

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Тольяттинский государственный университет»

Институт химии и инженерной экологии

(наименование института полностью)

Кафедра «Рациональное природопользование и ресурсосбережение»

(наименование кафедры)

18.04.01 Химическая технология

(код и наименование направления подготовки)

Экобиотехнология

(направленность (профиль))

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

на тему: Разработка способа применения спорообразующих бактерий-биодеструкторов для микробиологической стабилизации системы вентиляции и кондиционирования здания

Студент

С.В. Широкова

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

Научный

М.В. Кравцова

(И.О. Фамилия)

(личная подпись)

руководитель

Руководитель

программы

к.х.н., д.т.н., доцент, С.В. Афанасьев

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

(личная подпись)

« ____ » _____ 2018г.

Допустить к защите

Заведующий кафедрой

к.п.н., доцент, М.В. Кравцова

(ученая степень, звание, И.О. Фамилия)

(личная подпись)

« ____ » _____ 2018г.

Тольятти 2018

Оглавление

Введение.....	5
Глава 1. Теоретический анализ проблемы загрязнения воздуха в помещении через системы вентиляции и кондиционирования	9
1.1 Вентиляционная система как источник патогенов.....	9
1.2 Анализ микробиологического воздействия воздушной среды на человека в современных общественных зданиях с принудительной системой вентиляции и кондиционирования	12
1.1.2 Плесень, как биологический фактор развития «синдрома больного здания»	16
1.3 Современные методы очистки воздуха в системе механической вентиляции и внутри помещения	19
1.3.1 Воздушные фильтры.....	19
1.3.2 Электростатические воздухоочистители.....	20
1.3.3 Фотокаталитические воздухоочистители	21
1.3.4 Ионизация воздуха.....	21
1.3.5 UV- обработка	22
1.3.6 Микробиологическая обработка систем вентиляции и кондиционирования	24
Выводы по 1 главе.....	32
Глава 2. Разработка системы распыления биологического препарата пробиотика в системе общеобменной вентиляции.....	33
2.1. Существующие методы распыления жидкостей	33
2.1.1 Гидравлическое распыление.....	33
2.1.2 Механическое распыление.....	35
2.1.3 Пневматическое распыление	38
2.1.4 Электростатическое распыление.....	38
2.1.5 Испарительный метод	39
2.1.6 Выбор оптимального метода распыления	40
2.1.7 Ультразвуковое распыление жидкости	40
2.2 Разработка системы распыления биологического препарата	46

Выводы по 2 главе	49
Глава 3. Экспериментальная апробация разработанной системы распыления.....	50
3.1 Выбор методик для исследования контроля микробиологических факторов в системе вентиляции общественных зданий	50
3.1.1 Отбор транспортировка и хранение проб.....	50
3.1.2 Подготовки проб к исследованию и проведению микробиологического анализа.....	51
3.1.3 Методика исследования на выявление бактерий <i>Legionella</i>	52
3.1.4 Приготовление питательных сред и растворов	54
3.1.5 Проведение микробиологического анализа <i>Legionella</i>	55
3.2 Санитарно-микробиологическое исследование рабочих поверхностей до и после обработки препаратом пробиотика	55
3.2.1 Результаты исследования	57
3.2.2 Заключение по результатам исследования рабочих поверхностей до и после обработки биопрепаратом пробиотика	61
3.3 Санитарно-микробиологическое исследование выделенных культур с рабочих поверхностей методом <i>in vitro</i>	62
3.3.1 Результаты исследования <i>in vitro</i>	64
3.3.2 Заключение результатов исследования <i>in vitro</i>	66
3.4 Санитарно-микробиологическое исследование на грибы и дрожжи выделенных с рабочих поверхностей методом <i>in vitro</i>	67
3.4.1 Результаты исследования	69
3.4.2 Заключение результатов исследования <i>in vitro</i> на грибки и дрожжи	72
3.5 Санитарно-микробиологическое исследование <i>in vitro Legionella</i> ..	72
3.5.1 Результаты исследования	73
3.5.2 Заключение результатов исследования <i>in vitro Legionella</i>	78
Выводы по 3 главе.....	79
Глава 4. Алгоритм работы системы распыления и определение оптимального режима	80
4.1 Алгоритм работы системы распыления биопрепарата в составе приточно-вытяжной вентиляционной установки	80

4.2 Оптимальный режим работы системы.....	82
4.3 Ограничение сфер применения	84
Выводы по 4 главе.....	85
Заключение	86
Список используемых источников.....	89

Введение

Актуальность проблемы исследования: в современном мире при строительстве зданий важным критерием оценки качества проекта являются высокие показатели энергоэффективности. Безусловно, применение новейших материалов и энергоэффективных решений позволяет экономить значительную часть энергоресурсов. В связи с этим здания проектируются герметичными, а приток воздуха происходит только посредством систем вентиляции. Соответственно система вентиляции, при отсутствии санитарно-гигиенических мероприятий, может стать источником патогенной микрофлоры в обслуживаемых помещениях, что приведет к отрицательным последствиям для здоровья человека.

В настоящее время в сфере производства климатического оборудования применяются системы фильтрации и обеззараживания воздуха на начальном этапе обработки воздуха, в самой климатической установке. Качественные показатели воздуха в разветвленных сетях системы вентиляции не анализируются. Существуют установки инактивации микроорганизмов в самом помещении, которые не обеспечивают экономические требования, так как требуют высоких капитальных вложений.

Положительная динамика урбанизации и индустриализации не способствует рассмотрению экологических аспектов. Требования к соблюдению критериев экологичности является одной из основных задач современного общества и, как следствие, сохранение здоровья человека. Часто при решении тех или иных проблем человечество обращается к принципу естественных механизмов работы в природе. Данный подход, как никогда подходит к решению проблемы экологии внутри здания, ведь в окружающем мире тысячелетиями происходят естественные процессы очистки и поддержания микробиологического баланса.

В современной микробиологии давно известны возможности применения сапрофитной микрофлоры, которая в процессе своей жизнедеятельности вырабатывает биологически активные вещества (БАВ), оказывающие подавляющее действие на рост патогенных микроорганизмов, злокачественных опухолей и стабилизирующие различные патологические и биохимические процессы в организме человека. Одной из наиболее распространённых в этой сфере групп бактерий являются микроорганизмы рода *Bacillus*.

Применение бактерий данного рода осуществляется в разных отраслях от пищевой промышленности до биотехнологий и генной инженерии. Эти микроорганизмы технологичны в производстве, стабильны при хранении и экологически безопасны.

Независимо от места обитания бактерии создают устойчивые микробные сообщества, образующие биопленку. Для длительного существования биопленки необходимо поддержание таких факторов, как наличие питательной среды, влажности и безопасности. Система вентиляции общественных зданий обеспечивает все эти благоприятные факторы для возникновения как патогенной биопленки, так и непатогенной. Но в силу антропогенного воздействия риск возникновения именно патогенной пленки в сети воздуховодов общественных зданий достаточно велик.

Таким образом, применение микробиологических препаратов пробиотиков может создать достойную альтернативу существующим системам очистки воздуха и создать благоприятный микробиологический баланс в системах вентиляции и кондиционирования общественных зданий.

Проблема исследования: отсутствие мониторинга микробиологического состояния систем вентиляции и кондиционирования здания и дальнейшего влияния микробиологического дисбаланса на здоровье человека.

Цель работы: снижение уровня негативного воздействия на здоровье человека на основе разработки системы распыления биопрепарата в системах вентиляции и кондиционирования общественных зданий.

Объект исследования: система вентиляции и кондиционирования административного здания ООО «РОДОС», расположенного по адресу г. Тольятти, ул. Ботаническая 3б.

Предмет исследования: микробиологическое состояние систем вентиляции и кондиционирования административного здания ООО «РОДОС».

Задачи для достижения поставленной цели:

1. Проанализировать проблемы загрязнения воздуха и современные методы его очистки в помещениях общественных зданиях.
2. Разработать эффективную систему распыления биопрепарата для центральной системы вентиляции и кондиционирования здания на примере административного здания ООО «РОДОС».
3. Экспериментальная апробация разработанной системы и действия биопрепарата.

Научная новизна исследования состоит в разработке системы распыления биопрепарата для применения в общеобменной системе вентиляции и кондиционирования общественного здания.

Теоретическая значимость исследования состоит в анализе существующих методов борьбы с отрицательными микробиологическими факторами внутри системы вентиляции и обслуживаемого помещения, выбора оптимального способа распыления биопрепарата.

Практическая значимость исследования: стабилизация микробиологического состояния систем вентиляции и создание положительного микробиологического баланса, противостоящего распространению патогенной микрофлоры. Разработка системы применения

биопрепарата на основе бактерий биодеструкторов и экспериментальная апробация предложенной разработки в общественном здании.

Научные статьи и материалы научных конференций

1) Широкова С.В., Заболотских В.В., «Перспективы применения спорообразующих бактерий рода *Bacillus* как средства «гигиены» системы вентиляции здания» Ресурсосбережение и экологическое развитие территорий: сборник материалов I Всероссийской научно-практической конференции /по ред. М.В.Кравцовой, С.В.Афанасьева. — Тольятти: Изд-во Тольяттинского государственного университета, 2017. – 184 с.

Защищаемые положения: разработанная система распыления биопрепарата на основе бактерий биодеструкторов рода *Bacillus* для применения в системе вентиляции и кондиционирования общественных зданий.

Структура магистерской диссертации обусловлена логикой и последовательностью изложения полученных результатов и решения поставленных задач исследования. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованных источников, включающего 59 наименований. Объем работы составляет 94 страницы машинописного текста, содержит 18 рисунков и 14 таблиц.

Глава 1. Теоретический анализ проблемы загрязнения воздуха в помещении через системы вентиляции и кондиционирования

1.1 Вентиляционная система как источник патогенов

Современное административное, общественное здание, согласно нормативным документам, должно быть оснащено системой вентиляции. Под понятием вентиляции понимается: обмен воздуха в помещениях для удаления избытков теплоты, влаги, вредных и других веществ с целью обеспечения допустимого микроклимата и качества воздуха в обслуживаемой или рабочей зоне [1]. По способу побуждения движения воздуха разделяют на естественную и механическую систему вентиляции. Воздухообмен при естественной вентиляции происходит за счет разности давлений внутри и снаружи здания, при механической за счет разности давлений, создаваемых вентилятором. Но, как известно, система вентиляции является благоприятным местом обитания множества микроорганизмов и грибков. Фильтры, дренажные поддоны, теплообменники и сеть воздуховодов обеспечивают все условия для их жизнедеятельности. Особенно опасны механические воздушные фильтры при повышенной влажности, в этом случае механизм размножения патогенной микрофлоры становится более активным.

С каждым годом создается угроза для здоровья людей новыми лекарственно устойчивыми бактериями, вирусами и патогенами. Что требует соответственного и своевременного контроля. Система вентиляции играет одну из главных ролей во время вспышек инфекционных заболеваний.

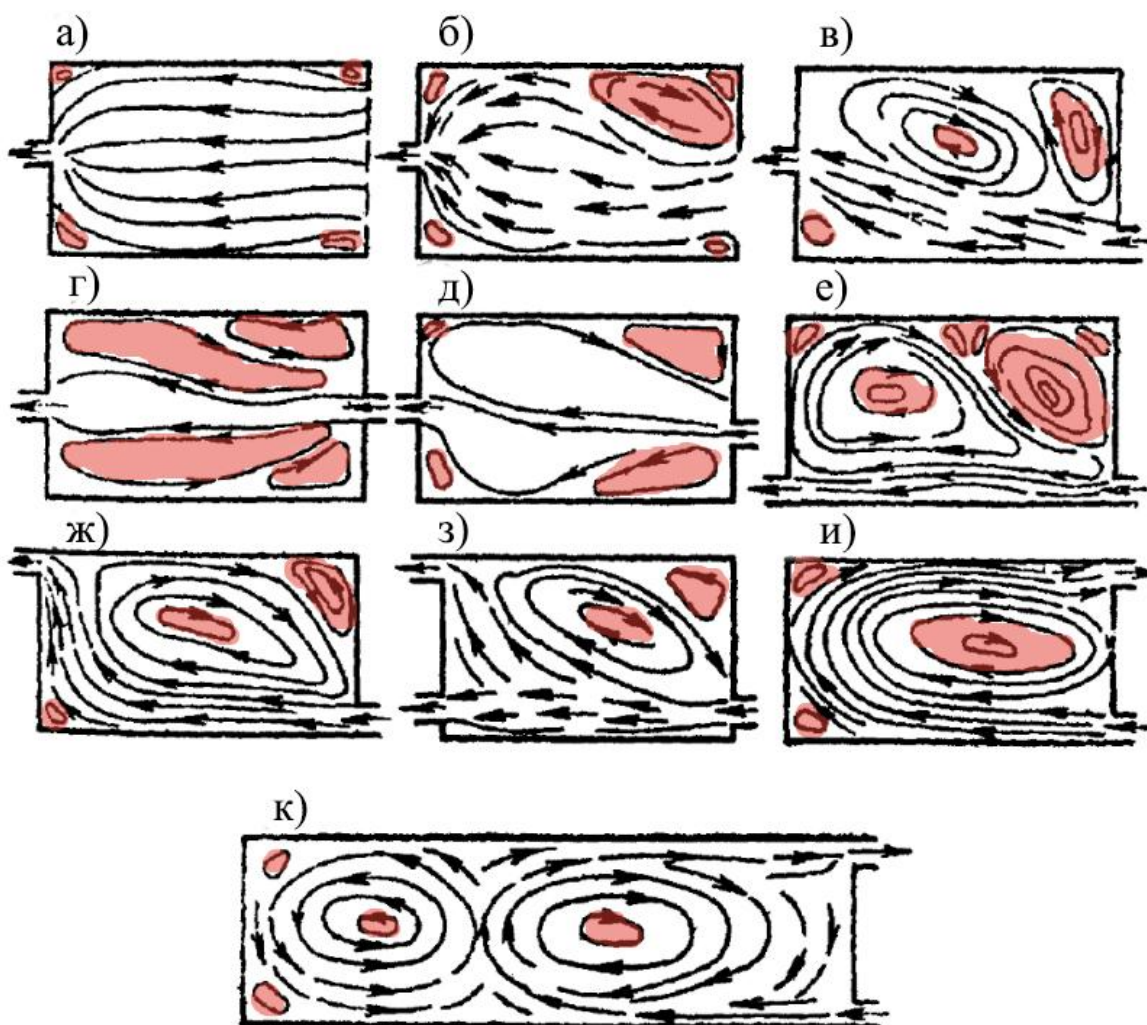


Рисунок 1- Схема движения воздуха в вентилируемых помещениях

При несоответствующей организации воздухообмена, в помещении появляются застойные зоны (Рисунок 1, выделено цветом) в которых концентрация вредных веществ может быть превышена. Вследствие чего в рабочей зоне требуемые параметры качества воздуха будут не обеспечены.

До открытия антибиотиков, вентиляция здания была одним из трех факторов в контроле инфекционных заболеваний, остальными двумя были гигиена и естественное освещение помещения. После начала применения антибиотиков, внимание к этим трем факторам уменьшилось, так как считалось, что инфекционные заболевания побеждены.

На данный момент во всем мире существует проблема резистентности бактерий к антибиотикам [2]. В 2010 году Европейский центр по профилактике и контролю заболеваний опубликовал результаты исследования по инфекционным заболеваниям. По результатам исследования

было заключено, что микроорганизмы, устойчивые к антибиотикам, являются важной угрозой для здоровья людей во всем мире [3]. В 2011 году Всемирная организация здравоохранения сообщила, что ситуация достигла критической точки. Единственной защитой, в этот пост-антибиотический период, стало предупреждение инфекции и их контроль. Таким образом, инфекционные заболевания становятся еще более серьезной проблемой общественного здравоохранения. И многие из них - это болезни внутренней среды помещения.

Для контроля инфекций (инфекции дыхательных путей), необходимо знать, принцип их распространения. Начиная с 1930-х годов, были признаны три механизма передачи: контактный, пылевой, воздушно-капельный.

Большие респираторные капли от кашля и чихания могут вызывать загрязнение окружающей среды, при попадании на горизонтальные поверхности, они могут образовывать часть вирусного или бактериального компонента пыли. К примеру, стафилококк, как и многие опасные патогены, может выживать в течение нескольких месяцев в компоненте пыли [4], при этом частички пыли подхватываются воздушным потоком и попадают в систему вентиляции здания. Потенциально все патогенные микроорганизмы, которые колонизируют или реплицируют в дыхательных путях, могут вызывать инфекции, переносимые по воздуху [5].

Значимость роли рациональной системы вентиляции доказывает случай в больнице, где больные заражались загрязненной золотистым стафилококком пылью из систем механической вентиляции [6]. Рассматриваемая система работала периодически, с 16⁰⁰ до 8⁰⁰ часов. Во время отключения систем механической вентиляции создавалась обратная тяга, за счет разности давлений внутри здания и снаружи. Таким образом, воздушный поток, проходя через воздухораспределительные решетки и заражаясь, был втянут в систему приточной вентиляции. Вследствие чего, при включении системы вентиляции загрязненный воздух был распространен по всем палатам. Только благодаря тщательной регулярной механической

очистке всей системы вентиляции и непрерывному циклу работы, дальнейшие вспышки инфекции золотистого стафилококка удалось предотвратить [7].

Как показывают исследования, системы вентиляции во многих больницах не работают должным образом из-за нарушенной конструкции или ненадлежащего обслуживания [8]. Эти факторы были связаны с несколькими вспышками туберкулеза и вспышками грибковых инфекций [9] [10]. В ОАЭ причиной вспышки MRSA (Метициллин-резистентный *S.aureus*), как показало последующее расследование, стала загрязненная система вентиляции и кондиционирования, а именно патогенная накопленная пыль внутри воздуховодов [11].

Большая часть проводимых в мире исследований осуществляется в медицинских учреждениях, так как данные организации подвергаются более серьезному нормативному контролю со стороны надзорных служб. Но опасность бактериального загрязнения охватывает все сферы жизни людей, поэтому важно уделять внимание системам вентиляции и кондиционирования общественных и административных зданий в том числе [12].

1.2 Анализ микробиологического воздействия воздушной среды на человека в современных общественных зданиях с принудительной системой вентиляции и кондиционирования

Микроорганизмы являются формой организации живой материи. Их отличием является многочисленность, жизнеспособность, повсеместная распространенность, широта сфер взаимодействия с абиогенными и биогенными компонентами. Микроорганизмы могут вступать с живым организмом в различные взаимоотношения – от симбиоза до паразитизма. Микрофлору воздуха условно делят на постоянную, наиболее часто встречающуюся, и переменную, представители которой, попадая в воздух из своего места обитания, недолго остаются жизнеспособны. При качественном

микробиологическом анализе воздушной среды выявляются пигментообразующие кокки, грибы, палочки, актиномицеты, дрожжи, спороносные бациллы, клостридии и другие микроорганизмы, устойчивые к высушиванию и свету. В воздушной среде городов количество микроорганизмов больше, чем в открытой сельской местности. Наименьшее количество микроорганизмов содержится в воздухе над лесами и морями. Так как в атмосферном воздухе постоянно происходят процессы самоочищения за счет осадков, инсоляции, температурных воздействий и других факторов.

