

Андрей Викторович Мокиенко, руководитель Центра ведения Государственного кадастра природных лечебных ресурсов ГУ «Украинский НИИ медицинской реабилитации и курортологии» МЗ Украины, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник; ведущий научный сотрудник лаборатории гигиены и экологии воды ГП Украинский НИИ медицины транспорта МЗ Украины. Область научных интересов: гигиенические, биологические, технологические, токсикологические, эпидемиологические, медико-экологические аспекты водоснабжения и водоотведения объектов коммунального хозяйства и транспорта, использования природных лечебных ресурсов; проблемы контроля качества фасованных минеральных и питьевых вод. Автор свыше 550 научных трудов, включая 11 монографий, фрагментов 4 монографий и учебного пособия.



Наталья Федоровна Петренко, заведующая лабораторией гигиены и экологии воды ГП Украинский НИИ медицины транспорта МЗ Украины, доктор биологических наук, старший научный сотрудник. Область научных интересов: химические, микробиологические, технологические, токсикологические, медико-экологические аспекты водоснабжения и водоотведения объектов коммунального хозяйства и транспорта, проблемы контроля качества фасованных питьевых вод, экспертиза водоочистного оборудования, поверхностных, подземных, питьевых, сточных вод. Автор более 300 научных работ, включая 6 монографий.



Анатолий Иванович Гоженко, директор ГП Украинский НИИ медицины транспорта МЗ Украины, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки и техники Украины, президент научного общества патофизиологов Украины; автор инновационной общей теории болезни, которая обосновывает современную парадигму болезни; создатель международной научной школы "Патофизиология водно-солевого обмена и функции почек". Автор свыше 1480 научных работ, среди которых 47 монографий, 73 авторских свидетельств и патентов, 7 учебников, 4 учебных пособия и 2 методических пособия.



Том 3
ОЗОН

А.В. МОКИЕНКО, Н.Ф. ПЕТРЕНКО, А.И. ГОЖЕНКО

ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ ВОДЫ ГИГИЕНИЧЕСКИЕ И МЕДИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

Том 3
ОЗОН

ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ ВОДЫ
ГИГИЕНИЧЕСКИЕ И МЕДИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

2017

Одесса, 2017

А.В. МОКИЕНКО, Н.Ф. ПЕТРЕНКО, А.И. ГОЖЕНКО

**ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЕ ВОДЫ
ГИГИЕНИЧЕСКИЕ
И МЕДИКО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ
АСПЕКТЫ**

**Том 3
ОЗОН**

Одесса
"Фенікс"
2017

УДК 628.162:613.34.:502.65+546.134

Рекомендовано к печати Ученым советом
Государственного предприятия
Украинский научно-исследовательский институт медицины
транспорта Министерства здравоохранения Украины 31.01.2017 года,
протокол № 1.

Рецензенты:

Прокопов В. А. – заведующий лабораторией природных, питьевых вод и оценки рисков ГУ «Институт общественного здоровья им. А.Н. Марзеева НАМН Украины», доктор медицинских наук, профессор;

Гаркавий С. И. – заведующий кафедрой коммунальной гигиены и экологии человека с секцией гигиены детей и подростков Национального медицинского университета им. А.А. Богомольца, доктор медицинских наук, профессор, лауреат Государственной премии Украины, премии НАМН Украины в области профилактической медицины.

А.В. Мокиенко, Н.Ф. Петренко, А.И. Гоженко

Обеззараживание воды. Гигиенические и медико-экологические аспекты. Том 3. Озон. – Одесса : Фенікс, 2017. – 322 с.

ISBN

Монография посвящена актуальной проблеме обеззараживания питьевой воды как основы обеспечения ее эпидемической безопасности. В третьем томе представлены основные гигиенические и медико-экологические аспекты применения озона как средства обеззараживания воды. Изложены краткие история применения озона и химизм реакций, подробная характеристика биоцидного действия, токсикологическая оценка побочных продуктов дезинфекции, в том числе бромата, и влияния его на организм, гигиенические аспекты применения озона в технологиях водоподготовки. Представлены результаты собственных аналитических и экспериментальных исследований.

Монография рассчитана на широкий круг читателей: гигиенистов, санитарных врачей, технологов водоочистки, эпидемиологов, химиков, микробиологов, токсикологов, экологов, преподавателей медицинских ВУЗов.

ISBN 978-966-438-_____

© Мокиенко А.В., Петренко Н.Ф.,
Гоженко А.И., 2017.
© Оформление ЧП «Фенікс», 2017.

