

УДК 579. 82

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОФИЗИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ
ТРАНСПОРТИРУЕМОЙ ВОДЫ ВОДОВОДА АСТРАХАНЬ-МАНГЫШЛАК
(ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ В ЗИМНИЙ ПЕРИОД)**

Канаев А.Т., Мырзаханова И.А.

*Казахский национальный педагогический университет имени Абая,
Алматы, e-mail: gandi__86@mail.ru*

Одной из наиболее актуальных проблем современности является проблема обеспечения населения качественной питьевой водой. Для решения проблемы дефицита воды Прикаспийского региона в 1989 году был построен водовод «Астрахань-Мангышлак», общей протяженностью 1041 км который берет свое начало из протоки Кигач, расположенной в дельте р. Волга. Биотестирование на дафниях в исходной воде и в воде, транспортируемой по водоводу показало, что процент погибших дафний по сравнению с контролем составляет в зимний период 14%, а в весенний – 20%. В летний период процент погибших дафний является наиболее высоким – 31,8% и к осени этот показатель снижается до 23,8%. Эти значения меньше 50%, то есть в соответствии с п.3.1.5 РД – 118-02-90 тестируемая вода не оказывает острого токсического действия на дафний.

Ключевые слова: микробиоценоз, качество воды, сапрофитные бактерии

**MICROBIOLOGICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH WATER TRANSPORTED
ASTRAKHAN-MANGYSHLAK WATER PIPING
(EVALUATION OF THE QUALITY OF WATER IN THE WINTER)**

Kanayev A.T., Myrzakhanova I.A.

Kazakh National Pedagogical University after Abay, Almaty, e-mail: gandi__86@mail.ru

One of the most pressing problems is the problem of providing the population with safe drinking water. To solve the problem of water deffitsita Caspian Sea region in 1989 was built conduit «Astrakhan-Mangyshlak», total length of 1041 km which takes its origin from the duct Kigach located in the delta of the Volga river. Bioassay on daphnia in the source water and the water transported by conduit showed that the percentage of dead Daphnia compared to the control of the winter 14%, and in the spring – 20%. In summer, the percentage of dead Daphnia yavletsya Vysk most – 31,8% and the fall of this figure drops to 23,8%. These values are less than 50%, which is in accordance with the RD p.3.1.5 – 118-02-90 tested the water has no acute toxic effect on Daphnia.

Keywords: microbiocenosis, water quality, saprophytic bacteria

Ученые подсчитали, что 97,5% всех запасов воды на планете Земля приходится на соленые воды морей и океанов. Иными словами, пресная вода составляет только 2,5% мировых запасов.

Если учесть, что 75% пресной воды «заморожено» в горных ледниках и полярных шапках, еще 24% находится под землей в виде грунтовых вод, а еще 0,5% «рассредоточено» в почве в виде влаги, то получается, что на наиболее доступный и дешевый источники воды – реки, озера и прочие наземные водоемы приходится чуть больше 0,01% мировых запасов воды. И это еще не все. Несмотря на свой, казалось бы предельно простой химический состав, вода – одно из самых загадочных и «аномальных» веществ на Земле. Достаточно упомянуть, что это единственное химическое вещество, которое существует в условиях нашей планеты одновременно в трех агрегатных состояниях – газообразном, жидком и твердом [1, 2]

Поверхностные воды. Качество поверхностных вод зависит от сочетания климатических и геологических факторов.

Основным климатическим фактором является количество и частота осадков, а также экологическая ситуация в регионе. Выпадающие осадки несут с собой определенное количество нерастворенных частиц, таких как пыль, пыльца растений, бактерии, грибковые споры, а иногда и более крупные микроорганизмы. Промышленные выбросы в атмосферу также «обогащают» химическую палитру, в основном за счет органических растворителей и оксидов азота и серы. Вносят свою лепту и химикаты, применяемые в сельском хозяйстве.

