

І. З. Коваль

Національний університет “Львівська політехніка”,
кафедра фізичної, аналітичної та загальної хімії
irynazk@gmail.com

ПЕРЕВАЖАЮЧА МІКРОФЛОРА ПРИРОДНИХ ТА СТИЧНИХ ВОД ЛЬВІВЩИНИ

<https://doi.org/10.23939/ctas2020.02.121>

Мікробіологічними методами аналізу природних та виробничих стічних вод визначено кількісний та якісний склад мікроорганізмів в них. Показано, що домінуючою мікрофлорою досліджуваних вод є бактерії роду *Diplococcus*, *Sarcina*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, синьо-зелені водорості роду *Oscillatoria*, а також дріжджі роду *Saccharomyces*. Для ідентифікації мікроорганізмів вивчались морфологічні, фізіологічні та культуральні ознаки колоній, що виростили на поживних середовищах. Зображено характер росту колоній мікроорганізмів на м'ясо-пептонному агарі (для бактерій) та сусло-агарі (для дріжджів) в чашці Петрі.

Ключові слова: мікроорганізми, ідентифікація, природна вода, стічна вода.

Вступ

У зв'язку з різким збільшенням потрапляння виробничих стічних вод (СВ) у природні води останні не справляються із значним забрудненням шляхом самоочищення, тобто знижується їхня здатність до самоочищення. Внаслідок цього, на сьогоднішній день в Україні практично відсутні поверхневі джерела водозабезпечення, які можуть бути віднесені до першої категорії. До категорії 1–3 (практично чисті) відноситься лише 15 % водних об'єктів, до категорії 4–5 (забруднені) – 60 %, до категорії 6–7 (забруднені і дуже забруднені) – 25 %. В результаті, близько 90 % води, яка забирається з поверхневих джерел і не менше 30 % води, яка надходить із підземних джерел, потребує очищення від шкідливих домішок і знезараження [1].

Потрапляння до водних об'єктів неочищених або недостатньо очищених СВ хімічних та харчових підприємств, міських каналізацій, тваринницьких комплексів, водного і залізничного транспорту (Дніпро, Сіверський Донець, Чорне море поблизу Одеси тощо) є основними джерелами забруднення та погіршення їх якості. Понад 60 % недоочищених СВ потрапляє у відкриті водойми, решта 40 % надходить без очищення. Це зумовлює складний екологічний стан навколишнього середовища, зменшення ресурсів чистої питної води, створює серйозну небезпеку для здоров'я населення в багатьох регіонах

України, обумовлює високий рівень захворюваності кишковими інфекціями, гепатитом, збільшує ступінь ризику впливу на організм людини канцерогенних і мутагенних факторів. Щорічний приріст потреб води на промислові та сільськогосподарські цілі становить 4 % і через кожні 20 років збільшується вдвічі.

Питна вода з різних джерел [2–5] за мікробним критерієм не відповідає вимогам нормативних документів. Мікробне забруднення насамперед впливає на якість питної води, що є однією з найбільш основних причин виникнення масових захворювань гострими кишковими інфекціями [1]. Така вода становить потенційну небезпеку не лише для навколишнього середовища, але й для людства загалом.

Як бачимо, загрозливий стан водних ресурсів потребує впровадження прогресивних водоочисних технологій, які б не зумовлювали забруднення органічними, неорганічними та біологічними компонентами відкритих водойм при потраплянні в них СВ, що приводить до повторного їх забруднення або потребує вдосконалення існуючих методів знезараження води. Тобто за умов щораз більшого забруднення природних вод актуальним стає вибір оптимального методу їх очищення та знезараження. Однак для визначення конкретного методу очищення та знезараження води, необхідно встановити кількісний і якісний склад МО в ній, що й пропонується розглянути нижче.

Відкриті водойми на території України характеризуються високими показниками забрудненості не лише хімічного, але й біологічного походження. У деяких містах і навіть окремих регіонах східної частини України відхилення в якості води від норми сягає 70–80 % [6]. Забруднення водних об'єктів і порушення норм якості води зумовлені забруднюючими речовинами переважної більшості підприємств промисловості та комунального господарства. Щодоби у водойми скидається понад 10,6 тис. м³ неочищених і недостатньо очищених СВ. Найгостріша ситуація спостерігається в регіонах Східної України [6].

