

## ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЕ РАБОТЫ УЧАЩИХСЯ

**В разделе публикуются исследовательские работы школьников, выполненные в самых разных областях знаний. В журнале представлены исследования участников различных всероссийских конкурсов и конференций.**

### Санитарно-бактериологический анализ поверхностных вод устья реки Туломы

Проект выполнила:

**Бойко Ксения,**

ученица 11 «Г» класса МБОУ «Мурманский политехнический лицей»

Руководитель:

**Икко Наталья Викторовна,**

кандидат биологических наук, зав. лабораторией ДТ «Кванториум-51»,  
ГАУДО МО «МОЦДО «Лапландия»

Известно, что очистные сооружения города Мурманска, особенно в южной его части, морально устарели и требуют реконструкции. Сточные воды поступают в Кольский залив и реку Тулому недостаточно очищенными. В связи с этим возникает риск загрязнения залива и реки фекальными массами. Одним из основных показателей степени фекального загрязнения воды являются общие колиформные бактерии (ОКБ). Большинство колиформных бактерий являются патогенными и условно-патогенными и могут вызывать острые кишечные заболевания у человека. Поэтому необходимо регулярно проводить санитарно-бактериологические исследования воды в местах поступления сточных вод в Кольский залив и реку Тулому.

Целью проведённой работы является проведение санитарно-бактериологического анализа поверхностных вод устья реки Туломы вблизи потенциальных источников загрязнения. В процессе исследования были использованы следующие методы: метод мембранной фильтрации, метод бактериологического посева на питательные

среды, метод окрашивания по Граму, микроскопический метод исследования, статистические методы.

Исследование показало, что концентрация бактерий не превышает установленную норму. Опираясь на полученные результаты, можно оценить степень бактериального загрязнения устья реки Туломы, а также сделать выводы о качестве очистки сточных вод в городе Мурманске.

#### Введение

В поверхностных водоёмах всегда присутствует бактериальная флора. Основным показателем степени загрязнения воды является уровень содержания в ней общих колиформных бактерий. Источниками загрязнения поверхностных водоёмов являются плохо очищенные сточные воды. По этой причине по наличию колиформных бактерий всегда можно судить о неприемлемой работе очистных систем.

Известно, что очистные сооружения города Мурманска, особенно в южной его части, морально устарели и требуют реконструкции. Сточные воды поступают



в Кольский залив и реку Тулому недостаточно очищенными. В связи с этим возникает риск загрязнения залива и реки фекальными массами. Одним из основных показателей степени фекального загрязнения воды являются общие колиформные бактерии (ОКБ). Большинство колиформных бактерий являются патогенными и условно-патогенными и могут вызывать острые кишечные заболевания у человека.

Поскольку проблема бактериального загрязнения поверхностных водоёмов тесно связана со здоровьем человека, необходимо регулярно проводить санитарно-бактериологические исследования воды в местах поступления сточных вод в Кольский залив и реку Тулому.

**Цель:** провести санитарно-бактериологический анализ поверхностных вод устья реки Туломы вблизи потенциальных источников загрязнения.

#### **Задачи**

1. Описать морфологию колоний бактерий, выросших на среде Эндо.
2. Подтвердить принадлежность бактерий к группе общих колиформных бактерий (ОКБ).
3. Установить концентрацию общих колиформных бактерий (ОКБ) в пробах.
4. Сравнить установленную в пробах концентрацию бактерий с нормативными показателями.

**Гипотеза:** в связи с недостаточной фильтрацией канализационных вод, сливаемых в открытые водоёмы Мурманской области, уровень бактериального загрязнения в них может превышать установленную норму.

#### **Методы исследования**

1. Метод мембранной фильтрации.
2. Метод бактериологического посева на питательные среды.
3. Метод окрашивания по Граму.
4. Микроскопический метод исследования.

