

УДК 543.31

**Т.В. Гудзенко, О.Г. Горшкова, О.В. Волювач,  
Т.В. Бурлака, І.П. Метеліцина**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,  
тел.: +38(068) 259 33 08, e-mail: tgudzenko@ukr.net

## **МІКРОБІОЛОГІЧНА І САНІТАРНО- ХІМІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА СТІЧНИХ ВОД ФАРМАЦЕВТИЧНОГО ПІДПРИЄМСТВА**

**Мета.** Оцінка стічних вод фармацевтичного підприємства за санітарно-мікробіологічними та хімічними показниками для визначення методу очистки та ремедіації їх від політантів та патогенів. **Методи.** При санітарно-бактеріологічних дослідженнях для визначення загального мікробного числа (ЗМЧ), патогенних бактерій використовували класичні мікробіологічні методи. Визначення концентрації амонію, нітриту та нітрату в пробах стічних вод фармацевтичного підприємства проводили спектрофотометрично з використанням хімічної реакції йонів на реактив Несслера, реактив Грісса та фенолсульфідокислоти. Вміст йонів важких металів визначали методом електротермічної атомно-абсорбційної спектрофотометрії (ААС) з використанням приладу «Сатурн-2», фотометричним методом з використанням 4-аміноантипірину – фенол, екстракційно-фотометричним методом – поверхнево-активні речовини, методом інфрачервоної спектрометрії – нафтові вуглеводні. **Результати.** Експериментально підтверджено, що загальне мікробне число у пробах стічної води фармацевтичного підприємства незначно перевищувало нормативний показник. Індекс бактерій групи кишкової палички (БГКП) та індекс *E. coli* були у межах норми. У стічній воді фармацевтичного підприємства були виявлені патогенні бактерії *Salmonella moscow* і *Klebsiella pneumoniae*. Про забрудненість фармстоку можна судити і за перевищеною у 8,5 разів порівняно з гранично допустимою концентрацією (ГДК) в них йонів амонію. Результати хімічного аналізу проб стічних вод фармацевтичного підприємства свідчать про багатокомпонентність їх складу. Із йонів важких металів було зафіксовано переважно йони цинку, міді, свинцю, хрому шестивалентного і кадмію. За виключенням йонів кадмію, концентрація йонів важких металів в 1,4–7,2 рази перевищувала норму ГДК. У фармстоках переважали аніонні поверхнево-активні речовини – їх концентрація складала  $8,2 \pm 0,7$  мг/дм<sup>3</sup>. Рівень фенольного і нафтового забруднення стічних вод був порівняно із вмістом в них аніонних поверхнево-активних речовин мінімальним, що могло бути викликано діяльністю аборигенних штамів бактерій-деструкторів, що володіють високою фенолокиснювальною здатністю. **Висновок.** Результати санітарно-мікробіологічного і хімічного аналізу стічних вод фармацевтичного підприємства свідчать про їх багатокомпонентність і екологічну небезпечність – в них присутні патогенні бактерії *Salmonella moscow* і *Klebsiella pneumoniae* і політанти різної природи: йони важких металів *Cu(II)*, *Cr(VI)* і *Pb(II)* в концентрації  $36,0 \pm 1,4$  мкг/дм<sup>3</sup>,  $3,0 \pm 0,4$  мкг/дм<sup>3</sup> і  $14,0 \pm 0,7$  мкг/дм<sup>3</sup> відповідно,



*та органічні забруднювачі – фенол, нафтопродукти і аніонні ПАР в концентрації  $0,003 \pm 0,0006$  мг/дм<sup>3</sup>,  $0,81 \pm 0,05$  мг/дм<sup>3</sup> і  $8,2 \pm 0,7$  мг/дм<sup>3</sup> відповідно. Рекомендуємо проводити комплексну очистку стічних вод фармацевтичного підприємства від фенолу, йонів важких металів [Cu (II), Cr (VI), Zn (II)], нафтопродуктів, аніонних поверхнево-активних речовин і патогенів.*

*Ключові слова: стічні води, фармацевтичне підприємство, мікробіологічні та санітарно-хімічні характеристики*

Проблема забруднення природних об'єктів умовно-патогенними та патогенними бактеріями, техногенними відходами неорганічного та органічного походження стає все більш гострою, оскільки впливає на здоров'я людей. Виробничі стічні води надзвичайно різноманітні за кількістю і складом, які, у свою чергу, залежать від виду виробництва, сировини і технології, що застосовується [6]. Особливу екологічну небезпеку становлять стічні води фармацевтичних підприємств, що характеризуються високою концентрацією токсичних та генотоксичних органічних речовин [13]. Мікробіологічне забруднення фармацевтичних стічних вод сприяє поширенню у довкіллі генів стійкості до антибіотиків [14]. Сучасний розвиток фармацевтичного виробництва зумовлює потужний викид у довкілля важкоокиснювальних, фенольних й інших небезпечних сполук [11]. Тому аналіз стічних вод різних виробництв, у тому числі фармацевтичного підприємства, є необхідним для визначення подальшого методу їх очистки для визначення можливості випуску у водойми, каналізацію або повторне використання [2, 6, 9-11, 16]. У багатьох країнах біологічна очистка є основним найефективнішим способом очистки стічних вод фармацевтичного виробництва від органічних забруднювачів [11].

Мета роботи – оцінка стічних вод фармацевтичного підприємства за санітарно-мікробіологічними та хімічними показниками для визначення методу очистки та ремедіації їх від поллютантів та патогенів.

