

ЛЕОНОВА И. Б., СМИРНОВ Е. И
БИОТЕСТИРОВАНИЕ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА БУТИЛИРОВАННОЙ
ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ

Леонова Ирина Борисовна

кандидат технических наук,
доцент кафедры товароведения и товарной
экспертизы Российского экономического
университета им. Г.В. Плеханова
(г. Москва, Российская Федерация)
E-mail: ibleonova@yandex.ru

Метленкин Дмитрий Александрович

студент Российского экономического
университета им. Г.В. Плеханова
E-mail: milasha24@mail.ru

Аннотация. В статье рассмотрена возможность использования метода биотестирования с использованием инфузорий *Tetrahymena pyriformis* для определения сравнительной степени токсичности товарной продукции различных производителей и отдельных образцов бутилированной питьевой воды. Установлено, что отдельные образцы бутилированной воды оказывают различное воздействие на инфузории и являются различимой средой для культивирования. Результаты исследования качества образцов по органолептическим и физико-химическим показателям имеют связь с результатами биотестирования питьевой воды. Возможность и интенсивность развития простейших в исследованных образцах воды может служить сравнительным показателем качества товара.

Ключевые слова: биотестирование, Тетрахимена пириформис, безопасность, качество пищевых продуктов, бутилированная питьевая вода.

LEONOVA B. I., SMIRNOV E. A.
THE BIOASSAY IN ASSESSING THE QUALITY OF BOTTLED DRINKING
WATER

Leonova Irina Borisovna

candidate of technical Sciences,
associate Professor of the chair of
Commodity research and commodity
examination of the Russian economic
University. G. V. Plekhanov
(Moscow, Russian Federation)
E-mail: ibleonova@yandex.ru

Melenkin Dmitry Alexandrovich

student Russian economic
University. G. V. Plekhanov
E-mail: milasha24@mail.ru

Abstract. In the article the possibility of using the method of biotesting with use of infusorians *Tetrahymena pyriformis* to determine the comparative degree of toxicity of commercial products from different manufacturers and individual samples of bottled drinking water. Found that certain samples of bottled water have a different effect on ciliates are distinguishable medium for cultivation. The results of the study of sample quality on organoleptic and physico-chemical parameters have a relationship with the results of the bioassay of drinking water. The possibility

and intensity of development of the protozoa in the studied water samples can serve as a comparative indicator of the quality of the product.

Keywords: *biotesting, Tetrahymena pyriformis, safety, quality of food, bottled drinking water.*

Введение. В последние годы набирает популярность здоровый образ жизни, которому свойственно потребление полезных и высококачественных продуктов. Люди все больше начинают задумываться о том, какую воду они употребляют для утоления жажды и приготовления пищи. Современный потребитель делает выбор в пользу бутилированной воды, полагая что она имеет достойное качество. Тенденция к росту потребления «специально подготовленной» питьевой воды растет, количество торговых марок повышается, крупные торговые сети начинают продажу бутилированной воды под собственными торговыми марками. Производство питьевой воды является одним из самых рентабельных бизнесов и стремление получить прибыль является объяснением злоупотреблений при производстве, следствием чего не редко является низкое качество товара.

Оценка качества питьевой воды является делом достаточно затруднительным по причине наличия длительных, трудоемких и не дешевых методик. Методы органолептической оценки не дают ответа на вопрос о качестве воды. Самыми эффективными на сегодняшний день для оценки качества воды являются дорогостоящие методы, в т.ч. спектрофотометрия и хроматография. Вероятно, биотестирование – один из наиболее достоверных методов, хотя и он в силу отдельных специфических реакций «испытующих» не всегда позволяет дать точный ответ.

Биотестирование дает достаточно целостную картину о токсичности воды и применяется успешно в нашей стране несколько десятков лет. Методы биотестирования используются для оценки качества сточных вод, токсичность которых часто столь велика, что все живое реагирует на них негативно, если не погибает сразу. Биотестирование используется для установления токсичности среды с помощью тест-объектов, сигнализирующих об опасности независимо от того, какие вещества и в каком сочетании в ней присутствуют. С конца XX в. в России биотестирование стало обязательным элементом контроля качества поверхностных вод. Показатели биотестирования природных вод были включены в перечень характеристик для выявления зон чрезвычайной экологической ситуации и зон экологического бедствия. Наиболее часто используемыми являются инфузории: *Tetrahymena pyriformis*, *Paramecium caudatum*, *Stylonychia mytilus*, *Colpoda steinii* и др. Результаты биотестирования на простейших хорошо коррелируют с результатами, полученными в опытах *in vivo* на теплокровных животных. В практике токсикологических лабораторий для биотестирования кормов широко используют инфузорию *Tetrahymena pyriformis* - широко распространенный вид, обитающий в почвах и пресных водоемах. Также инфузории применяют для эколого-токсикологического анализа объектов окружающей среды и кормов для крупного рогатого скота, свиней и птиц (1).