СОДЕРЖАНИЕ

Раздел 1.	
ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА	5
Раздел 2.	
ФИЗИЧЕСКИЕ И ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА	
ОЗОНА	10
Раздел 3.	
РЕАКЦИИ ОЗОНА С НЕОРГАНИЧЕСКИМИ И	
ОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ В ВОДНОЙ	
СРЕДЕ	16
Раздел 4.	
БИОЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ОЗОНА.	31
<i>4.1. Бактерицидное действие озона</i>	<i>31</i>
<i>4.2. Вирулицидное действие озона</i>	<i>92</i>
<i>4.3. Протозооцидное действие озона</i>	<i>151</i>
<i>4.4. Спороцидное действие озона.</i>	<i>170</i>
<i>4.5. Альгацидное действие озона</i>	<i>186</i>
<i>4.6. Комплексные исследования биоцидного действия озона.</i>	<i>225</i>
<i>4.7. Проблема послероста бактерий в озонированной воде</i>	<i>239</i>
Раздел 5.	
ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОЗОНА КАК	
СРЕДСТВА ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ВОДЫ	248
<i>5.1. Токсикологическая оценка побочных продуктов озонирования</i>	
<i>воды</i>	<i>248</i>
<i>5.2. Токсикологическая оценка бромата как побочного продукта</i>	
<i>озонирования воды</i>	<i>259</i>
<i>5.2.1. Токсикологические эффекты бромата у экспериментальных</i>	
<i>животных</i>	<i>262</i>
<i>5.2.1.1. Острая токсичность.</i>	<i>262</i>
<i>5.2.1.2 Субхроническая токсичность</i>	<i>264</i>
<i>5.2.1.3 Генотоксичность.</i>	<i>264</i>

5.2.1.4. Репродуктивная токсичность, связанная с развитием плода	267
5.2.1.5 Иммунотоксичность.	269
5.2.1.6 Нейротоксичность.	269
5.2.1.7 Хроническая токсичность	270
5.2.1.8 Канцерогенность	272
5.2.2 Токсикологические эффекты у человека	277
5.2.2.1 Острая токсичность	277
5.2.2.2 Хроническая токсичность	279
5.2.2.3 Нейротоксичность	279
5.2.3 Оценка ответа дозы	280
5.2.3.1 Влияние на нераковую патологию.	280
5.2.3.2 Канцерогенные эффекты	281
5.2.3.3 Вычисление эффектов нерака РНГ.	285
5.2.3.4 Канцерогенные эффекты	286
5.2.3.4 Другие регулирующие стандарты	287
5.2.4 Пример оценки риска бромата	288
5.2.4.1 Методология оценки избыточного риска рака	289
5.2.4.2 Методология химической оценки риска	289
5.2.4.3 Риск химической токсичности.	293

Раздел 6.

ПРИМЕНЕНИЕ ОЗОНА В ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СХЕМАХ ПОДГОТОВКИ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ	301
---	------------

ЗАКЛЮЧЕНИЕ	315
-----------------------------	------------

РАЗДЕЛ 1. ИСТОРИЧЕСКАЯ СПРАВКА

Впервые на окислительные свойства озона обратил внимание при его открытии Шенбейн в 1840 г. Первые опыты по использованию бактерицидных свойств озона были выполнены во Франции де Меринтенсом в 1886 г. Пятью годами позже в Германии Сели проведены опытные испытания промышленной установки по дезинфекции воды. В 1893 г. экспериментально доказано, что при обработке воды озоном может быть достигнута ее полная стерилизация. В том же году Шнеллер, Ван-дер-Слеем и Тиндал осуществляют строительство промышленных озонаторов в Голландии. После длительных успешных испытаний, в результате которых отмечалось эффективное воздействие озона на бактерии, один из этих озонаторов экспонировался на гигиенической выставке в Париже. В 1896 г. муниципальный совет Парижа принял постановление о проведении опытов по озонированию вод р. Марн на станции водоподготовки Сен-Мар. В 1898 г. под руководством Тиндала установка по озонированию производительностью 5000–12 000 м³/d была введена в эксплуатацию и проработала в течение 3 мес. Производственные установки для обработки воды озоном впервые были построены и введены в эксплуатацию в г. Ницце (Франция), а именно: озонирующая станция Бон Войяж (1907 г.) производительностью 22 500 м³/d, станция Римиц (1909 г.) производительностью 13 000 м³/d и станция Виллефранш (1910 г.) производительностью 26 000 м³/d. После первых же опытов эксплуатации был получен высокий бактерицидный эффект. Однако, при этом отмечалось, что наличие в воде органических загрязнений несколько снижает активность дезинфектанта. В отчетах о работе этой станции указывалось, что обработка озоном придает воде прозрачность, удаляет запах, повышает содержание растворенного кислорода и не вносит в воду каких-либо элементов, опасных для здоровья людей. Затем были построены опытные озонирующие установки в городах Лилле (Франция, 1898–1899 гг.) и Мартиникенфельде (Германия, 1901 г.), а в 1901–1902 гг. – в городах Висбадене (на 6000 м³/d) и Падерборне (на 1440 м³/d) [1-4].

