

УДК 628.162/.163:579.8:546.3;577.4 (20): 578.853:57.08.3

ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ПИТЬЕВОГО ВОДОСНАБЖЕНИЯ

В.М. Катола

*Институт геологии и природопользования Дальневосточного отделения,
г. Благовещенск*

*Проанализированы причины и способы попадания микроорганизмов и тяжелых металлов в питьевую воду. С помощью электронной микроскопии показано, что плесневый гриб *Penicillium canescens* выщелачивает из отходов золотодобычи тяжелые металлы и депонирует их преимущественно на клеточной стенке, ее поверхностном слое, цитоплазматической мембране, межклеточных септах и стенке конидий. Предполагается, что резистентные к хлору формы микроорганизмов и обрывки клеток, несущие тяжелые металлы, преодолевают системы водоподготовки и попадают в водопроводную питьевую воду, причиняя вред здоровью человека.*

Ключевые слова: водоподготовка, микроорганизмы, тяжелые металлы, внутриклеточные структуры, электронная микроскопия

HYGIENE PROBLEMS OF DRINKING WATER SUPPLY

VM Katola

**Federal State Institution of Science Institute of Geology and Nature Management FEB RAS,
Blagoveshchensk**

*The reasons and ways of entry of microorganisms and heavy metals in drinking water. Electron microscopy shows that the fungi *Penicillium canescens* leaches gold from waste deposits heavy metals and their predominantly on the cell wall, its surface layer of the cytoplasmic membrane, intercellular septum wall and conidia. It is assumed that the chlorine-resistant forms of microorganisms and cell fragments bearing heavy metals overcome the water treatment system and in drinking water tap, causing harm to human.*

Keywords: water, mikroorganizms, heavy metals, intracellular structures, electron microscopy

Введение

С водой в организмы попадает 80% вредных веществ (микроорганизмы, тяжелые металлы, фенолы, нитриты, нитраты, пестициды и др.) и только 20% – через воздух и продукты питания. Поэтому примерно 90% болезней людей вызваны употреблением некачественной воды. К сожалению, качество воды в России еще не отвечает всем требованиям законодательства по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения. В 2013 году только 62,1 % населения было обеспечено доброкачественной питьевой водой [2]. При этом доля проб питьевой воды, превышающих гигиенические нормативы по микробиологическим показателям, в среднем составила 4,2 %, тогда как при децентрализованном водоснабжении – 18,68 %. В результате в 8,3 раза выросла заболеваемость тулярией, в 2,5 раза – брюшным тифом, в 3,3 раза – энтеровирусными инфекциями, в 5,7 раза – гепатитом А. Одновременно увеличилось количество проб воды, превышающих гигиенические показатели по алюминию, железу, включая хлорное железо, кальцию, никелю, свинцу и другим металлам. Таким образом, до сих пор не решены две ключевые причины низкого качества питьевой воды – ее загрязнение микроорганизмами и тяжелыми металлами.

Одним из самых распространенных способом профилактики проникновения микроорганизмов в организм человека через воду является хлорирование [1]. Считается, что оно удаляет около 90–95 % микроорганизмов, а если и остается какая-то их часть, то только непатогенная. Полностью удалить микробиоту, попавшую в водопровод и питьевую воду, действительно не удастся. Во-первых, водочистка и водоподготовка не везде одинаковы как по комбинациям методов и технологий, так и местным параметрам на питьевую воду. Во-вторых, различен износ разводящей водопроводной сети вследствие коррозии, органических и минеральных отложений и пр. В-третьих, антропогенная активность вблизи поверхностных вод и водоносных слоев сильно отличается. Микроорганизмы поступают в водоисточники преимущественно из почвы, где кроме сапрофитов, существуют патогенные виды. Поэтому в водоводы будут попадать и сохраняться не единичные, тем более непатогенные, а значительная часть "микробиального планктона", неодинаковая по биологическим свойствам. Хлор и его реагенты действуют лишь на вегетативные клетки, но заметим, что некоторые виды бактерий, контак-

