

УДК 574+(556.115:579+556.555.6)

Мурадов С.В.

*Научно-исследовательский геотехнологический центр
Дальневосточного отделения РАН (г. Петропавловск-Камчатский)*

ВОССТАНОВЛЕНИЕ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ КОНДИЦИЙ ЛЕЧЕБНОЙ ГРЯЗИ В ПРОЦЕССАХ РЕГЕНЕРАЦИИ И АКТИВАЦИИ

S. Muradov

*Geotechnological Scientific Research Center,
Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences,
Petropavlovsk-Kamchatsky*

SANITARY-MICROBIOLOGICAL DEFECT OF THERAPEUTIC MUD IN THE PROCESSES OF REGENERATION AND ACTIVATION

Аннотация. Приводятся данные о длительной санитарно-микробиологической некондиционности лечебной грязи озера Утиное, связанное с антропогенным воздействием, а также неоднородностью донных отложений. Обозначено снижение уровня загрязненности в пробах 2004–2012 гг. Определяется эффективность регенерации в буртах грязехранилища и в процессе активации. Установлена минимальная длительность регенерации некондиционной лечебной грязи в процессе хранения, равная 4 месяцам, активация пелоида осуществляет этот процесс менее чем за одни сутки. Механизмом очищающего действия показано микробное сообщество, изменяющее химический состав грязевого раствора.

Ключевые слова: лечебная грязь, пелоид, общее микробное число, титр, загрязнение, минерализация, регенерация, активация, кондиция.

Abstract. We report the data on the long-term sanitary-microbiological defect of the therapeutic mud in lake Utinoye, which is caused by the anthropogenic influence along with inhomogeneity of bottom deposits. It is found that the specimens take in 2004–2012 show a decrease in the pollution level. Regeneration efficiency in the clamps of mud depository and in the process of activation is determined. It is established that minimum regeneration time of the defect therapeutic mud in the process of its storage equals 4 months, peloid activation goes through the same process less than in a day. The mechanism of the cleaning effect is shown as a microbial community changing the chemical composition of the mud solution.

Key words: therapeutic mud, peloid, total microbial number, titer, pollution, mineralization, regeneration, activation, condition.

Многочисленные исследования донных отложений и питающих вод оз. Утиное [1-2; 5-8; 10] показали их несоответствие санитарно-бактериологическим требованиям, предъявляемым к лечебным грязям. Настоящая работа посвящается анализу сравнительной эффективности методов, способствующих восстановлению санитарных кондиций лечебной грязи. Микробиологические исследования проводились следующими методами: показатели коли-титра устанавливались бродильным методом с использованием универсальной накопительной лактозно-пептонной среды (ЛПС), среды Эндо и полужидкой среды с глюкозой; титр-перфрингенс, определяемый высевом грязевых разведений на среду Китт-Тароци и на обезжиренное молоко. Для определения титра синегнойной палочки использовались последовательно среды ЛПС, «Блеск», Кинг-А и СФ. Стафилококк золотистый определялся на пептонной среде с хлоридом натрия и последующим пересевом на желчно-солевой агар. Аэробные сапрофиты определялось на мясо-пептонном агаре (МПА). В опыте с активацией лечебной грязи (прогревание 20-25°C, перемешивание 150 об/мин, разжижение водой до

60%), производилось инфицирование грязи. Количество бактериального материала, внесенного в опытные грязи, рассчитывалось по оптическому стандарту мутности и проверялось высевом десятичных разведений грязевой суспензии на соответствующие каждому микроорганизму селективные питательные среды [9; 11]. Процессы регенерации и активации грязей сопровождалось проведением

санитарно-бактериологических, микробиологических и физико-химических исследований (табл. 1).

Санитарно-бактериологические анализы грязей выполнялись в день отбора проб, в двойной повторности по следующей схеме: перед инфицированием, через сутки после него, затем через каждые 15 суток, а также через 5, 10, 15 часов при активации (рис. 1, 2).