В среднем люди проводят около 90 % своего времени в помещении [13]. Поэтому внутренний микроклимат и биологическая обстановка является ключевым моментом для обеспечения оптимальных параметров для жизнедеятельности человека. В воздухе закрытых помещений микроорганизмов значительно больше, чем в открытых воздушных пространствах, особенно при недостаточном проветривании. Состояние микрофлоры воздуха закрытых помещений однообразно и относительно стабильно. Среди микроорганизмов, зачастую, доминируют обитатели носоглотки человека, в том числе патогенные виды, попадающие в воздух при кашле, чихании или разговоре. К ним можно отнести стафилококки, стрептококки, дифтероиды, пневмококки, менингококки, различные вирусы и др. Основным источником загрязнения воздуха патогенными видами — бактерионосители. Уровень микробного загрязнения напрямую зависит от числа людей, пребывающих в помещении, состояния их здоровья, активности перемещения людей, санитарного состояния помещения, в том числе пылевой загрязнённости, вентиляции, частоты проветривания, способа уборки, степени освещённости и других факторов.

Учеными обнаружено 383 вида бактерий и 28 родов микроскопических грибов, выделенных из воздуха. Попадая в благоприятную среду, бактерии, микроскопические грибы активно переходят в фазу размножения, поражая все доступные поверхности. Общую обсемененность воздуха можно

понизить регулярным проветриванием и тщательной влажной уборкой. При отсутствии этих процедур самоочищение воздуха в закрытых помещениях не происходит.



Рисунок 2 – Основные факторы загрязнения помещения

В погоне за строительством энергоэффективных зданий и применении современных изоляционных материалов, помещение внутри становится герметичным, что позволяет сэкономить энергетические ресурсы, но ухудшает качество воздуха и повышает риски развития «синдрома больного здания» из-за недостаточного естественного притока воздуха. Синдром больного здания (СБЗ) (Sick building syndrome, SBS) данный термин используется для описания ситуации, когда люди в здании (помещении) испытывают проблемы со здоровьем и элементы дискомфорта, не связанные с проявлением конкретной болезни. По результатам исследований, проведенных в Швеции, синдром больного здания вызван недостаточной вентиляцией, химическими загрязнителями из внутренних или наружных источников и биологическими загрязнителями (бактерии, плесень, пыльца, вирусы). Люди в здании (помещении) могут жаловаться на такие симптомы, как сенсорное раздражение глаз, носа, горла, раздражение кожи, неспецифические реакции гиперчувствительности, запах и вкусовые

ощущения, увеличение числа случаев заболеваний в целом или их обострения, общие нейротоксические проблемы со здоровьем. После того как человек покинет здание, симптомы проходят и появляются вновь при повторном посещении этого места [14].

СБЗ был определен эмпирически на основе отчетов о случаях, когда жители конкретного здания описывали подобные симптомы, которые были отнесены к проблемам внутреннего климата в помещении [15]. СБЗ представляет собой больше групповое явление, чем синдром, а индивидуальная диагностика довольно затруднительна. Создание здоровой и комфортной окружающей среды является основополагающим для контроля и предотвращения возникновения опасности для здоровья.

По данным Всемирной организации здравоохранения подсчитано, что до 30% новых и реконструированных зданий по всему миру могут быть связаны с СБЗ [16]. Комплексное исследование, проведенное в Великобритании на 4373 служащих в 42 общественных зданиях, показало, что у 29% исследованных было пять или более характерных симптомов СБЗ [17]. По результатам исследования на 600 служащих в США стало известно, что 20% сотрудников испытывают симптомы «больного здания», и большинство из них убеждены в том, что это оказывает влияние на эффективность работы [18]. Кроме того, исследование 1390 работников в 5 современных общественных зданиях в Квебеке, Канада показало, что 50% работников испытывали данные симптомы [19]. Это явление может возникать и в других зданиях, таких как школы, детские сады и жилой сектор [20].

Факторы риска для развития «синдрома больного здания» представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Факторы риска для развития «синдрома больного здания»

Факторы				
Физические	Химические	Биологические	Индивидуальные	Другие
Параметры теплового комфорта	Строительные и бытовые изделия	Плесень	Пол	Наличие насекомых и грызунов
Параметры связанные с вентиляцией здания	Формальдегид	Бактерии и микроорганизмы	Состояние здоровья	Использование дезинфекционных продуктов
Шум, вибрация	Фталаты	Летучие органические соединения	Возраст	
Дневной свет	Искусственные минеральные волокна	Пыль		
Эл.магнитные поля	Летучие химические вещества			
Ионность	Запахи			
Эргономичность				

1.1.2 Плесень, как биологический фактор развития «синдрома больного здания»

Плесень является важной составляющей экосистемы нашей планеты, обеспечивающей разложение многих органических веществ, необходимых для жизни растений, животных и человека. Тем не менее, чрезмерное воздействие плесени является проблемой для здоровья людей на протяжении многих-многих лет. Начиная от незначительных аллергических реакций и обострения астмы, к повреждению головного мозга. Плесень существует в частных домах, офисных зданиях, школах, автомобилях и других местах, где не соблюдается должный контроль.

Ключевым фактором к ограничению воздействия плесени является предотвращение ее появления, роста и дальнейшего распространения.

Плесень является наиболее типичной формой гриба, содержащей приблизительно 25% биомассы Земли [21]. Плесень повсеместна, и является важным разлагающим органическим веществом, необходимым для поддержания жизнедеятельности растений и животных [22]. Она состоит из нитевидных клеток, называемых гифами. В соответствующих условиях гифы будут перерастать в длинные переплетающиеся струны, которые образуют основное тело гриба или мицелия. Плесень размножается бесполым и вегетативным способом, посредством спор. Плесени также могут распространяться, если фрагмент гиф попадает в область с достаточной влажностью и органическими веществами [23].

Плесень высоко адаптируема. Большинство плесени, содержащейся в воздухе в помещении, является сапротрофной, получая свою пищу из мертвого влажного органического вещества, такого как дерево, бумага, краска, ткань, растительная почва, пыль и приготовленные или сырые продукты.

Плесени могут расти на поверхности влажного неорганического вещества, такого как стекло и голый бетон, покрытый тонкой биопленкой [24].

Некоторые плесени могут прорасти за 4-12 часов [25]. При отсутствии внешних воздействий плесень может расти и распространяться в течение 24-72 часов [26].

Повышенная влажность окружающей среды в результате ненадлежащего воздухообмена, намокание поверхностей, нерегулярное проведение санитарных процедур внутри помещения, создают условия риска прорастания плесени [27].

Споры плесени могут выживать в течение многих лет в сухих или горячих средах.

Все виды плесени способны оказывать отрицательное воздействие на здоровье людей, такие как воспаление, аллергия, или развитие инфекции. Тяжесть воздействия зависит от типа и количества присутствующей плесени, а также от восприимчивости и чувствительности человека, подверженного её воздействию. Люди подвергаются воздействию плесени посредством приема ее внутрь, ингаляции и контакта с кожей.

В работе проведен анализ компонентов плесени, которые, вызывают негативную реакцию у людей.

Летучие органические соединения. Это химические вещества, образующиеся при прорастании плесени. Летучие органические соединения также обеспечивают запах и специфичный вкус продуктов, зараженных плесенью. Воздействие высоких уровней летучих органических соединений, может раздражать слизистые оболочки и воздействовать на центральную нервную систему, вызывая такие симптомы, как головные боли, невнимательность, неспособность сосредоточиться и головокружение.

Аллергены. Из-за наличия аллергенов на спорах, все плесени могут вызвать аллергическую реакцию у восприимчивых людей [28]. Аллергические реакции, являются наиболее распространенным симптомом воздействия плесени. Эти реакции могут варьироваться от легких, таких как слезотечение, насморк, раздражение горла, кашель и чихание; к тяжелым, хроническим заболеваниям, таким как синусит и астма.

Микотоксины. Некоторые виды плесени способны продуцировать микотоксины, природные органические соединения, которые способны инициировать токсический ответ у позвоночных. Плесени, потенциально производящие микотоксины, включают определенные виды: *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Stachybotrys* и *Trichoderma* [29]. В настоящее время конкретные условия, которые способствуют выделению микотоксинов, до конца не изучены.

Степень воздействия на человека зависит от состояния его здоровья, восприимчивости к болезням и организма, с которым он контактировал, а также продолжительности и тяжести воздействия [30].

В докладе Национальной академии наук, озаглавленном «Очистка воздуха: астма и влияние внутреннего воздуха», опубликовано, что имеются достаточные доказательства, свидетельствующие о связи между воздействием плесени и обострением астмы у лиц, которые сенсibilизированы к этой болезни [30].

Несмотря на отсутствие государственных или федеральных норм и правил, касающихся влияния плесени на качество воздуха в помещениях, плесени являются причиной различных заболеваний, связанных с дыхательными путями человека.

В современных зданиях 70-80%, обнаруженных проблем связаны с плесенью. Такой результат объясняется, прежде всего, неквалифицированными строительными работами, использованием некачественных материалов и повышенной герметичностью зданий. Повышенная воздухопроницаемость новостроек и офисных зданий может привести к задержке влаги в ограждающих конструкциях, создавая условия для развития плесени. В зданиях, в которых существует проблема плесени, центральные системы вентиляции и кондиционирования воздуха собирают загрязняющие вещества и рециркулируют их по всему объему помещений.

1.3 Современные методы очистки воздуха в системе механической вентиляции и внутри помещения

1.3.1 Воздушные фильтры

Механическая очистка воздуха является наиболее распространённым и дешевым методом воздействия на приточный воздух в системах вентиляции. К данному способу относятся воздушные фильтры. Механические воздушные фильтры представляют собой первую ступень очистки

приточного воздуха от крупной пыли. Нормативно рекомендуется применение фильтров сверхтонкой очистки, несмотря на то, что они имеют высокие гидравлическое сопротивление, стоимость и короткий срок службы [32].

К таким устройствам относятся фильтры HEPA (High Efficiency Particulate Arrestance - Высокоэффективная Задержка Частиц). Данные фильтры выполнены из пористого материала в состав, которого входит бумага и стекловолокно. Такой фильтр эффективно задерживает частицы размером от 0,3 микрон и больше. HEPA-стандарт предусматривает очистку воздуха с эффективностью 99,97%.

Воздушные фильтры тонкой очистки подходят для очистки воздуха от частиц пыли и бактерий размером от 1 до 10 мкм. Отрицательной стороной данного метода является то, что, накапливая пыль, влагу и бактерии, по истечении времени фильтры становятся источником патогенной микрофлоры.

Также к недостаткам механических фильтров можно отнести высокую стоимость обслуживания. Спустя несколько месяцев эксплуатации фильтр запляется и нуждается в замене. Особенностью применения данных фильтров являются высокие потери давления воздушного потока, проходящего через это устройство. И как следствие, к необходимости применения вентилятора большей мощности и повышенными шумовыми характеристиками, что приводит к отрицательному экономическому эффекту.

1.3.2 Электростатические воздухоочистители

Очищение воздуха происходит за счет создания устойчивого электростатического поля между двумя пластинами под напряжением, благодаря чему происходит осаждение частиц. Такие фильтры улавливают, только частицы способные приобретать заряд.

К недостатку устройств относят генерацию озона. ПДК озона в воздухе рабочей зоны составляет 0,1 мг/м³ [33]. Запах озона ощущается человеком при концентрации озона 0,01 мг/м³. В норме, при соответствующей эксплуатации, выделение озона электростатическими фильтрами не превышает 0,02 мг/м³. Опасность для человека возникает, если в воздухе помещения с данным устройством присутствуют химические загрязнители (оксид азота- выхлопы автотранспорта), которые вступают в реакцию с озоном и образуют более опасные соединения. Дополнительными недостатками являются - низкая производительность устройств и высокие капитальные затраты.

1.3.3 Фотокаталитические воздухоочистители

Данный вид фильтров разработан и активно внедряется японской фирмой Daikin. Сущность метода заключается в том, что компоненты органической природы не аккумулируются в фильтре, а при воздействии ультрафиолетового излучения в присутствии фотокатализатора (диоксид титана) распадаются до безвредных веществ (H₂O, CO₂). Фотокаталитические фильтры активны по отношению бактерий, вирусов, пыльцы, спор грибов, газообразных загрязнений, таких как табачный дым, фенол, формальдегид, сероводород и др., мелкодисперсной пыли, при этом эффективность устройства не зависит от выработки фильтра. Недостатком данного метода является необходимость дополнять его либо воздушным фильтром, либо электростатическим, так как по отношению к крупнодисперсной пыли, неорганического происхождения, он неэффективен.

1.3.4 Ионизация воздуха

Сущность метода состоит в генерации отрицательно заряженных ионов в воздухе помещения, полученных в результате возникновения разряда на электродах. Отрицательные ионы притягивают к себе частички пыли, аллергены, бактерии и оседают на пол, не попадая в легкие человека. При

выключении устройства, осевшая пыль теряет свой заряд и поднимается с потоками воздуха обратно.

1.3.5 UV- обработка

Применение ультрафиолетового излучения является наиболее актуальным методом инактивации вирусов, бактерий и грибков. Бактерицидным свойством обладает ультрафиолетовое излучение с диапазоном длин волн 205–315 нм, которое вызывает деструктивно-модифицирующее фотохимическое повреждение ДНК клеточного ядра микроорганизма.

Ультрафиолетовая санация воздушной среды осуществляется при помощи ультрафиолетового излучательного оборудования, действие основано на пропускании электрического разряда через разреженный газ (включая пары ртути), которым заполнен герметичный корпус, вследствие чего происходит излучение.

Для повышения эффективности использования бактерицидные лампы встраивают в бактерицидные облучатели. Бактерицидный облучатель – электротехническое устройство, состоящее из бактерицидной лампы (ламп), пускорегулирующего аппарата, отражательной арматуры и ряда других вспомогательных и элементов [34].

По конструктивному исполнению их разделяют на три группы: открытые, комбинированные и закрытые. Облучатели открытого типа устанавливают в помещении на потолок или стену и их использование возможно только при отсутствии людей. Комбинированные – крепят к стене и могут быть дополнительно оснащены отражателями, в конструкцию входят две бактерицидные лампы, разделенные экраном так, чтобы бактерицидный поток от одной лампы проникал в нижнюю зону помещения, от другой – в верхнюю зону. У закрытых облучателей, второе их название рециркуляторы (широко распространены устройства компании «Дезар»), лампы расположены в замкнутом корпусе облучателя и бактерицидный поток

циркулирует в пределах корпуса, поэтому данный тип может применяться, когда в помещении находятся люди. Особое внимание уделяется расположению ультрафиолетовой установки, так как проникновение лучей должно быть максимально на все поверхности, но 100% облучение недоступно, так как остаются теневые зоны.

К отдельному классу приборов относится бактерицидное оборудование в составе вентиляционной установки (кондиционирования воздуха) - блоки обеззараживания воздуха, которые входят в состав центральных кондиционеров общепромышленного, медицинского и гигиенического исполнения и дополнительно оснащены воздушным фильтром. Они выпускаются в составе кондиционеров общепромышленного, медицинского и гигиенического исполнения.

Время работы ультрафиолетовой установки, за которое достигается требуемый бактерицидный эффект: закрытый тип - 1–2 часа; открытый и комбинированный 0,25–0,5 часа; для систем приточно-вытяжной вентиляции 1 час и более. Перед применением необходимо провести предварительную очистку поверхностей, в частности при контакте с влагой.

При работе бактерицидной установки выделяется озон. Его наличие при определенных концентрациях в воздушной среде опасно для здоровья человека. При ультрафиолетовой обработке, необходим контроль концентрации озона в воздухе и увеличение кратности воздухообмена на разбавление вредностей.

Основные параметры, влияющие на работу систем UV – обеззараживания [35]:

1. При относительной влажности более 80 % эффективность действия снижается на 30 % из-за эффекта экранирования микроорганизмов.
2. Присутствие пыли на колбах ламп и отражателей облучателя снижает эффективность до 10 %.

3. При температуре окружающей среды менее 10 ° С или более 40 °С значение бактерицидного потока ламп уменьшается на 10 % номинального.

4. При температуре менее 10 °С затрудняется зажигание ламп и увеличивается распыление электродов, что ведет к сокращению срока службы ламп.

5. Каждое включение ламп, уменьшает общий срок службы установки на 2 часа.

6. Синтетические фильтровальные элементы, прокладки, резина, обмотки электродвигателей, электроизоляция, внутренняя изоляция воздухопроводов, пластиковые трубы, должны быть расположены на расстоянии не менее 1,8 м, либо защищены от УФ-излучения, для того чтобы избежать повреждения.

1.3.6 Микробиологическая обработка систем вентиляции и кондиционирования

Микробиологическая обработка нацелена на создание стабильной микрофлоры, противопоставленной среде неестественной абсолютной стерильности. Важным недостатком дезинфицирующих средств является неспецифическое действие этих веществ, убивающих как благоприятные, так и патогенные микроорганизмы. В результате чего, образуется абсолютно чистая поверхность, на которой впоследствии происходит быстрая ре-колонизация патогенных бактерий. Следовательно, дезинфекция дает быстрый, но короткий и нестабильный эффект сокращения числа микроорганизмов.

Применение бактерий биодеструкторов является надежным решением проблем, связанных с устойчивостью болезнетворных микроорганизмов, опасных для здоровья человека, к традиционным дезинфицирующим средствам. Идея действия основана на концепции «управления средой на микробиологическом уровне», благодаря чему не требуется ее стерилизации,

но при этом сохраняется и поддерживается стабильная и положительная микрофлора. Такое состояние среды достигается за счет использования пробиотических микроорганизмов биодеструкторов. Они являются безопасными и благоприятными бактериями, которые широко применяются в пищевой промышленности и здравоохранении. В течение последнего десятилетия на основе живых микробных культур спорообразующих бактерий создано множество медицинских препаратов для профилактики и лечения заболеваний желудочно-кишечного тракта. Прогрессивными микроорганизмами в данной сфере являются бактерии рода *Bacillus*. Данные бактерии подробно изучены в современной медицине, микробиологии, биохимии и генетике, и в свою очередь являются продуцентами биологически активных веществ, таких как ферменты, антибиотики, инсектициды. Они широко распространены в живой природе, обладают высокой устойчивостью к воздействию химических, физических агентов и патогенности, с момента обнаружения данных микроорганизмов были признаны самой выносливой формой жизни на Земле среди известных. После проведения масштабных исследований установлено, что бактерии данного рода являются одной из доминирующих групп в культивируемом гетеротрофном микробном сообществе озера Байкал.

Споры характерны отсутствием метаболизма в состоянии покоя с высокой степенью устойчивости к инаktivации физическими воздействиями, такими как влажный пар, высушивание, гамма- и ультрафиолетовое излучение, создание вакуума и влияние окисляющих агентов. Но даже при отсутствии метаболизма споры способны к контролю пищевого состояния окружающей их среды и обладают быстрой реакцией при обнаружении питательных веществ, прорастая и возобновляя вегетативный рост. Также некоторые штаммы рода *Bacillus* способны выдерживать высокие или низкие температуры и различные показатели рН среды, что допускает их широкое коммерческое использование.

Особенности бактерий рода *Bacillus*. Этот род насчитывает 77 видов [36], и объединяет в большую группу строго аэробных или факультативно анаэробных грамположительных хемоорганотрофных микроорганизмов палочковидной формы, образующих термоустойчивые эндоспores. Типовой вид – *B. subtilis* (Ehremberg) Cohn 1872, 174 [37]. Род *Bacillus* в основном связан с почвой, но его представители также выделяются из воды, пыли и воздуха. Микроорганизмы *Bacillus* отличаются высоким и различным спектром биологической активности. Зачастую обладая явным антагонизмом к патогенным микроорганизмам, они продуцируют ряд ферментов, лизирующих крахмал, пектины, целлюлозу, жиры, белки, производят различные аминокислоты и антибиотики [38].

Особенностью спорообразующих бактерий рода *Bacillus* является:

- высокая способность приспособиться к условиям внешней среды;
- существование, как при наличии, так и при отсутствии воздуха;
- развитие и рост колоний в значительном диапазоне температур;
- использование в качестве источников питания различных органических и неорганических соединений.

