

# ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ОЗОНА для обеззараживания и детоксикации **СОЛЕННЫХ ВОД**

**Исследовано поведение озона в водных системах, содержащих примеси минеральных солей, в основном хлоридов, и его действие на органические вещества и микрофлору. Проведено сравнение эффективности активности использования озона в пресной и соленых водах. Показано, что несмотря на меньшую устойчивость озона в минерализованной воде, он способен активно разрушать токсичные органические примеси и инактивировать микроорганизмы.**

## Введение

**М**инерализованные воды составляют основную массу воды на Земле. Это, прежде всего, воды морей и океанов, воды глубинных подземных горизонтов и многие другие. Они используются для охлаждения технологических установок, при эксплуатации рыбопроизводящих ферм на морском побережье, устричных плантаций, в плавательных бассейнах [1-3]. Вода, используемая в этих объектах, требует подготовки, которая помимо прочих операций включает стадии детоксикации и обеззараживания [4, 5]. Последние, как правило, состоят в обработке воды небольшими дозами хлора или гипохлорита натрия [4]. В процессах подготовки пресной воды для питья или для плавания наряду с упомянутыми реагентами все шире используется озон [6, 7]. У озона есть преимущества по сравнению хлором и гипохлоритом, например, более высокая способность убивать некоторые особо резистентные патогенные микроорганизмы [8]. Применительно к обеззараживанию и детоксикации вод, содержащих минеральные соли, особенно хлориды, перспективы применения озона не вполне ясны. Отрицательной особенностью поведения озона, растворенного в соленой воде по сравнению с пресной водой, является его ускоренное раз-

ложение. В связи с этим возникает вопрос: не будет ли озон в соленой воде разлагаться неэффективно, не обеспечивая достаточного обеззараживания и разрушения токсичных примесей. В литературе имеется достаточно много сведений об угнетающем действии остаточных продуктов после растворения озона в морской воде на микрофлору [6, 7]. Однако разделить наблюдаемые эффекты и соотнести их с активностью озона и продуктов его реакции с примесями в воде не представлялось возможным. С целью выявления активности самого озона в минерализованных водах нами было проведено исследование действия озона на фенол – распространенную токсичную примесь в загрязненных промышленных и даже в природных водах, и на морскую бактерию *Pseudoalteromonas espejiana*. Ниже приведены результаты этого исследования

## Материалы и методы исследования

*Исходные материалы и реагенты.* Озон синтезировали из кислорода в электрическом разряде [9]. Начальные концентрации озона в опытах меняли в пределах 3–5 мг/л. Скорость подачи газовой смеси в реактор составляла 50 мл/мин.

*Хлористый натрий* (NaCl) использовали реактивный, марки «осч», *бромистый калий* (KBr) – «хч», *Фенол* (C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>O) – «хч».

*Воду* для опытов готовили специально по методике [9]. В подготовленной таким образом воде растворяли требуемое количество хлоридов.

*Концентрацию озона* измеряли спектрофотометрически при длине волны света 254 нм. Опыты проводили в стеклянном барботажном реакторе, оборудованном пористым

## С.Д. Разумовский\*

доктор химических наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

## В.М. Андреев,

доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

\* Адрес для корреспонденции: razum@sky.chph.ras.ru

дном, через которое в реактор поступала озono-кислородная смесь. В реактор помещали 5 мл чистой воды и насыщали раствор озонoм путем барботирования озонированного кислорода в течение 10 мин, затем в реактор вводили 1 мл раствора солей известной концентрации, рассчитанной таким образом, чтобы в растворе оказались нужные концентрации хлоридов. После введения солей подачу озono-кислородной смеси продолжали до установления постоянной концентрации озона на выходе из реактора. Затем в реактор вводили в одной серии опытов фенол в виде водного раствора, в другой – рассчитанные количества микрофлоры в виде взвеси в воде. При исследовании действия озона на фенол реакцию проводили до исчерпания исходного фенола (отмечали по нарастанию концентрации озона на выходе из реактора, микрофлору озонировали 10 мин.

**Бактериальная культура.** В опытах были использованы морские бактерии *Pseudoalteromonas espejiana* [10]. Бактерии выращивали в BAL-бульоне (0,45 М NaCl, 9,4 мМ KCl, 50 мМ MgSO<sub>4</sub>, 10 мМ CaCl<sub>2</sub> и 8 г пептона на 1 л среды, pH 7,6).