До річки Дніпро щорічно потрапляє 370 млн.м³ забруднених стоків або 14 % від всього об'єму в країні [7], в басейн ріки Прип'ять – 6 млн.м³ [8]. Ще у 80-х роках минулого століття наведені дані про забруднення Дніпровського водосховища, на основі яких через основні бокові притоки у водосховище щорічно потрапляло приблизно 240 млн м³ СВ. Необхідно зазначити, що понад 60 % населення України використовують воду Дніпра, 15 % – поверхневих водойм і лише 25 % – підземних вод [8].

Серед західних регіонів України про найбільшу забрудненість заявили Львівська та Тернопільська області [6].

Львівщина хоча й достатньо забезпечена водними ресурсами, однак сучасний стан водних ресурсів викликає занепокоєння, що зумовлено, в основному, скиданням недостатньо очищених стоків у відкриті водойми. Однак, забруднення відкритих водойм Львівщини зумовлені переважно цвітінням водойм, загніванням рослинності та постійним забрудненням твердими побутовими відходами.

Це далеко неповний перелік прямого забруднення відкритих водойм промисловими та побутовими відходами, але цілком достатній для усвідомлення катастрофічного стану водних ресурсів.

Під час оцінки ступеня ризику води для здоров'я, в залежності від природи небажаних домішок у ній, найважливішу роль відіграють мікробні забруднення. Небезпека захворювань від мікробних забруднень води значно вища (до 100000 раз), ніж при забрудненні води хімічними сполуками різної природи. Патогенні МО є причиною небезпечних захворювань, в результаті яких щорічно помирає 2,2 млн. людей. Тому,

ідентифікація МО та їх кількість в одиниці об'єму води є одним з вагомих чинників при виборі методу очищення води.

Мета дослідження

Здійснити мікробіологічний аналіз зразків води з відкритих водойм та стічних вод Львівщини та визначити кількісний і якісний склад мікроорганізмів для встановлення переважаної в них мікрофлори.

Матеріали та методи досліджень

Суть методу підрахунку числа мікроорганізмів (ЧМ) в 1 см³ досліджуваної води полягає у визначенні загальної кількості МО, які мають здатність рости на м'ясо-пептонному агарі (МПА) (для бактерій) або сусло-агарі (СА) (для дріжджів) на чашках Петрі. Склад МПА наступний: м'ясна вода (1дм³), пептон (10г), агар (15г), склад СА – солодове сусло (1дм³) з вмістом сухих речовин (6–8 %) та агару (2 %).

Загальне ЧМ в 1 см³ води визначається за такими етапами: приготування розведень [9]; посів на тверде поживне середовище в чашки Петрі [10]; підрахунок колоній на поживному середовищі [9].

При дослідженні проби води необхідно перед висівом її розвести, виходячи із передбачуваної кількості МО в 1 см³, яке визначалось шляхом глибинного висіву досліджуваної води в чашки Петрі [10].

Оскільки об'єктами досліджень слугували води з відкритих водойм різних населених пунктів Львівської області та стічні води різних виробництв м. Львова, тому готувала одне розведення для природних вод (в зв'язку з їх низьким ЧМ₀), а для стічних вод – три розведення. Процес приготування розведень та внесення посівного матеріалу у поживне середовище детально описано в [9]. Кількість МО в 1см³ досліджуваних природних вод з відкритих водойм коливалась в межах 10²÷10³ КУО/см³, а для СВ – 10⁵÷10⁴ КУО/см³.

Об'єм поживного середовища для посіву становив 12–15 см³ і охолоджений до 45–48°C, який акуратно, з дотриманням умов стерильності, заливала в чашку Петрі, з подальшим перемішуванням круговими рухами.

Після закривання кришки чашки Петрі, легкими обертовими рухами чашки необхідно ретельно перемішували поживне середовище з посівним матеріалом для рівномірного покриття

дна. Потім чашки переносила у термостат. Для культивування МО використовувався електричний сухоповітряний термостат ТС-80М-3.

Для кількісного визначення МО проводила підрахунок колоній, що виростили на чашках Петрі, виходячи з того, що кожна колонія розвинулася з однієї клітини.

Одержані результати необхідно перерахувати на початкову пробу води, враховуючи розведення за формулою:

$$N = a \times 10^n, \quad (1)$$

де a – кількість колоній, які виростили в чашці; n – розведення.

Експериментальні дані одержані за середньоарифметичними підрахунками трьох паралельних висівань зразків води.

Визначала також морфологічні, культуральні та фізіологічні властивості мікроорганізмів, а також готувала фіксовані препарати клітин з використанням сафраніну як барвника [11] та препарати досліджуваних вод з прижиттєвим забарвленням МО наступним чином: на предметному скельці краплю досліджуваної води змішувала з краплею розчину барвника (метиленової сині), з подальшим накриванням покривним скельцем і наступним піддаванням для мікроскопічних досліджень [12].

