

Umelé infikovanie mikroorganizmov do leteckého petroleja

František Blaško¹, Igor Kvasnica², Ľubica Kvasnicová, Dušan Vallo³ a Želmíra Hocmanová⁴

Artificial Microorganism Infection in Aviation Kerosene

The fuel used in the aviation engineering has to be clean and dry, it may not contain mechanical impurities and water. Water in aviation kerosene may occur in soluble and insoluble form. The danger inheres in the insoluble form, which may drop out in the crystalline form and cause various failures, such as those caused by mechanical impurities. The water assists in the biological matter formation created by various species of microorganisms (bacteria, mould fungi and yeast). The microorganisms, present in water phase occurring on the bottom of tanks or on the interface water phase – kerosene, grow and reproduce and subsequently may pollute (impair) the fuel by the biomass or by the products of their metabolism. There is a possibility to infect the fuel artificially by a selected reference microorganism strain, which usually occur in contaminated fuel, or by microorganisms which cause a biological contamination of aviation kerosene.

Out of the selected reference strains used in the experiments, the reference strains of *Proteus vulgaris*, *Sacharomyces cerevisiae* and *Clostridium perfringens* were not cultivated in the sterile aviation kerosene and the propagating nutrient medium. The aviation kerosene acts as a biocide medium for the presented reference microorganism strains.

Key words: biological contamination, aviation kerosene, microorganisms, reference strains, cultivation, microorganism identification method, aseptic box

Úvod

Pri skúmaní znečistenia leteckého petroleja bolo použitých 5 vzoriek leteckého petroleja, ktoré boli odobraté na letiskách Sliač a Košice. Prednostne boli vybrané miesta, na ktorých boli dlhodobo uskladnené pohonné letecké hmoty. Na letisku Sliač bol odber uskutočnený z odkaľovacej nádrže. Ostatné vzorky boli odobrané v Múzeu leteckej vojenskej techniky v Košiciach (MLT Ke), kde sa letecké pohonné hmoty nachádzajú vo vystavovaných exponátoch lietadiel typu L-39 Albatros, s ktorými sa viac rokov nemanipulovalo. Vzorky leteckého petroleja boli odobraté do vopred vysterilizovaných sklenených fliaš.

Z časového dôvodu bolo rozhodnuté (ak odobraté vzorky neboli biologicky znečistené) umelo nainfikovať letecký petrolej biologickými kontaminantmi. Vybrali sme referenčné kmene, o ktorých je známe, že spôsobujú biologické znečistenie leteckých palív. Vybrané referenčné kmene mikroorganizmov boli kultivované v prítomnosti leteckého petroleja. Bol pozorovaný biocídny účinok leteckého petroleja na jednotlivé kmene.

Materiál a metódy použité pri experimentoch

Vzorky leteckého petroleja

Vzorka leteckého petroleja č. 1 bola odobratá z letiska Sliač, vzorky č. 2-5 z Múzea Vojenskej leteckej techniky v Košiciach (MLT Ke).

Referenčné kmene

V experimentálnej časti sme použili referenčné kmene, získané z Českej zbierky mikroorganizmov z Masarykovej univerzity v Brne. Do experimentu boli zaradení jednotliví zástupcovia baktérii, kvasiniek a plesní.

Zo zástupcov **baktérii**: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Clostridium perfringens*; **plesní**: *Cladosporium resinae*; **kvasiniek**: *Candida albicans*, *Sacharomyces cerevisiae*.

Podmienky experimentu

Mikroorganizmy boli kultivované pri teplotách 30 a 37 °C. Manipulácia s mikroorganizmami bola vykonávaná v aseptickom boxe.

Na zabezpečenie požadovaných podmienok na pomnoženie mikroorganizmov boli použité dva typy termostátov. Pre inkubáciu na 30 °C bol vybraný typ Incucell, typ termostatu pre inkubáciu na 37 °C bol zvolený typ termostatu Selecta E, ktorý vyrába Brněnská medicínska technika (BMT) a. s. Brno.

