



Младен Попов¹ Драгана Таминџија²

Маријана Крагуљ Исаковски³, Тајана Симетић⁴

Александра Тубић⁵, Драган Радновић⁶, Јасмина Агбаба⁷

Оригинални научни рад

DOI: 10.5937/VIK25133P

УТИЦАЈ ДОЗЕ ДЕЗИФИЦИЈЕНСА НА ОДАБРАНЕ ФИЗИЧКО-ХЕМИЈСКЕ И МИКРОБИОЛОШКЕ ПАРАМЕТРЕ КВАЛИТЕТА ВОДЕ

Резиме: Квалитет воде за пиће представља један од најважнијих фактора за очување јавног здравља, при чему посебну улогу има примена ефикасних метода дезинфекције. У овом раду испитиван је утицај различитих доза натријум-хипохлорита, као најчешће коришћеног дезинфекционог средства, на промену одабраних физичко-хемијских и микробиолошких параметара воде. Циљ лабораторијских испитивања био је да се утврди оптимална доза дезинфекционог средства која обезбеђује ефикасну инактивацију индикаторних микроорганизама, без негативног утицаја на остале параметре квалитета воде, попут рН вредности, електропроводљивости и садржаја резидуалног хлора. Током испитивања примене концепта $C \cdot t$, посматране су промене у микробиолошком оптерећењу, као и евентуалне измене у физичко-хемијским својствима воде. Резултати су показали да постоји јасна корелација између повећања дозе дезинфицијенса и смањења броја микроорганизама, али и да веће дозе могу довести до појаве нежељених нус-продуката. Пажљива контрола дозирања дезинфекционог средства кључна је за постизање равнотеже између микробиолошке безбедности и очувања физичко-хемијских особина воде, те да се оптимизацијом процеса дезинфекције могу значајно унапредити стандарди у третману подземних вода.

Кључне речи: микроорганизми, дезинфекција, третман воде за пиће, бројност микроорганизама

¹ Јавно комунално предузеће „Водовод и канализација“ Нови Сад, Нови Сад, e-mail: mladen.popov@vikns.rs

² Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Департман за биологију и екологију, Нови Сад, e-mail: dragana.cisak@dbe.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0001-8179-8285

³ Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Департман за хемију, биохемију и заштиту животне средине, Нови Сад, e-mail: marijana.kragulj@dh.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0002-6880-6735

⁴ Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Департман за хемију, биохемију и заштиту животне средине, Нови Сад, e-mail: tajana.djurkic@dh.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0002-0923-7034

⁵ Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Департман за хемију, биохемију и заштиту животне средине, Нови Сад, e-mail: aleksandra.tubic@dh.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0001-7503-7754

⁶ Универзитет у Новом Саду, Природно-математички факултет, Департман за биологију и екологију, Нови Сад, e-mail: dragan.radnovic@dbe.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0003-3753-1887

⁷ Природно-математички факултет, Департман за хемију, биохемију и заштиту животне средине, Нови Сад, e-mail: jasminka.agbaba@dh.uns.ac.rs, ORCID: 0000-0002-9915-2885



THE INFLUENCE OF DISINFECTANT DOSE ON SELECTED PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL PARAMETERS OF WATER QUALITY

Abstract: The quality of drinking water is one of the key factors for public health protection, with effective disinfection methods playing a crucial role. This study investigated the impact of different doses of sodium hypochlorite, one of the most commonly used disinfectants, on selected physicochemical and microbiological parameters of raw groundwater. The aim of the laboratory experiments was to determine the optimal disinfectant dose that ensures effective inactivation of indicator microorganisms, without adversely affecting other water quality parameters such as pH value, electrical conductivity, and residual chlorine content. By testing based on C·t values, changes in microbiological load were observed along with possible alterations in the physicochemical properties of the water. The results showed a clear correlation between increasing disinfectant doses and the reduction in microbial counts. However, higher doses also posed risks of generating undesirable disinfection by-products and affecting the taste and aesthetic characteristics of the water. It was concluded that careful control of disinfectant dosing is essential to achieve a balance between microbiological safety and the preservation of physicochemical water quality. Optimization of the disinfection process can significantly enhance the standards in groundwater treatment, ensuring both effective pathogen removal and compliance with drinking water quality criteria.