#### **Практическая часть**

##### *1.1. Материалы и методы исследования*

Работа была выполнена на базе лаборатории «Биоквантума» детского технопарка «Кванториум-51». Исследование проводилось 23 сентября — 7 октября 2020 г.

На первом этапе была проведена стерилизация оборудования для забора проб в соответствии с ГОСТ 31942–2012 «Вода. Отбор проб для микробиологического анализа». Приготовление питательных сред

было выполнено по общим требованиям ГОСТ Р 51456-2000. Подготовка мембранных фильтров и фильтровального аппарата было сделано в соответствии с МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды».

#### **Характеристика мест отбора проб**

1. Река Тулома под Кольским мостом: в этом месте была обнаружена труба, предположительно используемая для слива сточных вод. Отбор проб производился на расстоянии около 10 м от обнаруженной трубы, т.к. доступ к ней был ограничен в связи с осуществляемыми в этой точке строительными работами.

2. Вересова губа: в данной точке также была обнаружена водосточная труба, используемая для слива канализационных вод.

3. Контрольная проба: эта проба была взята на расстоянии около 30 м вверх по течению от обнаруженной на Вересовой губе водосточной трубы.

Пробы воды по 500 мл были взяты в трёхкратной повторности с соблюдением требований, описанных в ГОСТ 31942-2012 «Вода. Отбор проб для микробиологического анализа».

После подготовительного этапа и отбора проб было сделано определение общих колиформных бактерий по методическим указаниям МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды», методом мембранной фильтрации. Объём пробы воды равный 500 мл фильтровали через стерильные мембранные фильтры с диаметром пор равным 0,3 мкм (мембрана МФАС-МА-6, Владипор), с помощью фильтровального аппарата «Владисарт». Затем, не переворачивая, мембранный фильтр переносили на дифференциальную среду Эндо. Чашки с посевами поместили в термостат дном вверх и инкубировали в течение 24 часов при температуре равной  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ .

После окончания инкубации посевов мы регистрировали в журнале испытаний отсутствие или наличие на мембранных фильтрах колоний микроорганизмов. Учитывали в качестве лактозоположительных все выросшие на мембранных фильтрах характерные колонии независимо от их размера (на среде Эндо — с тёмно-красной окраской и металлическим блеском или без него, слизистые с красным центром и отпечатком на оборотной стороне фильтра).

Подсчёт колоний был выполнен 25 сентября 2020 г. Также был выполнен отбор колоний и окрашивание по Граму.

Для подтверждения принадлежности колоний к колиформным бактериям проводили посев отобранных колоний на среду Эйкмана в бродильных пробирках.

## 1.2. Результаты исследования

### 1.2.1. Морфология бактериальных колоний

В результате посева на среду Эндо в чашках Петри были обнаружены колонии трёх типов. Морфология выросших колоний описана в табл. 1. Фотографии колоний приведены в приложении 3.

### 1.2.2. Идентификация бактерий

Для определения окраски по Граму были сделаны препараты бактерий из отдельных колоний. Окрашивание показало, что обнаруженные бактерии являются грамотрицательными (окрасились в розовый цвет). При дальнейшем микроскопировании выяснилось, что бактерии имеют палочковидную форму, что характерно для общих колиформных бактерий. Результаты окрашивания по Граму приведены в приложении 4.

Также был выполнен посев отобранных колоний бактерий на глюкозо-пептонную среду (среда Эйкмана) и инкубирование их при  $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 24 часов. В результате я получила, что во всех пробирках образовались пузырьки газа, а также произошло помутнение среды. Это означает, что во всех исследованных колониях были выявлены бактерии, относящиеся к колиформной группе. Результаты посева на среду Эйкмана приведены в приложении 5.

Таким образом, во всех исследованных колониях были выявлены бактерии, относящиеся к колиформной группе.