Таблица 1

Физико-химические показатели лечебных грязей оз. Утинное до и после процессов регенерации и активации (прогрев, перемешивание, разжижение)

Показатель	Перед регенерацией	После регенерации	Перед активации	После активации
Сопротивление сдвигу, дин/см ²	7198	300	2700	400
Eh раствора	-85	-140	-90мВ	-135мВ
pH раствора	7,5	7,5	5,6	7,6
Общая минерализация, г/л	4,8	2,7	5,0	2,6
Формула химического состава грязевого раствора	SO ₄ 82 Cl 17 Ca 55 (Na+K) 38	SO ₄ 65 Cl 27 (Na+K) 52 Ca 43	SO ₄ 82 Cl 17 Ca 59 (Na+K) 35	SO ₄ 57 Cl 28 HCO ₃ 15 (Na+K) 53 Ca 39

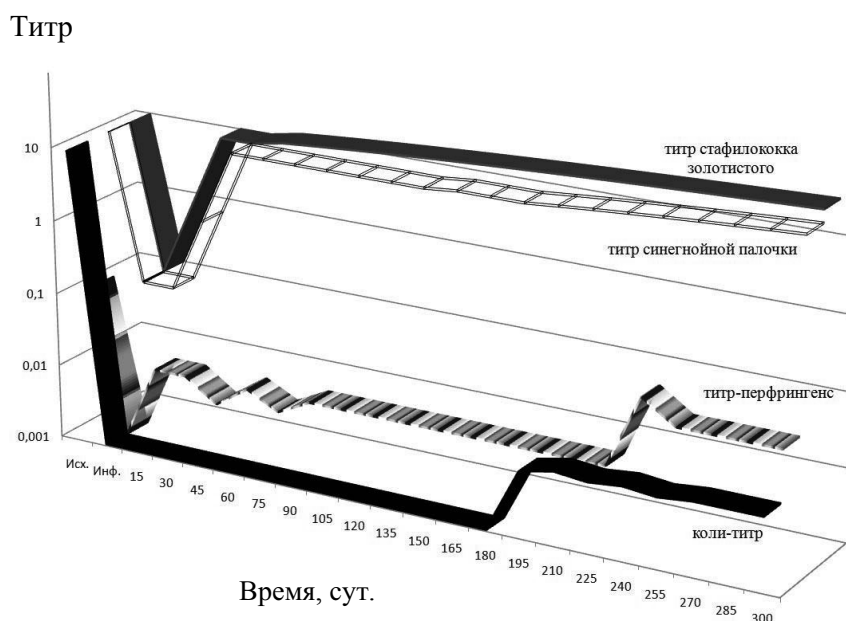


Рис. 1. Динамика санитарно-бактериологических показателей лечебных грязей оз. Утинное в процессе их регенерации после инфицирования (исходный уровень *Escherichia coli* и *Clostridium perfringens* соответствует нормам)