**Солевая среда «BAL-соли»** – BAL-бульон без пептона.

**Агары.** Нижний агар: 1 % бактоагара (Ferak) на BAL-бульоне. Верхний агар: 0,45 % бактоагара на BAL-бульоне. Агары, бульон и BAL-соли стерилизовали кипячением в течение 1 ч.

**Определение числа колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл образца** (титрование). Готовили ряд чашек Петри с 20 мл нижнего агара на чашку, а образец разводили BAL-бульоном в 10, 10<sup>2</sup> и 10<sup>3</sup> раз (разведения 0, 1, 2 и 3, соответственно). Расплавляли верхний агар. Для каждого разведения в стерильную пробирку наливали 2 мл горячего верхнего агара, охлаждали его до 39 °С (3 мин в термостате), добавляли 100 мкл образца соответствующего разведения, быстро перемешивали, смесь выливали на чашку Петри с нижним агаром и распределяли ее на всю поверхность чашки. Чашки инкубировали в шкафу-термостате при 29 °С 2 сут. Затем в каждой чашке определяли число выросших колоний.

**Рис. 1.** Полулогарифмическая анаморфоза зависимости текущей концентрации озона от времени в чистой воде (1), водном растворе сульфата калия 4 г/л (2), обесхлоренной по методике [11] морской воде (3), растворах хлорида натрия 9 г/л (4) и хлорида натрия 200 г/л (5). →

**Т.В. Гриневиц,**  
кандидат химических наук, старший научный сотрудник, ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук

**М.Л. Константинова,**  
научный сотрудник, ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

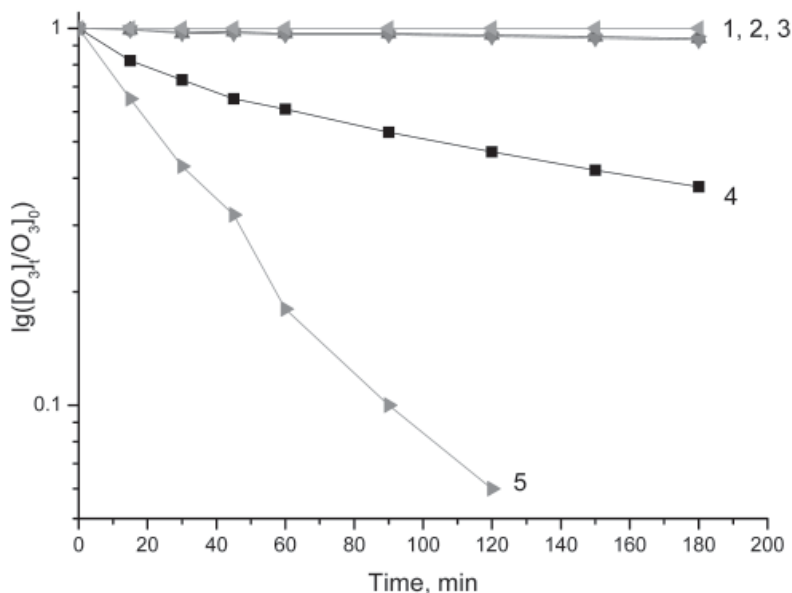
**Г.В. Коровина,**  
доктор химических наук, ведущий научный сотрудник, ФГБУН Институт химической физики им. Н.Н. Семенова Российской академии наук

**Н.В. Кузнецова,**  
научный сотрудник, ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля Российской академии наук