### **Матеріали і методи**

Санітарно-мікробіологічні дослідження стічних вод українського фармацевтичного підприємства (ФП) проводили згідно з нормативними документами [5]. Проби стічних вод фармацевтичного виробництва відбирали з каналізаційних колодязів у стерильні флакони місткістю 500 см<sup>3</sup> (для санітарно-бактеріологічних досліджень) та щільно закривали корками. Відбір проб проводили з дотриманням правил асептики.

При санітарно-бактеріологічних дослідженнях стічних вод ФП для визначення загального мікробного числа (ЗМЧ) використовували класичні мікробіологічні методи. Визначення ЗМЧ проводили методом глибинного посіву серійних розведень стічної води у живильний агар і враховували усі колонії мікроорганізмів, що виростили при температурі 37 °С протягом 24 годин чи при 22 °С протягом 48 годин в глибині та на поверхні живильного агару. Повторність дослідів була п'ятикратна. Підраховували кількість колоній мікроорганізмів у кожному з паралельних посівів одного розведення. За результатами визначали середньоарифметичне значення числа колоній в посівах одного



розведення. При підрахунку враховували кратність розведення проби. Результат виражали у колонієутворювальних одиницях (КУО) в 1 см<sup>3</sup> досліджуваної проби стічної води.

Титраційним методом визначали індекс бактерій групи кишкової палички (БГКП) – грамнегативних оксидазонегативних паличок, що не утворюють спор та зброджують глюкозу з утворенням кислоти та газу при 37 °С протягом 24 годин. Як основний показник ступеня фекального забруднення стічної води визначали лактозопозитивні кишкові палички (ЛКП), до яких відносяться грамнегативні, неспорують палички, що ферментують лактозу до кислоти і газу за температури 37 °С протягом 24 годин, з негативним оксидазним тестом. Число лактозопозитивних кишкових паличок визначали титраційним методом. Дози стічної води засіявали паралельно у 3 порції лактозо-пептоного середовища, 50 мл досліджуваної води вносили у флакони з 15 мл концентрованого лактозо-пептоного середовища, 1 мл проби і 1 мл розведень вносили у пробірки з 10 мл середовища нормальної концентрації. Посіви інкубували за температури 37 °С протягом 24 годин. З посівів у середовище накопичення, де виявлялось помутніння і газоутворення, проводили висів на поверхню підтверджуючого щільного фуксин-сульфітного середовища Ендо. Посіви на середовище Ендо інкубували за температури 37 °С протягом 16–18 годин. Поява характерних для лактозопозитивних кишкових паличок колоній (темно-червоних з металевим блиском і без нього) дозволяла надати позитивну відповідь. Після визначення результатів на наявність лактозопозитивних кишкових паличок в об'ємах води, засіяних у середовище накопичення, обчислювали колі-індекс за таблицями.

Виявлення числа бактерій *Esherichia coli*. До групи кишкових паличок відносять лактозопозитивні кишкові палички, які ферментують лактозу при температурі 44,5 °С і утворюють індол при цій же температурі. При виявленні числа термотолерантних кишкових паличок *E. coli* пересівали темно-червоні лактозопозитивні колонії в лактозний бульйон з борною кислотою або з брильянтовим зеленим, який спочатку нагрівали у термостаті. Відразу ж після посіва пробірки ставили в термостат і інкубували 24 години при температурі 43–44 °С. Помутніння і газоутворення в пробірці свідчить про свіже фекальне забруднення стічної води. Після встановлення позитивних і негативних результатів у засіяних в середовищах накопичення об'ємах води на наявність *E. coli* виявляли їх число у 1 л води. Наявність у воді *E. coli* більше 1000 в 1 л свідчило про господарсько-фекальне забруднення та недотримання вимог до очищення стічних вод.

Визначення патогенних ентеробактерій, в тому числі сальмонел здійснювали на щільних диференційно-діагностичних живильних середовищах Ендо та вісмут-сульфітному агарі з подальшим висівом на комбіноване середовище Олькеницького. Ентерококи виявляли на лужно-поліміксиновому та щільному молочно-інгібіторному середовищах для підтвердження фекального характеру забруднення стічних вод. Визначення числа стафілококів здійснювали на молочно-жовточно-сольовому агарі – підраховували блискучі, опуклі колонії білого, бежевого чи золотавого кольорів, оточені райдужною хариною з перламутровим блиском.



Для визначення загальної чисельності факультативно-анаеробних ендоспороутворювальних бактерій у пробі стічної води фармвиробництва готували розведення  $2 \times 10^{-4}$  шляхом внесення 100 мкл досліджуваного матеріалу до пробірки з 4,900 мкл фізіологічного розчину. Для виявлення ендоспор аліквоту проби піддавали пастеризації у режимі 80 °С протягом 10, 15 та 20 хв. Після пастеризації без розведення проводили висів кожної проби на стерильний м'ясо-пептонний агар (МПА) в 4-х повторах. Посівна доза – 100 мкл на чашку Петрі. Інкубацію інокульованих чашок Петрі проводили за температури +30 °С протягом 2-х діб. Після наведеного часу проводили ручний підрахунок чисельності колоній на чашках.