Все эти свойства спорообразующих аэробных бактерий способствуют их распространению в почве, воде, воздухе, пищевых продуктах и других объектах внешней среды, а также в организме человека и животных [37]. Обширное распространение бактерий рода *Bacillus* способствует их разнообразная биологическая активность – комплекс свойств, благодаря которым эти микроорганизмы играют существенную роль в процессах круговорота веществ в природе. Управление по контролю за качеством продовольственных и лекарственных средств США, присвоило *Bacillus subtilis* статус GRAS (generally regarded as safe) - безопасных организмов, данное условие является обязательным для применения этих бактерий в производстве лекарственных препаратов

Препараты на основе живых непатогенных бактерий, способные оказывать при естественном способе введения благоприятные эффекты на

физиологические и биохимические функции организма хозяина через оптимизацию его микробиологического статуса, относят в настоящее время к препаратам - пробиотикам [39]. На основе живых бактерий рода *Bacillus*, созданы препараты - пробиотики, которые безвредны для макроорганизма, имеют широкий диапазон лечебно-профилактического действия и экологическую безопасность.

Бельгийскими учеными из Гентского университета были проведены крупные исследования, направленные на снижение роста нозокомиальных инфекций у пациентов, находящихся на лечении в больницах, путем обработки поверхностей препаратами со спорообразующими бактериями рода *Bacillus*. Результатом стало снижение патогенных бактерий таких как: *Coliform* на 50%; *S.aureus* на 80%; *Clostridium* на 90% по сравнению с результатами до начала применения бактерий-биодеструкторов рода *Bacillus* (Рисунок 3,4).

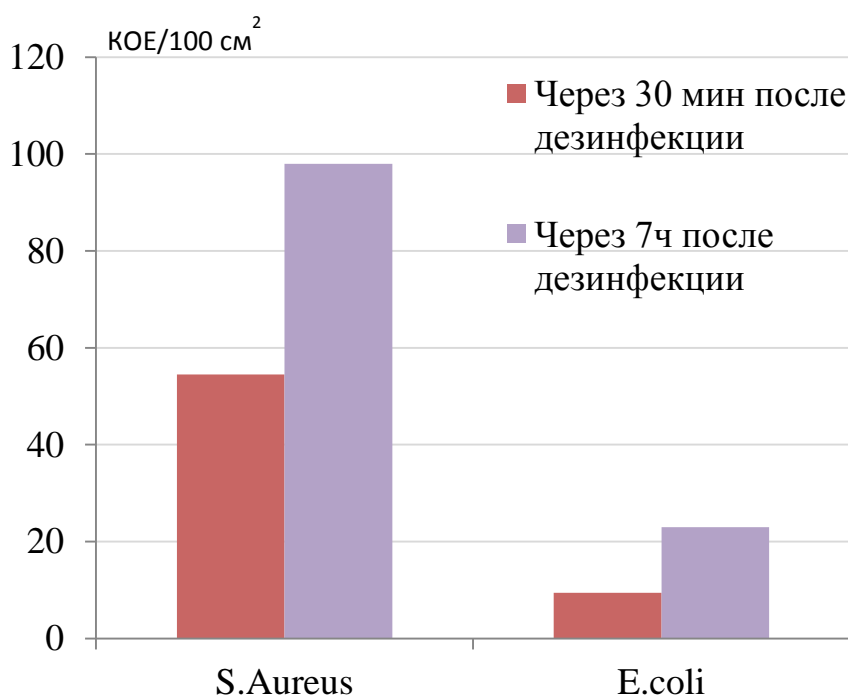


Рисунок 3- Рост патогенной микрофлоры после химической дезинфекции

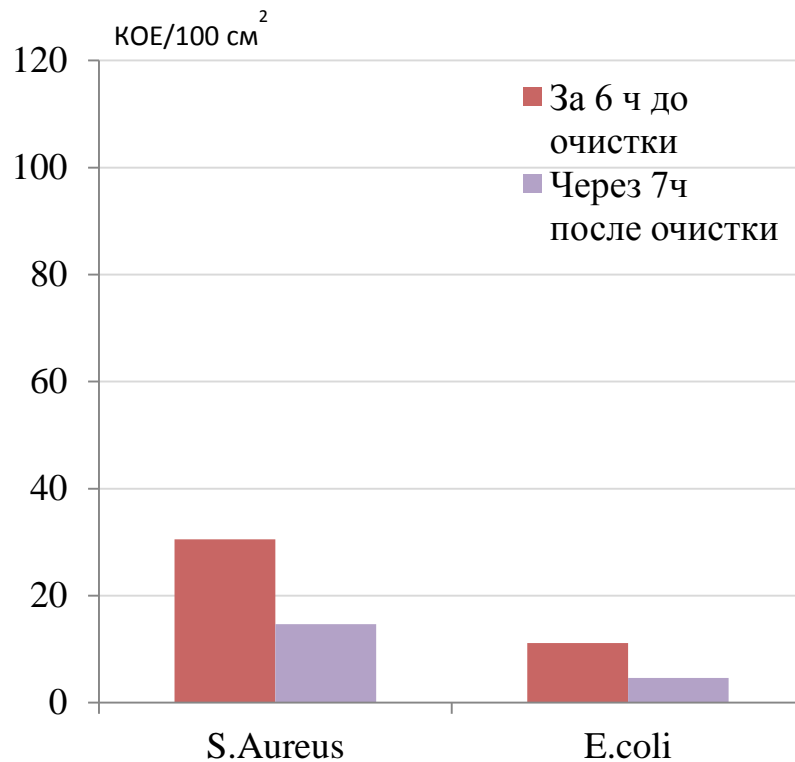


Рисунок 4- Состояние патогенной микрофлоры до и после препарата пробиотика

Также российскими учеными на основе бактерий рода *Bacillus* и других спорообразующих микробов получено около 25 наименований препаратов. Применение пробиотиков на основе бацилл является непатогенным и безвредным, не обладает аллергенностью и токсигенными свойствами.

Рассматриваемые бактерии имеют уникальную способность спорообразования. Благодаря этому процессу становится возможным выживание этих бактерий в суровых для них условиях и способствует их восстановлению, как только параметры окружающей среды нормализуются. Механизм действия основан на принципе «конкурентного ингибирования» в сочетании с влиянием на разобшение патогенных организмов через способность к «чувству кворума». Бактерии биодеструкторы попадая на поверхность, распространяются, увеличивая свою численность. Далее они поглощают все источники питания, в том числе и мертвый органический материал путем некротрофии, проявляя конкуренцию перед потенциальным патогеном, стремящимся найти пространство для обитания и пищу. Помимо конкурентного вытеснения, осуществляется воздействие и на «чувство

кворума». Что представляет собой быстрый способ передачи информации бактерий друг другу посредством сигнальных молекул. При попадании бактерий биодеструкторов на поверхность, патогенные микроорганизмы, посылают друг другу сигнал о наступлении неблагоприятных условий, и переходят в пассивное метаболическое состояние. В таблице 2 перечислен основной спектр активности биопрепарата пробиотика.

Таблица 2 - Спектр активности пробиотиков на основе спорообразующих микроорганизмов рода *Bacillus*

Действие	Процессы
Подавление роста патогенных и условно-патогенных микроорганизмов	Синтез веществ, обладающих антибиотическими свойствами, снижение рН среды, высокая конкурентная способность в процессе размножения.
Антитоксическое действие	Дезинтеграция высокомолекулярных белков. Способность связывать тяжелые металлы.
Антиаллергическое действие	Расщепление аллергенов на биологически инертные субъединицы.
Восстановление эндогенной микрофлоры, коррекция микробиоценоза	Филогенетическая общность представителей нормальной симбионтной микрофлоры.

Преимуществом микробиологической очистки является стабильное решение проблем с патогенными микроорганизмами и отсутствие устойчивости патогенов. Требованием к применению данного способа является регулярная обработка поверхностей при наличии постоянного притока патогенов. Сравнение основных параметров современных установок очистки воздуха приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Сравнение основных параметров современных установок очистки воздуха в бытовом секторе

Особенности и преимущества	Система с пробиотиком	Воздушный фильтр HEPA	Электростатический фильтр	Фотокаталитический фильтр	Ионизация воздуха	УФ-обработка
Очищает вент.каналы и поддерживает их в чистоте	+					
Инактивирует бактерии и аллергены	+	+	+	+		+
Инактивирует только патогенные бактерии	+					
Устраняет неприятный запах	+		+		+	
Проникает в любое пространство и на любую поверхность	+					
Одна установка устраняет патогены внутри всех помещений	+					

Продолжение таблицы 3

Простое оборудование и низкие эксплуатационные расходы	+	+				
100% биоразлагаемость	+					
Безопасность при контакте с человеком	+	+			+	

Выводы по 1 главе

1. В первой главе проведен теоретический анализ проблемы загрязнения воздуха в помещении через системы центральной вентиляции и кондиционирования. Установлены основные факторы отрицательного воздействия внутренней среды на человека в помещении, к которым относятся твердые частицы, летучие органические вещества и биоаэрозоли. На сегодняшний день основное внимание направлено на механическую очистку воздуха и его полное обеззараживание на первоначальном этапе обработки в климатической установке, что в свою очередь не исключает развитие патогенной микрофлоры в системе вентиляции здания в дальнейшем.

2. В ходе анализа методов очистки воздушной среды, выбран оптимальный метод подавления отрицательных факторов воздействия на человека – микробиологический метод конкурентного ингибирования с применением бактерий биодеструкторов на основе бактерий рода *Bacillus*. В состав биопрепарата входят: споры 5 видов бактерий рода *Bacillus* (*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*), стабилизирующий раствор, вода. Данные бактерии продуцируют биологически активные метаболиты, в том числе антибиотики и ферменты широкого спектра действия, подавляющие рост патогенной, условно-патогенной бактериальной и грибной микрофлоры.

Глава 2. Разработка системы распыления биологического препарата пробиотика в системе общеобменной вентиляции

2.1. Существующие методы распыления жидкостей

В данной работе необходимо разработать эффективную систему борьбы с патогенными микроорганизмами в системе вентиляции и кондиционирования общественного здания, путем применения бактериоцидов, так как в общественных и административных зданиях одним из основных факторов риска вредного воздействия на человека является именно микробиологический фактор.

Все современные способы распыления основаны на использовании различных видов энергии. На рисунке 5 приведены основные методы распыления жидкостей.



Рисунок 5 – Основные методы распыления жидкости

2.1.1 Гидравлическое распыление

При гидравлическом распылении основным фактором энергетического воздействия, приводящим к распаду жидкости на капли, является давление

нагнетания [40]. Жидкость, проходя через рассеивающее устройство, обретает высокую скорость и образует форму, позволяющую достичь быстрого распада потока (аэрозоль, струя, в зависимости от назначения распыляющего устройства). Данный процесс осуществляется благодаря применению форсунок. Форсунки по своей конструкции и принципу действия подразделяются на:

- струйные;
- с соударением струй;
- ударно-струйные;
- центробежные;
- центробежно-струйные;
- комбинированные.

Форсунки струйного типа представляю собой насадку с цилиндрическим отверстием, под действием перепада давления поток жидкости рассеивается, образуя полидисперсный факел.

Принцип действия форсунок с соударением струй заключается на противодействии цилиндрических струй, исходящих из соответствующих насадок. Тем самым результирующий поток радиально растекается и образует пленку, которая распадается на капли.

В форсунках ударно-струйного типа применяется отражательный элемент, который расположен напротив выхода струи. Принцип образования капель основан на соударении струи и отражательного элемента. Геометрия факела зависит от конструкции отражателя и в основном представляет форму полого конуса.

Для придания потоку жидкости вращательного движения, применяют центробежные форсунки, имеющие тангенциальные входные отверстия либо шнек. При движении потока в сопле, жидкость перемещается вдоль его стенки, образуя пленку. В центре сопла создается воздушный вихрь, далее при выходе, жидкостная пленка распадается на факел в форме полого конуса.

Особенностью центробежно-струйных форсунок является взаимодействие двух подводимых потоков в смесительной камере. Одному потоку придается вращательное движение, второй поток подается осевой струей. Центробежная энергия передается второй струе, частично раскручивая ее. В итоге объединенный результирующий поток на выходе из сопла распадается, формируя факел в виде заполненного конуса.

Объединение каких-либо принципов действия вышеперечисленных форсунок в один корпус, определяет тип комбинированной форсунки.

На сегодняшний день, самым распространённым типом форсунки является струйный с цилиндрическим отверстием [40].

Гидравлический способ распыления является самым простым и энергоэффективным способом распыления, так как на распыление 100 кг жидкости в среднем необходимо от 0,2 до 0,4 кВт электроэнергии. Данный способ подходит для применения в процессах, где отсутствуют строгие ограничения по монодисперсности получаемого факела жидкости. А также при отсутствии необходимости:

- мелкодисперсного распыла;
- распыления высоковязких сред;
- распыления жидкостей с малым расходом.

Данный способ распыления широко распространён в системах вентиляции и кондиционирования, а именно в приточно-вытяжных установках в секциях адиабатического увлажнения воздуха, благодаря простоте реализации этого процесса. Но для распыления малого количества биопрепарата данный способ нецелесообразен.

2.1.2 Механическое распыление

При данном методе распыления увеличивают площадь удельной поверхности жидкости, путем образования тонких жидких нитей или пленок. И одновременно создают высокую скорость движения разбрызгиваемой жидкости относительно окружающей среды, т. е. значительных

аэродинамических сил, действующих на жидкость. Тонкие жидкие нити и пленки неустойчивы и легко распадаются под действием этих сил. Силы вязкости, сказывающиеся при быстрых деформациях жидкости, тормозят распад ее на мелкие частицы. Турбулентные пульсации скорости жидкости способствуют, как и внешние силы, ее распаду на мелкие частицы. Образовавшиеся под действием внешних сил и турбулентных пульсаций мелкие частицы жидкости принимают сферическую форму под действием сил поверхностного натяжения. В результате при распылении жидкости образуется множество мелких капелек, размер которых в зависимости от условий распада может варьировать от долей микрона до нескольких миллиметров [41]

При механическом способе распыления, поток жидкости принимает энергию вследствие возникающих сил трения о быстровращающуюся поверхность. Далее в жидкости происходит завихрение и под действием центробежных сил поток сходит в виде струи или пленки, разбиваясь на капли.

При классификации механических распылителей необходимо учитывать два основных признака, определяющих механизм течения и дробления жидкости: способ ее подвода и конструкцию рабочего элемента [42].

По способу подвода жидкости механические распылители делятся на устройства с непосредственной подачей жидкости на рабочий элемент и погружные. По конструкции рабочего элемента можно выделить дисковые, чашечные, конусные, звездочные, сопловые и реактивные распылители.

Принцип работы механических распылителей с дисковым, чашечным, конусным и звездочным элементами аналогичен. Под действием центробежных сил распыляемая жидкость течет по рабочему элементу и разбрызгивается за его пределами [42].

Форма образующегося газожидкостного факела и все его характеристики при механическом распылении определяются конструкцией

и классом рабочего элемента. Исключения составляют распыляющие устройства, в которых рабочий элемент приводится во вращение за счет энергии самой распыляемой жидкости (прежде всего реактивные распылители), так как привод и рабочий элемент в них представляют единые устройства [42].

Формы рабочих элементов обусловлены требованием создания равномерно расположенной по смоченному периметру тонкой пленки и образования определенного факела распыленных частиц с минимальной разницей в размерах. Рабочие элементы формируют пленку жидкости и режим ее течения, предопределяя степень ее турбулизации и внутренние пульсации, от которых зависит качество дробления [42].

Дисковые рабочие элементы распылителей дают возможность получить обширный факел, но обладают значительным вентиляционным эффектом, и в случае применения их вентиляционной установке это становится их недостатком, так как может возникнуть лишнее сопротивление потоков. Также нельзя отнести к достоинствам крупный размер данных установок.

Также широко используются погружные рабочие элементы. Погружные диски выполняются гладкими и лопастными, с конструктивной возможностью установки нескольких дисков на общем валу. Из-за того, что жидкость распределяется неравномерно по площади не погруженной части, в конструкции необходимо предусматривать дополнительные устройства.

Данный способ является достаточно затратным (около 1,5 кВт на распыление 100 кг жидкости) и получаемый аэрозоль не является мелкодисперсным. Приведенный метод применяется в случаях распыления высоковязких жидкостей при отсутствии возможности применения других вариантов.

2.1.3 Пневматическое распыление

Данный способ применяется для получения мелкодисперсного аэрозоля. Распыление жидкости происходит за счет динамического взаимодействия жидкости с потоком газа.

Поток жидкости распадается за счет соударения со стремительным потоком газа, который выходит из сопла со скоростью равной 50-300 м/с, при этом скорость жидкости намного меньше. Из-за возникающих сил трения между потоками, струя жидкости вытягивается и распадается на аэрозоль.

К положительным сторонам рассматриваемого способа распыления относятся:

- состав полученного аэрозоля монодисперсный со средним диаметром капель порядка 100–200 мк;
- возможность распыления жидкости меньше зависит от расхода жидкости;
- простота и надежность эксплуатации;
- возможность распыления вязких жидкостей.

К недостаткам пневматического способа распыления относятся:

- повышенный расход энергии на распыление (50–60 кВт на 1 т жидкости);
- необходимость создания пневмопотока (агент и оборудование для создания потока газа), что сужает область применения данного метода;
- высокая дисперсия диаметров капель получаемого аэрозоля.

2.1.4 Электростатическое распыление

Действие данного способа основано на том, что жидкости до момента истечения или во время истечения сообщают электростатический заряд [43]. Далее кулоновские силы оказывают воздействие на пленку жидкости, в результате чего она распадается на капли определенных размеров, при которых силы взаимного отталкивания капель равны силами поверхностного

натяжения. Электризация жидкости происходит за счет подвода потенциала к штуцеру распылителя, электростатической индукцией, коронным разрядом и другими способами, данный процесс реализуется в специализированных форсунках.

К недостаткам электростатического распыления относятся:

- возможное губительное действие заряда на компоненты биологического препарата;
- дорогостоящее специализированное оборудование;
- высокая энергоемкость распыления жидкости;
- малая производительность;
- сложность обслуживания.

2.1.5 Испарительный метод

Данный метод получил широкое распространение в вентиляционном оборудовании для подготовки воздуха, а именно его увлажнения. Принцип основывается, на прохождении потока воздуха через смоченную поверхность (матерчатые, либо бумажные кассеты), при этом воздух охлаждается и увлажняется, унося с собой водяной аэрозоль. Данный метод достаточно экономичен, так как энергия затрачивается только на рециркуляцию смачивающей жидкости.

Однако отрицательной стороной данного способа является отсутствие возможности количественного и качественного контроля полученного аэрозоля. А также высокое аэродинамическое сопротивление, что приводит к увеличению мощности вентилятора. Распыление биопрепарата испарительным методом ведет к существенному перерасходу данной жидкости, а в случае разбавления препарата, например, водой снижается его эффективность.

2.1.6 Выбор оптимального метода распыления

Из анализа приведенных методов распыления жидкости следует, что все способы обладают рядом недостатков, которые ограничивают их возможности и вызывают значительное снижение эффективности распыления биологического препарата.

Задача подбора системы распыления, которая обеспечивала бы однородное распыление при малых расходах биопрепарата и не оказывала на него отрицательное воздействие, на основе традиционных методов затруднительна.

Также важна мелкодисперсность, экономичность и управляемость системы распыления. КПД распыления приведенных устройств составляет сотые доли процента. Под этим понятием понимается доля энергии, необходимая для получения новой поверхности (жидкостной пленки), от общих энергозатрат на распыление единицы объема жидкости. Уменьшение диаметра капли ведет к повышению удельных энергозатрат, т.е. снижению КПД распыления. Управление системой должно быть полностью автоматизировано и интегрировано в общую систему управления вентиляционной установкой для осуществления мониторинга и предотвращения аварийных ситуаций.

