

## ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ДИНАМІКИ МІКРОБНИХ ЦЕНОЗІВ ФАСОВАНОЇ НЕГАЗОВАНОЇ МІНЕРАЛЬНОЇ ЛІКУВАЛЬНО-СТОЛОВОЇ ВОДИ

Український науково-дослідний інститут медичної реабілітації  
та курортології Міністерства охорони здоров'я України, Одеса

### Вступ

Однією із загальновідомих ознак сьогодення є ріст споживання підземних мінеральних вод, об'єм ринку яких у 2010 р. становив приблизно 2 млрд л. Це обумовлює необхідність підвищення контролю їх якості, у тому числі автохтонної (суто специфічної природної непатогенної) та алохтонної (санітарно-показової, зокрема, умовно-патогенної) мікробіоти [1].

У контексті гігієнічної оцінки мінеральних вод особливо важливим є адекватний мікробіологічний контроль готової продукції, оскільки її інфікування небезпечно для певних категорій населення, які узагальнюються в так звані групи ризику (діти, люди похилого віку, особи з тими чи іншими явищами імунодефіциту тощо) [2].

Аналіз даних літератури щодо висіюваності санітарно-показових мікроорганізмів із фасованих мінеральних вод в Україні та за кордоном свідчить про значущість проведення оцінки рівнів їх біологічної контамінації [3–6].

Окрім того, для виключення ризику погіршення якості вод у процесі тривалого зберігання необхідно вивчати автохтонну мікробіоту. Наприклад, сульфатвідновлювальні бактерії сприяють появі у воді сірководню; тіонові бактерії — стійкої опалесценції завдяки утворенню колоїдної сірки [7–9].

Згідно з вимогами Директиви 2009/54/ЄС [10], мінеральні води не підлягають будь-якій обробці, яка здатна змінити або знищити автохтонні мікроорганізми. Згідно зі статтею 5 цієї Директиви, після фасування у пляшки загальна кількість колоній бактерій природної мінеральної води не повинна перевищувати 100 колонієутворювальних одиниць (КУО) в 1 см<sup>3</sup> при температурі 20–22 °С через 72 год та 20 КУО в 1 см<sup>3</sup> при температурі 37 °С через 24 год.

**Мета:** гігієнічна оцінка динаміки мікробних ценозів фасованої мінеральної природної лікувально-столової негазованої води «Куяльник» упродовж терміну зберігання 16 міс.

Об'єкт досліджень: фасована мінеральна природна лікувально-столова вода негазована «Куяльник» у поліетиленових пляшках місткістю 1,5 дм<sup>3</sup>.

### Матеріали та методи дослідження

Кількість мікроорганізмів еколого-фізіологічних груп (автохтонні мікроорганізми) та санітарно-показових (алохтонні мікроорганізми) в мінеральних водах виявляли методом посіву на щільні та рідкі поживні середовища [11–13].

Кількість сапрофітних і споруотворювальних бактерій визначали на поживному агарі; олігокарботрофних — на середовищі Горбенко, дріжджів, плісневих грибів — на середовищі Сабуро; актиноміцетів —

на середовищі Країнського; стрептоміцетів — на середовищі з органічним азотом; гетеротрофних бактерій — продуцентів амінокислот — на модифікованому середовищі Вербіної; амілолітичних — на крохмальному агарі; залізоокиснювальних і марганецьокиснювальних — за методикою Svorcova; маслянокислих — на середовищі Бейеринка; жиророзщеплювальних — на середовищі Селібера; метанутворювальних — на середовищі Баркера; вуглеводнеокиснювальних — на середовищі Таусона; сульфатвідновлювальних (*Desulfovibrio desulfuricans*) — на середовищі Штурм; тіонових (*Thiobacillus thio-parus*) — на середовищі Бейеринка; амоніфікувальних — на поживному бульйоні; денітрифікувальних — на середовищі Гільтая.

Кількість життєспроможних мікроорганізмів оцінювали за вмістом КУО в 1 см<sup>3</sup> води.

