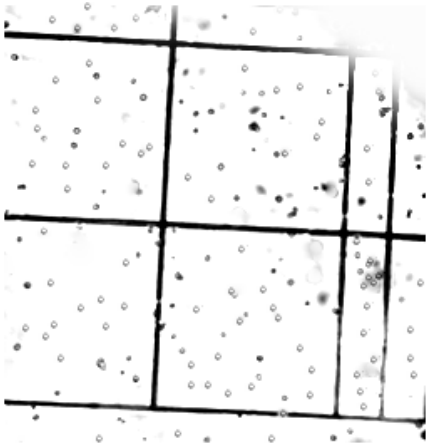

Рис.1. Мікроогранізми до проведення впливу

При поширенні УЗ в біологічних середовищах відбувається його поглинання і перетворення акустичної енергії в теплову [1]. Характерно, що утворення тепла здійснюється не рівномірно по всій товщі тканин, а проявляється найбільш помітно на кордонах середовищ з хвильовими опорами. Однак значне підвищення інтенсивності УЗ і збільшення тривалості його впливу можуть призвести до надмірного нагріванню біологічних структур і до їх руйнування. Тому тепловий ефект поряд з кавітацією використовують в якості основних

діючих факторів у ряді ультразвукових хірургічних операцій. Однією з основних особливостей впливу УЗ на мікроорганізми можна вважати його вплив на клітинні мембрани. При тривалому впливі УЗ наслідки залишаються протягом деякого часу після припинення опромінення, і нормальна життєдіяльність клітини може не відновитися протягом хвилин, годин або навіть днів [3].

Встановлено, що особливо небезпечний для мікроорганізмів низькочастотний УЗ, т. я. потужний низькочастотний ультразвук здатний механічно розривати клітинні мембрани, що призводить до порушення цілісності і загибелі клітин. Однак навіть при низьких частотах механічне пошкодження і загибель клітин відбуваються тільки при досить високих інтенсивностях УЗ, істотно перевищують фізіологічні дози.

Ефекти, які досягаються в результаті опромінення ультразвуком біологічних об'єктів, зазвичай обумовлені спільною дією багатьох факторів, і не завжди ясно, який з них грає першорядну роль. Вирішення низки завдань, пов'язаних із практичним застосуванням УЗ в мікробіології, передбачає вивчення характеру акустичного поля, т.б. розподілу в просторі звукового тиску або інтенсивності. Ультразвукові коливання високої інтенсивності, пошкоджуючи клітинні оболонки мікроорганізмів, викликають їх загибель.

Після дії на дріжджі ультразвуком більшість клітинок склеїлися (рис.2.).

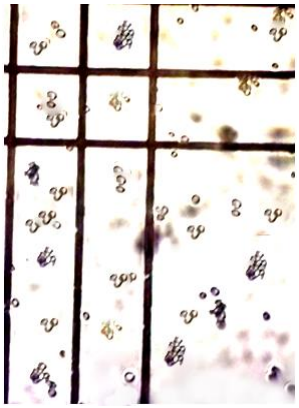

Рис.2. Вплив ультразвуку на популяцію дріжджів

На рис. 3 представлена залежність кількість дріжджових клітин від часу впливу ультразвуковим випромінюванням.

