



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA STROJNÍHO INŽENÝRSTVÍ

FACULTY OF MECHANICAL ENGINEERING

ENERGETICKÝ ÚSTAV

ENERGY INSTITUTE

MECHANICKÉ VLASTNOSTI BUNĚČNÝCH MEMBRÁN

MECHANICAL PROPERTIES OF CELL MEMBRANES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Marcela Pírková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Simona Fialová, Ph.D.

BRNO 2019

Zadání bakalářské práce

Ústav: Energetický ústav
Studentka: **Marcela Pírková**
Studijní program: Strojírenství
Studijní obor: Základy strojního inženýrství
Vedoucí práce: **doc. Ing. Simona Fialová, Ph.D.**
Akademický rok: 2018/19

Ředitel ústavu Vám v souladu se zákonem č.111/1998 o vysokých školách a se Studijním a zkušebním řádem VUT v Brně určuje následující téma bakalářské práce:

Mechanické vlastnosti buněčných membrán

Stručná charakteristika problematiky úkolu:

Rešeršní práce se bude zabývat rozbohem mechanických vlastností různých typů buněčných membrán. Student rozebere možnosti vnějších vlivů, které by mohly membrány porušit a tím buňku a tedy celý mikroorganismus zneškodnit. Vliv akustických rázových vln na životnost buněčné membrány, možné selektivní použití.

Cíle bakalářské práce:

Student provede literární rešerši týkající se výskytu chtěných i nechtěných mikroorganismů ve vodních tocích a nádržích. Vyhodnotí jejich vliv na kvalitu vody a doporučí opatření k odstranění nežádoucích mikroorganismů. Součástí práce bude popis skladby buněčných membrán vybraných mikroorganismů a možnosti jejich mechanické porušení. Dle časových možností (a výskytu aktivních mikroorganismů ve vodě) navrhne, popřípadě provede experiment.

Seznam doporučené literatury:

POCHYLÝ, F., V. KOPECKÝ, S. FIALOVÁ, D. JAŠÍKOVÁ a M. KOTEK, 2015. Hydrofobie a její praktické aspekty: Výzkumná zpráva č. VUT-EU13303-QR-20.15. VUT Brno, FSI, EÚ - Odbor fluidního inženýrství V. Kaplana.

Termín odevzdání bakalářské práce je stanoven časovým plánem akademického roku 2018/19

V Brně, dne

L. S.

doc. Ing. Jiří Pospíšil, Ph.D.
ředitel ústavu

doc. Ing. Jaroslav Katolický, Ph.D.
děkan fakulty

ABSTRAKT

Bakalářská práce je rešeršního charakteru zaměřená na analýzu mechanických vlastností buněčných membrán. Hlavním cílem je nalézt metody, které povedou k narušení struktury membrán a to následně způsobí selekci nežádoucích mikroorganismů vyskytujících se ve vodním prostředí. Navíc práce blíže seznamuje s mikroorganismy žijících ve vodách České republiky, dosavadních využitelných metodách čištění vod a dále o specifických vlastnostech membrán vybraných mikroorganismů. V experimentální části je uveden pokus hydrodynamické kavitace, celý děj probíhal na biomase sinic.

Klíčová slova

Mechanické vlastnosti membrán, bakterie, hydrodynamická kavitace

ABSTRACT

This thesis is a research character focused on the analysis of mechanical properties of cell membranes. The main aim is to find methods that will break the structure of the membranes. In addition, the thesis deals with the microorganisms living in the reservoirs of the Czech Republic, the existing methods of water purification and the specific properties of microorganisms membranes. In the experimental part there is an attempt of hydrodynamic cavitation, the whole process is tested on biomass of cyanobacteria.

Key words

Mechanical properties of membranes, bacteria, hydrodynamic cavitation

BIBLIOGRAFICKÁ CITACE

PÍRKOVÁ, M. Mechanické vlastnosti buněčných membrán. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2019. 35 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Simona Fialová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Mechanické vlastnosti buněčných membrán Energetického ústavu vypracovala samostatně s použitím odborné literatury a pramenů, uvedených v seznamu, který tvoří přílohu této práce.

21.5.2019

.....
Datum

Marcela Pírková

.....
Jméno a příjmení

PODĚKOVÁNÍ

Mé poděkování patří doc. Ing. Simoně Fialové, Ph.D. za cenné připomínky, rady a nápady, které mi poskytla při vypracování bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat státní instituci GA ČR, která zajišťovala podmínky experimentální práce.

OBSAH

Úvod.....	10
1 Seznámení s hydrobiologií.....	11
1.1 Typy vod	11
1.1.1 Vody tekoucí	11
1.1.2 Vody stojaté	12
2 Mikroorganismy stojatých vod	13
2.1 Mikroorganismy patogenní.....	13
2.1.1 Bakterie	13
2.1.2 Améby.....	18
2.2 Nežádoucí mikroorganismy	18
2.2.1 <i>Melosira granulata</i>	18
2.2.2 <i>Chrysophyceae</i>	18
2.3 Žádoucí mikroorganismy.....	19
2.3.1 Vířníci (<i>Rotifera</i>)	19
2.3.2 Krásnoočko (<i>Euglena</i>).....	19
2.3.3 <i>Methanová archea</i>	19
2.3.4 <i>Chlorophyta</i>	19
3 Fyzikální metody čištění vod.....	20
3.1 Metody odstraňování cyanobakterií z vodního sloupce	20
3.1.1 <i>Destratifikace</i>	20
3.1.2 <i>Ošetření ultrazvukem</i>	21
3.1.3 <i>Aerace</i>	21
3.2 Další metody čištění vod.....	21
3.2.1 <i>Vysokotlaká homogenizace</i>	21
3.2.2 <i>Koagulační filtrace</i>	22
3.2.3 <i>UV záření</i>	22
3.2.4 <i>Termické dezinfekce</i>	22
4 Kavítace.....	23
4.1 Hydrodynamická kavítace	23
4.1.1 <i>Kavitační trysky</i>	24
4.1.2 <i>Kavitační reaktory</i>	24
5 Experimentální část	26
5.1 Kavitační trať.....	26
5.2 Průběh experimentu.....	27
5.2.1 <i>Výsledky experimentu</i>	28
6 Závěr	31
7 Seznam použitých zdrojů	32
8 Seznam obrázků a tabulek	35
8.1 Seznam obrázků	35
8.2 Seznam tabulek	35

ÚVOD

Všechny známé organismy na světě jsou tvořeny buňkami. Ve vodních prostředích se vyskytuje rozmanité množství živých mikroorganismů. Během jejich životního cyklu musí odolávat různým vnějším vlivům. Pro různá prostředí se tyto organismy přizpůsobují. Některé druhy snášejí působení vyšších tlaků, některé dokáží žít bez přístupu kyslíku. Avšak u každé skupiny mikroorganismů lze definovat typickou buněčnou stavbu. Buněčná stavba je tvořena membránami, které mají rozdílnou tloušťku a skladbu. Jejich mechanické vlastnosti se liší a rozdělení těchto vlastností je dílčím cílem této bakalářské práce.

Jelikož je člověk ve věčném kontaktu s vodou, byl vytvořen vztah lidského organismu k určitým jiným mikroorganismům, které se ve vodním prostředí vyskytují. Pokud bychom chtěli některé mikroorganismy separovaně selektovat, musíme vybrat vhodnou metodu, abychom neškodili jiným organismům. Blíže znalost vnějšních vlivů, které mohou membrány porušit a tím celou buňku, nám napomůže nalézt metodu k možnému zneškodnění mikroorganismů. Cílem této práce je také získání informací o metodách, které regulují množství mikroorganismů ve vodách. Po vyhodnocení vlivu na kvalitu vody bude navrženo nejvhodnější opatření, která povede k odstranění nežádoucích mikroorganismů z vodních rezervoárů. Práce bude ukončena experimentem v laboratoři, který bude proveden na sinicích. Cílem je zhodnocení hydrodynamické kavitace jako metody vedoucí k mechanickému porušení buněk.

1 SEZNÁMENÍ S HYDROBIOLOGIÍ

Hydrobiologie je vědní obor zabývající se organismy žijících ve vodním prostředí. V České republice se převážně setkáváme s vodou sladkou, a proto není zbytek bakalářské práce zaměřen na vodu slanou či brakickou (má nižší obsah soli než voda slaná). Kapitola byla převzata z [1] [4].

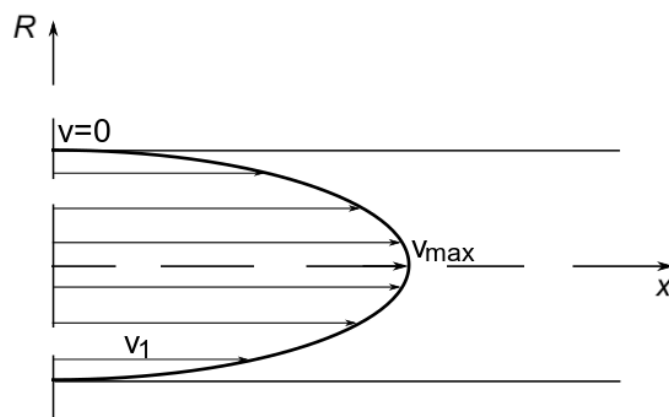
1.1 Typy vod

Hydrosféra se prvotně dělí na povrchovou a podpovrchovou či podzemní vodu. Povrchové vody lze dále dělit na vody stojaté a tekoucí. Mezi stojaté vody patří např. nádrže, které jsou uměle nebo přirozeně vytvořené, rybníky, saliny (jsou rezervoáry s vyšším obsahem soli), močály a rašeliniště. Tekoucími vodami jsou prameny, horské potoky, řeky, veletoky, apod.