Санітарно-показові мікроорганізми визначали так: загальні коліформні бактерії — на лактозо-пептонному середовищі (ЛПС), Ендо, напіврідкому ЛПС; *Pseudomonas aeruginosa* — на цетилпіридинійхлоридному (ЦПХ) агарі, Кінг А, Х'ю-Лейфсона та поживному агарі; загальне мікробне число (ЗМЧ) — на поживному агарі.

### Результати дослідження та їх обговорення

За результатами досліджень хімічної лабораторії, мінераль-

Результати моніторингу висіюваності таксономічних груп мікроорганізмів мінеральної природної лікувально-столової води «Куяльник» негазованої на щільних поживних середовищах, КУО/см<sup>3</sup>

Мікроорганізми	Місяць зберігання																
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Сапрофітні бактерії — продуценти каталази	1,8·10 <sup>2</sup>	64·10 <sup>2</sup>	9,6·10 <sup>1</sup>	4,0	3,0	3,0	0	0	1,0	0	7,0	0	8,5·10 <sup>1</sup>	5,6·10 <sup>1</sup>	0	6·10 <sup>1</sup>	7,0
Мікроорганізми, які засвоюють органічний азот	3,3·10 <sup>2</sup>	1,8·10 <sup>3</sup>	0	5,8·10 <sup>2</sup>	1,8·10 <sup>3</sup>	5·10 <sup>1</sup>	0	1,1·10 <sup>3</sup>	0	8,9·10 <sup>1</sup>	0	0	4,0	5,0	0	3,7·10 <sup>1</sup>	0
Олігокарботрофні бактерії	1,7·10 <sup>2</sup>	8,1·10 <sup>2</sup>	1,6·10 <sup>2</sup>	6,4·10 <sup>2</sup>	3,4·10 <sup>3</sup>	5·10 <sup>1</sup>	9,6·10 <sup>2</sup>	1,6·10 <sup>3</sup>	0	0	1,7·10 <sup>1</sup>	0	7,0	6,8·10 <sup>2</sup>	0	1·10 <sup>2</sup>	1,0
Гетеротрофні бактерії — продуценти амінокислот	0	0	0	1,0	2,0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Амілолітичні	2,0	6·10 <sup>1</sup>	0	0	0	3,0	0	0	0	0	0	1,0	0	0	0	1·10 <sup>1</sup>	0
Залізоокиснювальні	0	3,5·10 <sup>1</sup>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

на природна лікувально-столова вода «Куяльник» (далі вода) за своїм складом є хлоридною натрієвою із загальною мінералізацією 3–4 г/дм<sup>3</sup>. Тип води, формула її хімічного складу та санітарно-хімічний стан упродовж терміну зберігання (16 міс.) не змінювалися і відповідали вимогам ДСТУ 878-93 [14].

Результати досліджень таксономічних груп мікроорганізмів води свідчать про суттєві коливання їх якісного та кількісного складу (табл. 1).

Максимальну кількість сапрофітів (6,4·10<sup>2</sup> КУО/см<sup>3</sup>) спостерігали після першого місяця зберігання, відсутність росту — на 6, 9, 11-му місяці. Чисельність олігокарботрофних бактерій дещо знизилась у 1-й день дослідження, у подальшому їх кількість значно перевищувала кількість сапрофітів. Це перевищення характерне для вод, які не забруднені органічними відходами.

Мікроорганізми, які засвоюють органічний азот, інтенсивно розвивалися на 1, 4, 7-му місяці, однак їх ріст не виявлено на 2, 6, 8, 10, 11, 14-му місяці. Незначну кількість і несистематичне висіювання (у день відбору, після 1, 5, 11, 15-го місяця) спостерігали в амілолітичних бактерій. Гетеротрофні бактерії — продуценти амінокислот — почали реєструвати лише після 3-го місяця зберігання, їх кількість становила 1 КУО/см<sup>3</sup>, а після 4-го місяця — 2 КУО/см<sup>3</sup>, в останні місяці дослідження їх росту не спостерігали. Залізоокиснювальні мікроорганізми зареєстровано тільки після 1-го місяця зберігання.