тируя с хлором на всех этапах водоочистки, приобретают хлороустойчивость, которая многократно возрастает, если они организуются в биопленку – биообрастания на внутренней поверхности водопроводной сети [7]. Сама же биопленка в процессе хлорирования воды не уничтожается, наоборот, подготавливает места для других загрязнителей. Помимо адаптивной хлороустойчивости в водопроводы могут поступать виды и формы микроорганизмов с заведомо природной устойчивостью к хлору. В первую очередь покоящиеся клетки так называемых некультивируемых форм неспорулирующих бактерий, в том числе патогенных видов (сальмонеллы, шигеллы, холерный вибрион и др.) [9], а также разные специализированные анабиотические формы (экзо- и эндоспоры бактерий, акинеты цианобактерий, конидии и бластоспоры плесневых и дрожжевых грибов, цисты простейших, яйца нематод и др.) и лишенные клеточной стенки L-формы, в которые конвертируются практически все бактерии независимо от видовой принадлежности [3]. Эти хлороустойчивые формы широко распространены в окружающей среде и могут представлять опасность для человека. Внесенные в водопроводную сеть и питающие ее водоводы, где имеются благоприятные условия (тепло, повышенная влажность, наличие кислорода, минеральных и органических веществ), они реверсируют с восстановлением свойств исходного вида. При особых количественных и качественных характеристиках ревертанта, индивидуальной чувствительности к нему человека и сопутствующих факторов инициируются вспышки спорадических и эндемических водных инфекций. Поэтому для обеспечения наиболее полной дезинфекции питьевой воды (одновременного уничтожения бактерий, вирусов, простейших и т. д.) сейчас рекомендуется применять диоксид хлора (газ ClO_2) [8], смешанные оксиданты [11], переходить на замкнутые циклы водоснабжения и пр.

Кроме загрязнения питьевой воды микроорганизмами величайшую угрозу представляют и тяжелые металлы (ТМ), влияющие на физические, химические и биологические свойства воды. Будучи сопряженным компонентом природных водотоков и водоемов, ТМ (Cd, Co, Cu, Hg, Pb, Zn, Ni и др.) пребывают в них в нескольких формах: а) в виде токсичных ионов; б) растворимых и коллоидных неорганических и металлоорганических соединений; в) сорбированных и аккумулированных гидробионтами; г) удерживаемых донными осадками. При длительном поступлении в организм человека даже в ничтожных количествах ТМ, не разрушаясь и существенно не модифицируясь, депонируются в органах и тканях и нарушают их функции. Между тем, схема водоподготовки (комплекс технологических процессов обработки и очистки воды) не обеспечивает нулевое содержание ТМ. Например, в питьевой воде из-под крана и колонок г. Благовещенска выявляются (мг/л) Fe (0,17), Co (0,0018), Cr (0,001), Cu (0,003), Hg (0,0001), Mn (0,029), Ni (0,05), Pb (0,004) и Zn (0,007) [4]. Их нахождение обусловлено факторами, формирующих химический состав природной воды (состав горных пород, антропогенная деятельность, растительность, климат, рельеф, гидрологический режим и пр.), отсутствием зон санитарной охраны для водопроводов, применением устаревших технологий, оборудования и т.д. При этом из виду упускается не менее важная причина – дополнительный перенос в питьевую воду ТМ, выщелоченных из отходов горной и горнодобывающей промышленности, цветной и черной металлургии, на микроносителе, который способен преодолевать систему фильтрации с ячейками фильтра 1,0 мкм и меньше. Как представляется, микроносителем являются клетки и фрагменты бактерий и грибов, прежде всего, их внутриклеточные структуры. Исследовать структуру клетки непосредственно в природной среде чрезвычайно сложно, в связи с чем решено экспериментально продемонстрировать, что предположение о «микроносителях» ТМ соответствует действительности.

