



ПРИХОВАНА ЗАГРОЗА У ПИТНІЙ ВОДІ: ЖИТТЄЗДАТНІ НЕКУЛЬТУРАБЕЛЬНІ МІКРО- ОРГАНІЗМИ

наука для всіх наука для всіх наука для всіх наука для всіх



НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ ТА ХІМІЇ ВОДИ
ім. А.В. ДУМАНСЬКОГО НАН УКРАЇНИ

О.С. БОЛГОВА
М.М. САПРИКІНА
В.Р. МУРАВЬОВ
В.В. ГОНЧАРУК

ПРИХОВАНА
ЗАГРОЗА
В ПИТНІЙ ВОДІ:
ЖИТТЕЗДАТНІ
НЕКУЛЬТУРАБЕЛЬНІ
МІКРО-
ОРГАНІЗМИ

КИЇВ
АКАДЕМПЕРІОДИКА
2022

Рецензенти:

Ж.О. ПЕТРОВА, доктор технічних наук, головний науковий співробітник відділу тепломасопереносу в теплотехнологіях Інституту технічної теплофізики НАН України

П.І. ГВОЗДЯК, доктор біологічних наук, професор, головний науковий співробітник відділу сорбції та біології очистки води Інституту колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України

Рекомендовано до друку Вченою радою Інституту колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України (протокол від 06.09.2021 № 10)

Видання здійснено за кошти Цільової комплексної програми НАН України «Наукові основи функціонування та забезпечення умов розвитку науково-видавничого комплексу НАН України»

Болгова О.С.

Б79 Прихована загроза в питній воді: життєздатні некультурабельні мікроорганізми / О.С. Болгова, М.М. Сап-рикіна, В.Р. Муравйов, В.В. Гончарук; Інститут колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України. — Київ: Академперіодика, 2022. — 134 с.

ISBN 978-966-360-459-6

Розглянуто нові методи очищення питної води від мікроорганізмів, які перейшли у життєздатний некультурабельний стан, з використанням гіпохлориту натрію як знезаражувального реагенту, а також технології їх знешкодження та глибокого вилучення із застосуванням нових підходів до оцінки та контролю якості питної води. Розрахована на мікробіологів, біотехнологів, лікарів, ветеринарів, працівників станцій підготовки питної води, а також студентів, аспірантів і викладачів закладів вищої освіти біологічного, медичного та сільськогосподарського профілю.

УДК 628.16:579.22

© Інститут колоїдної хімії та хімії
води ім. А.В. Думанського
НАН України, 2022

ISBN 978-966-360-459-6

© Академперіодика, дизайн, 2022



ВСТУП

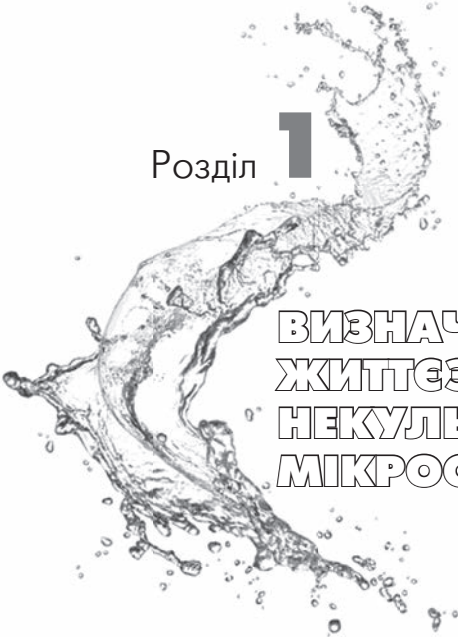
Якість питної води є одним з основних факторів впливу на здоров'я людей. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, близько 80 % захворювань людини пов'язані саме з низькою якістю питної води. Вода може спричиняти поширення таких небезпечних інфекційних захворювань, як черевний тиф, паратифи А і В, холера, дизентерія, сальмонельоз, ешерихіоз та ін. Саме тому проблема водопостачання доброякісної води в достатній кількості є однією з головних проблем людства.

Мікробіологічний контроль якості питної води на станціях водопідготовки здійснюють за допомогою загальноприйнятих класичних методів, з використанням яких визначають загальну кількість бактерій і деяких патогенних збудників, вірусів, найпростіших, а віднедавна – і наявність у воді міцеліальних грибів. Однак, за результатами останніх досліджень, встановлено здатність мікроорганізмів переходити у життєздатний некультурабельний стан під дією природних та антропогенних стрес-факторів, у результаті чого мікроорганізми не культивуються на класичних диференційно-діагностичних агарових середовищах і не виявляються у воді

традиційними методами мікробіологічного аналізу. Це становить небезпеку неповного врахування кількості життєздатних патогенних мікроорганізмів і отримання помилкових результатів аналізу питної води на станціях водопідготовки, що, у свою чергу, може призвести до виникнення низки тяжких захворювань у споживачів такої води.

З огляду на здатність мікроорганізмів переходити у життєздатний некультурабельний стан, дослідження з виявлення мікроорганізмів у такому стані та видалення їх із питної води є вкрай актуальними.

Отже, було досліджено можливість утворення життєздатного некультурабельного стану у санітарно-показових культур, які часто трапляються у воді, розроблено надійну методику виявлення таких мікроорганізмів у життєздатному некультурабельному стані в природних та питних водах і запропоновано технологічну схему ефективного вилучення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів з питної води.

A detailed black and white illustration of a water splash, showing a large, curved droplet with many smaller droplets and bubbles trailing behind it, creating a sense of motion and energy.

Розділ **1**

**ВИЗНАЧЕННЯ
ЖИТТЄЗДАТНИХ
НЕКУЛЬТУРАБЕЛЬНИХ
МІКРООРГАНІЗМІВ**

-
- 1.1.** Мікроорганізми в життєздатному некультурабельному стані та їх характеристика
 - 1.2.** Вплив на людину мікроорганізмів, які перебувають у життєздатному некультурабельному стані
 - 1.3.** Методи виявлення мікроорганізмів, які перебувають у життєздатному некультурабельному стані
 - 1.4.** Характеристика мікроорганізмів *Escherichia coli* і *Candida albicans* та їх особливості
 - 1.5.** Перехід мікроорганізмів у життєздатний некультурабельний стан у процесі знезараження питної води



1.1. Мікроорганізми в життєздатному некультурабельному стані та їх характеристика

Мікроорганізми дуже поширені в навколишньому середовищі і характеризуються високою екологічною валентністю. Вони зазвичай існують у вигляді вегетативних клітин, але деякі види здатні утворювати досить стійкі структури, відомі як спори. Такі форми існування, або неактивний стан, допомагають мікроорганізмам виживати тривалий час за несприятливих умов. Однак не всі мікроорганізми можуть утворювати спори, а тому деякі з них переходять у так званий життєздатний, але некультурабельний стан (ЖНС) [1]. Термін «життєздатні, але некультурабельні» мікроорганізми вперше було введено у 1984 році для бактерій, які проявляють метаболічну активність, але не ростуть на загальноприйнятих бактеріологічних середовищах (агар Ендо, агар мікробіологічний, середовище Гіса з лактозою, лактозо-пептонне середовище, поживний бульйон та ін.) [2, 3].

Здатність бактеріальних клітин реагувати на зміни параметрів навколишнього середовища зумовлена різноманітними фенотиповими і генотиповими механізмами. Щоб

залишатися життєздатними, бактерії змінюють синтез ферментів, пристосовуються до поживних речовин, що обмежують їх ріст, корегують або змінюють маршрут метаболічних шляхів для уникнення метаболічних чи структурних збоїв [4, 5].

Перехід клітин у ЖНС є реакцією на будь-яку форму природного стресу, наприклад голодування, несприятливий діапазон температур, висушування, підвищення осмотичного (морська вода) та гідростатичного тиску, аерація, зміна концентрації кисню, рН, рСО₂, вплив ультрафіолету тощо. Під дією цих чинників бактерії втрачають здатність до розмноження на поживних середовищах, але при цьому виявляють дихальну і метаболічну активність, тобто залишаються живими, життєздатними [6].

Бактерії можуть тривалий час перебувати в життєздатному некультурабельному стані [7]. Наприклад, виявлено високий рівень АТФ в клітинах *Listeria monocytogenes* після перебування їх в ЖНС упродовж року, що свідчить про збереження ними метаболічної функції. У некультурабельному стані вони були нездатні викликати інфекцію, проте після переходу в культурабельний стан відновлювали свої патогенні властивості [8, 9]. *Pseudomonas fluorescens* можуть залишатися життєздатними некультурабельними в ґрунті понад рік [10]. Інакше кажучи, життєздатність, але некультурабельність – це явище, яке являє собою стан спокою, виживання і стійкості в навколишньому середовищі.

Показано, що патогенні мікроорганізми – *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas hydrophila*, *Shigella dysenteriae*, ентеропатогенні штами *Escherichia coli* та ін. при переході в некультурабельний стан можуть зберігати свій патогенний потенціал, зокрема здатність до токсинуотворення [11–15].

У дослідженні [16] було висловлено припущення, що діапазон температури від +0,5 до +7 °С є основним чинником, що індукує перехід *Campylobacter jejuni* та

Vibrio cholerae у ЖНС. Однак цей перехід залежить не лише від температури культивування, а й від виду мікроорганізму, його фізіологічного стану та інших супутніх чинників. Так, *Vibrio cholerae* можуть переходити в некультурабельний стан і за сприятливої температури (25 °С), але за умови високої концентрації солей [17].

Навіть незначні варіації хімічного складу середовища при оптимальній температурі можуть індукувати перехід у некультурабельний стан. Наприклад, при порівнянні двох зразків питної води, один з яких індукував перехід у ЖНС *Agrobacterium tumefaciens* і *Rhizobium meliloti*, було виявлено, що зразки збігалися за 39 хімічними елементами і різнилися лише вмістом міді. У пробі, яка позитивно впливала на перехід у ЖНС, концентрація міді була в кілька разів вищою [18].

Крім того, встановлено, що антимікробні агенти (пастеризація, хлорування, УФ-випромінювання, озонування та ін.) також можуть привести до появи ЖНС [19–21].

Бактеріальні клітини, переходячи в некультурабельний стан, можуть зменшуватися в розмірах, змінюватися морфологічно, у них активуються протеолітичні ферменти, РНК та рибосоми зазнають деградації. Такі мікроорганізми оточені досить товстим (0,15–0,40 мкм) аморфним електронопрозорим полісахаридним покривом, що складається з двох або трьох шарів.

Зовнішній шар – органомінеральний, подібний до капсулярної речовини і слизу. Його полісахаридний матрикс містить мінерали та захищає клітини від ушкоджень кристалами льоду, впливу токсичних агентів, а також слугує для прикріплення до мінеральних частинок [22]. Наприклад, в умовах нестачі або відсутності кисню для клітин *Mycobacterium tuberculosis* і *Mycobacterium bovis* у ЖНС характерна сильно потовщена клітинна стінка, особливо її зовнішній шар [23].

Внутрішній шар, у свою чергу, поділяється на два шари, що різняться за електронною щільністю: внутрішній – менш щільний, зовнішній – більш щільний. У мем-

брані життєздатної некультурабельної клітини спостерігається велика кількість інтрамембранних частинок, які вдвічі більші, ніж у мембранах культурабельних клітин [24]. Вони розподілені по мембрані нерівномірно і відіграють роль іонних каналів чи ензимів [25]. У грам-негативних мікроорганізмів у такому стані збільшується піроплазматичний простір. Так, під дією 2,4,6-тринітротолуолу клітини *Escherichia coli* стають меншими за розмірами, їхня форма наближається до сферичної, значно збільшується піроплазматичний простір та внаслідок потовщення плазматичної мембрани зменшується її поверхня [26].

Метаболічна активність у таких клітинах майже або повністю відсутня. Синтези ДНК, РНК, білка, фосфоліпідів і активності всіх деполімераз інгібовано [27].

Крім змін у структурі клітини, відбуваються також зміни і в її хімічному складі, зокрема у складі основних елементів: калію (вторинний клітинний ефектор), кальцію (бере участь у створенні трансмембранного потенціалу), фосфору (входить до складу нуклеотидів), сірки (компонент білка). При цьому вміст фосфору зазвичай знижений, а кальцію – підвищений, що, мабуть, відображає зміну іонного гомеостазу в клітинах.

Перехід клітин мікроорганізмів у ЖНС відбувається під дією автоіндуктора – фактора d_1 , який за своєю природою належить до алкілоксибензолів. Фактор d_1 накопичується в клітинах та культуральній рідині під час росту культури і являє собою суміш ізомерів та гомологів. Залежно від величини рН алкілоксибензоли розчиняються або у водній фазі (рН 7,0), або в мембранних ліпідах (рН < 7). Завдяки цій властивості вони накопичуються в клітинах, спричиняючи їх перехід у ЖНС, або виходять у навколишнє середовище, що приводить до послаблення блокування метаболізму і, зрештою, – до повернення клітини в культурабельний стан [28].

Синтез алкілоксибензолів у клітин, які виділяють з природних джерел, істотно вищий, ніж у колекційних

штамів, що, ймовірно, зумовлює їх високу виживаність у таких місцях існування, як вічно холодні ґрунти [29].

Маючи антиоксидантну активність, алкілоксибензоли, що накопичуються в клітинах стаціонарної фази та в некультурабельному стані, беруть участь у формуванні неферментативного антиоксидантного захисту мембранних ліпідів та інших клітинних структур. Це особливо важливо в умовах інгібування метаболічних активностей клітини, оскільки алкілоксибензоли відіграють важливу роль у захисті клітин мікроорганізмів від різних видів стресів. У відповідь на стрес-фактори, наприклад тепловий шок, рівень їх біосинтезу різко зростає. Фактор d_1 здатний утворювати міжмолекулярні водневі зв'язки, вступати в гідрофобні та іонні взаємодії. Ці властивості визначають механізм їх дії при формуванні метаболічного блоку в клітині [30, 31].

Алкілоксибензоли модифікують мембранні ліпіди, внаслідок чого збільшується мембранна мікров'язкість завдяки утворенню водневих зв'язків між ароматичним кільцем алкілоксибензолів і молекулами фосfolіпідів. Це збільшує проникність мембрани для одновалентних катіонів (Na, K), а потім приводить до зневоднення протопласта клітини. У мембрані так само утворюються мікропори, через які відбувається вихід води з клітин. Унаслідок зниження рівня рідини в мембранах інгібуються їх транспортні, енергопродуруючі та інші функції, припиняються синтетичні процеси, а також активність пов'язаних з мембраною інтегрованих в неї ензимів (деполімераз і автолізинів). Це забезпечує структурну цілісність клітинних оболонок життєздатних некультурабельних клітин [32].

Зумовлене дегідратацією мембрани інгібування клітинних ензимів посилюється ще й тим, що молекули алкілоксибензолів утворюють комплекси з молекулами біополімерів завдяки слабким фізико-хімічним взаємодіям, змінюючи їх конформацію.

Крім того, фактор d_1 взаємодіє з ДНК, надаючи компактність її структурі та сприяючи збереженню цілісності, а також він запобігає зсуву пар ДНК і мутаціям у клітинах.

У разі потрапляння в сприятливі для росту і розмноження умови життєздатні некультурабельні клітини переходять у культурабельний стан. При цьому порушуються фізико-хімічні зв'язки в комплексах клітинних біополімерів і мембранних структур з фактором d_1 . Процес ініціюється умовами середовища і приводить до виходу алкілоксибензолів з клітин у середовище. Якщо щільність клітин надто велика, концентрація фактора також буде високою, що стане на заваді його подальшій дифузії. Це призводить до загибелі клітини, оскільки не відбудеться зняття метаболічного блоку [33].

Численні бактерії, такі як *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*, *Campylobacter jejuni* та ін., можуть переходити у ЖНС під впливом несприятливих умов навколишнього середовища та різних антропогенних факторів [34].

Факторів, які викликають стрес у бактерій і впливають на бактеріальну культурабельність, є величезна кількість, так само як і екологічні умови, з якими стикається бактеріальна клітина в природі, можуть бути різноманітними. Стресові фактори навколишнього середовища, що впливають на культурабельність, загальноновизнано вважаються індукторами ЖНС бактерій (табл. 1.1) [8].

У разі потрапляння в сприятливе середовище або під впливом певних факторів такі бактерії знову переходять від ЖНС у культурабельний стан і стають джерелом інфекції, що може викликати спалах епідемії. Такий життєздатний некультурабельний стан становить небезпеку недооцінки кількості життєздатних патогенних мікроорганізмів і отримання помилково негативних результатів лабораторних досліджень, наприклад досліджень води стандартизованими методами [35].

Так, *Vibrio vulnificus* стає некультурабельною в умовах голодування, при інкубації у штучній морській воді або в гирловій морській воді за низької температури. Повернення до кімнатної температури без додавання поживних речовин приводить до відновлення її культу-

рабельності [36]. Культура *Micrococcus luteus*, яка перебувала в умовах голодування протягом кількох місяців, показала надзвичайно низький ступінь культурабельності, і навіть після переміщення її у звичне молочно-кисле живильне середовище відновлення не спостерігалось. Клітини повертали свою культурабельність, лише коли до живильного середовища додавали надосадову рідину зі стаціонарної фази культури. Автори припустили, що життєздатні клітини продукують автоіндуктори, які стимулюють повернення до життя некультурабельних мікроорганізмів [37].

Таблиця 1.1. Фактори, які ініціюють перехід бактерій у життєздатний некультурабельний стан

Фактори індукції ЖНС	Мікроорганізми
Голодування (оліготрофія) + + зниження температури	<i>Campylobacter jejuni</i> <i>Helicobacter pylori</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Shigella dysenteriae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Vibrio vulnificus</i> <i>Vibrio cholerae</i>
Температура (пастеризація)	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas putida</i>
Опромінення: світлове ультрафіолетове	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Escherichia coli</i> <i>Escherichia coli</i>
Висушування	<i>Yersinia pestis</i> , <i>Serratia marcescens</i>
Гідростатичний тиск	<i>Listeria monocytogenes</i>
pH	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Осмотичний стрес	<i>Escherichia coli</i> <i>Campylo bacterjejuni</i>
Аерація	<i>Campylo bacterjejuni</i>
Мідь	<i>Escherichia coli</i>
Хлор	<i>Escherichia coli</i>

У роботі [38] досліджували здатність переходу ентеро-геморагічної *Escherichia coli* O157: H7 (ЕНЕС) в ЖНС за температур +5 і + 25 °С у штучній морській воді, а також у річковій воді. За температури 25 °С штам залишався культивованим понад 40 днів і в штучній морській воді, і в річковій воді. За температури 5 °С кількість культивованих клітин ЕНЕС поступово зменшувалася в обох середовищах. Використовуючи *Vac Light Molecular Probe*, дослідники змогли продемонструвати, що ці клітини, хоча і некультивовані, були життєздатними [39].

На сьогодні відомо близько 45 видів мікроорганізмів, що належать до 30 родів, у яких виявлено ЖНС. З них 30 видів є патогенними для людини, 15 видів — умовно-патогенними. Серед бактерій, у яких виявлено ЖНС, є збудники таких небезпечних інфекцій, як чума, холера, туляремія, легіонельоз. Понад 60 % видів, що утворюють некультурабельну форму, є грамнегативними. Близько 40 % становлять бактерії, що належать до трьох інших відділів царства *Procariorotae*: грампозитивні бактерії, мікоплазми та архебактерії. Ці факти вказують на універсальність некультурабельного стану як загальнобіологічного явища і наочно демонструють поширення цього феномену в природі [40].

У дослідженнях останніх років встановлено, що крім бактерій є ще низка мікроорганізмів, які під дією різних стрес-факторів здатні переходити в ЖНС. Зокрема, це мікроскопічні гриби (мікроміцети), такі як *Candida albicans* [41].

1.2. Вплив на людину мікроорганізмів, які перебувають у життєздатному некультурабельному стані

Життєздатні, проте некультурабельні патогенні бактерії становлять загрозу суспільному здоров'ю через неможливість їх визначення загальноприйняти-

ми методами в харчових продуктах та під час контролю якості води [1].

Відомо, що в разі потрапляння патогенних клітин у ЖНС до організму людини, відбувається відновлення їх життєвих функцій і метаболічної активності, що призводить до розвитку інфекцій і хвороб [42, 43]. Наприклад, життєздатні некультурабельні клітини *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli*, *Legionella pneumophila* та інші бактерії відновлювали культурабельність після того, як потрапили в кишковий тракт тварин [44]. А після впорскування некультурабельних клітин *Legionella pneumophila* в курячі ембріони, ті загинули через добу, з чого можна зробити висновок, що клітини в ЖНС залишаються потенційно патогенними [45]. У некультурабельном стані *Aeromonas hydrophila* втрачає здатність лізувати еритроцити людини, але після реанімації відновлює свої вірулентні властивості. Так само і *Helicobacter pylori* в ЖНС, потрапивши в організм людини через питну воду, можуть легко відновити свою патогенність і викликати виразкову хворобу шлунка. Отже, наявність в питній воді мікроорганізмів у ЖНС є серйозною проблемою.

Дослідження зразків їжі або води загальноприйнятими методами, навіть у разі негативного результату не гарантує їх безпеки за мікробіологічними показниками, оскільки є ймовірність, що не буде враховано наявність в них патогенних бактерій, які перебувають у ЖНС. Таку продукцію вважають безпечною для споживача, і навіть при виникненні інфекції її помилково відносять до вірусів, оскільки бактерій виявлено не було. Зокрема, *Vibrio cholerae* O1 у поверхневих шарах води, як правило, залишаються в некультурабельному стані. Однак ці джерела води регулярно використовуюють для побутових потреб, що становить небезпеку зараження [46].

Так само *Shigella*, перебуваючи в життєздатному некультурабельному стані у воді, становить загрозу, оскільки потрапивши в людський організм може спричинити шигельоз, для якого характерні такі симптоми, як

загальна інтоксикація, ураження слизової оболонки товстого кишечника, що супроводжується різким болем і функціональним розладом системи травлення [47]. Додаткові дослідження показали, що велика кількість патогенних бактерій можуть пережити технологічні процеси очищення продуктів харчування і води, а також зберегти вірулентність в оброблених харчових продуктах, пастеризованому молоці, питній воді, а також у навколишньому середовищі [48]. В роботі [49] було показано, що рецидивні інфекції сечовивідних шляхів у багатьох людей викликані уропатогенними клітинами *Escherichia coli*, які перебували в життєздатному некультурабельному стані.

Крім того, клітини в ЖНС продемонстрували стійкість до лікування антибіотиками і спричинили повторне інфекційне зараження [50]. Інші дослідження показали, що уропатогенні *E. coli* в ЖНС зберігали ентеропатогенність, що виражалось в безперервному синтезі ентеротоксинів [51].

Отже, з огляду на наявність мікроорганізмів, що перебувають у життєздатному, проте некультурабельному стані, а також на їх здатність зберігати свої патогенні властивості, необхідно розробити і застосовувати додаткові методи оцінки якості питної води та продуктів харчування з метою зниження ризику спалахів інфекційних захворювань.

1.3. Методи виявлення мікроорганізмів, які перебувають у життєздатному некультурабельному стані

Є низка методів, які дозволяють виявляти мікроорганізми у ЖНС: це прямий підрахунок клітин у ЖНС методом флуоресценції [52], використання полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [53], ПЛР зі зворот-

ною транскрипцією [54], проточна цитометрія [55], імуноферментний аналіз [4], FISH (fluorescence *in situ* hybridization) [56].

Найпоширеніший метод виявлення бактеріальних клітин у ЖНС – флуоресцентна мікроскопія. У цьому методі використовують різні флуоресцентні барвники (флюорохроми) і різні маркери життєздатності клітин. Флюорохроми – це специфічні барвники, які зв'язуються з різними компонентами бактеріальної клітини (цільовими біомолекулами), що стають маркерами життєздатності. Це дає чітке світіння певного кольору в ультрафіолетовій ділянці спектра [57].

Найчастіше використовують такі флюорохроми, як акридиновий помаранчевий (під флуоресцентним мікроскопом живі клітини мають зелений колір, а мертві – помаранчевий); 4,6-diamino-2-phenyl indole (DAPI) (живі клітини мають зелений колір); fluoresce in isothiocyanate (FITC) (живі клітини фіолетового або синього кольору); indophenyl-nitrophenyl-phenyltetrazolium chloride (INT) (живі клітини стають червоними) і 5-суано-2,3-ditolyl tetrazoliumchloride (СТС) [58].

Маркерами життєздатності в бактеріальній клітині можуть бути її структурні та функціональні елементи, такі як мембрана та її проникність, протеїни (ензими) та їх активність, рибосоми, нуклеоїди та їх функціональність.

Одним з найпоширеніших маркерів життєздатності, що визначаються за допомогою флюорохромів, є мембранна цілісність [59]. Для її визначення використовують властивість деяких флюорохромів вибірково проникати тільки через пошкоджені мембрани клітин, фарбуючи внутрішньоклітинні структури у відповідний колір. Зокрема, проникнення таких нуклеоїдних барвників, як йодид пропідія або бромід етидія, всередину клітини відбувається лише в разі пошкодження клітинної мембрани, при цьому пов'язані з ними нуклеїнові кислоти дають емісію флуоресценції червоного кольору. На цій основі працює live/dead (живий/мертвий)

барвник *Vac Light*, що являє собою суміш фарб, за допомогою яких можна відрізнити життєздатні клітини від мертвих [60]. Барвник містить два фарбувальні нуклеоїдні компоненти. Зелений низькомолекулярний флюорохром (*Syto 9*) може проникати як в живі клітини з неушкодженою плазмалемою, так і в мертві клітини з порушеними плазматичними мембранами. Після надходження *Syto 9* в клітину він зв'язується з нуклеїновими кислотами з утворенням зеленого флуоресцентного комплексу. Високомолекулярний червоний флюорохром йодид пропідія, у свою чергу, проникає лише через пошкоджені мембрани. Після надходження він також зв'язується з нуклеїновими кислотами, що приводить до зниження флуоресценції в зеленій ділянці спектра, зумовленого комплексами *Syto 9* з нуклеїновими кислотами, і до появи флуоресценції в червоній ділянці, що спричинено комплексами йодид пропідія. Таким чином, клітини, проінкубовані в присутності цих фарб одночасно, флуоресценуватимуть зеленим (життєздатні) або червоним (мертві) залежно від їх життєздатності [61]. Далі можна провести підрахунок живих і мертвих клітин з використанням флуоресцентного мікроскопа [62].

В останні десятиліття з'явилися швидкі і точні методи індикації патогенів, основані на полімеразній ланцюговій реакції. Завдяки методу ПЛР можна дати якісну відповідь на питання про наявність у досліджуваному зразку ДНК мікроорганізму, який потрібно виявити, але не кількісну. Це істотно обмежує використання цього методу. Наприклад, методи ПЛР застосовували для виявлення ЖНС *V. vulnificus*, але чутливість їх була сумнівною. Головна незручність таких методів полягає в тому, що вони можуть ампліфікувати також ДНК мертвих мікроорганізмів. У цьому разі виявлення ДНК патогенів можна розглядати як хибнопозитивний результат, адже у зразках з навколишнього середовища завжди є мертві клітини або вільна ДНК. Це особливо важливо, наприклад, для методів контролю дезінфек-

ції: інформацію про її ефективність можуть дати лише життєздатні патогенні мікроорганізми (культурабельні і некультурабельні) [63].

Уперше було запропоновано методичний підхід на основі послідовних реакцій зворотної транскрипції і розробленого кількісного варіанта ПЛР для виявлення і доказу життєздатності бактерій в ЖНС. Метод виключає можливість індикації нежиттєздатних, мертвих клітин, що містять незруйнований генетичний матеріал, оскільки маркером присутності і життєздатності бактерій у цьому разі є короткоживуча специфічна молекула мРНК свідомо експресованого в некультурабельній формі і відомого досліднику гена.

Зазначені вище методи є високоартісними, оскільки потребують використання високочутливих мікроскопів, барвників, маркерів і технологій, а також висококваліфікованого персоналу.

Для виявлення мікроорганізмів, що перебувають у ЖНС, широко використовують також методи відновлення їх культурабельності. Для цього іноді достатньо прибрати чинники, що несприятливо впливають на культуру, як, наприклад, показано для мікроорганізмів, що перебували під впливом гамма-променів [64]. Проте в більшості випадків необхідно застосовувати індуктори реактивації (фізичні, хімічні, біотичні). Серед фізичних факторів найчастіше до реактивації приводить підвищення температури від 0,5–6 до 20–22 °С або до 37 °С. Швидке збільшення колонієутворюючих одиниць (КУО) в мікрокосмі розглядають як підтвердження реверсії, а не відновлення росту кількох клітин, що вижили [65]. Зокрема, *Vibrio vulnificus* стає некультурабельною в умовах голодування, при інкубації у штучній морській воді за низької температури. Повернення до кімнатної температури без додавання поживних речовин приводить до відновлення її культурабельності [36].

Хімічними індукторами реактивації є різні мікро- і макроелементи, вітаміни, солі та інші речовини. Їх вводять

безпосередньо в мікрокосм як протектор або до складу поживних середовищ, призначених для реактивації. Наприклад, для *Tepecibaculum spp.* бажаним компонентом середовища для реанімації некультурабельних форм є хлорид заліза [66].

Vibrio parahaemolyticus відновлюється при підвищенні температури до 25 °С в поєднанні з використанням мінімального сольового середовища. *Vibrio harveyi* і *Vibrio fischeri* відновлюють ріст при додаванні органічних або неорганічних джерел азоту, вуглецю або деструкторів пероксиду водню [67].