Виявлено відсутність у воді актиноміцетів, стрептоміцетів, дріжджів, плісневих грибів, які здатні погіршувати органічні показники; мікобактерій (показників забруднення водоносного горизонту органічними відходами), споротворювальних, марганецьокиснювальних.

Інтенсивність розвитку представників різних еколого-фізіологічних груп оцінювали у балах за такою шкалою: виявлення росту на 5-ту добу відповідає 5 балам, на 10-ту — 4, на 20-ту — 3, на 40-ву — 2 та на 60-ту — 1 балу [11]. Результати подано на рис. 1.

Як видно із представлених даних, для маслянокислих бактерій (продуцентів масляної кислоти) ріст оцінено у 5 балів — на 1, 4, 5, 12, 14-му місяці та в день посіву; не висіювалися дані бактерії на 6, 7, 9, 11, 13-му місяці зберігання. Жиророзщеплювальні бактерії розвивалися менш інтенсивно і були оцінені у 5 балів лише на 13-й місяць; не висіювалися на 4, 5, 7, 12, 14, 15-му місяці зберігання. Метанутворювальні мікроорганізми (продуценти метану, СО<sub>2</sub> і вітаміну В<sub>12</sub>) було оцінено у 5 балів на 1, 2, 3, 4, 5, 14-му місяці зберігання, не висіювалися на 7, 8, 11, 13-му місяці. Постійно фіксували коливання інтенсивності росту тіонових бактерій — від 2 до 5 балів: максимальною вона була на 2, 3, 14-му місяці зберігання.

Упродовж усього дослідження фіксували стабільно інтенсивний ріст амоніфікувальних аеробів та анаеробів. Амоніфікувальні аероби продукували NH<sub>3</sub> впродовж 16 міс. дослідження, продукування H<sub>2</sub>S реєстрували на 5, 8, 12, 15-му місяці зберігання. Амоніфікувальні анаероби сприяли виділенню H<sub>2</sub>S лише при посіві в день відбору з інтенсивністю у 4 бали.

Денітрифікувальні бактерії (обумовлюють процеси міграції азоту в мінеральних водах і впливають на вивільнення водної маси від нітратів і нітритів) реєстрували до 2-го місяця зберігання. Вуглеводнеокиснювальні мікроорганізми зафіксовано до 3-го місяця зберігання, сульфатвідновлювальні — лише в день відбору. Константовано відсутність росту целюлозоруйнівних аеробів й анаеробів.