1.1.1 Vody tekoucí

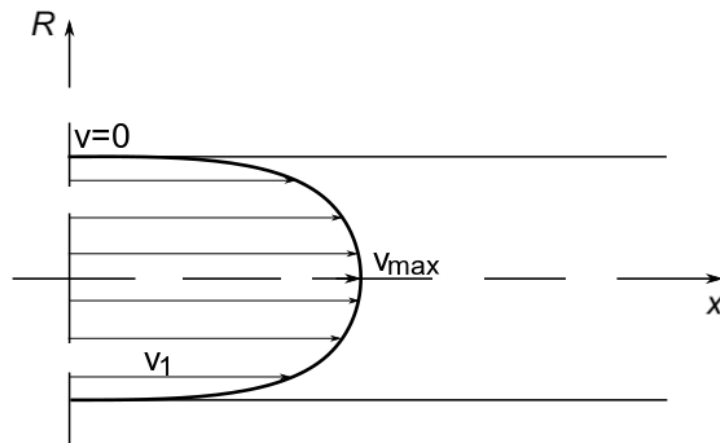
Obecně se ve vodách tekoucích vyskytují především aerobní mikroorganismy. Typické teploty vykazují denní a sezónní oscilaci. Světelný režim ve vodách tekoucích je stejný jako ve vodách stojatých.

V těchto vodách nastávají různé druhy proudění. Mezi první druh proudění patří laminární neboli přímočaré. Při tomto proudění se částice kapaliny pohybují po vrstvách, které jsou k sobě vzájemně rovnoběžné, částice se mezi sebou nemísí. Další možné proudění, které v kapalinách vzniká, je turbulentní. V případě turbulentního proudění dochází k vzájemnému mísení částic, protože částice kapaliny přecházejí mezi jednotlivými vrstvami. Rychlostní profil výše zmíněných proudění není stejný. Podle obr. 1.1 je patrné, že při laminárním proudění má rychlostní profil tvar paraboly, avšak tvar rychlostního profilu turbulentního proudění nelze jednoduše stanovit.



Obr. 1.1 Rychlostní profil laminárního proudění

K popsání turbulentního profilu (viz obr. 1.2) slouží logaritmická funkce. Turbulentní proud lze rozdělit v blízkosti stěny na tři oblasti. Viskózní podvrstva neboli laminární podvrstva má přímkový rychlostní profil. Přechodová vrstva plynule přechází v turbulentní jádro proudu, kde je logaritmický rychlostní profil [2].



Obr. 1.2 Rychlostní profil turbulentního proudění

1.1.2 Vody stojaté

Vody stojaté jsou především neprůtočné, tyto vody mají uzavřený koloběh látek. Zcela obecně se ve stojatých vodách vyskytuje více mikroorganismů než ve vodách tekoucích. Z důvodu větší četnosti a větší rozmanitosti mikroorganismů, které se ve vodách stojatých vyskytují, se zbytek bakalářské práce zaměřuje na mikroorganismy vod stojatých.

2 MIKROORGANISMY STOJATÝCH VOD

Ve stojatých vodách se vyskytuje velké množství mikroorganismů například rozsivky, zlativky, améby, obrněnky, kapraďorosty, žahavci, vířníci, zlaté řasy, řasy různobrvé, krásnoočka, houbovci, nálevníci, zelené řasy, zelení bičíkovci, bakterie. Další rozdělení mikroorganismů stojatých vod lze provést podle vztahu k lidské populaci na patogenní, ve vodách nežádoucí a na žádoucí. Informace uvedené v této kapitole jsou čerpány ze zdrojů [8] [9] [10].

2.1 Mikroorganismy patogenní

Patogenní organismy zapříčiňují onemocnění jiného organismu. Nákaza lidského metabolismu probíhá například v letních měsících při rekreaci, přímou konzumací vody, popřípadě jinými způsoby. Mezi organismy patogenní patří především bakterie a améby.

2.1.1 Bakterie

Bakterie obývají širokou škálu různých prostředí, ve kterých zažívají kolísající fyzikální a chemické namáhání. Aby bakterie přežily, vyvinuly se jim takové buněčné stěny, které mechanicky odolávají osmotickému tlaku.¹ Bakterie, které jsou schopny žít ve velkých hloubkách, snášejí vysoký hydrostatický tlak. Při vysokém tlaku se inaktivují toxiny. Povrch bakterií je hydrofilní a za normálních podmínek má záporný náboj. Většina bakterií má nitrobuněčný tlak 0,35–0,6 MPa.

Bakterie můžeme rozdělit na aerobní a anaerobní. Toto rozdělení vychází z hlediska příjmu kyslíku. Avšak většina bakterií je schopna příjem kyslíku měnit. Tato výměna probíhá již během dne. V noci se stávají anaeroby, klesají ke dnu a ve dne zase stoupají na hladinu, kde jsou aerobní.

Bakterie lze rozdělit do skupin podle teplot vhodných pro jejich vývoj na psychofilní bakterie, které se nejlépe vyvíjí při teplotách nižších jak 20 °C, vyskytují se v hlubokých jezerech a pramenech řek, jejich výskyt je především nebezpečný v chladicích zařízeních, dále na bakterie mezofilní, tyto bakterie jsou patogenní, rostou nejlépe za teplot v rozmezí 20 až 40 °C, a také na termofilní bakterie, které nerostou v prostředích, kde je teplota nižší jak 30 °C, nejsou patogenní, vyskytují se převážně v kompostu.

Na bakterie působí inaktivačním účinkem ultrafialové záření o intenzitě 260 až 265 nm, dále X-paprsky, které je účinnější aplikovat na gramnegativní bakterie.² Dále jsou citlivé na působení smykového (tečného) napětí. Sterilizace objemných vzorků a kapalin v potrubí je dosaženo při pokojové teplotě rázovou

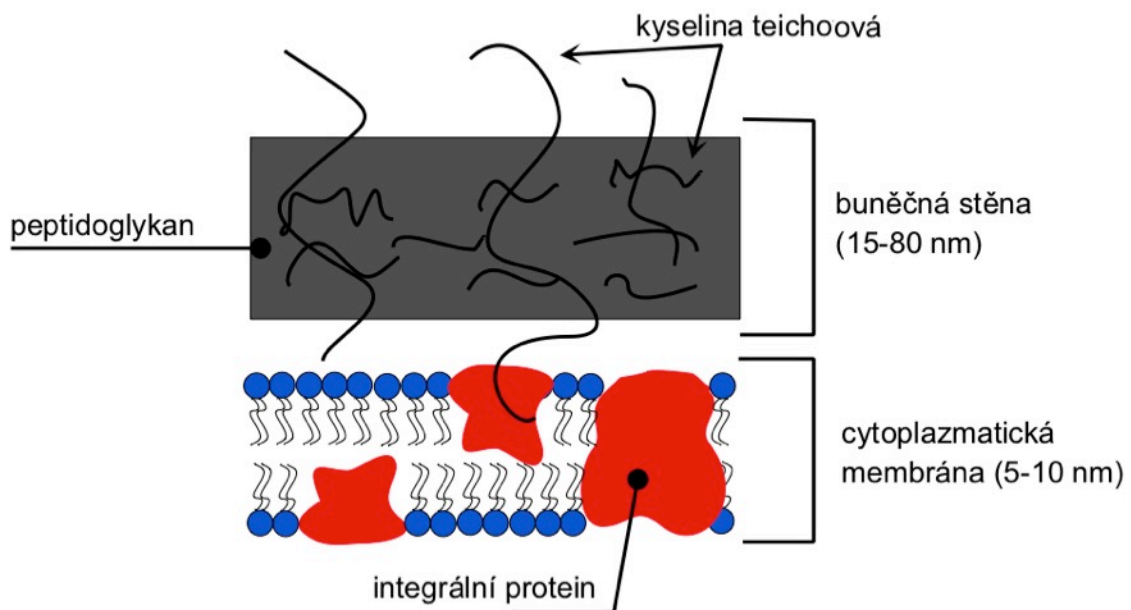
¹ Osmóza patří mezi pasivní transport látek, jedná se o speciální typ difúze. Rozpouštědlo, ve většině případů voda, proniká přes polopropustnou membránu z místa méně koncentrovaného roztoku po směru gradientu koncentrace. Velikost osmózy je stanovena jako rozdíl osmotických tlaků v blízkém okolí obou stran polopropustné membrány.

² Při dobarvování vzorků bakterií organickým barvivem, zvaným Safranin, se projeví barevný rozdíl mezi grampozitivními a gramnegativními bakteriemi, gramnegativní bakterie se zbarví růžově a grampozitivní tmavě fialově.

kompresí následovanou kavitací [25]. V poslední řadě na bakterie působí negativně ultrazvuk, který vytváří v buňce bublinky plynu vedoucí k mechanickému poškození buňky [19].

2.1.1.1 Bakterie grampozitivní (G+)

Vnější stranu celé buňky tvoří buněčná stěna, která je tvořena silnou vrstvou peptidoglykanu s kyselinou teichoovou, která je pro G+ typická (viz obr. 2.3). Jejich buněčná stěna neobsahuje lipidy. Pod vrstvou peptidoglykanu se vyskytuje cytoplazmatická membrána, která je tvořena lipidovou dvojvrstvou, do které jsou vnořeny periferní a integrální proteiny.

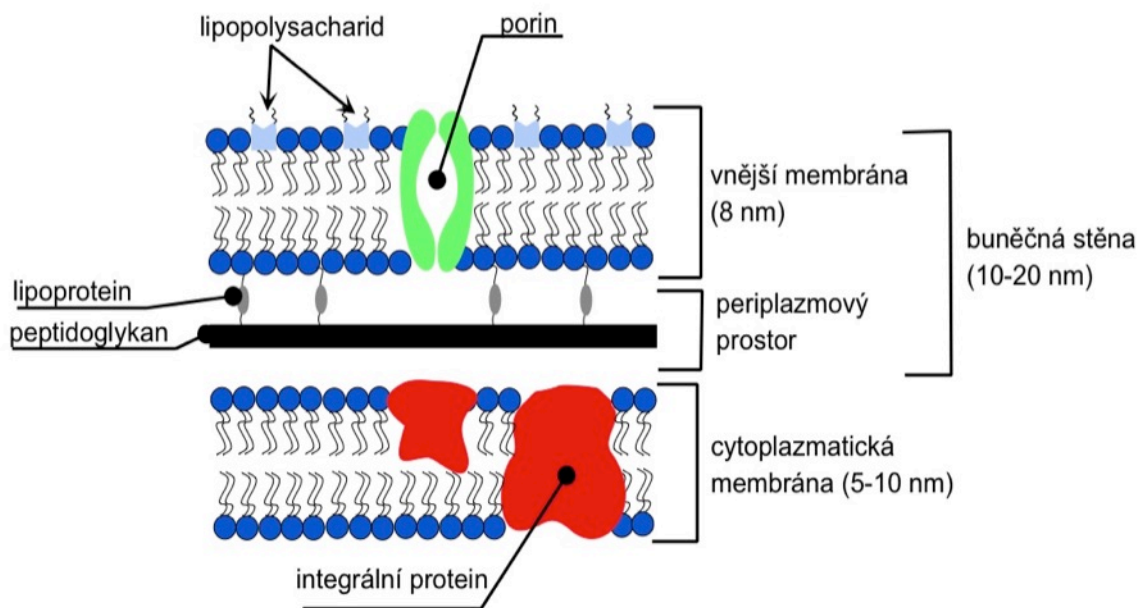


Obr. 2.3 Zobrazení buněčné stavby grampozitivních bakterií

2.1.1.2 Bakterie gramnegativní (G-)

Jejich buněčná stěna (viz obr. 2.4) se skládá z vnější membrány a vnitřní tenké peptidoglykanové vrstvy. Vnější membrána je příbuzná cytoplazmatické membráně, protože obě tyto membrány tvoří lipidová dvojvrstva. Avšak ve vnější membráně se vyskytují navíc poriny a lipopolysacharidy. Poriny se také nazývají jako hydrofilní kanály bílkovinného charakteru, sloužící k transportu látek. Pod buněčnou stěnou se nachází cytoplazmatická membrána. Informace uvedené v této podkapitole jsou čerpány ze zdroje [7].

