



УДК 579.68.574.5

## Бактериообрастания в системе технического водоснабжения Нововоронежской атомной электростанции



Е. В. Глинская, А. С. Савельева, М. Ю. Воронин

Глинская Елена Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и физиологии растений, доцент, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, elenavg-2007@yandex.u

Савельева Александра Сергеевна, студент, биологический факультет, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, saveleva.sasha13@mail.ru

Воронин Максим Юрьевич, кандидат биологических наук, доцент кафедры морфологии и экологии животных, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, voroninmj@yandex.ru

В работе представлены результаты изучения микроорганизмов, участвующих в процессах биообрастания систем технического и оборотного водоснабжения Нововоронежской атомной электростанции. Отбор проб проводили на следующих объектах: береговая насосная станция, машинный зал, брызгальный бассейн, центральная насосная станция. Численность микроорганизмов, входящих в состав биопленок, варьировала от  $10^4$  до  $10^7$  микробных клеток в 1 мл. Видовое разнообразие на каждом объекте представлено 2–3 видами бактерий. Индекс встречаемости *Kurthia zopfii* составляет 50%, *Microbacterium lacticum* – 25%, *Nocardioides simplex* – 75%, *Azomonas agilis* – 50%, *Bacillus halmapalus* – 25%. Изолированные микроорганизмы являются сапрофитными хемоорганотрофными мезофильными аэробными и факультативно-анаэробными бактериями. Хемолитотрофные бактерии из группы железобактерий, образующие биообрастания и находящиеся в ассоциации, обнаружены во всех пробах. Выделенные микроорганизмы представлены широко распространенными в природных водных и почвенных экологических системах видами бактерий.

**Ключевые слова:** бактериообрастания, система технического водоснабжения, Нововоронежская АЭС, сапрофитные бактерии, железобактерии.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-4-481-484>

### Введение

Биообрастание является первоисточником загрязнения водопроводных труб [1]. Развитие биопленок в системах водоснабжения приводит к значительным осложнениям – в частности, образование микроорганизмами толстого слоя отложений вызывает увеличение энергозатрат для подачи воды, ухудшается ее санитарно-гигиеническое состояние, также снижается пропускная

способность технологического оборудования. Биопленки в системах водоснабжения представляют собой скопление органических и неорганических соединений и микроорганизмов (плесневых грибов, водорослей, простейших, бактерий). Рост биопленки может увеличивать очаговую коррозию металла, изменять цвет, вкус и даже запах воды [2]. Первой ступенью решения проблемы биологического обрастания гидротехнического оборудования является характеристика видового состава флоры и фауны, с которыми предстоит бороться [3, 4].

Целью работы были выявление и идентификация микроорганизмов, входящих в состав биопленок и участвующих в процессе биообрастания в системах технического и оборотного водоснабжения Нововоронежской АЭС (НВАЭС).

### Материалы и методы

Отбор проб для микробиологического исследования биообрастаний металлических конструкций в системах технического и оборотного водоснабжения НВАЭС проводили в осенний период 2017 г. Пробы были взяты на следующих объектах: береговая насосная станция (БНС), машинный зал (МЗ), брызгальный бассейн (ББ), центральная насосная станция (ЦНС).

Отбор проб бактериообрастаний осуществляли стандартными методами с использованием стерильных тупферов, предназначенных для взятия образцов биологического материала, с последующей безопасной транспортировкой в лабораторию для проведения анализа в ограниченные сроки. Тупферы с биологическими пробами хранили в условиях низких температур не более 12 часов [5].

Определение количественных показателей сапрофитных микроорганизмов (КМАФАнМ – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов) осуществляли стандартными методами [5]. При исследовании проб бактериообрастаний осуществляли глубинный посев в ГРМ-агар. Для получения чистых культур микроорганизмов использовали метод последовательных разведений. Титровали до  $10^{-4}$ .



Посевы инкубировали при температуре 28° С в течение 24–48 часов. Далее проводили количественный учет выросших колоний. Для изучения биологических свойств и определения видовой принадлежности выделенные культуры отсеивали на скошенный ГРМ-агар в пробирки.