Материалы и методы

С этой целью дикий штамм плесневого гриба *Penicillium canescens* в течении 5-6 суток культивировали в глубине жидкой питательной среды Чапека (источник углерода – глюкоза, азота – NaNO_3 , исходная pH 7,0), содержащей стерильные образцы отходов золотодобычи в соотношении Т: Ж = 1: 7. Они отобраны из хвостов шлихообогатительной установки (ШОУ) Софийского золотоносного узла (Хабаровский край), которые занимают огромные площади, концентрируют рудные и нерудные минералы, промышленные запасы ТМ и колонизированы микроорганизмами, в том числе металлоустойчивыми грибами [4]. Для электронномикроскопического исследования мицелий *P. canescens* готовили традиционным способом, ультратонкие срезы толщиной 600-900 Å получали на ультрамикротоме марки LKB-NOWA и фотографировали в просвечивающем электронном микроскопе TESLA BS 500.

Результаты и обсуждение

Для лучшего понимания событий, происходящих в предпринятых опытах *in vitro* (закрытой системе), напомним, что разные группы бактерий и плесневых грибов, существующих в почвах, различных месторождениях, поверхностной и подземной воде и донных осадках, синтезируют и выделяют в среду обитания агрессивны – ферменты, цианиды, перекиси, минеральные (серную, азотную) и органические кислоты (лимонная, уксусная, муравьиная и др.), с помощью которых из биотопов выщелачиваются (извлекаются) минеральные элементы, то есть, микроорганизмами осуществляются геохимические функции. Так, к 5-6 суткам развития *P. canescens* в питательной среде скапливаются белки, органические и нуклеиновые кислоты, полисахариды и пр. В результате ее pH понижается от нейтрального (7,0) до слабокислого (5,0). При таких значениях из хвостов ШОУ в раствор экстрагиру-

ются рудные элементы и тотчас вступают в химическую связь между собою, с анионами и катионами среды и метаболитами плесени. В итоге Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb и другие металлы растворяются, выпадают в осадок и переходят обратно в раствор, формируя минералы, растворимые и нерастворимые металлоорганические соединения. Происходящее превращает среду Чапека в токсичный раствор с нарастающим дефицитом питательных веществ, накоплением метаболитов и минеральных образований. Чтобы выжить в таком растворе, *P. canescens* вынужден использовать все свои адаптивные возможности, причем, некоторые процессы этой адаптации визуализируются в просвечивающем электронном микроскопе.