К числу геологических факторов относится структура русла рек. Если русло образовано известняковыми породами, то вода в реке, как правило, прозрачная и жесткая. Если же русло из непроницаемых пород, например гранита, то вода будет мягкой, но мутной за счет большого количества взвешенных частиц органического и неорганического происхождения [3, 4].

В окружающей среде количество микроорганизмов, как известно, не остается постоянным в течение года. Оно сильно за-

висит от климатических и метеорологических условий.

Материал и методы исследования

Объекты исследований. Объектами исследования служила малоизученная вода, транспортируемая по магистральному водоводу «Астрахань-Мангышлак» в различных точках отбора:

- Т 0 – точка 0, проба воды, отобранная из водозабора р. Кигач;
- Т 1 – проба воды, отобранная из точки №1, на 1 километре, то есть после обработки головной очистительной станцией (ГОС);
- Т 2 – проба воды, отобранная из точки №2, на 448 километре, которая находится в г. Кульсары Атырауской области;
- Т 3 – проба воды, отобранная из точки №3, на 652 километре, которая расположена в п. Бейнеу Мангызтауской области;
- Т 4 – проба воды, отобранная из точки №4, 973 километре, которая расположена в г. Жана-Узень, Мангызтауской области.

Материалы и методы исследований

Методы отбора проб воды. Отбор проб речной воды из водозаборного ковша в паводок проводили батометром с борта лодки, а из водовода – закрытой струей через шланг, герметично соединенный с пробоотборником на люке в пункте отбора по водоводу. На месте отбора в пробах воды определяли: температуру, водородный показатель рН, запах, растворенные газы – кислород, диоксид углерода, сероводород, щелочность общую, подготавливали пробы для карбонатных испытаний в статических условиях и измеряли параметры стабильности динамическим экспресс – методом. Перед отбором пробы емкость не менее 2-х раз ополаскивали водой, подлежащей исследованию, открытую внутреннюю поверхность вентиля предварительно обрабатывали пламенем спиртовки [5, 6].

Емкость с пробами воды упаковали таким образом, чтобы упаковка не влияла на состав пробы и не приводила к потерям определяемых показателей при транспортировке, а также защищала емкости от возможного внешнего загрязнения и поломки. Пробы воды хранили в специальных условиях – в холодильнике при температуре +4...+6 °С [7].

Определение биокоррозионной активности транспортируемой воды. Для определения биокоррозионной активности транспортируемой воды на различных участках водовода, отбирались пробы (V = 4000 мл), которые фильтровались через складчатый беззольный фильтр. Осадок на фильтре фиксировали в 70% водном растворе этанола, состав осадка анализировали на оптическом микроскопе НЕОРНОТ-32 (x20–250). Биокоррозионная активность транспортируемой воды определялась методом предельных разведений на среде Постгейта с использованием в качестве источника питания лактата натрия – для выявления сульфатредуцирующих бактерий (СВБ), ацетата натрия – для выявления бактерий с иными пищевыми потребностями, металлической пудры – для выявления бактерий, не нуждающихся в обязательном притоке большого количества органи-

ческого вещества, но использующих молекулярный водород [8, 9].

Изучение влияния абиотических факторов. Для биотестирования на мышах и изучение мутагенной активности химических веществ в воде были использованы белые беспородные мыши весом 16–20 г. Соответственно количеству проб воды было создано 5 групп мышей и дополнительно одна контрольная группа. В каждой группе было по 10 мышей.

Для проведения эксперимента применялась вода, контактировавшая с внутренней поверхностью водовода. Контрольные животные получали аналогичную воду, но не имевшую контакта с металлом трубопровода. Продолжительность эксперимента составляла 30 дней (подострый опыт). Животных поили тестируемой водой в течение 30 дней, по окончании срока эксперимента из всех 6 групп отбирали по 3 мыши и производили вскрытие. При визуальном осмотре наблюдали изменения внутренних структур сердца, легких, почки, печени, селезенки и кишечника. Делали препараты мазков-отпечатков из этих органов для микроскопирования [10].