Біотичними факторами реактивації клітин, що перебували в ЖНС, можуть бути фетальна сироватка, супернатант зростаючої культури або виділений з неї рекомбінантний білок Rpf [68]. У результаті життєздатні клітини продукують автоіндуктори, що стимулюють повернення до життя некультурабельних мікроорганізмів [69]. Іноді єдиний ефективний спосіб реактивації — це пасаж через сприйнятливий організм. Так, рекультивація патогенних штамів сальмонел у ЖНС при введенні в організм чутливих тварин завжди приводила до позитивного результату [70].

1.4. Характеристика мікроорганізмів *Escherichia coli* і *Candida albicans* та їх особливості

Сьогодні мікробіологічний контроль якості води здійснюють, орієнтуючись на виявлення певних бактерій, вірусів і найпростіших. Серед них загально-визнаним санітарно-показовим мікроорганізмом при оцінюванні якості знезараження води є кишкова паличка *Escherichia coli*, оскільки вона більш стійка у зовнішньому середовищі порівняно з іншими ентеробактеріями, тривалий час зберігається у ґрунті, воді, фекаліях і добре переносить висушування.

З одного боку, *Escherichia coli* – вид грамнегативних паличковидних бактерій, що входять до складу нормальної мікробіоти шлунково-кишкового тракту людини, – з'являється вже у новонароджених і живе в кишечнику все людське життя, виконуючи дуже важливі функції, такі як пригнічення росту шкідливих бактерій, участь у синтезі вітамінів B_1 , B_2 , B_3 , B_5 , B_6 , B_9 , B_{12} ; в обміні холестерину, білірубину, холіну, жовчних і жирних кислот, впливає на всмоктування заліза і кальцію. Проте, з іншого боку, вона викликає ешерихіози – інфекційні захворювання, що супроводжуються інтоксикацією і гарячкою. Хвороботворні, або патогенні, серотипи кишкових паличок, проникаючи через слизову кишечника в черевну порожнину (при порушенні цілості кишкової стінки), в сечовий міхур або кров, тобто в ті тканини і органи, які в нормі стерильні, викликають їх захворювання чи навіть сепсис [71].

Зараження ентеротоксичними штамами *Escherichia coli* зазвичай відбувається при вживанні незнезараженої сирої води і сирих немитих овочів. Тому при контролі якості питної води дуже важливо визначати наявність *Escherichia coli*, оскільки вона, крім корисного впливу на організм людини, може спричинити низку неприємних і навіть смертельних захворювань.

За результатами останніх досліджень встановлено наявність мікроскопічних грибів (мікроміцетів) як у джерелах водопостачання, так і у водопровідній воді. Однак кількісний показник мікроміцетів у водопровідній воді значно нижчий, особливо це стосується дріжджових форм. Так, якщо середнє значення кількості грибів роду *Candida* в річці Дніпро становить $1 \cdot 10^5$ КУО/100 см³, то у водопровідній воді цей показник змінюється в межах від 1 до 50 КУО/100 см³. Кількість міцеліальних видів грибів у воді р. Дніпро коливається в межах від 15 до 25 КУО/100 см³, тоді як для водопровідної води м. Київ це значення змінюється від 8 до 18 КУО/100 см³. При цьому в обох випадках виявлено роди *Penicillium*, *Asper-*

gillus, *Alternaria*, *Cladosporium* та *Fusarium*, які стійкі до дії дезінфектантів і мають токсикогенні, алергенні і мутагенні властивості [72].

Зараз у навколишньому середовищі спостерігається заміна бактеріального компонента агресивнішим грибним, який прийнято вважати умовно-патогенним, не враховуючи і недооцінюючи при цьому його потенційних агресивних можливостей.

Мікроміцети здатні погіршувати органолептичні показники води, а також виділяти у водне середовище шкідливі для здоров'я людини речовини – мікотоксини [73].

Вживання їжі та води, забруднених мікотоксинами, супроводжується патологічними змінами в організмах людини і тварин – мікотоксикозами [74]. Зокрема, мікотоксини мають канцерогенну, мутагенну, тератогенну, ембріонотоксичну, алергенну, імуносупресивну дію. Різке збільшення кількості хворих, які страждають від системних і локальних мікозів, змушує фахівців приділяти цій проблемі максимум уваги і більш серйозно ставитися до виявлення окремих видів мікроміцетів при оцінці інфекційної небезпеки навколишнього середовища [75]. Саме тому сьогодні багато авторів присвячують свої роботи дослідженню мікроміцетів у воді, продуктів їх життєдіяльності та їх впливу на здоров'я людини [76–79].

Слід також зазначити, що і у воді з джерел водопостачання, і у водопровідній воді найчастіше виявляли гриби роду *Candida* [72].

На сьогодні відомо понад 150 видів кандід, у 95 % випадків захворювання викликає *Candida albicans*.

Candida albicans – один з мікроорганізмів, що входить до складу нормальної мікробіоти ротової порожнини і шлунково-кишкового тракту людини. За нормальних обставин *Candida albicans* присутня у 80 % людей, не викликаючи хвороб, хоча надзвичайне збільшення її кількості спричиняє кандидоз. Її розростанню сприяють токсини, насамперед хлор, фтор і ртуть, що

містяться в продуктах харчування, воді, деяких ліках і косметичних засобах.

Ставши патогенною, кандіда пошкоджує стінки кишечника, і в кров починають проникати не лише токсичні продукти життєдіяльності мікроміцетів, а й окремі компоненти їжі. Це викликає цілу низку загальних симптомів, як психічних (депресію, неспокій, зниження пам'яті і концентрації уваги, дратівливість), так і фізичних (болі в животі, порушення функцій кишечника, головні і суглобові болі, синусити, цистити, відчуття «розбитості», чутливість до окремих продуктів, тяжіння до солодкого і алкоголю та ін.).

У випадку активного розмноження *Candida albicans* стає потенційно небезпечною для розвитку алергічних захворювань – специфічної бронхіальної астми, дерматиту, кропив'янки. Приблизно в 17 % випадків кандіду виявляють у гастродуоденальних виразках, в 35 % – при виразкових колітах і хворобі Крона, в 50 % – при фіброміалгії, в 70 % – при аутизмі. При важких формах *Candida albicans* може вражати навіть мозкові оболонки та клапани серця [80].

Candida albicans більш витривала і легше пристосовується до змін середовища, ніж бактерії, виявляє високу резистентність до дезінфектантів, таких як хлор, озон і УФ-випромінювання. Тому, *Candida albicans* більш стійка порівняно з *Escherichia coli*, яка на сьогодні є основним загальноновизнаним санітарно-показовим мікроорганізмом при оцінці якості знезараження води.

Причинами такої стійкості *Candida albicans* можуть бути особливості будови її клітини. Вона, як і ссавці, належить до групи еукаріотів, тобто має схожу з ними будову клітин, а також механізми їх розмноження, ділення і захисту.

Дріжджова клітина оточена досить товстою клітинною стінкою. Клітинна стінка – міцна, жорстка і водночас еластична структура, яка виконує ті самі функції, що й у бактерій. Однак клітинна стінка дріжджів має

тришарову структуру: перший, зовнішній, шар – ліпопротеїдний; середній – маннанпротеїновий комплекс; внутрішній, прилеглий до цитоплазматичної мембрани, – глюкановий. До хімічного складу стінки входять 60–90 % полісахаридів (геміцелюлози, що складаються з рівних кількостей глюкану і манану), 3–10 % лігідів, 10–25 % білків, 7–9 % мінеральних речовин, 0,5–3 % хітину.

Всередині розташовано багато органел: цитоплазматична мембрана, ендоплазматична мережа, ядро, мітохондрії, рибосоми, апарат Гольджі, лізосоми, вакуолі і включення. На відміну від бактеріальних клітин, такі внутрішні структури клітини, як мезосома, рибосоми, нуклеоїд мають мембрани, які відмежовують їх від цитоплазми і тим самим роблять клітину більш стійкою. Дріжджова клітина містить велику кількість мітохондрій, які утворюють АТФ і АДФ і є «енергетичними станціями» клітини.

Ще однією особливістю будови дріжджової клітини є наявність в ній апарату Гольджі, який керує багатьма фізіологічними процесами в клітині: транспортує різні речовини до місця їх використання або виділення з клітини, бере участь у формуванні клітинних перегородок, спор, видаляє з клітини токсичні речовини.

Запасними речовинами дріжджової клітини, що містяться в цитоплазмі і вакуолі, є гранули глікогену, цукор трегалоза, метахроматин і крапельки жиру. Глікоген накопичується в просторі між цитоплазматичною мембраною і клітинною стінкою, а жир в цитоплазмі та вакуолі відіграє роль запасного живильного матеріалу і являє собою суміш тригліцеридів з фосфоліпідами і стеролами (ергостеролами) [81, 82].

Отже, дріжджоподібна клітина *Candida albicans* завдяки своїй складній будові більш резистентна до дії дезінфектантів порівняно з *Escherichia coli* [83].

1.5. Перехід мікроорганізмів у життєздатний некультурабельний стан у процесі знезараження питної води

Ефективність технологій дезінфекції питної води має важливе значення для безпеки здоров'я людини. Для контролю бактерій та патогенних мікроорганізмів у питній воді міжнародними організаціями та відповідними органами різних країн розроблено жорсткі критерії [84–86]. З метою кількісної оцінки культивованих бактерій, які містяться в пробах аналізованої води, застосовують метод Коха. Цей метод дає змогу визначити присутність життєздатних бактерій, які культивуються, що свідчить про їх життєздатність. Проте під дією стрес-факторів більшість бактерій можуть переходити в ЖНС. При застосуванні класичних підходів культивування ці мікроорганізми не утворюють колонії, однак залишаються живими і здатними до відновлення метаболічної активності в разі потрапляння у сприятливе середовище. Багато патогенних мікроорганізмів, що розвиваються в питній воді, здатні перебувати у ЖНС, зокрема це *Helicobacter pylori* [87], *Legionella pneumophila* [88], *Pseudomonas aeruginosa* [89], *Listeria monocytogenes* [90], *Vibrio spp.*, *Yersinia enterocolitica* [91] і *Escherichia coli* [92]. Тому поява бактерій у життєздатному некультурабельному стані в питній воді є серйозною проблемою, що становить загрозу суспільному здоров'ю.

Для уникнення низки неприємних захворювань, спричинених мікроорганізмами, у світі вже протягом багатьох десятиліть для знезараження води широко використовують такі методи, як хлорування, озонування і ультрафіолетове випромінювання (табл. 1.2) [93].

Однак речовини, що використовують для дезінфекції води, можуть стати хімічними індукторами перехо-

ду мікроорганізмів у ЖНС. Наприклад, дезінфекція хлором при вторинному очищенні стічних вод приводить до переходу *Escherichia coli* і *Salmonella typhimurium* у ЖНС [94]. Крім того, дезінфекція ультрафіолетом [95] та озоном [96] також спричиняє перехід мікроорганізмів у ЖНС.

При застосуванні мінімальної рекомендованої знезаражувальної дози УФ-опромінення, яка становить 45 мДж/см², за результатами оцінки якості знезараження питної води стандартними методами (метод Коха) вода вважається знезараженою від санітарно-показового мікроорганізму *Escherichia coli*. Однак, як було показано, така доза не забезпечує знезараження води від мікроорганізмів, а сприяє їх переходу в некультурабельний стан [95].

Крім того, в роботі [21] було показано, що навіть у разі підвищення дози УФ-опромінення до 300 мДж/см² клітини *Escherichia coli* і *Pseudomonas aeruginosa* переходять у ЖНС. Ці результати свідчать про потенційні ризики для здоров'я після дезінфекції питної води ультрафіолетом.

Як видно з табл. 1.2, метод хлорування досі залишається найбільш вживаним для знезараження води.

Таблиця 1.2. Сучасні технології дезінфекції, що використовуються на водопроводах різних країн світу (частка, %)

Технології і дезінфектанти	Японія	США	Італія	Норвегія	Україна
Хлор-газ	43	54	2	7	98
Гіпохлорит натрію	54	32	63	30	1,1
Діоксид хлору	—	4	31	—	<1
УФ-випромінювання	1,5	<1	3	62	<1
Озон	<1	9	<1	<1	<1
Інші технології	<1	<1	<1	<1	<1

Перевагою хлорування в технологіях водопідготовки є його висока бактерицидність, простота дозування і контролю, помірна вартість і, що особливо важливо, здатність зберігати свої антимікробні властивості тривалий час, що дозволяє транспортувати знезаражену хлором воду трубопроводами на значні відстані.

До того ж попереднє хлорування води дає змогу знизити кольоровість води, усунути запах і присмак, зменшити витрати коагулянтів, а також підтримувати задовільний санітарний стан очисних споруд станцій водопідготовки.

Правильне визначення дози хлору при знезараженні води має надзвичайно важливе значення. Недостатня доза хлору може привести до зниження його бактерицидної дії, а надмірна – до погіршення смакових якостей води. Тому необхідна концентрація хлору має встановлюватися залежно від властивостей очищуваної води на основі її попереднього лабораторного аналізу.

Показником достатності використаної дози хлору слугує наявність у воді так званого залишкового хлору (хлору, що залишається від введеної дози після окиснення речовин, які знаходяться у воді). Згідно з вимогами ГОСТ 2874-82, концентрація залишкового хлору у воді повинна становити: перед надходженням її в мережу – від 0,3 до 0,5 мг/дм³; для освітленої річкової води – в межах 1,5–3 мг/дм³; під час хлорування підземних вод – не перевищувати 1,0–1,5 мг/дм³. В окремих випадках може постати необхідність у збільшенні дози хлору через наявність у воді двовалентного заліза. При підвищеному вмісті у воді гумінових речовин концентрація хлору також має бути більшою.

Хлор впливає переважно на вегетативні форми мікроорганізмів. При цьому грампозитивні штами бактерій більш стійкі до впливу хлору, ніж грамнегативні.

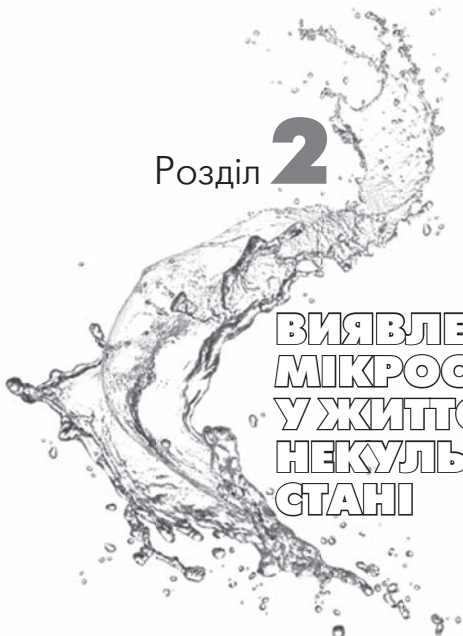
Високу резистентність до дії хлору мають також віруси, спори і цисти найпростіших та яйця гельмінтів.

Ефективність дезінфекції зазвичай визначають контролем культурабельності коліформних бактерій. Однак

відсутність культурабельних бактерій не відображує реального стану вихідної популяції. Наприклад, після впливу на популяцію *Escherichia coli* K-12 гіпохлоритної кислоти (HOCl) утворюються життєздатні некультурабельні бактерії, які не здатні сформувати колонії, проте все ще проявляють дихальну або метаболічну активність. Їх можна виявити пробами на життєздатність з такими флюорохромами як CTC і INT [20].

Незважаючи на поширення в навколишньому середовищі життєздатних некультурабельних мікроорганізмів, і досі при оцінці якості води за мікробіологічними показниками визначають життєздатні клітини *Escherichia coli* методом прямого посіву на середовище Ендо, згідно з ДСанПіН 2.2.4-171-10. При цьому не враховується факт впливу хлору на появу життєздатних, але некультурабельних клітин, які за певних умов можуть викликати спалахи інфекційних захворювань. Наприклад, у м. Новосибірськ (Російська Федерація) було зафіксовано ситуацію, коли вода, що повністю відповідала вимогам ГОСТ 2874-82, призвела до масових захворювань населення [97].

У зв'язку з цим, є необхідність проведення циклу досліджень для визначення переходу в ЖНС культури *Escherichia coli* як основного санітарно-показового мікроорганізму, використовуюваного для оцінки безпеки питної води, а також мікроміцетів *Candida albicans*, що повсюдно виділяються з води під впливом хлору. Також потрібно розробити нові ефективні методи для повного знищення у водопровідній воді мікроорганізмів, що можуть перебувати у життєздатному некультурабельному стані.



Розділ **2**

**ВІЯВЛЕННЯ У ВОДІ
МІКРООРГАНІЗМІВ
У ЖИТТЄЗДАТНОМУ
НЕКУЛЬТУРАБЕЛЬНОМУ
СТАНІ**

-
- 2.1.** Дослідження впливу гіпохлориту натрію на санітарно-показовий мікроорганізм *Escherichia coli*
 - 2.2.** Дослідження впливу гіпохлориту натрію на дріжджоподібний гриб *Candida albicans*
 - 2.3.** Вибір методу рекультивації життєздатних некультурабельних мікроорганізмів
 - 2.4.** Вплив іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} на рекультивацію некультурабельних клітин *Candida albicans*
 - 2.5.** Вплив температури на відновлення клітин, що перебувають у життєздатному некультурабельному стані
 - 2.6.** Мікроскопічні дослідження клітин *Candida albicans* після дії гіпохлориту натрію
 - 2.7.** Генетична стійкість мікроорганізмів



Зараження ентеротоксичними штамми *Escherichia coli* зазвичай відбувається при вживанні незнезараженої сирової води. Тому, при контролі якості питної води дуже важливо визначати наявність *Escherichia coli*, оскільки вона та продукти її життєдіяльності (токсини) викликають різні інфекційні захворювання, що супроводжуються інтоксикацією, лихоманкою, спричиняють зазвичай ураження шлунково-кишкового тракту, рідше – сечовивідних, жовчовивідних шляхів, інших органів і можуть приводити до розвитку сепсису. Ешерихіози найчастіше трапляються у дітей та у людей похилого віку [98].

Слід зазначити, що всю увагу медиків і вчених зосереджено на тому, щоб бактеріальні мікроорганізми не набули резистентності та патогенності. Однак у навколишньому середовищі спостерігається заміщення бактеріального компонента більш агресивним грибовим, хоча його й донині помилково вважають умовно патогенним. А сприяла цьому заміщенню і розмноженню людська діяльність. Протягом десятиліть людство вбиває бактерії антибіотиками, миючими засобами, хлором, спиртами, озоном тощо. Бактерій стає все менше, але на їх місце приходять мікроскопічні гриби (мікроміцети), чисельність яких постійно зростає.

Так, за результатами досліджень було встановлено поширення мікроскопічних грибів у джерелах водопостачання України. Такі роди, як *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Candida* та *Fusarium* найчастіше виявлялися в процесі моніторингу води. Вони стійкі до дії дезінфектантів і мають токсикогенні, алергенні та мутагенні властивості, а також погіршують смак та запах води [72]. Показано, що дріжджоподібні гриби роду *Candida* є найбільш поширеним видом серед мікроміцетів, а їх кількість коливається в межах від $1 \cdot 10^2$ до 10^5 КУО/100 см³ [72]. Аналіз води водорозподільних систем м. Київ показав, що дріжджоподібні гриби виявляються повсюдно, незалежно від періоду експлуатації трубопроводів, у кількості від одиниць до десятків КУО/100 см³ [73].

Як уже було зазначено, деякі мікроорганізми під впливом різних стрес-факторів здатні переходити в життєздатний некультурабельний стан, у якому клітина не росте на класичних поживних середовищах, але залишається життєздатною [6]. Однак якщо такі клітини потрапляють у сприятливі умови, вони повертаються до культурабельного стану, відновлюючи при цьому свої патогенні властивості. Стандартні методи лабораторних досліджень не дозволяють виявити культури в ЖНС [14], а використання класичних методів знезараження води не забезпечує ефективного видалення цих мікроорганізмів або потребує підвищених доз реагентів. Найчастіше у практиці водопідготовки застосовують методи з використанням сполук хлору.

З огляду на здатність *Escherichia coli* переходити в ЖНС під дією різних фізико-хімічних стрес-факторів, а також на наявність дріжджоподібних грибів *Candida albicans* як у поверхневих джерелах водопостачання, так і у водопровідній воді, виникає необхідність оцінити можливість переходу цих мікроорганізмів до некультурабельного стану під дією гіпохлориту натрію, а також визначити параметри їх реактивації, встановивши

оптимальні концентрації складових поживних середовищ та умови культивування мікроорганізмів, що дозволить розробити простий та інформативний метод їх виявлення.

Для цього у стерильні флакони, які містили 50 см³ дистильованої води, додавали певну кількість свіжо-приготовлених культур *Escherichia coli* або *Candida albicans*, щоб навантаження в робочій суспензії (р/с) становило $1 \cdot 10^4$ – $1 \cdot 10^6$ КУО/см³. Потім досліджували вплив NaOCl у діапазоні концентрацій від 0,1 до 6 мг/дм³, попередньо посявши контроль культури на чашки Петрі з середовищем Ендо або агаром Сабуро. Проби відбирали через 10, 30 і 60 хв. Після закінчення цього часу вільний хлор у р/с зв'язували тіосульфатом натрію (0,1 н Na₂S₂O₃ · H₂O). Чашки Петрі поміщали в термостат за температури 37 або 28 °С. Підрахунок колоній *Escherichia coli* проводили через 18–24 год, а *Candida albicans* – через 48 год. Ефективність дії гіпохлориту натрію визначали, застосовуючи стандартні мікробіологічні методи оцінювання якості незараженої питної води [99, 100]. Результат представляли як логарифм відношення концентрації тест-мікроорганізму, яка залишилася в суспензії після обробки гіпохлоритом натрію, (N_t) до вихідної його концентрації (N₀). Концентрацію хлору в р/с визначали титриметричним методом за стандартною методикою [101].

2.1. Дослідження впливу гіпохлориту натрію на санітарно-показовий мікроорганізм *Escherichia coli*

Результати досліджень з виживаності бактерій *Escherichia coli* під дією на них NaOCl у різних концентраціях показали, що антимікробний ефект зростає зі збільшенням концентрації гіпохлориту натрію, що

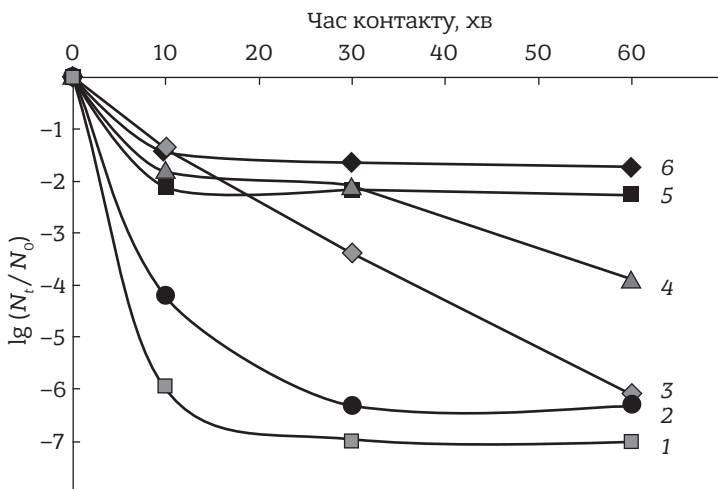


Рис. 2.1. Кінетика знезараження води від культури *Escherichia coli* 1257 з використанням NaOCl у концентраціях (мг/дм³): 1 – 5,0; 2 – 3,0; 3 – 2,0; 4 – 1,0; 5 – 0,3; 6 – 0,1

цілком закономірно і залежить від ступеня зараження води бактеріальною культурою [102].

Встановлено, що концентрації NaOCl за активним хлором в діапазоні 0,1–1 мг/дм³ при початковому навантаженні *Escherichia coli* 1257 $1 \cdot 10^6$ КУО/см³ не приводять до повного знезараження води, а лише частково зменшують ступінь забруднення, що, очевидно, пов'язано з недостатньою кількістю активного хлору, який інактивує клітини мікроорганізмів. Повне знезараження води від культури *Escherichia coli* 1257 спостерігається при концентрації NaOCl 2–5 мг/дм³ (рис. 2.1).

В аналогічних експериментах з культурою *Escherichia coli* K-12 було показано, що цей штам бактерій має подібний ступінь інактивації під дією гіпохлориту натрію в такому самому діапазоні концентрацій.

Отже, для подальшої роботи з виявлення клітин у некультурабельному стані було вибрано робочі концентрації NaOCl на рівні 2–3 мг/дм³.

2.2. Дослідження впливу гіпохлориту натрію на дріжджоподібний гриб *Candida albicans*

У зв'язку з тим, що *Candida albicans* часто трапляється як у поверхневих водах, так і у водопровідній воді, нами проведено дослідження щодо виявлення виживаності дріжджоподібних грибів у разі впливу на них NaOCl в діапазоні концентрацій від 0,5 до 6 мг/дм³ [103].

Досліджено вплив гіпохлориту натрію при знезараженні води від культури *Candida albicans* з навантаженням $1,5 \cdot 10^4$ – $1 \cdot 10^5$ КУО/см³.

У серії експериментів встановлено, що NaOCl має слабку фунгіцидну дію, а для підвищення ступеня знезараження потрібно використовувати його в підвищених концентраціях. Показано, що збільшення ступеня

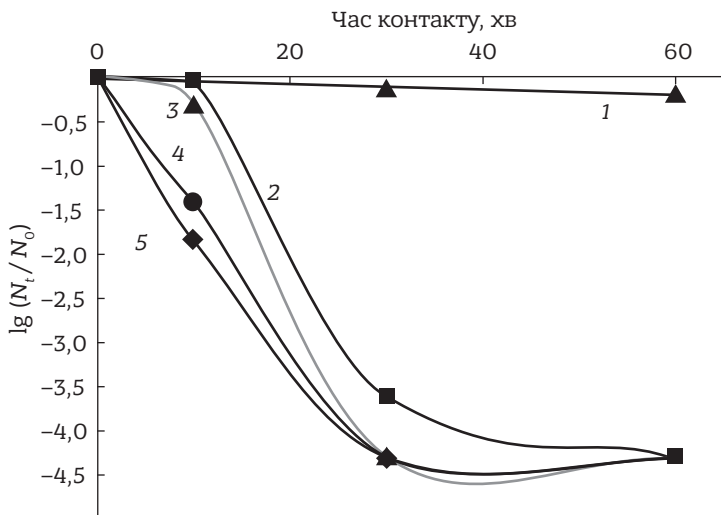


Рис. 2.2. Кінетика знезараження води від культури *Candida albicans* з використанням NaOCl у концентраціях (мг/дм³): 1 – 0,5; 2 – 2,0; 3 – 3,0–4,0; 4 – 5,0; 5 – 6,0

інактивації культури пропорційне збільшенню концентрації дезінфектанту (рис. 2.2).

Так, при концентрації NaOCl $0,5 \text{ мг/дм}^3$ спостерігається слабке знезараження води від *Candida albicans* з вихідним навантаженням $1,5 \cdot 10^4 \text{ КУО/см}^3$. Водночас зростання концентрації гіпохлориту натрію до $2,0 \text{ мг/дм}^3$ дозволяє підвищити ступінь інактивації культури на 4,5 порядку через 30 хв контакту.

При концентрації NaOCl $3\text{--}4 \text{ мг/дм}^3$ вже через 10 хв контакту дезінфектанта з культурою *Candida albicans* ступінь знезараження дорівнює півпорядку від початкового значення концентрації культури ($4 \cdot 10^4 \text{ КУО/см}^3$), тоді як при 5 і 6 мг/дм^3 NaOCl він становить 1,4 і 1,7 порядку.

Подальше збільшення часу контакту культури з дезінфектантом приводить до повного знезараження води від мікроміцетів, як показують результати аналізу за класичним мікробіологічним методом оцінки якості води. Однак подальші дослідження засвідчили, що застосування NaOCl сприяє утворенню життєздатного некультурабельного стану культури *Candida albicans*.

2.3. Вибір методу рекультивації життєздатних некультурабельних мікроорганізмів

Як уже зазначалося вище, виявити мікроорганізми в ЖНС можна за допомогою таких методів, як прямий підрахунок їх методом флуоресценції, ПЛР-діагностика, ПЛР зі зворотною транскрипцією, проточна цитометрія, імуноферментний аналіз, метод FISH. Однак усі перелічені методи є досить фінансово затратними, оскільки потребують застосування високочутливих мікроскопів, високовартісних барвників, маркерів і технологій, а також висококваліфікованого персоналу. Тому з метою виявлення клітин *Escherichia coli* і *Candida albicans*

в життєздатному некультурабельному стані у питній воді було розроблено і застосовано більш простий та доступний спосіб відновлення їх культурабельності із застосуванням фізичних і хімічних індукторів рекультивациі (захищено патентом України на винахід № 113472) [104].

2.3.1. Вибір поживних середовищ для рекультивациі життєздатних некультурабельних мікроорганізмів

З метою рекультивациі мікроорганізмів, які перебувають у ЖНС, вибрано і досліджено рідкі поживні середовища, такі як поживний бульйон (ПБ) (оптимальне середовище для культивациі *Escherichia coli*), бульйон Сабуро (БС) (оптимальне середовище для культивациі *Candida albicans*), а також поживне сольове середовище М-9 [105], яке використовують для культивациі багатьох мікроорганізмів. Уже зареєстровано патент [106] на використання поживного середовища М-9, однак лише для вирощування клітин *Escherichia coli* метою подальшої роботи з нею. А в роботі [107] М-9 використовували для рекультивациі культури *Salmonella enteritidis*, що перейшла в ЖНС після дії на неї H_2O_2 .