## Результаты и их обсуждение

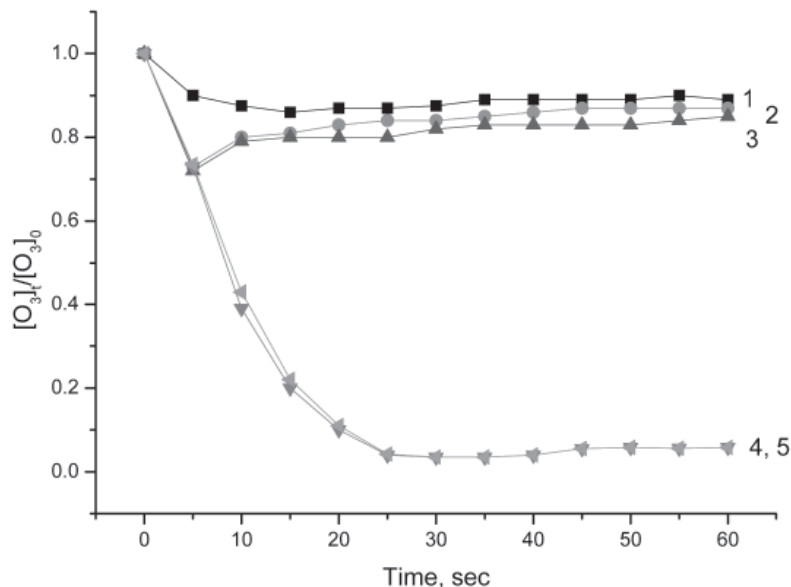
Ранее [11] было показано, что озон в водных растворах нестабилен и довольно быстро разрушается. Скорость разрушения обычно описывается первыми порядками по концентрации озона и активных частиц, участвующих в разрушении. В пользу этого свидетельствуют данные *рис. 1*, на котором представлена кинетика разрушения озона в водах различного состава в полулогарифмических координатах.

Видно, что разрушение довольно хорошо описывается уравнением первого порядка по озону:  $C_t = C_0 (1 - e^{-kt})$ , где  $C_0$  и  $C_t$  – начальная и текущая концентрации озона,  $e$  – основание натуральных логарифмов,  $k$  – эффективная константа скорости разрушения,  $t$  – текущее время. В очень чистой воде период полураспада озона  $t_{1/2} = \sim 19$  ч. [9], в природных водах  $t_{1/2}$  гораздо меньше и колеблется около 0,5–1,5 ч. Причиной ускорения разложения служит его реакция с примесями, всегда присутствующими в воде. В число таких активных примесей входят ионы хлора, содержание которых в водах различной природы бывает достаточно велико. Озон, растворенный в суперчистой воде, содержащей даже небольшие количества NaCl, разрушается заметно быстрее, чем в отсутствие ионов Cl<sup>-</sup>. Присутствие катионов щелочных и щелочно-земельных металлов, анионов SO<sub>3</sub><sup>\*-2</sup>; CO<sub>2</sub><sup>-2</sup> – наиболее частых спутников Cl<sup>-</sup> в минерализованных водах на скорость разрушения озона влияет заметно меньше (*рис. 1*). Некоторые из опубликованных ранее работ содержат информацию о том, что растворенный в воде озон способен реагировать с ионом хлора, образуя гипохло-



рит и хлорат [12, 13]. Оба они токсичны и в неконтролируемых количествах способны угнетать развитие полезных организмов или причинять вред купающимся людям. Недавние исследования показали [14], что реакция озона с ионами хлора действительно имеет место, но основным продуктом реакции является молекулярный кислород, а не гипохлорит. Эффективность действия озона как обеззараживающего средства и агента, разрушающего токсичные органические соединения, требует заметного времени для его контакта с микроорганизмами и токсикантами (обычно 5 – 15 мин). В воде, содержащей хлориды, разрушение озона за счет его реакции с  $\text{Cl}^-$  может повредить его активности как детоксиканта и обеззараживающего средства. Для проверки активности озона в части разрушения токсичных веществ были поставлены специальные опыты. В них исследовали реакции озона с фенолом, который хорошо известен как типичная токсичная примесь в природных водах. На *рис. 2* приведены результаты, отражающие динамику реакции озона с фенолом в пресной и модельной морской водах.

Данные *рис. 2* показывают, что в равных условиях поглощение озона происходит в растворах  $\text{NaCl}$  так же, как и в пресной воде. Морские и солоноватые воды наряду с упомянутыми выше солями содержат незначительное количество йодида и заметные количества бромидов, обычно 30-60 мг/л [11]. Низкое содержание солей йода позволяет не учитывать его присутствие при обработке воды озоном. Для проверки влияния соединений брома были поставлены специальные опыты, результаты которых представлены на *рис. 2* кривой 3. Видно, что содержание  $\text{Br}^-$  в растворе практически не влияет на растворение и концентрацию озона в растворе. В связи с более высокой реакционной способностью фенола поглощение озона его растворами происходит гораздо быстрее, чем в его отсутствии. Поэтому его концентрация в растворе  $[\text{O}_3]_p$  и сопряженная с ней концентрация озона на выходе из реактора  $[\text{O}_3]_{\text{вых}}$  заметно меньше, чем в отсутствие фенола. Разница между  $[\text{O}_3]_{\text{вход}}$  и  $[\text{O}_3]_{\text{вых}}$  соответствует расходу озона, затраченному на разрушение фенола. Интенсивность разрушения фенола при этом вполне сопоставима с его разрушением при использовании озона в процессах подготовки питьевой воды [4] и наличие минеральных солей в воде, включая хлориды и бромиды, не оказывает заметного влияния на процесс обесфеноливания воды. Вторым негативным моментом для оценки эффективности озона могло стать его быстрое разрушение в растворе и, как след-