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

1. Увод

Обезбеђивање здравствено исправне воде за пиће представља један од приоритета у очувању јавног здравља, а дезинфекција је кључни корак у том процесу. Вода, као ресурс од суштинског значаја, неопходна је не само за основне људске потребе, већ и за бројне индустријске и пољопривредне активности. Ипак, сирове воде, без обзира на њихов извор, често садрже различите микроорганизме, међу којима су и патогене бактерије које могу угрозити здравље људи [1].

Подземне воде, захваљујући природној филтрацији кроз слојеве земљишта, уобичајено се сматрају безбеднијим у односу на површинске. Међутим, и у њима се могу наћи микроорганизми попут колиформних бактерија, спорулишућих облика, али и патогена. Поред бактерија, у подземним водама могу бити присутни и вируси, протозое и гљиве, што додатно повећава микробиолошко оптерећење.

Из тог разлога, примена дезинфекционих поступака представља неопходан корак пре употребе воде као пијаће. Најраспрострањенији метод је хлорисање, које се спроводи различитим једињењима хлора. Натријум хипохлорит има посебан значај због једноставности примене и високе ефикасности у уништавању микроорганизма. Ипак, процес хлорисања може довести и до стварања дезинфекционих нуспродуката, попут трихалометана, који, уколико се не прате и не контролишу, могу представљати дугорочан ризик по здравље [2].

Полазећи од наведеног, циљ овог рада је процена ефикасности натријум хипохлорита у уклањању одабраних бактеријских сојева из сирове подземне воде, уз одређивање оптималне дозе и потребног времена контакта за постизање најбољег дезинфекционог ефекта.



2. Материјал и методе

Испитивања су изведена на узорцима воде прикупљеним на улазу у ретенциони резервоар Фабрике воде на Сунчаном кеју у Новом Саду. Ова тачка узорковања одабрана је јер представља почетни сегмент система за третман воде и самим тим референтно место за процену полазног квалитета воде [3,4]. Узорковање је спроведено након фазе аерације, како би се добили подаци о физичко-хемијским и микробиолошким параметрима пре уласка у процесе филтрације и дезинфекције.

Физичко-хемијске анализе

Концентрација укупног хлора у раствору натријум-хипохлорита мерена је јодометријском методом, док су резидуални слободни и везани облици хлора (моно-, ди- и трихлорамин) одређивани титрацијом са фери-амонијум-сулфатом применом DPD методе. рН вредност је мерена рН метром (рН/ION 735), електропроводљивост кондуктометром (HI 933000), мутноћа турбидиметром (Turb TB 250 WL), а UV апсорбација на 254 и 278 nm спектрофотометром UV-1800 Shimadzu. Садржај укупног и раствореног органског угљеника (ТОС и DOC) одређен је на апарату Elementar LiquiTOCII, а биодеградабилни DOC израчунат је као разлика између почетне и минималне измерене вредности. Концентрације амонијака, нитрата, нитрита и ортофосфата, као и перманганатни индекс и тврдоћа воде, анализирани су према важећим стандардима [5].

Дезинфекција и праћење резидуалног хлора

Као дезинфекционо средство примењиван је раствор натријум-хипохлорита концентрације 5 mg Cl₂/ml. Тестирање је вршено у распону почетних концентрација између 0,5 и 10 mg Cl₂/l. У току експеримената пратило се присуство резидуалног слободног хлора, као и формирање комбинованих облика, применом стандардних аналитичких процедура.

Микробиолошке анализе

Бројност микроорганизама у узорцима воде одређивана је spread plate и pour plate методама. Хранљиви агар је инокулисан и инкубиран на 22°C у трајању од 72 часа и на 37°C у трајању од 48 часова. Након инкубације извршено је бројање колонија, а резултати су изражени као CFU/ml. Изоловано је и идентификован MALDI-TOF анализом 19 најчешће присутних и здравствено значајних бактеријских сојева, од којих су за даље тестове одабрани: *Enterococcus faecium* 2 (умерено осетљив на дезинфекцију) и *Bacillus cereus* 13 (високо отпоран, продуцент ендоспора).