В России испытания озона в качестве средства для обеззараживания воды были рекомендованы V Водопроводным съездом (1901 г.) после доклада известного инженера Н. П. Зимина, который характеризовал «озонирование воды как средство для устранения недостатков ее фильтрования при городских водопроводах» [5, 6]. Съезд принял постановление «Об испытании способа озонирования в России в применении к

делу снабжения городов речными и поверхностными водами». В развитие этого постановления уже в 1905 г. в Петербурге при Петропавловской больнице действовала экспериментальная установка для озонирования воды из р. Невы. Результаты исследований, которые проводили Г. В. Хлопин и К. Э. Добровольский, показали, что число бактерий после озонирования уменьшается в среднем на 98,8 %, улучшается вкус и цвет речной воды, а расход озона на обеззараживание воды колеблется в пределах 0,5–4,5 г/м³ [7].

В 1907 г. на Восьмом водопроводном съезде по вопросам озонирования воды выступали С. Л. Рашкович, Г. В. Хлопин, С. К. Держговский и В. А. Дроздов [6]. В развернутом постановлении съезда отмечалось, что «озонацию воды следует отнести в санитарном отношении к лучшим и заслуживающим внимания способам химического обезвреживания питьевой воды». Постановления русских водопроводных съездов – прогрессивной общественно-технической организации – способствовали устройству в Петербурге фильтро-озонной станции, введенной в эксплуатацию в январе 1911 г. Эта станция явилась самой крупной в мире производственной установкой, которая в 1911 г. обрабатывала 44 500 м³/d воды, а в 1913 г. ее производительность была доведена до 56 000 м³/d. Станция была оборудована озонаторами трубчатой конструкции и эмульсаторами, с помощью которых выполнялось смешивание озон - воздушной смеси с обрабатываемой водой.

Происходивший в 1911 г. Десятый водопроводный съезд заслушал доклад инж. В. В. Старостина [8] об эксплуатации Санкт-Петербургской фильтро-озонной станции (с 1 января по 20 апреля 1911 г.) и доклад врача В. И. Яковлева [8] о некоторых данных, полученных в результате работы фильтро-озонной станции с 18 января по 20 апреля 1911 г. По мнению съезда, выраженному в постановлении, «...трехмесячные наблюдения Санкт-Петербургской городской лаборатории над работой фильтро-озонной станции доказали, что невяская вода после коагуляции и надлежащей и правильной фильтрации в достаточной степени обезвреживается озоном».

Таким образом, в начале XX века сложилось и продержалось несколько десятков лет единодушное мнение об озоне прежде всего как о дезинфектанте. Озонированию было отведено место в конце технологической схемы очистки во избежание «потерь» газа, возникающих при наличии в обрабатываемой воде органических загрязнений. В то время еще не выдвигались гипотезы о том, что «потери» газа не что иное, как реакции окисления озоном органических веществ, присутствующих в обрабатываемой воде.

В годы, предшествующие первой мировой войне, и в последующее десятилетие интерес к озону несколько снизился, что объяснялось использованием недорогого и более доступного хлора, производство которого ввиду военной ситуации находилось на достаточно высоком уровне. В этот период лишь в США продолжались глубокие исследования возможностей озона, в частности, для дезодорации и удаления привкусов воды.

С начала 30-х годов озону снова начинает уделяться большое внимание и прежде всего благодаря универсальности его воздействия на загрязнения (т.е. как окислителя и дезинфектанта). В 1936 г. во Франции насчитывалось более 100 озонаторных станций, в других странах – около 40. Однако, по-прежнему озонирование использовалось на конечной стадии обработки воды. Традиция была нарушена лишь в последующие три десятилетия после обнаружения и реального использования флокулирующего эффекта, возникающего при озонировании (мицеллизация-демицеллизация), а также обоснования явлений синергизма, свойственных озонированию.