Одним из перспективных методов распыления в фармацевтической и химической отрасли является ультразвуковое распыление.

2.1.7 Ультразвуковое распыление жидкости

Способ ультразвукового распыления основан на наложении высокоинтенсивных механических колебаний на поверхностную пленку жидкости, за счёт чего происходит образование аэрозоля.

Преимуществами ультразвукового способа распыления жидкостей, по сравнению со способами, приведенными выше, являются [44]:

- низкие энергозатраты;
- применение на малых расходах жидкости;

- высокая производительность процесса;
- мелкодисперсное распыление;
- монодисперсное распыление;
- возможность распылять высоковязкие жидкости без применения дополнительного распыляющего агента;
- небольшие габариты.

Эти достоинства позволяют применять ультразвуковое распыление жидкости в медицине, химической, радиоэлектронной и металлообрабатывающей промышленности.

Акустическая энергия может оказывать воздействие на зону распыления, как со стороны жидкости, так и со стороны газа. Существует следующая классификация способов акустического распыления жидкости [44]:

1. Распыление жидкости с подведением энергии к рабочей зоне через газ.
2. Распыление жидкости с подведением энергии к рабочей зоне через жидкость:
 - а) распыление жидкости в фонтане (высокочастотные ультразвуковые колебания);
 - б) распыление жидкости в слое (низкочастотные УЗ колебания);

Распространённым методом распыления является способ с подведением акустической энергии к рабочей зоне через газ с применением газоструйных излучателей. При этом факел распыла имеет высокую дисперсность капель (18-260 мкм) в области ультразвуковых методов создания аэрозоля и применяется для обеспечения требований высокой производительности.

Распыление жидкости с подведением акустической энергии к рабочей зоне через жидкость разделяет на: высокочастотное (1–3 МГц) и низкочастотное (22–200 кГц) [45].

Принцип распыления жидкости высокочастотными ультразвуковыми колебаниями заключается в направленном из глубины жидкости мощных высокочастотных ультразвуковых волн. На поверхности образуется «ультразвуковой фонтан» монодисперсного аэрозоля с размером капель 2-4 мкм.

Для создания ультразвуковых колебаний применяют фокусирующие излучатели с резонансной частотой 1–3 МГц в виде вогнутых фокусирующих пьезоэлектрических пластин. Данное устройство достаточно компактно, имеет низкие энергетические затраты и невысокую производительность не более 0,2 л/час. Сферой применения данных устройств является медицинская и фармацевтическая отрасль для получения высококачественных аэрозолей и при спектральном анализе жидкостей [46].

При создании ультразвукового распыления в слое стоячие капиллярные волны образуются на поверхности слоя жидкости, покрывающей колеблющуюся поверхность [47]. При увеличении амплитуды колебаний поверхности амплитуда волн увеличивается, достигая максимальной величины, при которой происходит, отрыв капель с поверхности жидкости.

Для распыления в слое, частота ультразвуковых колебаний должна составлять от десятков до сотен кГц; диаметр капель аэрозоля лежит в диапазоне от единиц до сотен микрон и зависит от частоты ультразвуковых колебаний, а производительность одного устройства достигает 800 мл/сек [47].

Толщина слоя жидкости над колеблющейся поверхностью пьезоэлемента, является конечной величиной и не может превышать значение, при котором распыление прекращается [46] При очень тонких слоях жидкости над поверхностью пьезоэлемента распыление прекращается.

Таким образом, для эффективной работы ультразвукового распылителя, необходимо обеспечение достаточного слоя жидкости над колебательным элементом. При применении различных жидкостей величина этого слоя колеблется и определяется экспериментально.

Эффективность ультразвукового способа значительно выше, а энергоёмкость меньше, чем у остальных методов распыления. Это обусловлено развитием кавитации, которую как нелинейный эффект можно представить в качестве трансформатора мощности, в котором энергия акустических колебаний, относительно медленно запаасающаяся в течение периода разрежения, освобождается за короткий отрезок времени при схлопывании пузырька с образованием ударной волны [48]. Энергия ударной волны значительно выше энергии первичной ультразвуковой волны, поэтому за счет такого преобразования мощности ультразвуковых колебаний возможно осуществлять распыление при минимальных энергозатратах.

Несмотря на указанные достоинства кавитационного возбуждения капиллярных волн, на сегодняшний день мало изучены последствия влияния колебаний на микроорганизмы, бактерии и их споры. Для распыления данным методом биопрепаратов, содержащих определенные бактерии или их споры необходимо проведение экспериментов, подтверждающих безопасность воздействия ультразвука на биопрепарат.

Известно, что при воздействии ультразвуковых волн частотой 1 МГц и интенсивности 0,2-0,3 Вт/см² начинается разрушение клеток одноклеточной водоросли. Эти разрушения имеют механическую природу. Пороговая интенсивность ультразвука зависит от типа клеток, на которых оказывают воздействие и от частоты ультразвука.

Например, порог разрушающего воздействия ультразвука для клеток одной из популяций элодеи равен 75 Вт/см² при частоте равной 0,65 МГц, а для двух других популяций элодеи губительная для клеток минимальная интенсивность равна 180 Вт/см² при частоте 5 МГц. Особенность дезинтеграции клеток получила широкое применение в биотехнологии, и биохимических и вирусологических исследованиях для выделения отдельных веществ или фрагментов клеток, а также в лабораторной диагностике для определения механической резистентности клеточных мембран [49].

Ультразвуковая инактивация спор бактерий *Bacillus subtilis* по данным исследования [49] при воздействии с характеристиками ультразвука - 20 кГц, 300 кПа, 70 ° С, в течение 12 минут, при длине волны 90 мм составила 75% популяции спор *B. subtilis*, такая же обработка при длине волны равной 150 мм инактивировала 99,9% популяции.

Химические изменения при воздействии ультразвука начинаются при интенсивности от долей Вт/см² до сотен Вт/см², при частотах от 1 кГц до нескольких МГц. Кроме химических изменений, в зависимости от интенсивности и временного периода облучения, на биологические объекты оказывается механическое воздействие [50]. При достаточно малых интенсивностях (до 2—3 Вт/см²) и частоте порядка 10⁵—10⁶ Гц колебания частиц создают своеобразный микромассаж тканевых элементов, улучшающий обменные процессы [51]. В определенном интервале интенсивностей происходящие биологические эффекты ультразвука обратимы. Верхняя граница этого интервала 0,1 Вт/см² при частоте 0,8-2 МГц принята в качестве порогового значения [52]. Превышение этой границы приводит к выраженным деструктивным изменениям в клетках. Эти изменения обусловлены кавитацией газовых пузырьков в клетке, которая может привести к ее механическому повреждению и полной инактивации. Также ультразвук оказывает влияние на клеточные мембраны и может приводить к их механическому изменению, нарушению внутреннего состава живой клетки, менять концентрацию веществ, растворенных в цитоплазме [53]. Кратковременное воздействие УЗ волн может не оказать никакого воздействия на биологический объект, но у каждого объекта свой порог чувствительности, который определяется экспериментально. При продолжительном облучении УЗ последствия сохраняются, некоторый период времени после прекращения воздействия, и жизнедеятельность клетки может не нормализоваться даже через несколько дней [54]. Наиболее вероятным из всех последствий влияния ультразвука является разрыв клеточных мембран и нарушение целостности клетки [55]. Доказано, что

максимально разрушителен для микроорганизмов низкочастотный ультразвук, т.к. мощная низкочастотная ультразвуковая волна способна механически разрывать клеточные мембраны и приводить к гибели клеток [53]. Но даже при низких частотах для разрушения необходима высокая интенсивность ультразвука. Длительное воздействие относительно больших интенсивностей (3—10 Вт/см²) как правило, приводят к отрицательному биологическому эффекту. По мере убывания интенсивности ультразвука эти последствия можно упорядочить следующим образом: нарушение целостности клетки – изменение свойств мембраны — изменение концентраций веществ в цитоплазме — нарушение жизнедеятельности [56]. Звуковое воздействие приводит к разрыву клеточных стенок и мембран, повреждению флагеллина у подвижных форм микроорганизмов в результате возникновения высокого давления внутри клетки или появлении гидроксильных радикалов и атомарного кислорода в водной среде цитоплазмы. Но также установлено, что кратковременное действие ультразвуковых волн приводит к механическому разделению скоплений бактериальных клеток, благодаря чему повышается вероятность того, что каждая новая клетка даст начало новой колонии [57]. Повышением пороговой интенсивности ультразвука разрушают микобактерии туберкулеза, возбудителей тифа, коклюша, вирусы полиомиелита, энцефалита и бешенства, некоторые виды кокков (стафилококки, стрептококки) и так далее [58]. Ниже порогового значения интенсивности ультразвука разрушение микроорганизмов не наступает и при определенных условиях происходит стимуляция их роста и, как следствие, увеличение их числа [59].

Таким образом, ультразвуковое распыление биологически активного препарата, содержащего споры бактерий, является достаточно перспективным методом. Но данный метод нуждается в обязательном исследовании, на предмет возникновения отрицательного воздействия на споры бактерий после их распыления.

2.2 Разработка системы распыления биологического препарата

Выбранным методом распыления является ультразвуковое воздействие на жидкую среду. Благодаря компактной конструкции пьезоэлемента, вызывающего колебания среды, данное устройство можно разместить внутри вентиляционной установки без значительного увеличения ее размера. При проведении патентного поиска в рамках данной работы, не было выявлено полезных моделей, подходящих под требуемые параметры. Принципиальная схема системы распыления представлена на рисунке 6,7.

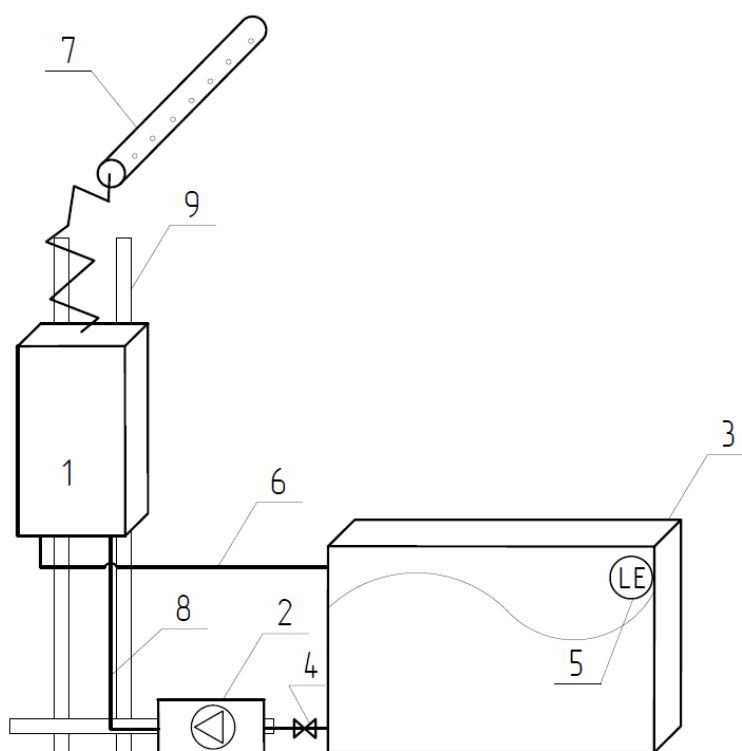


Рисунок 6 – Принципиальная схема системы распыления биопрепарата

Разработанная модель состоит из: 1 - ультразвукового распылителя, 2 - подающего электромагнитного насоса, 3 - емкости для смеси биопрепарата с бактериями пробиотиками, 4 - запорной арматуры, 5 - датчика уровня жидкости в емкости, 6 - дренажной линии, 7 - насадки распылителя, 8 - подающей линии трубопровода, 9 - каркаса крепления.

Управление данного оборудования полностью интегрировано в общую систему контроля приточно-вытяжной установкой, все параметры

отображаются на экране контроллера с возможностью корректировки данных и оповещения о минимальном уровне жидкости в ёмкости.

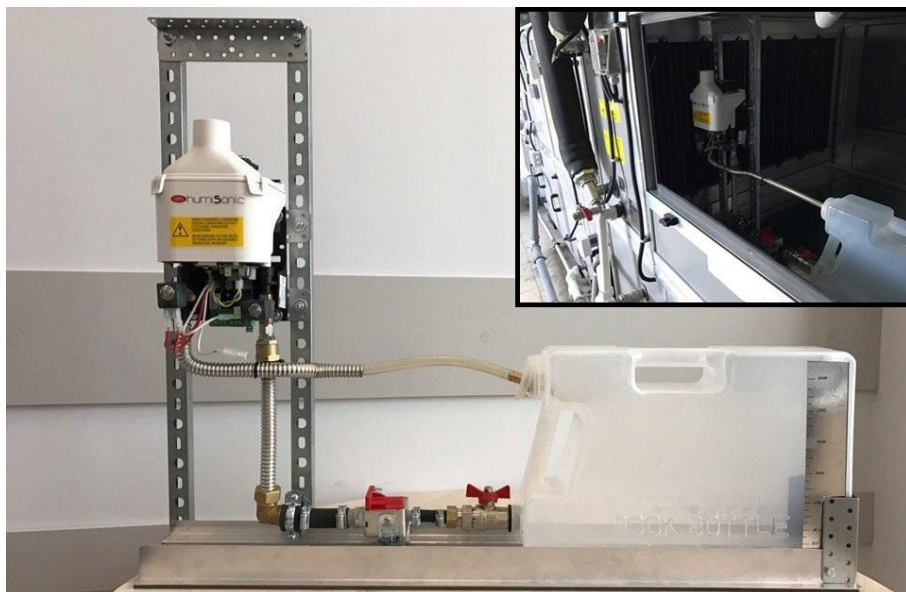


Рисунок 7 – Модель установки для создания благоприятного микробиологического баланса воздуха и системы вентиляции, кондиционирования помещений с использованием смеси спорообразующих бактерий рода *Bacillus*.

Разработанная модель установлена в приточно-вытяжной вентиляционной установке, обслуживающей офисные помещения административного здания. Принципиальная схема приточной части установки в комплексе с пробиотической секции представлена на рисунке 8.

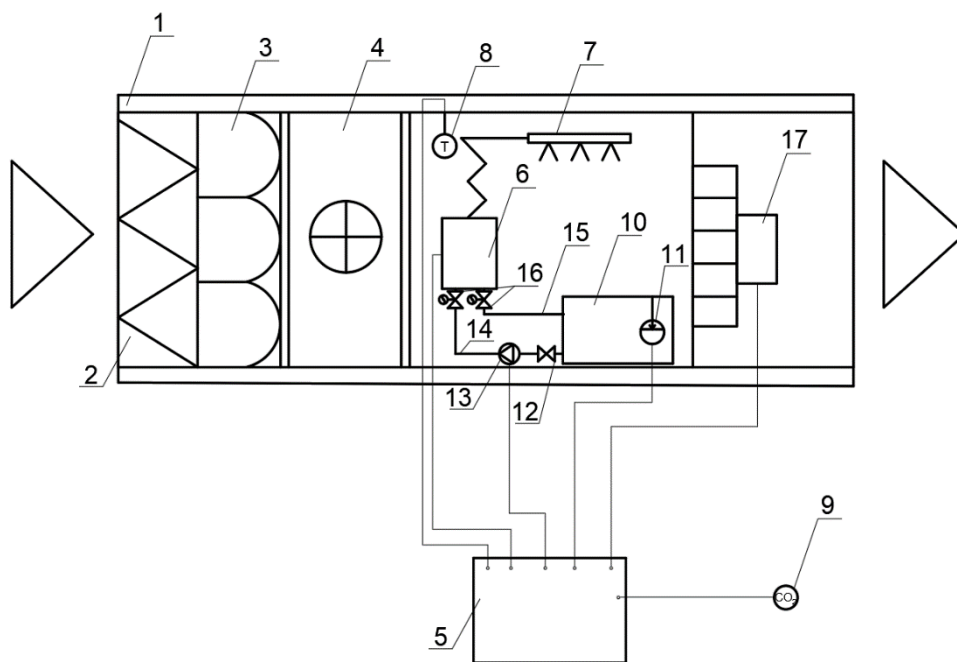


Рисунок 8 – Пробиотическая секция в составе приточной вентиляционной установки, 1 – корпус вентиляционной установки; 2 – фильтр грубой очистки; 3 – фильтр тонкой очистки; 4- теплообменник; 5 – контроллер управления; 6 – ультразвуковой распылитель, 7-насадка ультразвукового распылителя; 8 – датчик температуры; 9 – датчик CO₂ в помещении; 10 – емкость для хранения комбинированного биопрепарата; 11- датчик уровня биопрепарата; 12 – запорная арматура; 13 – электромагнитный насос; 14 – подающие и 15 - сливные трубки; 16 - электромагнитные клапаны; 17 – вентилятор.

При прохождении через воздухоносные пути биосмесь удаляет из воздуха и с поверхности воздуховодов органические налёты, подвергая их биодеструкции микроорганизмами рода *Bacillus*.

Разработанная модель для очистки воздуха помещений обладает следующими преимуществами:

- эффективная очистка воздуха от патогенных бактерий в результате их разложения и преобразования в двуокись углерода и воду;
- долгосрочный стабильный эффект
- отсутствует проблема резистентности
- экономичность;
- простота конструкции и эксплуатации.

Таким образом, для решения проблемы эффективной очистки воздуха помещений и «гигиены» системы вентиляции зданий разработана и предложена модель установки с использованием антимикробных смесей полезных бактерий пробиотиков рода *Bacillus* с различными кометаболитами и активирующими добавками. Применение этих смесей позволит быстро и эффективно удалить источники органических загрязнений воздуха и очистить воздух от патогенных бактерий.

Выводы по 2 главе

1. Во второй главе для применения метода микробиологической стабилизации в системе вентиляции и кондиционирования проведен анализ существующих методов распыления жидкой среды с учетом ее биологической активности. На основе анализа, подобран эффективный, безопасный и менее энергозатратный метод распыления – ультразвуковой.

2. Разработана система распыления биопрепарата в состав, которой входит: ультразвуковой распылитель, электромагнитный насос, емкость для композитного биопрепарата, запорная арматура, датчик уровня жидкости в емкости, дренажная линия, насадка распылителя, подающая линия трубопровода и каркас крепления. Для подтверждения эффективности разработанной системы и композитного биопрепарата необходима экспериментальная апробация.

Глава 3. Экспериментальная апробация разработанной системы распыления

3.1 Выбор методик для исследования контроля микробиологических факторов в системе вентиляции общественных зданий

Для проведения микробиологических исследований, необходимы методические указания по отбору проб с рабочих поверхностей и системы вентиляции, их транспортировке и хранению, подготовки проб к исследованию и проведению микробиологического анализа.

Выбраны методики:

1. Методические указания МУК 4.2.2942—11, 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы

Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях [60].

2. Методические указания МУК 4.2.734-99, 4.2. Методы контроля. Микробиологический мониторинг производственной среды [61].

3. Методические указания МУК 4.2.2217—07, 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы выявления бактерий *Legionella* в объектах окружающей среды [62].

3.1.1 Отбор транспортировка и хранение проб

Исследование микробной обсемененности объектов включает определение ОМЧ (общего микробного числа), стафилококков, бактерий группы кишечных палочек, сальмонелл, синегнойной палочки. Забор проб происходит с поверхностей объектов методом смывов.