¹ doc. Ing. František Blaško, PhD., Ústav geotechniky SAV, Watsonova 45, 043 53 Košice,

² Ing. Igor Kvasnica, PhD., Ing. Ľubica Kvasnicová, Duklianských hrdinov 24, 911 05 Trenčín,

³ doc. Ing. Dušan Vallo, CSc., MO SR, Kutuzovova 8, 831 02 Bratislava,

⁴ doc. Ing. Želmíra Hocmanová, CSc., Katedra aeronautiky, Sj. F TU v Košiciach
(Recenzovaná a revidovaná verzia dodaná 8. 12. 2004)

Živné pôdy

Na rozmnoženie mikroorganizmov boli použité živné pôdy Pseudomonas agar, Sabouraudov agar, Bacillus cereus agar, základný krvný agar, Endoagar od firiema Oxiod Anglicko, Agrárna spoločnosť s. r. o., Žilina.

Výsledky a diskusia

Mikroskopické vyšetrenie

Zo vzoriek bolo odobratých 20x10 ml paliva, ktoré bolo následne centrifugované 5 minút pri 3000.min⁻¹. Z centrifugátu bola bakteriologickou kľučkou zo sedimentu vzorka prenesená na podložné sklíčko do jednej kvapky fyziologického roztoku. Pre mikroskopické pozorovanie bolo použité 1000 násobné zväčšenie. Výsledok pozorovania bol negatívny.

Kultivačné vyšetrenie

Pri analýze mikroskopickým vyšetrením odobratých vzoriek nebola zistená prítomnosť biologického znečistenia. Na základe tohto boli naočkované skúmané vzorky z nádrží leteckého petroleja do príslušných živných médií a prebehla kultivácia. Na pomnoženie uvedených referenčných kmeňov, ktoré boli v ďalšej časti experimentov umelo infikované do leteckého petroleja, boli použité tekuté médiá: živný bujón č. 2 a thioglykolátový bujón. Kultivácia prebehla pri 30 °C po dobu 7 dní a je podrobne popísaná v ref. [9].

Priama kultivácia

Zo sedimentu odobraté vzorky 5x10 ml boli centrifugované 5 minút pri 3000 otáčkach za minútu a potom zliate do sterilných sklenených fliaš. Na pomnožovaciú kultiváciu boli použité pomnožovacie bujóny: živný bujón č. 2, a thioglykolátový bujón. Odobratých 50 ml vzoriek a 50 ml horeuvedených pomnožovacích bujónov, bolo kultivovaných 7 dní pri 30 °C. Po kultivácii boli vzorky vyočkované na tuhé živné pôdy: živný agar č. 2, základný krvný agar, Sabouraudov agar, Pseudomonas agar, Bacillus cereus agar a Endo agar. Výsledok v odobratých vzorkách bol pomnožený mikroorganizmom Bacillus subtilis.

Zisťovanie biocídneho účinku leteckého petroleja na vybrané referenčné kmene mikroorganizmov

Predmetná účinnosť biocídnych prostriedkov bola uskutočnená zmiešaním 50 ml leteckého petroleja a pridaním 5 ml ustálenej 3-hodinovej bujónovej suspenzie lyofilizátu referenčného kmeňa (kmeňa zo vzorky č.3) nariadenú do hustoty 1 Mc Farlanda. Uvedená bujónová suspenzia bola pripravená na prístroji DENSI-LA-METER, výrobca Lachema Brno.

Takto pripravené vzorky boli následne kultivované po dobu 48 hod. pri 30 °C.

Na priblíženie výsledkov experimentu s použitými vzorkami je uvedený obrazový materiál, získaný digitálnym fotografovaním Petriho misiek. (Obr. 1-7) V nich sa podarilo vypestovať jednotlivé vybrané referenčné kmene, ktoré spôsobujú biologickú kontamináciu.