В 70-х годах стало привычным говорить о возможностях применения озона для извлечения различного рода загрязнений не только на конечной стадии очистки воды, но и на промежуточной и начальной. Более того, начинает применяться многоступенчатое озонирование, одной из целей которого является сведение к минимуму денежных затрат путем введения окислителя на различных стадиях обработки воды в незначительных количествах.

В 1979 г. установки по озонированию использовались на очистных станциях 29 стран: во Франции – 594, в Швейцарии – 150, в ФРГ – 136, в Австрии – 42, в Канаде 23 и т.д. О растущей популярности этого метода можно судить по следующим данным: одной только французской фирмой «Трейлигаз», специализирующейся в области озонирования, в 70-80 гг. ежегодно вводилось в эксплуатацию для нужд водоподготовки 40–50 установок различной производительности.

Интерес к озонированию в 80-90 гг. не ослабевал. Об этом свидетельствует создание Международного института по озону, проведение многочисленных ежегодных конференций, симпозиумов, семинаров и конгрессов по озонированию, большое число публикаций. Значительный вклад внесен советскими учеными, много и плодотворно работающими в области озонирования питьевых и сточных вод и синтеза озона: В. Ф. Кожинным, Я. А. Карелиным, Л. А. Кульским, П. И. Пискуновым, П. Ф. Кандзасом, Б. П. Вахлером, Ю. М. Емельяновым, Ю. В. Филипповым и др. Однако, в СССР озонирование вод осуществлялось лишь на ряде объектов (например, на водопроводах Москвы, Киева, Горького,

Минска, Кировакана, Горловки и др.) Основной причиной, сдерживающей внедрение озонирования, являются невысокое качество озонаторного оборудования и относительно высокая стоимость получения озона [2].

В.Ф. Кожин [3] отмечает принципиальное различие точек зрения французских и американских специалистов по озонированию воды.

Французские специалисты исходят из условий, что озон является высокоэффективным обеззараживающим средством. Одновременно озон устраняет неприятные привкусы и запахи.

Действительно, в озонированной воде присутствие остаточного озона можно обнаружить только на выходе из контактных колонн в количестве $0,1 \text{ mg/l}$, если температура воды составляет менее 10°C . При более высокой температуре воды величина остаточного озона снижается до $0,05 \text{ mg/l}$. **Тем не менее, при таких показателях за время продолжительной эксплуатации озонирующей установки Сен-Мар общая смертность от болезней «водного происхождения» в Париже не превышала 1,5 случая на 100 тыс. жителей.** Указанная величина имела тенденцию к дальнейшему снижению. В то же время, в нескольких американских городах (например, Чикаго) имели место вспышки желудочно-кишечных заболеваний, несмотря на весьма значительное содержание остаточного хлора в водопроводной воде. Это показало правоту тех гигиенистов, которые не считают наличие остаточного хлора гарантией против бактериального загрязнения воды после ее выхода с очистной станции в систему разводящих трубопроводов.

Одним из таких крупных гигиенистов является М. Т. Б. Уайтсон, выступавший докладчиком от Великобритании на Международном конгрессе по водоснабжению в Стокгольме (июнь 1964 г.). Уайтсон отметил, что наиболее существенным возражением против озонирования обычно считается отсутствие остаточного озона в разводящей водопроводной сети, тогда как при хлорировании в сети может быть обнаружен остаточный хлор. По данным Уайтсона, эксперименты, проведенные в г. Аштоне (Англия), показали, что в обеззараженной озоном воде, циркулирующей в сети трубопроводов, не происходит ухудшения ее качества. Контрольные пробы озонированной воды, взятые из сети, оказались совершенно равноценными пробам, содержащим остаточный хлор в воде, взятым из других секторов сети, но питаемых из тех же водных источников.

Установлено также, что небольшие количества остаточного хлора, имеющиеся в трубопроводах, не могут оказать никакого обеззараживающего действия на загрязнения, вызванные повреждениями коммуникаций, явлениями вакуума и т. п. По заключению Уайтсона, присутствие

остаточного хлора в трубопроводах еще не означает неперменной бактериальной чистоты воды, хотя зачастую ее считают именно таковой [9].