Одређивање MIC и MBC

Испитивања минималне инхибиторне концентрације (MIC) и минималне бактерицидне концентрације (MBC) [6] су спроведена стандардном микродилуционом методом у микротитар плочама у два различита матрикса: Милер-Хинтон бујону, као примеру средине са високим садржајем органских материја, и у узорку воде са уласа у ретенциони резервоар, који представља средину са ниским садржајем органске материје.



Изабрани сојеви су ресуспендовани у физиолошком раствору до густине од 0,5 McFarland јединица и инокулисани у серију двоструких разређења NaOCl (900–113 mg Cl₂/l у бујону; 80–1,25 mg Cl₂/l у води) при полазној густини од 10⁵ CFU/ml. Након инкубације очитане су MIC и MBC вредности.

Одређивање C·t вредности

Поред тога, за одабране изолате израчуната је C·t вредност (производ концентрације дезинфицијенса и времена контакта). Бактерије су излагане различитим концентрацијама NaOCl, а њихова инаktivација праћена је у интервалима од 0, 5, 10, 20, 30, 40 и 60 минута.

3. Резултати и дискусија

Узорковање воде извршено је на улазу у ретенциони резервоар, а затим је урађена анализа одабраних физичко-хемијских параметара. Резултати су приказани у табели 1. Уочено је да квалитет узорака није у потпуности у складу са критеријумима дефинисаним Правилником о хигијенској исправности воде за пиће [7]. Забележене су нешто више концентрације амонијака, гвожђа и мангана, као и повећане вредности мутноће воде. Овакви резултати су очекивани с обзиром на то да је реч о подземној води из алувиона реке, узоркованој на самом почетку процеса третмана, одмах након фазе аерације.

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

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

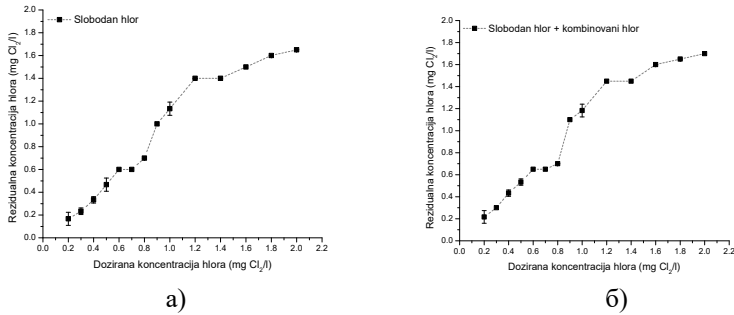
Параметар	Мерна јединица	Резултати анализе воде
Температура	°C	19,65±0,16
Мутноћа*	NTU	4,15±1,34
pH	/	7,38±0,46
Електропроводљивост	μS/cm	516±13,40
Слободан хлор	mg Cl ₂ /l	<0,05
УВ _{254nm}	cm ⁻¹	0,10±0,01
Оксидабилност	mg KMnO ₄ /l	5,63 ±0,40
TOC	mg C/l	1,72±0,08
DOC	mg C/l	1,38±0,38
Гвожђе*	mg/l	1,32±0,59
Манган*	mg/l	0,33±0,04
Амонијак*	mg N/l	0,45±0,11
Нитрати	mg N/l	<0,04
Нитрити	mg N/l	<0,005
Ортофосфати	mg P/l	0,14±0,03
Алкалитет	mmol/l	4,33±0,05
Тврдоћа	mg CaCO ₃ /l	243±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).

На основу резултата може се закључити да вода садржи нешто повишене нивое појединих органских и неорганских материја, које могу утицати на ефикасност хло-



рисања. Вредности рН, алкалитета и тврдоће показују стабилне услове за хемијске реакције, док присуство амонијака и повећане количине гвожђа и мангана указују на потребу за пажљивим прилагођавањем процеса дезинфекције. Ови параметри представљају основу за одређивање оптималне дозе хлора у наставку анализе (слика 1).



Слика 1. Графички приказ одређивања превојне тачке применом натријум-хипохлорита у води. Резидуални хлор је приказан у функцији (а) слободног хлора и (б) слободног + комбинованог хлора (хлораминаи)

Figure 1. Graphical representation of breakpoint determination using sodium hypochlorite in water. Residual chlorine is shown as a function of (a) free chlorine and (b) free + combined chlorine (chloramines)

Резултати микробиолошке анализе

Микробиолошка анализа пет узорака воде узетих током јуна 2024. показала је да већина узорака задовољава критеријуме за природну воду из затворених изворишта.