Результати досліджень та їх обговорення

У 1994р. з міських систем каналізації в природні водойми щорічно потрапляло більше 1,5 млрд.м³ забруднених СВ за результатами [13]. Зменшення в 1990–2000 рр техногенного навантаження і об'ємів водокористування не покращило якості води. У 2006р. у водні об'єкти України потрапляло понад 2 млрд.м³/рік СВ [14], а в 2010р. – приблизно 2,6 млрд.м³/рік побутових і промислових СВ, які містили ~ 8 млн т різних забруднювачів [1], а у 2018р. – 2,9 млрд м³/рік забруднених СВ. Як бачимо за рис. 1, за середньо-статистичними даними антропогенне навантаження гідросфери в часовому відліку суттєво збільшується.

Природна вода є багатокомпонентною динамічною системою, до складу якої входять гази, мінеральні та органічні речовини, що знаходяться в істинно розчиненому, колоїдному і завислому станах, а також різноманітні МО [8, 15, 16].

Тому, природні води для досліджень відбирала у стерильну скляну ємність з наступних населених пунктів Львівської області: м. Судова

Вишня, м. Городок с. Домажир, с. Миклашів, а також з м. Львів (озеро Наварія) з метою порівняння.

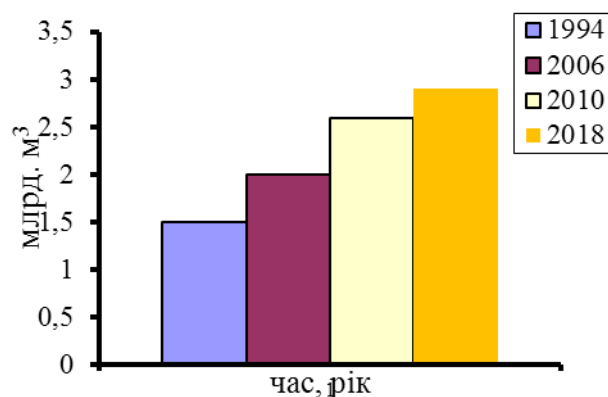


Рис. 1. Динаміка викидів у воду, (млрд. м³) за результатами літературних джерел [1], [10], [11]

Вихідне ЧМ досліджуваних природних вод, тобто їхній кількісний склад МО представлено в таблиці 1.

Стічні води – складні гетерогенні системи, які містять домішки органічного та мінерального походження, що знаходяться в нерозчинному, колоїдному та розчинному станах [8]. Окрім того, СВ заражені різними патогенними мікробами, серед яких найчастіше зустрічаються представники родів *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Leptospira*, а також *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas hydrophila*, *Micobacterium* та інші.

Досліджуваними стічними водами слугували стоки із заводу “Галичфарм” та приватної пивоварні “Кумпель”, м.Львів, вихідне ЧМ (кількісний склад МО) яких представлено в таблиці 2.

Таблиця 1

Вихідне ЧМ₀ відкритих водойм різних населених пунктів Львівської області та м. Львова

Водні об'єкти	ЧМ, КУО/см ³
озеро (м. Судова Вишня)	820 ÷ 2090
озеро (м. Городок)	2200 ÷ 2340
озеро (с. Домажир)	2100 ÷ 2600
озеро (с. Миклашів)	2450
озеро Наварія (м. Львів)	1800 ÷ 2050

Таблиця 2

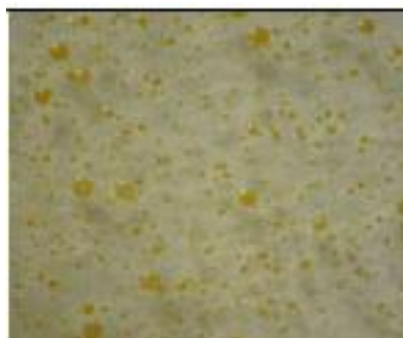
**Вихідне ЧМ₀ виробничих стічних вод
м. Львова**

Водні об'єкти	ЧМ, КУО/см ³
СВ пивоварні "Кумпель"	110000
СВ фармацевтичного заводу "Галичфарм"	38600

Проби води з відкритих водойм відбиралися впродовж літнього періоду (червень-липень). Глибина відбору проб становила 100 мм від поверхні води при відстані від берега 1 м. Проби виробничих СВ були відібрані з постійного їх потоку. Для кожного водного об'єкта відбиралось по п'ять проб з наступним усередненням отриманих підрахунків ЧМ в одиниці об'єму води.