Оцінку фізико-хімічних властивостей стічних вод фармацевтичного підприємства здійснювали за питомою електропровідністю, значенням рН, величиною поверхневого натягу. Значення рН досліджуваних проб стічної води фармацевтичного підприємства реєстрували йономером універсальним (рН-метром типу ЄВ-74) за допомогою скляного електроду, допоміжного електроду, термокомпенсатору, не пізніше, ніж через 2 години після відбору проби. Величину поверхневого натягу ( $\sigma_x$ ) фармстоків відносно контролю – ( $\sigma(\text{H}_2\text{O}_{\text{дист}})^{18} = 73,05 \text{ мН/м}$ ) визначали за методом Вільгельмі.

Визначення концентрації амонію, нітриту та нітрату в отриманому зразку проводили спектрофотометрично з використанням хімічної реакції йонів на реактив Несслера, реактив Грісса та фенолсульфідокислоти [8].

Вміст йонів важких металів (ЙВМ) у пробах стічної води фармацевтичного підприємства визначали методом електротермічної ААС з використанням приладу «Сатурн-2» у полум'ї суміші «повітря – пропан – бутан» при відповідних довжинах хвиль [4].

Для визначення фенольних сполук у стічній воді ВФП використовували фотометричний метод з використанням 4-аміноантипірину, що заснований на утворенні забарвлених сполук фенолу з 4-аміноантипірином в присутності гексаціаноферату (III)  $\text{pH} = 10,0 \pm 0,2$  [4]. Вміст поверхнево-активних речовин (ПАР) визначали екстракційно-фотометричним методом; вуглеводнів нафти – методом інфрачервоної спектрометрії; фенольних сполук – колориметричним методом з використанням 4-аміноантипірину [1, 3].

Проводили окремі серії досліджень (три серії випробувань,  $n = 3$ ). Достовірність відмінностей між середніми значеннями концентрації визначуваної речовини у пробах фармстоку визначали за критерієм Стьюдента на рівні значущості 95% ( $M \pm m$  при  $p \leq 0,05$ ). Обробку даних здійснювали з використанням програми «Microsoft Office Excel 2003».

### Результати та їх обговорення

Результати санітарно-мікробіологічного дослідження стічних вод фармацевтичного підприємства представлені у табл. 1, рис. 1. Загальне мікробне число (ЗМЧ) – це число мезофільних аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів, здатних утворювати на живильному агарі при температурі 37 °С і впродовж 24 годин колонії. Визначення ЗМЧ дозволяє оцінити рівень мікробного забруднення стічної води.



Таблиця 1  
Санітарно-мікробіологічні показники стічних вод фармацевтичного підприємства  
Table 1  
Sanitary and microbiological indicators of pharmaceutical wastewater

Вид стічних вод	ЗМЧ КУО/см <sup>3</sup>	Індекс, КУО/см <sup>3</sup>		Патогенні бактерії
		БГКП	<i>E. coli</i>	
Фармацевтичні	$7 \times 10^3$	$<1 \times 10^3$	$0,6 \times 10^3$	<i>K. pneumoniae</i> <i>S. moscow</i>

Із представлених експериментальних даних видно, що загальне мікробне число у стічних водах фармацевтичного підприємства незначно перевищувало нормативний показник ( $1 \times 10^3$  КУО/см<sup>3</sup>) і складало  $7 \times 10^3$  КУО/см<sup>3</sup>. Індекс БГКП та індекс *E. coli* були у межах норми:  $<1 \times 10^3$  КУО/см<sup>3</sup> і  $0,6 \times 10^3$  КУО/см<sup>3</sup> відповідно. У стічних водах фармацевтичного підприємства були виявлені патогенні бактерії *Salmonella moscow* і *Klebsiella pneumoniae*.

Представляло інтерес визначити динаміку чисельності мезофільних ендоспороутворювальних мікроорганізмів у стічних водах фармацевтичного виробництва. Результати мікробіологічних досліджень представлені на рис. 1.

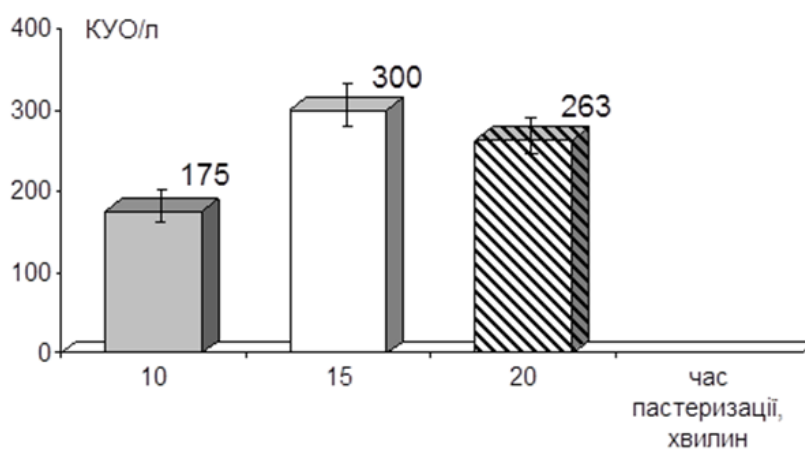


Рис. 1. Чисельність КУО факультативно-анаеробних спороутворювальних бактерій у стічних водах фармацевтичного підприємства за різних термінів пастеризації

Fig. 1. The number of CFU of colony-forming units of facultative anaerobic spore-forming bacteria in the wastewater of a pharmaceutical company in different periods of pasteurization

З представлених даних видно, що у стічних водах фармацевтичного підприємства за різних термінів пастеризації кількість колонієутворювальних одиниць факультативно-анаеробних ендоспороутворювальних бактерій варіювала від 175 КУО/л до 300 КУО/л. Найбільш висока чисельність спороутворювальних бактерій на МПА реєструвалася після 15 хв пастеризації проби



стічної води фармацевтичного підприємства. Збільшення терміну пастеризації до 20 хв призводило до зниження цього показника.