Выделение железooksисляющих бактерий проводили на среде Лиске следующего состава: (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – 1,5 г; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> – 0,05 г; KCl – 0,05 г; MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O – 0,05 г; Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>×2H<sub>2</sub>O – 0,01 г; H<sub>2</sub>O – 1 л; стерильная железная проволока. Культивирование осуществляли в течение 30 суток [6].

Морфологию бактерий изучали микроскопически с использованием микроскопа Микромед Р-1. Видовую принадлежность бактерий определяли на основании анализа фенотипических (морфологических, культуральных и биохимических) свойств.

Видовую принадлежность бактерий также определяли на основании анализа молекулярных маркеров гена 16S рРНК в ООО «Синтол» (г. Москва).

Индекс встречаемости рассчитывали как число проб, в которых обнаружены бактерии данного

вида, к общему числу проб, выраженному в процентах. Индекс общности определяли как отношение числа видов, общих для двух сравниваемых объектов, к общему количеству выделенных из них видов, выраженному в процентах [7].

Статистическую обработку количественных показателей проводили с использованием программы Statistica. При статистической обработке полученных данных осуществляли расчет основных вероятностных характеристик случайных величин: первого или нижнего квартиля (25%), медианы (второго квартиля) для центрирования распределения и третьего или верхнего квартиля (75%).

### Результаты и их обсуждение

Из биопленок, образуемых на исследуемых металлических конструкциях, выделены грамположительные и грамотрицательные бактерии 5 видов – *Azomonas agilis*, *Bacillus halmapalus*, *Kurthia zopfii*, *Microbacterium lacticum*, *Nocardioides simplex*, – являющихся сапрофитами, хемоорганотрофами (таблица).

**Видовой состав и количественные показатели (м.к./мл) бактериообрастания в системе технического и оборотного водоснабжения НВАЭС**  
**Species composition and quantitative indicators (m.c./ ml) of bacterial growth in the system of technical and recycling water supply of the NNPP**

Виды бактерий / Species of bacteria	Объекты НВАЭС / Facilities of NNPP							
	БНС / BPS		МЗ / МН		ББ / ВВ		ЦНС / CNS	
	lg м.к./мл lg m.c/ml	ИБ, % incidence index, %	lg м.к./мл lg m.c/ml	ИБ, % incidence index, %	lg м.к./мл lg m.c/ml	ИБ, % incidence index, %	lg м.к./мл lg m.c/ml	ИБ, % incidence index, %
<i>Bacillus halmapalus</i>	$\frac{5,3}{0-8}$	30	–	–	–	–	–	–
<i>Kurthia zopfii</i>	$\frac{6,3}{0-7}$	50	$\frac{7,2}{0-8}$	60	–	–	–	–
<i>Nocardioides simplex</i>	$\frac{5,1}{0-7}$	50	–	–	$\frac{6,2}{0-8}$	70	$\frac{4,1}{0-6}$	60
<i>Microbacterium lacticum</i>	–	–	$\frac{6,3}{0-7}$	30	–	–	–	–
<i>Azomonas agilis</i>	–	–	–	–	$\frac{5,3}{0-7}$	50	$\frac{4,3}{0-7}$	60

Примечание. «–» – отсутствие вида в пробе, медиана – над чертой, межквартильный размах – под чертой.

Численность микроорганизмов, входящих в состав биопленок и участвующих в процессе биообрастания водонесущих конструкций береговой насосной станции НВАЭС, достигала 10<sup>8</sup> м.к./мл. Из биопленок выделены грамположительные бактерии 3 родов (*Kurthia*, *Nocardioides*, *Bacillus*), являющихся сапрофитами, хемоорганотрофами. Индекс встречаемости *Kurthia zopfii* и *Nocardioides simplex* составил 50%, показатель для *Bacillus halmapalus* не превышал 30%.