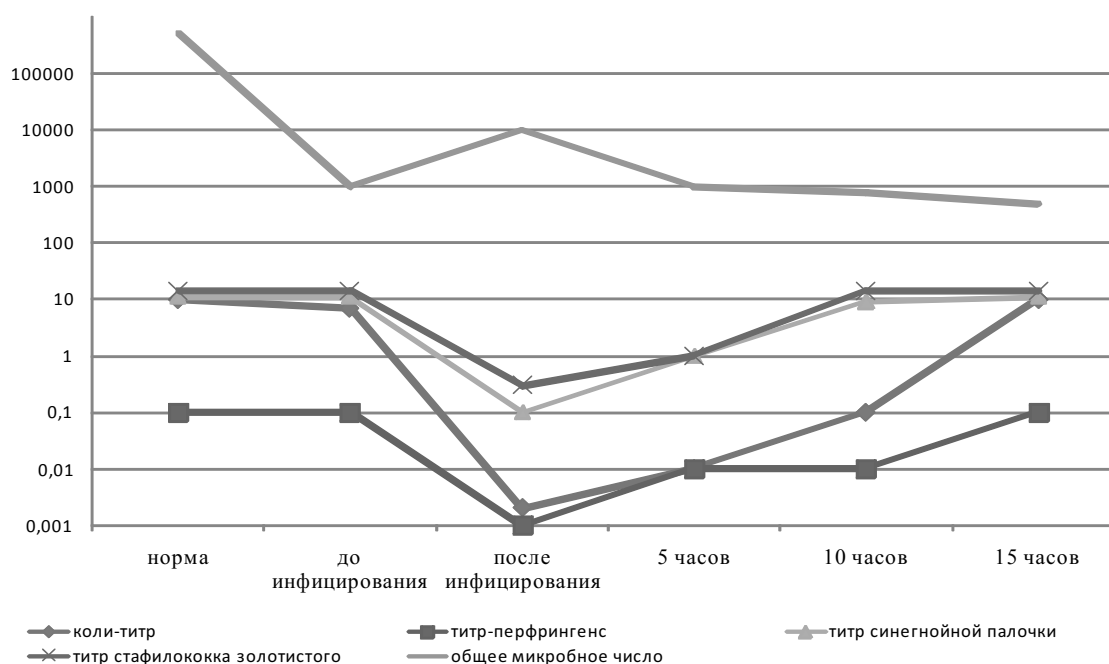


Рис. 2. Динамика выживаемости *Escherichia coli* и *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* при активации лечебной грязи оз. Утиное

Динамика развития физиологических групп микроорганизмов в грязях с инфицированием контролировалась проведением микробиологических анализов в следующие сроки: до инфицирования грязей, через 15, 30, 45, 60 дней и после нормализации их санитарно-бактериологических показателей, а в опыте с активацией грязи – через 5, 10, 15 часов. Исследовалась численность микроорганизмов, осуществляющих круговорот азота, углерода, серы, железа и участвующих в формировании пелоидов. Определялись гнилостные аэробы и анаэробы, нитрифицирующие и денитрифицирующие, маслянокислые, целлюлозоразлагающие аэробы и анаэробы, сульфатредуцирующие и тионовые, железоокисляющие, актиномицеты и плесневые грибы (рис. 3).

Для характеристики потенциальных возможностей грязей к самоочищению в обоих опытах определялись их антимикробные свойства по отношению к кишечной палочке (*Escherichia coli*), клостридиям (*Clostridium perfringens*), стафилококку золотистому (*Staphylococcus aureus*) и синегнойной палочке (*Pseudomonas aeruginosa*). Выяснение сроков

самоочищения грязей от вышеуказанных бактерий осуществлялось инкубированием в грязехранилище и активацией. По данным [10], коли-титр и титр-перфрингенс добытой в озере лечебной грязи достигают требуемого уровня через 4 месяца при пассивном инкубировании в грязехранилище. Такие же результаты были получены при активации лечебной грязи в другом масштабе времени – 5, 10, 15 ч.

Более убедительные данные о сроках регенерации и самоочищения грязей оз. Утиное могли быть получены при искусственном инфицировании пелоида санитарно-показательными и патогенными микроорганизмами музейных культур. С этой целью хранящиеся в полиэтиленовой емкости при температуре 20-22°C добытые грязи инфицировались и подвергались анализу их санитарно-бактериологических показателей через каждые 30 дней на протяжении 300 дней (рис. 1).

На рис. 1, 2 и табл. 1 отражены результаты всех видов исследований, проведенных в опытах с искусственным инфицированием грязей. Закономерности изменений спектра специфического, формирующего сообщества