З колоній факультативно-анаеробних спороутворювальних бактерій, що вирости на МПА, за морфологічними властивостями було відібрано і очищено 14 штамів з метою подальшого їх використання як деструкторів у біотехнології очистки стічних вод від органічних забруднювачів, в тому числі фенольних сполук, які, зазвичай, присутні в стічних водах фармацевтичного підприємства.

Результати оцінки фізико-хімічних показників проб стічної води ФП представлені в таблиці 2, з якої видно: значення питомої електропровідності дорівнює  $\sim 3,05 \times 10^{-2} 1/(\text{Ом} \cdot \text{см})$ , значення рН стоку нейтральне,  $7,35 \pm 0,1$  од. рН.

Таблиця 2

**Основні фізико-хімічні показники проб стічної води фармацевтичного підприємства**

Table 2

**The basic physical and chemical indicators of wastewater samples of a pharmaceutical company**

Показники стічної води, одиниці виміру	Стічна вода ВФП
рН (од. рН)	$7,35 \pm 0,1$
Питома електропровідність, $1/(\text{Ом} \cdot \text{см})$	$\sim 3,05 \cdot 10^{-2}$
Поверхневий натяг ( $\sigma_x$ ) стічної води ФП, мН/м	$44,44 \pm 0,5$
$\sigma (\text{H}_2\text{O})^{18} = 73,05 \text{ мН/м};$ $K (\text{H}_2\text{O}_{\text{дист}}) = 0,266$ (K – виміряна стала для $\text{H}_2\text{O}_{\text{дист}}$ за температури $^{\circ}\text{C}$ )	

Проведені перед хімічним аналізом проб стічної води ФП тензіометричні дослідження – визначення поверхневого натягу ( $\sigma_x$ ) стічної води (дослідні проби) відносно контролю – дистильованої води (за методом Вільгельмі – пластинки, що втягується в розчин) за температури  $18^{\circ}\text{C}$  дозволили припустити, що дослідна проба містить органічні речовини, які здатні знижувати поверхневий натяг ( $\sigma$ ) води [ $\sigma (\text{H}_2\text{O}_{\text{дист}})^{18} = 73,05 \text{ мН/м}$ ].

З урахуванням похибки методу Вільгельмі ( $\pm 0,5 \text{ мН/м}$ ) значення поверхневого натягу стічної води виробництва фармацевтичних препаратів зменшувалося з  $73,05$  до  $44,44 \pm 0,5 \text{ мН/м}$  (на  $28,61\%$ ). Це непрямим способом вказувало на наявність в такій воді органічних речовин, здатних адсорбуватися на межі поділу фаз розчин-повітря.

У результаті дослідження санітарно-хімічних показників якості стічних вод фармацевтичного підприємства встановлено, що концентрація нітрат- та нітрит-іонів була значно меншою за ГДК, встановлених для рибогосподарських водойм (табл. 3). Однак, щодо іонів амонію спостерігалось перевищення ГДК в  $8,5$  разів. Із літературних джерел відомо, що за наявності у стічних водах йонів амонію відбувається максимальна їх очистка від фенольних сполук, зокрема автори роботи [12], спостерігали ефективно одночасне видалення фенолу і йонів амонію нітрифікувально-денітрифікувальними бактеріями *Serratia* sp. LJ-1.



Таблиця 3

Санітарно-хімічні показники якості стічних вод  
фармацевтичного підприємства

Table 3

Sanitary and chemical indicators of the quality of wastewater  
from a pharmaceutical company

Досліджувані йони	Вміст йонів, мг/дм <sup>3</sup>	Норма ГДК мг/дм <sup>3</sup>	Порівняно із ГДК
Нітрат-йони (NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> )	6,02±0,7	40,0*	<ГДК*
Нітрит-йони (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	0,03±0,003	0,08*	<ГДК*
Йони амонію (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )	24,61±2,5	2,9*	>ГДК*
Хлор-йони (Cl <sup>-</sup> )	909,7±15,2	300,0* 350,0** 11900***	>ГДК* >ГДК** <ГДК***
Сульфат-йони (SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )	162±11,7	100,0* 400,0** 3500***	>ГДК* <ГДК** <ГДК***

Примітка:  $M \pm m$  при  $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ ; \* – гранично-допустима концентрація у воді водойм, що використовуються для рибогосподарських цілей ([15] [http://www.cawater-info.net/water\\_quality\\_in\\_ca/norm11.htm](http://www.cawater-info.net/water_quality_in_ca/norm11.htm)]); \*\* – допустиме значення згідно з правилами приймання стічних вод до систем централізованого водовідведення ([7] Наказ Міністерства регіонального розвитку, будівництва та житлово-комунального господарства України 01.12.2017 № 316. Додаток 4 до Правил приймання стічних вод до систем централізованого водовідведення (пункт 2 розділу IV). ВИМОГИ до складу та властивостей стічних вод, що скидаються до системи централізованого водовідведення, для безпечного їх відведення та очищення у каналізаційних очисних спорудах (КОС); \*\*\* – гранично-допустима концентрація у морських водах;

Note:  $M \pm m$  at  $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ ; \* - maximum permissible concentration in water of reservoirs used for fishery purposes ([15] [http://www.cawater-info.net/water\\_quality\\_in\\_ca/norm11.htm](http://www.cawater-info.net/water_quality_in_ca/norm11.htm)]); \*\* - permissible value in accordance with the rules for receiving wastewater into central sewerage systems ([7] Order of the Ministry of Regional Development, Construction and Housing and Communal Services of Ukraine dated 01.12.2017 No. 316. Annex 4 to the Rules for receiving wastewater into central sewerage systems (paragraph 2 of section IV). REQUIREMENTS for the composition and properties of wastewater discharged into the sewerage system for their safe disposal and cleaning in sewage treatment plants (STP); \*\*\* - maximum permissible concentration in sea waters.