Mezi G- patří rody *Escherichia*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, sinice, spirochéty a další. Tyto bakterie se pod působením Gramovým barvivem zbarví do růžova.



Obr. 2.4 Zobrazení buněčné stavby gramnegativních bakterií

Leptospira icterohaemorrhagiae

Leptospira icterohaemorrhagiae je aerobní bakterie, která v chladném prostředí přežívá až několik měsíců. Lipopolysacharidová vrstva má nižší endotoxickou aktivitu. Tato bakterie u člověka způsobuje Weilovu nemoc, jejíž příznaky jsou horečky, někdy doprovázeny i poruchami vědomí. Způsobuje poškození jater, ledvin, může vést až k selhání těchto orgánů.

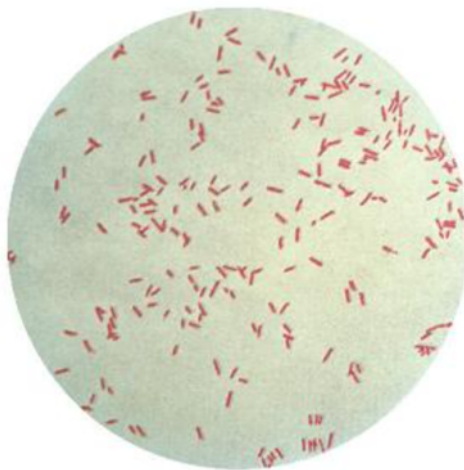
Cyanobakterie

Cyanobakterie neboli sinice, jsou součástí aerobního fytoplanktonu. Cyanobakterie jsou prokaryotické organismy bez buněčných organel. Téměř všechny planktonické cyanobakterie jako *Microcystis*, *Aphanizomenon* a *Nodularia* mají plynové vakuoly, které regulují jejich polohu ve vodním sloupci a jsou citlivé na různé fyzikální faktory prostředí, jako jsou vysoký tlak a smykové síly. Ve stojatých vodách může velká koncentrace cyanobakterií a biomasy mikroskopických řas vytvořit vodní květ, může způsobit několik problémů. Jejich zvýšená přítomnost je zodpovědná za rychlejší zanesení filtrů a potrubí, vysoký zákal vody, noční pokles koncentrace rozpuštěného

kyslíku a změnu místní flóry a fauny. Některé druhy cyanobakterií, jako např. *Microcystis aeruginosa*, produkují toxiny, které mohou ovlivnit zdraví lidí a zvířat. Ryby a měkkýši mohou hromadit tyto toxiny a představovat další zdravotní riziko pro spotřebitele.

Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa (mikroskopický pohled na obr. 2.5) je aerobní, za nepřítomnosti kyslíku velmi rychle ubývá jejich četnost, avšak k přežití mohou využívat dusičnany nebo jiné akceptory elektronů. Dobře rostou za vyšších teplot, ale i při pokojových. Mají tendenci tvořit biofilmy na různých površích, na oblázcích, vnitřních plochách potrubí, apod. Nejsou odolné vůči piperacilinu, tobramycinu [29]. Jsou velmi přizpůsobivé, schopny růst i v destilované vodě. Většina studií ukazuje, že nevykazují žádnou výraznou odolnost vůči dezinfekčním prostředkům jako je chlor, chloraminy, ozon nebo jód [22]. Napadají nejčastěji oslabené jedince, převážně jejich dýchací či močové ústrojí. V lidském těle způsobuje záněty středního ucha a močových cest.



Obr. 2.5 *Pseudomonas aeruginosa* [31]

Escherichia coli

Escherichia coli roste při teplotách od 8 °C, optimální teplota růstu je 37 °C. Vyskytuje se ve vodě s pH v rozmezí od 6 do 8 jako indikátor fekálního znečištění. Použití středotlaké UV lampy inaktivuje až 99,9 % mikroorganismů *Escherichia coli*. Polychromatické záření, které září v širokém spektru vlnových délek, je nejúčinnější o intenzitě 200–400 nm, poškozuje enzymy a DNA.

2.1.1.3 Přiblížení pojmů

Tato podkapitola je určena k bližšímu seznámení s pojmy, které jsou potřebné pro charakteristiku stavby bakteriální buňky. Přesnější definování níže uvedených pojmů, které tvoří názvy dalších podkapitol, nám napomohou lépe porozumět vlastnostem buněčných membrán.

Peptidoglykan

Peptidoglykanu se také přezdívá murein. Obsahuje kyseliny spojené glykosidickou vazbou, kterou jsme schopni narušit ultrazvukem, chemicky či tepelně. Tuto vazbu štěpí glukosidázy. Glykosidická vazba je dále tvořena disacharidy, které jsou mezi

sebou spojeny peptidovou vazbou. U grampozitivních bakterií je v této silné vrstvě navíc kyselina teichoová, která je polymerem rozpustným ve vodě. Peptidoglykan je makromolekulární buněčný "exoskelet" poskytující významné mechanické vlastnosti bakteriální buňce, stabilizuje buněčnou stěnu a poskytuje strukturální integritu.

Tloušťka této vrstvy se mění. U gramnegativních bakterií lze při plné hydrataci naměřit výšku profilu peptidoglykanové vrstvy v rozmezí 2,5–6,5 nm a u grampozitivních bakterií 19–33 nm [11]. Peptidoglykan je porézní materiál a postrádá uspořádanou makromolekulární strukturu. Velikost jeho pórů gramnegativních bakterií je v průměru 4–25 nm. Peptidoglykan se chová velmi podobně jako jiné viskoelastické polymery. Mechanické chování v suché podobě je jako u skelného polymeru s pevností v tahu asi 300 MPa a modulu pružnosti v tahu přibližně 20 GPa [26]. V opačném případě, kdy je peptidoglykan vlhký, je slabší a mnohem méně tuhý s pevností v tahu asi 3 MPa a modulu pružnosti v tahu 10 MPa [26]. Proto mechanické vlastnosti peptidoglykanu silně závisí na jeho vlhkosti.

Peptidová vazba

Peptidovou vazbu mohou štěpit amidázy. Penicilín (endopeptidáza) brání spojení peptidů. Lysozym naruší pomocí hydrolýzy vazby mezi aminocukry. Protože peptidy patří mezi polyelektrolyty, lze tyto vazby dělit iontoměničovou chromatografií a elektroforetickými technikami. Další velké peptidy lze štěpit činidlem CNBr.

Porin

Poriny jsou transmembránové proteiny. Ve vnější membráně G- se vyskytují s vysokou koncentrací. Tato koncentrace se pohybuje řádově 100 tisíc molekul na buňku. Vytvářejí póry, které mají průměr v rozmezí 0,5–2,5 nm [3]. Poriny řídí transport aminokyselin, cukrů a iontů.

Lipopolysacharid

Lipopolysacharid tvoří řetězec lipidu A, O-antigenu, oligosacharidu, spojené kovalentní vazbou. Lipid A je toxický pro ostatní živočišné organismy. Brání membránu před účinky lysozymu, avšak lipopolysacharidy nevytváří celou svrchní vrstvu vnější membrány.

Integrální proteiny

Integrální proteiny procházejí celou lipidovou dvojvrstvou. Interagují s fosfolipidy. Z membrány je uvolňují rozpouštědla tzv. tenzidy.

Periferní proteiny

Periferní proteiny neprocházejí napříč celou dvojvrstvou, k uvolnění není potřeba tenzidů. Tyto proteiny mají slabé vazby, proto na jejich odštěpení stačí solné roztoky o vysoké iontové síle.

Lipidová dvojvrstva

Lipidová dvojvrstva vytváří vnější membránu gramnegativních bakterií a dále je základní stavební jednotkou všech buněčných membrán. Nejčastěji představuje cytoplazmatickou membránu. Tvořena je molekulami, které obsahují hydrofilní a hydrofobní část. Samovolně se organizují do tvaru, aby polární hlavice interagovaly s vodním prostředím. Hydrofilní skupiny jsou seřazeny na vnějším a vnitřním povrchu membrány, mezi hydrofilními skupinami je fáze hydrofobní.

Lipidové molekuly, fosfolipidy, provádí náhodné pohyby, které dosahují vysokých rychlostí. Jednotlivé lipidy se vymění až 10^7 -krát za sekundu [3]. Fosfolipidům není omezen ani rotační pohyb. Přes fosfolipidy samovolně prochází látky, které mají nízkou molární hmotnost a jsou bez náboje. Tvoří se nejčastěji lecitinem-cholinem, glycerolem, fosfátem a mastnou kyselinou. Lipidy se nerozpouští ve vodě, avšak jsou dobře rozpustné v organických rozpouštědlech.