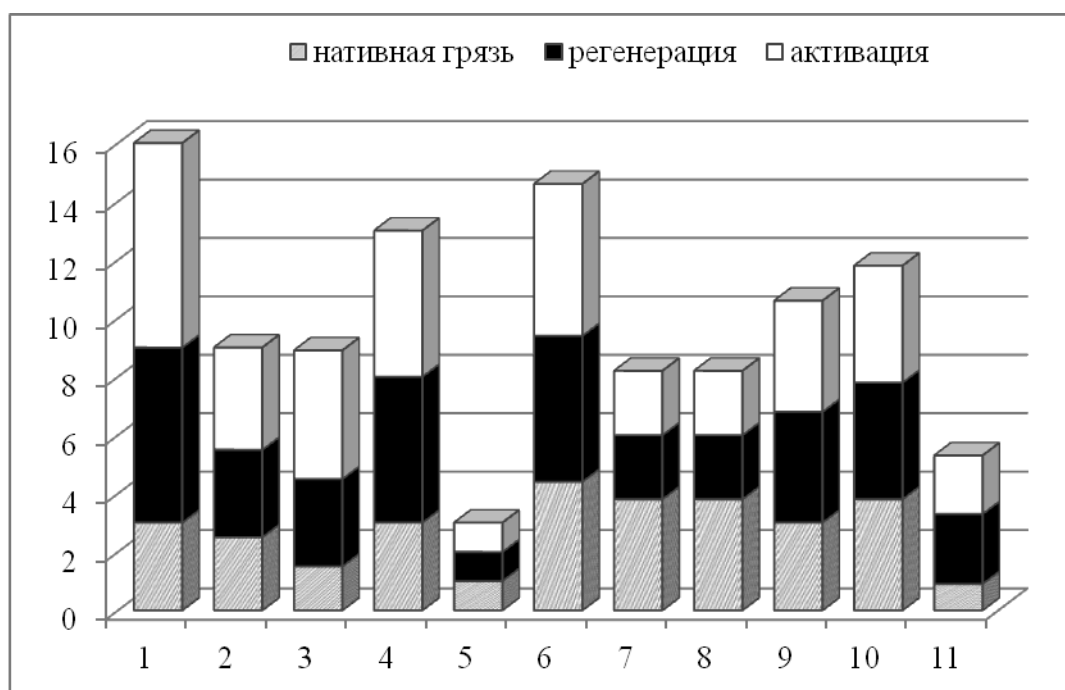


Рис. 3. Микробиологические показатели лечебной грязи озера Утиное в процессах регенерации и активации.

По оси абсцисс – физиологические группы микроорганизмов: 1 – гнилостные аэробы (NH_3); 2 – гнилостные аэробы (H_2S); 3 – гнилостные анаэробы; 4 – денитрифицирующие (N_2O); 5 – денитрифицирующие (N_2); 6 – маслянокислые; 7 – целлюлозоразлагающие аэробы; 8 – целлюлозоразлагающие анаэробы; 9 – сульфатредуцирующие; 10 – тионовые; 11 – плесневые грибы. По оси ординат – $\lg N$ (N – количество микроорганизмов в 1 г лечебной грязи).

лечебной грязи показывает рис. 3. Количественное преобладание гнилостных аэробных бактерий с первого до последнего дня опытов говорит об интенсивности минерализации белковых соединений с выделением аммиака (до 10^7) и сероводорода (до 10^3). Присутствие анаэробных бактерий, вызывающих разложение белков, также имеет место, хотя и в меньших масштабах (10^2 - 10^4). Образование аммиака и сероводорода в грязях имеет большое значение, поскольку щелочная реакция среды способствует оптимальному развитию большинства микроорганизмов грязи, а сероводород в соединении с железом в восстановительных условиях образует гидрат сернистого железа – коллоид, улучшающий вязкопластичные свойства пелоидов [3; 4].

Определение антимикробных свойств нативных грязей показало их невысокую активность в отношении синегнойной палочки

(*Pseudomonas aeruginosa*) и отсутствие вытесняющего эффекта к кишечной палочке (*Escherichia coli*) и к золотистому стафилококку (*Staphylococcus aureus*).

После искусственного инфицирования инкубируемых грязей санитарно-показательными микроорганизмами их коли-титр снизился с 10 до 10^{-3} , титр-перфрингенс – с 10^{-1} до 10^{-3} , величина титров синегнойной палочки и стафилококка золотистого достигла 10^{-1} , общее количество аэробов – сапрофитов возросло в 60 раз (рис. 1). Дальнейшие наблюдения показали постепенное повышение титра стафилококка золотистого и синегнойной палочки и их нормализацию по титру соответственно к 30 и 45 дню опыта. Другая картина наблюдалась в отношении высеваемости *Escherichia coli* и *Clostridium perfringens*. За семь месяцев регенерации грязей коли-титр возрос лишь на один порядок, и в последующие три месяца

ца оставался на том же уровне. Аналогичные данные были получены и по высеваемости *Clostridium perfringens*. К 15 дню опыта титр перфрингенс увеличился на один порядок, а затем до 300 дня наблюдений не изменялся.