а



б



в



г



д



е

Рис.2. Характер росту колоній ідентифікованих бактерій на МПА (а–д) та ідентифікованих дріжджів на СА (е) в чашиці Петрі. Колонії бактерій: а – Bacillus; б – Sarcina; в – Diplococcus; г – Pseudomona; д – Bacterium та Micrococcus. Колонії дріжджів: е – Saccharomyces.

Таблиця 3

Кількісний та якісний склад мікрофлори різних вод Львівщини

Джерело відбирання проби води	Ідентифіковані мікроорганізми
озеро (м. Судова Вишня)	<u>Бактерії:</u> Bacterium (16 %), Pseudomonas (22 %), Sarcina (27 %), Bacillus* (35 %)
озеро (м. Городок)	<u>Бактерії:</u> Pseudomonas (26 %), Staphylococcus (34 %), Bacillus* (40 %)
озеро (с. Домажир)	<u>Бактерії:</u> Sarcina (9 %), Bacterium (15 %), Bacillus (21 %), Pseudomonas* (55 %)
озеро (с.Миклашів)	<u>Бактерії:</u> Pseudomonas (24 %), Bacterium (32 %), Bacillus* (44 %) <u>Водорості:</u> Oscillatoria (99 %)
озеро Наварія (м. Львів)	<u>Бактерії:</u> Streptococcus (8 %), Sarcina (13 %), Micrococcus (18 %), Bacterium* (29 %), Bacillus* (32 %)
СВ пивоварні “Кумпель”	<u>Бактерії:</u> Bacterium (11 %), Micrococcus (11 %), Pseudomonas (18 %), Sarcina (25 %), Bacillus* (35 %), <u>Дріжджі:</u> Saccharomyces (99 %)
СВ фармацевтичного заводу “Галичфарм”	<u>Бактерії:</u> Bacterium (4 %), Micrococcus (10 %), Streptococcus (15 %), Diplococcus (19 %), Sarcina (21 %), Bacillus* (31 %)

Примітка: * в домінуючій кількості.

Кожне розведення висівала в три паралельні чашки Петрі глибинним методом посіву на поживне середовище і розміщувала в термостат для культивування МО з температурою, сприятливою для вирощування МО. Різні групи МО ростуть з різною швидкістю, тому чашки Петрі з вмістом МПА перебували в термостаті при $T = 35 \pm 0,5$ °C впродовж 2–3 діб, характерних для росту колоній бактерій та при $T = 30 \pm 0,5$ °C впродовж 4–5 діб (для росту колоній дріжджів). Клітини МО розмножуються, їх маса зростає так, що утворюються колонії, помітні неозброєним оком (рис.2). Як видно за рис.2, колонії різні за формою, розмірами, характеризуються різною пігментацією, що засвідчує їхню приналежність до різних родів МО. Характер росту колоній на поживних середовищах (МПА та СА) в чашках Петрі та мікроскопування зразків досліджуваних вод дозволяє визначити родові ознаки МО.

МО, які були ідентифіковані в природних та стічних водах з зазначенням клітин в домінуючій кількості представлено в таблиці 3. Кількісні результати виявлених МО різних вод виражено у відсотках (див. табл. 3).

Виявлена мікрофлора відкритих водойм у значній кількості на одиницю об’єму води має негативний вплив при її використанні у народному господарстві, зокрема для побутового застосування. Особливої уваги вимагають виявлені ціанобактерії, що становлять потенційну небезпеку для рибного господарства, що зумовлює зменшення концентрації розчиненого кисню у воді та подальшого відмирання риб. Тому ідентифікація водної мікрофлори є дуже важливим чинником при виборі ефективного методу очищення природних вод та СВ від конкретних видів МО. А це, своєю чергою, покращить екологічний стан природних водойм та дозволить скидувати СВ до відкритих водойм з допустимими концентраціями мікробного забруднення.

Висновок

Вивчена динаміка викидів у відкриті водойми за результатами літературних джерел. Проведені мікроскопічні дослідження зразків природних та стічних вод, за допомогою яких встановлено переважаючу мікрофлору. За кількісними та якісними ознаками МО досліджено домінантні роди мікрооб’єктів в озерних та виробничих стічних водах: бактерії роду *Diplo-*

coccus, Sarcina, Bacillus, Pseudomonas, синьо-зелені водорості роду Oscillatoria, а також дріжджі роду Saccharomyces.