Lipidové membrány jsou schopny vnitřně absorbovat mechanickou energii generovanou akustickou vlnou, která způsobuje deformaci intramembránového prostoru (stlačení, expanze), dále dobře odolávají napětí v tahu. Dosahují hodnot modulu pružnosti v tahu (tzv. Youngův modul) přibližně 56 MPa [3]. Membrána se poruší v momentě, kdy se zvětší o 1–2 %. Pak nastává rozestup mezi molekulami a následně se poruší soudružnost membrány. Podle silové spektrometrie lze na modelech lipidových membrán zjistit iontová síla. Experimentální hodnota průlomové síly je přibližně 15 nN. Membrána v tekutém stavu dosahuje napětí při přetržení přibližně 5–10 mPa a v gelovém stavu dosahuje vyšších hodnot [14].

2.1.2 Améby

Typickým zástupcem, který se vyskytuje ve vodním prostředí, je *Naegleria fowleri*. Améba žije ve vodě volně a aerobně. Vyskytuje se v hloubkách 0,6–2,4 m vodního sloupce. Snáší rozpětí tlaků v rozmezí 25 až 45 MPa. Všichni zástupci améb nemají buněčnou stěnu. Jejich povrch je vytvořen vrstvičkou ektoplazmy. Ta se nazývá vnější exoskelet či vnitřní endoskelet. Exoskelet popř. endoskelet je tvořen chitinem, křemičitanem nebo síranem stronnatým (SrSO_4). U lidského organismu způsobuje meningoencefalitidu, infekci CNS. Lidé se dostávají k nákaze nejčastěji při rekreaci v teplé vodě (37–45 °C) [15].

2.2 Nežádoucí mikroorganismy

Do této skupiny patří mikroorganismy, které nezpůsobují zdravotní potíže u jiných organismů. Jejich výskyt není žádoucí ve vodárenství, snižují kvalitu vody. Jejich přítomnost může ve vodě vytvářet nepříjemný zápach či nevhodnou příchut'.

2.2.1 *Melosira granulata*

Volně vznášející se mikroorganismus, který je součástí planktonu. Tvořeny jsou buňkou, která je ukončena trnem. Ve vodárenství nepatří mezi vítané organismy, protože vytváří ve vodě nevhodnou příchut'.

2.2.2 *Chrysophyceae*

Vyskytují se v chladné jarní vodě o mírně kyselém pH. Mohou přežít neaktivní období jako endocysty. V letních měsících vytváří vodní květ.

2.3 Žádoucí mikroorganismy

V této skupině nalezneme zástupce mikroorganismů, které ve vodním prostředí shledáváme žádoucí. Jejich výskyt se snažíme zachovat, jelikož tvoří nedílnou součást ekosystému vod.

2.3.1 Vířníci (Rotifera)

Dorůstají rozměrů menších jak 0,3 mm. Jsou důležitou součástí zooplanktonu. Ve vodním prostředí mají užitečnou funkci, protože se živí i rozkladnými bakteriemi. Vířníky můžeme pojmenovat jako důležité bazální spotřebitele. Také jsou potravou jiných organismů. Vířníky nazýváme bioindikátory pro ekotoxikologii [27]. Se změnou abiotických podmínek (světlo, teplo) vykonávají migrační proces ze dna na hladinu vody. Ve večerních hodinách se vyskytují na hladině.

Stavbou těla jsou blízcí nálevníkům. Tělní pokryv se nazývá kortex, který obsahuje kromě organel tělního pokryvu alveoly, které jsou váčky v membráně s roztoky bílkovin a polysacharidů.

2.3.2 Krásnoočko (Euglena)

Vyskytují se ve vodách bohatých na organické a minerální živiny. Pokud je obsah organických látek vysoký, vytváří hrubé nánosy na dně rybníků. Optimálně roste při teplotách 25–30 °C. Je fotoautotrofní organismus. Mixotrofní výživa hraje důležitou roli při biologickém čištění vod. Dokáží žít i ve vodách s velmi nízkým pH. Stavbou těla se přibližují nálevníkům. Buněčný povrch krásnoočka tvoří pelikula neboli periplast a jejich povrch pokrývají bílkovinné proužky tzv. myonémy.

2.3.3 Methanová archea

Methanová archea netvoří spory. Žijí anaerobně, mají schopnost fermentovat sloučeniny. U dna vod se podílí na anaerobních procesech. Využívají se při výrobě bioplynu. Buněčná stěna není tvořena peptidoglykanem ani jiným polymerem. Stěnu vytváří tetraetherové lipidy, který se vážou na glycerol etherovou vazbou.

2.3.4 Chlorophyta

Chlorophyta neboli zelené řasy se ve vodním prostředí nalézají přichyceny na kamenech a rostlinách. Přizpůsobují se k životu v mělké vodě. Významným zástupcem je shledávána chlorela. Přežívá i v znečištěných vodách. Má vysoké množství chlorofylu na rozdíl od jiných rostlin a mikroorganismů. Jsou bohatým zdrojem bílkovin a minerálních látek. Využívají se ve fotobioreaktoru pro snížení množství CO₂. Účinnost snížení emisí je až 58 % [12].

2.3.4.1 Buněčná stěna

Zelené řasy mají buněčnou stěnu složenou z polysacharidů a z celulózy. Celá buněčná stěna je zpevněna pektinem. Nejsvrchnější vrstva utváří sliz, který se skládá z pektinů a biopolymeru mastných kyselin, lipidů, fenolů, atd. Informace uvedené v této podkapitole byly získávány ze zdroje [21].

Mají velmi odolnou membránu. Lze ji porušit vysokotlakou homogenizací, mikrovlnnou úpravou, pomocí laseru, termolýzou a za pomoci ultrazvuku. S přihlédnutím k procentuálnímu narušení, spotřebované energie a objemu použitého systému můžeme tyto metody seřadit následovně. Největšího narušení je dosaženo pomocí laseru s průměrnou hodnotou $96,53 \pm 0,92 \%$ při výkonu laseru $16,0 \text{ MJdm}^{-3}$. Mikrovlnná úprava a vysokotlaká homogenizace dosahují sobě velmi blízkých hodnot výsledků jako při užití laseru. Avšak při termolýze dochází k narušení již při $87,72 \pm 1,82 \%$ ($20,1 \text{ MJdm}^{-3}$).

Užití ultrazvuku je nejméně účinné při průměrném narušení $67,66 \pm 1,97 \%$ (132 MJdm^{-3}). Nejvyšší účinnost ultrazvuku je při frekvenci 2,2, 3,3 a 4,3 MHz. Pro rozrušení řas je zapotřebí spíše kavitace než přímých účinků ultrazvuku. Pravděpodobně ani chemické účinky nejsou hlavním mechanismem narušení buněk řas. Vysokofrekvenční sonikace je účinnější než konvenční nízkofrekvenční ultrazvuková sonikace. Frekvenční závislost účinnosti na narušení buněčné stěny řas souvisí s mechanickými rezonančními vlastnostmi buněk. Vztahuje se k oscilaci bublin v ultrazvukovém poli.

3 FYZIKÁLNÍ METODY ČIŠTĚNÍ VOD

Čištění vod probíhá různými způsoby. Vodu lze čistit fyzikální, chemickou metodou, jejich kombinací a v poslední řadě biologickou metodou. Po stránce strojírenských technologií se zaměříme na metody fyzikální.

3.1 Metody odstraňování cyanobakterií z vodního sloupce

Cyanobakterie neboli sinice jsou v České republice známé jako indikátory znečištění stojatých vod. Sinice produkují toxiny, které působí negativně na lidský organismus a vytváří řadu alergických reakcí. Protože sinice nejsou ve vodním prostředí žádány, vznikla řada metod, které vedou k jejich odstranění z vodního sloupce.

3.1.1 Destratifikace

Mezi první metodu, jak čistit vodní plochy od sinic, je destratifikace. Dochází při ní k umělému promíchávání vodního sloupce. Provádí se zavedením stlačeného vzduchu na dno nádrže. Postupně uvolňované bublinky způsobí vertikální proudění ve vodním prostředí. Sinicím je přerušena jejich denní cyklus a následně se podpoří růst zelených netoxických řas.

3.1.2 Ošetření ultrazvukem

Vodní prostředí může být také ošetřeno ultrazvukem. Ultrazvuk dosahuje frekvence vyšší jak 20 kHz, indukuje vibrace a to vede k porušení plynových vakuol [28]. Sinice klesají ke dnu do oblastí vodního sloupce, kde je menší přístup světla. Pracuje v krátkých cyklech, k inaktivaci sinic stačí méně jak 30 minut. Při aplikaci této metody je třeba zvážit vliv ultrasonikace na rybí osádku. Působením ultrazvuku můžeme ovlivnit reprodukci a zdravotní stav ostatních organismů žijících ve vodě.

Komerční aplikace ultrazvuku do celých vodních rezervoárů není ještě běžná, touto problematikou se v Evropě zabývá holandská firma nesoucí název LG SONIC®, která využívá ultrasonických vln k regulaci mikroorganismů ve vodstvu [30]. Zaručují bezpečnost v místě aplikace pro ryby, zooplankton a hmyz. Využívají ultrazvukového tlaku v horním sloupci vody. Tímto způsobem brání sinicím stoupat na povrch, následně zahynou, avšak buněčná stěna je neporušena, proto nedojde k uvolnění toxinů.

3.1.3 Aerace

Další metodou je provzdušňování neboli aerace. Tuto aplikaci lze uskutečnit různými způsoby:

- stlačeným vzduchem (v některých případech dokonce kyslíkem), jedná se o hrubobublinnou, jemnobublinnou či mikrobublinnou pneumatickou aeraci
- mechanickými aerátory (horizontální/vertikální)
- ejektory a injektory.

Voda je čerpána z hlubších vrstev vodního sloupce, následně okysličená přetéká přes okraj vnitřního válce na hladinu. Vnášení kyslíku do ekosystému způsobuje promíchávání vodního sloupce a nárůst množství aktivních bakterií, které se podílejí na spotřebování přebytečných živin, které zapříčiňují tvorbu vodního květu. Rozpustný kyslík je rozhodujícím ukazatelem kvality vody a jeho nedostatek je v organicky znečištěných vodních prostředích. Provzdušňování je účinné, protože dochází k redukci buněk řas až o 91%. Informace k této podkapitole byly čerpány ze zdroje [16].

3.2 Další metody čištění vod

Ve vodním prostředí se nachází vedle sinic i další nežádoucí mikroorganismy, které se snažíme z vod odstranit. Proto se zaměříme i na ostatní metody, které se v současnosti komerčně využívají.

