

**МІКРОБНА КОНТАМІНАЦІЯ ВОДНИХ РЕСУРСІВ,  
ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ ЛАДИЖИНСЬКОЮ ТЕС****Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара (м. Дніпропетровськ)****falashtinskij@yandex.ua**

Роботу було виконано у межах держбюджетної теми №1-294-15, що виконується на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара, № державної реєстрації 0115U002385.

**Вступ.** Природні водойми являють собою складні екологічні системи існування біоценозу, до складу якого входять і мікроорганізми. Водойми є не тільки збірниками і сховищами води, в яких вода усереднюється за якістю, але в них безперервно протікають процеси зміни складу домішок – наближення до рівноваги. Остання може бути порушена в результаті людської діяльності, зокрема, скидання стічних вод теплоелектростанцій (ТЕС), тому вкрай необхідним є здійснення контролю стічних вод [1,5].

Ще до середини 20 століття забруднених стічних вод було порівняно мало, вони мали переважно комунально-побутове походження. Кількість стічних вод збільшилася в багато разів, склад забруднюючих речовин змінився. З побутовими стічними водами та стоками деяких виробництв у водойми і водотоки потрапляють токсичні речовини і хвороботворні бактерії та віруси [7]. Питома вага забруднених стічних вод у загальному їх обсязі в цілому по Україні становить понад 28%, у тому числі у Харківській та Луганській областях – понад 70%, у Чернівецькій, Одеській, Донецькій областях – понад 50%. Скидання стічних вод у водні об'єкти може впливати на хімічний та біологічний склад природних вод та погіршувати їх якість [3,4].

Одними з потенційно забруднюючих довкілля об'єктів є теплові електростанції (ТЕС), тому дослідження їх впливу на стан довкілля має велике значення. Вважається [17], що ТЕС є потенційним джерелом мікробної контамінації довкілля через використання технічних сполук на основі мастил нафтового походження, які містять парафіни, придатні для використання у якості субстрату дріжджамі родів *Pichia*, *Yarrowia* та деякими іншими [11,19]. Тому важливим є дослідження скидних вод на наявність цих мікроорганізмів. Особливою властивістю дріжджів також є здатність до утворення біоплівки [12], що збільшує їх виживання на поверхні технологічних споруд і створює джерела контамінації довкілля. У той же час, з огляду на непатогенність більшості з таких дріжджів, колонізація ними промислових об'єктів може частково розглядатися як позитивне явище, що пов'язано з утилізацією такими мікроор-

ганізмами хімічних забруднень, створених сполуками нафтового походження [17,19].

**Метою роботи** було дослідити мікробний склад поверхневих вод до та після використання системою охолодження Ладижинської ТЕС.

В завдання роботи входило:

- дослідити мікробний склад поверхневих вод Ладижинського водосховища при ТЕС;
- дослідити мікробний склад води, що скидається після використання в системі охолодження.

**Об'єкт і методи дослідження.** Об'єктом дослідження була частота виявлення мікробної контамінації поверхневих вод ставка-охолоджувача Ладижинської ТЕС, що використовується для системи охолодження реакторів, та стічних вод підприємства, що скидаються з системи охолодження до річки Південний Буг.

Дослідження мікробного складу поверхневих вод здійснювали при кожному заборі та скиді води за класичною методикою [1,2]. Протягом місяця здійснено аналіз 56 зразків води: 28 – відібрані з поверхні водосховища поблизу насосної станції ТЕС та 28 – відібрані з поверхні біля скидного отвору. Зразки води відбирали у стерильний посуд. Загальний об'єм зразку становив 1500 мл (3 ємності по 500 мл).

З кожного зразку здійснювали виготовлення мікроскопічних препаратів, для чого на знежирене предметне скло наносили 1 мл води. Воду розподіляли петлею та висушували препарат на повітрі. Фарбували за Грамом [8,9].

Загальний посів з нерозведеного матеріалу здійснювали стерильно на м'ясо-пептонний агар (МПА) з додаванням глюкози (1,5%): 1 мл води вносили у охолоджений до 40°C агар, ретельно перемішували та розливали у чашки. Інкубували при температурі 30°C протягом 7 діб, щоденно переглядаючи посіви. Загальне мікробне число (ЗМЧ) рахували як усі колонії мікроорганізмів, які можна побачити при 2-5-кратному збільшенні, що виростили при температурі 30°C протягом 48 годин в глибині та на поверхні поживного агару [6,7].