Результаты исследования и их обсуждение

Определение токсичности (по МУ 2.1.4.783-99.П.5.8. и МУ по изучению мутагенной активности химических веществ при обосновании их ПДК в воде)

Повышение токсичности и надежности гигиенических нормативов с обязательным учетом отдаленных эффектов – актуальная задача гигиены. При гигиенической оценке химических агентов, загрязняющих воду, не всегда учитывается их мутагенная активность. Это в значительной мере связано с недостаточностью методических разработок с отсутствием четко разработанной стратегии и тактики проведенных исследований.

Для определения токсичности воды были использованы белые беспородные обоюбого пола мыши весом 18–20 г. В каждой группе было по 10 мышей и контрольная группа (всего 60 мышей). Поили мышей исследуемыми пробами воды, отобранными из 5 точек по водоводу, в течение 30 дней (рисунок).

За этот период ни одна из мышей не погибла. По истечении срока из всех групп отобрали по 3 мыши и произвели вскрытие. Произвели визуальный осмотр внутренних органов и сделали мазки-отпечатки. При визуальном осмотре изменений со стороны сердца, легких, печени, почек, селезенки и кишечника не обнаружено. Окраска мазков-отпечатков из сердца, легких, печени, селезенки и почек не показала каких-либо отклонений от нормы.

Для изучения мутагенной активности химических веществ исследуемой пробы

воды нами были проведены анализы под микроскопом с использованием иммерсионного объектива 10×90. Все препараты были хорошо расправленными эритроцитами, поверхность которых не имела выростов и складок. Полихроматофильные

(ПХЭ) эритроциты имели серовато-голубоватую окраску, нормохромные – оранжево-розовую. При осмотре под микроскопом микроядра (МЯ) представляли собой округлые образования темного цвета с четкой границей.



Лаборатория для исследования токсичности воды на белых мышах

Подсчитывали 1000 ПХЭ и определяли количество ПХЭ с МЯ в исследуемых препаратах. Результаты указаны в табл. 1.

Таблица 1
Показатели ПХЭ с МЯ

№ п/п	Вода из точек отбора проб	Количество исследуемых ПХЭ	Количество найденных ПХЭ с МЯ
1.	Т 0 – Кигач, 0 км	1000	5
2.	Т 1 – Кигач, 1 км	1000	6
3.	Т 2 – Кульсары	1000	2
4.	Т 3 – Бейнеу	1000	2
5.	Т 4 – Жана-Узень	1000	3

У интактных белых беспородных самцов и самок мышей (6 животных) количество ПХЭ с МЯ колебалось от 2 до 6 на 1000 ПХЭ. Тем самым, средний уровень ПХЭ с МЯ составил 0,4%.

Также нами были определены средние показатели частоты полихроматофильных

эритроцитов с МЯ для экспериментальных групп мышей. Для пробы воды из Т 0 (р. Кигач) показатель составлял 3,0%, что соответствует 30 ПХЭ с МЯ. В точках Т 1; Т 2; Т 3; Т 4 этот показатель составляет соответственно 3,0; 3,8; 3,7; 3,2 или 30; 38; 37; 32 соответственно (табл. 2), что меньше нормативного значения (100). Следовательно, исследуемая вода не обнаруживает мутагенного эффекта.