Однако, мнение американских специалистов остается неизменным: озон является лишь вспомогательным средством по отношению к хлору. Потребитель должен получать воду, содержащую остаточный хлор, в качестве гарантии, исключающей возможность загрязнения воды при ее транспортировании по трубопроводам. Поэтому в США озон преимущественно применяют для устранения привкусов и запахов воды, в особенности при использовании источников, загрязненных фенолами, так как озон расщепляет фенольные соединения [4].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Кульский Л.А. Основы химии и технологии воды / Л. А. Кульский. – Киев: Наукова думка, 1991. – 568 с.
2. Орлов В. А. Озонирование воды / В. А. Орлов. – М.. Стройиздат, 1984 88 с.
3. Кожин В.Ф. Озонирование воды / В.Ф. Кожин, И.В. Кожин. –М.:Стройиздат, 1974. – 349 с.
4. Руководство по гигиене водоснабжения / Под ред. С.Н.Черкинского. – М.: Медицина, 1975. – 328 с.
5. Зимин Н. П. Озонирование воды как средство для устранения недостатков ее фильтрования при городских водопроводах / Н. П. Зимин. – М., 1902.
6. Постоянное бюро русских водопроводных съездов. Свод постановлений первых девяти русских водопроводных съездов за период 1893 – 1909 гг. М., 1911.
7. Хлопинъ Г.В. Обезвреживаніе питьевой воды посредством озона въ примененіи къ улучшенію водоснабженія С-Петербурга / Г.В. Хлопинъ, К.З. Добровольский. – СПб: Тип. Мин. вн. Дель, 1907. – 44 с.
8. Свод постановлений водопроводных и санитарно-технических съездов (с X по XIV съезд) за период с 1911 по 1917 г. – М., 1928.
9. Hallopeau J. Ozonation – Rapport General № 4 – Congres et exposition internationaux des distributions d'eau. Stockholm, June, 1964.

РАЗДЕЛ 2. ФИЗИЧЕСКИЕ И ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ОЗОНА

Применение озона для обеззараживания/очистки питьевой воды и сточных вод является постоянным предметом изучения гигиенистами. Основное внимание исследователей привлечено к оценке количественной стороны проблемы озонирования: степени разрушения того или иного вещества, величине бактерицидного эффекта, токсичности побочных продуктов обеззараживания и т. д. Необходимость в проведении таких исследований диктуется все более широким использованием O_3 для подготовки питьевой воды и очистки сточных вод [1-9].

Озон (O_3), М.м. = 48,0 g/mol, аллотропическая модификация кислорода, является одним из наиболее сильных окислителей (окислительно-восстановительный потенциал, $E_0 = 2,07$ Вт) и радикалообразователей; в кислой среде по окислительной активности он уступает только фтору, перксенат-иону, атомарному кислороду, ОН-радикалам и незначительному числу других окислителей [10 - 12].

Обе связи О – О в молекуле озона имеют одинаковую длину 1,278 Å. Угол между связями составляет 116,8° (рис. 2.1). Центральный атом кислорода sp^2 -гибридизован, имеет одну неподеленную пару электронов. Порядок каждой связи – 1,5, резонансные структуры – с локализованной одинарной связью с одним атомом и двойной – с другим, и наоборот. Молекула полярна, электрический дипольный момент – 0,5337 D.

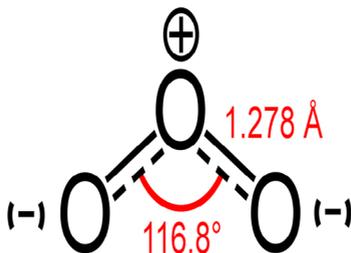


Рис. 2.1. Структура молекулы озона

Согласно данной структуре, можно предположить, что озон вступает в реакции как диполь, электрофильный и нуклеофильный реактив.

Тепловой эффект при образовании моля озона из кислорода составляет 143,64 кДж.

При нормальных температуре и давлении озон представляет собой газ бледно-голубого цвета. Он обладает характерным запахом и ощутим уже при разбавлении 1:500000. Озон конденсируется в темно-синюю жидкость с парамагнитными свойствами. В твердом виде представляет собой темно-синие, практически черные кристаллы [1, раздел 1; 9-14].

Молекула O_3 неустойчива и при достаточных концентрациях в воздухе при нормальных условиях самопроизвольно за несколько десятков минут превращается в O_2 с выделением тепла. Повышение температуры и снижение давления увеличивают скорость перехода в двухатомное состояние. При больших концентрациях переход может носить взрывной характер. Контакт озона даже с малыми количествами органических веществ, некоторых металлов или их оксидов резко ускоряет превращение.

В таблицах 2.1, 2.2 приведены некоторые физико-химические свойства озона.

Таблица 2.1

Некоторые физико-химические свойства озона [1, раздел 1; 10-15].