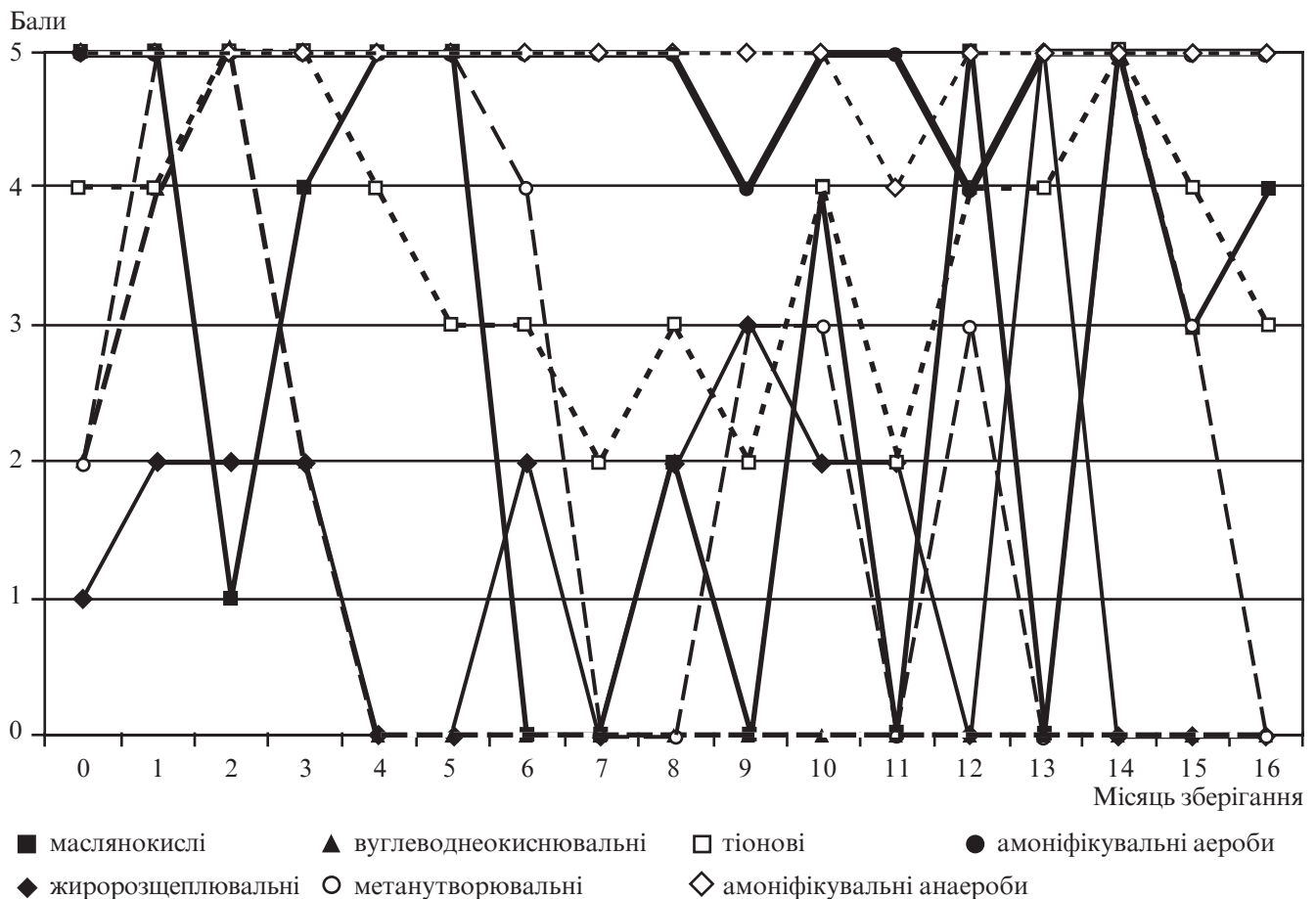


Рис. 1. Порівняльна оцінка інтенсивності росту еколого-трофічних груп мікроорганізмів мінеральної природної лікувально-столової негазованої води «Куяльник»

За санітарно-мікробіологічними показниками мінеральна природна лікувально-столова негазована вода «Куяльник» відповідає чинним вимогам до якості природних мінеральних вод [14].

Слід зазначити, що значущість гігієнічної оцінки мікробіоти мінеральних вод викликана не тільки її поширеністю, але і здатністю впливати на бальнеологічні властивості конкретної води. Так, мінеральні води, окрім загальноукріплювальної та імуномодулюючої дії, можуть специфічно впливати на перебіг деяких хвороб, що обумовлено їх антиспастичним, гіпотензивним, знеболювальним, гемопластичним і трофічним впливом. Ця біологічна дія мінеральних вод значною мірою залежить від продуктів метаболізму їх

мікробних ценозів (цукри, аміноцукри, амінокислоти), які становлять близько 1 % усієї маси органічних речовин [15]. У підземних водах виявляються амоніфікувальні, денітрифікувальні, тіонові, воденьокиснювальні, метанокиснювальні, маслянокислі, сульфатвідновлювальні, воденьпродукуючі, метанутворювальні та інші бактерії [16–20].

Враховуючи, що мікробіота, яка є у природній мінеральній воді, не повинна змінюватися під впливом будь-яких обставин [10], слід зазначити таке. При порівнянні висіюваності автохтонної мікробіоти мінеральної води «Куяльник» залежно від термінів зберігання встановлено, що впродовж трьох місяців у воді реєструвалася мікробіота, яка притаманна їй у природному стані.