Таблица 2
Средние показатели частоты ПХЭ с МЯ в экспериментальных группах мышей

Показатели	Точка отбора проб воды				
	Т 0	Т 1	Т 2	Т 3	Т 4
Средний показатель ПХЭ	3,0%	3,0%	3,8%	3,7%	3,2%
Среднее число МЯ	30	30	38	37	32

Биотестирование с использованием дафний РД – 118-02-90

Периодически, не реже 1 раза в месяц проводили контроль чувствительности дафний к «эталонному» токсиканту – бихромату калия $K_2Cr_2O_7$ (РД-118-02-90 п.3.1.7). Концентрация $K_2Cr_2O_7$, которая в течение 24 часов иммобилизует 50% экспериментальных дафний, должна находиться в диапазоне 0,9–2,0 мг/л. Указанный диапазон концентраций вызывает 50%-ую иммобилизацию дафний. Испытания проводятся в соответствии с общими требованиями для биотестирования (п.3.1.4 РД-118-02-90). Концентрация $K_2Cr_2O_7$ в наших опытах составляла

2,0 мг/л, при этом иммобилизация дафний составляла 75%, то есть чувствительность опытных дафний соответствует нормативу.

Пробу воды на наличии острого и хронического токсического действия тестировали без разбавления (РД – 118-02-90 П.2.3). Для контроля (вода без токсических веществ) использовали водопроводную воду, предварительно дехлорированную путем отстаивания.

Результаты биотестирования считали правильными, если гибель дафний в контроле не превышала 10% в остром опыте.

Учет выживших дафний проводили через 1, 6, 24, 48, 72, 96 часов (табл. 3).

Таблица 3

Результаты биотестирования при определении острого токсического действия воды на дафний

Точки отбора проб	Кол-во исходных дафний	Количество выживших дафний						Количество погибших дафний					
		Время от начала биотестирования, час						Время от начала биотестирования, час					
		1	6	24	48	72	96	1	6	24	48	72	96
0	10	10	9	9	8	8	8	0	1	1	2	2	2
1	10	10	9	9	9	8	8	0	1	1	1	2	2
2	10	10	9	9	9	8	8	0	1	1	1	2	2
3	10	10	10	9	9	8	7	0	0	1	1	2	3
4	10	10	10	10	9	9	8	0	0	0	1	1	2
Контроль	10	10	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0

Повторность экспериментов равна 3.

Примечание: точки отбора проб в соответствии точка 0 – ЛПДС Кигач, 0 км (до насосной станции); точка 1 – ЛПДС Кигач, 1 км (после насосной станции); точка 2 – Кульсары (до насосной станции); точка 3 – Бейнеу (после насосной станции); точка 4 – Жана Узень (до насосной станции).

При биотестировании исследуемой воды процент погибших дафний рассчитывали по формуле:

$$A = \frac{(X_k - X_t) \cdot 100}{X_k},$$

где X_k – среднее арифметическое количество дафний, выживших в контроле; X_t – среднее арифметическое количество дафний, выживших в тестируемой воде.

В результате арифметического подсчета получили следующие данные:

$$A = \frac{(10 - 8,6) \cdot 100}{10} = 14\%.$$

Значение $A = 14\%$ меньше 50%, что в соответствии с п.3.1.5 РД -118-02-90 показывает – тестируемая вода не оказывает острого токсического действия на дафний.

Результаты микробиологических исследований воды

В лабораторных условиях была проведена серия посевов отобранных проб воды на следующие питательные среды: висмут-сульфит агар – для определения наличия салмонелл; эритрит-агар – для кампилобактерий; Эндо – для энтеробактерий; Сабуро – для грибов; мясо-пептонный бульон – для сапрофитов; 9К – для тионовых железобактерий; среда с углекислым железом – для железобактерий. Все посева были проведены в 3-х повторностях.

Определяемые показатели по МУ 2.1.4.783-99.П.5.5: определение общего микробного числа, коли-индекса и коли-титра, салмонелл, кампилобактерий, грибов.

Посевы проб воды, отобранные в зимний период (табл. 4) на наличие салмонелл,

кампилобактерий и грибов результатов не дали. Посев воды на мясо-пептонном агаре для определения общего микробного числа составляет приблизительно общеминимальное количество микроорганизмов, что характерно для относительно чистой воды.