Отбор смывов выполняют стерильными ватными тампонами, в специализированные стерильные пробоотборники. Для смачивания тампонов

применяют по 10,0 мл раствора хлорида натрия 0,9%. Смывы забирают по трафарету с площади равной 100 см².

3.1.2 Подготовки проб к исследованию и проведению микробиологического анализа

При определении общего количества микроорганизмов, высев производят на питательный агар типа МПА, СПА, ГРМ-агар и другие, приготовленные согласно инструкций по применению [60]. Далее инкубируют при температуре 37 ° С в течение (48 ± 2) ч, и в течение (24 ± 2) ч на свету при комнатной температуре, выросшие колонии подсчитывают и пересчитывают на 1 м² поверхности. При обнаружении колоний дрожжевых и плесневых грибов на питательном агаре, их подсчитывают отдельно.

Порядок исследования на стафилококк.

1. Первый день. Для выделения *S. aureus* высев проб проводят на желточно-солевые среды на основе сред: элективно-солевой агар, стафилококк-агар, маннитолагар или среда № 10 по ГФ XII, агар Байд-Паркер [60]. Период инкубации в термостате при 37 ° С составляет (48 ± 2) ч, и в течение (24 ± 2) ч на свету при комнатной температуре

2. Второй—третий день. Стафилококк представляет собой круглые, блестящие, маслянистые, выпуклые, пигментированные колоний, на агаре Байда-Паркера характерного черного цвета. Окраску по Граму проводят общепринятым методом [60]. Под микроскопом окрашенные по Граму стафилококки имеют вид фиолетово-синих кокков, располагающихся гроздьями или небольшими кучками («кружево») [60].

Для определения микробного числа (МЧ) колиформных бактерий (группы кишечных палочек (БГКП)) производят высев на агаризованную питательную среду- агар МакКонки. Полученные чашки Петри инкубируют при 37 ° С в термостате течение (48 ± 2) ч, и в течение (24 ± 2) ч на свету при комнатной температуре.

При определении количества дрожжей, дрожжеподобных и плесневых грибов используется метод, основанный на обнаружении и подсчете выросших колоний микроорганизмов, типичных по макро- и (или) микроскопической морфологии, на питательной среде Сабуро.

При высеве, крышку чашки Петри слегка приоткрывают и смывают на дно чашки, далее его заливают питательной средой Сабуро. Чашки с посевами, залитыми питательной средой, осторожно вращают, чтобы посевной материал равномерно распределился по всей питательной среде [61]. Затем чашки с посевами оставляют на горизонтальной поверхности до полного застывания питательной среды [61]. После застывания среды, чашки вверх дном вносят в термостат и инкубируют при $(30 \pm 1)^\circ \text{C}$ в течение (120 ± 3) ч.

Осмотр чашек осуществляют каждый день, первый подсчет производят спустя 72ч, окончательный спустя (120 ± 3) ч. На поверхности среды, для дрожжевых грибов, характерен рост плоских или выпуклых колоний белого, кремового или серо-белого цвета. Для плесневых грибов характерно образование сметанообразных, слизистых колоний разнообразной окраски с дальнейшим опушением.

Для контроля стерильности всех питательных сред, при каждом высеве дополнительно делают контрольные чашки, которые также инкубируются вместе с засеянными смывами чашками Петри.

3.1.3 Методика исследования на выявление бактерий *Legionella*

Legionella – это грамотрицательная бактерия, являющаяся возбудителем пневмоний острого характера с высоким процентом летальных исходов (5—10 %) и респираторных заболеваний. В природе эти бактерии находятся повсеместно в пресноводных водоемах, в основном в некультивируемой форме, и паразитируют в амебах и других простейших, не являясь серьезной опасностью для населения. Активное размножение

бактерий происходит в теплой воде при температурах 25—45 °С, но выделяют их и из холодной воды.

Легионелла относится к бактериям с высокой адаптивной способностью, благодаря чему активно колонизирует водные системы искусственного происхождения, в которых может происходить застаивание теплой воды. Накопление возбудителя в этих системах в большой концентрации, обусловлено более благоприятными условиями, чем в природной среде. При образовании данной бактерией биопленки, она становится значительно устойчивее к действию дезинфектантов. Благоприятным местом для появления биопленки являются синтетические и резиновые материалы, из которых выполнены дренажные системы оборудования, системы водоснабжения и так далее. Последовательные схемы выделения культур *Legionella* приведены в рисунках 9,10.

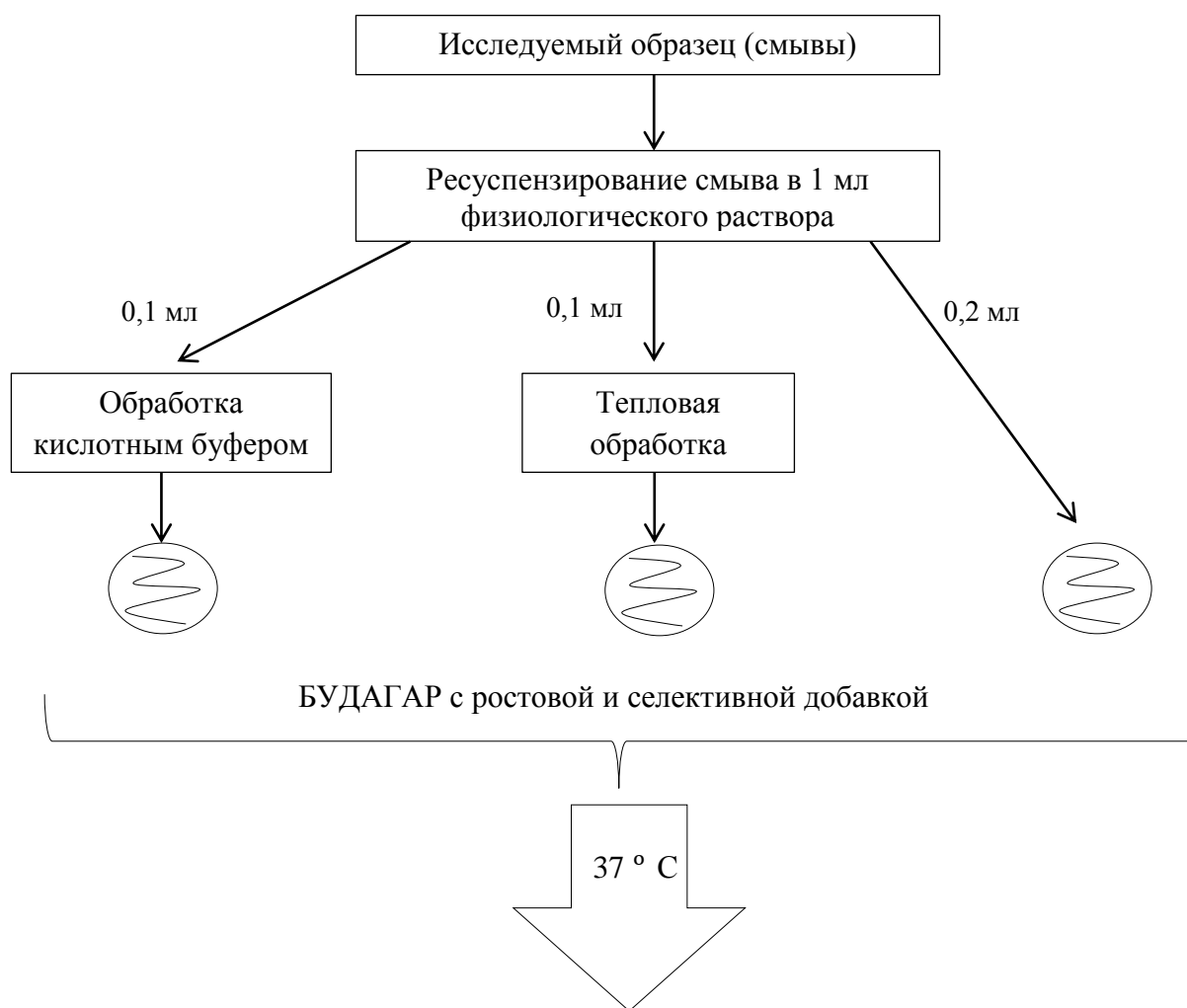


Рисунок 9 – Схема выделения культуры бактерии из внешней среды

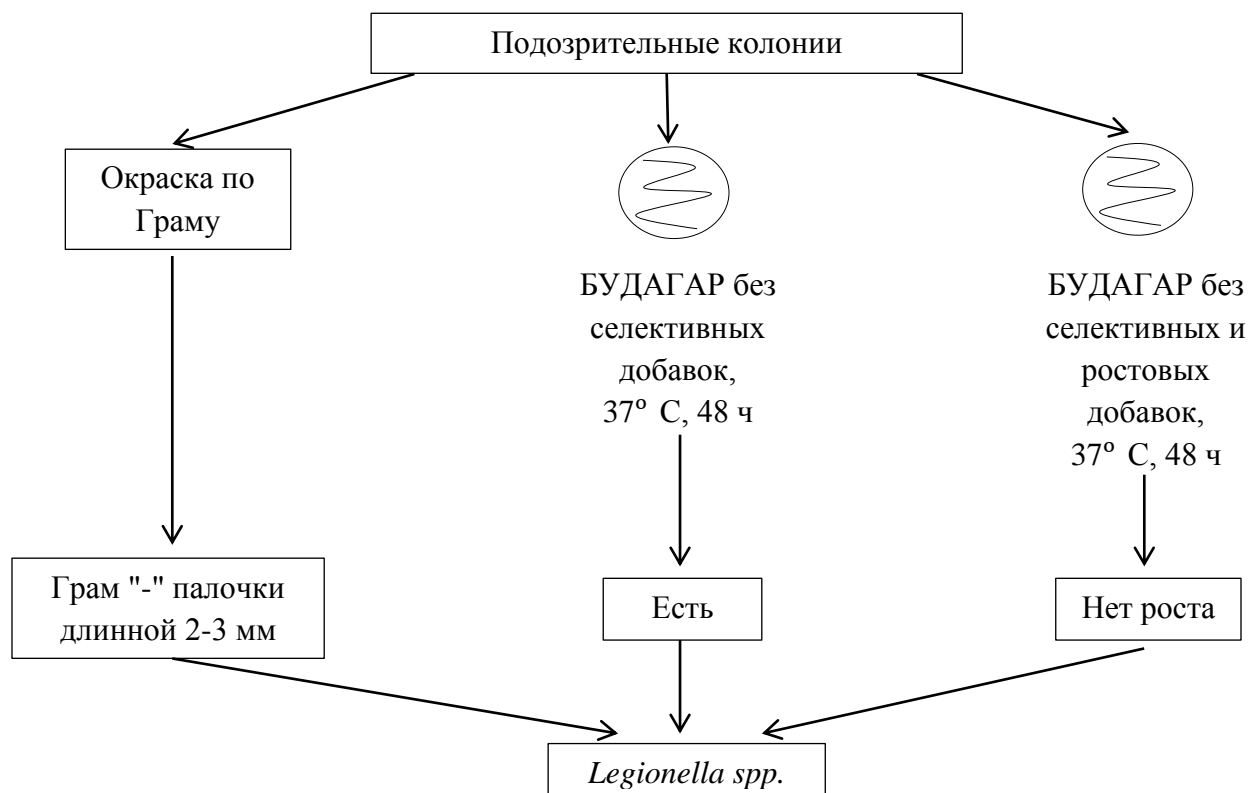


Рисунок 10 – Схема выделения бактерий, идентификация подозрительных колоний

Путем передачи легионеллеза является водный мелкодисперсный аэрозоль, в котором присутствует возбудитель.

Также для людей со сниженной иммунологической реактивностью могут представлять опасность бассейны и емкости с длительным хранением воды.

3.1.4 Приготовление питательных сред и растворов

Для выделения бактерий легионелл применяют среду – буферный угольно-дрожжевой агар (БУДРАГ, ВСУЕα) с ростовой и селективной добавкой. Приготовление производят по инструкции на упаковке среды.

Приготовленную среду помещают в автоклав на 15 мин при 121 °С, и охлаждают до 50 °С после чего, стерильно добавляют компоненты ростовой и селективной добавки. Растворяют в 10 мл дистиллированной воды каждую из навесок L-цистеина и пирофосфата железа растворимого, производят стерилизацию фильтрацией сквозь мембранный фильтр и вносят

в среду. Растворы антимикробных препаратов (Полимиксин В, Ванкомицин, Циклогексимид) также добавляют в среду до требуемой итоговой концентрации.

Конечное значение рН среды должно строго соответствовать значению – $6,95 \pm 0,02$. Среду разливают по стерильным чашкам Петри по 25 мл и помещают в термостат для подсушивания при 37 °С на протяжении часа. Среда отличается характерным черно-серым цветом.

3.1.5 Проведение микробиологического анализа *Legionella*

На подготовленные чашки Петри со средой БУДРАГ с ростовой и селективной добавкой помещают по 0,1 мл образца, предварительно обработанного кислотным буфером, и подогретого до 50 °С. Распределение пробы по питательной среде осуществляется шпателем. Инкубирование посевов происходит в термостате при температуре 37 °С до 10 дней во влажной атмосфере и в присутствии 2,5 % CO₂.

Начиная со вторых суток, производят осмотр чашек.

На селективной среде колонии бактерий легионелл образуют вросший центр, блестящую поверхность и окрашены в серовато-голубоватый, иногда зеленоватый цвет. Размер колоний на 3—5-е сутки небольшие, диаметром 1—2 мм, плоско-выпуклые, гладкие с острым краем.

3.2 Санитарно-микробиологическое исследование рабочих поверхностей до и после обработки препаратом пробиотика

Объект исследования

Объектами настоящего санитарно-микробиологического исследования являются офисные помещения, расположенные по адресу г. Тольятти, ул. Ботаническая 3Б. Условно офисные помещения были охарактеризованы как объект А, В, С. В каждом объекте осуществляется забор проб с трех точек исследуемого помещения.

Состав комбинированного биопрепарата пробиотиков: *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*

Отбор проб

Отбор проб осуществлялся в стерильную тару в виде смывов с поверхности площадью 100 см², в качестве консервирующей и смывающей среды выступал изотонический раствор хлорида натрия. Все образцы были доставлены в лабораторию в течение установленного времени (1 час).

Методы исследования

Санитарно-микробиологическое исследование проводилось по следующим показателям следующими методами:

- ОМЧ (Общее микробное число) – посев смыва на агаризованную питательную среду (мясопептонный агар), с последующей инкубацией образцов при 37 °С в течение 72 ч и подсчетом выросших колоний;

- МЧ (Микробное число) колиформных бактерий (Бактерии группы кишечной палочки) – посев смыва на агаризованную питательную среду (Агар МакКонки), с последующей инкубацией образцов при 37 °С в течение 72 ч и подсчетом выросших колоний;

- МЧ бактерий рода стафилококков – посев смыва на агаризованную питательную среду (Агар Байдера-Паркера), с последующей инкубацией образцов при 37 °С в течение 72 ч и подсчетом выросших колоний.

В таблицах 4-7 приведены результаты санитарно-микробиологического исследования объекта.

3.2.1 Результаты исследования

Таблица 4 - Санитарно-микробиологическое исследование объекта до распыления препарата пробиотика (дата отбора проб – 7 августа 2017 г).

Показатель (КОЕ/м ²)	Помещение								
	А ¹			В ²			С ³		
	Точки отбора проб								
	1А	2А	3А	1В	2В	3В	1С	2С	3С
ОМЧ	51.662×10 ³	>100×10 ³	6.666×10 ³	>100×10 ³	>100×10 ³	>100×10 ³	>100×10 ³	8.332×10 ³	>100×10 ³
МЧ БГКП	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует
МЧ стафилококков	6.666×10 ³	отсутствует	6.666×10 ³	отсутствует	отсутствует	89.991×10 ³	отсутствует	отсутствует	13.332×10 ³

Таблица 5 - Санитарно-микробиологическое исследование объекта после распыления пробиотика (дата отбора проб – 9.08.2017г).

Показатель (КОЕ/м ²)	Помещение								
	А			В			С		
	Точки отбора проб								
	1А	2А	3А	1В	2В	3В	1С	2С	3С
ОМЧ	>100×10 ³	14.180×10 ³	>100×10 ³	1.667×10 ³	1.667×10 ³	>100×10 ³	>15.003×10 ³	>15.003×10 ³	>100×10 ³
МЧ БГКП	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует
МЧ стафилококков	61.679×10 ³	8.335×10 ³	46.676×10 ³	отсутствует	отсутствует	50.010×10 ³	отсутствует	1.667×10 ³	6.668×10 ³

¹ А – офисное помещение, кабинет - № 204 (см. и далее);

² В – холл офисного помещения, кабинет № 201 (см. и далее);

³ С – офисное помещение, кабинет № 106 (см. и далее).

Таблица 6 - Санитарно-микробиологическое исследование объекта после распыления препарата пробиотика (дата отбора проб – 12 августа 2017 г).

Показатель (КОЕ/м ²)	Помещение								
	А			В			С		
	Точки отбора проб								
	1А	2А	3А	1В	2В	3В	1С	2С	3С
ОМЧ	39.996×10 ³	9.999×10 ³	14.999×10 ³	3.333×10 ³	9.999×10 ³	136.653×10 ³	13.332×10 ³	46.662×10 ³	46.662×10 ³
МЧ БГКП	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует
МЧ стафилококков	26.664×10 ³	отсутствует	отсутствует	отсутствует	6.666×10 ³	66.660×10 ³	6.666×10 ³	отсутствует	6.666×10 ³

Таблица 7 - Санитарно-микробиологическое исследование объекта после распыления препарата пробиотика (дата отбора проб – 24 августа 2017 г).

Показатель (КОЕ/м ²)	Помещение								
	А			В			С		
	Точки отбора проб								
	1А	2А	3А	1В	2В	3В	1С	2С	3С
ОМЧ	5.000×10 ³	6.666×10 ³	>100×10 ³	3.333×10 ³	5.000×10 ³	243.309×10 ³	>15.003×10 ³	>100×10 ³	>100×10 ³
МЧ БГКП	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует
МЧ стафилококков	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	отсутствует	16.665×10 ³	3.333×10 ³	>100×10 ³	9.999×10 ³

На рисунках 11,12 приведены графики динамики изменения ОМЧ и МЧ стафилококков.