Хімічний аналіз показав, що в пробах стічної води фармацевтичного підприємства присутні високоотоксичні йони важких металів, переважно йони цинку, міді, свинцю, хрому шестивалентного і кадмію (табл. 4). За виключенням йонів кадмію, концентрація йонів важких металів в 1,4–7,2 рази перевищувала норму ГДК. Йони хрому шестивалентного та йони міді фіксувалися із перевищенням їхньої концентрації ГДК у воді водойм, що використовуються для рибогосподарських цілей [15] відповідно у 3,0 і 7,2 рази. Наслідком впливу йонів важких металів на здоров'я людини є: органічні зміни в тканинах, ракові захворювання шкіри, порушення нервової системи, тощо.

Із органічних компонентів забруднення у пробах стічної води фармацевтичного підприємства були виявлені поверхнево-активні речовини, фенол



Таблиця 4

**Вміст неорганічних компонентів забруднення у пробах стічної води  
фармацевтичного підприємства**

Table 4

**The content of inorganic pollutants in wastewater samples  
a pharmaceutical company**

Йони важких металів	Концентрація йонів важких металів (мкг/дм <sup>3</sup> )	ГДК мкг/дм <sup>3</sup>	Порівняно із ГДК
Цинк Zn (II)	52,0±1,6	10,0* 50,0** 100,0***	>ГДК**
Мідь Cu (II)	36,0±1,4	5,0** 500,0***	> ГДК**
Хром Cr (VI)	3,0±0,4	1,0* 100,0***	> ГДК*
Свинець Pb (II)	14,0±0,7	100,0* 10,0** 100,0***	>ГДК**
Кадмій Cd (II)	≤5,0±0,5	10,0* 10,0***	≤ГДК*

Примітка:  $M \pm m$  при  $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ ; \* – гранично-допустима концентрація у воді водойм, що використовуються для рибогосподарських цілей ([15] [http://www.cawater-info.net/water\\_quality\\_in\\_ca/norm\\_11.htm](http://www.cawater-info.net/water_quality_in_ca/norm_11.htm)]); \*\* – гранично-допустима концентрація у морських водах; \*\*\* – допустиме значення згідно з правилами приймання стічних вод до систем централізованого водовідведення ([7] Наказ Міністерства регіонального розвитку, будівництва та житлово-комунального господарства України 01.12.2017 № 316).

Note:  $M \pm m$  at  $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ ; \* – maximum permissible concentration in water of reservoirs used for fishery purposes ([15] [http://www.cawater-info.net/water\\_quality\\_in\\_ca/norm\\_11.htm](http://www.cawater-info.net/water_quality_in_ca/norm_11.htm)]); \*\* – maximum permissible concentration in sea waters; \*\*\* – permissible value in accordance with the rules for receiving wastewater into centralized sewerage systems ([7] Order of the Ministry of Regional Development, Construction and Housing and Communal Services of Ukraine dated 01.12.2017 No. 316).

і нафтопродукти (табл. 5). Відомо [2, 6] що нафтові вуглеводні та фенольні сполуки (одноатомні та багатоатомні феноли, нафтоли і їх похідні (саліцилова кислота, п-амінофенол, м-аміофенол і ін.) широко представлені в технології синтезу фармацевтичних препаратів [2], і як наслідок завжди присутні у фармстоках) є високотоксичними органічними забруднювачами навколишнього середовища. Вони негативно впливають на здоров'я людини: подразнюють шкіру, викликаючи дерматит, спричиняють розлади функції нервової системи.

Рівень нафтового та фенольного забруднення стічних вод фармацевтичного підприємства порівняно із забрудненням їх аніонними ПАР був мінімальним, що могло бути спричинено діяльністю аборигенних штамів бактерій-деструкторів, що володіють високою нафтоокиснювальною та фенолоокиснювальною здатністю. У фармстоках переважали аніонні ПАР. Їх





концентрація перевищувала норму ГДК у воді водойм, що використовуються для рибогосподарських цілей [15], в 16,4 рази. Поверхнево-активні речовини, потрапляючи до організму людей і тварин, акумулюються та провокують онкологічні захворювання, захворювання кровотворної, імунної та кровоносної систем [1, 6].

Таблиця 5

**Вміст органічних компонентів забруднення у пробах стічної води фармацевтичного підприємства**

Table 5

**The content of organic pollutants in wastewater samples a pharmaceutical company**

Органічні компоненти забруднення	Концентрація органічних компонентів забруднення (мг/дм <sup>3</sup> )	ГДК, мг/дм <sup>3</sup>	Перевищення ГДК
Нафтопродукти	0,81±0,05	0,05*	>ГДК*
Фенол	0,003±0,0006	0,001*	> ГДК*
Аніонні ПАР	8,2±0,7	0,5*	>ГДК*

Примітка:  $M \pm m$  при  $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ ; \* – гранично-допустима концентрація у воді водойм, що використовуються для рибогосподарських цілей ([15] [http://www.cawater-info.net/water\\_quality\\_in\\_ca/norm11.htm](http://www.cawater-info.net/water_quality_in_ca/norm11.htm)])

Note:  $M \pm m$  at  $p \leq 0.05$ ,  $n=3$ ; \* – maximum permissible concentration in water of reservoirs used for fishery purposes ([15] [http://www.cawater-info.net/water\\_quality\\_in\\_ca/norm11.htm](http://www.cawater-info.net/water_quality_in_ca/norm11.htm)]).