References

1. Zahorodnyuk K.YU (2010). Osobennosti razvytyya klassycheskykh tekhnolohyy ochystky vody v peryod hlobal'noho ékolohycheskoho kryzysa. *Vodopostachannya ta vodovidvedennya*, 2, 36–43. [in Russian]
2. Salo T. L., Chornokozyns'kyi A. V., Vashkulat M. P. (2008). Vplyv stichnykh vod mist na formuvannya yakosti vodnykh resursiv u baseyni seredn'oho Dnipra. *Dovkillya ta zdorov'ya*, 3(46), 76–78. [in Ukraine]
3. Zharykova H. H., Leonova Y. B., Bud D. S. (2009). Kachestvo pyt'evoy vody po mykrobiolohycheskym kryteriyam. *Voda: khymyya y ékol.*, 3, 40–43. [in Russian]
4. Honcharuk V. V., Rudenko A. V., Savluk O. S. (2008). Mikromitsety v pytniy vodi ta shlyakhy yiyi znezarazhennya. *Dopovidi Natsional'noyi akademiyi nauk Ukrainy*, 11, 187–191. [in Ukraine]
5. Dvoret's'kyi A. I. (2000). *Vodna mikrobiolohiya*. D.: RVV DDU. [in Ukraine]
6. Lyeonov V. YE., Sherstyuk V. H., Ben' A. P. (2008). *Tekhnolohiya ochyshchennya stichnykh vod z metoyu zakhystu hidrosfery: monohrafiya*. Kherson: PP Vyshemyrs'kyi V.S. [in Ukraine]
7. <http://www.ecoleague.net/diialnist/vydannia-vel/ekolohichni-karty/ekolohichna-sytuatsiia-ta-stan-pytnykh-vod-ukrainy>
8. Burya O. I., Kudina O. F. (2006). *Voda – vlastyvoli, problemy ta metody ochyshchennya: monohrafiya*. Dnipropetrovs'k: Porohy. [in Ukraine]
9. Koval I., Starchevskyy V. (2020). Gas nature effect on the destruction of various microorganisms under cavitation action. *Chemistry & Chemical Technology*, 14(2), 264–270.
10. Koval' I. (2020). Vplyv kysnyu ta vuhlekysloho hazu na ochyshchennya vody vid bakteriy ta drizhdzhiv v kavitatsiynykh umovakh. *Visnyk Kharkivs'koho natsional'noho universytetu imeni V.N. Karazina seriya "Ekolohiya"*, 22, 75–82. [in Ukraine]
11. Koval I. (2017). Microbial disaggregation with and without gas bubbling under cavitation conditions. *The environment and the industry*, 22, 56–60.
12. Slyusarenko T. P. (1984). Laboratorny praktikum po mykrobiolohyy pyshchevykh proyzvodstv. M. : Lehkaya y pyshchevaya promyshlennost'. [in Ukraine]
13. Honcharuk V. V. (1994). Kontseptsyya uluchshennya kachestva pyt'evoy vody v Ukrainy. *Khymyya y tekhnolohyya vody*, 16(5), 467–475. [in Ukraine]
14. Andronov V. A. (2006). Ekolohichno bezpechni systemy oborotnoho vodopostachannya pidpryyemstva. *Kharkivs'kyi navchal'no-tekhnichnyy zbirnyk*, 74, 190–195. [in Ukraine]
15. Blagorodnaya G. I., Dushkin S. S. (2006). Prirodnyye vody – mnogokomponentnyye geterogennyye sistemy. *Kharkivs'kiy navchal'no-tekhnichnyy zbirnyk*, 74, 207–210. [in Russian]
16. Kul'skiy L. A. (1991). *Osnovy khimii i tekhnologii vody*. K.: Zdorov'ye. [in Russian]

I. Z. Koval

Lviv Polytechnic National University,
Department of physical, analytical and general chemistry
iry nazk@gmail.com

PREDOMINANT MICROFLORA OF NATURAL AND WASTEWATERS OF LVIV REGION

Quantitative and qualitative composition of microorganisms have been determined by the microbiological methods of the analysis of natural waters and industrial wastewater. It is shown that the dominant microflora of the studied waters are Diplococcus, Sarcina, Bacillus, Pseudomonas bacteria types, blue-green algae of Oscillatoria types, as well as Saccharomyces yeast types. Morphological, physiological and cultural characteristics of colonies grown on nutrient media were studied to identify microorganisms. The growth pattern of colonies of microorganisms on meat-peptone agar (for bacteria) and wort-agar (for yeast) in a Petri dish is shown.

Key words: microorganisms, identification, natural water, wastewater.