

УКЛАЊАЊЕ ОДАБРАНИХ БАКТЕРИЈСКИХ СОЈЕВА ИЗ СИРОВЕ ВОДЕ ДЕЗИНФЕКЦИЈОМ НАТРИЈУМ ХИПОХЛОРИТОМ

REMOVAL OF SELECTED BACTERIAL STRAINS FROM RAW WATER BY DISINFECTION WITH SODIUM HYPOCHLORITE

МЛАДЕН ПОПОВ¹ ДРАГАНА ТАМИНЦИЈА²

АНА КУЗМАНОВИЋ³

МАРИЈАНА КРАГУЉ ИСАКОВСКИ⁴

ЈЕЛЕНА МОЛНАР ЈАЗИЋ⁵ ТАЈАНА СИМЕТИЋ⁶

АЛЕКСАНДРА ТУБИЋ⁷ ДРАГАН РАДНОВИЋ⁸ ЈАСМИНА АГБАБА⁹

Оригинални научни рад

DOI: 10.5937/VIK24189P

Резиме: Дезинфекција воде је есенцијална фаза у процесу водоснабдевања, која се спроводи у циљу обезбеђивања здравствено безбедне воде за пиће односно, представља последњу препреку у преношењу бактеријских и вирусних инфекција преко воде. Основни фактори који утичу на дезинфекциону ефикасност, а самим тим и на

¹ Младен Попов, ЈКП „Водовод и канализација“, Нови Сад, mladen.popov@vikns.rs, ORCID: 0009-0008-2921-6645

² Драгана Таминција, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Нови Сад, dragana.cusak@dbe.uns.ac.rs, ORCID:0000-0001-8179-8285

³ Ана Кузмановић, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, ana.volaric@dbe.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0002-0684-439X

⁴ Маријана Крагуљ Исаковски, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Нови Сад, marijana.kragulj@dh.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0002-6880-6735

⁵ Јелена Молнар Јазић, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Нови Сад, jelena.molnar@dh.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0002-8696-7647

⁶ Тајана Симетић, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Нови Сад, tajana.djurkic@dh.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0002-0923-7034

⁷ Александра Тубић, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Нови Сад, aleksandra.tubic@dh.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0001-7503-7754

⁸ Драган Радновић, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Нови Сад, dragan.radnovic@dbe.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0003-3753-1887

⁹ Јасмина Агбаба, Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Нови Сад, jasmina.agbaba@dh.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0002-9915-2885

врсту процеса обраде воде су: врста и концентрација организама које треба уклонити, врста и концентрација дезинфектанта, време контакта и хемијски карактер и температура воде. Стога су у раду приказани резултати уклањања одабраних сојева у циљу испитивања ефикасне дозе и времена контакта натријум хипохлорита. Резултати показују да се применом овог дезифенцијенса ефикасно могу уклонити одабрани сојеви бактерија пореклом из воде након аерације. Постигнута је значајна редукција бројности бактерија у распону од 2 до 4 лог јединице у зависности од осетљивости соја, при C·t вредности од 120 min·mg/l, односно дози од 2 mg/l и времену контакта од 60 минута.

Кључне речи: микроорганизми, дезифекција, третман воде за пиће, бројност микроорганизма

Abstract: Water disinfection is an essential phase in the water supply process conducted to ensure safe drinking water, serving as the last barrier against the transmission of bacterial and viral infections through water. The main factors affecting disinfection efficiency, and consequently the type of water treatment process, include the type and concentration of organisms to be removed, the type and concentration of the disinfectant, contact time, and the chemical nature and temperature of the treated water. Therefore, this paper presents the results of the removal of selected strains to examine the effective dose and contact time of sodium hypochlorite. The results show that the application of this disinfectant can effectively remove the selected strains. A significant reduction in bacterial count was achieved, ranging from 2 to 4 log units depending on the sensitivity of the strain, at a C·t value of 120 min·mg/l, i.e., a dose of 2 mg/l and a contact time of 60 minutes.

Key Words: microorganisms, disinfection, drinking water treatment, microorganism count

1. Увод

Дезинфекција воде представља један од најважнијих корака у обезбеђивању здравствено исправне воде за пиће, која је кључна за очување јавног здравља.