Количественные показатели микроорганизмов металлических конструкций в системах технического и оборотного водоснабжения машинного зала НВАЭС находились в диапазоне от 10<sup>6</sup> до 10<sup>7</sup> м.к./мл. Видовой состав представлен двумя видами грамположительных неспорообразующих палочек – *Kurthia zopfii* (индекс встречаемости 60%) и *Microbacterium lacticum* (индекс встречаемости 30%).

На оборудовании брызгальных бассейнов НВАЭС численность микроорганизмов была до-



вольно высокой и достигала  $10^6$  м.к./мл. Из биопленок, образуемых на исследуемых объектах брызгального бассейна, выделены грамположительные и грамотрицательные бактерии 2 родов (*Nocardioides* и *Azomonas*), являющиеся сапрофитами, хемоорганотрофами. Количественные показатели бактерий рода *Nocardioides* достигали  $10^6$  м.к./мл, бактерий рода *Azomonas* –  $10^5$  м.к./мл. Индекс встречаемости изолированных видов варьировал от 50 до 70%.

В составе биопленок конструкций центральной насосной станции также обнаружены бактерии родов *Nocardioides* и *Azomonas*, однако численность указанных микроорганизмов была ниже и составила  $10^4$  м.к./мл. Индекс встречаемости бактерий не превышал 60%.

Сравнительный анализ видового состава биопленок, образуемых на металлических конструкциях береговой насосной станции и других исследуемых объектах, показал, что индекс общности видового состава не превышает 25%. В 75% исследуемых проб обнаружены бактерии *Nocardioides simplex*.

Хемолитотрофные железобактерии обнаружены во всех пробах, отобранных на водонесущих конструкциях системы технического и оборотного водоснабжения Нововоронежской АЭС.

На металлических конструкциях системы технического и оборотного водоснабжения Нововоронежской АЭС образуются ассоциации сапрофитных микроорганизмов, состоящие из 2–3 видов. Численность изолированных бактерий достигает 10 миллионов микробных клеток в 1 мл, индекс встречаемости 70%.

Выделенные микроорганизмы представлены широко распространенными в природных водных и почвенных экологических системах видами бактерий.

#### Список литературы

1. Горбачева М. П., Медокс Т. М. Анализ проблемы биообрастания в системах водоснабжения // Сборник статей междунар. науч.-практ. конф. Уфа : АЭТЕРНА, 2017. № 4. С. 135–139.
2. Шошина Н. А. Борьба с биообрастанием в системах ГВС // Сантехника. Информационно-издательское предприятие «АВОК-ПРЕСС». 2017. № 5. С. 56–59.
3. Селезнев В. А., Гусева А. А. Методы борьбы с биологическими обрастаниями технологического оборудования систем оборотного водоснабжения // Вестник НГИЭИ. 2015. № 6. С. 73–76.
4. Савельева А. С., Глинская Е. В., Воронин М. Ю. Антимикробная активность биоцидов «Акварезалт» в отношении условно-патогенных бактерий // Живые системы – 2019 : сб. науч. ст. Саратов : Амирит, 2019. С. 203–204.
5. Кирилова А. В., Глинская Е. В., Воронин М. Ю., Савельева А. С. Бактериообрастания в системе технического водоснабжения Балаковской атомной электростанции // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 4. С. 451–454. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-4-451-454>
6. Практикум по микробиологии : учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / под ред. А. И. Нетрусова. М. : Академия, 2005. 608 с.
7. Беклемишев В. Н. Биоценологические основы сравнительной паразитологии. М. : Наука, 1970. 501 с.