3.2.1 Vysokotlaká homogenizace

Vysokotlaký homogenizátor (HPH) je v laboratorním měřítku tvořen z vysokotlakého čerpadla, které stlačí tekutiny až na tlak 1500 bar, a z nastavitelného homogenizačního ventilu, kde dochází k dekompresi tekutin k atmosférickému tlaku. Při průchodu homogenizačním ventilem se zvyšuje rychlost tekutiny až pětinašobně (až 300 ms^{-1}), která způsobuje rychlý pokles tlaku pod tlak par, způsobuje

kavitaci [18]. Tyto podmínky podporují poškození buněk. Mírné tlaky pod 400 bar nevyvolávají ztrátu integrity ani značné poškození buněk. Tlaky v rozmezí 400 až 1500 bar způsobují velké smykové napětí a významné poškození buněčných struktur [13].

3.2.2 Koagulační filtrace

Vodní prostředí lze od mikroorganismů čistit i jinými metodami než výše zmíněnými. V první řadě sem patří koagulační filtrace. Její součástí je elektrochemický proces, který funguje na bázi nadávkování hlinité či železité soli. Původně stabilní obaly se destabilizují. Vznikají mikrovločky, které se později usazují na dno. Tomuto ději říkáme koagulace se sedimentací. Avšak využitím jiné metody se vynášejí pevné suspendované částice na hladinu, které jsou hydraulicky či mechanicky odstraňovány. Tento děj se nazývá flotace. Separace je ovlivněna elektrickým potenciálem, který určuje vnější buněčná membrána mikroorganismů.

3.2.3 UV záření

Vodu lze také čistit působením UV záření. Je doporučeno záření o vlnové délce 100 nm až 400 nm. Dochází k odstranění bakterií např. legionelly, která způsobuje u lidského organismu pneumonie. Při aplikaci UV záření se využívá fotochemické reakce. Výhodou je, že ve vodním prostředí nevznikají vedlejší produkty, nemění se vlastnosti vody a neškodí materiálům rozvodů.

3.2.4 Termická dezinfekce

Termická dezinfekce pracuje na principu cyklického zvyšování teploty. Teploty se zvyšují až na hodnoty kolem 60 °C. Tato metoda redukuje množství bakterií, plísňů a améb [29].

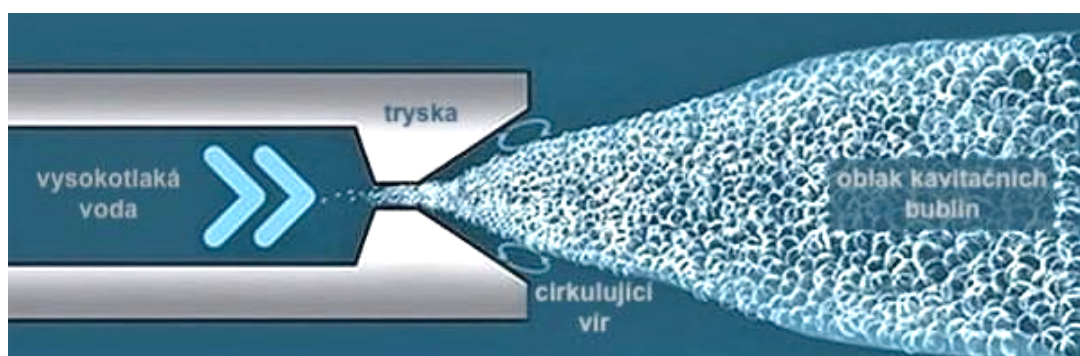
4 KAVITACE

Kavitace je děj, při kterém dochází v kapalině ke vzniku dutin naplněných párou. Vzniká v lokálním místě, kde je snížen tlak. Při vystavení vyššímu tlaku kavitační bubliny implodují a mohou vyvolat intenzivní rázovou vlnu. Informace uvedené v této kapitole jsou čerpány ze zdrojů [5] [6] [23].

Kavitaci obecně rozdělujeme na hydrodynamickou a akustickou kavitaci. Hydrodynamická kavitace probíhá při rychlém zničení vzniklých bublin, které vytvoří nárazovou vlnu. Při akustické kavitaci dochází k oscilaci bublin, vznikne akustické pole. V řadě technických využití neshledáváme kavitaci užitečnou, avšak následující část bakalářské práce poukazuje na její prospěšnou stránku.

4.1 Hydrodynamická kavitace

Hydrodynamická kavitace vzniká buď prouděním kapaliny přes zúžený kanál (viz obr. 4.6), nebo mechanickou rotací zařízení. Zúžením je například škrťací ventil. Kinetická energie se v tekutině zvyšuje s odpovídajícím poklesem místního tlaku. Jestliže je škrcení dostatečně velké pro vyvolání tlaku kolem hodnoty tlaku nasycených par, vytvoří se dutiny. Během průchodu kapaliny přes zúžení dochází k separaci mezní vrstvy a podstatné množství energie se ztrácí ve formě trvalé tlakové ztráty způsobené lokální turbulencí. Rovněž se vytváří turbulence s vysokou intenzitou za prohloubením, jeho intenzita závisí na velikosti poklesu tlaku a rychlosti zotavení tlaku, které naopak závisí na geometrii zúžení a průtokových podmínkách kapaliny, tj. rozsah turbulence. V případě použití zúženého kanálu, specifických geometrií systému, kombinací tlaků a kinetické energie vytvoříme vysokoenergetické kavitační bubliny. Celý proces generace bublin má za následek velmi vysokou energetickou hustotu, zvýšení lokálních teplot a tlaků. Děj probíhá velmi krátkou dobu.



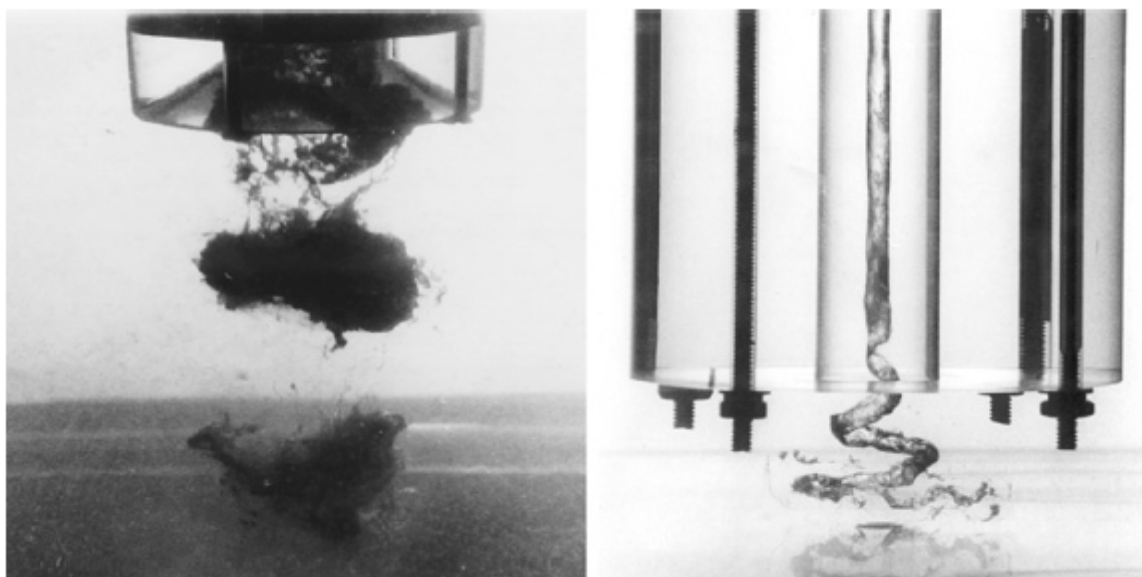
Obr. 4.6 Vytvoření kavitačního oblaku [24]

Kavitace se také generuje mechanickou rotací zařízení. Když rychlost otáčení rotujícího zařízení, například oběžného kola, dosahuje kritické hodnoty rychlosti, lokální tlak v blízkosti obvodu kola klesá a blíží se tlaku nasycených par kapaliny. Výsledkem je generování parních dutin.

Při nekontrolovaném průběhu je kavitace škodlivá. Ovlivněný celý proces kavitace je konstatován jako užitečný, způsobí destrukci buněk, ale nastávají i případy, kdy je děj nevyužit a je považován za nedestruktivní.

4.1.1 Kavitační trysky

Kavitační trysky mohou být vytvářeny různou technologií. Dle výzkumů v USA využívají skupiny vědců trysky STRATOJET® nebo DYNASWIRL® (viz obr. 4.7). Byl zkoumán účinek na G- bakterie, mezi které patří *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas syringae* a *Pseudomonas aeruginosa*, avšak i na bakterie G+, kde je hlavním představitelem *Bacillus subtilis* [20]. Hydrodynamická kavitační tryska je velmi účinná při selekci výše zmíněných organismů. Po ukončení kavitačního procesu se pozoruje množství mikroorganismů, které byli nepoškozeni. V tomto případě byla koncentrace G- bakterií větší než G+ bakterií. Za stejných dezinfekčních podmínek G- druhy mají tenčí buněčnou stěnu, proto se více přizpůsobí hydrodynamické kavitaci, to vede k větší rezistenci. Mechanismem hydrodynamické kavitace je prasknutí buněčné stěny. Dále byly studovány účinky různých geometrií trysek na *E. coli* a *B. subtilis*. Rychlost redukce *E. coli* je závislá na geometrii trysky při konstantním tlaku a průtoku, avšak při dezinfekci *B. subtilis* je závislá především na typu trysky, proto je návrh dýzy důležitější než určení provozního tlaku.