Вода као есенцијални ресурс има велики значај не само за задовољавање основних људских потреба, већ и за индустријске и пољопривредне активности. Међутим, сирове воде, без обзира на њихов извор, често садрже различите врсте микроорганизма, укључујући патогене бактерије, који могу представљати ризик по здравље људи [1].

Подземни извори воде, због природног филтера слојева земљишта, генерално се сматрају сигурнијим у односу на површинске изворе. Ипак, упркос овој природној филтрацији, подземне воде могу садржати значајне количине микроорганизма, укључујући колиформне бактерије, спорулишуће бактерије као што су *Clostridium perfringens* и *Bacillus cereus*, као и патогене бактерије попут *Salmonella*, *Shigella* и *Vibrio cholerae*.

Поред бактерија, присутни су и вируси, протозое и, у неким случајевима, гљиве, које такође могу допринети микробиолошком оптерећењу воде.

Због тога је дезинфекција воде кључна у процесу третмана воде пре њене употребе као воде за пиће. Најчешће примењивана метода за дезинфекцију је хлорисање, које се може спровести употребом различитих хлорних једињења. Међу њима, натријум хипохлорит се често користи због своје једноставности примене и високог степена ефикасности.

Поред уништавања микроорганизама, хлорисање такође може довести до формирања дезинфекционих нуспродуката, као што су трихалометани, који могу представљати дугорочан здравствени ризик ако се не контролишу адекватно [2].

Циљ овог рада је испитивање ефикасности натријум хипохлорита у уклањању одабраних бактеријских сојева из сирове воде, као и одређивање оптималне дозе и времена контакта за постизање максималне дезинфекционе ефикасности.

2. Материјал и методе

Испитивања су спроведена на узорцима воде узетим са улаза у ретенциони резервоар у фабрици воде на Сунчаном кеју, Нови Сад. Овај део постројења је одабран због важности почетног квалитета воде која улази у систем за даљу прераду [3, 4]. Вода је узоркована након фазе аерације, што омогућава да се идентификују и анализирају присутни микроорганизми и физичко-хемијски параметри пре почетка основних процеса филтрације и дезинфекције.

Концентрација укупног хлора у раствору натријум-хипохлорита одређивана је јодометријском методом, док је резидуални слободни и везани хлор (моноклорамин, дихлорамин и трихлорамин) у узорцима воде одређен титрацијом са феро-амонијум-сулфатом методом DPD.

рН вредност је мерена на уређају рН/ION 735, електропроводљивост електрокондуктометром HI 933.000, а мутноћа турбидиметром Turb TB 250 WL. УВ апсорбанција на 254 и 278 nm одређивана је на спектрофотометру UV-1800 Shimadzu.

Садржај укупног и раствореног органског угљеника (ТОС и DOC) одређен је на апарату Elementar LiquiTOCII, док је биодеградабилни DOC израчунат као разлика почетног и минималног DOC.

Концентрације амонијака, нитрата, нитрита и ортофосфата, као и перманганатни индекс и тврдоћа воде, одређени су према релевантним стандардима [5].

За дезинфекцију је коришћен водени раствор натријум хипохлорита у концентрацији од 5 mg Cl₂/ml. Хлорисање је вршено при различитим почетним концентрацијама дезинфектанта, које су биле у распону од 0,5 до 10 mg Cl₂/l. Током хлорисања, праћена је концентрација резидуалног слободног хлора у води, као и формирање комбинованих облика хлора, коришћењем стандардних аналитичких метода.

Бројност бактерија у узорцима воде одређена је *spread plate* и *pour plate* методама. Инокулисане плоче хранљивог агара инкубиране су на 22°C током 72 сата и на 37°C током 48 сати. Након инкубације, извршено је бројање колонија, а бројност бактерија је изражена као CFU/ml (colony forming units).

Иzolовано је 19 најдоминантнијих и здравствено најзначајнијих бактеријских изолата. За даље испитивање одабран је један на процес дезинфекције умерено осетљив изолат (*Enterococcus faecium* 2) и један врло отпоран изолат (*Bacillus cereus* 13) продуцент ендоспора.

Минимална инхибиторна концентрација (MIC) и минимална бактерицидна концентрација (MBC) натријум хипохлорита одређене су стандардном микродилуционом методом у Милер-Хинтон бујону и узорцима воде. Ове концентрације одређују колико је хлора потребно да се заустави раст бактерија, односно да се убије 99.9% присутних бактерија. C_t вредност, која представља производ концентрације дезинфицијенса и времена контакта, одређена је за два одабрана бактеријска изолата из воде.