Физико-химические показатели	Озон (O_3)
Молярная масса, g/mol	48,000
Температура плавления, °C	-192
Температура кипения, °C	-112
Критическая температура, °C	12
Растворимость в воде при 20 °C, %	0,0394
Растворимость в воде при 0 °C, kg/m ³	0,394
Плотность газа при н.у., g/l	2,1445
Плотность по воздуху	1,678
ОВП (E_0), V	2,07
Потенциал ионизации молекулы, eV	12,52

Таблица 2.2

Стандартные ОВП (E_0) реакций озона при различных значениях pH

Реакции	E_0 , V
$O_3 + 2 H^+ + 2e^- = O_2 + H_2O$	2,07
$O_3 + 2 H^+ (10^{-7}M) + 2e^- = O_2 + H_2O$	1,65
$O_3 + H_2O + 2e^- = O_2 + 2 OH^-$	1,24

Озон в водных растворах при нормальных условиях и относительно незначительных концентрациях, которые характерны для его применения в водных технологиях, разлагается в 5-8 раз быстрее, чем в газовой фазе.



Молекула озона легко диссоциирует на атом и молекулу кислорода:



Атом кислорода является радикалом с двумя неспаренными электронами, вступает в реакцию рекомбинации с озоном:



в результате чего из двух молекул озона образуются 3 молекулы кислорода:



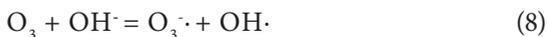
В результате значительного сродства озона и кислорода к электрону первичными продуктами преобразования этих веществ, как окислителей, является озонидный анион - радикал $\text{O}_3^- \cdot$ и супероксидный анион- радикал $\text{O}_2^- \cdot$ [10]:



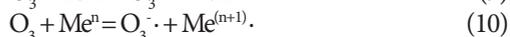
С участием воды происходит разложение озонидного радикала:



Для образования $\text{O}_3^- \cdot$ необходим донор электронов. В воде, которая не содержит примесей, донором электронов является гидроксильный ион, который имеет низкую энергию отрыва электрона [15].



В природной воде донорами электронов являются органические соединения или ионы переходных металлов:



В системе $\text{O}_3^- = \text{O}_2 + \text{O}^\cdot$ наиболее активной частицей является анион-радикал атомарного кислорода, поэтому большинство реакций O_3^- фактически являются реакциями O^\cdot [16].

Для анион-радикала атомарного кислорода характерно не только взаимодействие с водой, но и реакция рекомбинации с образованием пероксидного иона:



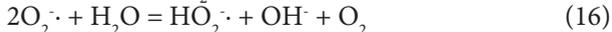
Таким образом, сменяющие друг друга с определенной скоростью, промежуточными соединениями при разложении озона в воде являются $\text{O}_3 \rightarrow \text{O}_3^- \rightarrow \text{O}_2^- \rightarrow \text{O}^\cdot \rightarrow \text{O}^-$, вследствие чего образуются OH^- , $\text{Me}^{(n+1)}$, RH^+ и др.

Доказано, что при озонировании воды образуются активные формы кислорода (АФК), которые являются свободными радикалами, и гидроксил-радикалы.



Реакционная способность атомов кислорода во много раз выше, чем озона. Последующие реакции приводят к образованию в воде высоких концентраций активных радикалов $\text{O}(^1\text{D})$, $\text{O}(^3\text{P})$, H , OH , а также активных молекул O_3 , HO_2 , H_2O_2 , и возбужденных частиц O_2 ($a^1\Delta$) [9, 16].

Разложение озона в водных основных растворах происходит с образованием O_3^- , анион-радикала атомарного кислорода O^\cdot , супероксидного анион-радикала O_2^- и молекулярного кислорода [5, 16]:



Реакция озона с гидроксил-ионом приводит к непроизводительной потере озона [1, 3].

Изучено влияние pH и температуры на кинетику разложения озона в воде. Показано, что в диапазоне pH от 4 до 8 она хорошо описывается уравнением реакции второго порядка. Скорость разложения озона возрастает при повышении pH и температуры. Зависимость логарифма константы скорости от pH при 19 °C соответствует уравнению $\lg k = 0,7 + (0,49 \pm 0,03) (\text{pH} - 4)$. Энергия активации разложения озона

составляет $76,0 \pm 8,3$ kJ/mol. Присутствие в растворе фосфат-ионов и трет-бутилового спирта повышает скорость цепного процесса разложения озона [17].