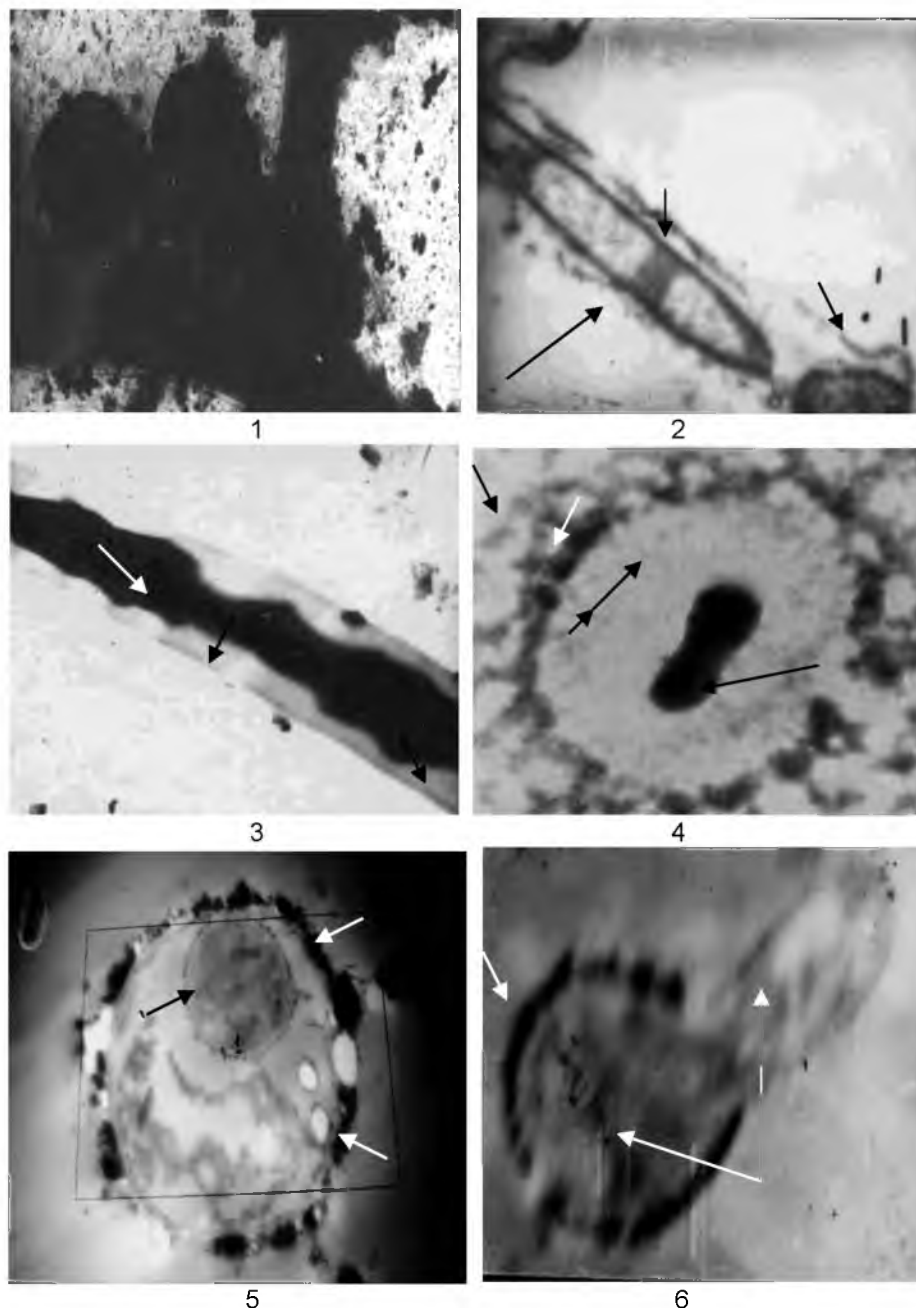


Рис. 1. Электронная микроскопия клеток плесени *Penicillium canescens*, контрастированных металлами: 1 – частицы и их конгломераты в межгифальных промежутках, на поверхности гиф и конидий (x 3000); 2 – фрагмент гифы с отслоившимся поверхностным слоем (отмечен короткими черными стрелками) и межклеточные септы, отмеченные длинной черной стрелкой (ультрасрез, x 9000); 3 – выпуклый плазмоллиз клетки (отмечен белой стрелкой) с частицами на поверхности (ультрасрез, x 9000); 4 – отмеченные ломасомы (короткая черная стрелка), цитоплазматическая мембрана (белая стрелка), цитоплазма (двойная черная стрелка). Длинной черной стрелкой отмечено измененное ядро (ультрасрез, x 30000); 5 – черной стрелкой отмечено ядро, белой стрелкой – крупный адсорбат на клеточной стенке (ультрасрез, x 22000); 6 – короткой белой стрелкой отмечен адсорбат на стенке конидии, длинными белыми стрелками – слабо различные внутриклеточные структуры и структуры ростовой трубочки

(ультрасрез, x 17000).

На рис. 1 показана аккумуляция металлов, различных солей и комплексных соединений в межгифальном матриксе, на поверхности гиф и конидий в виде электронноплотных частиц неодинаковой величины, склонных к объединению в некий адсорбат. Предполагается, что образование частиц и адсорбата в какой-то мере понижает содержание ТМ и их токсичность в растворе, тем самым обеспечивается жизнедеятельность молодых растущих клеток. Имитация *in vitro* геохимической деятельности *P. canescens* неожиданно подтвердила, что таковое реально происходит в природной обстановке (открытой системе) – фрагменты не идентифицированных грибов с полиморфными частицами на поверхности гиф и конидий постоянно обнаруживались в падающих снежинках или хвостах ШОУ [5, 6]. Оставалось неясным, как реагируют на выщелоченные металлы внутриклеточные структуры этих фрагментов.