У дослідженні [108] визначали вплив концентрацій глюкози, яка входить до складу середовища М-9, на здатність до культивациі *Salmonella enteritidis*. Було встановлено, що збільшення концентрації глюкози вдвічі (до 0,8 %) порівняно з тим, скільки потребує культура (0,4 %), приводить до зниження культурабельності останньої. Аналіз отриманого супернатанту культури показав, що вдвічі вища доза глюкози спричиняє зниження рН і накопичення великої кількості ацетату, формиату і пірувату, що зумовлено підвищеним метаболізмом клітин *Salmonella enteritidis*. Культура при цьому переходить у ЖНС, а згодом починає відмирати. Таким чи-

ном, додавання до середовища М-9 вдвічі більше від нормованої кількості поживної глюкози спричиняє бактеріостатичну дію на культуру *Salmonella enteritidis* у наслідок накопичення метаболітів.

Однак використання середовища М-9 забезпечує можливість розширити спектр хімічних речовин, необхідних мікроорганізмам для нормальної життєдіяльності. Поживне середовище М-9 містить хлорид амонію, який є джерелом азоту, фосфат натрію і фосфат калію (як буферні агенти) і хлорид натрію, який забезпечує необхідні іони. Після додавання і розчинення всіх перелічених вище солей розчин необхідно простерилізувати в автоклаві ($P = 1 \text{ атм}$, $T = 121 \text{ }^\circ\text{C}$) протягом 15 хв. У процесі приготування синтетичного живильного середовища М-9 потрібно постійно контролювати рН ($\text{pH} = 6,85 \pm 0,15$).

Під час дослідження рекультивації клітин р/с з життєздатними некультурабельними клітинами культур *Escherichia coli* і *Candida albicans* відбирали у заздалегідь підготовлені пробірки, що містили поживні середовища ПБ або БС, а також середовище М-9 у співвідношенні 1:10 і ретельно перемішували. Перед внесенням р/с у середовище М-9 додавали стерильний 20 % розчин глюкози (є джерелом енергії і вуглецю), а також стерильні розчини хлоридів магнію і кальцію (сприяють збільшенню росту мікроорганізмів). Попередньо перевіряли стерильність усіх складових компонентів середовища М-9. Ці пробірки з поживними середовищами, а також вихідні робочі суспензії поміщали в термостат ($T = 37 \text{ }^\circ\text{C}$). Через 18–24 год проводили посіви як робочих суспензій, так і поживних середовищ з робочими суспензіями (1 : 10) на стерильні чашки Петрі по 1 см^3 і заливали поживним середовищем Ендо або Сабуро агаром, відповідно до класифікації культур, після чого чашки поміщали в термостат. З метою визначення кінетики відновлення життєздатних некультурабельних клітин *Escherichia coli* і *Candida albicans* щодня протягом

4–5 діб р/с вносили в пробірки з середовищем ПБ або БС, а також з М-9. Після цього їх поміщали в термостат і висівали на поживні середовища, як описано вище.

2.3.2. Рекультивація клітин *Escherichia coli*, що перебувають у життєздатному некультурабельному стані

Проведено рекультивацію культури *Escherichia coli* після дії NaOCl шляхом щоденного внесення р/с, що містить інактивовані клітини *Escherichia coli*, у середовище М-9 або ПБ з подальшим посівом на диференційно-діагностичне агарове середовище Ендо.

З результатів дослідження видно, що клітини в р/с після припинення дії стрес-фактора (тобто після зв'язування хлору з концентрацією 2 мг/дм³ тіосульфатом натрію) і під впливом сприятливої температури $T = 37\text{ }^{\circ}\text{C}$ починають поступово відновлюватися (до 10 КУО/см³) вже через добу (рис. 2.3, крива 2), що свідчить про перехід культури *Escherichia coli* під впливом NaOCl у життєздатний некультурабельний стан. Найвищий рівень рекультивації клітин, які перебували у ЖНС, спостерігається в середовищі М-9 – через 24 год він стає практично одного порядку з вихідним титром культури (рис. 2.3, крива 3). Пік відновлення культури в М-9 та р/с спостерігається через 48 год. Встановлено, що в р/с відновлення культури сягає одного порядку, а в М-9 – до чотирьох порядків. У ПБ рекультивація клітин не відбулася (рис. 2.3, крива 1). Очевидно, такий ефект може бути пов'язаний з наявністю інгібуючих вільних радикалів у рідкому збагаченому живильному середовищі, що утворилися в процесі його приготування. Відновлення та ріст культури *Escherichia coli* поступово знижується зі збільшенням часу термостатування її р/с. На 4-ту добу спостерігається значне зниження зростання культури.

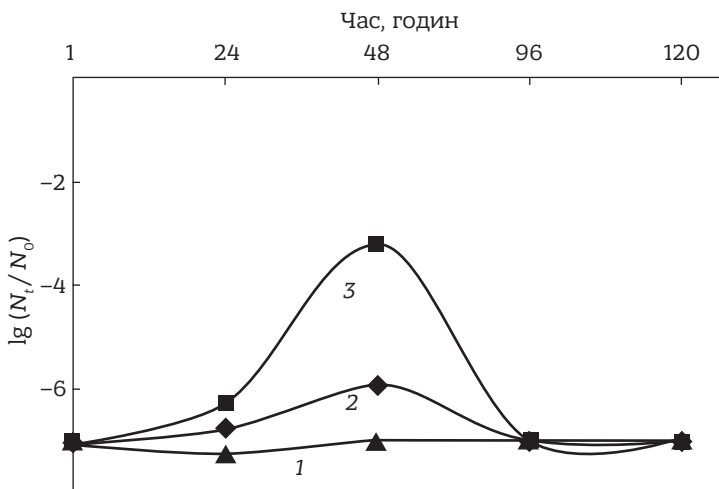


Рис. 2.3. Кінетика відновлення культури *Escherichia coli* після контакту з NaOCl з концентрацією 2 мг/дм³: 1 – р/с + ПБ; 2 – р/с; 3 – р/с + М-9

Такий ефект, очевидно, пов'язаний з недостатньою кількістю поживних речовин у р/с (дистильована вода), з якої щодня проводили посіви в рідкі поживні середовища. Аналогічні залежності було отримано для NaOCl в концентрації 3 мг/дм³.

Таким чином, під впливом NaOCl в концентраціях 2–3 мг/дм³ на культуру *Escherichia coli* утворюються клітини в ЖНС, які не визначаються загальноприйнятими методами, проте в разі потрапляння до сприятливих умов вони здатні повертатися до культурабельного стану.

Виявлено, що концентрація 5 мг/дм³ NaOCl повністю інактивує клітини *Escherichia coli* 1257, оскільки навіть після внесення в поживне середовище М-9 рекультивації культури не відбувається.

Установлено, що в мінімальному живильному середовищі М-9 культура *Escherichia coli* 1257 відновлюється приблизно на 3–4 порядки більше, ніж в р/с. Очевидно,

що склад середовища М-9 сприяє швидшому відновленню і росту бактеріальних клітин *Escherichia coli*.

Отже, було показано що *Escherichia coli* здатна переходити в ЖНС під дією стрес-фактора NaOCl. Для виявлення *Escherichia coli* в ЖНС доцільно застосовувати живильне середовище М-9 перед посівом культури на стандартне агарове диференційно-діагностичне середовище Ендо. Отримані результати свідчать про необхідність внесення змін до методики визначення якості води, що надходить до споживача, а також розроблення нових підходів до її знезараження.

2.3.3. Рекультивація клітин *Candida albicans*, що перебувають у життєздатному некультурабельному стані

Установлено, що клітини *Candida albicans*, інактивовані NaOCl в концентрації 4–6 мг/дм³, відновлюються в р/с вже через 48 год (1–6 КУО/см³), а на п'яту добу в робочій суспензії спостерігається практично повне відновлення культури (1 · 10⁵ КУО/см³) (рис. 2.4, крива 1).

Однак факт реактивації культури може не враховуватися при оцінці якості знезараження води, оскільки використання класичного підходу до визначення не дає можливості виявити в процесі аналізу мікроорганізми в некультурабельном стані. Тому з метою прискорення рекультивації культури, що перебуває в ЖНС, рекомендується застосовувати рідкі поживні середовища. В цьому дослідженні з метою визначення оптимального середовища для найбільш повної та швидкої рекультивації культури, р/с, що містить інактивовані клітини *Candida albicans*, вносили в класичний поживний бульйон Сабуро, що використовується для культивування *Candida albicans*, а також в сольове живильне середовище М-9.

Показано, що відновлених клітин культури в р/с і БС на першу добу немає, тоді як кількість відновлених

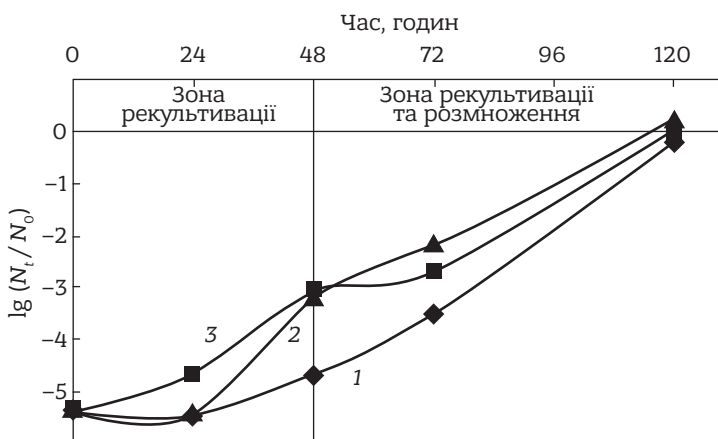


Рис. 2.4. Кінетика відновлення і зростання культури *Candida albicans*: 1 – р/с, 2 – р/с + БС, 3 – р/с + М-9

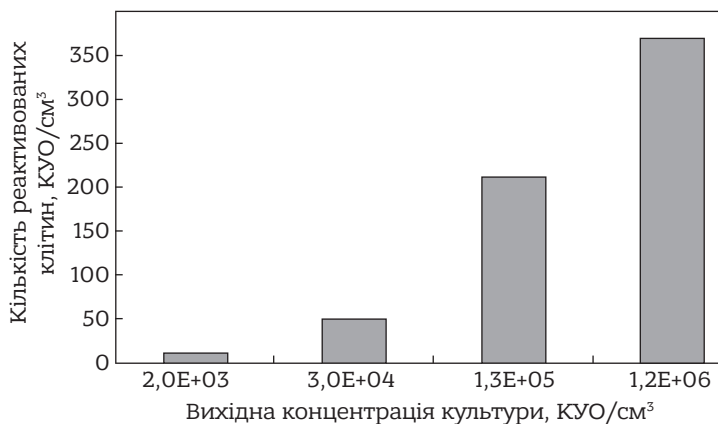


Рис. 2.5. Кількість рекультивованих клітин (КУО/см³) *Candida albicans* залежно від вихідної її концентрації в живильному середовищі М-9 (Т = 27 °С, t = 48 год)

клітин *Candida albicans* у живильному середовищі М-9 досягає десятків КУО/см³ (рис. 2.4, крива 3). Оскільки в живильне середовище М-9 вносили р/с з інактивовани-

ми мікроорганізмами (за стандартним методом визначення), то прояв росту культури *Candida albicans* після культивування в середовищі М-9 через 24 год свідчить про активне відновлення культури, яка перебуває в некультурабельному стані. Однак вже на другу добу в самому р/с кількість рекультивованих клітин зростає ($1-10$ КУО/см³) і при його внесенні в рідкі середовища (М-9 або БС), що містять поживні речовини, очевидно, спостерігається як відновлення, так і розмноження відновленої в р/с культури *Candida albicans* ($2,3 \cdot 10^2$ або $1,9 \cdot 10^2$ КУО/см³ відповідно) (рис. 2.4, крива 2 і 3).

Встановлено, що ступінь відновлення культури залежить також від її початкового навантаження. Однак відновлення *Candida albicans* у живильному середовищі М-9 спостерігається в усіх випадках (рис. 2.5).

Показано, що через 48 год ступінь відновлення інактивованої NaOCl (6 мг/дм³) культури *Candida albicans* при вихідній її кількості $1 \cdot 10^5$ і $1 \cdot 10^6$ КУО/см³ становить два порядки ($2,2 \cdot 10^2$ і $3,7 \cdot 10^2$ КУО/см³), тоді як при низькій їх концентрації ($1 \cdot 10^3$ і $1 \cdot 10^4$ КУО/см³) – один порядок ($2 \cdot 10$ і $5 \cdot 10$ КУО/см³).

Отже, використання живильного середовища М-9 сприяє прискоренню рекультивации культури *Candida albicans*, і при цьому підвищується інформативність мікробіологічних досліджень.

2.4. Вплив іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} на рекультивацию некультурабельних клітин *Candida albicans*

З огляду на здатність середовища М-9 повертати життєздатні некультурабельні культури *Escherichia coli* та *Candida albicans* в культурабельний стан було оцінено вплив компонентів середовища М-9 на рекультивацию некультурабельних клітин на прикладі

Candida albicans. До складу живильного середовища М-9 входять базові живильні компоненти, такі як хлорид амонію, фосфат натрію, фосфат калію і хлорид натрію, а також додаткові компоненти CaCl_2 , MgSO_4 і глюкоза, які життєво необхідні клітині для її нормального функціонування, оскільки є кофакторами багатьох ензимів. Крім того, відомо, що кальцій знижує мембранну проникність клітини щодо шкідливих речовин, а клітина, ослаблена дією стрес-фактора, намагається максимально швидко відновитися. В середині клітини кальцій є універсальним вторинним месенджером і бере участь у багатьох важливих метаболічних процесах, у тому числі й у синтезі АТФ, активації протеїнкінази С, фосфоліпаз A_2 і С. Магній, перебуваючи у складі живих клітин, впливає на їх ріст, розвиток і життєдіяльність [33].

Дослідження впливу цих компонентів на рекультивацію *Candida albicans* показало, що сольове середовище М-9, яке містить тільки базові компоненти, не сприяє переходу клітин, що перебувають у некультурабельному стані, в нормальний культурабельний стан. Роздільне внесення в середовище М-9 додаткових компонентів,

Таблиця 2.1. Вплив іонів Ca^{2+} , Mg^{2+} та глюкози на рекультивацію культури *Candida albicans* у робочій суспензії через 48 год після контакту з NaOCl

Робоча суспензія	КУО/см ³
Вихідне навантаження <i>Candida albicans</i>	$1,3 \cdot 10^5$
Після дії NaOCl	0
М-9 (без Ca^{2+} , Mg^{2+} і глюкози)	0
М-9 (з Ca^{2+} 0,00002 М)	$6,4 \cdot 10$
М-9 (з Mg^{2+} 0,0002 М)	$1,1 \cdot 10^2$
М-9 (з глюкозою)	9
М-9 (з Ca^{2+} 0,00002 М, Mg^{2+} 0,0002 М і глюкозою)	$1,8 \cdot 10^2$

2.4. Вплив іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} на рекультивацию некультурабельних клітин

таких як Ca^{2+} , Mg^{2+} і глюкози, сприяє відновленню культури. Показано, що іони Ca^{2+} і Mg^{2+} сприяють високому ступеню реактивації клітин. Однак найбільш активне відновлення культури відбувається при наявності всіх додаткових компонентів у середовищі М-9 (табл. 2.1).

Оскільки іони Ca^{2+} і Mg^{2+} найбільшою мірою сприяють відновленню культури, ми провели цикл досліджень зі встановлення оптимальних концентрацій цих іонів у складі середовища М-9 для рекультивации клітин *Candida albicans*, що перебувають в ЖНС (табл. 2.2).

Вибір оптимальних концентрацій іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} проводили, досліджуючи їх широкий діапазон, зокрема й концентрації, в яких ці макроелементи містяться у водопровідній воді, що надходить до споживача (згідно з ДСТУ 7525:2014 «Вода питна», оптимальний вміст Ca^{2+} має бути в діапазоні 0,0006–0,002 М, Mg^{2+} – 0,0004–0,002 М).

Показано, що рекультивация культури спостерігається в присутності іонів Ca^{2+} в діапазоні концентрацій

Таблиця 2.2. Вплив концентрацій іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} у складі середовища М-9 на рекультивацию інактивованих NaOCl клітин *Candida albicans* у робочій суспензії

Іони	Концентрація, М	КЧО/см ³	
		Час культивування, год	
		24	48
Ca^{2+}	0,000002	2	1,3 · 10
	0,00002	0	2 · 10
	0,00046	0	9
	0,0002	0	0
	0,0025	0	0
Mg^{2+}	0,00002	5	1,3 · 10
	0,00005	0	1,4 · 10
	0,0002	5	1,1 · 10 ²
	0,0005	3	6 · 10
	0,002	0	3

0,000002–0,00046 М та іонів Mg^{2+} – в діапазоні концентрацій 0,00002–0,002 М. Однак найвищий ступінь реактивації культури виявляється при концентраціях Ca^{2+} і Mg^{2+} 0,00002 М і 0,0002 М відповідно. Подальше підвищення або зниження концентрації призводить до зменшення кількості рекультивованих клітин. Відомо, що стимулювальний ефект кальцію спостерігається до певних концентрацій. Це пов'язано з тим, що для нормального функціонування клітині необхідна низька концентрація іонів кальцію, тоді як накопичення його в цитоплазмі призводить до її загибелі [109].

Отже, було визначено оптимальні концентрації компонентів середовища М-9, які якнайкраще впливають на процес рекультивації клітин *Candida albicans*, що перебувають у некультурабельном стані [110].

2.5. Вплив температури на відновлення клітин, що перебувають у життєздатному некультурабельному стані

Температура – це важливий фізичний фактор, який впливає як на перехід клітин мікроорганізмів у життєздатний некультурабельний стан, так і на їх відновлення до нормального культурабельного стану. Тому нами було виконано оцінювання впливу температури на відновлення і ріст клітин мікроорганізмів, що перебувають у ЖНС.

Робочі суспензії, що містять інактивовані клітини *Escherichia coli* або *Candida albicans*, поміщали в поживні середовища ПБ, СБ або М-9 у співвідношенні 1:10. Усі проби з інактивованими клітинами *Escherichia coli*, або *Candida albicans* (р/с, р/с + ПБ і р/с + М-9) витримували за температур 37; 27 і 9 °С. Посіви проводили щодоби.

Отримані результати свідчать, що за температури 37 °С культура *Escherichia coli* 1257 з вихідною кількістю

2.5. Вплив температури на відновлення клітин

$1 \cdot 10^6$ КУО / см^3 відновлюється, тоді як при 27 і 9 °С відновлення не відбувається (табл. 2.3). Очевидно, це пов'язано з тим, що температура 37 °С є оптимальною для росту і розвитку культурабельних клітин *Escherichia coli* 1257.

Встановлено, що максимальний ступінь рекультивациі *Candida albicans* спостерігається при 37 і 27 °С, тоді як знижена температура (9 °С) не приводить до помітного відновлення культури (табл. 2.4).

Отже, для досягнення оптимальних умов рекультивациі культур *Escherichia coli* та *Candida albicans* проби води із середовищем М-9 слід термостатувати за температури 37 °С для *Escherichia coli* і за температур 27 або 37 °С для *Candida albicans*.

Таблиця 2.3. Вплив температури на кінетику рекультивациі та росту культури *Escherichia coli* (КУО/см³) після контакту з NaOCl

Проби	Температура, °С								
	37			27			9		
	24 год	48 год	72 год	24 год	48 год	72 год	24 год	48 год	72 год
р/с	12	248	10	0	0	0	0	0	0
р/с + М-9	30	3205	210	0	0	0	0	0	0
р/с + ПБ	2	9	0	0	0	0	0	0	0

Таблиця 2.4. Вплив температури на кінетику рекультивациі та росту культури *Candida albicans* (КУО/см³) після контакту з NaOCl

Проба	Температура, °С					
	37		27		9	
	24 год	48 год	24 год	48 год	24 год	48 год
р/с	0	5	0	6	0	0
р/с + М-9	2	180	8	230	0	3
р/с + БС	0	110	0	190	0	0

Результати, отримані у дослідженні впливу температури на рекультивацію *Escherichia coli* та *Candida albicans*, підтверджують наведені у розділах 2.3.2 і 2.3.3 дані, які свідчать про найвищу ефективність середовища М-9 порівняно з іншими досліджуваними середовищами в процесі переходу зазначених культур із ЖНС в культурабельний стан.

2.6. Мікроскопічні дослідження клітин *Candida albicans* після дії гіпохлориту натрію

Оскільки клітини у ЖНС не ростуть на загальноприйнятих середовищах, для їх виявлення необхідно використовувати середовище М-9. Однак при цьому мікологічне визначення життєздатного некультурабельного стану стає досить тривалою в часі процедурою. Тому було досліджено можливість використання прямої мікроскопії для виявлення клітин у ЖНС.

З цією метою було використано розчин барвника трипанового синього (ТС, марка НПФ Сінбіас, ЧДА). Для приготування 0,5 % розчину 500 мг барвника розчиняли в 100 см³ гарячого (80–90 °С) 0,9 % розчину хлориду натрію. Розчин перемішували 10 хв на магнітній мішалці і фільтрували крізь фільтрувальний папір. Готовий розчин зберігали за температури 10–20 °С. Безпосередньо перед вживанням розчин барвника фільтрували крізь тонкий шар вати, щоб позбутися осаду.

Перед приготуванням препарату для мікроскопії до культури клітин і барвника додавали диметилсульфоксид (CH₃)₂SO (безбарвна рідина, важливий біполярний апротонний розчинник) марки ПанЕко, виробник США.

Препарати для мікроскопії готували за методикою [111] і досліджували під світловим мікроскопом Carl Zeiss Axio Observer A1 зі збільшенням (ок. / об.) 10 × 40 з використанням фотокамери Axio Cam ERc 5s (вироб-

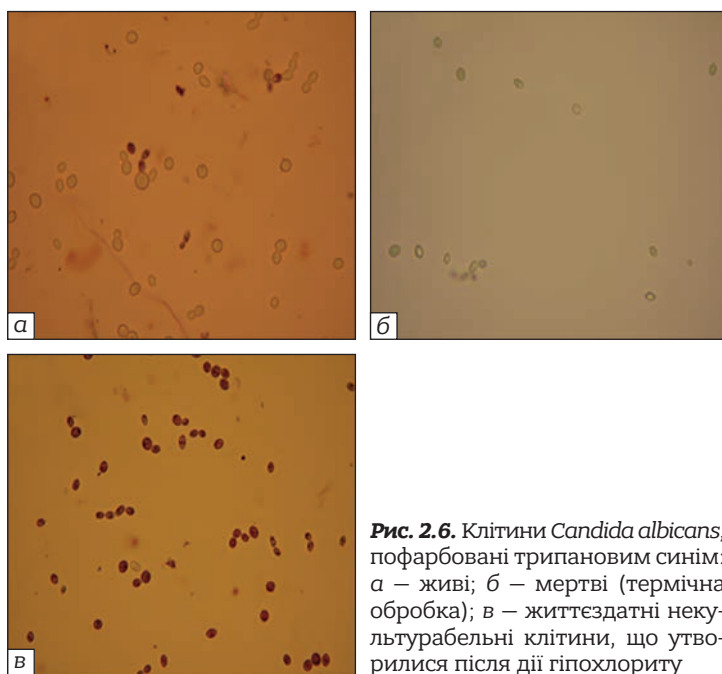


Рис. 2.6. Клітини *Candida albicans*, пофарбовані трипановим синім: а – живі; б – мертві (термічна обробка); в – життєздатні некультурабельні клітини, що утворилися після дії гіпохлориту

ник – Carl Zeiss, Germany) і програмного забезпечення ZEN 2012.

Через те, що клітини бактеріальної культури *Escherichia coli* мають розмір 0,5 мкм, їх важко визначати під світловим мікроскопом зі збільшенням 10×40 . Тому мікроскопічні дослідження проводили лише на клітинах дріжджоподібного гриба *Candida albicans*, розміри яких сягають 10 мкм.

У попередніх дослідах з фарбування живих і мертвих (після термічної обробки) клітин з використанням барвника трипанового синього (0,5 %) було показано, що клітини, загиблі через порушення їх мембранної цілісності, фарбувалися в темно-синій колір (трипанопозитивні), а клітини, які зберегли цілісність оболонки (живі), не пропускали барвник і залишалися прозорі-

ми (трипанонегативні) (рис. 2.6а, б). Встановлено, що додаткове внесення в р/с диметилсульфоксиду (ДМСО) дозволяє ефективно розрізняти живі і мертві клітини культури.


Прямою мікроскопією підтверджено наявність клітин *Candida albicans* у ЖНС після впливу на них бактерицидних концентрацій (5 мг/дм³) NaOCl. Ці клітини залишалися незабарвленими барвником трипановим синім, що свідчить про їх життєздатність, вони також зменшувалися в розмірі та мали візуально більш тонкі оболонки (рис. 2.6в). Однак виявилось, що при посіві такої культури на класичне агарове диференційно-діагностичне середовище Сабуро її росту не спостерігається. Попереднє внесення культури в рідке поживне сольове середовище М-9 перед висівом у класичне агарове диференційно-діагностичне середовище сприяє відновленню та росту культури дріжджоподібних грибів вже наступної доби.

2.7. Генетична стійкість мікроорганізмів

Відомо, що первинна взаємодія культури зі стрес-фактором зумовлює підвищення стійкості клітин при подальшому їх контакті завдяки перетворенням, що відбуваються в білкових структурах клітин [33]. Оскільки культура *Escherichia coli*, виділена з водорозподільних мереж, неодноразово зазнає дії активного хлору, доцільно було перевірити наявність підвищення її стійкості до дії NaOCl. З цією метою було проведено експерименти з інактивації клітин *Escherichia coli*, які раніше перебували в ЖНС. Для цього культуру піддавали дії NaOCl в концентраціях 2 і 3 мг/дм³ і порівнювали отриманий ступінь інактивації *Escherichia coli* в ЖНС з дочірніми клітинами. Показано, що клітини не стали більш стійкими до цього стрес-фактора, ніж вихідні

культурабельні клітини *Escherichia coli*. Так, при концентрації гіпохлориту натрію 2 мг/дм^3 ступінь знезараження вихідної культури *Escherichia coli* становить 99,99 %, а для *Escherichia coli*, яка раніше зазнавала дії активного хлору і перебувала в ЖНС, – 99,98 % за 60 хв контакту. Тобто значного збільшення резистентності культури, яка перейшла в ЖНС, виявлено не було, що можна розглядати як непрямий доказ відсутності генетичних змін у клітині.

Отже, при оцінці впливу NaOCl на клітини *Candida albicans* у вихідній формі та у ЖНС спостерігалось дуже незначне збільшення стійкості останніх, тому отримані результати потребують проведення подальших, більш детальних досліджень.



Розділ **3**

**АНАЛІЗ
ПИТНОЇ ВОДИ
МІСТА КИЄВА**

-
- 3.1.** Систематичний аналіз водопровідної води міста Києва
 - 3.2.** Аналіз води зі свердловин міста Києва
 - 3.3.** Систематичний аналіз доочищеної води міста Києва



3.1. Систематичний аналіз водопровідної води міста Києва

Контроль якості води є актуальним завданням. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ), щороку у світі через низьку якість води вмирає близько 5 млн осіб. Інфекційна захворюваність населення, пов'язана з водопостачанням, сягає 500 млн випадків на рік. Це дає підстави визначити проблему водопостачання доброякісної води в достатній кількості однією з головних проблем людства. Більше того, у світовій практиці доступність і якість питної води є однією з головних складових в оцінці екологічного благополуччя будь-якого регіону [112].

Проблеми, пов'язані з якістю питної води, хвилюють мільйони людей і в Україні, незалежно від регіонів їх проживання.

Водоканал є однією з найстаріших комунальних споруд столиці України, що не дивно, адже централізований водопровід почали закладати ще наприкінці XIX – на початку XX ст. Велика протяжність водопровідної мережі одночасно є і перевагою, і недоліком. З одного боку, чим довша водопровідна мережа, тим більше будинків і підприємств можуть отримувати очищену воду, з іншого

боку – тим складніше забезпечувати її бактеріологічну безпеку. Слід зазначити, що обладнання, яке використовують для очищення води, перебуває здебільшого у стані крайньої зношеності і потребує невідкладної реконструкції [113].

Тому для контролю якості води на станціях водопідготовки систематично проводять мікробіологічний аналіз питної води класичними методами. При цьому визначають бактерії групи кишкової палички, присутність яких свідчить про забруднення води виділеннями з кишечника теплокровних; термотолерантні кишкові бактерії, які є специфічним індикатором свіжого фекального забруднення; загальну кількість мікроорганізмів за температури інкубації (22 ± 1) °C на 5-ту добу та за температури (36 ± 1) °C через одну добу. Зростання числа колоній при (22 ± 1) °C свідчить про погіршення санітарно-гігієнічного стану системи водопідготовки або водопостачання, появу джерела забруднення або виникнення умов для вторинного розмноження мікроорганізмів. Наявність колоній при 36 ± 1 °C означає можливе забруднення води антропогенною мікробіотою.

Останнім часом, крім мікробіологічного аналізу питної води, актуальним є також її мікологічний аналіз, який дозволяє встановити наявність у питній воді мікроскопічних грибів – мікроміцетів [114].

Відомо, що мікроміцетипоширені в навколишньому середовищі, а також наявні у поверхневих джерелах водопостачання та водопровідній воді України [72]. Вони здатні погіршувати органолептичні показники води, а також виділяти у водне середовище мікотоксини, які мають мутагенну, тератогенну, ембріонотоксичну, алергенну та імунносупресивну дію на організм людини [115].