**Рис. 2.** Зависимость концентрации озона на входе и выходе из реактора, содержащего: 1- пресную воду; 2 – раствор  $\text{NaCl}$ , 3,9 г/л; 3 – раствор  $\text{NaCl}$ , 9 г/л +  $\text{KBr}$  4 г/л; 4 – раствор фенола, 0,1 г/л в пресной воде; 5 – раствор фенола, 0,1 г/л и  $\text{NaCl}$ , 9 г/л в пресной воде.

ствие, уменьшение активной доли, способной реагировать с микрофлорой, убивая или инактивируя ее. Опубликовано довольно много работ, описывающих угнетающее действие продуктов реакции озона с примесями в воде на микрофлору [15, 16], но отсутствуют прямые опыты, позволяющие оценить, насколько эффективно бактерицидное действие самого озона в растворах хлоридов. Полезность такой оценки основана на том, что для гибели бактерий в озонированной воде требуется значительное время (обычно 5 – 15 мин) и высокая концентрация озона (около 5 мг/л или выше). Суммы этих показателей может не хватить в соленой воде из-за уменьшения концентрации озона ниже порогового значения. Были поставлены опыты, в которых суспензия морских бактерий *Pseudoalteromonas espejiana* обрабатывалась озоном в водно-солевом растворе. Микробную культуру выращивали непосредственно перед опытом в чашке Петри при комнатной температуре (23 °С). Клетки осаждали центрифугированием (15 мин, 4200 об/мин), супернатант удаляли, осадок бактерий ресуспендировали при помощи миксера в солевой среде, суспензию еще раз центрифугировали, супернатант удаляли, а осадок бактерий еще раз ресуспендировали в солевой среде.

**Озонирование бактерий.** В барботажный реактор помещали 5 мл солевой среды и пропускали через нее озono-кислородную смесь ( $[\text{O}_3] = 2,2 \times 10^{-4}$  моль/л) в течение 10 мин. Затем в реактор вводили 10 мкл суспензии

бактерий в солевой среде и продолжали озонирование еще 10 мин. Далее из реактора отбирали 200 мкл смеси в стерильную пробирку с 1,8 мл VAL-бульона и 40 мкл 10 % стерильного раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  в воде. Тиосульфат натрия добавляли, чтобы остановить дальнейшее окисление компонентов клеток [16]. Параллельно готовили контрольный образец. Для этого к 5 мл солевой среды добавляли 10 мкл суспензии бактерий в солевой среде, из этой смеси отбирали 200 мкл, переносили их в стерильную пробирку, добавляли 1,8 мл VAL-бульона и 40 мкл раствора тиосульфата. Озонированный и контрольный образцы титровали. В результате титрования найдено, что в контрольном образце число колоний было равно  $\sim 10^4$ , для разведений 0, 1, 2, 3, соответственно, 1057, 101, 11. Отсюда исходный титр бактерий в солевой среде равен  $5 \times 10^8$  КОЕ/мл, а исходный титр в реакторе в момент введения –  $10^6$  КОЕ/мл.

В озонированном образце число колоний было равно 1, 2, 1, 2 для разведений 0, 1, 2, 3, соответственно. Поскольку число колоний не зависит от разведения, ясно, что эти колонии являются просто «шумом» от остаточной нестерильности. По-видимому, все бактерии в образце были убиты озоном (рис. 3). Повторный просмотр этих чашек через 3 сут подтвердил, что все колонии на чашке с озонированным образцом происходят от примесных бактерий иной природы.

Динамику поведения озона в системе, содержащей микрофлору, иллюстрируют данные рис. 4. Глубокий минимум в начальные моменты наблюдения характеризует расход озона на его растворение в объеме введенного образца, реакции с липидами клеточных мембран, с другими компонентами клеток и с остатками питательной среды.