По форме и размеру клетки каждой гифы грибов разнообразны, тогда как по набору внутриклеточных структур одинаковы. Плесневым грибам характерны многослойная клеточная стенка (КС) толщиной 0,2 мкм, под которой находятся мембранные структуры – ломасомы. Прилегающая к ним цитоплазматическая мембрана (ЦПМ) толщиной 0,007-0,013 мкм чехлом охватывает цитоплазму, содержащую эндоплазматическую сеть (ретикулум) диаметром 0,05-0,1 мкм, митохондрии, комплекс Гольджи, рибосомы и др. В отличие от животных клеток в каждой клетке плесеней постоянно находится от одного до нескольких ядер размером 2-3 мкм, отделенных от цитоплазмы оболочкой с порами. Все структуры грибной клетки под действием внутренних или внешних факторов повреждаются, что приводит ее к гибели, в первую очередь, при повреждении ЦПМ. Для морфологической оценки внутриклеточных структур прибегают к усилению контрастности ультрасрезов напылением солями Ag, Cd, K, Mn, Pb, Zn, W и др. В данной работе напыления не требовалось, поскольку извлеченные из хвостов ШОУ металлы сразу же поступают внутрь клеток, пропитывают и уплотняют их структуры и обеспечивают удовлетворительную визуализацию. Из рис. 2 видно, что из четырех слоев КС самым «чувствительным» к металлам является поверхностный (глюкановый) слой. Он насыщается ионометаллами, утолщается от первоначального 0,1 мкм до 0,3-0,5 мкм, расслаивается на части и фрагментами отторгается от глюкопротеидного, белкового и внутреннего хитинового слоев, соединяющихся в один контрастированный слой. Однако по мере продвижения ионометаллов внутрь клеток четкость других структурных составляющих на плоскости среза уменьшается. Это зависит от стадии развития клетки, толщины границ между органеллами и пр. На микрофотографиях не различимы митохондрии, аппарат Гольджи и рибосомы, слабо визуализируются расширенные (в среднем до 0,6 мкм) с нечеткими контурами ломасомы (рис. 4) и эндоплазматический ретикулум. По сравнению с ними яснее видна ЦПМ. Она утолщается до 0,3 мкм и местами образует на поверхности довольно крупные частицы трансформированных металлов (рис. 4). Обращают внимание сильно расширенные (до 10 мкм) межклеточные перегородки (септы). На фоне «прокрашенных» металлами структур другие компоненты цитоплазмы (вода, электролиты, глюкоза, белки и пр.) не визуализируются. Тем не менее, проникших ионометаллов оказалось достаточно, чтобы у клеток нарушился электролитный состав, ферментные и прочие системы, потерялся тургор и развился плазмолиз. Как правило, гибель клетки вызывает выпуклый плазмолиз (рис. 3), меньшая опасность исходит от уголкового варианта. Вовлекается в сферу действия ТМ и клеточное ядро. Согласно рис. 4 и 5 у одних клеток оно деформируется, у других сохраняет округлую форму. Однако на ядерной оболочке часть металлов преобразуется в нежный тонкий адсорбат, другая часть проникает через ее поры, возможно, разрывы, внутрь ядра и не четко контрастирует структуры кариоплазмы. Не остаются интактными и конидии *P. canescens* – подобно гифам, их поверхность адсорбирует и аккумулирует ТМ в виде грубого массивного адсорбата (рис. 6).

О том, что выщелоченные рудные элементы комплексно проникают в клетки *P. canescens* и их структуры, свидетельствует в мицелии уровень (мкг/г. сух. б.м.) Co (34,3), Cr (149,7), Cu (391,8), Ni (111,2), Zn (120,6) и Pb (141,4). В сравнительно меньших количествах элементы накапливаются в инкубационном растворе (мкг/л): Co – 250,0; Cr – 317,0; Cu – 307,0; Ni – 140,0; Zn – 145,0; Pb – 610,0. Различия по содержанию металлов в биомассе и растворе подтверждают известный факт, что большинство грибов аккумулируют ТМ в количествах, во много раз превышающих потребности. По обобщенным сведениям [10] на КС в основном задерживаются Hg, Ag и Cd, внутрь клетки частично переносятся Cu, Zn, Ni, Co, Pb, Cr и Sr, с ЦПМ реагируют Cu, Zn, Ni, Co, Hg, Ag. Одновременно подчеркнем, что биоаккумуляция металлов наиболее эффективна при развитии плесневых грибов на полноценной питательной среде, иначе, в первом пассаже. В наших же случаях в присутствии минерального субстрата, без обновления питательной среды, даже при кислотном pH (3,0-1,0) *P. canescens* развивается и функционирует включительно к шестому пассажу. Необычно продолжительная его жизнестойкость объясняется способностью использовать все необходимые для питания продукты напрямую из инкубационного раствора, куда они поступают при гибели вегетативных клеток и конидий. Правда, к этому сроку мицелий уже «стареет»: уменьшается вес его биомассы, теряется потенциал роста, гифы истончаются, уплотняются и разрываются, конидии разрушаются и больше не прорастают.