Результати санітарно-мікробіологічного і хімічного аналізу стічних вод фармацевтичного підприємства свідчать про їх багатокомпонентність і екологічну небезпечність – в них присутні патогенні бактерії *Salmonella moscow* і *Klebsiella pneumoniae* і полютанти різної природи: йони важких металів Cu(II), Cr (VI) і Pb (II) в концентрації 36,0±1,4 мкг/дм<sup>3</sup>, 3,0±0,4 мкг/дм<sup>3</sup> і 14,0±0,7 мкг/дм<sup>3</sup> відповідно, та органічні компоненти забруднення – фенол, нафтопродукти і аніонні ПАР в концентрації 0,003±0,0006 мг/дм<sup>3</sup>, 0,81±0,05 мг/ дм<sup>3</sup> і 8,2±0,7 мг/дм<sup>3</sup> відповідно.

Рекомендуємо проводити комплексну очистку стічних вод фармацевтичного підприємства від фенолу, йонів важких металів [Cu (II), Cr (VI), Zn (II)], нафтопродуктів, аніонних поверхнево-активних речовин і патогенів.



**T.V. Gudzenko, O.G. Gorshkova, O.V. Voliuvach,  
T.V. Burlaka, I.P. Metelitsina**

Odesa National I.I. Mechnykov University,  
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine;  
tel.: 068 259 33 08, e-mail: tgudzenko@ukr.net

## MICROBIOLOGICAL AND SANITARY - CHEMICAL CHARACTERISTICS OF WASTEWATER FROM PHARMACEUTICAL COMPANY

### Summary

**Aim.** Assessment of wastewater from a pharmaceutical company according to sanitary-microbiological and chemical indicators to determine the method of treatment and remediation of them from pollutants and pathogens. **Methods.** In sanitary and bacteriological studies, classical microbiological methods were used to determine the total microbial number of pathogenic bacteria. Determination of the concentration of ammonium, nitrite and nitrate in wastewater samples from a pharmaceutical company was carried out spectrophotometrically using the chemical reaction of ions to Nessler's reagent, Griss reagent, and phenol sulfide acid. The content of heavy metal ions was determined by the method of electrothermal AAS using the device "Saturn-2", by the photometric method using 4-aminoantipyrine – phenol, by the extraction-photometric method – by surfactants, by the method of infrared spectrometry – by petroleum hydrocarbons. **Results.** It was experimentally confirmed that the total microbial count in wastewater samples from a pharmaceutical company slightly exceeded the standard value. The BGKP index and the E. coli index were within the normal range. The pathogenic bacteria *Salmonella moscow* and *Klebsiella pneumoniae* were found in the wastewater of pharmaceutical company. The contamination of pharmaceutical stock can be judged by the 8.5 times excess of the concentration of ammonium ions in them compared to the MPC. The results of chemical analysis of wastewater samples from a pharmaceutical company indicate their multicomponent composition. Of the heavy metal ions, ions of zinc, copper, lead, hexavalent chromium and cadmium were mainly detected. With the exception of cadmium ions, the concentration of heavy metal ions was 1.4–7.2 times higher than the MPC norm. Anionic surfactants predominated in pharmaceutical stocks – their concentration was  $8.2 \pm 0.7 \text{ mg/dm}^3$ . The level of phenolic and oil pollution of wastewater was minimal in comparison with the content of anionic surfactants, which could be caused by the activity of aboriginal strains of bacteria-destroyers with a high phenolic capacity. **Conclusion.** The results of sanitary-microbiological and chemical analysis of wastewaters of a pharmaceutical company indicate their multicomponent nature and environmental hazard – they contain pathogenic bacteria *Salmonella moscow* and *Klebsiella pneumoniae* and pollutants of various nature: heavy metal ions Cu (II), Cr (VI) and Pb (II) at a concentration of  $36.0 \pm 14 \text{ } \mu\text{g/dm}^3$ ,  $3.0 \pm 0.4 \text{ } \mu\text{g/dm}^3$  and  $14.0 \pm 0.7 \text{ } \mu\text{g/dm}^3$ , respectively, and organic pollutants – phenol, oil products and anionic surfactants at a concentration of  $0.003 \pm 0.0006 \text{ mg/dm}^3$ ,  $0.81 \pm 0.05 \text{ mg/dm}^3$  and  $8.2 \pm 0.7 \text{ mg/dm}^3$ , respectively. We recommend to carry out a comprehensive purification of wastewater from a pharmaceutical company from phenol, heavy metal ions [Cu (II), Cr (VI), Zn (II)], oil products, anionic surfactants and pathogens.