Obr. 1. (Fig.) *Bacillus subtilis*



Obr. 2. (Fig.) *Pseudomonas aeruginosa*



Obr. 3. (Fig.) *Staphylococcus epidermidis*



Obr. 4. (Fig.) *Escherichia coli*

Obr. 5. (Fig.) *Cladosporium resiniae*Obr. 6. (Fig.) *Bacillus cereus*Obr. 7. (Fig.) *Candida albicans*

Výsledky umelého infikovania leteckého petroleja vybranými referenčnými kmeňmi mikroorganizmov je možné zhrnúť do dvoch oblastí. Z 10-tich vybraných referenčných kmeňov získaných z Českej zbierky mikroorganizmov z MU v Brne sa v zmesi živného bujónu s leteckým petrolejom nepodarilo vykultivovať referenčné kmene mikroorganizmov *Proteus vulgaris*, *Saccharomyces cerevisiae* a *Clostridium perfringens*. Na uvedené mikroorganizmy pôsobí samotný letecký petrolej ako biocídny prostriedok, ktorý má schopnosť potlačiť biologickú kontamináciu paliva už v samotnom zárodku. Ostatné referenčné kmene mikroorganizmov potvrdili možnosť biologickej kontaminácie leteckého petroleja tým, že sa pomnožili a narástli v leteckom petroleji za vhodných podmienok.

Záver

Cieľom experimentov bolo pomocou umelo nainfikovaných referenčných kmeňov mikroorganizmov do leteckého paliva dokázať, že mikroorganizmy sú schopné biologicky kontaminovať palivo. Je možné konštatovať, že ak sú vytvorené vhodné podmienky pre ich rast, najmä v teplotnom rozmedzí 30 ÷ 37 °C, dostatok vody sú tieto mikroskopické formy živej hmoty schopné za určitých vhodných podmienok metabolizovať uhlíkovdúky, rozvíjať a množiť sa v uhlíkovdúkovom prostredí a vytvorenou biologickou hmotou a metabolitmi rozpustenými v palive ovplyvniť kvalitu paliva v celom zásobovacom systéme.

Literatúra - References

- [1] Abbott, B., S., Gledhill., W., E.: *Advances in Applied Microbiology* 14, 24; 1971.
- [2] Anon., Chemistry Research, *D.S.I.R: Chemical Research Laboratory, H.M.S.O., 1953*, 57.
- [3] Bushnell, L., D., Haas, E., C.: *Journal of Bacteriology* 41, 653, 1941.
- [4] Cooney, J., J., Kula, T., J.: *International Biodeterioration Bulletin* 6 (3), 109, 1970.
- [5] Doris, M., M., Pitcher, D.: *Effective Treatment of Microbially contaminated Fuel Storage Tanks*; Eds. *American Society for testing and Materials, Philadelphia* 1988, 146 ÷ 156.
- [6] Ganser, P.: *Pipe Line Gas Journal* 231, 271, 1940.
- [7] Gorog, J., Ronay, D., Vamos, E.: *Proceedings of Corrosion Week; Manifestation European Federation of Corrosion, 41 st, Budapest, str. 7-12, Academia, Kiado* 1970.
- [8] Hedrick, H., G., Crum, M., G.: *Applied Microbiology* 16 (12), 1826, 1968.
- [9] Kvasnica, I.: *Možnosti ochrany leteckých palív a palivových systémov pred biologickou kontamináciou (baktérie, plesne a kvasinky)*, *Dizertačná práca, Košice* 2004
- [10] Považan, J. et al: *Biologická kontaminácia leteckých palív a palivových systémov mikroorganizmami, Štúdia k VÚ 9905, VLA Košice* 1999.
- [11] Považan, et al: *Monitoring mikroorganizmov (baktérií, plesní a kvasiniek) v palivových systémoch lietadiel a letísk; VÚ 11-01-VL01-00/2001, VLA Košice* 2002.
- [12] Kaliský S.: *Ochrana palivových systémov a leteckého petroleja pred vplyvom biologického znečistenia; Čiastková správa k vedeckej úlohe OPAS, č. p. VLTSÚ-256-15-2003, Košice* 2003.