Як було показано в попередніх розділах, деякі мікроорганізми, зокрема й мікроміцети, під дією стрес-факторів (голодування, окиснення, зміни температури тощо) здатні переходити у ЖНС. Такі клітини не культивуються на класичних диференційно-діагностичних

агарових середовищах, що може призвести до недооцінки кількості життєздатних патогенних мікроорганізмів унаслідок помилково негативних результатів аналізу питної води на станціях водопідготовки.

Нами було розроблено метод виявлення мікроорганізмів у ЖНС. Запропонований метод ґрунтується на введенні додаткового етапу рекультивування, що включає внесення аліквоти аналізованої проби води у середовище М-9 та витримування її в термостаті протягом доби перед висівом на диференційно-діагностичне агарове середовище.

З метою виявлення достовірної кількості мікроорганізмів, що містяться у водопровідній воді, ми порівняли класичні методи (КМ) виявлення мікроорганізмів із запропонованим нами методом (ЗМ) виявлення мікроорганізмів у ЖНС.

Проведено систематичний мікробіологічний та мікологічний аналіз водопровідної води, відібраної з різних адміністративних районів міста Києва у різні періоди року. Воду відбирали з водопровідної мережі в Святошинському, Солом'янському і Дарницькому районах Києва. Терміни експлуатації труб становили: 25–40 років (багатопверховий житловий будинок на вул. Підлісна, 6 та Інститут колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України на бульв. Вернадського, 42), 35–45 років (житловий будинок на вул. Героїв Севастополя, 13 і гуртожиток на вул. Антона Цедіка (Е. Потьє), 9) та 55–65 років (приватний будинок на вул. Волго-Донська, 62).

Проби води для дослідження відбирали загальноприйнятими методами, згідно з ГОСТ 18963-73 [116], у спеціально призначені для такого відбору стерильні флакони місткістю не менш як 500 см³ з ковпачками, що щільно прилягають. Проби водопровідної води з кранів відбирали після стерилізації останніх фламбуванням за допомогою змоченого у спирті тампона та наступним спусканням води впродовж 10–15 хв. Відібрані проби маркували, вказуючи дату, час та адресу. Проби достав-

ляли в продезинфікованих термоконтейнерах за температури 6 ± 2 °С. У холодний період року контейнери оснащували терморегулювальними прокладками, які запобігали промерзанню проб. Термін початку дослідження не перевищував 6 год.

Перед дослідженням пробу води ретельно перемішували. Край ємності фламбували для запобігання вторинному забрудненню, яке могло статися під час транспортування.

Проби води відфільтровували. Для фільтрування застосовували мембранні фільтри з діаметром пор 0,22 мкм (Владіпор). Перед фільтруванням у день посіву фільтри стерилізували кип'ятінням або іншим способом, рекомендованим фірмою-виробником. Підготовлені фільтри використовували впродовж робочого дня.

Лійку та столик фільтрувального апарату протирали ватним тампоном, змоченим спиртом, і стерилізували фламбуванням. Після охолодження на столик фільтрувального апарату стерильним пінцетом накладали підготовлений мембранний фільтр, притискуючи його лійкою, яку закріплювали пристроєм, передбаченим конструкцією приладу.

Після фільтрування лійку знімали, стерильним пінцетом фільтр переносили, не перевертаючи, на поверхню поживного середовища в чашках Петрі. На одній чашці розміщували один фільтр. На дні чашки робили напис із зазначенням об'єму профільтрованої води, дати посіву і номера проби.

Об'єми води, які фільтрували крізь фільтр, залежать від передбачуваного ступеня контамінації води мікроорганізмами (від 10 до 333 см³). Чашки з фільтрами інкубували в термостаті при 28 ± 1 °С упродовж 7 діб або при 37 ± 1 °С протягом 1 доби залежно від виду культури, яку сподівалися виявити. Колонії, що виростили в чашках Петрі, підраховували щодня. Для запобігання висиханню агару в чашках їх розміщували в спеціальних контейнерах або целофанових пакетах.

У табл. 3.1 наведено результати аналізу зразків водопровідної води, проведеного у зимовий період року класичним та запропонованим методами. Отримані класичним методом дані свідчать про наявність у зразках водопровідної води лише одного виду міцеліальних грибів – *Penicillium* у кількості від 1 до 33 КУО/100 см³, а також дріжджоподібних видів грибів, таких як *Rhodotorula* та *Candida*, кількісний показник яких становить 3 та 1–13 КУО/100 см³ відповідно. Таким чином, середній показник мікроміцетів у зразках води, досліджених класичним методом у зимовий період, становив 13 КУО/100 см³.

З даних, які отримано при використанні запропонованого методу, видно, що в аналізованих зразках насправді міститься більше різноманіття мікроміцетів й у більшій кількості, які не було виявлено класичним методом аналізу. Крім раніше виявленого виду *Penicillium*, виявлено також інші міцеліальні гриби, такі як *Aspergillus*, *Myceliai Alternaria*, кількісний показник яких становив $1 \cdot 10^2$ – $4 \cdot 10^2$ КУО/100 см³. Кількість дріжджоподібних грибів становила для *Rhodotorula* – $1,2 \cdot 10^3$ КУО/100 см³, для *Candida* – $1 \cdot 10^2$ – 5×10^2 КУО/100 см³. Середній показник мікроміцетів у зразках води, досліджених запропонованим методом у зимовий період, – $6,8 \cdot 10^2$ КУО/100 см³.

У разі великої кількості різних видів мікроорганізмів деякі з них можуть пригнічувати ріст інших.

Результати аналізу свідчать, що найбільша контамінація мікроміцетами водопровідної води у зимовий період спостерігалася у Святошинському районі за адресою вул. Підлісна, 6, де було виявлено найбільше дріжджоподібних видів грибів (*Rhodotorula* – $1,2 \cdot 10^3$ КУО/100 см³ і *Candida* – $1 \cdot 10^2$ КУО/100 см³). Найбільшу кількість міцеліальних грибів було виявлено у Солом'янському районі за адресою вул. Героїв Севастополя, 13 – $5 \cdot 10^2$ КУО/100 см³ та вул. Антона Цедіка (колишня вул. Е. Потье), 9 – 5×10^2 КУО/100 см³.

Таблиця 3.1. Результати систематичного мікологічного аналізу водопровідної води у місті Києві у зимовий період року

Райони	Місяця забору зразків води	Метод аналізу	КУО/100 см ³								
			<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium</i> sp ¹	<i>Penicillium</i> sp ²	<i>Mucella stentia</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Candida albicans</i>	Бактерії	
Солом'янський	вул. Героїв вастополя, 13	КМ ЗМ	— —	— 3 · 10 ²	— —	— —	1 · 10 ² —	3 —	— 1 · 10 ²	10 5 · 10 ²	+ +
	вул. Антона Цедіка, 9	КМ ЗМ	— 1 · 10 ²	1 3 · 10 ²	5 1 · 10 ²	— —	— —	— —	— —	— 1 · 10 ²	— +
Дарницький	вул. Волго-Донська, 62	КМ ЗМ	— —	— 1 · 10 ²	— —	— —	— 2 · 10 ²	— —	— —	13 —	+ +
	вул. Підлісна, 6	КМ ЗМ	— —	— —	— —	— —	— —	— 1,2 · 10 ³	— —	1 1 · 10 ²	+ —
Святошинський	бульв. Вернадського, 42	КМ ЗМ	— 1 · 10 ²	33 —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— +

Аналогічні дослідження водопровідної води проведено у весняний період (табл. 3.2). Класичним методом було виявлено міцеліальні види грибів – *Aspergillus*, *Penicillium* і *Mycelia* у кількості від 1 до 3 КУО/100 см³, та дріжджоподібні – *Candida* – від 7 до 23 КУО/100 см³, тоді як запропонованим методом виявлено міцеліальні види грибів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mycelia* і *Fusarium*, кількісний показник яких коливається від 1 до $3 \cdot 10^2$ КУО/100 см³, та дріжджоподібні *Candida* – від $1 \cdot 10^2$ до $1 \cdot 10^3$ КУО/100 см³.

Таким чином, середній показник мікроміцетів у зразках води, досліджених класичним методом, у весняний період становив 8 КУО/100 см³, а за запропонованим методом – $4,8 \cdot 10^2$ КУО/100 см³.

Отже, за результатами аналізу можна дійти висновку, що найбільша контамінація мікроміцетами водопровідної води у весняний період спостерігалася знову у Святошинському районі за адресою вул. Підлісна, 6, де було виявлено найбільше дріжджоподібних видів грибів *Candida* – $1 \cdot 10^3$ КУО/100 см³. Зразки водопровідної води, які містили найбільше міцеліальних видів грибів (по $5 \cdot 10^2$ КУО/100 см³), були відібрані в Солом'янському районі, вул. Героїв Севастополя, 13 та в Дарницькому районі, вул. Волго-Донська, 62.

Слід звернути увагу, що зразок водопровідної води, відібраний в Солом'янському районі, за адресою вул. Антона Цедіка (Е. Потье), 9, за результатами аналізу, проведеного класичним методом, містив мікроміцети (*Penicillium* і *Candida*), а запропонованим методом – росту мікроскопічних грибів не було зафіксовано (табл. 3.2). Це можна пояснити великою кількістю реактивованих бактерій (суцільний ріст на фільтрі), які пригнітили ріст інших мікроорганізмів. У таких випадках до диференційно-діагностичних агарових середовищ слід додавати антибіотики бактеріостатичної чи бактерицидної дії, що дасть змогу запобігти впливу цих бактерій на виявлення та кількісний підрахунок мікроскопічних грибів [117].

Таблиця 3.2. Результати систематичного мікологічного аналізу водопровідної води у місті Києві у весняний період року

Райони	Місця забору зразків води	Метод аналізу	КУО/100 см ³								Бактерії		
			<i>Aspergillus niger</i>	<i>Penicillium implicatum</i>	<i>Penicillium spp</i>	<i>Mucella stenila</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Cladosporium spp</i>	<i>Fusarium solani</i>				
Солом'янський	вул. Героїв Севастополя, 13	КМ	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
		ЗМ	1 · 10 ²	3 · 10 ²	—	1 · 10 ²	—	—	—	—	—	—	+
Дарницький	вул. Антона Цедіка, 9	КМ	—	—	3	—	—	—	7	—	—	—	+
		ЗМ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
Святошинський	вул. Підлісна, 6	КМ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
		ЗМ	—	3 · 10 ²	—	1 · 10 ²	—	—	2 · 10 ²	—	—	1 · 10 ²	—
	бульв. Вернадського, 42	КМ	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	—
		ЗМ	—	—	—	—	—	—	1 · 10 ³	—	—	—	—
		КМ	1	—	—	1	—	—	23	—	1	—	—
		ЗМ	1 · 10 ²	—	—	—	—	—	1 · 10 ²	—	—	—	+

Порівнюючи результати досліджень зразків водопровідної води в літній період року (табл. 3.3), можна помітити, що кількість дріжджоподібних грибів значно переважала кількість міцеліальних, як у разі застосування класичного методу виявлення (*Rhodotorula* – 2 КУО/100 см³, *Candida* – 24–45 і *Aspergillus, Rhizopus* – 1 КУО/100 см³), так і в разі запропонованого методу (*Candida* – $5 \cdot 10^2$ – $3 \cdot 10^3$ КУО/100 см³ і *Penicillium, Mycelia, Rhizopus, Cladosporium* – $1 \cdot 10^2$ – $2 \cdot 10^2$ КУО/100 см³). Встановлено, що кількісний і видовий показники міцеліальних видів грибів у весняно-літній та осінньо-зимовий періоди змінювалися незначно, тоді як кількість дріжджоподібних видів при підвищенні температури зростала. Середній показник мікроміцетів у зразках води, досліджених класичним методом, у літній період становив 15 КУО/100 см³, а досліджених запропонованим методом – $1 \cdot 10^3$ КУО/100 см³.

У літній період найбільш контамінованими дріжджоподібними грибами виявилися зразки водопровідної води, відібрані за обома адресами в Солом'янському районі. Кількість виявлених грибів *Candida albicans* становила від $1,3 \cdot 10^3$ до $3 \cdot 10^3$ КУО/100 см³. Високий вміст *Candida albicans* відзначено також у зразках, відібраних на вул. Підлісна (Святошинський район), – $5 \cdot 10^2$ КУО/100 см³.

Результати аналізу зразків водопровідної води, відібраних в осінній період року, наведено в табл. 3.4.

Класичним методом встановлено наявність мікроміцетів родів *Mycelia* і *Rhizopus* у кількості 1–3 КУО/100 см³, дріжджоподібні гриби представлено переважно видом *Candida* – 2–40 і *Rhodotorula* – 2 КУО/100 см³. При проведенні аналізу води запропонованим методом кількість і видовий склад мікроскопічних грибів зростали. Так, виявлено види міцеліальних грибів, такі як *Aspergillus, Penicillium, Mycelia* і *Rhizopus*, кількість яких коливалася в межах $1 \cdot 10^2$ – $3 \cdot 10^2$ КУО/100 см³. Крім того, порівняно з літнім періодом року восени було виявлено

Таблиця 3.3. Результати систематичного мікологічного аналізу водопровідної води у місті Києві в літній період року

Райони	Місяця забору зразків води	Метод аналізу	КУО/100 см ³										
			<i>Aspergillus</i> spp	<i>Penicillium</i> spp	<i>Mucella stentia</i>	<i>Rhodotorta glutins</i>	<i>Rhizopus arrhizus</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Candida albicans</i>	Бактерії			
Солом'янський	вул. Героїв Севастополя, 13	КМ ЗМ	1	-	-	-	-	-	-	-	3 · 10 ³	-	+
	вул. Антона Цедіка, 9	КМ ЗМ	-	-	-	-	1	-	-	-	24	1,3 · 10 ³	+
Дарницький	вул. Волго-Донська, 62	КМ ЗМ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	вул. Підлісна, 6	КМ ЗМ	-	-	-	2	-	-	-	1 · 10 ²	45	5 · 10 ²	-
Святошинський	бульв. Вернадського, 42	КМ ЗМ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
			-	1 · 10 ²	-	-	-	1 · 10 ²	-	-	-	-	-

3.1. Систематичний аналіз водопровідної води міста Києва

Таблиця 3.4. Результати систематичного мікологічного аналізу водопровідної води у місті Києві в осінній період року

Райони	Місця забору зразків води	Метод аналізу	<i>Aspergillus</i> spp	<i>Penicillium</i> spp	<i>Mucella stentia</i>	<i>Rhodotorta glutinis</i>	<i>Rhizopus arrhizus</i>	<i>Candida albicans</i>	Бактерії
			КУО/100 см ³						
Соломянський	вул. Героїв Севастополя, 13	КМ	-	-	-	2	1	-	-
		ЗМ	-	1·10 ²	-	-	-	-	-
	вул. Антона Цедіка, 9	КМ	-	-	1	-	-	10	-
		ЗМ	-	1·10 ²	-	1·10 ²	-	1·10 ²	-
Дарницький	вул. Волго-Донська, 62	КМ	-	-	-	-	-	2	-
		ЗМ	-	-	1·10 ²	-	-	1·10 ²	-
Святошинський	вул. Підлісна, 6	КМ	-	-	3	-	-	40	-
		ЗМ	3·10 ²	-	-	-	-	2·10 ²	-
	бульв. Вернадського, 42	КМ	-	-	-	-	-	25	+
		ЗМ	-	-	3·10 ²	-	1·10 ²	5·10 ²	-

на один порядок меншу кількість дріжджоподібних грибів – $1 \cdot 10^2$ – $5 \cdot 10^2$ КУО/100 см³, що пов'язано зі зниженням температури навколишнього середовища. Середній показник мікроміцетів у зразках води, досліджених класичним методом, в осінній період становив 17 КУО/100 см³, а в досліджених запропонованим методом – $4 \cdot 10^2$ КУО/100 см³.

В осінній період року зразки води з місць відбору у Святошинському районі виявилися найбільш контаміновані мікроскопічними грибами порівняно з іншими районами. Загальна кількість міцеліальних та дріжджоподібних грибів у зразку, відібраному в багатоповерховому жилому будинку на вул. Підлісна, 6, становила $3 \cdot 10^2$ КУО/100 см³ та $2 \cdot 10^2$ КУО/100 см³ відповідно, а у зразку, відібраному в Інституті колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України на бульв. Вернадського, 42, – $4 \cdot 10^2$ КУО/100 см³ і $5 \cdot 10^2$ КУО/100 см³ відповідно.

Встановлено, що в усіх пробах води, незалежно від терміну експлуатації трубопроводів, місця відбору та пори року, середня кількість мікроміцетів становить:

- за класичним методом аналізу – 3–25 КУО/100 см³ (табл. 3.5);
- за запропонованим методом аналізу – $3 \cdot 10^2$ – $1,2 \cdot 10^3$ КУО/100 см³ (табл. 3.6).

У результаті було показано, що домінують дріжджоподібні види. Найвищу кількість грибів роду *Candida* і *Rhodotorula* виявлено в Солом'янському та Святошинському районах. Серед міцеліальних форм мікроміцетів найчастіше траплялися гриби видів *Penicillium*, *Mycelia* та *Aspergillus*, які досить стійкі до дії дезінфектантів та мають токсикогенні, алергенні й мутагенні властивості.

Запропонований метод, порівняно з класичним, дає можливість виявити мікроорганізми, які перебувають у ЖНС. Це було підтверджено результатами дослідів з санітарно-показовим мікроорганізмом *Escherichia coli* та дріжджоподібним грибом *Candida albicans*, які після

3.1. Систематичний аналіз водопровідної води міста Києва

дії гіпохлориту натрію переходили в ЖНС і були не здатні культивуватися на диференційно-діагностичних агарових середовищах, що використовують у класичному методі аналізу води. Однак за допомогою запропонованого методу аналізу (використання рідкого поживного середовища М-9 для рекультивациі клітин мікроорганізмів з подальшою їх культивацією на диференційно-діагностичних агарових середовищах) культури *Escherichia coli* і *Candida albicans* відновлювали свою культурабельність уже через добу. Це дає можливість виявля-

Таблиця 3.5. Загальна кількість мікроміцетів у водопровідній воді міста Києва, визначена класичним методом

Місце відбору зразка води	<i>Aspergillus</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Rhizopus arrhizus</i>	<i>Mycelia sterilia</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>	Загальна кількість
	КУО/100 см ³							
Святошинський район (період експлуатації труб – 28–40 років)								
вул. Підлісна, 6	–	–	–	1	–	23	1	25
бульв. Вернадського, 42	–	8	–	–	–	12	–	20
Солом'янський район (період експлуатації труб – 35–45 років)								
вул. Героїв Севастополя, 13	1	–	–	–	–	3	1	5
вул. Антона Цедіка, 9	–	2	–	–	–	10	–	12
Дарницький район (період експлуатації труб – 55–65 років)								
вул. Волго-Донська, 62	–	–	–	–	–	3	–	3

ти реальну кількість мікроорганізмів, що містяться у водопровідній воді.

Крім того, в лабораторних умовах показано, що збільшення кількості мікроорганізмів у середовищі М-9 відбувається внаслідок рекультивації клітин, що перебувають у ЖНС, та частково внаслідок розмноження клітин, наявних у вихідній воді. Встановлено, що внесення мікроорганізмів *Candida albicans* ($1 \cdot 10^3$ КУО/100 см³) у

Таблиця 3.6. Загальна кількість мікроміцетів у водопровідній воді міста Києва, визначена запропонованим методом

Місце відбору зразка води	<i>Aspergillus spp.</i>	<i>Penicillium spp.</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Rhizopus arrhizus</i>	<i>Mycelia sterilia</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>	Загальна кількість
	КУО/100 см ³									
Святошинський район (період експлуатації труб – 28–40 років)										
вул. Підлісна, 6	75	–	–	–	75	25	–	450	300	925
бульв. Вернадського, 42	50	25	–	50	75	–	–	150	–	350
Солом'янський район (період експлуатації труб – 35–45 років)										
вул. Героїв Севастополя, 13	25	175	–	–	50	–	25	875	–	1150
вул. Антона Цедіка, 9	25	150	–	–	–	–	–	375	25	575
Дарницький район (період експлуатації труб – 55–65 років)										
вул. Волго-Донська, 62	–	100	25	–	100	–	–	75	–	300

культивованому стані в середовища М-9 і Сабуро та термостатування цих зразків протягом доби приводить до збільшення їх кількості у середовищі Сабуро до $1 \cdot 10^7$ КУО/100 см³, а у середовищі М-9 – до $1 \cdot 10^4$ КУО/100 см³. Однак, якщо в ці середовища на одну добу помістити мікроорганізми, що перебувають у ЖНС, то у середовищі Сабуро росту клітин не відзначається, тоді як у середовищі М-9 їх кількість сягає десятків КУО/см³.

Виявлено, що використання стандартного мікробіологічного методу, оснований на застосуванні класичних живильних середовищ, з метою оцінки якості водопровідної води не дозволяє виявити мікроорганізми, що перебувають у ЖНС. Однак застосування мінімального поживного середовища М-9 як додаткового етапу виявлення сприяє реактивації бактерій і мікроміцетів, що перебували у ЖНС. У процесі мікологічного аналізу з використанням стандартного середовища Сабуро у воді виявляються поодинокі клітини мікроміцетів, тоді як введення додаткового етапу культивування у середовищі М-9 дозволяє виявляти ширший спектр мікроміцетів, зокрема було виділено *Aspergillus niger*, *Penicillium spp*, *Rhodotorula glutinis*, *Alternaria alternate*, *Candida albicans* та *Cladosporium spp*. Запропонований підхід до оцінки якості води дає змогу отримати більш достовірні результати лабораторних досліджень, а це, у свою чергу, дає можливість запобігти багатьом інфекційним захворюванням, які передаються водним шляхом.

Одночасно з мікологічним аналізом водопровідної води міста Києва, відібраної з розподільної мережі різних районів у різні періоди року, проведено також аналіз води за мікробіологічними показниками. Класичний і запропонований методи аналізу було порівняно один з одним. Показано, що впродовж періоду моніторингу, незалежно від місця відбору проб води та методу, не спостерігалось відхилення мікробіологічних показників від допустимих норм.

3.2. Аналіз води зі свердловин міста Києва

Ступінь забруднення води підземних джерел залежить від багатьох причин: від глибини, з якої забирається вода, потрапляння у водоносний шар забруднень від промислових підприємств, звалищ, сільськогосподарських полів тощо. Важливо зазначити, що до першої групи ризику належать неглибокі (20–40 м), піщані свердловини і джерела, тому що саме ці води зазнають найбільшого техногенного забруднення. Більш захищеними та безпечними є артезіанські свердловини, глибина яких починається від 100 м, оскільки артезіанські води переважно захищені плащем водонепроникних глин і суглинків. Однак, через поширеність практики регіональних водозаборів з артезіанських горизонтів, трапляються місця, де надлишковий тиск артезіанських вод практично вже вироблений. У результаті утворюються депресивні воронки, які приводять до інфільтрації поверхневих і ґрунтових вод в артезіанські водоносні горизонти, що спричиняє забруднення водоносного горизонту, який раніше вважали досить чистим.

Незважаючи на ці можливі ризики, споживачі все одно надають перевагу воді не з водорозподільної мережі міста, а із свердловин. З огляду на це рекомендується систематично проводити аналіз якості води зі свердловин, оскільки така вода може містити небезпечні для людини мікроорганізми, залишаючись чистою і прозорою на вигляд.

Тому ми провели аналіз проб води з кількох свердловин. Відбір зразків води зі свердловин здійснювали у Дарницькому районі в осінньо-зимовий період. Аналізували відібрані зразки води як класичним методом, так і запропонованим методом виявлення мікроорганізмів у ЖНС (табл. 3.7).

Встановлено, що в усіх пробах води, які досліджували класичним методом, було виявлено бактерії в межах допустимої норми, а також не дуже багато мікроміцетів: *Rhodotorula* (60 КУО/100 см³), *Penicillium* і *Absidia* (по 5 КУО/100 см³).

Показано, що застосування запропонованого методу дає можливість виявити більше видів мікроорганізмів та у більшій кількості порівняно з традиційним методом. Так, майже в усіх зразках води зі свердловин було виділено різновидність міцеліального гриба роду *Penicillium*, який може негативно впливати на стан здоров'я людини, спричинюючи такі розлади, як підвищена стомлюваність, загальна слабкість, головний біль, мігрені, нудота, запаморочення. У деяких зразках води бу-

Таблиця 3.7. Аналіз зразків води із свердловин Дарницького району міста Києва

Місце відбору зразків води, вулиця	Кількість (КУО/100 см ³) і вид мікроорганізмів	
	Класичний метод	Запропонований метод
М. Драгоманова, 29	60 – <i>Rhodotorula glutinis</i> , бактерії	1 · 10 ² – <i>Rhodotorula glutinis</i> , 1 · 10 ² – <i>Penicillium sp</i> ¹ , 1 · 10 ² – <i>Penicillium sp</i> ² , 1 · 10 ² – <i>Penicillium sp</i> ³
Здолбунівська, 7	Бактерії	1 · 10 ² – <i>Penicillium sp</i> ² , 1 · 10 ² – <i>Candida albicans</i>
Григоренка, 41	"	1 · 10 ² – <i>Cladosporium cladosporioides</i> , 2 · 10 ² – <i>Mycelia sterilia</i> , бактерії
Ревуцького, 5/7	"	1 · 10 ² – <i>Penicillium sp</i> ¹ , 8 · 10 ² – <i>Candida albicans</i> , 1 · 10 ² – <i>Mycelia sterilia</i> , бактерії
А. Ахматової, 16-в	5 – <i>Penicillium sp</i> ¹ , 5 – <i>Absidia spp</i> , бактерії	3 · 10 ² – <i>Aspergillus spp</i> , 1 · 10 ² – <i>Penicillium sp</i> ¹ , бактерії

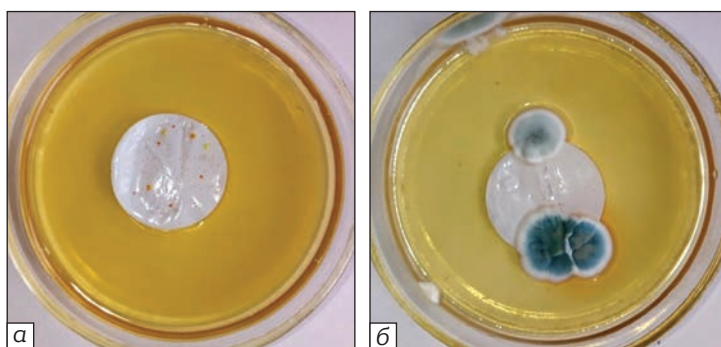


Рис. 3.1. Результати аналізу зразків води із свердловини на вулиці М. Драгоманова, 29, Дарницький район: а – класичний метод; б – запропонований метод

ло виявлено міцеліальні гриби роду *Cladosporium*, *Mucelia* та *Aspergillus* у кількості від 1 до $3 \cdot 10^2$ КУО/100 см³, що можуть стати причиною розвитку респіраторних захворювань, дерматозів. Виявлено також дріжджоподібні гриби роду *Rhodotorula* і *Candida* у кількості від 1 до $8 \cdot 10^2$ КУО/100 см³, які можуть викликати мікози різних органів. Загалом виявлено 6 родів міксоміцетів. Особливо небезпечних видів мікроскопічних грибів виявлено не було.

Наочно результати аналізу зразків води із свердловини, розташованої на вулиці М. Драгоманова, 29, наведено на рис. 3.1.

Класичним методом виявлено мікроміцети *Rhodotorula glutinis* (60 КУО/100 см³) і бактерії, що на момент аналізу перебували в культурабельному стані (рис. 3.1а), а запропонованим (рис. 3.1б) – *Rhodotorula glutinis* у кількості $1 \cdot 10^2$ КУО/100 см³, що може бути результатом як розмноження, так і часткового відновлення культури, а також три види *Penicillium*, що, напевно, є результатом відновлення культури в поживному середовищі М-9, оскільки із застосуванням класичного методу їх не було виявлено.

Отже, за результатами, наведеними в табл. 3.7, видно, що навіть у воді зі свердловин крім культурабельних форм мікроорганізмів присутні також мікроорганізми, що перебувають у ЖНС. Важливо підкреслити, що особи з ослабленими імунною і дихальною системами можуть бути більш сприйнятливими до наявності мікроскопічних грибів у воді.

3.3. Систематичний аналіз доочищеної води міста Києва

У процесі доставки води від очисної станції, де вона пройшла необхідну обробку, до споживача вода зазнає впливу великої кількості різних забруднень у трубопроводах розвідних мереж (вторинні забруднення). Пересічний споживач навряд чи здатний якимось реально вплинути на ситуацію з технічним станом систем водопостачання, а тому єдино можливий вихід з ситуації, що склалася, – доводити водопровідну воду до належної якості, використовуючи установки та побутові фільтри для доочищення води.

З метою виявлення реальної кількості мікроорганізмів, що містяться у доочищеній воді, ми порівняли класичний метод виявлення мікроорганізмів із запропонованим нами методом виявлення мікроорганізмів, що перебувають у ЖНС.

Проведено систематичний мікробіологічний та мікологічний аналіз зразків води з установок доочищення водопровідної води, принцип роботи яких ґрунтується на сорбційному очищенні на природних і синтетичних сорбентах та знезараженні води ультрафіолетовим опроміненням.

Зразки відібрано у різні періоди року, в різних державних установах міста Києва, де використовують такі установки доочищення. Аналіз проводили як класичним методом виявлення мікроорганізмів, так і запро-

понованим методом виявлення мікроорганізмів, що перебувають у ЖНС.

Зразки відбирали з установок доочищення водопровідної води, що знаходяться за адресами: вул. Володимирська, 54; бульв. Вернадського, 42; вул. Академіка Доброхотова, 13 та вул. Академіка Заболотного, 154. При аналізі доочищеної води, відібраної за цими адресами, класичним методом у весняний період (табл. 3.8) виявили від 1 до 5 КУО/100 см³ міцеліальних видів грибів *Aspergillus* і *Penicillium*, а також 1–24 КУО/100 см³ дріжджоподібних грибів *Candida*.