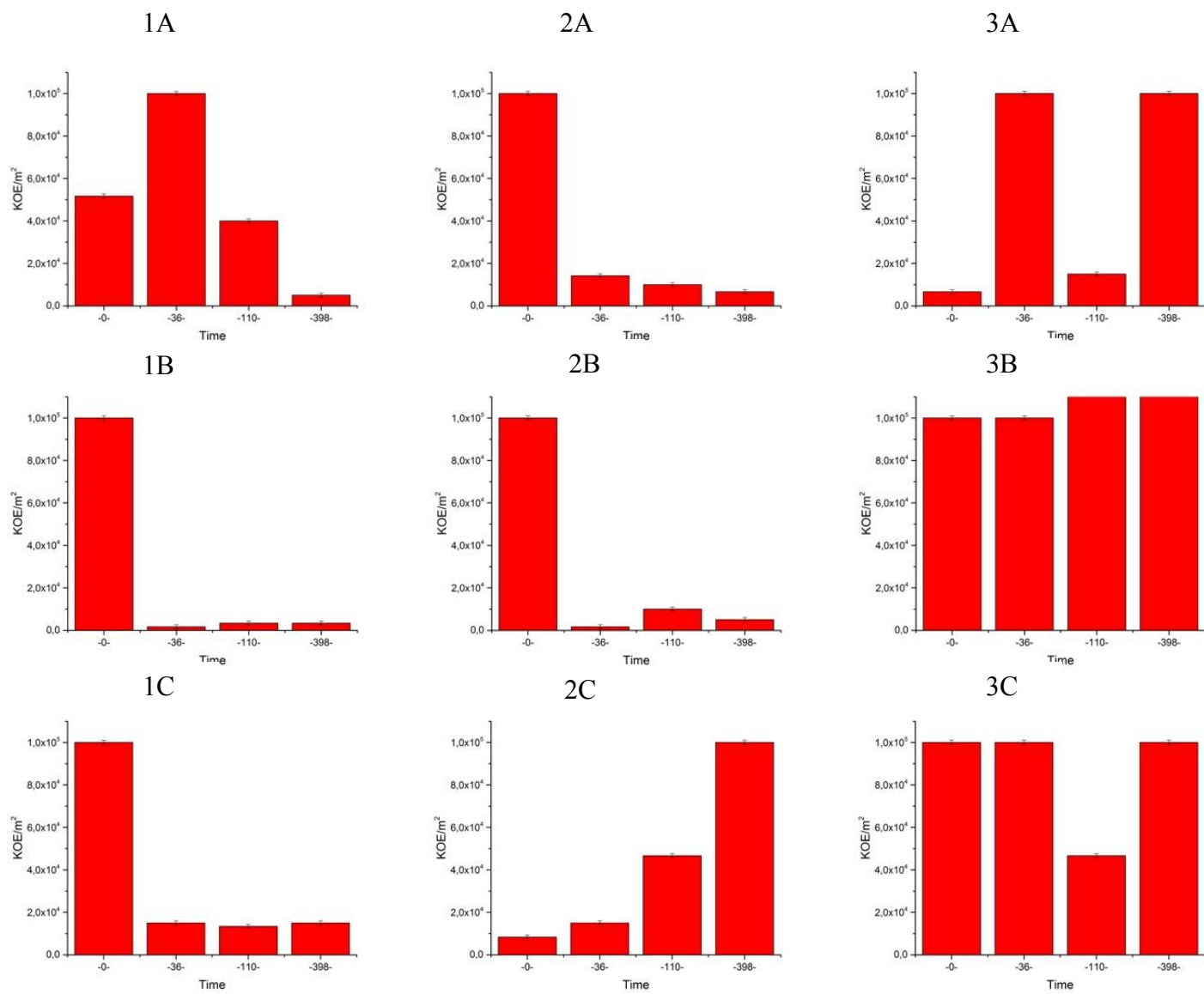


Рисунок 11 – Графики динамики изменения ОМЧ

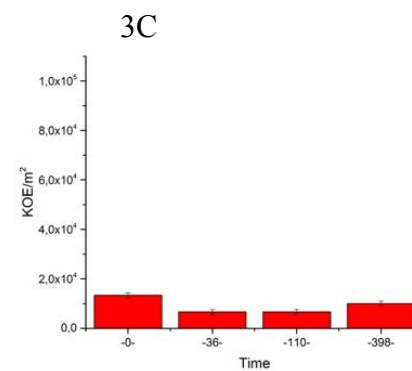
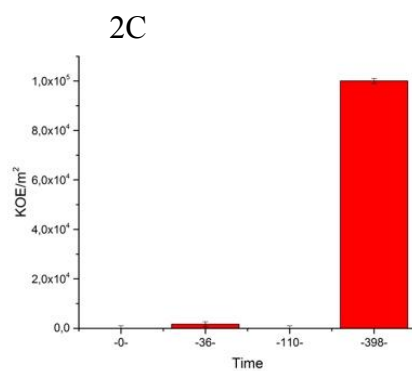
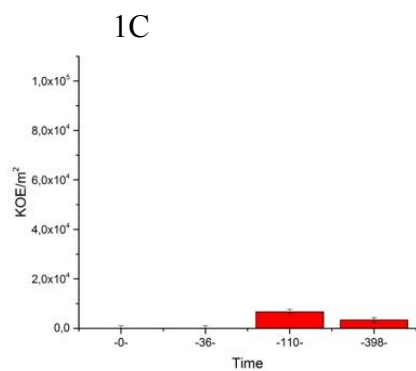
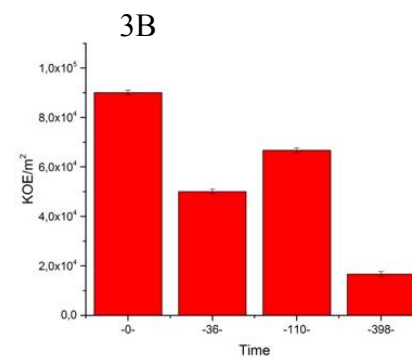
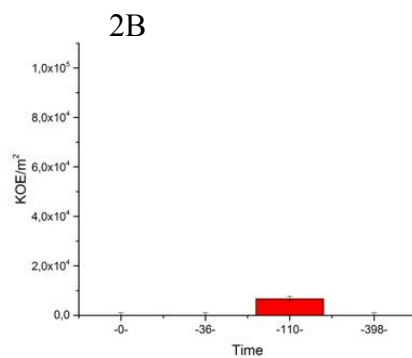
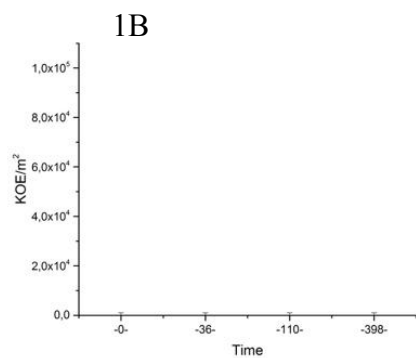
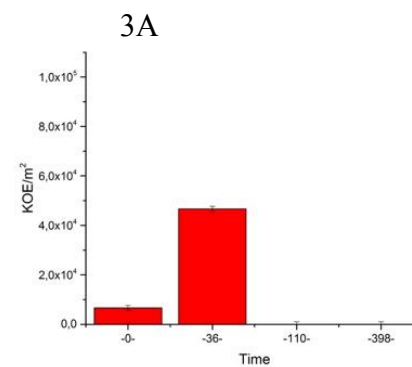
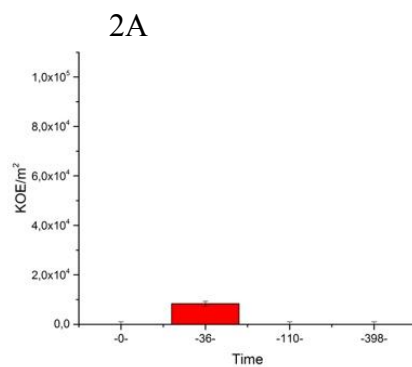
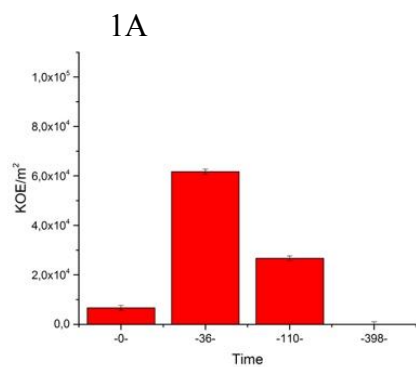


Рисунок 12 – Графики динамики изменения МЧ стафилококков

Также в ходе исследования необходимо было установить наличие бактерий *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. Megaterium* на исследуемых поверхностях после распыления биопрепарата разработанной системой распыления, результаты приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Качественный и количественный анализ бактерий *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*

№	Наименование объектов смывов	Показатель	Результаты испытаний
1		ОМЧ, КОЕ/м ²	2,05×10 ⁵
2	Воздуховод системы вентиляции	<i>B. subtilis</i> , <i>B. amyloliquefaciens</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. pumilus</i> , <i>B. megaterium</i>	Обнаружены

3.2.2 Заключение по результатам исследования рабочих поверхностей до и после обработки биопрепаратом пробиотика

На основании проведенной оценки санитарно-микробиологического состояния анализируемых помещений до и после обработки пробиотиком, можно заключить следующее:

1. Общее санитарно-микробиологическое состояние изученных помещений характеризуется, как условно хорошее, выраженных условно-патогенных и патогенных микроорганизмов не выявлено (условно-патогенных микроорганизмов рода стафилококков (без дифференцировки) наблюдается незначительное количество). Наблюдаемая микробиота офисных помещений характерная для нестерильных промышленных помещений.

2. Распыление пробиотика незначительно сказывается на общем микробном числе. Однако следует отметить, что в ряде случаев наблюдается значительное уменьшение количества (ЗВ и 1С) условно-патогенных микроорганизмов (стафилококки без дифференцировки).

3. Споры *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium* после воздействия ультразвука остаются жизнеспособны и образуют многочисленные колонии.

4. Для однозначного доказательства эффективности распыления биопрепарата пробиотика необходимо дальнейшие исследования *in vitro* на реальных культурах микробиоты исследуемых помещений.

3.3 Санитарно-микробиологическое исследование выделенных культур с рабочих поверхностей методом *in vitro*

Объект исследования

Объектами настоящего санитарно-микробиологического исследования являются офисные помещения, расположенные по адресу г. Тольятти, ул. Ботаническая 3Б.

Отбор проб

Отбор проб осуществлялся в стерильную тару в виде смывов с поверхности площадью 100 см², в качестве консервирующей и смывающей среды выступал изотонический раствор хлорида натрия. Все образцы были доставлены в лабораторию в течение установленного времени (1 час).

Методы исследования

Действие пробиотика на развитие (рост) микробиологической флоры, выделенной со смывов рабочих поверхностей и системы вентиляции, производилось в несколько этапов:

- Первый этап - посев смыва на агаризованную питательную среду (мясопептонный агар) и агар Байдера-Паркера, с последующей инкубацией образцов при 37 °С в течение 72 ч (рисунок 13);

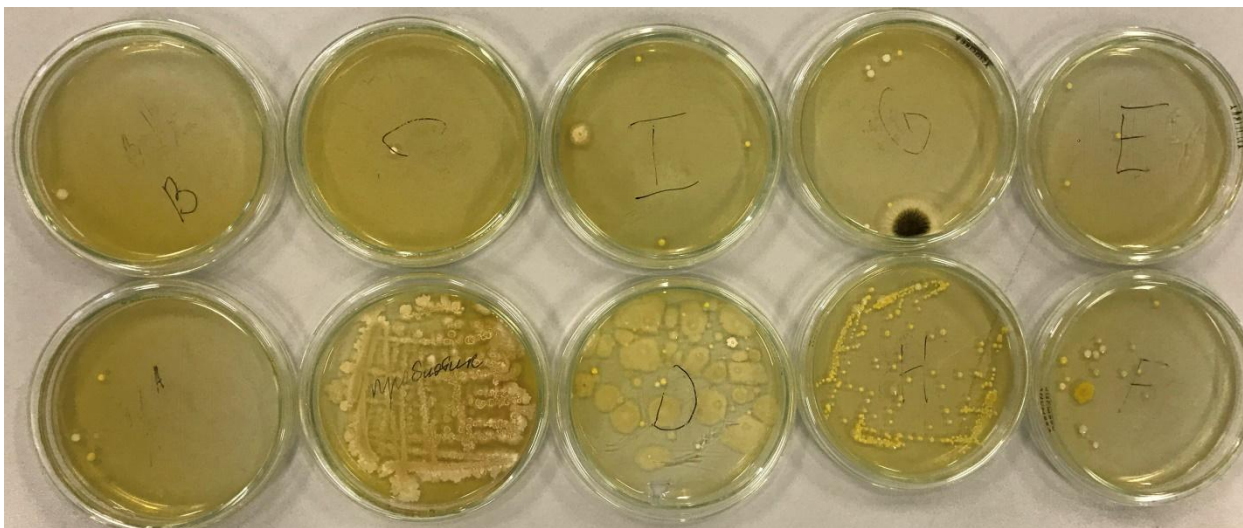


Рисунок 13 – Результаты первого этапа

- Второй этап – выделение индивидуальных микроорганизмов из колоний, отличающихся по морфологическим признакам (цвет, форма колоний), с последующим посевом образцов на свежую агаризованную питательную среду (мясопептонный агар), с последующей инкубацией образцов при 37 °С в течение 48 ч (Рисунок 14);

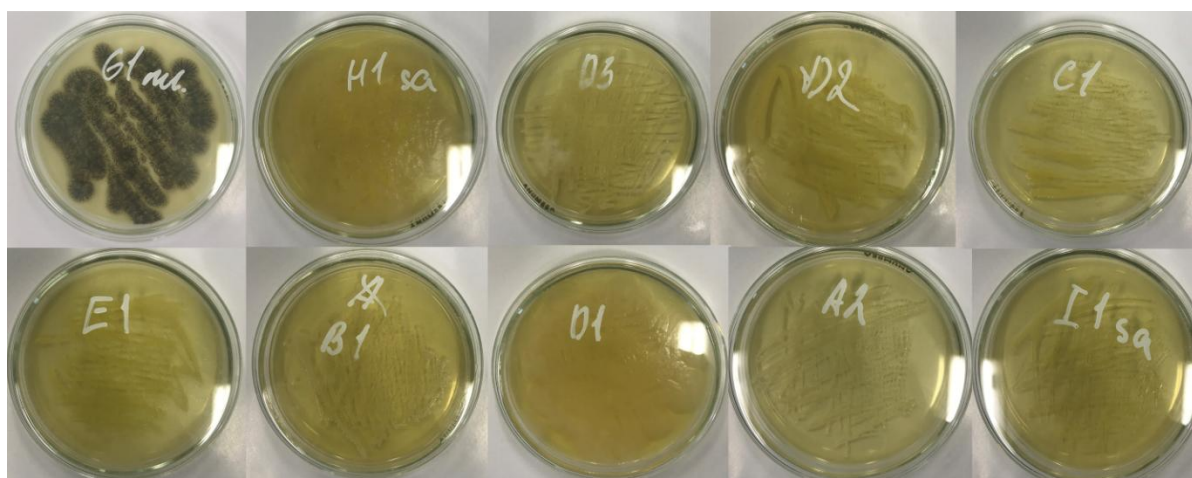


Рисунок 14 – Результаты второго этапа

- Третий этап – одновременный посев выделенной монокультуры с пробиотиком в агаризованную питательную среду (мясопептонный агар) и подсев образца пробиотика к ранее культивированному (48 ч) выделенному штамму с последующей культивацией.

На рисунке 15 приведен контрольный образец роста колоний биопрепарата пробиотика.

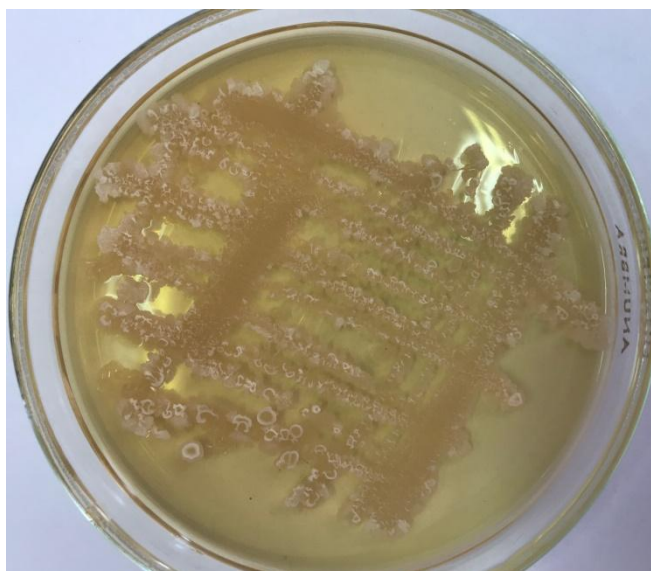



Рисунок 15 – Образец посева препарата пробиотика (*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*)

3.3.1 Результаты исследования *in vitro*

В ходе культивирования смывов в мясопептонном агаре и агаре Бейдера-Паркера было выделено 10 морфологически отличимых штаммов, среди которых плесень и стафилококк (без видовой дифференцировки), результаты приведены в таблице 9.







Таблица 9 – Результаты исследования

Микроорганизмы	Угнетение роста при одновременном культивировании с пробиотиком ⁴	Угнетение роста при подсеве пробиотика к предварительно культивированному штамму ⁵	
Плесень	Частичное угнетение роста		Полное угнетение роста




⁴ Угнетение роста, частичное угнетение роста, полноценный рост ранее выделенного штамма

⁵ Полное угнетение роста, частичное угнетение роста, полноценный рост пробиотика

Продолжение таблицы 9

<p>Стафилококк (грамм+, без видовой дифференцировки)</p>	<p>Угнетение роста</p>		<p>Полноценный рост</p>
<p>1 (грамм+, без родовой и видовой дифференцировки)</p>	<p>Угнетение роста</p>		<p>Полноценный рост</p>
<p>2 (грамм+, без родовой и видовой дифференцировки)</p>	<p>Частичное угнетение роста</p>		<p>Полное угнетение роста</p>
<p>3 (грамм-, без родовой и видовой дифференцировки)</p>	<p>Полноценный рост</p>		<p>Полное угнетение роста</p>
<p>4 (грамм-, без родовой и видовой дифференцировки)</p>	<p>Угнетение роста</p>		<p>Частичный рост</p>
<p>5 (грамм+, без родовой и видовой дифференцировки)</p>	<p>Угнетение роста</p>		<p>Полноценный рост</p>

Продолжение таблицы 9

6 (грамм+, без родовой и видовой дифференцировки)	Частичное угнетение роста		Полноценный рост
7 (грамм-, без родовой и видовой дифференцировки)	Полноценный рост		Частичный рост
8 (грамм+, без родовой и видовой дифференцировки)	Угнетение роста		Полноценный рост

3.3.2 Заключение результатов исследования *in vitro*

На основании проделанной работы об эффективности влияния препарата пробиотика на рост микробиоты исследуемых помещений можно сделать следующие выводы:

1. Общая эффективность пробиотика в угнетении роста ранее выделенных представителей микробиоты исследуемых помещений при одновременном посеве составляет: 50% (для полного угнетения роста) и 80% (для полного и частичного угнетения роста).

2. Общая эффективность роста пробиотика в условиях подсева к ранее выделенным представителям микробиоты исследуемых помещений составляет: 40% (для полного роста) и 70% (для полного и частичного угнетения роста).

3. Показана эффективность воздействия пробиотика на подавление роста бактерий рода стафилококк (без видовой дифференцировки).

3.4 Санитарно-микробиологическое исследование на грибы и дрожжи выделенных с рабочих поверхностей методом *in vitro*

Объект исследования

Объектами настоящего санитарно-микробиологического исследования являются офисные помещения, расположенные по адресу г. Тольятти, ул. Ботаническая 3Б.

Отбор проб

Отбор проб осуществлялся в стерильную тару в виде смывов с поверхности площадью 100 см², в качестве консервирующей и смывающей среды выступал изотонический раствор хлорида натрия. Все образцы были доставлены в лабораторию в течение установленного времени (1 час).