Для виявлення спорових бактерій 100 мл води відбирали у термостійку колбу та нагрівали до 80°C протягом 15 хв. Потім проводили посів на МПА. Інкубували 2 доби.

Для виявлення бактерій групи кишкової палички (БГКП) здійснювали посів на середовище Ендо. Інкубували 1 добу. Для виявлення клостридій здійсню-

вали висів на середовище Вільсона-Блера. Інкубували 4 доби [6,7].

Ідентифікацію мікроорганізмів здійснювали відповідно до ознак, наведених у визначнику бактерій Берджі [9] та у визначнику дріжджових грибів [18].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Дослідження зразків води на мікробну контамінацію показало, що вона мала місце в усіх зразках води з поверхневих вод, та у 9 зразках (32,1%) дослідження стічних вод з системи охолодження.

Загальне мікробне число у досліджених зразках води коливалося від  $1,23 \times 10^3$  КУО/мл до  $6,61 \times 10^5$  КУО/мл, причому переважали зразки з вмістом мікроорганізмів понад  $10^4$  КУО/мл.

Всього зі зразків води з поверхневих вод водосховища при Ладжинській ТЕС було виділено 221 штам мікроорганізмів. Дослідження спектру мікроорганізмів, що були виділені зі зразків поверхневих вод (рис. 1), показало, що переважна більшість з них представлена сапрофітними (43,4%) та непатогенними споровими формами (37,1%), а також були виявлені дріжджові гриби (13,1%). У поодиноких випадках виявляли клостридії (1,4%) та БГКП (5,0%).

Переважає спороутворюючих та сапрофітних мікроорганізмів вказує на те, що до водосховища, звідки відбирається вода для охолодження, потрапляють переважно ґрунтові мікроорганізми, які вимиваються під час дощів. Це вважається цілком нормальним явищем і така вода не вважається забрудненою відповідно вимогам до технічної води для системи охолодження [1,5]. У 11 випадках було виділено представників БГКП. Ці бактерії було ідентифіковано як *Escherichia coli*, що може свідчити про фекальне забруднення поверхневих вод [2]. Виявлення їх можна вважати нормальним з огляду на те, що ставок-охолоджувач приймає воду з річки Західний Буг, до якої скидаються побутові стоківі води міста. Водночас, слід відмітити, що ці бактерії були виявлені у кількості  $(1,92 - 9,68) \times 10^2$  КУО/мл, що є відносно невисоким показником.

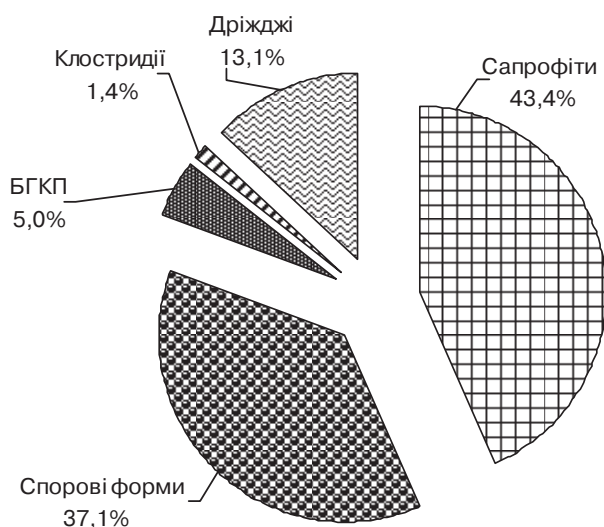


Рис. 1. Групи мікроорганізмів, виділені з поверхневих вод, що відбиралися для потреб Ладжинської ТЕС.

Ідентифікація виділених дріжджів дозволила встановити їх належність до одного виду – *Pichia guilliermondii*, що є утилізатором складних парафінів. Наявність цих мікроорганізмів вірогідно можна пояснити тим, що у роботі механізмів ТЕС використовуються мазут, технічні мастила, тощо, що можуть виступати у якості складного субстрату для цих грибів [5]. А отже, вказані дріжджові гриби можуть становити частину мікробіоти ставка-охолоджувача, наявність якої в екосистемі Ладжинського водосховища може бути опосередкована діяльністю ТЕС.