Для определения сальмонелл (среда висмут-сульфит агар), кампилобактерий (эритроцит агар), грибов (Сабура) пробы воды

засевали на вышеуказанные дифференциально-диагностические среды.

В результате проведенных исследований во всех пробах сальмонеллы, кампилобактерии и патогенные грибы не были обнаружены.

Подсчет колоний проводится как на поверхности, так и в глубине колоний (табл. 4).

Таблица 4

Результаты посевов проб воды, отобранных в зимний период

Питательные среды	Точка отбора проб (№ проб)				
	Т 0 Кигач, 0 км	Т 1 Кигач, 1 км	Т 2 Кульсары	Т 3 Бейнеу	Т 4 Н.Узень
Висмут-сульфитный агар для сальмонелл	0	0	0	0	0
Среда Сабура для грибов	0	0	0	0	0
Среда ЭНДО для энтеробактерий	0	0	0	0	0
Мясо-пептонный агар (на ОМЧ) для сапрофитов	100* 49**	100* 49**	100* 36**	100* 34**	100* 44**
Агар Чапека для грибов	0	0	0	0	0

Примечания:

* значения даны в соответствии с рекомендациями;

** средние экспериментальные значения.

Общее микробное число определялось по Коху. В пустую стерильную чашку Петри наливают 15 мл расплавленного и остуженного до 45°С МПА, сливают с водой, вращая чашку по поверхности стола и ставя в термостат.

Результаты наших исследований показывают, что общее микробное число в пробах воды отобранных в 5 точках в *зимний период* составляет до 100 кл/мл, то есть

качество воды в данном периоде соответствует категории чистая. На других дифференциально-диагностических питательных средах рост колоний не наблюдался (табл. 4).

Коли-индекс и коли-титр определяли титрационным методом. Посев проводили в 3 объема по 3 повторности: 100, 10 и 1 мл на среду ГПС (глюкозо-пептонная среда) (табл. 5).

Таблица 5

Результаты определения коли-титра и коли-индекса в зимний период

Показатели проб	Точка отбора проб (№ проб)					Нормативы СанПиН
	Т 0 Кигач, 0 км	Т 1 Кигач, 1 км	Т 2 Кульсары	Т 3 Бейнеу	Т 4 Н.Узень	
Коли – индекс	Менее 3	Менее 3	Менее 3	Менее 3	Менее 3	Менее 3
Коли – титр	Более 300	Более 300	Более 300	Более 300	Более 300	Более 300

В зимний период количество бактерий группы кишечных палочек не превышает нормативов СанПиН для воды питьевого водоснабжения.

Ниже приведены результаты посевов на жидкие питательные среды, применяемые для определения наличия сероводорода в исследуемой воде, а также на определение групп нитрификаторов и железобактерий. Как видно из табл. 4 вышеуказанные виды микроорганизмов в пробах воды

обнаружены не были, тогда как анализ на сероводород, образуемый сульфатредуцирующими бактериями, в среде Старкея дал положительный результат только в точке 3 (табл. 6).

Таким образом, полученные результаты микробиологических исследований свидетельствуют о пригодности исследуемой воды по всей длине водовода для питьевых нужд населения в зимний период, по микробиологическим показателям.

Таблица 6

Результаты качественного анализа на хемолитотрофные бактерии в зимний период

Жидкие питательные среды	Точка отбора проб (№ проб)				
	Т 0 Кигач, 0 км	Т 1 Кигач, 1 км	Т 2 Кульсары	Т 3 Бейнеу	Т 4 Н.Узень
Среда Старкея для сульфатредуцирующих бактерий	-	-	-	++	-
Среда Виноградского для нитрифицирующих бактерий	-	-	-	-	-
Среда с углекислым железом для железобактерий	-	-	-	-	-

Заключение

В большинстве случаев нормативы требуют полного отсутствия в воде индикаторных организмов. Однако наиболее полную картину может дать только комплексное исследование по нескольким биологическим параметрам, а также, в случае обоснованных подозрений, и по отдельным специфическим микроорганизмам.