Obr. 4.7 Zleva: STRATOJET®, DYNASWIRL® [20]

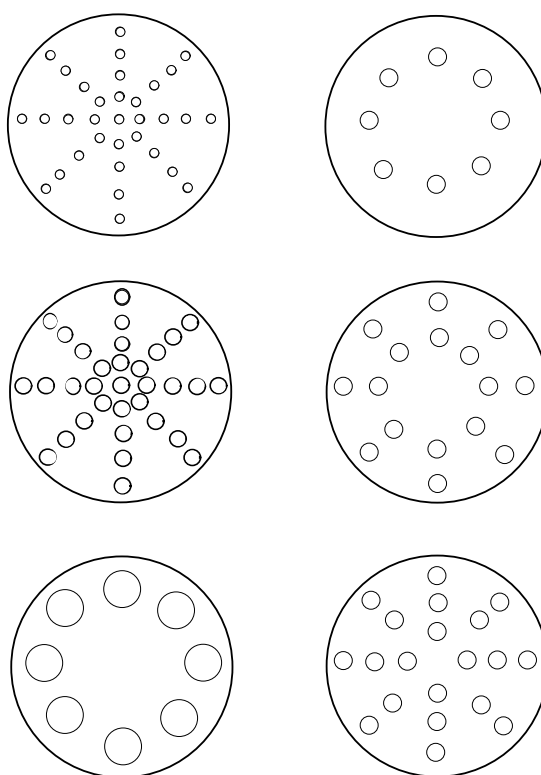
4.1.2 Kavitační reaktory

Kavitačními reaktory jsou sonochemické reaktory a hydrodynamické kavitační reaktory. V případě sonochemických reaktorů generuje kavitaci ultrazvuk, zatímco hydrodynamické reaktory generují dutiny díky proudění tekutin [23].

4.1.2.1 Hydrodynamický kavitační reaktor

Obvyklé zařízení založené na hydrodynamické kavitaci je vysokotlaký homogenizátor, který je v podstatě vysokotlaké vyrovnávací čerpadlo se škrtkící klapkou. Typický vysokotlaký homogenizační reaktor se skládá z napájecí nádrže a dvou škrtkících ventilů. Tyto reaktory naleznou využití v bioprocených průmyslových odvětvích, při přerušování buněčných stěn, kde je vyžadována kavitace s různou intenzitou. Tyto reaktory jsou obecně vhodné pro emulgační procesy v potravinářském, farmaceutickém a bioprocením průmyslu.

Zúžení lze vytvořit pomocí Venturiho trubice, jedním otvorem nebo vícenásobnými otvory v clonové desce (obr. 4.8). Použití více otvorů pomáhá k dosažení různých intenzit kavitace. Nastavení clony rozvaděče nabízí obrovskou flexibilitu z hlediska provozu. Nastavit lze vstupní tlak, vstupní průtok a teplota. Uspořádání otvorů na deskách je kruhové, trojúhelníkové, apod. Také lze měnit geometrii samotného otvoru.



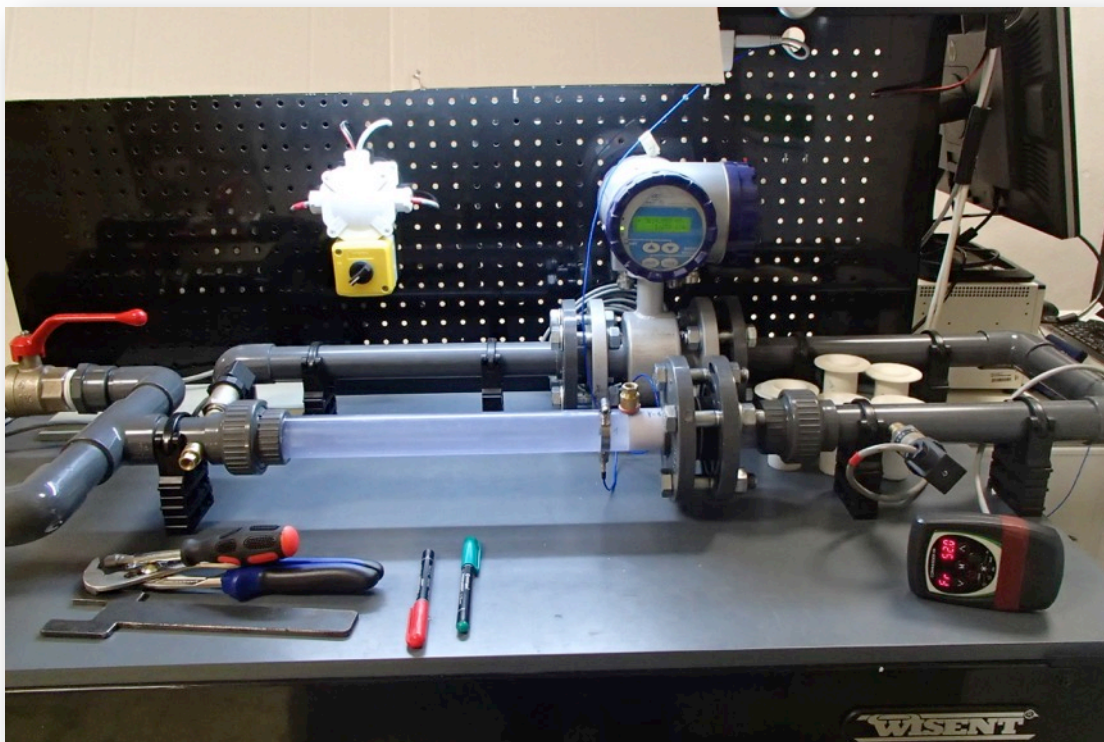
Obr. 4.8 Možné varianty otvorů v cloně [23]- upraveno autorem

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

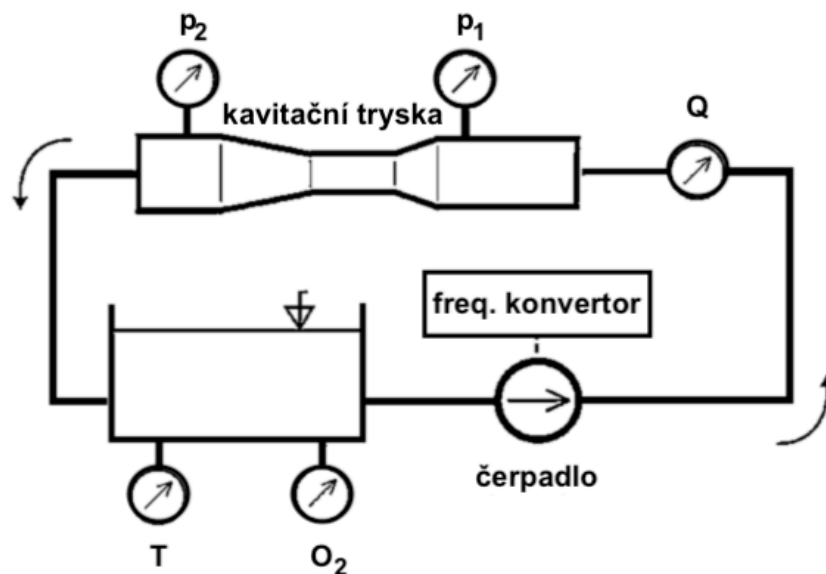
Cílem této kapitoly bylo zdokumentování experimentu, který byl proveden na hydrodynamické kavitační trati. Experiment byl navržen za účelem prověření vlivu kavitace na předem připravených kulturách mikroorganismů a proveden v laboratoři ve spolupráci s prof. Ing. Blahoslavem Maršálkem, CSc. z Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity v Brně, Výzkumného centra pro chemii životního prostředí a ekotoxikologii v Brně.

5.1 Kavitační trať

Okruh byl tvořen nádobou, do které byla napuštěna znečištěná námi testovaná voda. Z této nádoby byla voda přečerpávána do celého obvodu, který byl sestaven z průtokoměru, měřiče tlaku a škrtkového ventilu (obr. 5.9 a 5.10).



Obr. 5.9 Pohled na kavitační trať

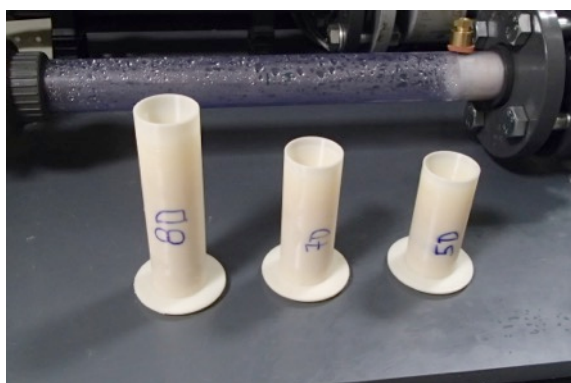


Obr. 5.10 Schéma kavitační tratě [17]

5.2 Průběh experimentu

Experiment zpočátku probíhal na stanovišti, kde byla kavitační trať, poté následovalo měření pomocí fluorescenční sondy pro zjištění hodnot fluorescence chlorofylu a ukončen byl zhodnocením stavu mikroorganismů pod mikroskopem popřípadě ukončen testem integrity membrány.

Každý testovaný vzorek byl tvořen 10 dm³ vody s kulturami *Microcystis aeruginosa*. Měření se provádělo na různých tryskách (obr. 5.11 a 5.12), které se lišily geometrií. Každý vzorek prošel 3 cykly kavitační tratě.



Obr. 5.11 Kavitační trysky- pohled 1.



Obr. 5.12 Kavitační trysky- pohled 2.

5.2.1 Výsledky experimentu

Během experimentu se zaznamenávaly hodnoty tlaků, průtok při plném chodu čerpadla a rychlosti toků (tab. 5.1). Geometrie trysek, které byly při experimentu nejméně úspěšnější, jsou také uvedeny v tab. 5.1.