Це сапрофітні бактерії-продуценти каталази, мікроорганізми, які засвоюють органічний азот, олігокарботрофні бактерії, амоніфікувальні (аероби, анаероби), маслянокислі, жиророзщеплюючі, метанутворювальні, вуглеводнеокиснювальні, тіонові бактерії (*Thiobacillus thioparus*). До 16-го місяця зберігали свою життєздатність амоніфікувальні аероби та анаероби, маслянокислі та тіонові бактерії.

### Висновки

Отримані результати засвідчують повну збереженість якісного стану хлоридної натрієвої фасованої мінеральної природної лікувально-столової негазованої води «Куяльник» за вимогами нормативних документів і Директиви 2009/54/ЄС упродовж 3 міс. зберігання.

Це обумовлює необхідність відповідного скорочення чинних термінів придатності до споживання фасованих мінеральних лікувально-столових негазованих вод.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. *Порядок* здійснення медико-біологічної оцінки якості та цінності природних лікувальних ресурсів / К. Д. Бабов, Т. А. Золотарьова, Б. А. Насібуллін [та ін.]. – К. : КІМ, 2008. – 176 с.

2. *Guidelines for drinking water quality* // World Health Organisation. – The 3rd ed. – Vol. 1. Recommendations. – Geneva, 2004. – 495 p.

3. *Ніколенко С. І.* Динаміка висіювання санітарно-показових мікроорганізмів з газованих та негазованих фасованих мінеральних вод / С. І. Ніколенко, О. М. Хмелевська, А. В. Мокиєнко // Сучасні проблеми епідеміології, мікробіології, гігієни : наук.-практ. конф. : матеріали. – Львів, 2008. – С. 365–367.

4. *Tsai G.* Microbiological evaluation of bottled uncarbonated mineral water in Taiwan / G. Tsai, S. Yu // *Int. J. Food Microbiol.* – 1997. – Vol. 37, N 7. – P. 137–143.

5. *Korzeniewska E.* Microbiological quality of carbonated and non-carbonated mineral water stored at different temperatures / E. Korzeniewska, Z. Filipkowska, S. Domeradzka // *Pol. J. Microbiol.* – 2005. – N 54. – P. 27–33.

6. *Influence of autochthonous bacteria on the longevity of Escherichia coli in bottled mineral water* / R. Duclezeau, J. Nicolas, J. Galpin [et al.] // *Sciences des aliments.* – 1984. – N 4. – P. 585–593.

7. The bacterial flora of non-carbonated natural mineral water from the

springs to reservoir and glass and plastic bottles / T. Bischofberger, S. Cha, R. Schmitt [et al.] // *Int. J. Food Microbiol.* – 1990. – Vol. 11, N 1. – P. 51–71.

8. *Loy A.* Diversity of Bacteria Growing in Natural Mineral Water after Bottling / A. Loy, W. Beisker, H. Meier // *Applied and Environmental Microbiology.* – 2005. – Vol. 71, N 7. – P. 3624–3632.

9. *Нікіпелова О. М.* Фізико-хімічний склад і мікробний ценоз мінеральних вод України, які містять умовно есенціальні мікроелементи: бор та кремній / О. М. Нікіпелова, С. І. Ніколенко, Л. Б. Солодова // Український бальнеологічний журнал. – 2001. – № 4. – С. 59–63.

10. *Directive 2009/54/EC of the European Parliament and of the council of 18 June 2009 on the exploitation and marketing of natural mineral waters (Recast) (Text wwith EEA relevans)* [Електронний ресурс]. – Режим доступа : [http://www.fsai.ie/uploaded.Files/Legislation\\_Links/Water/Dir\\_2009\\_54.pdf](http://www.fsai.ie/uploaded.Files/Legislation_Links/Water/Dir_2009_54.pdf)

11. *Ніколенко С. І.* Посібник з методів контролю природних мінеральних вод, штучно-мінералізованих вод та напоїв на їх основі. Ч. 2. Мікробіологічні дослідження / МОЗ України ; УкрНДІМРтаК / С. І. Ніколенко, С. М. Глуховська, М. Л. Померанец. – Одеса : Юнеско-соціо, 2002. – 32 с.

12. Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов: ГОСТ 10444. 12-88. [Введ. 01.01.90]. – М. : Изд-во стандартов, 1988. – 10 с. – (Государственный стандарт Союза ССР).

13. Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води : метод. вказівки : Наказ МОЗ України № 60 від 03.02.2005 р. // Збірник нормативно-правових документів МОЗ України. – 2005. – № 2. – С. 52–82.

14. Води мінеральні фасовані. Технічні умови : ДСТУ 878-93. – [Чинний від 1995-01-01]. К. : Держстандарт України, 1994. – 88 с. – (Державний стандарт України).

15. *Мікробні* ценози деяких радонових мінеральних вод м. Хмельник / С. І. Ніколенко, С. М. Глуховська, Л. Б. Солодова [та ін.] // Наук.-практ. конф. медпрацівників Укрзалізниці та санаторно-курортних закладів України, присв. 55-річчю з дня заснування Медичного центру реабілітації залізничників Південно-Західної залізниці. Хмельник, 14–15 травня 2008 р. : матеріали. – Хмельник, 2008. – С. 112–113.

16. *Содержание* аутохтонных микроорганизмов в природных и бутилированных минеральных водах Украины / С. И. Николенко, О. Н. Хмелевская, А. В. Мокиенко [и др.] // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2008. – № 3 (23). – Приложение 2 (часть II). – С. 441–442.

17. *Ніколенко С. І.* Микрофлора слабоминерализованных вод типа «Нафтуся» и ее влияние на бальнеологические свойства : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.07, 14.00.34 / Николенко Светлана Ивановна ; Институт микробиологии Академии наук Белорусской ССР. – Минск, 1988. – 22 с.

18. *Lorentz W.* Microbiological characteristics of natural mineral water / W. Lorentz // *Ann. Ist. Super. Sanita.* – 1976. – Vol. 12, N 2/3. – P. 92–112.

19. *Leclerc H.* Microbiological safety of natural mineral water / H. Leclerc, A. Moreau // *Microbiol. Rev.* – 2002. – Vol. 26, N 2. – P. 207–222.

20. *Reasoner D. J.* Heterotrophic plate count methodology in the United States / D. J. Reasoner // *Int. J. Food Microbiol.* – 2004. – Vol. 92, N 3. – P. 307–315.

УДК 615.327:613.3].076:579

О. М. Хмелевська, А. В. Мокиєнко, С. І. Ніколенко  
ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА ДИНАМІКИ МІКРОБНИХ  
ЦЕНОЗІВ ФАСОВАНОЇ НЕГАЗОВАНОЇ МІНЕРАЛЬНОЇ  
ЛІКУВАЛЬНО-СТОЛОВОЇ ВОДИ

Проведена гігієнічна оцінка динаміки мікробних ценозів фасованої лікувально-столової хлоридної натрієвої негазованої мінеральної води «Куяльник». Отримані дані контролю свіжорозливої води та щомісяця протягом 16 міс. зберігання дозволили встановити, що мінеральна вода відповідає вимогам чинного законодавства та Директиви 2009/54/ЄС. Встановлено, що до третього місяця у воді реєструвалася мікробіота, яка притаманна їй у природному стані.

**Ключові слова:** мінеральна вода, мікробні ценози, гігієнічна оцінка.

UDC 615.327:613.3].076:579

О. М. Khmelevska, A. V. Mokiienko, S. I. Nikolenko  
HYGIENIC ESTIMATION OF THE DYNAMIC OF  
MICROORGANISMS OF BOTTLED MINERAL MEDICAL-TABLE NON-AERATED WATER

The hygienic estimation of the dynamics of microbial cenoses bottled medical-table sodium chloride non-aerated mineral water “Kuyalnyk” is conducted. The obtained data of control of water that has just been poured and monthly during the sixteen months of storage revealed that the mineral water meets the requirements of current legislation and the Directive 2009/54/EC. It was established that before the third month in water microbiota was registered, which is peculiar to its natural state.

**Key words:** mineral water, microbial cenoses, hygienic estimation.