Методы исследования

Действие пробиотика на развитие (рост) дрожжей, дрожжеподобных и плесневых грибов выделенных со смывов рабочих поверхностей и системы вентиляции производилось в несколько этапов:

- Первый этап - посев смыва на питательную среду Сабуро, с последующей инкубацией образцов при температуре $(30 \pm 1)^\circ \text{C}$ в течение (120 ± 3) ч, чашки с образцами приведены на рисунке 16.;

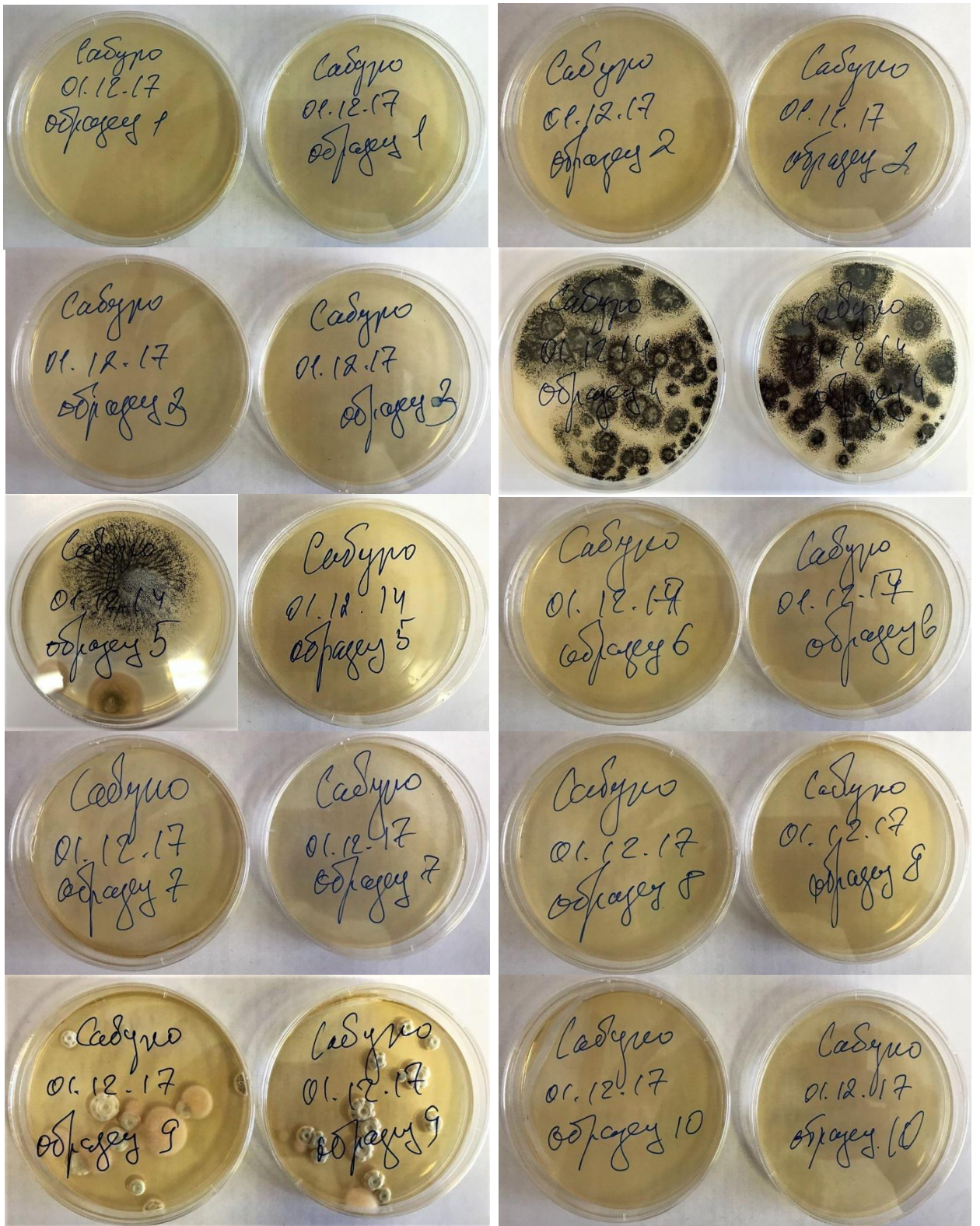


Рисунок 16 – Результаты первого этапа

- Второй этап – одновременный посев выделенной монокультуры с пробиотиком в агаризованную питательную среду (мясопептонный агар). На рисунке 17 приведен контрольный образец роста культуры биопрепарата пробиотика.



Рисунок 17 – Образец посева препарата пробиотика (*B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. megaterium*)

2.4.1 Результаты исследования

Результаты количественного анализа приведены в таблице 10.

Таблица 10 – Результаты количественного анализа

Номер образца	Показатель, (КОЕ/м ²)
	Дрожжи, дрожжеподобные и плесневые грибы
1	не выявлено
2	не выявлено
3	не выявлено
4	5×10^5
5	$0,15 \times 10^5$
6	не выявлено
7	не выявлено
8	не выявлено
9	$1,7 \times 10^5$
10	не выявлено


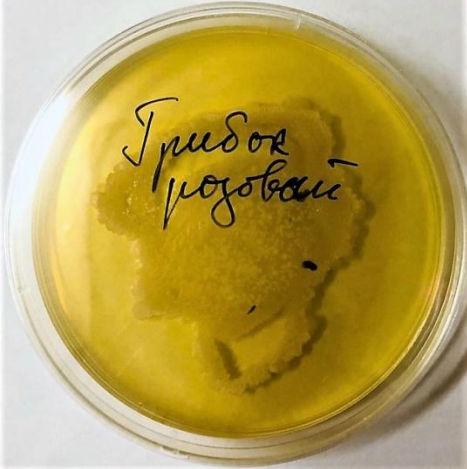

- В ходе культивирования смывов на питательной среде Сабуро было выделено 5 отличимых штаммов, среди которых грибок и плесень, результаты исследования приведены в таблице 11.

Таблица 11 – Результаты исследования

Микроорганизмы	Угнетение роста при одновременном культивировании с пробиотиком ⁶	Образец чашки
1 Плесень (зеленая окрас)	Угнетение роста	
2 Плесень (зеленый окрас)	Частичное угнетение роста	

⁶ Угнетение роста, частичное угнетение роста, полноценный рост ранее выделенного штамма

Продолжение таблицы 11

<p>Плесень</p>	<p>Угнетение роста</p>	 <p>Плесень 1</p>
<p>Грибок (розовый окрас)</p>	<p>Угнетение роста</p>	 <p>Грибок розовой</p>
<p>Грибок (бело-зеленый окрас)</p>	<p>Полноценный рост</p>	 <p>Грибок Бело-зеленой</p>

3.4.2 Заключение результатов исследования *in vitro* на грибки и дрожжи

На основании проделанной работы об эффективности влияния предоставленного на исследования пробиотика на рост микробиоты исследуемых помещений на селективной среде Сабуро можно сделать следующие выводы:

1. Общая эффективность пробиотика в угнетении роста ранее выделенных представителей микробиоты исследуемых помещений при одновременном посеве составляет: 80% (для полного угнетения роста) и 90% (для полного и частичного угнетения роста).

2. Показана низкая эффективность воздействия пробиотика на сильно контаминированные (загрязненные) помещения спорами плесени.

3.5 Санитарно-микробиологическое исследование *in vitro* *Legionella*

Объект исследования

Объектами настоящего санитарно-микробиологического исследования являются инженерные системы в офисе, расположенном по адресу г. Тольятти, ул. Ботаническая 3Б.

Отбор проб

Отбор проб осуществлялся в стерильную тару в виде смывов с поверхности площадью, в качестве консервирующей и смывающей среды выступал изотонический раствор хлорида натрия. Все образцы были доставлены в лабораторию в течение установленного времени (1 час).



Методы исследования

В основе метода лежит культивирование полученных смывов при 37 °С в течении 72 ч на дифференциальной среде для бактерий *Legionella* (базовая среда) с добавками суплемента (цистеин и пирофосфат железа, ВСУЕ) для роста и без него.




3.5.1 Результаты исследования

В ходе культивирования смывов на первичной среде был обнаружен рост культур на 6 образцах. Подозрительные культуры были пересеяны на среду с отрицательным суплементом. Все образцы дали рост колоний, результаты приведены в таблице 12.

Таблица 12 – Результаты посева на среде с отрицательным суплементом

Номер образца	Место отбора	Образец чашки
Образец №1	Поддон камеры орошения вентиляционной установки ПВ2	
Образец №3	Дренажная линия вентиляционной установки	

Продолжение таблицы 12

Образец №4	Душевая сетка	 A petri dish containing a dark, granular sample. The label "L-4" is written in blue marker on the surface of the sample.
Образец №4	Душевая сетка	 A petri dish containing a dark, granular sample. The label "L-4/2" is written in blue marker on the surface of the sample.
Образец №5	Аккумулирующая емкость	 A petri dish containing a dark, granular sample. The label "L-5" is written in blue marker on the surface of the sample.

Продолжение таблицы 12

Образец №8	Поддон камеры орошения вентиляционной установки ПВ1	 A petri dish containing a dark agar medium. A white marker has written 'L-8' at the top. A dark, irregularly shaped smudge is visible in the center of the dish, representing the sample.
Образец №9	Секция рециркуляции вентиляционной установки ПВ1	 A petri dish containing a dark agar medium. A white marker has written 'L-9' at the top. Numerous small, light-colored, circular colonies are scattered across the surface of the agar.

Пророст колоний свидетельствует об отсутствии в отобранных образцах бактерий *Legionella*.

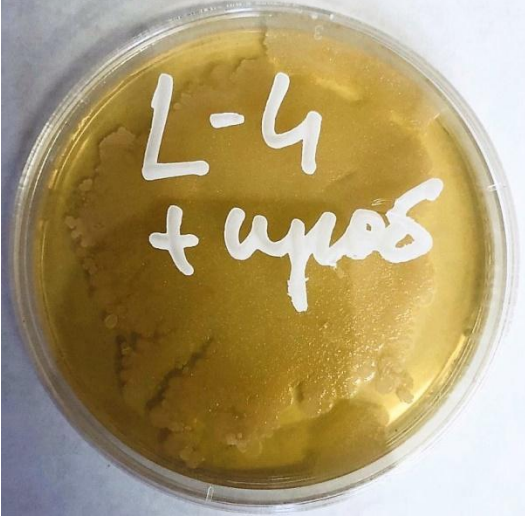
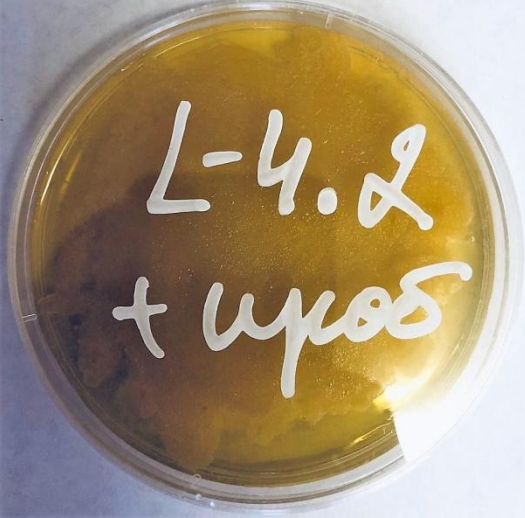
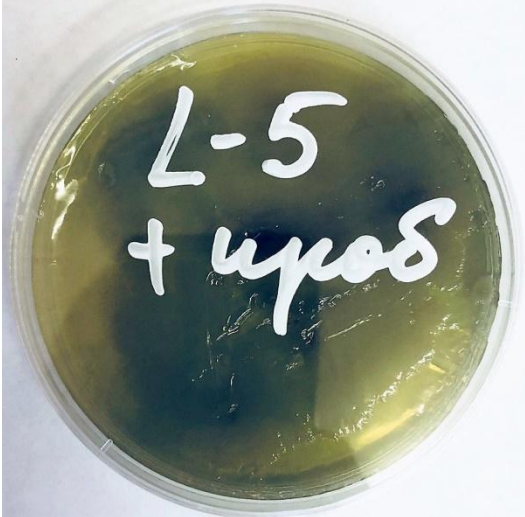
Далее выделенные культуры были одновременно культивированы с препаратом пробиотика на питательной среде. В таблице 13 приведены результаты культивирования.

Таблица 13 – Результаты исследования одновременного культивирования с биологическим препаратом пробиотика


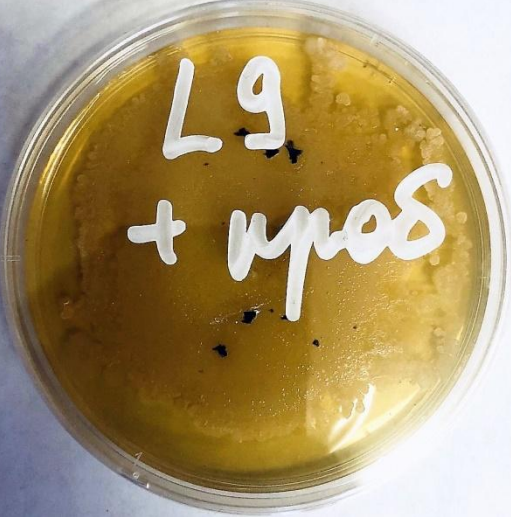
Номер образца	Угнетение роста при одновременном культивировании с пробиотиком ⁷	Образец чашки
Образец №1	Полноценный рост	
Образец №3	Угнетение роста	

⁷ Угнетение роста, частичное угнетение роста, полноценный рост ранее выделенного штамма

Продолжение таблицы 13

Образец №4	Угнетение роста	
Образец №4	Угнетение роста	
Образец №5	Полноценный рост	

Продолжение таблицы 13

Образец №8	Угнетение роста	 A petri dish containing a yellowish agar medium. The surface is mostly smooth with very few small, scattered white spots, indicating inhibited bacterial growth. Handwritten in white marker on the agar are the characters 'L-8' and '+ пробиоб'.
Образец №9	Полноценный рост	 A petri dish containing a yellowish agar medium. The surface is covered with numerous small, white, pinpoint colonies, indicating full bacterial growth. Handwritten in white marker on the agar are the characters 'L9' and '+ пробиоб'.

3.5.2 Заключение результатов исследования *in vitro* *Legionella*

На основании проделанной работы об эффективности влияния предоставленного на исследование пробиотика на рост микробиоты исследуемых емкостей вентиляционной системы можно сделать следующие выводы:

1. В представленных образцах отсутствуют бактерии рода *Legionella*.
2. Общая эффективность роста пробиотика в условиях подсева к выделенным представителям микробиоты исследуемых емкостей

вентиляционной системы составляет: 57% (для полного и частичного угнетения роста) и 43% (для полного роста).

3. Показана умеренная эффективность воздействия пробиотика на подавления роста бактерий - представителей микробиоты исследуемых емкостей вентиляционной системы.

Выводы по 3 главе

В третьей главе произведен подбор методических указаний для проведения экспериментальной апробации разработанной установки и композитного биопрепарата пробиотика в состав, которого входят споры бактерий *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. Megaterium*. Представлены результаты проведенных исследований на основании, которых можно заключить:

1. Разработанная система распыления эффективно распыляет биопрепарат, не оказывая отрицательного воздействия на споры бактерий биодеструкторов

2. Показана эффективность воздействия пробиотика на подавление роста бактерий рода стафилококк (без видовой дифференцировки).

3. Общая эффективность пробиотика в угнетении роста представителей микробиоты исследуемых помещений (грибки и дрожжи) при одновременном посеве составляет: 80% (для полного угнетения роста) и 90% (для полного и частичного угнетения роста).

4. В образцах, взятых с дренажа и поддонов вентиляционной установки бактерии рода *Legionella* не выявлены.

5. Общая эффективность роста пробиотика в условиях подсева к выделенным представителям микробиоты исследуемых емкостей вентиляционной системы составляет: 57% (для полного и частичного угнетения роста) и 43% (для полного роста).

Глава 4. Алгоритм работы системы распыления и определение оптимального режима

4.1 Алгоритмы работы системы распыления биопрепарата в составе приточно-вытяжной вентиляционной установки

При нормальном режиме работы пробиотической секции, включение установки осуществляется 2 раза в ночное время, при условии отсутствия людей в помещениях, перерыв между включениями 8 часов.

Дополнительный усиленный режим работы осуществляется 3 раза (перерыв 4 часа) в ночное время. Данный режим предусмотрен:

- после проведения массовых мероприятий, промежуточное включение рассчитано на орошение только помещения с массовым пребыванием людей;
- на период вспышки простудных заболеваний, во всех помещениях, где присутствовали люди.

Перед пуском вентиляционной установки, в системе вентиляции с переменным расходом воздуха, необходимо открыть автоматические клапаны на ответвлениях воздуховодов в тех помещениях, где в течение дня присутствовали люди (определяется по датчику CO₂). Помещения холлов и коридоров при работе данного режима открыты постоянно, технические помещения, в которых отсутствует приток патогенов в течение дня, закрыты.

В системе вентиляции с постоянным расходом и отсутствии автоматических клапанов на ответвлениях воздуховодов в отдельные помещения, распыление биопрепарата пробиотика происходит во все помещения вне зависимости от присутствия в них людей в течение дня.

Работа вентиляционной установки при распылении биопрепарата рекомендована в режиме 100% рециркуляции. При отсутствии функции рециркуляции, приточный воздух необходимо предварительно нагревать до температуры, при которой находится жидкость биопрепарата, так как резкое

колебание температур ($\Delta t=30^{\circ}\text{C}$) может привести к инаktivации биопрепарата.

Состояние вентиляционной установки перед пуском:

- Воздушные клапаны закрыты
- Рекуператор: Жалюзи открыты (байпас закрыт)
«Зима»
- Нагреватель: Циркуляционный насос включен
«Лето»
- Охладитель: циркуляционный насос выключен
- Увлажнитель: насос выключен
- Двигатели: приток и вытяжка остановлены.

Работа пробиотической секции

После достижения заданной частоты вращения вентилятора, при системе вентиляции с переменным расходом, производится автоматическая увязка сети воздуховода. Далее осуществляется открытие электромагнитного клапана ультразвукового увлажнителя и пуск электромагнитного насоса. Насос работает до тех пор, пока в увлажнителе жидкость пробиотика не достигнет необходимого уровня. При достижении необходимого уровня жидкости, автоматически запускается один цикл промывки бачка распылителя, продолжительность промывки установить 1,5 минуты.

Слив жидкости осуществляется в емкость с биопрепаратом, уровень слива конструктивно предусмотрен выше уровня линии нагнетания жидкости, что способствует перемешиванию биопрепарата перед его распылением.

После окончания цикла промывки происходит закрытие клапана слива и открытие клапана подачи жидкости. Далее следует повторное включение электромагнитного насоса для подачи жидкости в бак распылителя. После

достижения необходимого уровня, начинается работа пьезоэлементов для создания аэрозоля из биопрепарата.

По окончании цикла распыления, происходит повторный цикл промывки бака распылителя. Далее система переходит в режим ожидания.

Для контроля наличия биопрепарата в емкости предусмотрен поплавковый датчик уровня жидкости.

Транспортировка жидкости

При транспортировке жидкости необходимо соблюдать условие отсутствия резких колебаний температур окружающей среды. Исключить понижение температуры ниже 0 °С. Избегать попадания прямых солнечных лучей, не допускать вскрытия упаковки.

4.2 Оптимальный режим работы системы

Так как ультразвуковое воздействие может привести к разрушению спор бактерий пробиотиков, в ходе исследований было подобрано оптимальное ультразвуковое оборудование (Carel HumiSonic compact с 2-я пьезоэлементами) и необходимый режим его работы.

Расход биопрепарата определяется от площади помещений из расчета 0,02 мл на 1 м² обслуживаемой площади с учетом запаса на площадь поверхностей воздуховодов. В первые 20 дней применения рекомендуется увеличить дозу препарата до 0,06 мл на 1 м², для скорейшего достижения микробиологического баланса в системе вентиляции. Ультразвуковой распылитель производит распыл биопрепарата в воздух в количестве определяемой по формуле (1):

$$G = 0,02 \cdot k \cdot F, \quad (1)$$

где G - расход биопрепарата мл/цикл;

F- площадь обслуживаемых помещений, м²;

k - коэффициент, изменяющийся в диапазоне от 1,05 до 1,2 и учитывающий разветвленность системы вентиляции помещений.