Tab. 5.1 Geometrie trysek a výsledky změřených veličin

označení	tvar nátoku a výtoku	průměr	délka	počet	průřez	vstupní	výstupní	průtok	rychlost toku soustavou	rychlost toku tryskou
		trysky	trysky	trysek	trysky	tlak při plném výkonu čerpadla		při plném výkonu čerpadla		
		D	L	x	S	p ₁	p ₂	Q	v	v ₁
		[mm]	[mm]		[mm ²]	[kPa]	[kPa]	[l s ⁻¹]	[ms ⁻¹]	[ms ⁻¹]
VUT2-1/4	válec válec	2	6	10	3,1	563	97	0,71	0,7	22,6
12	trychtýř trychtýř	6	50	1	28,3	562	98	0,79	0,78	27,94
Y7-1-60Y	trychtýř trychtýř	7	60	1	38,5	541	97	0,935	0,92	24,3

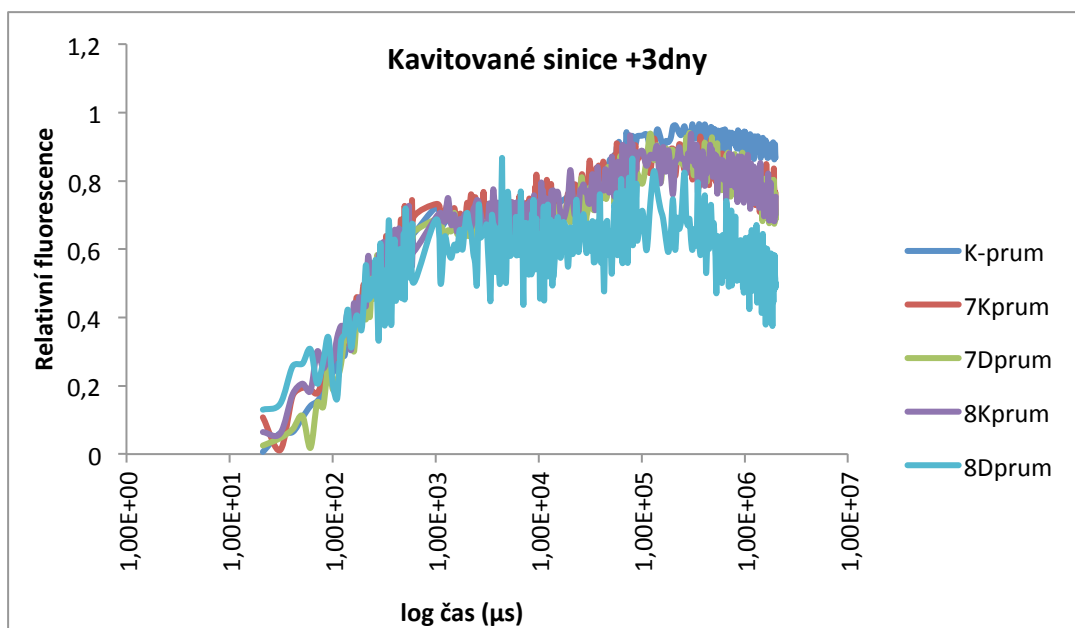
Největších průtoků, nejvyšších rychlostí soustavou a nejmenšího vstupního tlaku se dosáhlo při použití trysky s označením Y7-1-60Y. Tlaky na výstupu jsou při využití všech tří trysek téměř shodné. U vybraných testovaných vzorků se měřila také teplota a pH (tab. 5.2).

Tab. 5.2 Stav před a po kavitaci

charakteristický průměr	stav před kavitací		stav po kavitaci	
	teplota [°C]	pH [-]	teplota [°C]	pH [-]
8mm KRÁTKÁ	19,1	7,65	20,3	7,71
8mm DLOUHÁ	18,4	7,75	19,9	7,82
7mm KRÁTKÁ	19,2	7,44	20,9	7,6
7mm DLOUHÁ	19	7,62	20,3	7,49
5mm DLOUHÁ	20,1	7,93	22,8	7,81
3mm DLOUHÁ	20,7	7,88	23	7,88

Z tab. 5.2 je zřejmé, že po uplynutí kavitace se nejvíce zvýšila teplota u vzorků, kde byly použity trysky, které měly charakteristický průměr 5 mm, 3 mm. Byly nazvány jako dlouhé trysky.

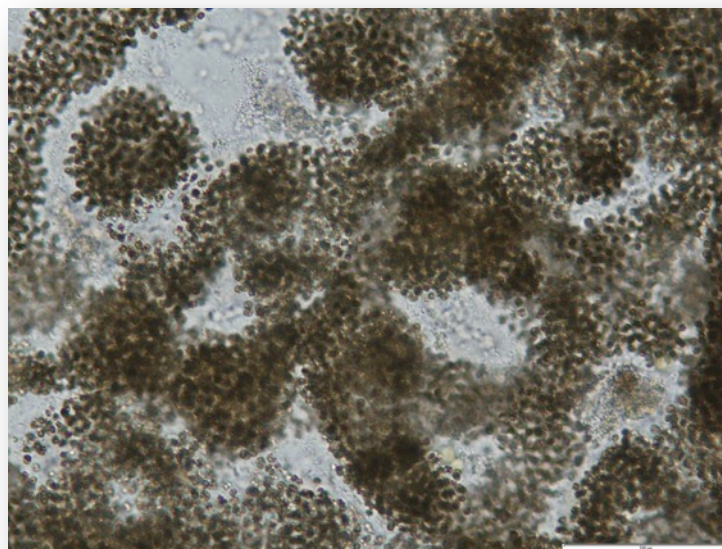
Naměřené hodnoty fluorescence byly pozorované v čase bezprostředně po kavitaci a po 3 dnech. Grafická závislost hodnot relativní fluorescence a času je znázorněna na obr. 5.13. Fluorescenční signál kavitovaných sinic se po třech dnech od kavitace snížil, může to znamenat úbytek životaschopných buněk, pokles funkčnosti fotosyntetického aparátu, nebo mohly nastat oba dva výše zmíněné případy.



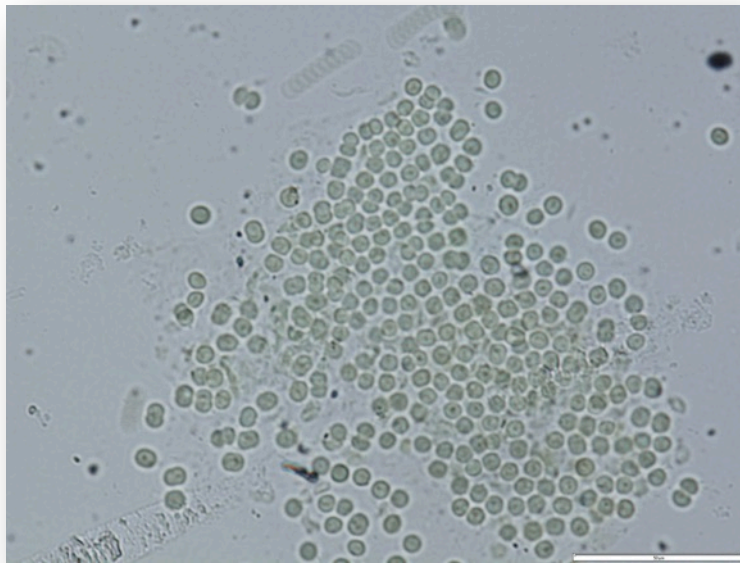
Obr. 5.13 Hodnoty fluorescence

Obr. 5.13 naznačuje, že se pravděpodobně jedná právě o kombinaci obojího. Nejvíc je to patrné u varianty 8D (8mm DLOUHÁ), kde je signál kolísavý, ale maximální hodnota fluorescence je relativně o hodně nižší než u ostatních variant.

Při mikroskopickém zkoumání vzorků byly pořízeny záznamy stavu *Microcystis aeruginosa*. Z obrázků lze rozpoznat změnu stavu kontroly (obr. 5.14) a vzorku, který prošel prvním cyklem kavitace. Viditelný rozdíl tvoří pohled na plynové vakuoly. Na prvním záznamu (obr. 5.14) *Microcystis aeruginosa* mají plynové vakuoly. Po uplynutí prvního cyklu kavitace je ze záznamu (obr. 5.15) patrné, že o tyto vakuoly postupně přicházejí. Také lze postřehnout, že se na obr. 5.15 buňky nenacházejí v koloniích.



Obr. 5.14 Původní biomasa *Microcystis aeruginosa*



Obr. 5.15 Microcystis aeruginosa po 1. cyklu

6 ZÁVĚR

Úkolem bakalářské práce bylo provedení literární rešerše se zaměřením na vlastnosti buněk mikroorganismů, které se vyskytují ve vodním prostředí. Mikroorganismy byly rozděleny z pohledu vztahu k člověku na patogenní, ve vodstvu žádoucí a nežádoucí. Velkou pozornost si zasloužily patogenní mikroorganismy, především bakterie.

Buňka bakterie je schopná se adaptovat velkému hydrostatickému tlaku. Nejsvrchnější vrstva u grampozitivních bakterií má v suché podobě blízké mechanické vlastnosti jako skelný polymer, avšak s rostoucí vlhkostí pevnost v tahu ztrácí. Vnější membrána u gramnegativních bakterií je schopná odolávat průlomové síle o velikosti jednotek nN a při přetržení se vytvoří napětí v jednotkách mPa.

Dalším zaměřením této práce bylo nalezení metod, které mají inaktivační účinek na mikroorganismy, převážně na bakterie. Některé metody se využívají k čištění vod komerčně, jiné nemají ještě velké zastoupení. Na bakteriální buňky působí velmi selektivně UV záření. Oproti tomu membránu zelených řas nejvíce naruší vysokotlaký homogenizátor, laser nebo mikrovlnná úprava. Neprobádanou metodou, která by našla uplatnění při čištění popřípadě úplné sterilizaci vod, je hydrodynamická kavitace.