На более поздних отрезках времени можно видеть, что кривые, характеризующие зависимости  $[\text{O}_3]_{\text{вых}} = f(t)$ , различаются незначительно. Этот факт представляется важным, поскольку он позволяет заключить, что клеточная мембрана является эффективным

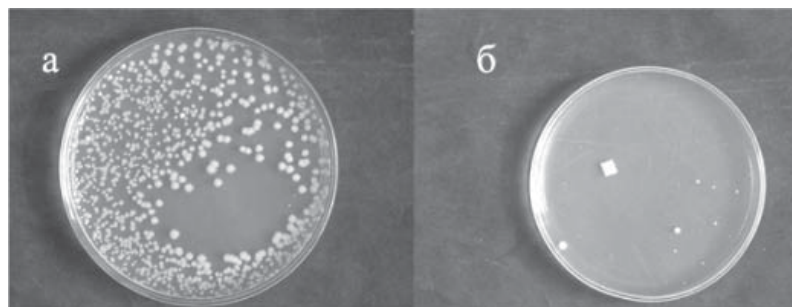


Рис. 3. Вид чашек Петри с колониями бактерий: а) – исходная проба, б) – разведение; в) – после озонирования.

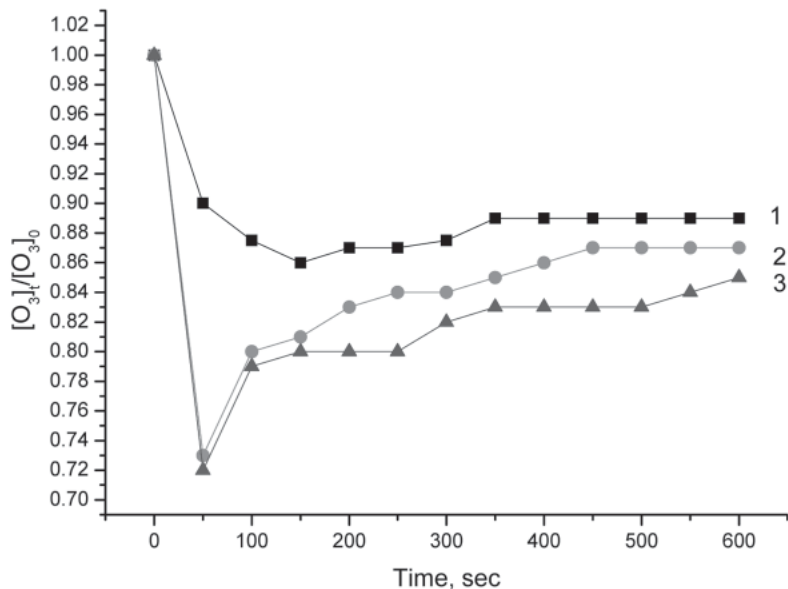


Рис. 4. Динамика изменения концентраций озона на выходе из реактора с раствором  $\text{NaCl}$  (9 г/л); 1 – с 0; 2 – с 0,1 мл; 3 – с 1 мл бактериальной суспензии.

препятствием для проникновения озона в клетку. Мутность раствора с суспензией бактерий до и после обработки его озоном заметно не изменилась, что согласуется со сказанным выше и позволяет сделать заключение об отсутствии заметного лизиса бактериальных клеток.

## Заключение

В итоге можно отметить, что проведенная в работе опытная проверка способности озона разрушать органические примеси в воде и обеззараживать ее показала, что озон, растворенный в водах, содержащих  $\text{NaCl}$  в больших и малых концентрациях, сохраняет свои наиболее ценные качества, оставаясь эффективным детоксикантом и бактерицидным агентом.

## Литература

1. Kobayshi T. Closed circulatory system for mariculture using ozone / T. Kobayshi, N. Youtsumoto, T. Ozawa, H. Kawamura // *Ozone Sci. Eng.* 1993. V. 15. P. 311-330.
2. Liltved H. Ozonation and UV-irradiation // In.: *Recirculating Aquaculture Systems*. NRAC Publications № 01 002, Cayuga Aqua ventures. NY. 2001. P. 351-382.
3. Hill A.G. Handbook of ozone / A.G. Hill, R.G. Rice // N-Y: Wiley, 1982. V. 1. Sec. 2. P. 64.
4. Драгинский В.Л. Озонирование в процессах очистки воды / В.Л. Драгинский, Л.П. Алексеева, В.Г. Самойлович. М.: ДеЛи принт, 2007. 385 с.