Для административного объекта, в котором проводилось испытание биопрепарата, требовался расход жидкости 12,3 мл за один цикл распыления. Регулирование расхода жидкости в рассмотренном оборудовании может изменяться от 5% до 100% посредством чередования циклов включения-выключения преобразователей в течение установленного периода. Ограничением работы данного оборудования является период непрерывного воздействия ультразвуковых волн, равный 15 секундам, так как по истечении этого времени в спорах бактерий повышается риск развития процессов разрушения.

По результатам эксперимента данный объем жидкости испаряется за 120 секунд работы распылителя при мощности равной 18% от номинальной. На рисунке 18 представлен график работы распылителя.

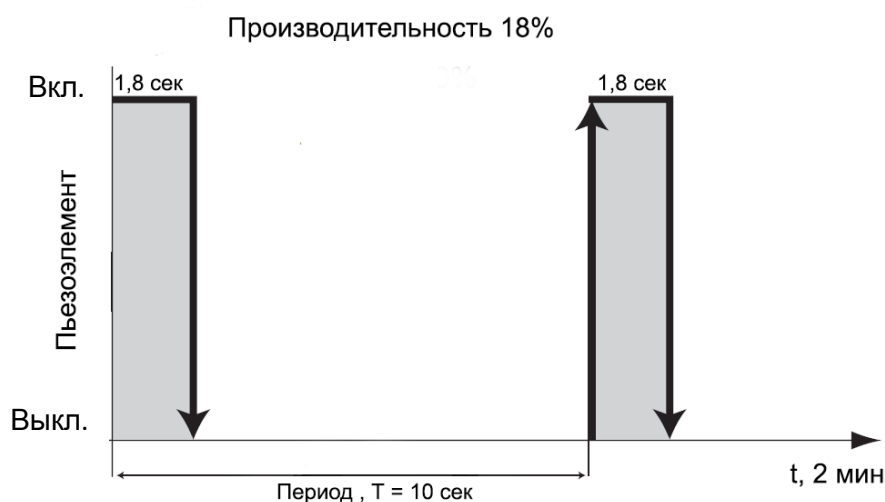


Рисунок 18 – График работы пьезоэлементов ультразвукового распылителя.

Результаты лабораторных исследований при выбранном режиме работы приведены в таблице 9.

Исходя из полученных зависимостей, можно вычислить любой объем жидкости и регулировать ее расход временем работы пьезоэлементов. В таком случае минимальный расход жидкости будет равен 1 мл, а время работы преобразователей 10 секунд, что равняется одному периоду. Либо изменяя процентное соотношение производительности от номинальной

мощности. В таблице 14 приведена зависимость расходов жидкости от производительности, при неизменном времени работы пьезоэлементов, равным 120 секунд.

Таблица 14 – Зависимость расхода жидкости от производительности и времени работы распылителя.

Зависимость расхода жидкости от производительности, при $t = \text{const}$						
Обслуживаемая площадь, м ²	250	500	750	1000	1250	1500
Расход, мл/120 сек	5	10	15	20	25	30
Производительность, %	7	15	22	29	37	44
Обслуживаемая площадь, м ²	1750	2000	2250	2500	2750	3000
Расход, мл/120 сек	35	40	45	50	55	60
Производительность, %	51	59	66	73	80	88
Зависимость расхода жидкости от времени, при $N = \text{const}$						
Обслуживаемая площадь, м ²	250	500	750	1000	1250	1500
Объем, мл (при $N = 0,18 \cdot N_{\text{ном.}}$)	5	10	15	20	25	30
Время распыления, сек	49	98	146	195	244	293
Обслуживаемая площадь, м ²	1750	2000	2250	2500	2750	3000
Объем, мл (при $N = 0,18 \cdot N_{\text{ном.}}$)	35	40	45	50	55	60
Время распыления, сек	341	390	439	488	537	585

4.3 Ограничение сфер применения

Использование данного биопрепарата оправдано в общественных и административных зданиях, в местах общего пользования. Исключением являются чистые помещения медицинских учреждений, фармацевтической промышленности и т.д. Также ограничение применения биопрепарата распространяется на пищевую промышленность. Так как некоторые виды бактерий, входящие в состав препарата, вызывают порчу продуктов:

- *B. megaterium* – вызывают гниль капусты;
- *B. subtilis* - способствуют ферментации молочного белка, в результате которой образуются вещества с горьким вкусом и продукт теряет свои вкусовые качества, нормативно ограничено содержание данной бактерии в муке;

- *B. pumilus* –поражают лен, тыкву, кукурузу, свеклу, плоды апельсина, абрикоса, кабачков и других растений, клубни картофеля, семенники капусты, коробочки хлопчатника и т.п.

Использование препарата в отсутствие людей в помещении обусловлено отсутствием клинических испытаний, связанных с влиянием биопрепарата при иммунных заболеваниях человека.

Выводы по 4 главе

1. В четвертой главе разработан алгоритм работы предложенной системы распыления биопрепарата пробиотика в составе приточно-вытяжной установки для системы вентиляции общественных зданий. Алгоритм заключается в распылении дозированного объема жидкости в определенный расчетом промежуток времени в поток воздуха, в отсутствие людей в помещениях.

2. На основе проведенных экспериментов предложены оптимальные режимы работы системы распыления, позволяющие адаптировать оборудование под любое обслуживаемое здание и режим его работы.

3. В работе приведены основные сферы применения данной разработки, к которым относятся общественные и административные здания и места общего пользования различных отраслей деятельности человека. Также даны ограничения сфер применения в медицине и промышленности.

Заключение

Результатами магистерской диссертации являются:

1. На основе проведенного теоретического анализа проблемы загрязнения воздуха в помещении, установлены основные факторы отрицательного воздействия внутренней среды на человека в помещении, к которым относятся твердые частицы, летучие органические вещества и биоаэрозоли. Системы вентиляции и кондиционирования аккумулируют рассмотренные отрицательные факторы внутри воздуховодов и рециркулируют их по всему объему обслуживаемых помещений. На сегодняшний день основное внимание направлено на механическую очистку воздуха и его полное обеззараживание на первоначальном этапе обработки в климатической установке, что в свою очередь не исключает развитие патогенной микрофлоры в системе вентиляции здания в дальнейшем по сети воздуховодов.

2. На основе анализа существующих методов очистки воздушной среды помещений общественных зданий, выбран оптимальный метод подавления отрицательных факторов воздействия на человека – микробиологический метод конкурентного ингибирования с применением бактерий-биодеструкторов на основе бактерий рода *Bacillus*.

3. Для осуществления метода микробиологической стабилизации в системе вентиляции и кондиционирования в общественном здании, проведен анализ существующих методов распыления жидкой среды с учетом ее биологической активности. На основе анализа, подобран эффективный, безопасный и менее энергозатратный метод распыления – ультразвуковой. Разработана система распыления биопрепарата в состав, которой входит: ультразвуковой распылитель, электромагнитный насос, емкость для композитного биопрепарата, запорная арматура, датчик уровня жидкости в емкости, дренажная линия, насадка распылителя, подающая линия трубопровода и каркас крепления. Управление данного оборудования

полностью интегрировано в общую систему контроля приточно-вытяжной установкой, все параметры отображаются на экране контроллера с возможностью корректировки данных и оповещения о минимальном уровне жидкости в ёмкости.

4. Для оценки эффективности разработанной системы, произведен подбор методических указаний для проведения экспериментальной апробации разработанной установки и комбинированного биопрепарата пробиотика в состав, которого входят споры бактерий *B. subtilis*, *B. amyloliquefaciens*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. Megaterium*.

Представлены результаты проведенных исследований на основании, которых можно заключить:

а) Разработанная система распыления эффективно распыляет биопрепарат, не оказывая отрицательного воздействия на споры бактерий биодеструкторов

б) Показана эффективность воздействия пробиотика на подавление роста бактерий рода стафилококк (без видовой дифференцировки). Общая эффективность пробиотика в угнетении роста выделенных представителей микробиоты исследуемых помещений при одновременном посеве составляет: 50% (для полного угнетения роста) и 80% (для полного и частичного угнетения роста). В условиях подсева к выделенным представителям микробиоты исследуемых помещений эффективность биопрепарата пробиотика составляет: 40% (для полного роста) и 70% (для полного и частичного угнетения роста).

в) Общая эффективность пробиотика в угнетении роста представителей микробиоты исследуемых помещений (грибки и дрожжи) при одновременном посеве составляет: 80% (для полного угнетения роста) и 90% (для полного и частичного угнетения роста).

г) В образцах, взятых с дренажа, поддонов вентиляционной установки бактерии рода *Legionella* не выявлены.

д) Общая эффективность роста пробиотика в условиях подсева к выделенным представителям микробиоты исследуемых частей вентиляционной системы составляет: 57% (для полного и частичного угнетения роста) и 43% (для полного роста).

5. На основе полученных результатов, разработан алгоритм работы предложенной системы распыления биопрепарата пробиотика в составе приточно-вытяжной установки для системы вентиляции общественных зданий. Алгоритм заключается в распылении дозированного объема жидкости в определенный расчетом промежуток времени в поток воздуха, в отсутствие людей в помещениях. Предложены оптимальные режимы работы системы распыления, позволяющие адаптировать оборудование под любое обслуживаемое здание и режим его работы.

6. В работе приведены основные сферы применения данной разработки, к которым относятся общественные, административные здания и места общего пользования различных отраслей деятельности человека. Также даны ограничения сфер применения в медицине и промышленности.

Список используемых источников

1. СП 60.13330.2012 Отопление, вентиляция и кондиционирование воздуха. Актуализированная редакция СНиП 41-01-2003 [Электронный ресурс]. - Введ. 2012.- 01.- 01.- Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200095527>
2. Gould I.M. Antibiotic resistance: the perfect storm. *Int J Antimicrob Agents*. 2009,10.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2010. Stockholm: ECDC. 2010,12.
4. Gralton J., Tovey, E., McLaws, M., Rawlinson, W.. The role of particle size in aerosolised pathogen transmission: a review. *J Infect*. 2011, 62.
5. Tang J., Li, Y., Eames, I., Chan, P., Ridgway, G. Factors involved in the aerosol transmission of infection and control of ventilation in healthcare premises. *J Hosp Infect*. 2006,64.
6. Wagenvoort J., Davies, B., Westermann, E., Werink, T., Toenbreker, M. MRSA from air-exhaust channels. *Lancet*. 1993,341.
7. Kumari D., Haji T., Keer V., Hawkey P., Duncanson V., Flower E. Ventilation grilles as a potential source of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* causing an outbreak in an orthopaedic ward at a district general hospital. *J Hosp Infect*. 1998,39.
8. Anon. Tomorrow's Healthcare Environments - Towards A Sustainable Future.: England. Norwich; The Stationary Office. 2011,15.
9. Hubad B., Lapanje A. Inadequate hospital ventilation system increases the risk of nosocomial *Mycobacterium tuberculosis*. *J Hosp Infect*. 2012,80.
10. Lutz B., Jin J., Rinaldi M., Wickes B., Huycke M. Outbreak of invasive *Aspergillus* infection in surgical patients, associated with a contaminated air-handling system. *Clin Infect Dis*. 2003,37.

11. Uduman S., Farrukh S., Nath K., Zuhair Y., Ifrah A., Khawla A., Sunita P. An outbreak of *Serratia marcescens* infection in a special-care baby unit of a community hospital in United Arab Emirates: the importance of the air conditioner duct as a nosocomial reservoir. *J Hosp Infect.* 2002,52.
12. Balvers J., Bogers R., Jongeneel R., Kamp I., Boerstra A., Dijken F. Mechanical ventilation in recently built Dutch homes: technical shortcomings, possibilities for improvement, perceived indoor environment and health effects. *Arch Sci Rev.* 2012,55.
13. WHO. World Health Organization. Strategic approaches to indoor air policy-making. Bilthoven: WHO European Center for Environment and Health. 1999,23.
14. Sahlberg B. Indoor Environment in Dwellings and Sick Building Syndrome (SBS): Longitudinal Studies. *Acta Universitatis Upsaliensis. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Medicine.* 2012,48.
15. Bakke JV, Wieslander G, Norback D, Moen BE. Atopy, symptoms and indoor environmental perceptions, tear film stability, nasal patency and lavage biomarkers in university staff. *Int Arch Occup Environ Health.* 2008, 72.
16. WHO. World Health Organization. Indoor air pollutants: exposure and health effects. EURO Reports and Studies No. 78, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen: WHO. 1983,26.
17. Takigawa T. A longitudinal study of aldehydes and volatile organic compounds associated with subjective symptoms related to sick building syndrome in new dwellings in Japan. *Sci Total Environ.* 2012, 417.
18. Woods JE, Drewry GM, Morey P. Office worker perceptions of indoor air quality effects on discomfort and performance. In: *Proceedings of the 4th international Conference on Indoor Air and Climate.* 1987, 408.
19. Sahlberg B. Airborne molds and bacteria, microbial volatile organic compounds (MVOC), plasticizers and formaldehyde in dwellings in three North

European cities in relation to sick building syndrome (SBS). *Sci Total Environ.* 2013, 444.

20. Araki A. Relationship between selected indoor volatile organic compounds, so-called microbial VOC, and the prevalence of mucous membrane symptoms in single family homes. *Sci Total Environ.* 2010, 408.

21. Neel S., Kreutzer R. *Fungi & Indoor Air Quality Health & Environment Digest Vol 10, No. 2.* 1996,12.

22. Harriet A. *Is Indoor Mold Contamination a Threat?* Washington State Department of Health. 2001, 5.

23. Tortora G., Funke B., Case C. *Microbiology, An Introduction; Fourth Edition.* 1992, 299.

24. Johanning E. *Hazardous Molds in Homes and Offices: Stachybotrys atra and other.* 2001, 10.

25. Everette L., Chin S. *Mold & Mildew: A Creeping Catastrophe.* 2001,15.

26. Peter P. Kozak Jr., Gallup J., Leo H., Sherwin A. *Endogenous Mold Exposure: Environmental Risk to Atopic and Nonatopic Patients,* in R.V. Gammage and S.V. Kay, eds., *Indoor air & Human Health.* 1985, 167.

27. McNeel S., Scientist CA. Department of Health Services, Environmental Health Investigations Branch, personal communication, discussion topics: mold growth prevalence, exposure routes, testing, remediation, human biomonitoring, causes and prevention of toxic molds. 1998, 200.

28. Cecil F. Rose *Antigens.* Cincinnati: American Conference of Governmental Industrial Hygienists. 1999,149.

29. Chin S. *Toxic Effects of Some Common Indoor Fungi.* 2001, 124.

30. Ammann A. *Is Indoor Mold Contamination a Threat Hazardous Molds in Homes and Offices: Stachybotrys atra and other.* New York City Department of Health, Bureau of Environmental & Occupational Disease Epidemiology

Guidelines on Assessment and Remediation of Fungi in Indoor Environments. 2001, 128.

31. San A. A plague on their Houses. Hunters Point residents blame health woes on molds that thrive in leaky apartments. 2001, 14.

32. ГОСТ Р 51252-99. Фильтры очистки воздуха. Классификация. Маркировка. - М.,2000. - 14с.

33. ГОСТ 12.1.005. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны. - М., 2000. – 11с

34. ГОСТ 25375-82. Методы, средства и режимы стерилизации и дезинфекции изделий медицинского назначения. Термины и определения. - М., 1986. – 21с.

35. Stephen B., Martin Jr., Chuck D., James D., William P., Lau J., Nedeljkovic-Davidovic A. Бактерицидное ультрафиолетовое облучение. Современные эффективные методы борьбы патогенной микрофлорой // ASHRAE JOURNAL, 2008. 142 с.

36. Краткий определитель бактерий Берги. - М.: Мир,1980. 495 с.

37. Hosoi T., Kiuchi A., Natto K. A food made by fermenting cooked soybeans with *Bacillus subtilis* (natto) //Handbook of Fermented Functional Foods / Farnworth E.R. (editor). – Boca Raton, Fla.: CRC Press. 2003, 245.

38. Осипова, И.Г., Михайлова, Н.А., Сорокулова, И.Б.,Васильева, Е.А., Гайдеров, А.А. Споровые пробиотики // Ж. микробиол, 2003. № 3. 119 с.

39. Шендеров, Б.А. Функциональное питание и пробиотики: микрoэкологические аспекты. - М. : Агар, 1997. 23 с.

40. Хмелев, В.Н., Шалунов, А.В., Хмелев, М.В., Хмелев, С.С., Генне, Д.С., Барсуков, Р.В., Шалунова, А.В. Разработка высокочастотных ультразвуковых колебательных систем для мелкодисперсного распыления жидкостей // Ползуновский вестник. 2010. № 3. 320 с.

41. Дунский, В.Ф., Никитин, Н.В., Соколов, М.С. Пестицидные аэрозоли. - М.: Наука, 1982. 121 с.

42. Пажи, Д.Г., Галустов, В.С. Распылители жидкостей. - М.: Химия, 1979. 216 с.
43. Хмелев, В.Н., Барсуков, Р.В., Сливин, А.Н., Цыганок, С.Н., Шалунов, А.В. Применение ультразвуковых колебаний высокой интенсивности в промышленности. Барнаул: АлтГТУ, 2010. 196 с.
44. Розенберг, Л.Д. Физические основы ультразвуковой технологии. - М.: Наука, 1970. 688 с.
45. Акопян, В.Б. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами: Ультразвук в медицине, ветеринарии и экспериментальной биологии. - М. : МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2005. 224 с.
46. Исаенко, Е. Ю. Применение ультразвука для дезинтеграции микробных клеток. [Электронный ресурс] // Annals of Mechnicov Institute. 2008. №1. С.5-9. Режим доступа: <http://www.imiamn.org/journal.htm> .
47. Бергман, Л. Ультразвук и его применение в науке и технике. Пер. с нем. под редакцией В. С. Григорьева и Л. Д. Розенберга. - М.: Изд- во иностранной литературы, 1957. 726 с.
48. Голямина, И. П. Ультразвук. Маленькая энциклопедия – М.: Советская энциклопедия, 1979. 400 с.
49. Raso J., Palop A., Paga R., Condo S. Inactivation of Bacillus subtilis spores by combining ultrasonic waves under pressure and mild heat treatment, 1998. 101.
50. Антушева, Т. И. Некоторые особенности влияния ультразвука на микроорганизмы // «Живые и биокосные системы». 2013. № 4; Режим доступа: <http://www.jbks.ru/archive/issue4/article-11>.
51. Зятиков, В. Н. РЕТОН. Аппарат для ультразвуковой терапии. Томск, 2007. 138 с.
52. Сорока, С. А. Влияние акустических колебаний на биологические объекты // Вибрация в технике и технологиях. 2005. № 1. 41 с.

53. Шапхаев, Э. Г., Цыренов, В. Ж., Чебунина, Е. И. Основы биотехнологии. Дезинтеграция микробных клеток. Улан-Уде. 2005. 65 с.
54. Шиляев, А. С. Ультразвук в науке, технике и технологии. Гомель: Институт радиологии. 2007. 412 с.
55. Симонян, З. Г., Кавтарадзе, Ц. В. Влияние ультразвуковых волн на патогенные свойства стафилококков и их чувствительность к антибиотикам // Тр. НИкожно-венерол. института МЗГССР. 1970. 388 с.
56. Bartley J., Young D. Ultrasound as a treatment for chronic rhinosinusitis. // Med. Hypotheses, 2009. №1.17.
57. Thomas J., Karl R., Kalmia E. Food Microbiology: an Introduction, Third Edition ASM Press. 2012. 570 с.
58. Эльпинер, И. Е. Биофизика ультразвука. - М.: Наука. 1973. 384с.
59. Филоненко, Е. А., Хохлова, В. А. Моделирование тепловых процессов в биологических тканях при воздействии сфокусированным ультразвуком. // Вестник Московского университета. серия 3. Физика, астрономия. 1999. 26 с.