Таким образом, одной из ведущих гигиенических проблем питьевого водоснабжения являются именно хлороустойчивые формы микроорганизмов, распространенные в природе, и тяжелые металлы, которые выщелачиваются бактериями и грибами из почв, отходов горнорудной промышленности и пр. В частности, в опытах *in vitro* из хвостов ШОУ ТМ извлекаются, адсорбируются, трансформируются и депонируются плесневым грибом *Penicillium canescens*. Причем, эффективней эту роль выполняют клеточная стенка, ее поверхностный слой, цитоплазматическая мембрана, межклеточные септы и стенка конидий. Хлороустойчивые формы и закрепленные на обрывках клеток ТМ из биотопов переносятся ветром, дождевыми потоками, дикими животными и прочими переносчиками в реки, ручейки и водоемы. Благодаря своим размерам они могут пропускаться системами фильтрации при водоподготовке, попадать с питьевой водой в организм человека, причинять вред здоровью и влиять на продолжительность жизни. Поэтому необходимо продолжать совершенствовать технологию водочистки и способы дезинфекции, обеспечивать экологическую надежность места водозабора и экологическую безопасность проживающего населения.

Литература

1. Водоподготовка. Справочник / Под. ред. С.Е. Беликова. – М.: Аква- Терм. – 2007. – 240 с.
2. Государственный доклад «О состоянии санитарно- эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2013 году. – М. – 2014. – 191 с.
3. Елисеева И.В., Бабич Е.М., Волянский Ю.Л. и др. О роли латентных, трудно культивируемых и некультивируемых персистентных бактерий в патологии человека // Анналы Мечніківського Інституту. - 2006. - № 1. - С. 12–46.
4. Катола В.М. Токсичные металлы в окружающей среде Благовещенска // Экол. и пром. Росии. – 2010. – № 3. – С. 27- 29.
5. Катола В.М. Морфофункциональные особенности бактерий и микромицетов, вегетирующих в старых отходах золотодобычи // Бюл. физиол. и патол. дыхания. – 2014. – Вып. 53. – С. 109-113.
6. Катола В.М. Хлорирование воды: его эффективность, недостатки, хлорустойчивые микроорганизмы и их значимость // Водоочистка, водоподготовка, водоснабжение. – 2015. – № 6. – С. 33-37.
7. Мальцев С.В., Мансурова Г.Ш. Что такое биопленка? // Природная медицина. - 2013. - № 1 (13). - С. 86–89.
8. Мокиенко А. В., Петренко Н. Ф., Гоженко А. И. Токсикологическая гигиеническая оценка диоксида хлора как средства обеззараживания воды. Обзор литературы и результаты собственных исследований // Современ. проблемы токсикологии. – 2006. – № 4. – С. 44-49.
9. Мулюкин А.Л. Покоящиеся формы неспорообразующих бактерий: свойства, разнообразие, диагностика: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – М., 2010. – 48 с.
10. Сенцова О.Ю., Максимов В.Н. Действие тяжелых металлов на микроорганизмы //Успехи микробиологии. – 1985. – Т.20. – С. 227- 252.
11. Шубенок А. Обеззараживание воды смешанными оксидантами // Виробнично практичний журнал. – 2014. – № 5. – С. 69-72.

Сведения об авторах

Катола Виктор Моисеевич - к.м.н., в.н.с. РАН Институт геологии и природопользования ДВО РАН,
E-mail: katola-amur@list.ru.