Установлено, что активация лечебной грязи стимулирует развитие микробного сообщества грязи, в показателе общей численности до $3 \cdot 10^3$, соответствующем состоянию микробного сообщества при 15-суточном инкубировании грязи в грязехранилище. Далее 10-часовая активирующая обработка грязи, повышает суммарную численность микроорганизмов в ней до $8 \cdot 10^2$, соответствующую почти 300-дневной инкубации в грязехранилище. 15-часовая активация лечебной грязи обеспечивает не только высокую численность микроорганизмов, но и самоочищение от условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, внесенных в грязевую среду (рис. 2).

Закономерности изменений спектра специфического микробного сообщества лечебной грязи, показывает количественное преобладание гнилостных аэробных бактерий во всех опытах, что говорит об интенсивности минерализации белковых соединений с выделением аммиака и сероводорода. Формирующаяся щелочная среда способствует оптимальному развитию большинства микроорганизмов грязи, а сероводород в соединении с железом в восстановительных условиях образует гидрат сернистого железа – коллоид, улучшающий вязкопластичные свойства пелоидов.

Минерализацию белков с выделением аммиака могут осуществлять также актиномицеты и плесневые грибы (рисунок 3). Образующийся в процессе деструкции белковых соединений аммиак используется гетеротрофами, и может окисляться в нитраты и нитриты нитрифицирующими бактериями. Как показывают аналитические данные, развитие нитрифицирующих микроорганизмов было отмечено лишь на первых этапах опытных работ (до 15 дня). Окисленные соединения азота подвергаются восстановлению группой денитрифицирующих бактерий, численность которых в грязях всегда во много раз больше коли-

чества нитрификаторов. В изучаемых грязях денитрифицирующие бактерии высевались на протяжении всего периода наблюдений в количестве до 10^5 клеток в 1 г грязи. Среди микроорганизмов, участвующих в цикле углерода, стабильно и в больших количествах высевались маслянокислые бактерии (10^5 в 1 г гр.).

Процесс аэробного и анаэробного разложения клетчатки шел в опытных грязях довольно активно (10^3 - 10^4 в 1 г гр.), некоторое снижение микроорганизмов, расщепляющих целлюлозу, было отмечено лишь на 300 день опыта.

В числе микроорганизмов, играющих наибольшую роль в формировании бальнеологических свойств грязей, следует назвать сульфатредуцирующие, численность которых была стабильной и довольно высокой на протяжении всех 10 месяцев (10^3 в 1 г гр.). Основное количество сероводорода в иловых грязях образуется именно в результате деятельности сульфатредуцирующих бактерий. Процесс, противоположный восстановлению сульфатов – окисление сульфатов, осуществлялся тионовыми бактериями, с присутствием в грязях опыта на уровне 10^3 - 10^4 в 1 г гр.

Высокое содержание органических веществ и низкая минерализация грязей оз. Утиное детерминирует преимущественное развитие в них аммонифицирующих и денитрифицирующих бактерий. Значительное количество сульфатов (70-80 мг/экв · %), в жидкой фазе грязей оз. Утиное, при наличии органических веществ, дает возможность в анаэробных условиях интенсивно развиваться сульфатредуцирующим бактериям, которые, в сущности, и определяют принадлежность изучаемого пелоида к сильносульфидной разновидности (рис. 3).

Активированную лечебную грязь можно использовать в процедурах, потребляющих небольшие объемы лечебной грязи (микроклизмы, компрессы, местные аппликации) и для выделения из нее жидкой фазы – препарата водный экстракт лечебной грязи.

Характеризуя экологическое состояние грязевых отложений озера Утиное, их способности к регенерации и самоочищению можно

сделать следующие выводы: 1) физико-химическая характеристика грязе-иловых отложений соответствует нормативам исследуемого типа грязи, совокупность параметров грязи указывает на высокие кондиции лечебной грязи; 2) специфическая иловая микрофлора грязи отличается разнообразием и достаточной численностью, установлено несоответствие грязи санитарно-бактериологическим критериям, определяемым по коли-титру и титру-перфрингенс. Привнесенные со сточными водами или в порядке инфицирования санитарно-показательные микроорганизмы сохраняются в водоеме и могут быть ликвидированы при хранении грязеиловой смеси в регенерационных буртах или разработанным нами более эффективным способом, связанным с активацией лечебной грязи (табл. 1, рис. 1–3) [5].