### 1.2.3. Расчёт общего микробного числа в пробах воды

Подсчёт колоний был выполнен 25 сентября 2020 г. Далее был выполнен учёт результатов в соответствии с приведённой ниже формулой. Результаты представлены в табл. 2.

$$X = \frac{a \cdot 100}{V}$$

$X$  – число колоний в 100 мл  
 $V$  – профильтрованный объём воды через фильтры, на которых велся учёт  
 $a$  – число подсчитанных на этих фильтрах колоний в сумме

Из таблицы видно, что в соответствии с СанПиН 2.1.5.980-00 «Гигиенические требования к охране поверхностных вод» полученные результаты не превышают установленную норму КОЕ ОКБ/100 мл  $\leq 500$ .

### 1.2.4. Выводы

При посеве на среду Эндо выявлено три типа бактериальных колоний.

Установлена принадлежность большинства выросших на среде Эндо бактерий к группе ОКБ.

Рассчитанная концентрация бактерий в пробах воды из устья реки Туломы не превышает норму, прописанную СанПиН 2.1.5.980-00.

Таким образом, наша гипотеза не подтвердилась. Исходя из полученных результатов, можно сделать вывод, что степень фекального загрязнения исследуемого мною водоёма находится на допустимом уровне. 📌

Таблица 1

Сравнение типов колоний, выросших на среде Эндо

| Признак      | Тип 1                                             | Тип 2                                               | Тип 3                                      |
|--------------|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| Цвет         | Тёмно-красные, субстрат под колониями стал тёмным | Светло-красные, субстрат под колониями не изменился | Белые, субстрат под колониями не изменился |
| Размер       | Мелкие (1–2 мм) и точечные                        | Мелкие (1–2 мм) и точечные                          | Мелкие (1–2 мм) и точечные                 |
| Форма        | Круглая                                           | Круглая                                             | Круглая                                    |
| Край         | Ровный                                            | Ровный                                              | Ровный                                     |
| Поверхность  | Гладкая, с металлическим блеском                  | Гладкая, глянцевая                                  | Гладкая, глянцевая                         |
| Прозрачность | Непрозрачные                                      | Непрозрачные                                        | Полупрозрачные                             |
| Структура    | Однородная                                        | Однородная                                          | Однородная                                 |
| Профиль      | Приподнятый                                       | Приподнятый                                         | Выпуклый                                   |
| Консистенция | Мягкая, тягучая                                   | Мягкая, тягучая                                     | Мягкая, тягучая                            |



Таблица 2

Общее микробное число в образцах воды из устья реки Тулома

| Название пробы    | Среднее количество колоний в одной чашке Петри | Среднее количество КОЕ ОКБ в 100 мл исследуемой воды | Норма КОЕ ОКБ в 100 мл исследуемой воды по СанПиН 2.1.5.980-00 |
|-------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Вересова губа     | 880±48                                         | 35±2                                                 | 500                                                            |
| Кольский мост     | 599±79,48                                      | 24±3,22                                              | 500                                                            |
| Контрольная проба | 148±6,02                                       | 6±0,33                                               | 500                                                            |

## Литература

### Нормативно-правовые документы

1. СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения». 2001 г.
2. СанПиН 2.1.5.980-00 «Гигиенические требования к охране поверхностных вод». 2001 г.
3. ГОСТ Р 51592-2000 «Вода. Общие требования к отбору проб». 2000 г.
4. МУК 4.2.1884-04 «Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов». 2004 г.
5. МУК 4.2.1018-01 «Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды». 2001 г.
6. ГОСТ 31942-2012 «Вода. Отбор проб для микробиологического анализа».
7. ГОСТ Р 51456-2000 «Общие требования к питательным средам».