Материалы и методы. Метод биотестирования заключается в определении выживаемости и изменения поведения инфузорий под воздействием токсических веществ, содержащихся в исследуемом материале. Методика определения токсичности воды предусматривает подсчет количества выживших микроорганизмов, а также слежение за изменением их состояния в течение времени. Преимуществом использования *Tetrahymena pyriformis* по сравнению с другими простейшими является высокая интенсивность обмена веществ, быстрый рост тетрахимен, возможность работы со стерильной культурой и стандартным штаммом. И если биотестирование является одним из основных видов оценки качества природных и сточных вод, то для воды, качество которой не подвергается сомнению (вода реализуется в торговой сети и должна быть полностью безопасной) эти методы используются недостаточно. Простых методов и тем более, сравнительных - для оценки качества различной питьевой воды нет.

Целью настоящей работы являлась попытка дать сравнительную характеристику отдельных образцов негазированной бутилированной питьевой воды, реализуемой в розничной торговой сети г. Москвы. Были выбраны торговые марки известных и малоизвестных производителей и проведены исследования по определению качества выбранных образцов по органолептическим и некоторым физико-химическим показателям и изучена возможность использования биотестирования с использованием инфузорий *Tetrahymena rugiformis* для определения качества питьевой воды.

Требования к качеству и безопасности питьевой бутилированной воды определяли в соответствии с НД (2,3). При проведении органолептических и физико-химических испытаний использовали гостированные методы. Интенсивность вкуса и привкуса определили при 20°C и оценили по пятибалльной системе, исходя из правила начисления баллов при ухудшении качества показателя. Определение нефтепродуктов производилось методом инфракрасной спектрофотометрии. Определение анионов и катионов были проведены на ионном жидкостном хроматографе фирмы Шимадзу LC-20ADsp на колонке Shodex IC YK-421(4,5,6,7).

Определение токсичности исследуемых образцов воды производили в соответствии с действующей методикой, предназначенной для определения качества воды в системах хозяйственно-питьевого водоснабжения. Для проведения биотестирования выращивали культуру инфузорию *Tetrahymena rugiformis* на базовой пептонно-дрожжевой питательной среде, которую готовили с использованием дистиллированной воды и содержащую (в %): 0,5 глюкозы, 2 пептона бактериологического, 0,1 дрожжевого экстракта и 0,1 морской соли. Культивирование инфузорий осуществляли в лабораторных условиях при комнатной температуре (20±2°C) без доступа света путем пересева бактериологической петлей на свежую среду через каждые 7 суток. Для исследований использовали культуру, содержащую 150-250 тыс. клеток/мл, что достигалось на 4-е сутки культивирования. Для определения количества *Tetrahymena rugiformis* использовали счетную камеру Фукса-Розенталя. Подсчет клеток инфузорий производили при 10-кратном увеличении в 16 квадратах в 10 полях зрения для вычисления среднего количества. В пробирки с исследуемой водой вносили 0,05 мл рабочей культуры инфузорий. Через заданный период времени под микроскопом проводили изучение состояния инфузорий. На предметное стекло помещали из каждой пробы по 10 мкл исследуемого образца. Проводили подсчет количества подвижных клеток и оценивали их состояние. Исследования проводили в трех повторностях. [8].

Для экспресс-оценки токсичности воды контролировали количество подвижных клеток в поле зрения микроскопа через 15 и 60 минут. В хроническом опыте количество клеток определяли также через 6, 24 и 48 часов. При оценке качества состояния культуры исходили из того, что показателем острой токсичности является гибель инфузорий в тестируемой воде в течение 1 часа. Дополнительно было проведено исследование поведения инфузорий на предварительно простерилизованных образцах исследованной воды с использованием базовой питательной среды двойной концентрации. Через 7 дней культивирования проводили подсчет количества выросших инфузорий в испытуемых объектах.