#### Образец для цитирования:

Глинская Е. В., Савельева А. С., Воронин М. Ю. Бактериообрастания в системе технического водоснабжения Нововоронежской атомной электростанции // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19, вып. 4. С. 481–484. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-4-481-484>

#### Bacteria Fouling in the Systems of Technical and Circulating Water Supply of the Novovoronezh Nuclear Power Station

E. V. Glinskaya, A. S. Saveleva, M. Yu. Voronin

Elena V. Glinskaya, <https://orcid.org/0000-0002-1675-5438>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, [elenavg-2007@yandex.ru](mailto:elenavg-2007@yandex.ru)

Alexandra S. Saveleva, <https://orcid.org/0000-0003-2790-5056>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, [saveleva.sasha13@mail.ru](mailto:saveleva.sasha13@mail.ru)

Maksim Yu. Voronin, <https://orcid.org/0000-0001-7992-4502>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, [voroninmj@yandex.ru](mailto:voroninmj@yandex.ru)

The paper presents the results of a study of microorganisms involved in the biofouling of technical and recycled water supply systems of the Novovoronezh nuclear power plant. Sampling was carried out at the following facilities: onshore pumping station (BPS), engine room (MH), spray pool (BB), central pumping station (CNS). The number of microorganisms that make up biofilms varied from  $10^4$  to  $10^7$  microbial cells in 1 ml. The species diversity at each object is represented by 2 to 3 types of bacteria. The prevalence index of *Kurthia zopfii* is 50%, *Microbacterium lacticum* is 25%, *Nocardioides simplex* is 75%, *Azomonas agilis* is 50%, *Bacillus halmapalus* is 25%. Isolated microorganisms are saprophytic chemorganotrophic mesophilic aerobic and facultative anaerobic bacteria. Chemolithotrophic bacteria from the group of iron bacteria that form biofouling and are in association are found in all samples. Isolated microorganisms are represented by bacterial species that are widespread in natural aquatic and soil ecological systems.

**Keywords:** bacteria fouling, technical and circulating water supply, the Novovoronezh NPP, saprophytic bacteria, iron bacteria.



## References

1. Gorbacheva M. P., Medoks T. M. Analiz problemy bioobrastaniya v sistemakh vodosnabzheniya [Analysis of the problem of fouling in water supply systems]. In: *Sb. st. mezhdunar. nauch.-prakt. konf.* [Collected science of articles international scientific and practical conference]. Ufa, AETERNA Publ., 2017, no. 4, pp. 135–139 (in Russian).
2. Shoshina N. A. Bor'ba s bioobrastaniem v sistemakh GVS [Biofouling control in domestic hot water systems]. *J. Santekhnika. Informacionno-izdatel'skoe predpriyatie «AVOK-PRESS»* [Sanitary engineering. Information and publishing company "AVOK-PRESS".], 2017, no. 5, pp. 56–59 (in Russian).
3. Seleznev V. A., Guseva A. A. Methods of combating biological fouling of technological equipment of water recycling systems. *Bulletin NGIEI*, 2015, no. 6, pp. 73–76 (in Russian).
4. Saveleva A. S., Glinskaya E. V., Voronin M. Yu. Antimikrobnaya aktivnost' biotsidov «Akvarezalt» v otnoshenii uslovno-patogennykh bakteriy [Antimicrobial activity of Aquaresalt biocides against opportunistic bacteria]. *Zhivye sistemy – 2019: sb. nauch. st.* [Live systems – 2019. Collected science of articles]. Saratov, Amirit Publ., 2019, pp. 203–204 (in Russian).
5. Kirilova A. V., Glinskaya E. V., Voronin M. Yu., Saveleva A. S. Bacterial growth in the technical water supply system of the Balakovo nuclear power plant. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 4, pp. 451–454 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2018-18-4-451-454>
6. *Praktikum po mikrobiologii* [Microbiology workshop]. Ed. by A. I. Netrusov. Moscow, Akademiya Publ., 2005. 608 p. (in Russian).
7. Beklemishev, V. N. *Biotsenologicheskie osnovy sravnitel'noy parazitologii* [Biocenological basis of comparative parasitology]. Moscow, Nauka Publ., 1970. 501 p. (in Russian).

## Cite this article as:

Glinskaya E. V., Saveleva A. S., Voronin M. Yu. Bacteria Fouling in the Systems of Technical and Circulating Water Supply of the Novovoronezh Nuclear Power Station. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 4, pp. 481–484 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-4-481-484>