Табела 2. Резултати микробиолошких анализа узорака воде на улазу у ретензиони резервоар
Табела 2. Results of microbiological analyses of water samples at the inlet of the retention reservoir

Параметар	мин-макс (просек) 5 узорака јун 2024.	МДК за затворена изворишта
<i>Proteus</i> врсте у 100 ml**	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> у 100 ml**	0	0
Стрептококе фекалног порекла у 100 ml**	0-1	0
Фекалне колиформне бактерије у 100 ml воде **	0	0
Аеробне мезофилне бактерије на агару после инкубације од 48 часова на 37°C у 1 ml воде*	1-58	100
Аеробне хетеротрофне бактерије на агару после инкубације од 72 часова на 22°C у 1 ml воде*	7-215	-
Укупне колиформне бактерије одређене као највероватнији број у 100 ml воде (CFU) **	0	5
Сулфиторедукујуће клостридије у 100 ml воде**	0	1

*граница детекције методе: 1 CFU/ml, **1 CFU/100ml

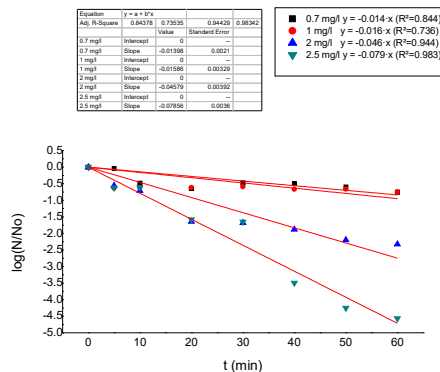


Један узорак од садржао је једну колонију фекалних стрептокока у 100 ml, што је изван дозвољених граница. Аеробне мезофилне бактерије (37°C) кретале су се од 1 до 58 CFU/ml, а аеробне хетеротрофне бактерије (22°C) око седам пута више, што указује на повољније услове за раст аутохтоних бактерија. Селекцијом је издвојено 19 најдоминантнијих колонија, укључујући један фекални стрептокок. Бојењем по Граму утврђено је 12 Грам-позитивних и 7 Грам-негативних изолата, од којих су неки продуковали ендоспоре. За испитивање отпорности на NaOCl одабрани су изолати 2, 5, 12 и 13. MIC и MBC вредности у Милер-Хинтон бујону кретале су се од <125 до >1000 mg Cl₂/l. Најосетљивији био је изолат 2, а најотпорнији изолати 12 и 13.

Табела 3. Минималне инхибиторне и бактерицидне концентрације натријум хипохлорита за 4 бактеријска соја изолована из воде на улазу у ретенциони резервоар
Table 3. Minimum inhibitory and bactericidal concentrations of sodium hypochlorite for 4 bacterial strains isolated from water at the inlet of the retention reservoir

	У присуству органске материје				У води на улазу у ретенциони резервоар		
	MIC (mg Cl ₂ /l)	MBC (mg Cl ₂ /l)			MBC (mg Cl ₂ /l)		
	24h	10min	60min	24h	10min	60min	24h
2	<125	500	500	500	<1.25	<1.25	<1.25
5	250	500	500	500	<1.25	<1.25	<1.25
12	500	>1000	>1000	>1000	20	20	5
13	500	>1000	>1000	>1000	10	5	5

C·t анализе су изведене на изолатима *Enterococcus faecium* 2 и *Bacillus cereus* 13 као репрезентима умерено осетљивих и отпорних бактеријских група. Праћењем бројности и концентрације слободног и везаног хлора утврђено је да је за 1–2 log редукцију *Enterococcus faecium* потребно 0,6–1,2 mg Cl₂/l, док *Bacillus cereus* захтева 2,6–5,3 mg Cl₂/l. Садржај трихалометана након хлорисања варирао је од 0,89 до 71,6 µg/l.