ЛИТЕРАТУРА:

1. Разумовский С. Д. Озон в процессах восстановления качества воды / С. Д. Разумовский // Журнал Всесоюзного химического общества им. Д.И. Менделеева. – 1990. – Т. 35, № 1. – С. 77– 88.
2. Гончарук В. В. Озонирование как метод подготовки питьевой воды: возможные побочные продукты и токсикологическая оценка / В. В. Гончарук, Н. Г. Потапченко, В. Ф. Вакуленко // Химия и технология воды. – 1995. – Т. 17, № 1. – С. 3 – 33.
3. Маляренко В. В. Свободные радикалы, образующиеся при озонировании воды / В. В. Маляренко, В. В. Гончарук // Химия и технология воды. – 2002. – Т. 24, № 1. – С. 3 – 21.
4. Бо Д. Практика озонирования в обработке питьевых вод / Д. Бо, Г. Н. Герасимов // Водоснабжение и санитарная техника. – 2000. – № 1. – С.26 – 29.
5. Von Gunten U. The basics of oxidants in water treatment. Part B: ozone reactions / U. Von Gunten // Water Science & Technology. – 2007. – V. 55, № 12. – P. 25–29.
6. Современные проблемы технологии подготовки питьевой воды / В. В. Гончарук, Н. А. Клименко, Л. А. Савчина [и др.] // Химия и технология воды. – 2008. – Специальный выпуск, ч. 1. – 98 с.
7. Біологічні основи екологічної безпеки використання хімічних засобів знезараження питної води (Огляд літератури та власних досліджень) / А. І. Гоженко, Н. Ф. Петренко, А. В. Мокієнко, А. М. Пономаренко // Журнал Академії медичних наук. – 2008. – Т. 14, № 1. – С. 134 – 149.
8. Gottschalk C. Ozonation of water and waste water: a practical guide to understanding ozone and its application / C. Gottschalk, J. A. Libra, A. Saure. – JohnWiley & Sons. – 2009. – 378 p.
9. Гончарук В. В. Наука о воде / В. В. Гончарук. – Київ: НВП «Видавництво «Наукова думка» НАН України, 2010. – 511 с.
10. Коттон Ф. Современная неорганическая химия. Часть 2 / Ф. Коттон, Дж. Уилкинсон. – М.: «Мир», 1969. – 494 с.
11. Разумовский С. Д. Озон и его реакции с органическими соединениями / С. Д. Разумовский, Г. Е. Заиков. – М.: Наука, 1974. – 322 с.
12. Chlorine dioxide. Monograph.- Industrie Chimiche Caffaro. – 1997. – 92 p.
13. Шевченко М. А. Окислители в технологии водообработки / М.А. Шевченко, П. Н. Марченко, П. Н. Лизунов. – Киев: Наукова думка, 1979. – 175 с.
14. Химический энциклопедический словарь / Гл. ред. И. Л. Кнунянц. – М: «Советская энциклопедия», 1983. – 792 с.
15. Гончарук В. В. Современное состояние проблемы обеззараживания воды / В. В. Гончарук, Н. Г. Потапченко // Химия и технология воды. – 1998. – Т. 20, № 2. – С. 190 – 213.

16. Von Gunten R. U. Ozonation of drinking water: Part I. Oxidation kinetics and product formation / R. U. Von Gunten // *Water Research*. – 2003. – V. 37, № 7, P. 1443 – 1467.

17. Кинетические закономерности разложения озона в воде / Б. Г. Ершов, П. А. Морозов, А. В. Гордеев, А. Ф. Селиверстов // *Химия и технология воды*, Т. 31, № 6. – 2009. – С. 665 – 676.

РАЗДЕЛ 3 РЕАКЦИИ ОЗОНА С НЕОРГАНИЧЕСКИМИ И ОРГАНИЧЕСКИМИ СОЕДИНЕНИЯМИ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

Механизм воздействия озона на вещества

Как указывалось выше, озон имеет высокий окислительно-восстановительный потенциал, что является главной причиной его активности по отношению к различного рода загрязнениям воды, включая микроорганизмы. При диспергировании озона в воду осуществляются два основных процесса – окисление и дезинфекция. Кроме того, происходит значительное обогащение воды растворенным кислородом.

Окисляющее действие озона может проявляться в следующих формах: прямое окисление, окисление радикалами (непрямое окисление), озонлиз, катализ (рис. 3.1).

Кинетика прямых реакций озона может быть выражена уравнением

$$-\ln \frac{[C_t]}{[C_0]} = k[O_3]t$$

где C_p , C_0 – начальная и конечная концентрации вещества, mg/l,

k – константа скорости реакции, l/mol·s;

O_3 – средняя концентрация озона во время прохождения реакции, mg/l;

t – продолжительность озонирования, s.

Обобщение результатов многочисленных практических исследований по изучению кинетики прямых реакций озона с химическими веществами позволило определить значения k и t , по которым можно судить об окислительной способности озона [1].