Встановлено, що кількісний показник дріжджоподібних видів грибів зростає при підвищенні температури. Зі збільшенням дріжджоподібних видів грибів кількісний і видовий показники міцеліальних форм мікроміцетів знижуються, що добре видно з даних, отриманих у весняний період. За даними, отриманими з використанням запропонованого методу, у зразку доочищеної

Таблиця 3.8. **Результати систематичного мікологічного аналізу доочищеної води у місті Києві у весняний період**

Зразки води з установок доочищення водопровідної води		<i>Aspergillus</i> spp	<i>Penicillium</i> spp	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida albicans</i>	Бактерії
Місця забору зразків води	Метод аналізу	КУО/100 см ³				
вул. Володимирська, 54	КМ	–	–	–	24	+
	ЗМ	–	–	–	1 · 10 ³	+
бульв. Вернадського, 42	КМ	–	–	–	–	++
	ЗМ	–	–	5,7 · 10 ³	–	+
вул. Академіка Доброхотова, 13	КМ	1	5	1	6	+
	ЗМ	–	–	–	–	++
вул. Академіка Заболотного, 154	КМ	1	–	–	10	+
	ЗМ	–	–	–	–	++

Таблиця 3.9. Результати систематичного мікологічного аналізу доочищеної води у місті Києві у літній період

Зразки води з установок доочищення водопровідної води	Місця забору зразків води	Метод аналізу	КУО/100 см ³							Бактерії		
			<i>Aspergillus</i> spp	<i>Fuzarium solani</i>	<i>Rhizopus arrhizus</i>	<i>Gilmanella hirticola</i>	<i>Mycelia sterilia</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Candida albicans</i>			
вул. Володимирська, 54	КМ ЗМ	КМ	-	-	-	-	3	1	-	-	-	-
		ЗМ	-	-	-	-	-	1 · 10 ²	-	-	-	-
бульв. Вернадського, 42	КМ ЗМ	КМ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		ЗМ	1 · 10 ²	-	1 · 10 ²	-	-	-	-	4 · 10 ²	-	-
вул. Академіка Доброхотова, 13	КМ ЗМ	КМ	1	-	-	-	-	-	-	-	8	-
		ЗМ	1 · 10 ²	-	-	-	-	-	-	-	3 · 10 ²	-
вул. Академіка Заболотного, 154	КМ ЗМ	КМ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		ЗМ	-	1 · 10 ²	-	1 · 10 ²	-	-	-	-	-	1 · 10 ²

Таблиця 3.10. Результати систематичного мікологічного аналізу доочищеної води у місті Києві в осінній період

Зразки води з установок доочищення водопровідної води	Місця забору зразків води	Метод аналізу	КЖО/100 см ³											
			<i>Aspergillus</i> spp	<i>Penicillium</i> spp	<i>Cladosporium</i> spp	<i>Alternata alternata</i>	<i>Rhizopus erythraea</i>	<i>Aspergillus atra</i>	<i>Candida albicans</i>	Бактерії				
вул. Володимирська, 54	КМ ЗМ	КМ ЗМ	1	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	
			$1 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$	$2 \cdot 10^2$	-	$4 \cdot 10^2$	-	-	$2 \cdot 10^2$	-	-		
бульв. Вернадського, 42	КМ ЗМ	КМ ЗМ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
			-	-	$1 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$	-	$1 \cdot 10^2$	-	-	-	-	-	
вул. Академіка Доброхотова, 13	КМ ЗМ	КМ ЗМ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
			-	-	-	-	-	-	-	$1 \cdot 10^2$	-	$1 \cdot 10^2$	-	-
вул. Академіка Заболотного, 154	КМ ЗМ	КМ ЗМ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
			-	-	-	-	-	-	-	-	-	$3 \cdot 10^2$	-	-

води з вул. Володимирська, 54 було виявлено велику кількість дріжджоподібних грибів *Candida*, що скоріш за все є результатом рекультивації та розмноження культури, оскільки їх було визначено також і класичним методом. А у зразку води, відібраному на бульв. Вернадського, 42, наявна *Candida* є результатом реактивації культури в поживному середовищі М-9.

У літній період року (табл. 3.9) класичним методом аналізу води з установок доочищення виявили міцеліальні гриби *Aspergillus*, *Myseliai Cladosporium* у кількості від 1 до 3 КУО/100 см³ та дріжджоподібні гриби *Candida* – 8 КУО/100 см³.

Використовуючи запропонований метод аналізу води, виявили мікроміцети *Aspergillus*, *Fuzarium*, *Rhizopus*, *Gilmaniella*, *Cladosporium*, а також *Candida* у кількості від $1 \cdot 10^2$ до $4 \cdot 10^2$ КУО/100 см³.

Результати аналізу доочищеної води в осінній період (табл. 3.10) за класичним методом показали присутність мікроміцетів *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* і *Candida* у кількості від 1 до 2 КУО/100 см³, а запропонованим методом виявили *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Phoma*, *Acremaniella* і *Candida* від $1 \cdot 10^2$ до $4 \cdot 10^2$ КУО/100 см³.

Більшість мікроорганізмів у воді – мезофіли, тобто температурні межі їх росту перебувають у межах 20–45 °С. Тому у весняний, літній та частково осінній період з підвищенням температури навколишнього середовища у зразках води виявляється найбільше видове різноманіття та найбільша кількість мікроорганізмів. Це може сприяти швидкому забрудненню фільтра-адсорбера мікроорганізмами, які починають розмножуватися, і в таких умовах УФ-лампа не може повноцінно знезаражувати воду, що приводить до проскоків клітин бактерій та мікроміцетів. Тому бажано вчасно регенерувати та замінювати очисні елементи установок доочищення води.

У табл. 3.11 наведено дані відбору зразків води з установок доочищення водопровідної води у зимовий

період року, які було проаналізовано за допомогою класичного і запропонованого методів. За класичним методом всі зразки виявилися чистими від мікологічного забруднення, однак у зразках, відібраних на вул. Володимирській, 54 і вул. Академіка Заболотного, 154, було виявлено бактерії. Із застосуванням запропонованого методу на вул. Володимирська, 54 було виявлено чималу кількість дріжджоподібних грибів роду *Candida* *Rhodotorula* у кількості $9 \cdot 10^2$ та $5 \cdot 10^2$ КУО/100 см³ відповідно, а також міцеліальні види грибів *Alternaria* і *Myselia* загальною кількістю $2 \cdot 10^2$ КУО/100 см³.

За адресою вул. Академіка Заболотного, 154 виявлено мікроміцети роду *Candida* у кількості $1 \cdot 10^2$ КУО/100 см³.

Позитивні результати аналізу зразків води з установок доочищення водопровідної води за адресою бульв. Вернадського, 42 пояснюються тим, що установка обслуговується систематично, з належною заміною її компонентів.

Таблиця 3.11. Результати систематичного мікологічного аналізу доочищеної води у місті Києві у зимовий період

Зразки води з установок доочищення водопровідної води		<i>Alternaria alternata</i>	<i>Myselia sterilia</i>	<i>Rhodotorula glutines</i>	<i>Candida albicans</i>	Бактерії
Місця забору зразків води	Метод аналізу	КУО/100 см ³				
вул. Володимирська, 54	КМ	—	—	—	—	+
	ЗМ	$1 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^2$	$9 \cdot 10^2$	+
бульв. Вернадського, 42	КМ	—	—	—	—	—
	ЗМ	—	—	—	—	—
вул. Академіка Доброхотова, 13	КМ	—	—	—	—	—
	ЗМ	—	—	—	—	—
вул. Академіка Заболотного, 154	КМ	—	—	—	—	+
	ЗМ	—	—	—	$1 \cdot 10^2$	—

3.3. Систематичний аналіз доочищеної води міста Києва

Відомо також, що установку на вул. Академіка Доброхотова, 13 нещодавно було відремонтовано.

Встановлено, що в усіх пробах води, відібраних з установок доочищення, присутні мікроскопічні гриби, середня кількість яких становила 3–8 КУО/100 см³ (визначено класичним методом) (табл. 3.12) та $1,2 \cdot 10^2$ – $1,6 \cdot 10^3$ КУО/100 см³ (визначено запропонованим методом) (табл. 3.13).

При цьому домінують дріжджоподібні види. Найвищу кількість грибів роду *Candida* і *Rhodotorula* виявили за адресами бульв. Вернадського, 42 та вул. Володимирська, 54. Серед міцеліальних форм мікроміцетів найчастіше траплялися гриби, що належать до видів *Aspergillus*, *Cladosporium* та *Alternaria*, які можуть викликати алергічні реакції, що зазвичай зумовлено вдиханням або потраплянням на слизові оболонки частинок мікроскопічних грибів.

Результати аналізів, виконаних за запропонованим методом, показали, що вода після доочисних установок

Таблиця 3.12. Результати систематичного мікологічного аналізу доочищеної води у місті Києві класичним методом

Місце відбору проби води	<i>Aspergillus</i> spp	<i>Penicillium</i> spp	<i>Mycelia sterilia</i>	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	<i>Candida albicans</i>	Загальна кількість
	КУО/100 см ³					
вул. Володимирська, 54	–	–	1	1	6	8
бульв. Вернадського, 42	–	–	–	–	–	0
вул. Академіка Доброхотова, 13	1	1	–	–	4	6
вул. Академіка Заболотного, 154	–	–	–	–	3	3

Таблиця 3.13. Результати систематичного мікологічного аналізу доочищеної води у місті Києві запропонованим методом

Місце відбору проби води	КУО/100 см ³											
	<i>Aspergillus spp</i>	<i>Penicillium spp</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Rhizopus arrhizus</i>	<i>Gilmanella spp.</i>	<i>Mycella sterilia</i>	<i>Acetaniella atra</i>	<i>Cladosporti mcl dasporioides</i>	<i>Alternaria Itemata</i>	<i>Candida globrata</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>
вул. Володимирська, 54	25	25	—	—	—	25	—	25	—	525	125	825
	25	—	—	25	—	—	25	25	1425	100	—	1650
бульв. Вернадського, 42	25	—	—	—	—	—	—	—	—	100	—	125
	—	—	—	—	25	—	—	—	—	100	—	175
вул. Академіка Доброхотова, 13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	25	—	—	—	—	—	—	—	—	—
вул. Академіка Заболотного, 154	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	25	—	—	—	—	—	—	—

3.3. Систематичний аналіз доочищеної води міста Києва

містить значну кількість мікроскопічних грибів, деякі з яких перебувають у життєздатному некультурабельному стані. Однак за умови систематичного очищення та заміни дезінфікуючих елементів установок можна отримати звільнену від мікробіоцидів питну воду.

Прикладом цього можуть бути результати аналізу доочищеної води, отримані у зимовий період з установок, що знаходяться за адресами бульв. Вернадського, 42 та вул. Академіка Доброхотова, 13, де напередодні взяття проб води було здійснено роботи з обслуговування цих установок.

A detailed black and white illustration of a water splash, showing a large, curved splash with many smaller droplets trailing behind it, set against a white background.

Розділ **4**

**РОЗРОБЛЕННЯ
ТА ВИПРОБУВАННЯ
КОНТАКТНО-
ФЛОКУЛЯЦІЙНОГО
ФІЛЬТРА
ДЛЯ ДООЧИЩЕННЯ
ПИТНОЇ ВОДИ**

-
- 4.1.** Вибір зернистого завантаження для видалення некультурабельних життєздатних мікроорганізмів з води
 - 4.2.** Вибір флокулянтів для видалення некультурабельних життєздатних мікроорганізмів з води
 - 4.3.** Використання флокулянту і зернистих загрузок для знезараження та видалення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів з води
 - 4.4.** Розроблення технології доочищення питної води від життєздатних некультурабельних мікроорганізмів
 - 4.5.** Розрахунок технологічного обладнання контактної-флокуляційного фільтра індивідуального користування



Роль води в поширенні інфекційних захворювань важко переоцінити. Забруднена вода, потрапляючи в організм людини, викликає 70–80 % всіх відомих захворювань і на 30 % прискорює його старіння. Відомо також, що багато захворювань, особливо у дітей та у людей з послабленим імунітетом, розвиваються через вживання неякісної води.

Причинами погіршення якості питної води є скидання у відкриті водойми неочищених стічних вод, потрапляння неочищених поверхневих стоків, незадовільний санітарно-технічний стан водопроводів, ризик повторного забруднення вже очищеної води у водопровідних трубах. Висока концентрація у воді фунгіцидів, гербіцидів, мінеральних добрив та інших хімічних речовин сприяє збільшенню ступеня вірулентності та стійкості патогенних мікроорганізмів. Крім того, методи, які застосовують для знезараження води у процесі її підготовки (хлорування, озонування, УФ-опромінення), сприяють переходу мікроорганізмів у ЖНС, у якому вони не виявляються загальноприйнятими лабораторними методами, але, потрапляючи в організм людини, відновлюють свою культурабельність та патогенність.

Тому є нагальна потреба доочищення питної води від культурабельних мікроорганізмів та мікроорганізмів, що перебувають у

ЖНС, саме в місцях її безпосереднього вживання, особливо в установах, де перебувають діти (дитячі садочки, школи, літні табори) та люди з послабленим імунітетом (лікарні, поліклініки, санаторії, будинки для літніх людей). Для цього необхідно розробити ефективні способи, які забезпечували б повне видалення мікроорганізмів з води.

Ефективним і доступним фізико-хімічним способом доочищення води є сорбційний метод. Найпоширеніший спосіб – доочищення питної води фільтруванням її крізь шар активованого вугілля, яке ефективно видаляє з води органічні та хлорорганічні токсичні сполуки, що надають воді присмак і запах [118]. Однак цей спосіб непридатний для видалення з води мікроорганізмів, тобто активоване вугілля не забезпечує знезараження, а тому для повного знезараження води рекомендується подальше використання фізико-хімічних способів [119].

У доступній нам літературі ми не знайшли робіт, присвячених очищенню води від мікроорганізмів, що перебувають у ЖНС. Саме тому ми поставили собі за мету розробити ефективний спосіб доочищення води від життєздатних некультурабельних мікроорганізмів, використовуючи їх природну здатність до адгезії на різних поверхнях, що забезпечило б повне видалення мікроорганізмів з води.

4.1. Вибір зернистого завантаження для видалення некультурабельних життєздатних мікроорганізмів з води

З метою створення простих та надійних способів очищення води від мікроорганізмів у ЖНС вирішено було використати природну здатність цих мікроорганізмів до іммобілізації на різних поверхнях. Як відомо, в практиці водопідготовки широко використовую-

ють різні фільтрувальні завантаження (найчастіше це піщані та/чи вугільні фільтри), а також деякі реагенти. Тому саме такі матеріали ми обрали для оцінки ефективності їх застосування для видалення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів з води.

Доочищували водопровідну дехлоровану воду.

У дослідженнях використовували санітарно-показові мікроорганізми *Escherichia coli*, а також дріжджоподібні гриби *Candida albicans*, які в значній кількості трапляються у воді та є одними з тих видів кандід, що найчастіше виділяються у хворих. Ці тест-організми заздалегідь було переведено у ЖНС шляхом використання відповідних концентрацій гіпохлориту натрію.

Контаміновану клітинами в ЖНС воду фільтрували крізь колонки діаметром 3,50 см і площею 9,61 см². Одна колонка була завантажена кварцовим піском з діаметром зерен 0,5–0,8 мм, друга – мезопористим кісточковим активованим вугіллям (КАВ) з розміром пор 2–50 нм та питомою площею поверхні 1036,4 м²/г. Лінійна швидкість фільтрування води становила 5,5 м/год.

Встановлено, що ступінь очищення води від мікроорганізмів при фільтруванні крізь кварцовий пісок залежить від вихідної концентрації культури. Виявлено, що кварцовий пісок у середньому затримує 1,0–1,5 порядку культури. Так, у разі вихідній концентрації *Escherichia coli* $9,6 \cdot 10^2$ КУО/см³ ступінь очищення води становить 1,5 порядку протягом 6 год (рис. 4.1, крива 1). Однак, якщо концентрація культури підвищується до $5 \cdot 10^5$ КУО/см³, у першу годину фільтрування на поверхні фільтра затримується лише приблизно 0,7 порядку культури (рис. 4.1, крива 2).

Починаючи з другої години фільтрування забрудненої культурою води, відбувається накопичення мікроорганізмів на поверхні фільтрувального завантаження, а потім їх відрив. При подальшому фільтруванні спостерігається чергування затримки культури та її накопичення на поверхні фільтрувального завантаження з

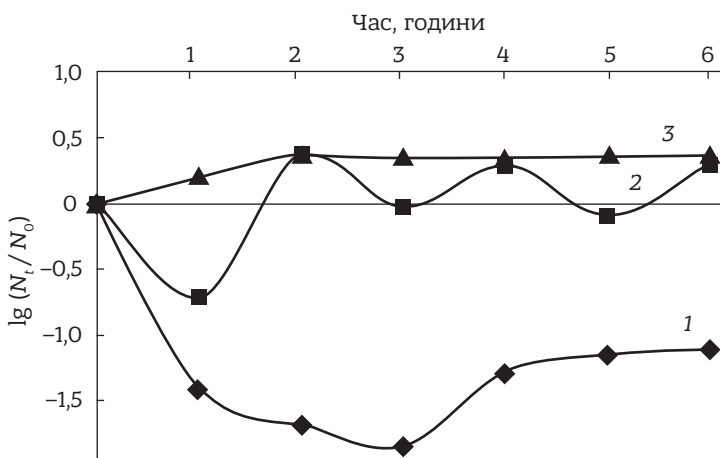


Рис. 4.1. Кінетика видалення клітин *Escherichia coli* у процесі фільтрування води крізь шар кварцового піску. Вихідні концентрації культури: 1 – $9,6 \cdot 10^2$; 2 – $5 \cdot 10^3$; 3 – $3,4 \cdot 10^4$ КУО/см³

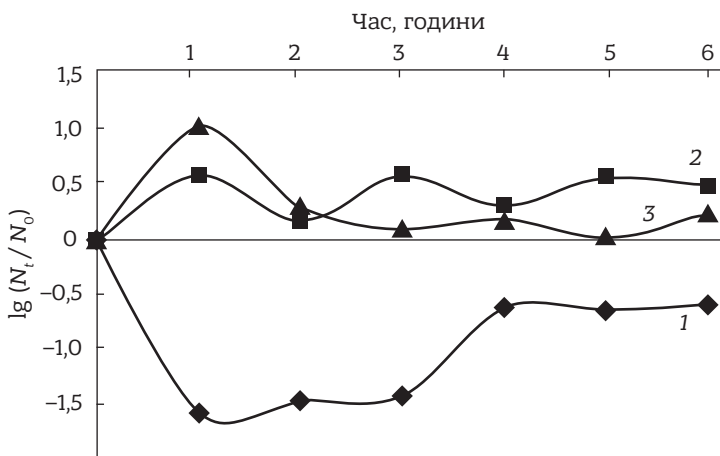


Рис. 4.2. Кінетика видалення клітин *Escherichia coli* у процесі фільтрування води крізь шар активованого вугілля. Вихідні концентрації культури: 1 – $6,7 \cdot 10^2$; 2 – $4 \cdot 10^3$; 3 – $3,3 \cdot 10^4$ КУО/см³

подальшим її відривом. У разі фільтрування води з титром культури *Escherichia coli* $3,4 \cdot 10^4$ КУО/см³ крізь шар кварцового піску спостерігається рівномірне накопичення культури на завантаженні (рис. 4.1, крива 3).

Показано, що активоване вугілля як завантаження для фільтрування води, забрудненої культурою *Escherichia coli*, порівняно з піском має подібний ступінь затримки культури. Так, при концентрації *Escherichia coli* у воді $6,7 \cdot 10^2$ КУО/см³ затримувалося в середньому 0,6–1,4 порядку культури протягом 6 год (рис. 4.2, крива 1), а при концентраціях $4 \cdot 10^3$ та $3,3 \cdot 10^4$ КУО/см³ відбувається як накопичення культури, так і її відрив (рис. 4.2, крива 2 і 3 відповідно).

Отже, для фільтрування води, забрудненої кишковою паличкою, як завантаження для фільтра можна використовувати і кварцовий пісок, і активоване вугілля, оскільки різниця в їх здатності затримувати культуру невелика. Ці зернисті завантаження було досліджено також на здатність затримувати клітини *Candida albicans*.

Показано, що незалежно від ступеня забруднення води культурою *Candida albicans* відбувається її затримка на 0,3–0,4 порядку. Такий ступінь видалення культури спостерігається при концентраціях $1 \cdot 10^2$; $2,3 \cdot 10^3$ і $1,7 \cdot 10^4$ КУО/см³ (рис. 4.3).

Результати фільтрування води, забрудненої дріжджоподібною культурою *Candida albicans*, крізь активоване вугілля показали, що зернисте завантаження саме по собі здатне досить добре затримувати клітини *Candida albicans*. Так, при початковій концентрації культури $1 \cdot 10^2$ КУО/см³ затримуються всі два порядки культури, а в разі підвищення титру до $3,6 \cdot 10^3$ КУО/см³ ступінь вилучення становить 1,8–2 порядки, при $1,5 \cdot 10^4$ КУО/см³ – 1,2 порядку (рис. 4.4).

Як видно з отриманих нами результатів, взаємодія дріжджоподібних грибів з поверхнею вугілля значно вища, ніж з поверхнею піску. Ймовірно це пов'язано з тим, що поверхня активованого вугілля має більшу шор-

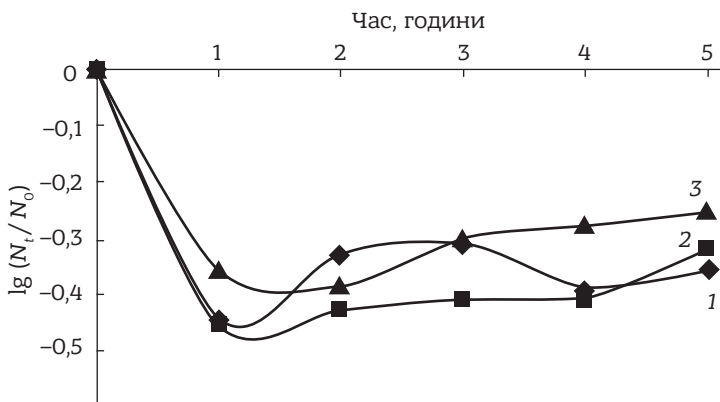


Рис. 4.3. Кінетика видалення клітин *Candida albicans* у процесі фільтрування води крізь шар кварцового піску. Вихідні концентрації культури: 1 – $1 \cdot 10^2$; 2 – $2,3 \cdot 10^3$; 3 – $1,7 \cdot 10^4$ КУО/см³

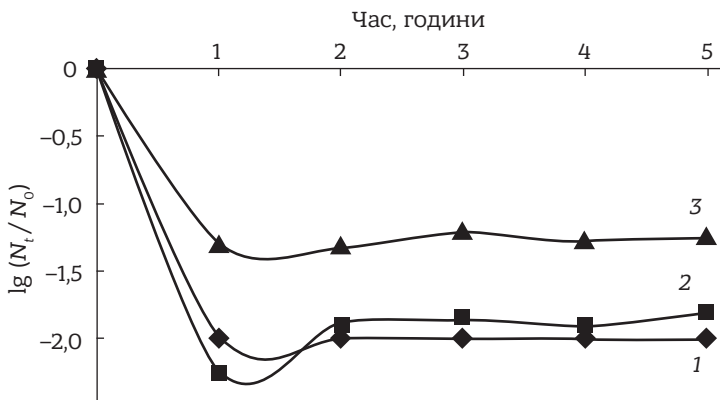


Рис. 4.4. Кінетика видалення клітин *Candida albicans* у процесі фільтрування води крізь шар активованого вугілля. Вихідні концентрації культури: 1 – $1 \cdot 10^2$; 2 – $3,6 \cdot 10^3$; 3 – $1,5 \cdot 10^4$ КУО/см³

сткість. Хоча мікро- і мезопори недоступні для грибів, сорбція можлива також за участю макропор, проникнення в які дещо збільшує площу їх адсорбції та утруднює змив дріжджоподібних грибів з поверхні активованого

вугілля. Очевидно, що зовнішня поверхня зерен однакової форми завжди більша для пористого матеріалу, ніж для непористого. Крім того, слід враховувати те, що поверхня піску є гідрофільною, тоді як гідрофобні ділянки, які переважають на поверхні клітин дріжджоподібних грибів та активованого вугілля, посилюють їх взаємодію порівняно зі взаємодією цих грибів з піском.

Отже, ефективність закріплення *Candida albicans* пов'язана з шорсткістю поверхні зернистого завантаження, а також з поверхневими характеристиками як самої клітини, так і зернистих загрузок. Тому для видалення з води життєздатних некультурабельних клітин *Candida albicans* концентрацією $1 \cdot 10^2$ КУО/см³, можна використовувати повільне фільтрування на активованому вугіллі.

У випадку культури *Escherichia coli* для повного видалення її з води одного фільтрування недостатньо. Слід також звернути увагу, що адсорбовані мікроорганізми залишаються життєздатними на поверхні фільтрувального завантаження, що з часом приводить до їх росту та розмноження і підвищує ризик повторного забруднення води. Щоб запобігти цьому необхідно застосувати допоміжні методи.

4.2. Вибір флокулянтів для видалення некультурабельних життєздатних мікроорганізмів з води

З огляду на високу стійкість життєздатних некультурабельних мікроорганізмів до класичних методів знезараження, а також їх здатність, як і мікроорганізмів у культурабельному стані, до адгезії на різних поверхнях, доцільно було вивчити їх видалення, використовуючи катіонні флокулянти, які набули поширення в практиці водопідготовки.

Традиційна технологія підготовки питної води включає процеси знебарвлення та освітлення, зазвичай з використанням коагуляції, фільтрування та знезаражування сполуками хлору. Відомо, що обробка води сполуками хлору зумовлює утворення в очищеній воді токсичних, канцерогенних сполук. Крім того, як було показано в багатьох дослідженнях, сполуки хлору не повністю виконують свою знезаражувальну функцію, оскільки сприяють переходу мікроорганізмів, що містяться у воді, у ЖНС.

Тому в останні роки увага дослідників у різних країнах світу була прикута до полімерних реагентів неокиснювальної дії, що стали певною альтернативою хлору в технології підготовки питної води з поверхневих водойм [120, 121]. До таких реагентів належать флокулянти, які широко використовують на станціях водопідготовки. Зазвичай процес коагуляції поєднують з флокуляцією. За допомогою флокулянтів можна посилити та прискорити дію коагулянтів. Завдяки великій молекулярній масі флокулянти надзвичайно ефективно утворюють місточки між мікропластівцями, що виникають під час коагуляції, утворюючи більші за розмірами макропластівці (флокули), які швидко випадають в осад.

Однак використання традиційних коагулянтів не завжди дозволяє отримувати питну воду високої якості за фізико-хімічними показниками. Наприклад, при використанні сульфату алюмінію у воді спостерігаються високі концентрації залишкового алюмінію [122]. Тому в підготовці питної води без коагулянтів все частіше застосовують флокулянти катіонного походження. Катіонна флокуляція являє собою комплекс хімічних та фізичних взаємодій між негативно зарядженими клітинами мікроорганізмів та позитивно зарядженими хімічними реагентами. При цьому залучаються різні сили, а саме, електростатичні, сили Ван-дер-Ваальса, сила тяжіння. Позитивно заряджені катіони нейтралізують

негативний заряд на поверхні мікроорганізмів. Коли заряд таких частинок нейтралізований, відбувається їх поступове зближення та зіткнення. При зіткненні частинки з'єднуються завдяки водневим зв'язкам чи ван-дер-ваальсовим силам, утворюючи при цьому флокули, здатні випадати в осад [123].

Катіонні флокулянти мають антимікробні властивості, зумовлені наявністю в їхній структурі амонійних груп. Відомо, що катіонні електроліти мають позитивний поверхневий заряд, унаслідок чого відбувається їх адсорбція на поверхні клітини мікроорганізму, що спричиняє блокування дихання, живлення та транспорту метаболітів через клітинну стінку. Порушуючи проникну здатність клітинної стінки мікроорганізмів, катіонні флокулянти надходять всередину клітини, де вступають в електростатичну та гідрофобну взаємодію з фосфоліпідами і білками цитоплазматичної мембрани. Ці процеси призводять до розриву мембрани клітини, блокування дихальної системи та вресі-решт до загибелі мікроорганізму.

З метою визначення ефективності катіонних флокулянтів щодо знезараження культури, яка перебуває у ЖНС, під час доочищення води було проведено серію експериментів з використанням таких реактивів: полідіалілдиметиламоній хлорид (ДБ-45); хлорид та фосфатполігексаметиленгуанідину (ПГМГ) (Валеус); суміш ДБ-45 і гуанідоснови (Дезавід). Ці флокулянти часто застосовують на станціях водопідготовки (ДБ-45), у виробництві бутильованих вод (Валеус) та для знезараження води у плавальних басейнах (Дезавід).