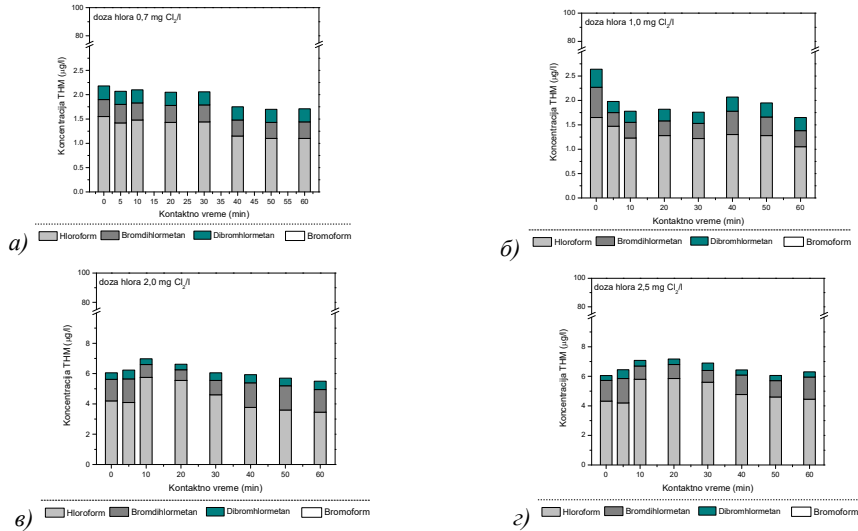


Слика 2. Кинетика дезинфекције бактеријског изолата *Enterococcus faecium* 2 применом различитих концентрација хлора

Figure 2. Disinfection kinetics of the bacterial isolate *Enterococcus faecium* 2 using different chlorine concentrations



Предикција ефективних $C \cdot t$ вредности показује да отпорни продуценти ендоспора чине мањи део укупне микробне заједнице, па су ниже дозе хлора обично довољне за већину аеробних мезофила.



Слика 3. Садржај трихалометана у хлорисаним узорцима воде обогаћене бактеријском културом врсте *Enterococcus faecium*

Figure 3. Trihalomethane content in chlorinated water samples enriched with a bacterial culture of the species *Enterococcus faecium*

Додатно, садржај трихалометана у води након хлорисања при наведеним реакционим условима је приказан је на слици 3. На основу добијених резултата утврђено је да са повећањем почетне концентрације дезинфекционог средства и реакционог времена не долази до значајније промене садржаја трихалометана у води. Садржај трихалометана у води се кретао у опсегу од 1,7-7,08 $\mu\text{g/l}$ при почетним дозама хлора од 0,7-2,5 mg Cl_2/l .

Табела 4. Предикција ефективних $C \cdot t$ вредности за 1- и 2-log инактивацију бактеријских изолата применом раствора натријум хипохлорита

Table 4. Predicted effective $C \cdot t$ values for 1- and 2-log inactivation of bacterial isolates using sodium hypochlorite solution

Инактивација 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
Инактивација 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



3. Закључак

Резултати испитивања указују да је избор концентрације натријум-хипохлорита и времена контакта кључан за ефикасну дезинфекцију воде на улазу у ретенциони резервоар. Сојеви *Enterococcus faecium* 2 и *Bacillus cereus* 13 показују различиту отпорност, при чему је изолат 13 значајно резистентнији, али чини мањи део укупне микробне заједнице. Доза и време контакта који елиминису ову групу бактерија довољни су да се контролише већина аеробних мезофила.

Практична примена показује да при времену контакта од 60 минута довољна доза за 2-log редукцију *Enterococcus faecium* 2 износи 1,2 mg Cl₂/l, док је за *Bacillus cereus* 13 потребно 5,3 mg Cl₂/l. С обзиром да су продуценти ендоспора само мањи део популације, за већину бактерија примениће се ниже концентрације. При овој дози резидуални хлор остаје прихватљив (<0,5 mg Cl₂/l), а садржај трихалометана је у дозвољеном опсегу.

Важно је напоменути да су наведене вредности добијене у лабораторијским условима и да у реалном систему могу бити потребне веће концентрације. Због тога је неопходно спровести континуирани мониторинг резидуалног хлора и бројности микроорганизама.

4. 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] Jorgensen J. H, Ferraro M. J. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices, *Clinical Infectious Diseases* 49, 1749-1755. <https://doi.org/10.1086/647952>, 2009.
- [7] Правилник о хигијенској испарвности воде за пиће, *Службени лист СРЈ*, 42/98, 44/99 и 28/2019.