Експерименти су обухватили третирање ових изолата различитим концентрацијама натријум хипохлорита, а праћење је вршено на разним временским интервалима (0, 5, 10, 20, 30, 40 и 60 минута).

3. Резултати и дискусија

Табела 1 приказује резултате физичко-хемијских анализа узорака воде након аерације, али пре пешчане филтрације.

Табела 1. Физичко-хемијски параметри квалитета воде узорковане након аерације, а пре пешчане ефилтрације

Table 1. Physico-chemical parameters of water quality sampled after aeration and before sand filtration

Параметар	Мерна јединица	Резултати анализе воде
Температура	°C	19,65±0,16
Мутноћа*	NTU	4,15±1,34
pH	/	7,38±0,46

Параметар	Мерна јединица	Резултати анализе воде
Електропроводљивост	$\mu\text{S}/\text{cm}$	516 $\pm$ 13,40
Слободан хлор	$\text{mg Cl}_2/\text{l}$	<0,05
УВ _{254nm}	cm^{-1}	0,10 $\pm$ 0,01
Оксидабилност	$\text{mg KMnO}_4/\text{l}$	5,63 $\pm$ 0,40
ТОС	mg C/l	1,72 $\pm$ 0,08
DOC	mg C/l	1,38 $\pm$ 0,38
Гвожђе*	mg/l	1,32 $\pm$ 0,59
Манган*	mg/l	0,33 $\pm$ 0,04
Амонијак*	mg N/l	0,45 $\pm$ 0,11
Нитрати	mg N/l	<0,04
Нитрити	mg N/l	<0,005
Ортофосфати	mg P/l	0,14 $\pm$ 0,03
Алкалитет	mmol/l	4,33 $\pm$ 0,05
Тврдоћа	$\text{mg CaCO}_3/\text{l}$	243 $\pm$ 2,0
* изнад максимално дозвољених концентрација према Правилнику о хигијенској исправности воде за пиће (Сл. лист СРЈ бр. 42/98 и 44/99 и Сл. гласник РС бр. 28/2019).		

Важно је истаћи да је мутноћа, као и концентрација амонијака, гвожђа и мангана, изнад максимално дозвољених концентрација према *Правилнику о хигијенској исправности воде за пиће* [6]. Ове повећане вредности могу се приписати процесима у слоју који се одигравају у току обалске филтрације [1].

Резултати микробиолошких анализа указују на присуство аеробних мезо-филних и хетеротрофних бактерија у води на улазу у ретенциони резервоар. У једном узорку детектоване су и фекалне стрептококе, што представља показатељ могуће фекалне контаминације.

Минимална инхибиторна и бактерицидна концентрација натријум хипохлорита у Милер-Хинтон бујону и узорцима воде кретала се у широком опсегу од <1.25 до >1000 $\text{mg Cl}_2/\text{l}$, што указује на различиту ефикасност овог дезинфицијенса у различитим матриксама (табела 2).

Ови резултати су у складу са очекивањима, с обзиром на високу оксидациону моћ хлора у срединама са ниским садржајем органске материје каква је вода на улазу у ретенциони резервоар, док је ефикасност хлора умногоме смањена у срединама с високом концентрацијом органске материје.

Табела 2. Минималне инхибиторне и бактерицидне концентрације натријум хипохлорита за 2 бактеријска соја

Table 2. Minimum inhibitory and bactericidal concentrations of sodium hypochlorite for 2 bacterial strains

	У присуству органске материје				У води на улазу у ретенциони резервоар		
Изолат	MIC(mgCl ₂ /l)	MBC (mg Cl ₂ /l)			MBC (mg Cl ₂ /l)		
	24h	10min	60min	24h	10min	60min	24h
2	<125	500	50	500	<1.25	<1.25	<1.25
13	500	>1000	>1000	>1000	10	5	5

У експериментим одређивања $C \cdot t$ вредности применом натријум хипохлорита, уочена је значајна редукција бројности бактерија и до 4 лог јединице у зависности од бактеријског изолата, концентрације хлора и времена контакта. $C \cdot t$ вредности за два изолата су показале да је доза од 2 mg Cl₂/l са временом контакта од 60 минута довољна за постизање жељеног нивоа инаktivације микроорганизама (табела 3).