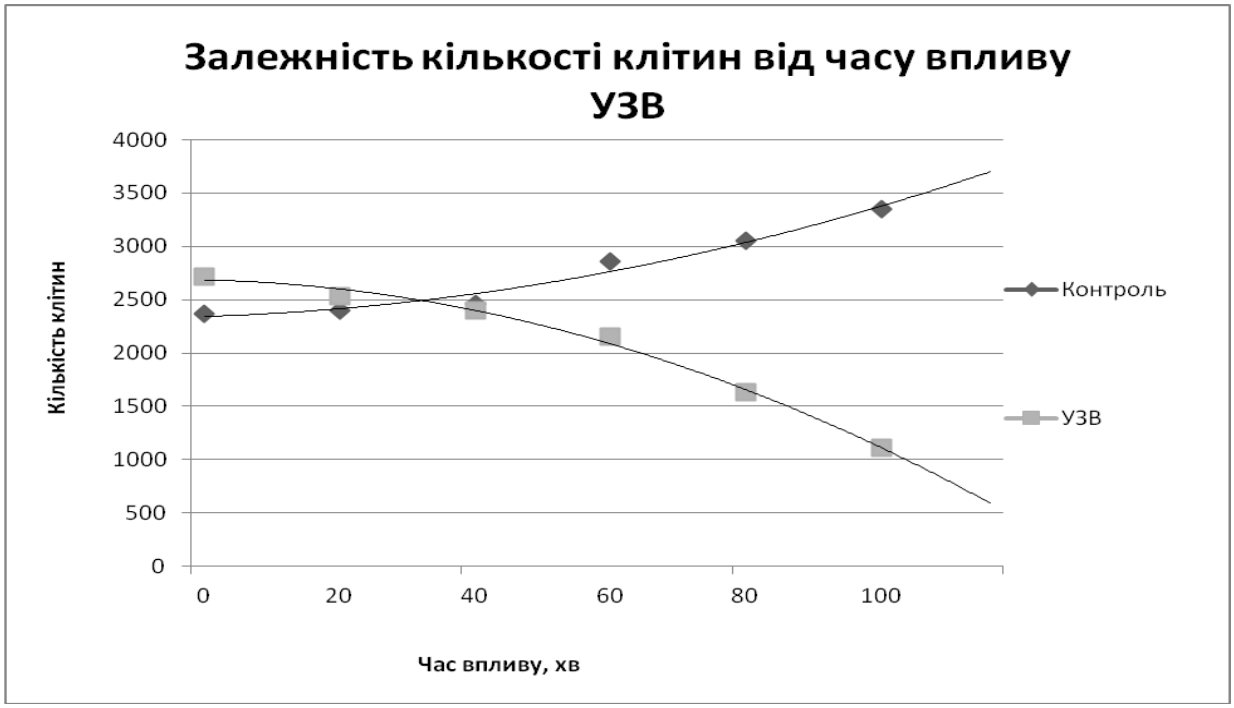

Рис.1. Динаміка зміни популяції дріжджів від часу впливу ультразвуковим випромінюванням

Як бачимо з графіка, представленого на рис. 1., під дією впливу ультразвукі спостерігається різке зменшення кількості дріжджових клітин вже після 20 хвилин впливу.

Природа згубної дії ультразвуку на мікроорганізми пов'язана:

• з кавітаційним ефектом. При поширенні в рідині УЗ-хвиль відбувається швидко чергуються розрядження і стиснення частинок рідини. При розрядженні в середовищі утворюються дрібні порожні простори - «бульбашки», заповнюються парами довкілля та газами. При стисненні, в момент захлопування кавітаційних «бульбашок», виникає потужна гідравлічна ударна хвиля, що викликає руйнівну дію;

• з електрохімічним дією УЗ-енергії. У водному середовищі відбувається іонізація молекул води і активація розчиненого в ній кисню. При цьому

утворюються речовини, що володіють великою реакційною здатністю, які обумовлюють ряд хімічних процесів, несприятливо діючих на живі організми.

Висновок. При ультразвукової обробці водних суспензій мікобактерій частотою 20 кГц, відбувається руйнування 93% мікобактерій. Ультразвукове опромінення сповільнює ріст і поділ клітин, що загальмовує життєдіяльність і розвиток популяції. Негативний вплив ультразвуку на окремі клітини компенсується включенням деяких біологічних механізмів «взаємовиручки», які послаблюють його наслідки.

Література:

1. *Балаклиец, Н. И., Тагаев, П. А.* Экология и микроорганизмы. Харьков: ХООО «НЭО «ЭкоПерспектива», 2008. — 176 с.

2. *Акопян В.Б., Ершов Ю.А.* Основы взаимодействия ультразвука с биологическим объектами. — М.: МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2005. — 224 с.

3. *Прохоренко, П.П.* Ультразвуковой капиллярный эффект / П.П. Прохоренко, Н.В. Дежкунов, Г.Е. Коновалов. Минск.: Наука и техника, 1981. – 135 с.

4. *Педдер, В.В.* «Обратный» ультразвуковой капиллярный эффект и некоторые направления его клинического применения / В.В. Педдер, А.В. Педдер, В.В. Хмелев и др. // X-я международная конференция-семинар EDM 2009, 1-6 июля, Эрлагол. Новосибирск.- Изд-во Новосибирского государственного технического ун-та. 2009.-С 414-423.

5. http://u-sonic.ru/book/export/html/964