*Key words:* wastewater; pharmaceutical company; microbiological and sanitary - chemical characteristics



**Т.В. Гудзенко, Е.Г. Горшкова, О.В. Волювач,  
Т.В. Бурлака, І.П. Метелиціна**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,  
тел.: +38(068) 259 33 08, e-mail: tgudzenko@ukr.net

## **МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ И САНИТАРНО- ХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТОЧНЫХ ВОД ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО ПРЕДПРИЯТИЯ**

### **Реферат**

**Цель.** Оценка сточных вод фармацевтического предприятия по санитарно-микробиологическим и химическим показателям для определения метода очистки и ремедиации их от загрязнителей и патогенов. **Методы.** При санитарно-бактериологических исследованиях для определения общего микробного числа, патогенных бактерий использовали классические микробиологические методы. Определение концентрации аммония, нитрита и нитрата в пробах сточных вод фармацевтического предприятия проводили спектрофотометрически с использованием химической реакции ионов на реактив Несслера, реактив Грисса и фенолсульфидокислоты. Определяли методом электротермической ААС с использованием прибора «Сатурн-2» содержание ионов тяжелых металлов, фотометрическим методом с использованием 4-аминоантипирина – фенол, экстракционно-фотометрическим методом – поверхностно-активные вещества, методом инфракрасной спектрометрии – нефтяные углеводороды. **Результаты.** Экспериментально подтверждено, что общее микробное число в пробах сточной воды фармацевтического предприятия незначительно превышало нормативный показатель. Индекс БГКП и индекс *E. coli* были в пределах нормы. В сточной воде фармацевтического предприятия были обнаружены патогенные бактерии *Salmonella moscow* и *Klebsiella pneumoniae*. О загрязненности фармстока можно судить и по превышению в 8,5 раза по сравнению с ПДК концентрацией в них ионов аммония. Результаты химического анализа проб сточных вод фармацевтического предприятия свидетельствуют о многокомпонентности их состава. Из ионов тяжелых металлов были зафиксированы преимущественно ионы цинка, меди, свинца, хрома шестивалентного и кадмия. За исключением ионов кадмия, концентрация ионов тяжелых металлов в 1,4–7,2 раза превышала норму ПДК. В фармстоках преобладали анионные поверхностно-активные вещества - их концентрация составляла  $8,2 \pm 0,7$  мг/дм<sup>3</sup>. Уровень фенольного и нефтяного загрязнения сточных вод был по сравнению с содержанием в них анионных поверхностно-активных веществ минимальным, что могло быть вызвано деятельностью аборигенных штаммов бактерий-деструкторов, обладающих высокой фенолоксилирующей способностью. **Вывод.** Результаты санитарно-микробиологического и химического анализа сточных вод фармацевтического предприятия свидетельствуют об их многокомпонентности и экологической опасности – в них присутствуют патогенные бактерии *Salmonella moscow* и *Klebsiella pneumoniae* и загрязнители различной природы: ионы тяжелых металлов *Cu(II)*, *Cr(VI)* и *Pb(II)* в концентрации  $36,0 \pm 1,4$  мкг/дм<sup>3</sup>,  $3,0 \pm 0,4$  мкг/дм<sup>3</sup> и  $14,0 \pm 0,7$  мкг/дм<sup>3</sup> соответственно, и органические загрязнители – фенол, нефтепродукты и анионные ПАВ в концентрации  $0,003 \pm 0,0006$  мг/дм<sup>3</sup>,



$0,81 \pm 0,05$  мг/дм<sup>3</sup> і  $8,2 \pm 0,7$  мг/дм<sup>3</sup> відповідно. Рекомендуємо проводити комплексну очистку сточних вод фармацевтичного підприємства від фенола, іонів важких металів [Cu (II), Cr (VI), Zn (II)], нафтопродуктів, аніонних поверхностно-активних речовин і патогенів.

*Ключеві слова:* сточні води, фармацевтичне підприємство, мікробіологічні і санітарно-хімічні характеристики

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Абрамзон А. А., Зайченко Л. П., Файнгольд С. И. Поверхностно-активные вещества. Л.: Химия, 1988. – 200 с.
2. Быкова Г.С., Шаталаев И.Ф., Воронин А.В. Фитомасса наяды мелкозубчатой в доочистке фенол-содержащих загрязненных вод фармацевтических производств // Медицинский альманах. – 2014. – № 1(31). – С. 102–105.
3. Леоненко И.И., Антонович В.П., Андрианов А.М., Безлуцкая И.В., Цымбалюк К.К. Методы определения нефтепродуктов в водах и других объектах окружающей среды (обзор) // Методы и объекты химического анализа. – 2010. – Т. 5, № 2. – С. 58–72.
4. Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. М.: Химия, 1984. – 448 с.
5. Методичні вказівки. МВ 10.2.1-113-2005. Санітарно-мікробіологічний контроль якості питної води, затверджені наказом МОЗ від 03.02.2005 N 60
6. Мікробіологічні методи очищення стічних вод від органічних забруднювачів : монографія / В.О. Іваниця, Т.В. Гудзенко, Б.М. Галкін, О.В. Волювач, О.Г. Горшкова – Одеса: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2020 – 135 с.
7. Наказ Міністерства регіонального розвитку, будівництва та житлово-комунального господарства України 01.12.2017 № 316. ВИМОГИ до складу та властивостей стічних вод, що скидаються до системи централізованого водовідведення, для безпечного їх відведення та очищення у каналізаційних очисних спорудах (КОС).
8. Новиков Ю.В., Ласточкина К.О. Методы исследования качества воды водоёмов. – 2-е изд. – М.: Медицина, 1990. – 236 с.
9. Чабан М.М., Гудзенко Т.В. Виявлення анамокс бактерій у стічних водах фармацевтичного виробництва // Мікробіологія і біотехнологія. 2019. – №1(46) – С. 48–55.
10. Gudzenko T.V., Voliuvach O.V., Gorshkova O.G., Ostapchuk A.M., Ivanytsia V.O. Phenol-oxidizing activity and fatty acid profile of *Brevibacillus centrosporus* F14 strain // Ukr. Biochem. J. – 2020. – Vol. 92, № 1. – P. 84–91.
11. Guo Y., Qi P.S., Liu Y.Z. A Review on Advanced Treatment of Pharmaceutical wastewater // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2017. – 63. – 012025.
12. Jian Lu, Qiang Jin, Yiliang He, Xia He, Juan Zhao. Simultaneous Removal of Phenol and Ammonium Using *Serratia* sp. LJ-1 Capable of Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification // Water, Air, & Soil Pollution. – 2014.