Табела 3. Предикција ефективних $C \cdot t$ вредности за 1- и 2-лог инаktivацију бактеријских изолата

Table 3. Prediction of effective $C \cdot t$ values for 1- and 2-log inactivation of bacterial isolates

Инаktivација микроорганизама <i>Enterococcus faecium</i> 2	$C \cdot t$ (mg·min/l)	C (mg Cl ₂ /l)	
		40 min	60 min
1-log	37	0,9	0,6
2-log	75	1,9	1,2
Инаktivација микроорганизама <i>Bacillus cereus</i> 13	$C \cdot t$ (mg·min/l)	C (mg Cl ₂ /l)	
		40 min	60 min
1-log	159	4,0	2,6
2-log	317	7,9	5,3

Према добијеним подацима $C \cdot t$ вредности за инаktivацију *Enterococcus faecium* (2) су 37 mg·min/l за 1 лог, односно 75 mg·min/l за 2 лог редукцију.

Вредности $C \cdot t$ за инактивацију *Bacillus cereus* су око 4 пута веће и износе 159 $\text{mg} \cdot \text{min/l}$ за 1 log, односно 317 $\text{mg} \cdot \text{min/l}$ за 2 log редукцију.

Овај резултат је у складу са претходним студијама које показују да се са повећањем концентрације хлора и времена контакта смањује бројност преживелих бактерија [7].

На основу добијених резултата може се закључити да је при времену од 60 минута контакта потребно вршити дезинфекцију дозом од 0,6 $\text{mg Cl}_2/\text{l}$ за 1 log редукцију односно 1,2 $\text{mg Cl}_2/\text{l}$ за 2 log редукцију осетљивог *Enterococcus faecium* 2. За исту редукцију отпорне бактерије, продуцента ендоспора *Bacillus cereus* 13 било би потребно применити око 4 пута вишу дозу, тј. 2,6 $\text{mg Cl}_2/\text{l}$ за 1 log, односно 5,3 $\text{mg Cl}_2/\text{l}$ за 2 log редукцију бројности. Треба имати у виду и то да продуценти ендоспора чине само мањи део укупно присутних аеробних мезофила, за које би и ниже дозе биле ефикасне.

4. Закључак

На основу добијених резултата, може се закључити да је натријум хипохлорит ефикасан дезинфицијенс за уклањање бактеријских сојева из сирове воде. Применом дозе од 2 $\text{mg Cl}_2/\text{l}$ и временом контакта од 60 минута, постиже се значајна редукција бројности бактерија, што обезбеђује безбедну воду за пиће. Међутим, стабилност раствора хипохлорита може бити проблематична уколико се не поштују услови складиштења, што може утицати на његову ефикасност.

Резултати овог истраживања су од великог значаја за побољшање процеса дезинфекције у локалним водоводима и могу послужити као основа за даља истраживања у овој области.

Предлажу се додатне студије које би укључиле испитивање дугорочне стабилности раствора хипохлорита и његовог дејства на друге микроорганизме који могу бити присутни у сировој води.

5. Литература

- [1] Bertelkamp C, *Organic Micropollutant Removal during River Bank Filtration*, Doktorska disertacija, KWR Water Research Institute, Holandija, 2015.
- [2] Далмација Б. и сар. *Пречишћавање и дезинфекција воде*. Природно-математички факултет, Нови Сад, 2005.
- [3] Kvalitet vode – Uzimanje uzoraka – Deo 3: Zaštita uzoraka i rukovanje uzorcima vode, SRPS EN ISO 5667-3:2017.
- [4] Kvalitet vode - Uzimanje uzoraka - Deo 2: Smernice za postupke uzimanja uzoraka, SRPS ISO 5667-2:1997.

- [5] APHA - AWWA - WPCF: Standard methods for the examination of water and wastewater, American Public Health Association, Washington, 2012.
- [6] Правилник о хигијенској испарвности воде за пиће, *Службени лист SRJ*, 42/98, 44/99 i 28/2019.
- [7] Van der Kooij D, Van der Wielen P. Microbial Growth in Drinking-Water Supplies: Problems, Causes, *Control, and Research Needs*. IWA Publishing, 2014.