Результаты и обсуждение. Результаты органолептических и исследованных физико-химических представлены в таблице 1. Результаты исследований органолептических и исследованных физико-химических показателей исследованных образцов питьевой бутилированной воды показали, что некоторые образцы, представленные в торговой сети, не соответствуют нормативным требованиям. Результаты органолептических испытаний показали наличие у некоторых образцов наличие недопустимых привкусов разной степени интенсивности. По катионному составу все образцы незначительно отличались между собой, а анионный состав свидетельствовал о присутствии нитратов в некоторых образцах. Было выявлено незначительное превышение нормы содержания нефтепродуктов в отдельных образцах.

Таблица 1
 Результаты оценки качества образцов питьевой воды по отдельным органолептическим и физико-химическим показателям

№ образца	Баллы при оценке вкуса	Содержание анионов в исследуемом образце(мг/л)				Содержание катионов в исследуемом образце (мг/л)				Нефте-продукты, мг/л
		бромид-ион	Хлориды	Нитраты (по NO ³⁻)	сульфаты	Na	K	Ca	Mg	
Норма	0	Не более 0,2 мг/л	Не более 250 мг/л	Не более 20 мг/л	Не более 250 мг/л	Не более 200 мг/л	Не более 20 мг/л	Не более 130 мг/л	Не более 65 мг/л	не более 0,05
1	2,2	0	4,30	0,21	0,06	1,97	0,31	0,54	0,73	0,05
2	1,5	0	11,35	0,00	0,01	1,67	0,31	0,53	0,81	0,04
3	1,2	0	9,78	0,00	0,15	1,86	0,35	0,70	0,79	0,03
4	1,7	0	2,20	0,00	0,03	1,80	0,31	0,41	0,71	0,02
5	1,4	0,04	2,03	0,21	0,09	1,72	0,31	0,54	0,71	0,28
6	2,7	0,05	1,54	0	0,03	1,54	0,32	0,68	0,81	0,07
7	1,4	0	4,11	0,21	0,05	1,93	0,31	0,52	0,72	0,03
8	3,6	0,05	5,90	0,21	0,09	2,50	0,00	0	0	0,04

Оценка качества исследованных образцов с помощью биотестирования показало наличие различий между питьевой воды отдельных производителей. Образцы, получившие высокую оценку по органолептическим показателям (чем меньше баллов получил образец, тем лучше), оказались более благоприятными и для инфузорий. Инфузории «почувствовали» превышение содержания нефтепродуктов, и в целом бутилированная вода оказалась не самой благоприятной средой для простейших. Результаты исследования образцов на токсичность с использованием *Tetrahymena pyriformis* представлены в таблице 2 и таблице 3.

Таблица 2
 Изменение количества подвижных инфузорий в воде

№ образца	Время измерения (мин.)				
	0	15	60	120	180
1	16	15	12	11	10
2	28	25	20	12	12
3	25	23	18	16	14
4	35	33	30	15	13
5	18	16	12	2	2
6	17	15	12	2	1
7	28	25	19	16	13
8	34	30	18	7	6

Представленные в таблице 1 результаты свидетельствуют о достаточно сильном воздействии воды на инфузории даже в течение столь короткого промежутка времени, как 3 часа, т.к. учитывали все формы и варианты движения. Интересные результаты получены при изучении поведения простейших через 1 час взаимодействия с образцами воды, они представлены в табл. 2. Инфузории в нормальном состоянии активно перемещаются, но при попадании в неблагоприятные условия скорость их движения снижается, они начинают крутиться на месте и совсем перестают двигаться, когда условия совсем неблагоприятные.