У досліджах ми використовували катіонні флокулянти (ДБ-45, Валеус та Дезавід) у концентрації 0,5 мг/дм³ та культуру *Escherichia coli* в концентрації $8,4 \cdot 10^5$ КУО/см³. Тривалість взаємодії зараженої води з флокулянтом становила 60 хв. З даних, наведених на рис. 4.5, видно, що Валеус та Дезавід мають близьку ефективність видалення *Escherichia coli*, яка становить 5,4 і 5,0 порядків

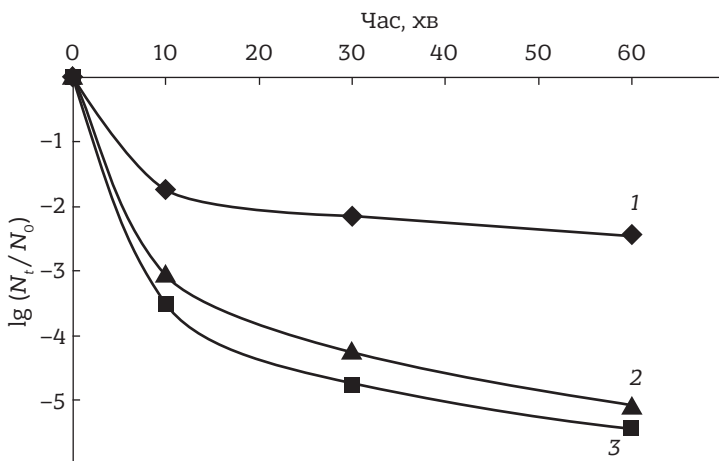


Рис. 4.5. Порівняльна дія флокулянтів при доочищенні води від *Escherichia coli*: 1 – ДБ-45; 2 – Дезавід; 3 – Валеус

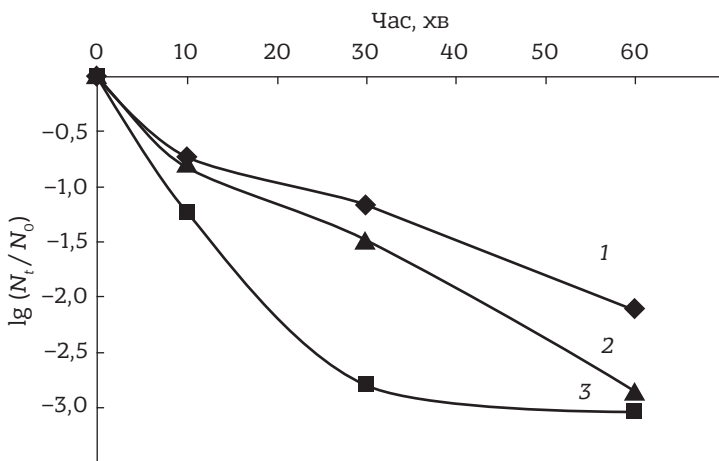


Рис. 4.6. Порівняльна дія флокулянтів при доочищенні води від *Candida albicans*: 1 – ДБ-45; 2 – Дезавід; 3 – Валеус

відповідно, а використання ДБ-45 забезпечує ступінь видалення лише 2,4 порядку.

Аналогічні результати отримано і при інактивації дріжджоподібних грибів *Candida albicans*. Використовуючи такі самі катіонні флокулянти в концентрації 0,5 мг/дм³ при концентрації культури *Candida albicans* $2,5 \cdot 10^5$ КУО/см³, ми одержали дані, наведені на рис. 4.6, і дійшли висновку, що Валеус та Дезавід мають близькі ступені видалення *Candida albicans*, що становлять 3,0 і 2,8 порядків відповідно, а ДБ-45 має менший ступінь видалення – 2,1 порядку.

На дію флокулянтів великий вплив має рН очищеної води. Так, Валеус належить до слабких основ, тому при рН 8,2 він менш дисоційований, ніж ДБ-45, який є сильною основою, добре дисоційованою в усьому діапазоні рН води.

Флокулянт Дезавід також має вузький діапазон дії – 7,2–7,8 рН. Тому з огляду на використання ДБ-45 на станціях водопідготовки питної води та широкий діапазон його дії (6,5–8,0 рН), для подальших експериментів ми вибрали саме цей катіонний флокулянт.

4.3. Використання флокулянту і зернистих загрузок для знезараження та видалення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів з води

З метою підвищення ступеня знезараження та видалення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів з води ми запропонували дослідити спільне застосування зернистих завантажень і катіонних флокулянтів. Такі зернисті завантаження, як кварцовий пісок або активоване вугілля, широко використовують на станціях водопідготовки, а також у локальних водочисних апаратах, оскільки вони є економічно доступ-

ними та здатні затримувати з води життєздатні некультурабельні мікроорганізми в певних кількостях. Катионні флокулянти, у свою чергу, мають виражений бактерицидний та фунгіцидний ефект. Ми використали метод контактної флокуляції, суть якого полягає в одночасній подачі на поверхню зернистого завантаження флокулянту і контамінованої води.

Контаміновану життєздатними некультурабельними клітинами культур *Escherichia coli* або *Candida albicans* воду фільтрували крізь колонку діаметром 3,50 см і площею 9,61 см², завантажену кварцовим піском з діаметром зерен 0,5–0,8 мм або мезопористим кісточковим активованим вугіллям (КАВ) з питомою площею поверхні 1036,4 м²/г. Швидкість фільтрування води становила 5,5 м/год, продуктивність фільтрування – 5,6 дм³/год. Одночасно на поверхню зернистого завантаження автоматично подавали флокулянт ДБ-45, концентрація якого становила 0,5 і 1,0 мг/дм³. Фільтрат відбирали щогодини протягом 6 год.

При фільтруванні бактеріальної культури *Escherichia coli* концентрації 1,1 · 10² КУО/см³ крізь кварцовий пісок з одночасною подачею флокулянту ДБ-45 з концентрацією 0,5 мг/дм³ досягнуто повне видалення культури з води, а при концентрації культури 7,7 · 10³ КУО/см³ (це майже 4 порядки) флокулянт у зазначеній концентрації видаляв лише 1,4–1,6 порядку культури (рис. 4.7).

За результатами попередніх досліджень водопровідної води, а також води зі свердловин у м. Київ на наявність мікроорганізмів було встановлено, що в середньому контамінованість води мікроорганізмами сягає двох порядків. У цьому разі концентрації флокулянту 0,5 мг/дм³ має бути достатньо для доочищення води.

Аналогічні результати обуло тримано при фільтруванні води крізь активоване вугілля. Так, якщо концентрація культури *Escherichia coli* становить 1,4 · 10² КУО/см³, при заданих параметрах фільтрування ступінь вида-

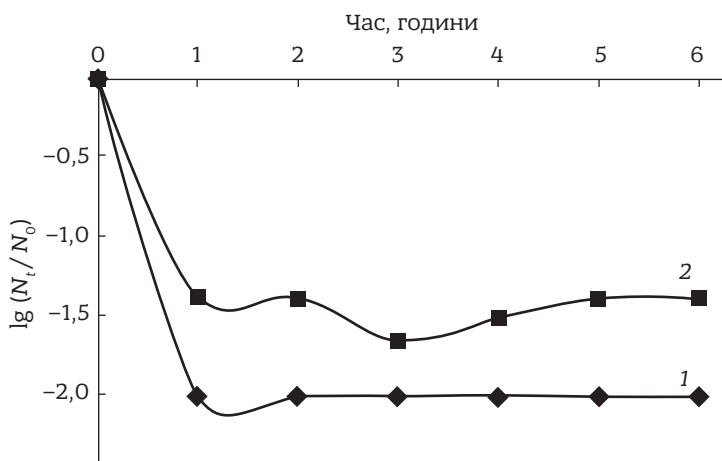


Рис. 4.7. Кінетика очищення води від клітин *Escherichia coli* із застосуванням контактної флокуляції (ДБ-45 0,5 мг/дм³), контактне завантаження – кварцовий пісок. Вихідні концентрації культури: 1 – $1,1 \cdot 10^2$; 2 – $7,7 \cdot 10^3$ КУО/см³

лення сягає 2 порядків, а при концентрації культури $4 \cdot 10^2$ КУО/см³ – 1,3–1,7 порядку (рис. 4.8).

Отриманні результати свідчать, що хоча і відбувається вилучення культури мікроорганізмів з води, обрана концентрація флокулянту є недостатньою, і з часом у всіх випадках фільтрування води зі зростанням концентрації культури спостерігається проскок.

Саме тому ми провели експерименти зі збільшенням концентрації флокулянту ДБ-45 до 1 мг/дм³. Встановлено, що підвищена концентрація флокулянту повністю видаляє культуру *Escherichia coli* у концентраціях $8,9 \cdot 10^2$ і $4,1 \cdot 10^3$ КУО/см³ з води при фільтруванні її кризьпщаний фільтр. А зі збільшенням концентрації культури до $3,9 \cdot 10^4$ і $5,4 \cdot 10^5$ КУО/см³ в середньому видаляється 2,1 і 2,4 порядків відповідно (рис. 4.9).

Аналогічні результати отримано при фільтруванні контамінованої води кризь активоване вугілля. Культу-

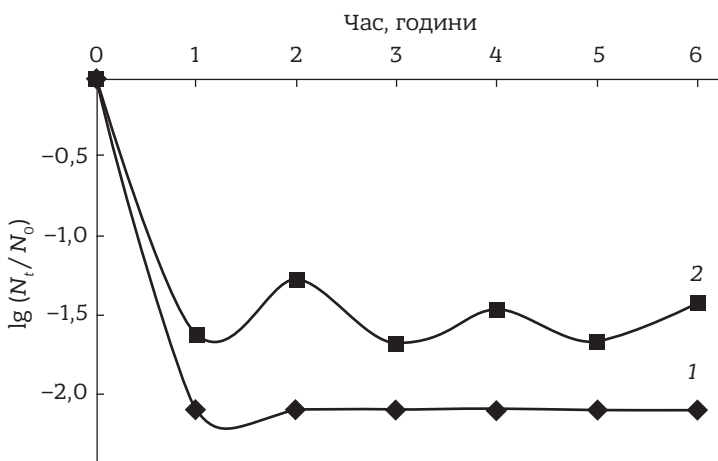


Рис. 4.8. Кінетика очищення води від клітин *Escherichia coli* із застосуванням контактної флокуляції (ДБ-45 0,5 мг/дм³), контактне завантаження – активоване вугілля. Вихідні концентрації культури: 1 – $1,4 \cdot 10^2$; 2 – $4 \cdot 10^5$ КУО/см³

ра *Escherichia coli* у концентрації $8,6 \cdot 10^2$ та $5 \cdot 10^5$ КУО/см³ видаляється повністю з води, а в разі збільшення її концентрації до $2,2 \cdot 10^4$ КУО/см³ – на 2,2–2,4 порядку, при концентрації культури $1 \cdot 10^5$ КУО/см³ у першу годину – на 3,6 порядку, а далі знезаражуюча дія зменшується (рис. 4.10).

Слід зазначити, що в першу годину ступінь затримки культури найвищий, при подальшому фільтруванні води з титром забруднення культурою 10^2 – 10^3 КУО/см³ він тримається на певному рівні, а при концентрації культури 10^4 – 10^5 КУО/см³ спостерігається проскок і зниження ступеня знезараження. Отримані результати можна пояснити зростанням титру культури на поверхні фільтрувального завантаження та нестачею кількості флокулянту, що надходить на поверхню фільтра.

Аналогічні експерименти проведено і з дріжджоподібними грибами *Candida albicans*. Застосовуючи кон-

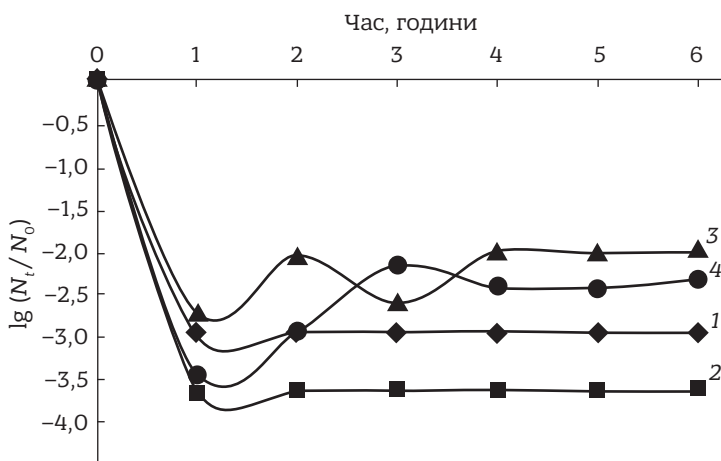


Рис. 4.9. Кінетика очищення води від клітин *Escherichia coli* із застосуванням контактної флокуляції (ДБ-45 1 мг/дм³), контактне завантаження – кварцовий пісок. Вихідні концентрації культури: 1 – $8,9 \cdot 10^2$; 2 – $4,1 \cdot 10^3$; 3 – $3,9 \cdot 10^4$; 4 – $5,4 \cdot 10^5$ КУО/см³

тактну флокуляцію, а саме, одночасно подаючи флокулянт ДБ-45 у концентрації 0,5 мг/дм³ та контаміновану воду життєздатними некультурабельними клітинами *Candida albicans* у концентрації $1 \cdot 10^2$ КУО/см³ на піщане завантаження, досягаємо повне видалення культури. При концентрації культури $1,2 \cdot 10^3$ КУО/см³ вдається видалити 1,8–2,4 порядку, а при $2,5 \cdot 10^4$ КУО/см³ – 2,2–2,3 порядку (рис. 4.11).

Встановлено ступінь знезараження води від *Candida albicans* фільтруванням крізь активоване вугілля при концентрації ДБ-45 0,5 мг/дм³. Так, коли титр культури дріжджоподібних клітин становив $7 \cdot 10^2$ та $1 \cdot 10^3$ КУО/см³ спостерігалось повне видалення життєздатних некультурабельних клітин з води. Підвищення концентрації культури до $2,5 \cdot 10^4$ КУО/см³ зменшувало ступінь її інактивації до 2,2–2,3 порядку (рис. 4.12).

Підвищення концентрації флокулянту ДБ-45 до 1 мг/дм³ при фільтруванні води, що містить життєздатні неку-

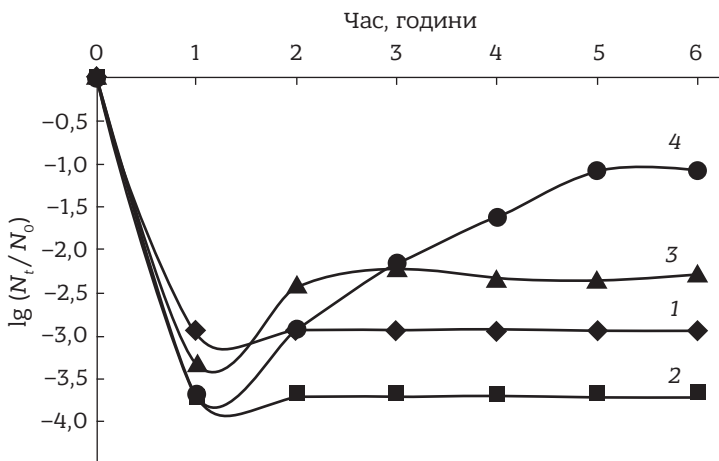


Рис. 4.10. Кінетика очищення води від клітин *Escherichia coli* із застосуванням контактної флокуляції (ДБ-45 1 мг/дм³), контактне завантаження — активоване вугілля. Вихідні концентрації культури: 1 — $8,6 \cdot 10^2$; 2 — $5 \cdot 10^3$; 3 — $2,2 \cdot 10^4$; 4 — $1 \cdot 10^5$ КУО/см³

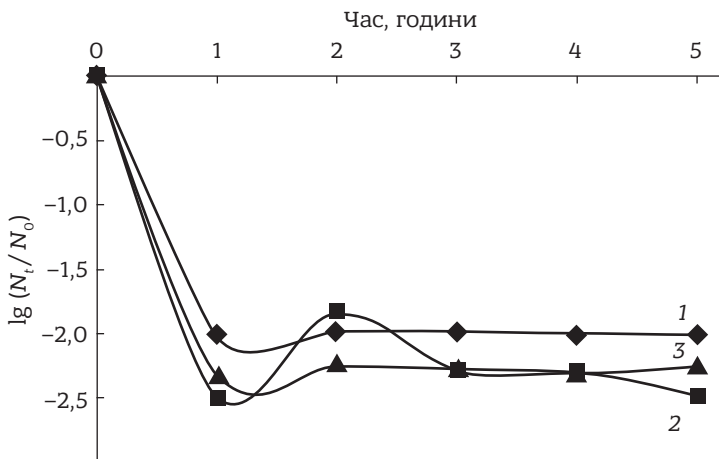


Рис. 4.11. Кінетика очищення води від клітин *Candida albicans* із застосуванням контактної флокуляції (ДБ-45 0,5 мг/дм³), контактне завантаження — кварцовий пісок. Вихідні концентрації культури: 1 — $1 \cdot 10^2$; 2 — $1,2 \cdot 10^3$; 3 — $2,5 \cdot 10^4$ КУО/см³

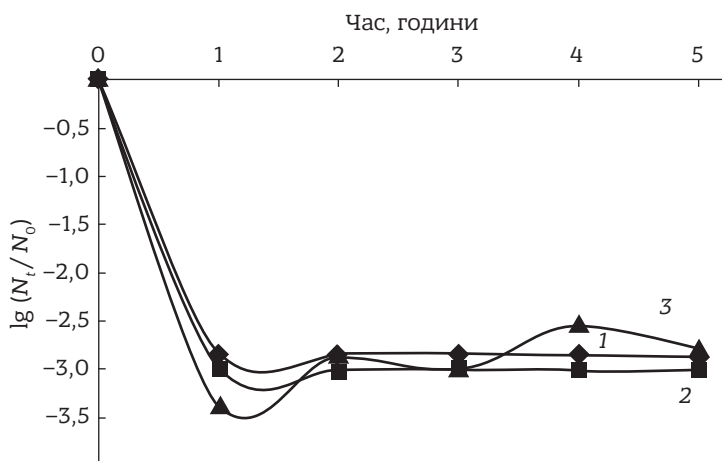


Рис. 4.12. Кінетика очищення води від клітин *Candida albicans* із застосуванням контактної флокуляції (ДБ-45 0,5 мг/дм³), контактне завантаження – активоване вугілля. Вихідні концентрації культури: 1 – $7 \cdot 10^2$; 2 – $1 \cdot 10^3$; 3 – $1,2 \cdot 10^4$ КУО/см³

льтурабельні клітини *Candida albicans*, крізь шар піску сприяє підвищенню ступеня знезараження води. Спостерігається повне видалення культури при її концентрації $1,5 \cdot 10^3$ КУО/см³, тоді як 2,4–3 порядку видалялося при початковій концентрації культури $2,6 \cdot 10^4$ КУО/см³, 1,9–2,5 порядку – при $1 \cdot 10^5$ КУО/см³ (рис. 4.13).

Використання активованого вугілля як фільтрувального матеріалу для вилучення з води культури *Candida albicans*, що перебуває у ЖНС, з одночасним поданням на завантаження флокулянту ДБ-45 у концентрації 1 мг/дм³ сприяє підвищенню ступеня очищення води. Встановлено, що повне видалення культури *Candida albicans* досягається при її титрі $1,5 \cdot 10^3$ КУО/см³, якщо титр культури становить $2 \cdot 10^4$ КУО/см³, видаляється 3,4–4,0 порядку, а якщо титр $1 \cdot 10^5$ КУО/см³ – 2,1–2,5 порядку (рис. 4.14).

За результатами проведених експериментів показано, що дріжджоподібні гриби порівняно з бактеріальною

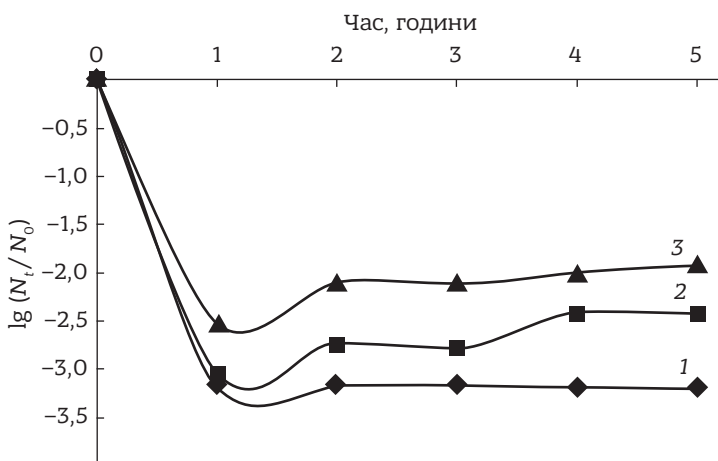


Рис. 4.13. Кінетика очищення води від клітин *Candida albicans* із застосуванням контактної флокуляції (ДБ-45 1 мг/дм³), контактне завантаження – кварцовий пісок. Вихідні концентрації культури: 1 – $1,5 \cdot 10^3$; 2 – $2,6 \cdot 10^4$; 3 – $1 \cdot 10^5$ КУО/см³

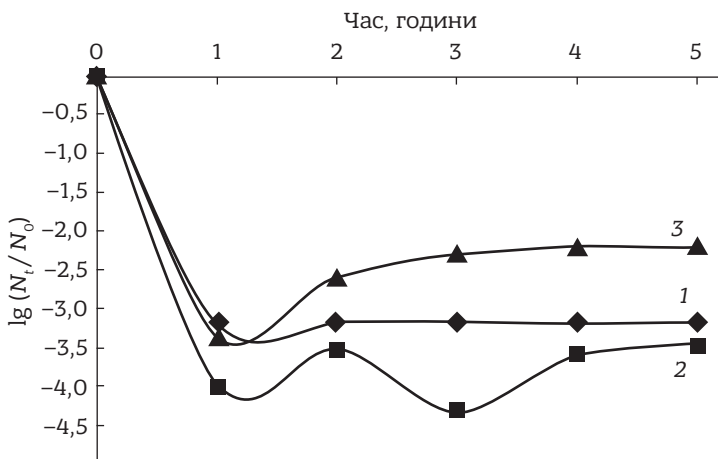


Рис. 4.14. Кінетика очищення води від клітин *Candida albicans* із застосуванням контактної флокуляції (ДБ-45 1 мг/дм³), контактне завантаження – активоване вугілля. Вихідні концентрації культури: 1 – $1,5 \cdot 10^3$; 2 – $2 \cdot 10^4$; 3 – $1 \cdot 10^5$ КУО/см³

культурою *Escherichia coli* краще затримуються на зернистих завантаженнях, особливо на активованому вугіллі. Очевидно, це пов'язано з розміром клітин дріжджоподібних грибів (до 5 мкм), тоді як розмір бактеріальних клітин становить 1–2 мкм. Це сприяє кращому утриманню дріжджоподібних грибів на поверхні зернистого завантаження і збільшує час взаємодії їх з флокулянтом. Крім того, гідрофобні ділянки, що переважають на поверхні клітин *Candida albicans*, та гідрофобна поверхня активованого вугілля посилюють їх взаємодію, що також збільшує час контакту клітин з флокулянтом.

Отже, зернисті завантаження та катіонні флокулянти самі по собі можуть протистояти мікробіологічним забрудненням у воді, однак їх поєднання підвищує ступінь знезараження та видалення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів з води. Перевага поєднання цих фізико-хімічних методів полягає в тому, що завдяки наявності амонійних груп у структурі флокулянту та внаслідок їх взаємодії з клітиною мікроорганізму відбувається її інактивація, тобто спостерігаються руйнівні процеси в клітині мікроорганізму, які зрештою призводять до загибелі мікроорганізму. А зернисті завантаження затримують як живі клітини, так і зруйновані, відфільтровуючи при цьому чисту питну воду. Після такого фільтрування із застосуванням флокулянту не відбувається повторного росту клітин мікроорганізмів, що підтверджується як класичним способом виявлення клітин, так і запропонованим нами способом із застосуванням рідкого поживного середовища М-9, який дозволяє виявляти клітини у ЖНС. Однак використання цих методів потребує певних технологічних рішень.

4.4. Розроблення технології доочищення питної води від життєздатних некультурабельних мікроорганізмів

На станціях водопідготовки перед фільтруванням води використовують об'ємну коагуляцію. Як коагулянти найчастіше застосовують солі алюмінію (сульфат, хлорид та гідроксохлориди) та заліза (сульфати та хлориди), а також алюмінат натрію. В Україні та в інших країнах найпоширенішим коагулянтом є сульфат алюмінію, оскільки він добре очищує воду від дрібних зважених частинок. Однак використання традиційних коагулянтів не завжди дозволяє отримувати питну воду високої якості за фізико-хімічними показниками. Наприклад, при використанні сульфату алюмінію у воді залишаються високі концентрації залишкового алюмінію. Серед інших недоліків коагуляції можна назвати такі: великі концентрації коагулянту; необхідність додавання флокулянту, який забезпечує та прискорює утворення пластівців та їх осадження; не повна інактивація мікроорганізмів; вторинний ріст та розмноження мікроорганізмів на завантаженні фільтра; потреба у великій кількості промивних вод; складність використання та зберігання коагулянтів. Крім того, у процесі коагуляції поверхневі шари завантаження швидко забиваються скоагульованими пластівцями коагулянту і завислих домішок з очищеної води, що потребує частого промивання завантаження фільтра досить великими об'ємами води.

Використання контактної флокуляції може забезпечити глибоке очищення води від дрібнодисперсних домішок з осадженням їх практично рівномірно на поверхні всього об'єму завантаження фільтра. До того ж флокулянти мають ще низку переваг: вони досить дієві в малих концентраціях; їх можна використовувати ок-

ремо від коагулянту (катіонні флокулянти); мають антимікробну дію; перешкоджають вторинному росту мікроорганізмів на завантаженні чи в осаді; простіші у використанні та зберіганні.

Тому для вирішення поставленого завдання було запропоновано спосіб доочищення питної води від життєздатних некультурабельних мікроорганізмів, у якому фільтрування води відбувається крізь завантаження з одночасною подачею води і флокулянту на поверхню завантаження. При цьому використовували катіонний флокулянт полідіалілдиметиламоній хлорид (ДБ-45), а як завантаження – кварцовий пісок або активоване вугілля. На запропонований спосіб отримано патент України на корисну модель.

За наявності флокулянту мікроорганізми, які є у воді, зчіплюються один з одним завдяки адсорбції макромолекул флокулянту на поверхні мікроорганізмів. Утворені пластівці затримуються при фільтруванні на завантаженні. Антимікробний вплив флокулянту зумовлений амонійними групами в його структурі.

Такі властивості катіонних електролітів забезпечують повну інактивацію у воді кишкових бактерій *Escherichia coli* та дріжджоподібних грибів *Candida albicans*, що перебувають у ЖНС.

В очищеній воді, яка подається споживачу після водоочисних станцій, не повинно бути бактерій групи кишкової палички, а також дріжджоподібних грибів. Однак дріжджоподібні гриби часто виділяються при мікологічному аналізі води як з використанням класичного мікологічного методу, так і при застосуванні методу виявлення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів. Відомо, що наявність у воді *Escherichia coli* у ЖНС сприяє виникненню кишкових розладів у людей, що її споживають [97]. Тому ми за допомогою контактної флокуляційної установки оцінювали ступінь видалення з води культур *Escherichia coli* та *Candida albicans* у ЖНС за різних концентрацій.

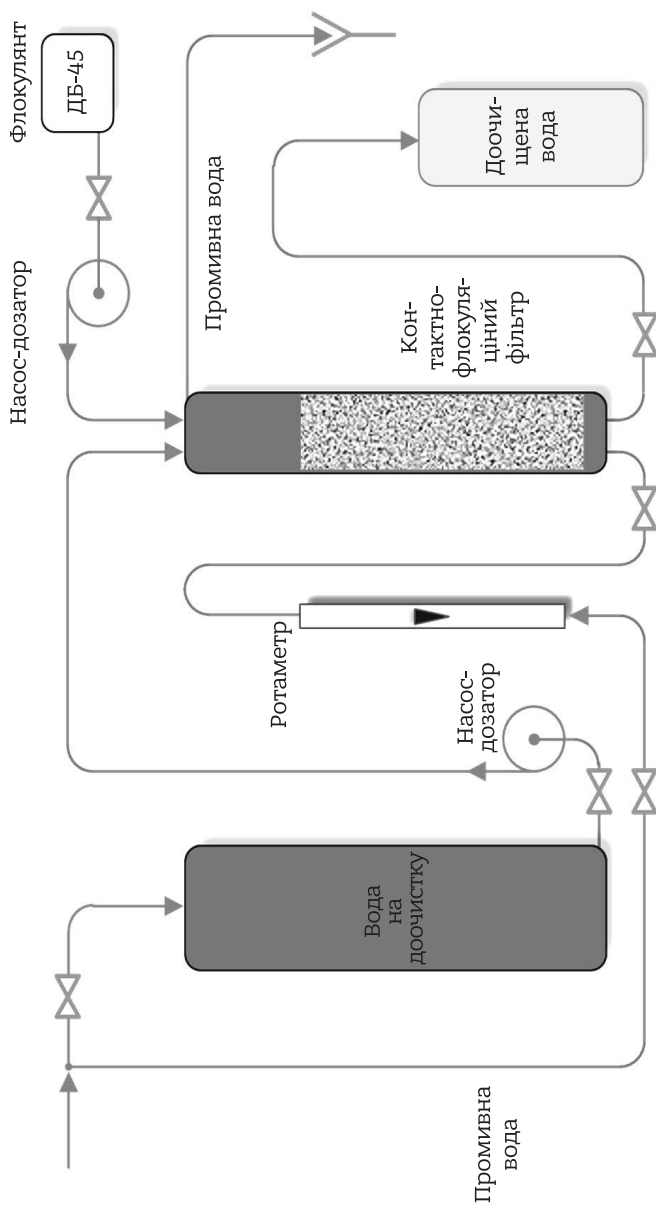


Рис. 4.15. Принципова схема контактно-флокуляційної установки для доочищення води

4.4. Розроблення технології доочищення питної води

Досліди з відпрацювання технології контактної флокуляційної доочистки питної води від мікробних забруднень (бактерій, мікроскопічних грибів), що перебувають у ЖНС, проводили на лабораторній установці, схему якої наведено на рис. 4.15.