Слід відмітити, що серед виділених мікроорганізмів не виявлено термофільних форм. Відомо, що термофіли переважно потрапляють у воду при вимиванні компостів, які вносять у ґрунт навесні після танення снігів [10,14], у той час як наші дослідження проведено протягом вересня.

Аналіз спектру мікроорганізмів, виділених із 9 контамінованих зразків скидних вод ТЕС з системи охолодження, показав, що в них були присутні спорові мікроорганізми та дріжджові гриби (рис. 2). Отже, з 14 виділених штамів 57,1% належали до спороутворюючих мікроорганізмів, ідентифікованих як належні до роду *Bacillus*, та 42,9% штамів було ідентифіковано як належні до виду *P. guilliermondii*.

Виявлення бацил, вірогідно, може бути пов'язано з тим, що вода при проходженні через систему охолодження нагрівається до високих температур [5], що дозволяє вижити лише споровим формам мікроорганізмів, а виявлення дріжджових грибів – з наявністю складних субстратів органічної природи, які використовуються як технічні сполуки для обслуговування механізмів ТЕС [16]. Виділені дріжджі привертають особливу увагу також через здатність до утворення біоплівки на поверхні технологічних споруд [12,13,15]. Це призводить до формування постійного джерела контамінації доквілля. Кількість виявлених мікроорганізмів була низькою – до  $10^3$  КУО/мл, що не є свідченням забруднення води.

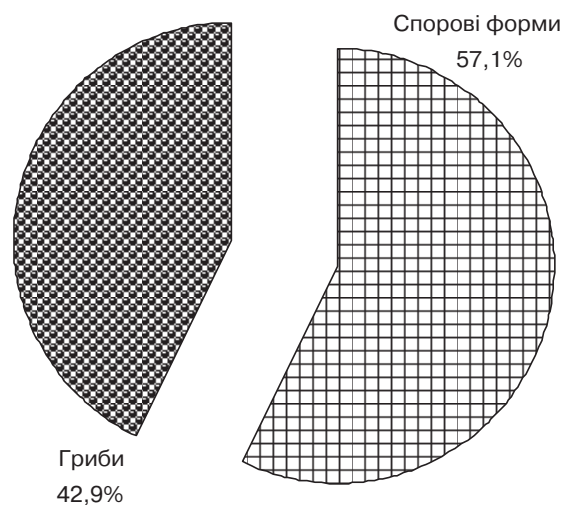


Рис. 2. Спектр мікроорганізмів, виділених зі скидних вод системи охолодження Ладжинської ТЕС.

Отримані результати вказують на те, що використання води Ладижинського водосховища для системи охолодження реакторів ТЕС не тільки не призводить до погіршення стану води за мікробіологічними показниками, а навпаки покращує її якість за рахунок звільнення води від БГКП, кластридій та сапрофітів, які гинуть під впливом підвищеної температури.

### Висновки

1. Встановлена мікробна контамінація 100% зразків з поверхневих вод Ладижинського водосховища, які надійшли до системи охолодження Ладижинської ТЕС, та 32,1% зразків вод після охолодження.

2. У зразках з відкритих водойм переважали сапрофітні (43,4%) та спорові форми (37,1%), були виявлені дріжджові гриби (13,1%), БГКП (5,0%), кластридії (1,4%).

3. Зі зразків скидних вод було виділено 14 штамів мікроорганізмів, з яких більшість становили

ли аеробні спороутворюючі бактерії роду *Bacillus* (57,1%), решту (42,9%) – дріжджові гриби виду *P. guilliermondii*, здатні утворювати біоплівки на поверхні технологічних споруд, що призводить до формування постійного джерела контамінації скидних вод.

4. Використання води водосховища для системи охолодження реакторів Ладижинської ТЕС не погіршує мікробний пейзаж водойми.

### Перспективи подальших досліджень.

Забруднення довкілля великими промисловими підприємствами є одним з найбільш важливих питань охорони навколишнього середовища, що потребують вирішення. Тому здійснення постійного моніторингу скидів виробництва з метою контролю контамінації стоків є важливим завданням кожного підприємства. Визначення мікроорганізмів-контамінантів дозволить здійснити пошук джерел забруднення ними та розробити стратегію усунення цих ризиків.