В соответствии с МУ по биотестированию воды РД-118-02-90 п.5.7, Правил охраны поверхностных вод (1991 г.) биотестирование является обязательным элементом системы оценки и контроля качества воды. Поэтому для определения токсичности воды водовода «Астрахань-Мангышлак» применяли метод биотестирования с использованием в качестве тест-объектов дафний и лабораторных белых мышей с целью проверки соответствия качества воды нормативным требованиям.

Биотестирование на дафниях в исходной воде и в воде, транспортируемой по водоводу показало, что процент погибших дафний по сравнению с контролем составляет в зимний период 14%, а в весенний – 20%. В летний период процент погибших дафний является наиболее высоким – 31,8% и к осени этот показатель снижается до 23,8%. Эти значения меньше 50%, то есть в соответствии с п.3.1.5 РД-118-02-90 тестируемая вода не оказывает острого токсического действия на дафний.

Полученные результаты биотестирования верны, т.к. в контроле процент погибших дафний 0%, что в соответствии с РД-118-02-90 п.3.1.4.2 свидетельствует о правильности биотестирования.

Оценка токсичности исследуемой воды в экспериментах на белых беспородных обоего пола мышках в подостром эксперименте продолжительностью 30 дней показала, что данная вода не оказывает токсического действия, так как ни одна мышь в течение года в ходе экспериментов не погибла и при визуальном осмотре внутренних органов и окра-

ски мазков-отпечатков из сердца, легких, печени, селезенки и почек не было обнаружено каких-либо отклонений от нормы.

Для изучения мутагенной активности исследуемых проб воды из водовода проводился микроядерный тест в остром опыте. Подсчитывали 1000 ПХЭ и определяли количество ПХЭ с МЯ в исследуемых препаратах.

Экспериментальные значения средних показателей полихроматофильных эритроцитов с микроядрами для проб воды, отобранных из характерных точек водовода в течение года не превышают нормативного значения, то есть исследуемая вода не обнаруживает мутагенного эффекта.

Посевы проб воды, отобранные в зимний период на наличие салмонелл, кампилобактерий и грибов результатов не дали, то есть в пробах воды сальмонеллы, кампилобактерий и патогенные грибы не были обнаружены. Общее микробное число составляет приблизительно общеминимальное количество микроорганизмов, что характерно для относительно чистой воды. Результаты исследования на хемолитотрофные бактерии показали, что сульфатредуцирующие бактерии в весенний период обнаружены только в исходной речной воде и в пробах воды, отобранных в Бейнеу.

Список литературы

1. Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества: Санитарные правила и нормы СанПиН 2.1.4.559-96. – М.: Госкомсанэпиднадзор России, 1996.
2. Вода питьевая. Методы анализа: Сборник стандартов. – М.: ИПК Изд-во стандартов, 1997.
3. Guidelines for drinking-water quality, Volume 1, Recommendations // World Health Organization. – Geneva, 1983.
4. Guidelines for drinking-water quality, Volume 2, Health Criteria and Other Supporting Information // World Health Organization. – Geneva, 1984.
5. Water technology, 1995-1999.
6. Фрог Б.Н., Левченко А.П. Водоподготовка. – М.: Изд-во МГУ, 1996.
7. Гидрохимические показатели состояния окружающей среды: справочные материалы / Т.В. Гусева, Я.П. Молчанова, Е.А. Заика, В.Н. Виниченко, Е.М. Аверочкин. – М.: «Эколайн», 2000.
8. Водоподготовка / В.Ф. Вихрев, М.С. Шкроб. – М.: Издат-во «Энергия», 1973.
9. Водоснабжение / Г.И. Николадзе, М.А. Сомов. – М.: Стройиздат, 1995.
10. Таубе П.Р., Баранова А.Г. Химия и микробиология воды. – М.: Высшая школа, 183. – С. 232.