Таблица 3
Поведение инфузорий в отдельных образцах питьевой бутилированной воды

№ образца	Время измерения	
	15 минут	60 минут
1	Инфузории малоподвижны или крутятся на месте, 30 % неподвижны	Инфузории малоподвижны или крутятся на месте, 50 % неподвижны
2	Инфузории очень подвижны, незначительная часть двигается медленно или стоит на месте	15 % инфузорий двигаются умеренно, 40 % крутятся на месте, остальные неподвижны
3	80 % инфузорий подвижны, остальные неподвижны	Половина организмов двигается умеренно, 35 % двигаются медленно или стоят на месте, остальные неподвижны
4	30 % инфузорий двигаются со средней скоростью, 20 % медленно, остальные неподвижны или крутятся на месте	25 % инфузорий двигаются умеренно, 20 % неподвижны, остальные инфузории крутятся на месте
5	Все инфузории неподвижны	Все инфузории неподвижны
6	Инфузории крайне малоподвижны или крутятся на месте	Все инфузории неподвижны
7	25 % инфузорий двигаются на месте, 15 % двигаются с умеренной скоростью, остальные инфузории неподвижны	Большинство инфузорий двигаются умеренно, незначительная часть неподвижны
8	Около половины организмов двигаются медленно или стоят на месте, 35 % двигаются нормально, остальные неподвижны	Инфузории двигаются умеренно, незначительная часть крутятся на месте

При посеве инфузорий на питательную среду с добавлением исследованных образцов воды проводили подсчет инфузорий и проводили наблюдения за поведением простейших в исследованных образцах через 4 суток. В таблице 4 представлены данные о количестве инфузорий при проведении эксперимента на предварительно простерилизованных образцах исследованной воды с добавлением базовой питательной среды двойной концентрации до получения концентрации стандартной среды.

Таблица 4
Рост простейших на базовой питательной среде с добавлением исследуемых образцов воды

№ образца	Количество инфузорий в одном большом квадрате
Базовая среда	35
1	18

2	13
3	14
4	17
5	8
6	8
7	11
8	16

Выводы. Сравнительная оценка исследованных образцов бутилированной воды с помощью биотестирования с использованием *Tetrahymena pyriformis* показала, что имеет место различная реакция инфузорий на исследованные образцы. Количественный состав и качественное состояние биотестобъектов могут использоваться для сравнительной характеристики, данной группы товаров. На основании проведенных исследований можно сделать вывод о наличии взаимосвязи результатов биотестирования с результатами органолептической и физико-химической оценки качества питьевой воды, однако для более детальных выводов необходимы дополнительные исследования. *Tetrahymena pyriformis* реагирует на присутствие в воде различных недопустимых соединений и может быть использована для предварительной сравнительной оценки качества и безопасности питьевой бутилированной воды.

Список литературы

1. ГОСТ Р 52337-2005 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности».
2. ГОСТ Р 52109-2003 «Вода питьевая, расфасованная в емкости. Общие технические условия».
3. СанПиН 2.1.4.1116-02 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества».
4. ГОСТ 3351-74 «Вода питьевая. Методы определения вкуса, запаха, цветности и мутности».
5. ГОСТ Р 51797-01 «Вода питьевая. Метод определения содержания нефтепродуктов»
6. ГОСТ 31867-2012 «Вода питьевая. Определение содержания анионов методом хроматографии и капиллярного электрофореза».
7. ГОСТ Р 53887-2010 «Методы определения содержания катионов (аммония, бария, калия, кальция, лития, магния, натрия, стронция) с использованием капиллярного электрофореза».
8. Методические рекомендации по применению методов биотестирования для оценки качества воды в системах хозяйственно-питьевого водоснабжения. МР № ЦОС ПВ Р 005-95

References

1. GOST R 52337-2005 "Feed, feed, feed raw materials. Methods of determining total toxicity".
2. GOST R 52109-2003 "drinking Water, packaged in capacity. General technical conditions".
3. SanPiN 2.1.4.1116-02 "Drinking water. Hygienic requirements to the quality of the water packaged in capacity. Quality control".
4. 3351-74 GOST "potable Water. Methods for determining the taste, odor, color and turbidity".
5. GOST R 51797-01 drinking Water. The method of determining the content of petroleum products"
6. GOST 31867-2012 drinking Water. Determination of anions content by chromatography and capillary electrophoresis".
7. GOST R 53887-2010 "Methods for determination of cations (ammonium, barium, potassium, calcium, lithium, magnesium, sodium, strontium) using capillary electrophoresis".

8. Guidelines on the application of bioassay techniques for assessing water quality in drinking water. MR TSOS PV R 005-95

РЕЦЕНЗЕНТ

Елисеева Людмила Геннадьевна - доктор технических наук, профессор кафедры товароведения и товарной экспертизы ФГБОУ ВО «РЭУ им. Г.В. Плеханова».