Контаміновану життєздатними некультурабельними клітинами *Escherichia coli* та *Candida albicans* воду фільтрували крізь контактну флокуляційний фільтр, завантажений мезопористим кісточковим активованим ву-

Таблиця 4.1. Ступінь видалення мікроорганізмів з води

Фільтрування крізь кварцовий пісок			Фільтрування крізь КАВ		
Вихідна концентрація, КУО/см ³	Концентрація у фільтраті, КУО/см ³		Вихідна концентрація, КУО/см ³	Концентрація у фільтраті, КУО/см ³	
	1 год	5 год		1 год	5 год
<i>Escherichia coli</i>					
Концентрація ДБ-45 – 0,5 мг/дм ³					
1,1 · 10 ²	0	0	1,4 · 10 ²	0	0
7,7 · 10 ³	311	300	4 · 10 ³	88	140
Концентрація ДБ-45 – 1 мг/дм ³					
4,1 · 10 ³	0	0	5 · 10 ³	0	0
3,9 · 10 ⁴	70	378	2,2 · 10 ⁴	10	100
5,4 · 10 ⁵	200	2000	1 · 10 ⁵	20	8400
<i>Candida albicans</i>					
Концентрація ДБ-45 – 0,5 мг/дм ³					
1 · 10 ²	0	0	7 · 10 ²	0	0
1,2 · 10 ³	4	4	1 · 10 ³	0	0
2,5 · 10 ⁴	133	143	1,2 · 10 ⁴	5	34
Концентрація ДБ-45 – 1 мг/дм ³					
1,5 · 10 ³	0	0	1,5 · 10 ³	0	0
2,6 · 10 ⁴	23	96	2 · 10 ⁴	2	7
1 · 10 ⁵	300	1200	1 · 10 ⁵	45	650

гіллям (КАВ), або кварцовим піском, з одночасною подачею флокулянту ДБ-45 концентрацією 0,5 або 1 мг/дм³ (табл. 4.1). Діаметр фільтрувальної колонки становив 3,5 см, площа – 9,61 см², висота завантаження фільтра – 60 см, швидкість подачі води – 5,5 м/год, продуктивність – 5,640 дм³/год доочищеної води. Фільтрат відбирали щогодини.

Завдяки виконаному доочищенню води на контакт-но-флокуляційній установці показано, що ступінь видалення мікроорганізмів з води залежить від їх вихідної концентрації, а також від концентрації флокулянту. Так, повне видалення культур *Escherichia coli* та *Candida albicans* за їх вихідної концентрації $1 \cdot 10^2$ КУО/см³ досягається при концентрації флокулянту ДБ-45 0,5 мг/дм³. Якщо концентрація культур збільшується до $1 \cdot 10^3$ КУО/см³, концентрація флокулянту, що забезпечує повне видалення культур, становить 1 мг/дм³.

Активоване вугілля краще проявило себе як фільтрувальний матеріал, ніж кварцовий пісок, що пов'язано з тим, що активоване вугілля завдяки пористості має більшу поверхню.

Так, у процесі доочищення води від дріжджоподібних грибів активоване вугілля затримувало на один порядок більше клітин *Candida albicans* порівняно з кварцовим піском. Однак у разі доочищення води від клітин *Escherichia coli* різниця між цими фільтрувальними матеріалами була незначною, а тому рекомендувати для використання можна як кварцовий пісок, так і активоване вугілля.

Для дослідження тривалості фільтроциклу через контакт-но-флокуляційну колонку пропускали воду, контаміновану життєздатними некультурабельними клітинами *Escherichia coli* в концентрації $1,1 \cdot 10^2$ – $6 \cdot 10^2$ КУО/см³ або *Candida albicans* в концентрації $3 \cdot 10^2$ – $5 \cdot 10^2$ КУО/см³. Як зернисте завантаження використовували кварцовий пісок. Концентрація катіонного флокулянту ДБ-45 становила 0,5 мг/дм³ (табл. 4.2). Фільтрат відбирали що-

години. Фільтрування здійснювали до проскоку клітин культури.

Встановлено, що період фільтроциклу при очищенні води від бактеріальних клітин *Escherichia coli* при продуктивності фільтрування $5,640 \text{ дм}^3/\text{год}$ становить 20 год, тоді як повне вилучення з води дріжджоподібних грибів *Candida albicans* триває до 10 год. Різниця у величинах об'ємів розчинів до проскоку у фільтрат клітин *Escherichia coli* та *Candida albicans* зумовлена тим, що сорбційно-адгезійна взаємодія більших за розміром клітин *Candida albicans* з фільтрувальним завантаженням швидше приводить до максимально можливого заповнення порозного простору завантаження і його доступної зовнішньої поверхні. Внаслідок цього істотно зростає опір фільтрування, що потребує зворотного промивання фільтра.

Отриману доочищену воду піддавали рекультивації в поживному середовищі М-9. У процесі культивування на агаризованому диференційно-діагностичному середовищі Ендо чи Сабуро клітин культур *Escherichia coli* та *Candida albicans* не було виявлено. Це свідчить про повне видалення з питної води всіх мікроорганізмів, у тому числі й тих, що можливо перебували у життєздатному некультурабельному стані.

Після завершення кожного експерименту застосовували зворотне промивання контактної-флокуляційної фільтра. Інтенсивність промивання — $12 \text{ м}^3/(\text{с} \cdot \text{м}^2)$. За-

Таблиця 4.2. Визначення подовженості фільтроциклу контактної-флокуляційної колонки

Час фільтрування, год	Культура	Вихідна концентрація, КУО/см ³	Об'єм пропущеної води, дм ³	Концентрація у фільтраті, КУО/см ³
20	<i>Escherichia coli</i>	$1,1 \cdot 10^2 - 6 \cdot 10^2$	112	0
10	<i>Candida albicans</i>	$3 \cdot 10^2 - 5 \cdot 10^2$	56	0

гальні витрати промивної води за тривалості промивки 5 хв становили 3,5 дм³.

Дослідження водних зразків на токсичність методами біотестування було здійснено в Інституті колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України.

Біотестування проводили на тест-організмах гідробіонтах – церіодафніях (*Ceriodaphnia affinis* – представник безхребетних нижчих ракоподібних), які широко використовують у біотестуванні води. Серед гідробіонтів церіодафнії є найчутливішими до токсинів тест-організмами. Критерієм гострої токсичності слугує смертність тест-організмів у досліджуваному водному середовищі протягом 48–96 год [124].

Згідно з ДСТУ 41-74:2003, виживаність церіодафнії <50 % свідчить про гостру токсичність проби води, виживаність в межах 50–90 % – про хронічну токсичність проби [125].

Тестували такі зразки води (табл. 4.3):

- зразок № 1 – вихідна водопровідна вода;
- зразок № 2 – вода, доочищена на контактнo-флокуляційній установці;
- зразок № 3 – промивна вода.

За результатами досліджень у зразках № 1 і № 3 встановлено хронічну токсичність (виживаність церіодафній становила 80 і 70 % відповідно). У зразку № 2 не встановлено токсичності (виживаність церіодафнії – 100 %). Тобто, біотестування на церіодафніях показало, що воду, доочищену на контактнo-флокуляційній установці, можна використовувати як питну, а вихідну водопровідну воду та промивну воду – для побутових потреб.

Також в Інституті колоїдної хімії та хімії води ім. А.В. Думанського НАН України було проведено аналіз зразків води за органолептичними, токсикологічними та хімічними показниками якості питної води.

Тестували такі зразки води (табл. 4.4):

- зразок № 1 – вихідна водопровідна вода;
- зразок № 2 – вода, доочищена на контактнo-флокуляційній установці.

Результати досліджень показали, що всі показники за двома аналізованими зразками води не перевищують нормативних величин і відповідають нормам, зазначеним у ДСТУ 7527:2014 «Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості».

Окремо протестовано води після промивки контактної-флокуляційного фільтра на наявність забруднюючих речовин (табл. 4.5).

Промивні води повністю відповідають вимогам приймання стічних вод підприємств у систему каналізації м. Київ (затверджено Київською міською державною адміністрацією від 12.10.2011 № 1879) і не становлять небезпеки. Концентрація флокулянту ДБ-45 у промивних водах є нижчою за гранично допустимі концентрації у воді, що становлять 0,1 мг/дм³. Це дозволяє без попередньої обробки відводити промивну воду в каналізаційну мережу міста.

Отже, перевага використання контактної флокуляції полягає в тому, що вона забезпечує не лише повне ви-

Таблиця 4.3. Дослідження токсичності водних зразків методами біотестування з використанням церіодафнії (відповідно до ДСТУ 41-74: 2003)

Зразки	Кількість особин, що вижили / загинули у зразку			Виживаність, %
	Час експозиції, год			
	24	72	96	
Контроль	10/0	10/0	10/0	100
№ 1 (вихідна водопровідна вода)	8/2	8/2	8/2	80*
№ 2 (вода, доочищена на контактної-флокуляційній установці)	10/0	10/0	10/0	100
№ 3 (промивна вода)	10/0	9/1	7/3	70*

* $p < 0,05$ достовірність відмінностей груп порівняння з контролем

Таблиця 4.4. Аналіз зразків води за органолептичними, токсикологічними та хімічними показниками якості питної води, відповідно до ДСТУ 7527:2014

Назва показника	Одиниці вимірювання	Норматив, не більше ніж		Зразки води	
		Вода системоцентралізованого питного водопостачання	Вода нецентралізованого водопостачання (нефасована, фасована)	№ 1	№ 2
Кольоровість	Градуси	20	5	<2	<2
Каламутність	НОК	1,0	0,5	<0,3	<0,3
Запах за 20 °С	Бали	2	0	0	0
Запах за 60 °С	"	2	1	0	0
Хлор залишковий вільний	мг/дм ³	0,5	Відсутність	<0,03	<0,03
Хлор залишковий зв'язаний	мг/дм ³	1,2	"	<0,03	<0,03
Водневий показник	pH	6,5–8,5	6,5–8,5	7,01	7,26
Сухий залишок	мг/дм ³	1000	200–500	285	333
Жорсткість	ммоль/дм ³	7	1,5–7	3,7	3,7
Лужність	ммоль/дм ³	Не визначають	0,5–6,5	1,8	1,6
Сульфати	мг/дм ³	250	150	79,2	86,4
Хлориди	мг/дм ³	250	150	25,6	25,6
Залізо загальне (Fe)	мг/дм ³	0,2	Відсутність	0,16	<0,005
Калій (К)	мг/дм ³	Не визначають	2–20	3,26	3,40
Натрій (Na)	мг/дм ³	200	2–20	8,09	8,59
Цинк (Zn)	мг/дм ³	1	Відсутність	0,52	0,20
Кальцій (Ca)	мг/дм ³	Не визначають	25–75	56	56
Магній (Mg)	мг/дм ³	Не визначають	10–50	10,8	10,8
ДБ-45	мг/дм³	0,1	0,1	<0,1	<0,1

4.4. Розроблення технології доочищення питної води

лучення з води широкого спектру мікроорганізмів, зокрема й тих, що перебувають у ЖНС, а й повну їх інактивіацію завдяки наявності амонійних груп у структурі флокулянту, що спричиняє руйнівні процеси в клітині мікроорганізму аж до його загибелі. При цьому зернисті сорбенти затримують флокулянт, який містить інактивовані клітини мікроорганізмів.

Контактна флокуляція не лише сприяє ефективному доочищенню води, а й полегшує процес очищення зер-

Таблиця 4.5. Аналіз води після промивки фільтра, яка скидається до міської каналізації

N з/п	Показники якості стічних вод	Одиниця вимірювання	Допустима концентрація	Зразок промивної води
1	Сухий залишок	г/м ³	1000	313
2	Сульфати	г/м ³	380	81,6
3	Хлориди	г/м ³	240	25,6
4	Амоній (азот амонійний, аміак)	г/м ³	20,0	0,26
5	Нітрити	г/м ³	3,3	0,005
6	Алюміній	г/м ³	2,72	0,23
7	Залізо (загальне)	г/м ³	2,0	0,16
8	Кадмій	г/м ³	0,05	≤0,05
9	Марганець	г/м ³	0,68	0,037
10	Мідь	г/м ³	0,3	0,006
11	Нікель	г/м ³	0,6	0,0008
12	Свинець	г/м ³	0,1	0,0008
13	Срібло	г/м ³	0,05	≤0,05
14	Цинк	г/м ³	0,9	0,9
15	Жири рослинні та тваринні	г/м ³	50	0
16	pH	pH	6,5–9,0	6,6

нистого завантаження від адсорбованих на його поверхні флокулянту та мікроорганізмів унаслідок нейтралізації позитивного заряду флокулянту при його взаємодії з клітиною мікроорганізму. Таким чином зменшується сила зв'язування частинок флокулянту з адсорбованими на них мікроорганізмами з поверхнею самого зернистого завантаження.

Нами вперше запропоновано надійний і простий у реалізації спосіб видалення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів, що забезпечує одержання високоякісної безпечної для споживання питної води. Слід зазначити, що реалізація запропонованого способу здійснюється з використанням недорогих та доступних реагентів. На запропонований спосіб доочищення питної води від життєздатних некультурабельних мікроорганізмів отримано патент України на корисну модель [126].

4.5. Розрахунок технологічного обладнання контактної-флокуляційної фільтра індивідуального користування

Контактно-флокуляційна установка може бути використана для доочищення від життєздатних некультурабельних мікроорганізмів водопровідної води, що надходить для водопостачання невеликих підприємств (лікарень, ідалень, поліклінік тощо).

Технологічну схему контактної-флокуляційної установки індивідуального користування наведено на рис. 4.16.

Вихідна водопровідна вода подається на установку по трубопроводу (1) і через ротаметр (2) надходить на контактну-флокуляційну фільтр (3). Пройшовши завантаження фільтра зверху вниз, вода доочищується, надходить до збірника очищеної води (8) і використовується на підприємстві. Необхідна кількість флокулянту

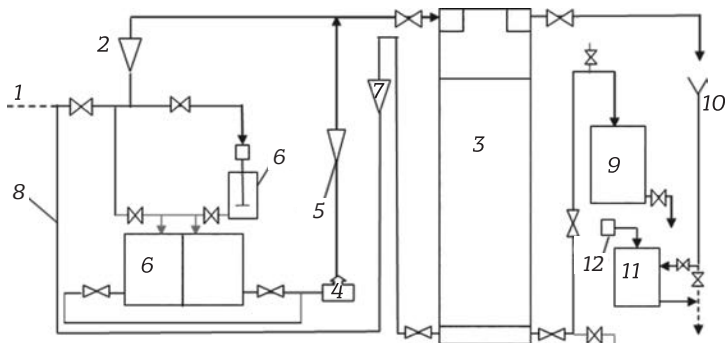


Рис. 4.16. Технологічна схема контактної-флокуляційної установки індивідуального користування: 1 – трубопровід; 2, 5, 7 – ротаметр; 3 – контактний-флокуляційний фільтр; 4 – насос-дозатор; 6 – ємність; 6' – розчинник флокулянту; 8 – збірник очищеної води; 9 – лінія відводу промивної води; 10 – збірник промивної води; 11 – збірник хлоровмісного розчину

розчиняється в розчиннику флокулянту (6'), куди подається водопровідна вода. Розчин флокулянту зливається в ємність (6), що складається з двох камер, в яких водопровідною водою доводиться до необхідної концентрації і насосом-дозатором (4) через ротаметр (5) подається у воду, що надходить на контактний-флокуляційний фільтр. Для очищення завантаження фільтра від забруднень у нього з водопровідної мережі через ротаметр (7) надходить вода. Відпрацьована забруднена вода по лінії відводу промивної води (9) відводиться в каналізаційну мережу або збирається в збірнику промивної води (10), куди після закінчення промивки фільтра подається хлоровмісний розчин з його збірника (11). Після годинного контакту з хлоровмісним розчином відпрацьована промивна вода, відповідно від вимог щодо захисту навколишнього середовища, скидається в каналізацію або відводиться на поля зрошення, або інші потреби.

Приймаємо продуктивність установки 100 дм^3 за одну зміну. Вважаємо, що фільтр працюватиме в добу лише одну зміну.

Фільтр. Тривалість роботи фільтра становить 7 год, одна година витрачається на його обслуговування (промивка, збирання промивної води та її знезараження, періодичне знезараження всієї системи установки). Годинна продуктивність фільтра становить $Q = 14,28 \text{ дм}^3/\text{год}$. Приймаємо стандартну швидкість фільтрування: $V_{\text{рн}} = 5,5 \text{ м/год}$. Площа фільтра обчислюється за формулою: $S = Q / V_{\text{рн}} = (14 \cdot 0,001) / 5,5 = 0,0025 \text{ м}^2 (25 \text{ см}^2)$. Діаметр фільтра дорівнює: $D = \sqrt{(4S) / \pi} = \sqrt{(4 \cdot 0,0025) / 3,14} = \sqrt{32} = 5,7 \text{ см}$.

Висота завантаження фільтра (кварцовий пісок з еквівалентним діаметром частинок 0,7–0,8 мм) – 700 мм. Величина відносного розширення шару завантаження становить 45 %, загальна висота шару при промиванні – 1015 мм. Робимо запас 100 мм висоти над лімітованим шаром води при промиванні завантаження. Загальна висота фільтра дорівнює 1115 мм. Матеріал, з якого виготовляють фільтр, має бути корозійно стійким і дозволеним держконтролем для використання в побутових пристроях. Діаметр робочих трубопроводів, що подають і відводять від фільтра воду, приймаємо $\frac{1}{2}$ дюйма.

Фільтр має бути забезпечений манометром для контролю підвищення тиску у фільтрі внаслідок забруднення його завантаження і вчасного виведення його на промивку. Інтенсивність промивання фільтра становить $12 \text{ дм}^3/(\text{с} \cdot \text{м}^2)$. Тривалість промивання – 5 хв. Витрати промивної води становлять: $q_{\text{пр}} = VS = 12 \text{ дм}^3/(\text{с} \cdot \text{м}^2) \times 25 \text{ см}^2 \cdot 0,0001 = 0,030 \text{ дм}^3/\text{с}$. Загальні витрати промивної води за тривалості промивки 5 хв (300 с) дорівнюватимуть: $Q_{\text{пр}} = 0,030 \cdot 300 = 9 \text{ дм}^3$.

Флокулювання. Використовуємо флокулянт полідіалілдиметиламоній хлорид (ДБ-45). Доза флокулянту $d = 0,5 \text{ мг/дм}^3$. Витрата флокулянту (w) за 1 год роботи дорівнюватиме:

$$w = Q \cdot d = 14,28 \cdot 0,5 = 7,14 \text{ мг/год.}$$

При витраті розчину флокулянту (подача насоса-дозатора (4)) $0,5 \text{ дм}^3/\text{год}$ концентрація флокулянту в бачку має бути $14,28 \text{ мг/дм}^3$.

Кількість розчину флокулянту, що подається з бака при роботі протягом 7 год, становить $0,5 \cdot 7 = 3,5 \text{ дм}^3$.

Добова витрата флокулянту дорівнюватиме:

$$w \cdot 7 = 7,14 \cdot 7 = 49,98 \text{ (}\approx 50 \text{ мг)}.$$

Приймаємо об'єм однієї камери бачка з розчином флокулянту (6) 5 л. Кількість флокулянту для 5 м^3 води:

$$w = QV = 14,28 \cdot 5 = 71,4 \text{ мг}.$$

Добова витрата розчину флокулянту становить $0,5 \times 7 = 3,5 \text{ дм}^3$. Для цього в $3,5 \text{ дм}^3$ води необхідно розчинити $(14,28 \text{ мг} \cdot 3,5) = 50 \text{ мг}$ порошку флокулянту. Для зручності експлуатації установки бачок з розчином флокулянту може бути виготовлений з 2 відділень (2 камер) місткістю по 5 дм^3 кожне. Щоб порошок флокулянту швидко розчинявся, можна використати розчинник флокулянту (6) місткістю до $1,5 \text{ дм}^3$, оснащений механічною мішалкою.

Збірник очищеної води (8). Місткість збірника очищеної води вибирають на вимогу замовника, але вона має бути не меншою за 70 дм^3 . У збірнику встановлюють запобіжний клапан, щоб уникнути надходження очищеної води після його повного заповнення.

Збірник відпрацьованої промивної води (10). Збірник промивної води повинен вмещувати об'єм промивної води та розчину хлоровмісного окисника, тобто його місткість має бути приблизно 12 дм^3 . Збірник повинен бути закритим, оснащеним механічною мішалкою та виготовленим з хлорокорозійностійкого матеріалу. Подача активного хлоровмісного матеріалу до збірника здійснюється з метою знезараження мікроорганізмів. Як хлорокисник можна використовувати препарати, що містять активний хлор, — гіпохлорит калію або натрію, хлорне вапно, оксид хлору та ін. Концентрація окисника найчастіше становить $3\text{--}5 \text{ мг/дм}^3$. Час контакту з водою — 30 хв після перемішування. Відпрацьована вода зазвичай відводиться в місця скидання місцевих стічних вод. Дозу окисника підбирають дослідним шляхом.

Отже, наявність у питній воді мікроорганізмів, що перебувають у ЖНС, становить серйозну загрозу для здоров'я населення. Класичні методи підготовки питної води не забезпечують повного знезараження води від мікроорганізмів, а навпаки, сприяють їх переходу у ЖНС. При потраплянні в сприятливі умови ці мікроорганізми знову переходять в нормальний культурабельний стан і відновлюють свої патогенні властивості, викликаючи тим самим захворювання у споживачів такої води. Наведені у монографії дані свідчать про необхідність внесення змін до методики визначення якості води, що надходить до споживача. У світовій науковій літературі практично немає робіт, присвячених видаленню мікроорганізмів у ЖНС, а тому, виявлення та видалення мікроорганізмів, що перебувають у життєздатному некультурабельному стані є актуальним і перспективним напрямом сучасних досліджень.



СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Прокопов В.О. Етіологічні, епідеміологічні та клінічні аспекти еволюції гострих кишкових інфекцій. *Інфекційні хвороби*. 1998. № 1. С. 33–38.
2. Colwell R.R. Viable but non-culturable bacteria in the marine environment and the biotechnological tools to detect them. *Biotechnology*. 1996. V. 9. P. 220–233.
3. Liu Y., Gilchrist A., Zhang J., Li X.-F. Detection of viable but nonculturable *Escherichia coli* O157:H7 bacteria in drinking water and river water. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008. V. 74, No. 5. P. 1502–1507. <https://doi.org/10.1128/AEM.02125-07>
4. Aulet O., Silva C., Fraga S.G. et al. Detection of viable and viable nonculturable *Vibrio cholerae* O1 through cultures and immunofluorescence in the Tucumbn rivers, Argentina. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2007. V. 40, No. 4. P. 385–390. <https://doi.org/10.1590/s0037-86822007000400002>
5. Saux M.F.-L., Hervio-Heath D., Loaec S., Colwell R.R., Pommeruy M. Detection of cytotoxin-hemolysin mRNA in nonculturable populations of environmental and clinical *Vibrio vulnificus* strains in artificial seawater. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. V. 68, No. 11. P. 5641–5646. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.11.5641-5646.2002>
6. Юдин И.П. Современные подходы к оценке жизнеспособности бактерий с акцентом на феномен некультурабельности. *Аннали Мечниковського інституту*. 2007. № 3. С. 8–16.
7. Дмитриев В.В., Сузина Н.Е., Барінова Е.С., Дуда В.Й., Боронин А.М. Електронно-мікроскопі-

- ческое изучение ультраструктуры микробных клеток *in situ* в экстремальных биотопах. *Микробиология*. 2004. Т. 73, № 6. С. 832–840.
8. Cappelier J.M., Besnard V., Roche S., Garrec N., Zundel E., Velge P., Federighi M. Avirulence of viable but non-culturable *Listeria monocytogenes* cells demonstrated by *in vitro* and *in vivo* models. *Wat. Res.* 2005. V. 36, No. 4. P. 589–599. <https://doi.org/10.1051/vetres:2005018>
 9. Haque M.M., Khan S.I., Ahsan C.R. Influence of Some Physico-chemical Stresses on the Survival of *Vibrio cholerae* O1 at Non-Culturable State. *Bangladesh J. Microbiol.* 2007. V. 24, No. 2. P. 133–136. <https://doi.org/10.3329/bjm.v24i2.1258>
 10. Ramamurthy T., Ghosh A., Gururaja P. Pazhani G.P., Shinoda S. Current perspectives on viable but non-culturable (VBNC) pathogenic bacteria. *Frontiers in Public Health*. 2014. V. 2. P. 103. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2014.00103>
 11. Li L., Mendis N., Trigui H., Oliver J.D., Faucher S.P. The importance of the viable but non-culturable state in human bacterial pathogens. *Front. Microbiol.* 2014. V. 5. P. 258–278. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00258>
 12. Rahman I., Shahamat M., Choudhury M.A.R., Colwell R.R. Potential virulence of viable but nonculturable *Shigella dysenteriae* Type I. *Appl. Environ. Microbiol.* 1996. V. 62. P. 115–120. <https://doi.org/10.1128/aem.62.1.115-120.1996>
 13. Signoretto C., Lleo M.M., Canepari P. Modification of the peptidoglycan of *Escherichia coli* in the viable but nonculturable state. *Curr. Microbiol.* 2002. V. 44, No. 2. P. 125–131. <https://doi.org/10.1007/s00284-001-0062-0>
 14. Maalej S., Gdoura R., Dukan S., Hammami A., Bouain A. Maintenance of pathogenicity during entry into and resuscitation from viable but nonculturable state in *Aeromonas hydrophila* exposed to natural seawater at low temperature. *J. Appl. Microbiol.* 2004. V. 97, No. 3. P. 557–565. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02336.x>
 15. Vora G.J., Meador C.E., Bird M.M. et al. Microarray-based detection of genetic heterogeneity, antimicrobial resistance, and the viable but nonculturable state in human pathogenic *Vibrio* spp. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2005. V. 102, No. 52. P. 19109–19114. <https://doi.org/10.1073/pnas.0505033102>
 16. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Цитокины – возможные активаторы роста патогенных бактерий. *Вестник РАМН*. 2000. № 1. С. 3–18.
 17. Тафельштейн Э.А., Голубинский Е.П., Марамович А.С. и др. Экспериментальное получение некультивируемых форм *Vibrio cholerae* eltor и характеристика их биологических свойств.

- Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2004. № 1. С. 13–18.
18. Романова Ю.М., Чегаяева Е.В., Гинцбург А.Л. Некультивируемое состояние у патогенных бактерий: известные и возможные факторы индукции обратимого процесса. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 1998. № 3. С. 3–8.
 19. Dukan S., Levi Y., Touat D. Recovery of Culturability of an HOCl-Stressed Population of *Escherichia coli* after Incubation in Phosphate Buffer: Resuscitation or Regrowth? *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. V. 63, No. 11. P. 4204–4209. <https://doi.org/10.1128/aem.63.11.4204-4209.1997>
 20. Oliver J.D. The Viable but Nonculturable State in Bacteria. *J. Microbiol.* 2005. V. 43, No. 1. P. 93–100.
 21. Zhang S., Ye Ch., Lin H., Lv L., Yu X. UV Disinfection Induces a VBNC State in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Environ. Sci. Technol.* 2015. V. 49, No. 3. P. 1721–1728. <https://doi.org/10.1021/es505211e>
 22. Soina V.S., Mulyukin A.L., Demkina E.V., Vorobyova E.A., El-Registan G.I. The structure of resting bacterial populations in soil and subsoil permafrost. *Astrobiology*. 2004. V. 4, No. 3. P. 345–358. <https://doi.org/10.1089/ast.2004.4.345>
 23. Cunningham A.F., Spreadbury C.L. Mycobacterial stationary phase induced by low oxygen tension: cell wall thickening and localization of the 16-kilodalton alpha-crystallin homolog. *J. Bacteriol.* 1998. V. 180, No. 4. P. 801–808. <https://doi.org/10.1128/JB.180.4.801-808.1998>
 24. Дмитриев В.В., Сузина Н.Е., Русакова Т.Г., Гиличинский Д.А., Дуда В.И. Ультраструктурные особенности природных форм микроорганизмов изолированных из грунтов вечной мерзлоты Восточной Сибири методом низкотемпературного фракционирования. *Доклады Академии Наук*. 2001. Т. 378, № 6. P. 846–849.
 25. Suzina N.E., Mulyukin A.L., Dmitriev V.V. et al. The structural bases of log-term anabiosis in non-spore-forming bacteria. *Advances in Space Research*. 2005. V. 38, No. 6. P. 1209–1219. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2005.09.020>
 26. Черепнев Г.В., Велижинская Т.А., Яковлева Г.Ю., Дениварова Н.А., Куриненко Б.М. Оценка токсического действия 2,4,6-тринитротолуола на клетки *Escherichia coli* K12 методом проточной цитофлуориметрии. *Микробиология*. 2007. Т. 76. № 3. С. 377–382.
 27. Мулюкин А.Л., Вахрушев М.А., Стражевская Н.Б. и др. Влияние микробных аутоиндукторов анабиоза – алкилоксибензолов на структурную организацию ДНК *Pseudomonas aurantiaca* и индукцию фенотипической диссоциации. *Микробиология*. 2005. Т. 74, № 2. P. 157–165.