## Література

1. Алексеев Л. С. Контроль качества воды / Л. С. Алексеев. – М: ИНФРА-М, 2007. – 154 с.
2. Биологические показатели качества воды / А. М. Грек, И. А. Бельх, Т. А. Жадан [и др.] // Системы обработки информации: – Х.: ХУПС. – 2006. – Вып. 6 (55). – С. 217-228.
3. Ваганов І. І. Інженерна геологія та охорона навколишнього середовища / Ваганов І. І., Маєвська І. В., Попович М. М. – Вінниця: Універсум, 2009. – 574 с.
4. Відходи виробництва і споживання та їх вплив на ґрунти і природні води / За ред. В. К. Хільчевського. – К.: Видавничо-поліграфічний центр «Київський університет», 2007. – 152 с.
5. Водное хозяйство промышленных предприятий: справочное издание / под ред. В. И. Аксенова. – М.: Теплотехник, 2005. – 640 с.
6. ISO 6222-2: 1986. Якість води. Проведення аналізу на наявність життєздатних мікроорганізмів. – 46 с.
7. Методичні вказівки по санітарно-мікробіологічному аналізу води поверхневих водойм: № 2285–81. – К., 2001. – 50 с.
8. Намсараев Б. Б. Полевой практикум по водной микробиологии и гидрохимии: метод. пособие / Намсараев Б. Б., Бархуртова Д. Д., Хахинов В. В. – Улан-Удэ: Издательство Бурятского государственного университета, 2006. – 48 с.
9. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997. – 800с.
10. Baxter S. S. Economic considerations of water pollution control / S. S. Baxter // J. Water Pollut. Control. Fed. – 2006. – Vol. 37 (10). – P. 1363-1369.
11. Bioleaching of fly ash by the tropical marine yeast, *Yarrowia lipolytica* NCIM 3589 / A. Bankar, M. Winey, D. Prakash [et al.] // Appl. Biochem. Biotechnol. – 2012. – Vol. 168 (8). – P. 2205-2217.
12. Candida Biofilms: an update / G. Ramage, S. P. Saville, D. P. Thomas [et al.] // Eukaryotic Cell. – 2005. – Vol. 4, № 4. – P. 633-638.
13. Finnegan T. Cooling water tower optimization – microbiological analyses and flow bypasses / T. Finnegan // Water digest. – 2008. – Vol. 1. – P. 22-31.
14. Gerba C. Indicator microorganisms in environmental microbiology / C. Gerba. – Chicago: Academic Press. – 2009. – P. 485-502.
15. Gonzalves F. A. *Yarrowia lipolytica* and its multiple applications in the biotechnological industry / F. A. Gonzalves, G. Colen, J. A. Takahashi // Scientific World Journal. – 2014. – Vol. 13: 476207.
16. Grounta A. Quantification and characterization of microbial biofilm community attached on the surface of fermentation vessels used in green table olive processing / A. Grounta, A. I. Doulgieraki, E. Z. Panago // Int. J. Food Microbiol. – 2015. – Vol. 16 (203). – P. 41-48.
17. Riser-Roberts E. Bioremediation of petroleum contaminated sites / E. Riser-Roberts. – Boca-Raton: C.K. Smoley, 1992. – 197 p.
18. The Yeasts: A taxonomic study (5th ed.) / ed. C. P. Kurtzman, J. W. Fell, T. Boekhout. – San-Diego: Elsevier, 2011. – 2384 p. Режим доступу: [https://books.google.ca/books].
19. *Yarrowia lipolytica* and pollutants: interactions and applications / S. Zinjarde, M. Apte, P. Mohite [et al.] // Biotechnol. Adv. – 2014. – Vol. 32 (5). – P. 920-933.

УДК 579.68

### ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБНОЇ КОНТАМІНАЦІЇ ВОДНИХ РЕСУРСІВ, ЩО ВИКОРИСТОВУЮТЬСЯ ЛАДИЖИНСЬКОЮ ТЕС

Фалаштинська Н. П., Дрегваль О. А., Черевач Н. В., Вінніков А. І.

**Резюме.** Дослідження мікробної контамінації вод, що використовуються для промислових потреб Ладижинської ТЕС, показало, що вони переважно контаміновані сапрофітними (43,4%) та споровими (37,1%) мікроорганізмами, які вимиваються з ґрунтів, прилеглих до ставка-охолоджувача. У скидних водах виявлені 14 штамів мікроорганізмів: *Bacillus spp.* (57,1%) і *Pichia guilliermondii* (42,9%). Використання води водосховища для системи охолодження Ладижинської ТЕС не погіршує мікробний пейзаж водойми.