Рассмотрение физико-химических показателей грязей до их инфицирования, после 300 дней хранения, и 5, 10, 15 часов активации, показывает незначительные различия между ними (табл. 1). Так, кислотность (рН) в нативной грязи сдвинулась от слабокислой (5,8) к нейтральной (7,1), что, скорее всего, связано с интенсивным развитием аммонифицирующих бактерий, подщелачивающих среду. Изменение значений окислительно-восстановительного потенциала с -90 мВ до -135 мВ свидетельствует об углублении восстановительной обстановки. Уменьшение общей минерализации грязей, вероятно, можно связать с разжижением субстрата, перекладыванием, перемешиванием, инфицированием, отбором проб. В целом основные параметры грязи до и после опытов соответствуют типу пелоида.

Таким образом, восстановление санитарно-микробиологических кондиций лечебной грязи озера Утиное может осуществляться методом пассивной регенерации путем выдерживания в грязехранилище от 45 до 300 дней и более длительный период. Эффективность этого метода крайне снижена при искусственном обсеменении лечебной грязи санитарно-показательными и патогенными

микроорганизмами. Предлагаемый метод активации, опирающийся на вытесняющую активность специфических микроорганизмов, формирующих пелоид, с высокой эффективностью очищает лечебную грязь от привнесенных микроорганизмов менее чем за сутки.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Адилов В.Б. Требования к экологическому состоянию месторождений минеральных вод и лечебных грязей / В.Б. Адилов, А.В. Дубовский, В.И. Зотова и др. // *Вопр. курортол., физиотер. и ЛФК.* – 1996. – № 6. – С. 38–44.
2. Адилов В.Б., Михеева Л.С. К вопросу о систематизации лечебных грязей // *Вопросы изучения лечебных минеральных вод, грязей и климата: Труды ЦНИИКиФ.* – 1980. – Т. 43. – С. 90–105.
3. Килина Е.С., Тронова Т.М., Клопотова Н.Г. Биологическая активность сапропелевых лечебных грязей Сибири // *Вопр. курортол., физиотер. и ЛФК.* – 1997. – № 2. – С. 23–25.
4. Красильников Н.А. Антагонизм микробов и антибиотические вещества. – М.: Сов. наука, 1958. – 338 с.
5. Мурадов С.В. Формирование и биологическая активность грязе-иловых отложений. – Владивосток: Дальнаука, 2000. – 91 с.
6. Мурадов С.В. Экологическое решение проблем современного грязелечения. – Петропавловск-Камчатский: Изд-во КамГУ им. Витуса Беринга, 2007. – 266 с.
7. Мурадов С.В., Борисенко В.В., Асабина В.Д., Балыков А.А. Экологическое состояние лечебной грязи оз. Утиное Паратунского курорта Камчатского края // *Проблемы региональной экологии.* – 2009. – № 4. – С. 54–61.
8. Сафронова Т.М. Отчет о грязеразведочных работах на курорте Паратунка Камчатской области, проведенных в 1962 г. – М.: ЦНИИКиФ МЗ СССР, 1963. – 112 с.
9. Сорокин В.А. Образование бактериальной пленки на поверхности илов и влияние ее на обмен веществ между илом и водой // *Микробиология.* – 1938. – Т. 7 (№ 5). – С. 579–591.
10. Цветков Г.А. Отчет о доразведке эксплуатируемого грязевого месторождения оз. Утиное с переоценкой запасов иловых лечебных грязей для обеспечения ими здравниц Камчатской области. – М.: ГО «Лечминресурсы» МЗ СССР, 1992. – 94 с.
11. Whittenburg R., Phillips R.C., Wilkinson T.E. Enrichment, isolation and some properties of methane-utilizing bacteria // *J. Gen. Microbiol.* – 1970. – V. 61. – P. 205–218.