V poslední části bakalářské práce se pojednává o prověření vlivu hydrodynamické kavitace na sinicích. Při experimentu se využívalo stejné kavitační tratě, záměna byla uskutečněna pouze různými tryskami. Měly rozdílnou geometrii a ty, které byly shledány jako úspěšné, jsou přesněji definované v tab. 5.1. Výsledky se vzorky, kde se vyskytovala *Microcystis aeruginosa* (cyanobakterie s plynovými vakuolami), byly shledány pozitivně. Protože došlo k narušení výše zmíněných vakuol a následně postupnému uhynutí buněk. Nebyly narušeny pouze vakuoly, ale také buněčná stěna a kolonie sinic byly od sebe odděleny na samostatné buňky. U ostatních kultivovaných druhů sinic, které neměly vyvinuté plynové vakuoly, byla zatím hydrodynamická kavitace neúspěšná. Došlo pouze k vytvoření stresu na jednotlivé mikroorganismy, avšak víme, že poklesla funkčnost fotosyntetického aparátu. Úvaha, která byla v bakalářské práci zvolena, byla zřejmě správná, proto by bylo zajímavé se nadále touto tematikou zabývat a navázat na ni při dalším studiu.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] ADÁMEK, Zdeněk. *Aplikovaná hydrobiologie* [online]. 2., rozš. Vodňany: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, 2010. ISBN 978-80-87437-09-4 (váz.) CN - D 956/12. Dostupné z: http://toc.nkp.cz/NKC/201103/contents/nkc20112161400_1.pdf
- [2] JEŽEK, Jan. *Mechanika tekutin*. B.m.: České vysoké učení technické, nedatováno. ISBN 80-01-01615-3.
- [3] KODÍČEK, Milan a Vladimír KARPENKO. *Biofyzikální chemie*. Vyd. 3., o. Praha: Academia, 2013. ISBN 978-80-200-2241-7 (váz.).
- [4] LELLÁK, J a F KUBÍČEK. *Hydrobiologie* [online]. B.m.: Karolinum, 1992. ISBN 9788070665305. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=XThcAAACAAJ>
- [5] NOSKIEVIČ, Jaromír. *Kavitace*. B.m.: Academia, 1969
- [6] NOSKIEVIČ, Jaromír. *Kavitace v hydraulických strojích a zařízeních*. B.m.: Nakladatelství techn. lit., 1990. Dostupné také z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:3196d1d0-81f0-11e5-a715-005056827e52>
- [7] REMAUT, H a R FRONZES. *Bacterial membranes: Structural and molecular biology* [online]. B.m.: Caister Academic press, 2014. ISBN 9781908230270. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=pdEAAgAAQBAJ>
- [8] ROSYPAL, Stanislav. *Nový přehled biologie*. B.m.: Scientia, 2003. ISBN 80-7183-268-5.
- [9] ŘÍHOVÁ AMBROŽOVÁ, Jana. *Mikrobiologie v technologii vod*. B.m.: Vysoká škola chemicko-technologická, 2004. ISBN 978-80-7080-676-0 978-80-7080-534-3 (dotisk 1. vyd.) 80-7080-534-X (1. vyd.).
- [10] ZÁVODSKÁ, Radka, Jan MAGET, Petr ZNACHOR a František WEYDA. *Biologie buněk*. 1. vyd. Praha: Scientia, 2006. ISBN 80-86960-15-3 (brož.).
- [11] AUER, G K a D B WEIBEL. Bacterial cell mechanics. *Biochemistry* [online]. 2017, 56(29), 3710–3724. ISSN 0006-2960. Dostupné z: [doi:10.1021/acs.biochem.7600346](https://doi.org/10.1021/acs.biochem.7600346)
- [12] CHIU, S. Y., C. Y. KAO, C. H. CHEN, T. C. KUAN, S. C. ONG a C. S. LIN. Reduction of CO₂ by a high-density culture of chlorella sp in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresource Technology* [online]. 2008, 99(9), 3389–3396. ISSN 0960-8524. Dostupné z: [doi:10.1016/j.biortech.2007.08.013](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.08.013)

- [13] DIELS, A. M. J. a C. W. MICHIELS. High-pressure homogenization as a non-thermal technique for the inactivation of microorganisms. *Critical reviews in microbiology* [online]. 2006, **32**(4), 201–216. ISSN 1040-841X. Dostupné z: doi:10.1080/10408410601023516
- [14] GARCIA-MANYES, S a F SANZ. Nanomechanics of lipid bilayers by force spectroscopy with AFM: A perspective. *Biochimica et biophysica acta-biomembranes* [online]. 2010, 1798(4), 741–749. ISSN 0005-2736. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbamem.2009.12.019
- [15] GOVINDA S. VISVESVARA, HERCULES MOURA, FREDERICK L. SCHUSTER; Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: acanthamoeba spp., balamuthia mandrillaris, naegleria fowleri, and sappinia diploidea, FEMS Immunology & Medical Microbiology, Volume 50, Issue 1, 1 June 2007, Pages 1–26, <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00232.x>.
- [16] HUANG, Yuwei, Chun YANG, Chengcheng WEN a Gang WEN. S-type dissolved oxygen distribution along water depth in a canyon-shaped and algae blooming water source reservoir: Reasons and control [online]. 2019. ISBN 1660-4601 . Dostupné z: doi:10.3390/ijerph16060987
- [17] JANCULA, D., P. MIKULA, B. MARSALEK, P. RUDOLF a F. POCHYLY. Selective method for cyanobacterial bloom removal: hydraulic jet cavitation experience. *Aquaculture International* [online]. 2014, **22**(2), 509–521. ISSN 0967-6120. Dostupné z: doi:10.1007/s10499-013-9660-7
- [18] KUMAR, P. S. a A. B. PANDIT. Modeling hydrodynamic cavitation. *Chemical Engineering & Technology* [online]. 1999, **22**(12), 1017–1027. ISSN 0930-7516. Dostupné z: doi:10.1002/(sici)1521-4125(199912)22:12<1017::aid-ceat1017>3.0.co;2-I
- [19] KUROKAWA, M, P. M. KING, X. G. WU, E. M. JOYCE, T. J. MASON a K. YAMAMOTO. Effect of sonication frequency on the disruption of algae. *Ultrasonics Sonochemistry* [online]. 2016, 31, 157–162. ISSN 1350-4177. Dostupné z: doi:10.1016/j.ultsonch.2015.12.011
- [20] LORAINE, Greg, Georges CHAHINE, Chao-Tsung HSIAO, Jin-Keun CHOI a Patrick ALEY. *Disinfection of gram-negative and gram-positive bacteria using DYNAJETS(R) hydrodynamic cavitating jets* [online]. 2012. Dostupné z: doi:10.1016/j.ultsonch.2011.10.011
- [21] MCMILLAN, J. R., I. WATSON, M. ALI a W. JAAFAR. Evaluation and comparison of algal cell disruption methods: Microwave, waterbath, blender, ultrasonic and laser treatment. *Applied Energy* [online]. 2013, 103, 128–134. Dostupné z: doi:10.1016/j.apenergy.2012.09.020
- [22] MENA, Kristina D a Charles P GERBA. Risk assessment of Pseudomonas aeruginosa in water. *Reviews of environmental contamination and toxicology* [online]. 2009, 201, 71–115. ISSN 0179-5953 (Print). Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4419-0032-6_3

- [23] GOGATE, P. R. a A. M. KABADI. A review of applications of cavitation in biochemical engineering/biotechnology. *Biochemical Engineering Journal* [online]. 2009, 44(1), 60–72. ISSN 1369-703X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bej.2008.10.006
- [24] POWERMAG, *Ultra-high-pressure cavitation peening offers new way to maintain components in operational nuclear reactors* [online]. Dostupné na Wolrd Wide Web: <http://www.powermag.com/ultra-high-pressure-cavitation-peening-offers-new-way-maintain-components-operational-nuclear-reactors/>.
- [25] SCHIFFER, A., M. N. GARDNER, R. H. LYNN & V. L. A new apparatus to induce lysis of planktonic microbial cells by shock compression, cavitation and spray. *Royal Society Open Science* [online]. 2019, 4(3), 160939. Dostupné z: doi:10.1098/rsos.160939
- [26] J.J. THWAITES, J. J. a N. H. MENDELSON. Mechanical properties of peptidoglykan as determined from bacterial thread. *International Journal of biological macromolecules* [online]. 1989, 11(4), 201–206. ISSN 0141-8130. Dostupné z: doi:10.1016/0141-8130(89)90069-x
- [27] WALLACE, Robert Lee a Hilary April SMITH. *Rotifera* [online]. 15. květen 2013. Major Reference Works. ISBN 9780470015902. Dostupné z: doi:doi:10.1002/9780470015902.a0001588.pub2
- [28] YAMAMOTO, K., P. M. KING, X. G. WU, T. J. MASON a E. M. JOYCE. Effect of ultrasonic frequency and power on the disruption of algal cells. *Ultrasonics Sonochemistry* [online]. 2015, 24, 165–171. ISSN 1350-4177. Dostupné z: doi:10.1016/j.ultsonch.2014.11.002
- [29] EUROCLEAN, *Termická dezinfekce* [online]. Dostupné na World Wide Web: <https://euroclean.cz/slovník/termicka-desinfekce/>
- [30] LGSONIC, *Ultrasonic algae control technology* [online]. Dostupné na World Wide Web: <https://www.lgsonic.com/ultrasonic-algae-control-technology/>.
- [31] MICROBE WIKI, *Pseudomonas aeruginosa* [online]. Dostupné na World Wide Web: https://microbewiki.kenyon.edu/index.php/Pseudomonas_aeruginosa.

8 SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

8.1 Seznam obrázků

OBR. 1.1 RYCHLOSTNÍ PROFIL LAMINÁRNÍHO PROUDĚNÍ	11
OBR. 1.2 RYCHLOSTNÍ PROFIL TURBULENTNÍHO PROUDĚNÍ.....	12
OBR. 2.3 ZOBRAZENÍ BUNĚČNÉ STAVBY GRAMPOZITIVNÍCH BAKTERIÍ.....	14
OBR. 2.4 ZOBRAZENÍ BUNĚČNÉ STAVBY GRAMNEGATIVNÍCH BAKTERIÍ	15
OBR. 2.5 PSEUDOMONAS AERUGINOSA [31].....	16
OBR. 4.6 VYTVOŘENÍ KAVITAČNÍHO OBLAKU [24]	23
OBR. 4.7 ZLEVA: STRATOJET®, DYNASWIRL® [20].....	24
OBR. 4.8 MOŽNÉ VARIANTY OTVORŮ V CLONĚ [23]- UPRAVENO AUTOREM	25
OBR. 5.9 POHLED NA KAVITAČNÍ TRATĚ	26
OBR. 5.10 SCHÉMA KAVITAČNÍ TRATĚ [17]	27
OBR. 5.11 KAVITAČNÍ TRYSKY- POHLED 1.	27
OBR. 5.12 KAVITAČNÍ TRYSKY- POHLED 2.	27
OBR. 5.13 HODNOTY FLUORESCENCE.....	29
OBR. 5.14 PŮVODNÍ BIOMASA MICROCYSTIS AERUGINOSA	29
OBR. 5.15 MICROCYSTIS AERUGINOSA PO 1. CYKLU	30

8.2 Seznam tabulek

TAB. 5.1 GEOMETRIE TRYSEK A VÝSLEDKY ZMĚŘENÝCH VELIČIN	28
TAB. 5.2 STAVY PŘED A PO KAVITACI	28