**Ключові слова:** водні ресурси, контамінація, спектр мікроорганізмів.

УДК 579.68

**ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ВОДНЫХ РЕСУРСОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ЛАДЫЖИНСКОЙ ТЭС**

**Фалаштинская Н. П., Дрегваль О. А., Черевач Н. В., Винников А. И.**

**Резюме.** Изучение микробной контаминации вод, используемых для промышленных нужд Ладыжинской ТЭС, показало, что они преимущественно контаминированы сапрофитными (43,4%) и споровыми (37,1%) микроорганизмами, которые вымываются из почв, прилегающих к пруду-охладителю. В стоковых водах выявлены 14 штаммов микроорганизмов: *Bacillus spp.* (57,1%) и *Pichia guilliermondii* (42,9%). Использование воды водохранилища для системы охлаждения Ладыжинской ТЭС не ухудшает микробный пейзаж водоема.

**Ключевые слова:** водные ресурсы, контаминация, спектр микроорганизмов.

UDC 579.68

**THE STUDY OF MICROBIAL CONTAMINATION OF WATER RESOURCES USED BY THERMAL POWER PLANT LADYZHINSKAYA**

**Falashtinskaya N. P., Dregval O. A., Cherevach N. V., Vinnikov A. I.**

**Abstract.** Water objects are recognized as contaminated if the composition and state of their treatment altered by human activities to such an extent that they have become unfit for the purpose to which they were prior to their use by human. One of the potentially contaminating environment objects are thermal power plants (TPP), therefore the study of their impact on the environment is important. One indicator of such exposure is contamination of water resources as a result of thermal power plants.

The aim of research was to investigate the microbial composition of surface water, that use for cooling system of TPP Ladyzhinskaya and their runoff water. The objectives of the study was to investigate the microbial composition of the surface water of TPP Ladyzhinskaya reservoir and microbial composition of the runoff water of this plant.

Materials and methods of research. During a month the analysis of total 56 samples of water were made: 28 samples were received from the surface of the water reservoir near the pump station of TPP and 28 – were received from place near the fault opening. From received samples made the microscopic preparations, stained by Gram method. The total microbial count was determined by inoculation of undiluted material on meat-peptonic agar with the glucose (1.5%). To identify sporogenous bacteria used heat treatment of samples. For the detection of *E. coli* group bacteria samples were inoculated on Endo medium. For the detection of *Clostridium* Wilson-Blair medium were used. The identification of microorganisms was carried out in accordance with the characteristics listed in Bergey's manual and Manual for yeasts determination.

Results. The study of water samples for microbial contamination revealed that it took place in all cases of water samples from surface waters, and in 9 cases (32.1%) of study of runoff water from the cooling system. The total microbial count in studied water samples ranged from  $1,23 \times 10^3$  CFU / ml to  $6,61 \times 10^5$  CFU / ml. From surface of reservoir water of TPP Ladyzhinskaya was allocated 221 strains of microorganisms, most of which was identified as saprophytic (43.4%) and non-pathogenic sporogenous (37.1%) forms, and yeasts (13.1%). In rare cases determined the presence of clostridia (1.4%) and bacteria of *E. coli* group (5%). The identification of isolated yeasts allowed to establish their belonging to a single species *Pichia guilliermondii*. The study of spectrum of microorganisms, isolated from 9 samples of contaminated runoff water from the power station cooling systems, found that they were present by sporogenous bacteria (57.1%) and yeasts (42.9%), that were identified as belonging to the genus *Bacillus spp.* and *P. guilliermondii* respectively.

All samples of surface water for cooling TPP Ladyzhinskaya and 9 (32.1%) samples of runoff water were contaminated by microorganisms. Established that in the samples of surface water saprophytic (43.4%) and sporogenous (37.1%) forms and yeasts (13.1%) dominated. From runoff water were isolated 14 strains, identified as *Bacillus* (57,1%) and fungi *P. guilliermondii* (42,9%).

Environmental pollution by large industrial enterprises is one of the most important environmental issues that need the solution. Therefore, continuous monitoring of runoff water of plants in order to control of contamination is an important concern of every enterprise. Determination of microbial contaminants will search for sources of pollution and develop the strategies eliminate these risks.

**Keywords:** water resources, contamination, spectrum of microorganisms.

*Рецензент – проф. Ляшенко В. П.  
Стаття надійшла 01.11.2015 року*