5. American Public Health Association (APHA), American Water Works Association (AWWA) and WPCF. Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th Ed. // APHA, AWWA, and WPCF, Washington, D.C.: 1992. 338 P.

6. Liltved H. Inactivation of bacterial and viral fish pathogens by ozonation or UV-irradiation in water of different salinity // H. Liltved, H. Hektoen, H. Efraimsen // *Aquacult. Eng.*, 1995. V. 14. № 2. P. 107-122/

7. Sugita H. Application of ozone disinfections to remove enterococcus sereolisida, *Pastuerilla piscicida* and *Vibrio anguillarum* from seawater / H. Sugita, T. Asai, K. Hayashi, T. Mitsuya, K. Amanmura, C. Maruyama and Y. DeGuchi // *Appl. Environ. Microbiol.* 1992. V. 58. № 12. P. 4072-4075.

8. Blogoslowskii W.J. Water treatment by ozone in comparison with chlorination water chlorination: environmental impact and health effects // *Ann. Arbor (MI): Ann. Arbor. Sci.*, 1980, V. 3. P. 487-498.

9. Разумовский С.Д. Механизм и кинетика реакции озона с хлоридом натрия в водных растворах. / С.Д. Разумовский, М.Л. Константинова, Т.В. Гриневиц, Г.В. Коровина, В.Я. Зайцев // *Кинетика и Катализ.* 2010. Т. 51. № 4. С. 517-521.

10. Андреев В.М. Новый метод трансфекции морской бактерии *Pseudoalteromonas espejiana* дезоксирибонуклеиновой кислотой бактериофага PM2 / В.М. Андреев, Э.М. Гоникберг, Н.В. Кузнецова // *Генетика.* 2006. Т. 42. № 7. С. 898-903.

**Ключевые слова:**  
минерализованные  
воды,  
озон,  
микрофлора,  
хлорид натрия,  
фенол

11. Разумовский С.Д. Особенности озонирования морской воды. Механизм и кинетика реакции озона с хлоридом натрия в водных растворах. / С.Д. Разумовский, Т.В. Гриневиц, Г.В. Коровина // *Вода: химия и экология.* 2012. № 4. С. 33-38.

12. Леванов А.В. Растворимость и кинетика химических реакций озона в водных растворах хлорида натрия / А.В. Леванов, И.В. Кусков, Э.Г. Антоненко, В.В. Лунин // *Журн. физ. химии.* 2008. Т. 82. № 12. С. 2271-2276.

13. Haag W.R. Ozonation of water containing chlorine or chloramines / W.R. Haag, J. Hoigne // *Water Res.* 1983. V. 17. № 10. P. 1397-1402.

14. Разумовский С.Д. Механизм первой стадии реакции разложения озона в водных растворах хлорида натрия в свете новых данных о составе продуктов / С.Д. Разумовский, Т.Е. Гриневиц, Г.В. Коровина // *Доклады РАН.* 2010.Т. 434. № 4. С. 493-495.

15. Herwig R.P. Ozone treatment of ballast water on the tanker S/T tonsina: chemistry, biology, and toxicity / R.P. Herwig, J.R. Cordell, J.C. Perrins, C.A. Dinnel, R.W. Gensemer, W.A. Stubblife, G.M. Ruiz, J.A. Kopp, M.L. House, W.J. Cooper // *Marine Ecology Progress Series.* 2006. V. 324. P. 37-55.

16. Schneider K.R. Ozone disinfections of *Vibrio Vulnificus* in Africal seawaters / K.R. Schneider, F.S. Steslow, F.S. Sierra, G.E. Rodrick, C.I. Noss // *Ozone Sci. Eng.* 1990. V. 12. № 4. P. 423-436.



S.D. Razumovskiy, V.M. Andreev, T.V. Grinevich, M.L. Konstantinova, G.V. Korovina, N.V. Kuznetsova

## PERFORMANCE EVALUATION OF OZONE APPLICATION FOR DISINFECTION AND DETOXICATION OF MINERALIZED WATER

Ozone behaviour and effect on organic compounds were studied in water systems partaking of mineral salts basically chlorides. Comparison of ozone activities in fresh and mineralized water was carried out. It was shown that ozone is capable of actively destructing toxic organic contaminants and inactivating microbes despite lesser ozone stability in mineralized water.

**Key words:** mineralized waters, ozone, microflora, sodium chloride, phenol.