28. Эль-Регистан Г.И., Дуда В.И., Козлова А.Н., Митюшина Л.Л., Поплаухина О.Г. Изменение конструктивного метаболизма и ультраструктурной организации клеток *Vacillus cereus* под влиянием специфического ауторегуляторного фактора. *Микробиология*. 1979. Т. 48, № 2. Р. 240–244.
29. Мулюкин А.Л., Демкина Е.В., Козлова А.Н., Соина В.С., Эль-Регистан Г.И. Синтез аутоиндукторов анабиоза у неспорообразующих бактерий как механизм регуляции их активности в почве и подпочвенных осадочных породах. *Микробиология*. 2001. Т. 70, № 5. Р. 620–628.
30. Давыдова О.К., Дерябин Д.Г., Никиян А.Н., Эль-Регистан Г.И. О механизмах взаимодействия ДНК с химическими аналогами микробных аутоиндукторов анабиоза. *Микробиология*. 2005. Т. 74, № 5. Р. 616–625.
31. El-Registan G.I., Mulyukin A.L., Nikolaev Yu.A. et al. The role of low-molecular-weight autoregulatory factors (alkylhydroxybenzenes) in resistance to radiation and heat shock. *Advances in Space Research*. 2005. V. 36, No. 9. P. 1718–1728. <https://doi.org/10.1016/j.asr.2005.02.070>
32. Капрельянец А.С., Сулейменова М.И., Сорокина А.Д. и др. Структурно-функциональные изменения в бактериальных и модельных мембранах под действием фенольных липидов. *Биологические мембраны*. 1987. № 4. Р. 254–261.
33. Пахомов Ю.Д., Блинова Л.П., Стоянова Л.Г. Роль некультивируемых форм неспорообразующих бактерий в поддержании гомеостаза популяции. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2010. Т. 4, № 1. Р. 57–66.
34. Sinton L. Viable but non-culturable bacteria – menace or myth? *New Zealand Water & Wastes Association Journal*. 2006. V. 143. P. 31–38.
35. Воронкіна І.А. Деякі питання гострих кишкових інфекцій та мікроекології. *Аннали Мечниківського інституту*. 2006. № 3. С. 56–60.
36. Oliver J.D., Hite F., McDougald D., Andon N.L., Simpson L.M. Entry into, and resuscitation from, the viable but nonculturable state by *Vibrio vulnificus* in an estuarine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 1995. V. 61, No. 7. P. 2624–2630. <https://doi.org/10.1128/aem.61.7.2624-2630.1995>
37. Ayrapetyan M., Williams T.C., Oliver J.D. Interspecific quorum sensing mediates the resuscitation of viable but nonculturable vibrios. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. V. 80, No. 8. P. 2478–2483. <https://doi.org/10.1128/AEM.00080-14>
38. Rigsbee W., Simpson L.M., Oliver J.D. Detection of the viable but nonculturable state in *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Food Safety*. 1997. V. 16. P. 255–262.

39. Liu Y., Wang C., Tyrrell G., Hrudehy S.E., Li X.F. Induction of *Escherichia coli* O157:H7 into the viable but non-culturable state by chloraminated water and river water, and subsequent resuscitation. *Environmental Microbiology Reports*. 2009. V. 1, No. 2. P. 140–161. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2009.00024.x>
40. Соколенко А.В. Некультивируемые формы бактерий: распространение в природе, индукторы некультивируемого состояния и реверсии. *Современные наукоемкие технологии*. 2006. № 2. С. 11–15.
41. Гончарук В.В., Сапрыкина М.Н., Болгова Е.С. Новые подходы к оценке обеззараживания питьевой воды. *Доповіди НАН України*. 2016. № 5. С. 80–84. <https://doi.org/10.15407/dopovidi2016.05.080>
42. Sardessai Y.N. Viable but non-culturable bacteria: their impact on public health. *Current Science*. 2005. V. 89, No. 10. P. 1650.
43. Baffone W., Citterio B., Vittoria E. et al. Retention of virulence in viable but non-culturable halophilic *Vibrio* spp. *Int. J. Food Microbiol.* 2003. V. 89, No. 1. P. 31–39. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00102-8](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00102-8)
44. Colwell R.R., Brayton P., Herrington D., Tall B., Huq A., Levine M.M. Viable but non-culturable *Vibrio cholerae* O1 revert to a cultivable state in the human intestine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1996. V. 12, No. 1. P. 28–31. <https://doi.org/10.1007/BF00327795>
45. Cappelier J.M., Besnard V., Roche S.M., Velge P., Federighi M. Avirulent viable but non culturable cells of *Listeria monocytogenes* need the presence of an embryo to be recovered in egg yolk and regain virulence after recovery. *Vet. Res.* 2007. V. 38, No. 4. P. 573–583. <https://doi.org/10.1051/vetres:2007017>
46. Edwards C. Problems posed by natural environments for monitoring microorganisms. *Molecular Biotechnology*. 2000. V. 15, No. 3. P. 211–223. <https://doi.org/10.1385/MB:15:3:211>
47. Epstein S.S. Microbial awakenings. *Nature*. 2009. V. 457, No. 7233. P. 1083. <https://doi.org/10.1038/4571083a>
48. Colwell R.R. Bacterial Death Revisited. In: Colwell R.R., Grimes D.J. (eds) *Nonculturable Microorganisms in the Environment*. Springer, Boston, MA, 2000. https://doi.org/10.1007/978-1-4757-0271-2_18
49. Anderson M., Bollinger D., Hagler A. et al. Viable but nonculturable bacteria are present in mouse and human urine specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2004. V. 42, No. 2. P. 753–758. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.2.753-758.2004>
50. Mulvey M.A., Schilling J.D., Hultgren S.J. Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. *Infection and Immunity*. 2001. V. 69, No. 7. P. 4572–4579. <https://doi.org/10.1128/IAI.69.7.4572-4579.2001>

51. Pommeroy M., Butin M., Derrien A., Gourmelon M., Colwell R., Cormier M. Retention of enteropathogenicity by viable but nonculturable *Escherichia coli* exposed to seawater and sunlight. *Applied and Environmental Microbiology*. 1996. V. 62, No. 12. P. 4621–4626. <https://doi.org/10.1128/aem.62.12.4621-4626.1996>
52. Binsztejn N., Costagliola M.C., Pichel M. et al. Viable but Nonculturable *Vibrio cholerae* O1 in the Aquatic Environment of Argentina. *Appl. Environ. Microbiol.* 2004. V. 70, No. 12. P. 7481–7486. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.12.7481-7486.2004>
53. Alam M., Sultana M., Nair G.B. et al. Viable but nonculturable *Vibrio cholerae* O1 in biofilms in the aquatic environment and their role in cholera transmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2007. V. 104, No. 45. P. 1780–17806. <https://doi.org/10.1073/pnas.0705599104>
54. Reichert-Schwillinsky F., Pin C., Dzieciol M., Wagner M., Hein I. Stress- and Growth Rate-Related Differences between Plate Count and Real-Time PCR Data during Growth of *Listeria monocytogenes*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009. V. 75, No. 7. P. 2132–2138. <https://doi.org/10.1128/AEM.01796-08>
55. Diaper J.P., Edwards C. The use of fluorogenic esters to detect viable bacteria by flow cytometry. *J. Appl. Bacteriol.* 1994. V. 77, No. 2. P. 221–228. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1994.tb03067.x>
56. Awais R., Fukudomi H., Miyanaga K., Unno H., Tanji Y. A Recombinant Bacteriophage-Based Assay for the Discriminative Detection of Culturable and Viable but Nonculturable *Escherichia coli* O157:H7. *Biotechnol. Prog.* 2006. V. 22, No. 3. P. 853–859. <https://doi.org/10.1021/bp060020q>
57. Albertini M.C., Accorsi A., Teodori L. et al. Use of multiparameter analysis for *Vibrio alginolyticus* viable but nonculturable state determination. *Cytometry A*. 2006. V. 69, No. 4. P. 260–265. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.20263>
58. Villarino A., Bouvet O.M.M., Regnault B., Martin-Delautre S., Grimont P.A.D. Exploring the frontier between life and death in *Escherichia coli*: evaluation of different viability markers in live and heat- or UV-killed cells. *Research in Microbiology*. 2000. V. 151, No. 9. P. 755–768. [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(00\)01141-4](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(00)01141-4)
59. Rudi K., Moen B., Dromtorp S., Holck A. Use of ethidium monoazide and PCR in combination for quantification of viable and dead cells in complex samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. V. 71, No. 2. P. 1018–1024. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.2.1018-1024.2005>
60. Berney M., Hammes F., Bosshard F., Weilenman H.-U., Egli T. Assessment and Interpretation of Bacterial Viability by Using the LIVE/DEAD BacLight Kit in Combination with Flow Cytometry. *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. V. 73, No. 10. P. 3283–3290. <https://doi.org/10.1128/AEM.02750-06>

61. Alonso J.L., Mascellaro S., Moreno Y., Ferrus M.A., Hernandez J. Double-staining method for differentiation of morphological changes and membrane integrity of *Campylobacter coli* cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. V. 68, No. 10. P. 5151–5154. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.10.5151-5154.2002>
62. Rowan N.J. Defining established and emerging microbial risks in the aquatic environment: current knowledge, implications, and outlooks. *Int. J. Microbiol.* 2011. V. 2011. Article ID 462832. <https://doi.org/10.1155/2011/462832>
63. Kennedy S., Oswald N. *PCR troubleshooting and optimization. The essential guide.* Norfolk: Caister Academic Press, 2011. 235 p. <https://doi.org/10.21775/9781910190357>
64. Pitonzo B.J., Amy P.S., Rudin M. Resuscitation of microorganisms after gamma irradiation. *Radiat. Res.* 1999. V. 152, No. 1. P. 71–75. <https://doi.org/10.2307/3580051>
65. Wai S.N., Moriya T., Kondo K. et al. Resuscitation of *Vibrio cholerae* O1 strain TSI-4 from viable but nonculturable state by heart shock. *FEMS Microbiol. Lett.* 1996. V. 136, No. 2. P. 187–190. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1996.tb08047.x>
66. Masuda Y., Tajima K., Ezura Y. Resuscitation of *Tenacibaculum* sp., the causative bacterium of spotting disease of sea urchin *Strongylocentrotus intermedius* from viable but non-culturable state. *Fisheries Sci.* 2004. V. 70, No. 2. P. 277–284. <https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2003.00801.x>
67. Rockabrand D., Austin T., Kaiser R., Blum P. Bacterial growth state distinguished by single-cell protein profiling: does chlorination kill coliforms in municipal effluent? *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. V. 65, No. 9. P. 4181–4188. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.9.4181-4188.1999>
68. Шлеева М.О., Мукамолова Г.В., Телков М.В. и др. Образование «некультивируемых» клеток *Micobacterium tuberculosis* и их оживление. *Микробиология.* 2003. Т. 72, № 1. С. 76–83.
69. Mukamolova G.V., Yanopolskaya N.D., Kell D.B., Kaprelyants A.S. On resuscitation from the dormant state of *Micrococcus luteus*. *Antonie van Leeuwenhoek.* 1998. V. 73, No. 3. P. 237–243. <https://doi.org/10.1023/A:1000881918216>
70. Соколенко А.В. Морфология, ультраструктура, метаболизм некультивируемых форм холерных вибрионов. Автореф. ... канд. биол. наук. 2000. Ростов-на-Дону, 21 с.
71. Циммер К. *Микрокосм: E. coli и новая наука о жизни.* Пер. с англ. Москва: Альпинанон-фикшн, 2013. 394 с.
72. Гончарук В.В., Руденко А.В., Савлук О.С., Сапрыкина М.Н. Микромицеты в источниках водоснабжения и водопроводной воде. *Вога: гігієна та екологія.* 2013. Т. 1, № 2. С. 34–48.
73. Савлук О.С., Сапрыкина М.Н., Лупеко В.С., Руденко А.В., Лавренчук И.Н., Гончарук В.В. Мониторинг микромицетов в во-

- допроводної воді г. Києва. *Хімія і технологія води*. 2013. Т. 35, № 5. С. 416–425.
74. Бондар В.С., Мерзлікін С.І., Каргушина С.А. та ін. *Основи токсикології: методичні рекомендації до практичних занять для студентів НФаУ*, 2007. 44 с.
75. Гончарук В.В., Руденко А.В., Савлук О.С. и др. Проблема инфицирования воды возбудителями микозов и перспективы ее решения. *Химия и технология воды*. 2004. Т. 26, № 2. С. 120–144.
76. Gray M. Molds and mycotoxins: beyond allergies and asthma. *Altern. Ther. Health Med.* 2007. V. 13, No. 2. P. 146–152.
77. Etzel R.A. What the primary care pediatrician should know about syndromes associated with exposures to mycotoxins. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care*. 2006. V. 36, No. 8. P. 282–305. <https://doi.org/10.1016/j.cppeds.2006.05.003>
78. Yu J., Cleveland T.E., Nierman W.C., Bennett J.W. *Aspergillus flavus* genomics: gateway to human and animal health, food safety, and crop resistance to diseases. *Rev. Iberoam. Micol.* 2005. V. 22, No. 4. P. 194–202. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(05\)70043-7](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(05)70043-7)
79. Pitt J.I., Hocking A.D. Mycotoxins in Australia: biocontrol of aflatoxin in peanuts. *Mycopathologia*. 2006. V. 162, No. 3. P. 233–243. <https://doi.org/10.1007/s11046-006-0059-0>
80. Кандида: грибок внутрі нас. *Child Neurology Info.com*. <http://www.childneurologyinfo.com/health-text-diseases12.php>
81. Клітинні стінки грибів. *Вікіпедія*.
82. Бабьева И.П., Чернов И.Ю. *Биология грибов*. Москва, 2004. http://ashipunov.info/shipunov/school/books/babjeva2004_biologyja_drozghzej.pdf
83. Saprykina M.N., Samsoni-Todorov A.O., Todorov V.V. The decontamination effect of UV radiation with respect to micromycetes. *J. Water Chem. Technol.* 2009. V. 31, No. 5. P. 329–333. <https://doi.org/10.3103/S1063455X09050099>
84. United State Environmental Protection Agency. Microbiology. In: *2012 Edition of the Drinking Water Standards and Health Advisories*. Washington. DC., 2012. P. 11.
85. World Health Organization. Microbial aspects. In: *Guidelines for drinking-Water Quality*; 4th ed.; Geneva, 2011. P. 117–155.
86. ДСТУ 7525:2014. Вода питна. Вимоги та методи контролювання якості.
87. Moreno Y., Piqueres P., Alonso J.L., Jimenez A., Gonzalez A., Ferrus M.A. Survival and viability of *Helicobacter pylori* after inoculation into chlorinated drinking water. *Water Res.* 2007. V. 41, No. 15. P. 3490–3496. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.05.020>
88. Alleron L., Merlet N., Lacombe C., Frere J. Long-term survival of *Legionella pneumophila* in the viable but nonculturable state after monochloramine treatment. *Curr. Microbiol.* 2008. V. 57, No. 5. P. 497–502. <https://doi.org/10.1007/s00284-008-9275-9>

89. Dwidjosiswojo Z., Richard J., Moritz M.M., Dopp E., Flemming H.C., Wingender J. Influence of copper ions on the viability and cytotoxicity of *Pseudomonas aeruginosa* under conditions relevant to drinking water environments. *Int. J. Hyg. Environ. Health*. 2011. V. 214, No. 6. P. 485–492. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2011.06.004>
90. Besnard V., Federighi M., Declercq E., Jugiau F., Cappellet J.M. Environmental and physico-chemical factors induce VBNC state in *Listeria monocytogenes*. *Water Res.* 2002. V. 33, No. 4. P. 359–370. <https://doi.org/10.1051/vetres:2002022>
91. Alexandrino M., Grohmann E., Szewczyk U. Optimization of PCR-based methods for rapid detection of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Yersinia enterocolitica* serovar O:3 in wastewater samples. *Water Res.* 2004. V. 38, No. 5. P. 1340–1346. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2003.10.036>
92. Mizunoe Y., Wai S.N., Takade A., Yoshida S. Restoration of culturability of starvation-stressed and low-temperature-stressed *Escherichia coli* O157 cells by using H₂O₂ degrading compounds. *Arch. Microbiol.* 2000. V. 172, No. 1. P. 63–67. <https://doi.org/10.1007/s002030050741>
93. Мусиенко А.А. Применение гипохлорита натрия в обеззараживании воды. В кн.: *Вода. Екологія. Суспільство: матер. IV міжнар. наук.-техніч. конф. (20–21 березня 2014, Харків, Україна)*.
94. Oliver J.D., Dagher M., Linden K. Induction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* into the viable but nonculturable state following chlorination of wastewater. *J. Water Health*. 2005. V. 3, No. 3. P. 249–257. <https://doi.org/10.2166/wh.2005.040>
95. Ben S.M., Masahiro O., Hassen A. Detection of viable but non cultivable *Escherichia coli* after UV irradiation using a lytic Q beta phage. *Ann. Microbiol.* 2010. V. 60, No. 1. P. 121–127. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0017-4>
96. Zhang Y., Wu Q., Zhang J., Yang X. Effects of ozone on membrane permeability and ultrastructure in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Appl. Microbiol.* 2011. V. 111, No. 4. P. 1006–1015. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05113.x>
97. Мокиенко А.В. Вода: к взаимосвязи гигиены и экологии. *Вода: гігієна та екологія*. 2013. Т. 1, № 1. С. 20–34.
98. *Escherichia coli* (кишечная палочка). [GastroScan.ru](https://www.gastroscan.ru/handbook/118/3200). <https://www.gastroscan.ru/handbook/118/3200>
99. МВ 10.2.1-113-2005. Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води. Методичні вказівки. Наказ МОЗ України № 60 від 03.02.2005.
100. ДСТУ 7487:2013. Якість води. Метод визначення мікроміцетів у воді. Київ: Мінекономрозвитку України, 2014. 10 с.
101. ГОСТ 18190-72 «Вода питьевая. Методы определения остаточного активного хлора». Москва: Госстандарт СССР, 1972. 76 с.

102. Болгова Е.С., Сапрыкина М.Н., Гончарук В.В. Идентификация *Escherichia coli* в жизнеспособном некультурабельном состоянии под воздействием хлора. *Химия и технология воды*. 2015. Т. 37, № 6. С. 487–493.
103. Сапрыкина М.Н., Болгова Е.С., Гончарук В.В. Образование жизнеспособного некультурабельного состояния *Candida albicans*. *Химия и технология воды*. 2016. Т. 38, № 3. С. 324–332.
104. Патент України № 113472. Гончарук В.В., Сапрыкина М.Н., Болгова Е.С. Спосіб виявлення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів у воді. Опубл. 25.01.17, бюл. № 2. 4 с.
105. M9 Minimal Salts, 5×. https://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/248510.pdf
106. Патент України № 42939. Мирюта Г.Ю., Кунах В.А., Перерва Т.П., Можилевська Л.П., Дворник А.С. Спосіб вирощування культур промислових та лабораторних штамів *Escherichia coli* з використанням збагаченого живильного середовища на сольовій основі М9. Опубл. 27.07.09.
107. Morishige Y., Fujimori K., Amano F. Differential Resuscitative Effect of Pyruvate and its Analogues on VBNC (Viable But Non-Culturable) *Salmonella*. *Microbes Environ.* 2013. V. 28, No. 2. P. 180–186. <https://doi.org/10.1264/jsme2.ME12174>
108. Morishige Y., Tanda M., Fujimori K., Mino Y., Amano F. Induction of viable but non-culturable (VBNC) state in *Salmonella* cultured in M9 minimal medium containing high glucose. *Biol. Pharm. Bull.* 2014. V. 37, No. 10. P. 1617–1625. <https://doi.org/10.1248/bpb.b14-00322>
109. Ревин В.В., Атыкян Н.А., Костина Е.Г., Гоготов И.Н. Влияние кальция на изменение состава липидов клеток *Rhodococcus erythropolis* Ac-858 Т в процессе периодического и полунепрерывного культивирования на средах с различной концентрацией гексадекана. *Вестник ОГУ*. 2008. № 11. С. 143–149.
110. Сапрыкина М.Н., Болгова Е.С., Гончарук В.В. Оптимальные условия рекультивации *S. albicans*, пребывающей в некультурабельном состоянии. *Химия и технология воды*. 2017. Т. 39, № 5. С. 575–582.
111. Протоколы Украинского общества микробиологов. http://repo.knmu.edu.ua/bitstream/123456789/21534/1/ПРОТОКОЛЫ_УКР_общ_микробиолог2018.pdf
112. Мониторинг и контроль качества воды с помощью STATISTICA. <http://statistica.ru/local-portals/industry-analytics/example/549/>
113. Долина Л.Ф., Машихина П.Б., Козачина В.А. Реконструкція систем водопостачання та водовідведення. Дніпро, 2021. http://eadnurt.diit.edu.ua/bitstream/123456789/13518/1/Dolina_etc_reconstruction.pdf

114. Гончарук В.В., Руденко А.В., Савлук О.С., Коваль Е.З., Саприкіна М.М. Мікроміцети в питній воді та шляхи її знезараження. *Доповігі НАН України*. 2008. № 11. С. 187–191.
115. Саприкіна М.М. Водопровідна вода – нова загроза здоров'ю людей (за матеріалами наукового повідомлення на засіданні Президії НАН України 7 травня 2014 р.). *Вісник НАН України*. 2014. № 7. С. 70–75.
116. ГОСТ 18963-73. Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа. Москва: Госстандарт СССР, 1973. 87 с.
117. ГОСТ 10444.12-88. Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов. Москва: Госстандарт СССР, 1988. 96 с.
118. Кульский А., Строкач П.П. *Технология очистки природных вод*. Киев: Вища школа, 1981. 328 с.
119. Williams D. Why You Should Drink Distilled Water. *Healthy Directions*. <https://www.healthydirections.com/articles/general-health/distilled-water-hd>
120. Ефимов К.М., Гембицкий П.А., Снежко А.Г. Полигуанидины – класс малотоксичных дезсредств пролонгированного действия. *Дезинфекционное дело*. 2000. № 4. С. 12–16.
121. *Реагенты комплексного действия на основе гуанидиновых полимеров*. Под общ. ред. А.И. Барановой. Вып. 4. Киев, 2010. 92 с. https://www.alten-techno.com/at_IT/aquaton_metod.pdf
122. Запольський А.К. *Водопостачання, водовіведення та якість води: підручник*. Київ: Вища школа, 2005. 671 с.
123. Прокопов О.В., Чичковська Г.В. До питання механізму дії полігексаметиленгуанідину – реагенту із флокулюючими та біоцидними властивостями, який пропонується для використання у водопідготовці. *Гігієна населених місць*. 2006. Вип. 47. С. 76–79.
124. РД 118-02-90 Методическое руководство по биотестированию вод. Биотестирование с использованием ракообразных. С. 5–33.
125. ДСТУ 4173-2003. Якість води. Визначання гострої летальної токсичності на *Daphnia magna* та *Ceriodaphnia affinis* (Cladocera, Crustacea) (ISO 6341:1996, MOD).
126. Патент України № 135795. Гончарук В.В., Руденко А.В., Саприкіна М.Н., Болгова О.С., Муравйов В.Р. Спосіб доочищення питної води від життєздатних некультурабельних мікроорганізмів. Опубл. 25.07.2019, бюл. № 14.



SUMMARY

Bolhova Olena S., Saprykina Mariya M., Muraviov Volodymyr R., Goncharuk Vladislav V. Hidden Threat in Drinking Water: Viable but Non-Culturable Microorganisms.

The monograph considers new methods of purification of drinking water from microorganisms that are in a viable but non-culturable state, and technologies for their neutralization and deep extraction using new approaches to assessment and monitoring of drinking water quality.

The first part of the monograph characterizes the viable but non-culturable state of microorganisms, which occurs under the influence of natural and anthropogenic stressors. However, the existing classical microbiological methods of analysis do not allow to detect them in water, because these microorganisms are not cultivated on classical differential diagnostic agar media. As a result, there is a danger of underestimating the number of viable pathogenic microorganisms and obtaining false negative results when analyzing drinking water at water treatment plants, which in turn can lead to a threat to the health of the consumer of such water.

The second part presents the results of studies of the conditions of transition of microorganisms into a viable but non-culturable state when using sodium hypochlorite in different concentrations to disinfect water from the sanitary-indicative microorganism *Escherichia coli* and the yeast-like fungus

Candida albicans. Based on experimental data, a method for detecting microorganisms that are in a viable but non-culturable state in drinking water has been developed. The method is based on the reclamation of cells that are in a viable but non-culturable state in liquid nutrient salt medium M-9, followed by their cultivation on agar differential diagnostic nutrient medium.

The third part presents the results of research of drinking water of the city of Kyiv on the total number of microorganisms detected by classical microbiological methods of analysis and the proposed method of detection of microorganisms that are in a viable but non-culturable state.

The fourth part of the monograph proposes an effective method of purification of drinking water from microorganisms that are in a viable but non-culturable state by contact flocculation, using as a flocculant cationic flocculant polydiallyldimethylammonium chloride (DB-45), which has antimicrobial properties. It is revealed that the application of the proposed technological method provides effective removal and inactivation of these microorganisms in drinking water.

The monograph is intended for microbiologists, biotechnologists, doctors, veterinarians, employees of drinking water treatment plants, as well as students, graduate students and teachers of higher educational institutions of biological, medical and agricultural profile.



ЗМІСТ

	ВСТУП	3
Розділ 1	ВИЗНАЧЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНИХ НЕКУЛЬТУРАБЕЛЬНИХ МІКРООРГАНІЗМІВ	5
	1.1. Мікроорганізми в життєздатному некультурабельному стані та їх характеристика	7
	1.2. Вплив на людину мікроорганізмів, які перебувають у життєздатному некультурабельному стані	14
	1.3. Методи виявлення мікроорганізмів, які перебувають у життєздатному некультурабельному стані	16
	1.4. Характеристика мікроорганізмів <i>Escherichia coli</i> і <i>Candida albicans</i> та їх особливості . . .	20
	1.5. Перехід мікроорганізмів у життєздатний некультурабельний стан у процесі знезараження питної води	25
Розділ 2	ВИЯВЛЕННЯ У ВОДІ МІКРООРГАНІЗМІВ У ЖИТТЄЗДАТНОМУ НЕКУЛЬТУРАБЕЛЬНОМУ СТАНІ	29
	2.1. Дослідження впливу гіпохлориту натрію на санітарно-показовий мікроорганізм <i>Escherichia coli</i>	33
	2.2. Дослідження впливу гіпохлориту натрію на дріжджоподібний гриб <i>Candida albicans</i>	35
	2.3. Вибір методу рекультивації життєздатних некультурабельних мікроорганізмів	36
	2.3.1. Вибір поживних середовищ для рекультивації життєздатних некультурабельних мікроорганізмів	37

	2.3.2. Рекультивация клітин <i>Escherichia coli</i> , що перебувають у життєздатному некультурабельному стані	39
	2.3.3. Рекультивация клітин <i>Candida albicans</i> , що перебувають у життєздатному некультурабельному стані	41
	2.4. Вплив іонів Ca^{2+} і Mg^{2+} на рекультивацию некультурабельних клітин <i>Candida albicans</i> . . .	44
	2.5. Вплив температури на відновлення клітин, що перебувають у життєздатному некультурабельному стані	46
	2.6. Мікроскопічні дослідження клітин <i>Candida albicans</i> після дії гіпохлориту натрію	48
	2.7. Генетична стійкість мікроорганізмів	50
Розділ 3	АНАЛІЗ ПИТНОЇ ВОДИ МІСТА КИЄВА	53
	3.1. Систематичний аналіз водопровідної води міста Києва	55
	3.2. Аналіз води зі свердловин міста Києва . . .	70
	3.3. Систематичний аналіз доочищеної води міста Києва	73
Розділ 4	РОЗРОБЛЕННЯ ТА ВИПРОБУВАННЯ КОНТАКТНО-ФЛОКУЛЯЦІЙНОГО ФІЛЬТРА ДЛЯ ДООЧИЩЕННЯ ПИТНОЇ ВОДИ	83
	4.1. Вибір зернистого завантаження для видалення некультурабельних життєздатних мікроорганізмів з води	86
	4.2. Вибір флокулянтів для видалення некультурабельних життєздатних мікроорганізмів з води	91
	4.3. Використання флокулянту і зернистих загрузок для знезараження та видалення життєздатних некультурабельних мікроорганізмів з води	95
	4.4. Розроблення технології доочищення питної води від життєздатних некультурабельних мікроорганізмів	104
	4.5. Розрахунок технологічного обладнання контактнo-флокуляційного фільтра індивідуального користування	114
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	119
	SUMMARY	130

Науково-популярне видання

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ ТА ХІМІЇ ВОДИ
ім. А.В. ДУМАНСЬКОГО НАН УКРАЇНИ

БОЛГОВА Олена Сергіївна
САПРИКІНА Марія Миколаївна
МУРАВІЙОВ Володимир Ростиславович
ГОНЧАРУК Владислав Володимирович

ПРИХОВАНА
ЗАГРОЗА
В ПИТНІЙ ВОДІ:
ЖИТТЄЗДАТНІ
НЕКУЛЬТУРАБЕЛЬНІ
МІКРО-
ОРГАНІЗМИ

Редактор *О.О. Мележик*

Художнє оформлення *Є.О. Ільницького*

Технічні редактори *О.А. Бурдік, Т.М. Шендерович*

Комп'ютерна верстка *О.А. Бурдік*

Підп. до друку 25.07.2022. Формат 84 × 108/32.

Гарн. VanderA Pro. Ум. друк. арк. 7,04.

Обл.-вид. арк. 7,00. Тираж 200 прим. Зам. № 6668.

Видавець і виготовлювач

Видавничий дім «Академперіодика» НАН України
01024, Київ, вул. Терещенківська, 4

Свідоцтво про внесення до Державного реєстру суб'єктів
видавничої справи серії ДК № 544 від 27.07.2001