13. *Lateef A.* The microbiology of a pharmaceutical effluent and its public health implications // *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* – 2004. – Vol. 20. – P. 167–171.
14. *Tahrani L., Soufi L., Mehri I., Najjari A., Hassan A., Van Loco J., Reyns T., Cherif A., Ben Mansour H.* Isolation and characterization of antibiotic-resistant bacteria from pharmaceutical industrial wastewaters // *Microb. Pathog.* – 2015. – Vol. 89. – P. 54–61.
15. [http://www.cawater-info.net/water\\_quality\\_in\\_ca/norm11.htm](http://www.cawater-info.net/water_quality_in_ca/norm11.htm)
16. *Патент України на винахід № 116299.* Спосіб здійснення дефенолізації промислових стоків / Іваниця В.О., Горшкова О.Г., Гудзенко Т.В., Волювач О.В., Конуп І.П., Беляєва Т.О. Номер заявки № а201608635 від 25.07.2016 р. Опубл. 26.02.2018, Бюл. № 4.

#### REFERENCES

1. Abramzon AA, Zajchenko LP, Fajngol'd SI. Surfactants. L.: Himija, 1988: 200 [in Russian].
2. Bykova GS, Shatalaev IF, Voronin AV. Phytomass of naiad fine-toothed in the post-treatment of phenol-contaminated waters of pharmaceutical company. *Medicinskij al'manah.* 2014;1(31):102–105 [in Russian].
3. Leonenko II, Antonovich VP, Andrianov AM, Bezluckaja IV, Cymbaljuk KK. Methods for the determination of oil products in waters and other environmental objects (review). *Metody i obekty himicheskogo analiza.* 2010; 5(2): 58–72 [in Russian].
4. Lur'e JuJu. Analytical chemistry of industrial wastewater. M.: Himija, 1984: 448 [in Russian].
5. Methodical instructions. MB 10.2.1-113-2005. Sanitary and microbiological quality control of drinking water, approved by the order of the Ministry of Health of 03.02.2005 No. 60 [in Ukrainian].
6. Microbiological methods of wastewater treatment from organic pollutants: monograph / VO. Ivanytsia, TV. Gudzenko, BM. Galkin, OV. Voliuvach, OG. Gorshkova – Odesa: Odes'kyj nacional'nyj universytet imeni I. I. Mechnykova, 2020: 135 [in Ukrainian].
7. Order of the Ministry of Regional Development, Construction, Housing and Communal Services of Ukraine, 01.12.2017 No. 316. Requirements for the composition and properties of wastewater discharged into the sewerage system for their safe disposal and treatment in sewage treatment plants [in Ukrainian].
8. Novikov JuV, Lastochkina KO. Methods for studying the quality of water in reservoirs. - 2nd ed. – M.: Medicina, 1990: 236 [in Russian].
9. Chaban MM, Gudzenko TV. Detection of anamox bacteria in pharmaceutical company. *Mikrobiologija i biotehnologija.* 2019; 1(46): 48–55 [in Ukrainian].
10. Gudzenko TV, Voliuvach OV, Gorshkova OG, Ostapchuk AM, Ivanytsia V.O. Phenol-oxidizing activity and fatty-acid profile of strain *Brevibacillus centrosporus* F14. *Ukr. Biochem. J.* 2020; 1(92):84–91 [in Ukrainian].



11. Guo Y, Qi PS, Liu YZ. A Review on Advanced Treatment of Pharmaceutical wastewater. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2017;63: 012025.
12. Jian Lu, Qiang Jin, Yiliang He, Xia He, Juan Zhao. Simultaneous Removal of Phenol and Ammonium Using *Serratia* sp. LJ-1 Capable of Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification. Water, Air, & Soil Pollution, 2014
13. Lateef A. The microbiology of a pharmaceutical effluent and its public health implications. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 2004; 20:167–171.
14. Tahrani L, Soufi L, Mehri I, Najjari A, Hassan A, Van Loco J, Reyns T, Cherif A, Ben Mansour H. Isolation and characterization of antibiotic-resistant bacteria from pharmaceutical industrial wastewaters. Microb. Pathog. 2015; 89: 54-61.
15. [http://www.cawater-info.net/water\\_quality\\_in\\_ca/norm11.htm](http://www.cawater-info.net/water_quality_in_ca/norm11.htm)
16. Patent of Ukraine for invention No. 116299. Method for carrying out the defenolization of industrial effluents / Ivanytsia V.O., Gorshkova O.G., Gudzenko T.V., Voliuvach O.V., Konup I.P., Belyaeva T.O. Nomer zajavky № a201608635 vid 25.07.2016 r. Opubl. 26.02.2018, Bjul. № 4.

Стаття надійшла до редакції 09.09.2021 р.