### Интернет-источники

8. Метод мембранных фильтров [Электронный ресурс]. — Режим доступа: [https://studref.com/430320/agropromyshlennost/metod\\_membrannyh\\_filtrov](https://studref.com/430320/agropromyshlennost/metod_membrannyh_filtrov)
9. ОКБ в воде — <https://nortest.pro/stati/voda/obshhie-koliformnye-bakterii-v-vode.html>
10. Микроценозы водоёмов [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://nsau.edu.ru/images/vetfac/images/ebooks/microbiology/stu/bacter/ecologia/mfvod.htm>
11. Микробиологические показатели качества воды [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.msulab.ru/knowledge/water/microbiological-indicators-of-water-quality/>
12. Enterobacter [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.gastroscan.ru/handbook/118/3343>
13. Citrobacter [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.gastroscan.ru/handbook/118/3342>
14. Escherichia [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://en.wikipedia.org/wiki/Escherichia>
15. [https://www.gastroscan.ru/handbook/118/3231?sphrase\\_id=313621](https://www.gastroscan.ru/handbook/118/3231?sphrase_id=313621)
16. Klebsiella [Электронный ресурс]. — Режим доступа: [https://www.gastroscan.ru/handbook/118/3114?sphrase\\_id=313622](https://www.gastroscan.ru/handbook/118/3114?sphrase_id=313622)

### Учебная литература

17. Шеховцова Н.В. «Экология водных микроорганизмов» Учебное пособие.
18. Богданова О.Ю. «Микробиология водных систем». Учебное пособие.
19. Лысак В.В. «Микробиология».

## Приложение 1

### Работа в лаборатории «Биоквантума» ДТ «Кванториум-51»



## Приложение 2

### Точки отбора проб



*Вересова губа*

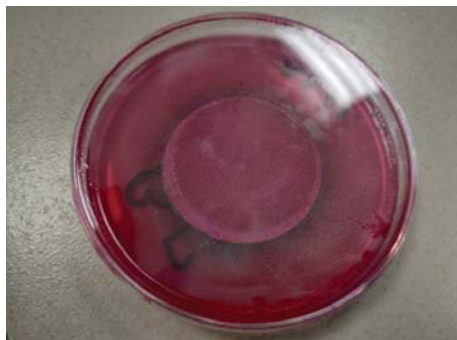


*Река Тулома под Кольским мостом*

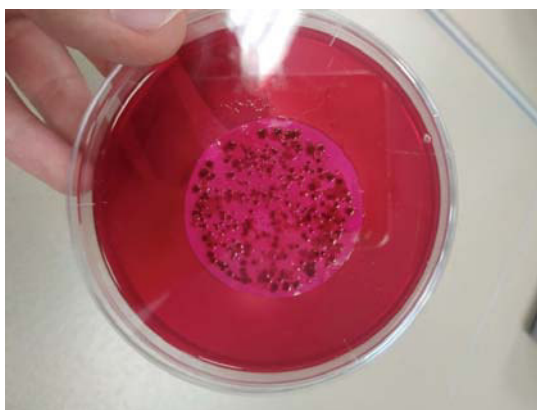


## Приложение 3

### Бактериальные колонии, выросшие на среде Эндо



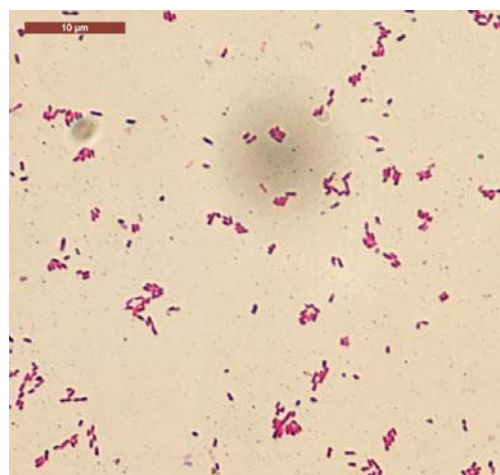
*Множественные точечные колонии в пробах, взятых у источников загрязнения*



*Небольшое количество колоний в контрольной пробе*

## Приложение 4

### Результаты окрашивания по Граму



*Грамотрицательные палочки*

Результаты посева на среду Эйкмана  
(контрольный вариант — прозрачная среда)