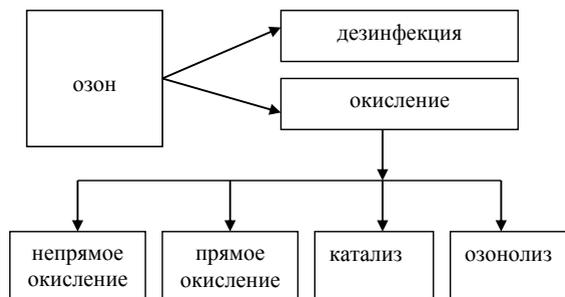


Рис. 3.1. Основные процессы при диспергировании озона в воду

Непрямое окисление осуществляется большим числом активных радикалов (например, OH^{\bullet} и др.), образующихся в результате перехода озона из газовой фазы в жидкость и его саморазложения. Интенсивность непрямого окисления прямо пропорциональна количеству разложившегося озона и обратно пропорциональна концентрации присутствующих в воде загрязнителей. Некоторые вещества подвергаются лишь прямому окислению, другие (например, органические кислоты с малым молекулярным весом) – окислению радикалами. Нередко наблюдаются процессы окисления какого-либо вещества совместным или последовательным воздействием прямого окисления и окисления радикалами.

Озонолиз представляет собой процесс фиксации озона на двойной или тройной углеродной связи с последующим ее разрывом и образованием озонидов, которые, так же как озон, являются нестойкими соединениями и быстро разлагаются.

Каталитическое воздействие озонирования заключается в усилении им окисляющей способности кислорода, который присутствует в озонированном воздухе.

Перечисляя возможные формы окисляющего воздействия озона, нельзя не отметить того факта, что по сравнению с другими окислителями озон быстрее вступает в реакции и в меньшей дозе [2, раздел 1].

Озон способен реагировать в мягких условиях с большинством органических, элементо-органических и многими неорганическими веществами. Термодинамически эти реакции могут протекать до полного окисления, т.е. до образования воды, оксидов углерода и высших оксидов других элементов, но препятствует этому очень низкие скорости конечных стадий окисления [1, 12, раздел 2; 2].

С химической точки зрения при озонировании органических соединений, которые содержатся в воде, происходит их деструкция, образование химических связей углерод-кислород, возможно образование новых химических связей углерод-углерод вследствие рекомбинации радикалов RH^{\bullet} .

Примером таких реакций может служить окисление ряда органических и неорганических (Fe^{2+} , Mn^{2+}) веществ, которые после озонирования осаждаются в форме нерастворимых гидроокисей или переводятся в диоксиды и перманганаты, удаляемые последующей очисткой на фильтрах [2-4].

По мнению авторов [3], химизм процесса озонирования природных органических соединений (гуминовых и фульвокислот) заключается в том, что происходит окисление всех боковых цепочек и метоксильных групп до оксида углерода (IV) и карбоксильных групп, а фенольных

гидроксилы - до хинонов. Молекулы высокомолекулярных гумусовых веществ разрываются по месту мостиков с образованием более простых и менее окрашенных соединений. При озонировании получают до 20-40 % оксида углерода (IV) и незначительные количества щавелевой, уксусной и муравьиной кислот. Гуминовые кислоты при озонировании превращаются в апокреновые, апокреновые в креновые – в малоокрашенные кислоты.

Изучение конечных продуктов окисления показало, что полного разрушения гумусовых кислот до оксида углерода (IV) в практических условиях не происходит. Обычно количество разложившихся веществ колеблется в пределах 20-40 %, поэтому при озонировании наблюдается значительное обесцвечивание воды и малое снижение окисляемости. Оставшиеся в воде после озонирования креновые и субкреновые кислоты по физиологическому действию не вредны для живых организмов, как и исходные гумусовые кислоты.

Однако более поздние исследования показали, что при озонировании воды существует значительная вероятность образования более токсичных органических соединений, чем исходные, что требует дальнейшей очистки воды адсорбцией на активном угле [5, 6].

Озонолиз представляет собой процесс фиксации озона по двойной или тройной углерод-углеродной связи с последующим ее разрывом и образованием озонидов, которые, так же как озон, являются нестойкими соединениями и быстро разлагаются [1, раздел 1].

Согласно [1, раздел 2] озон реагирует с непредельными соединениями очень быстро. Первой стадией реакции является образование лабильного промежуточного комплекса, который можно наблюдать при низких температурах. Он быстро перегруппировывается в 1,2-триоксолан (первичный озонид), который в свою очередь быстро распадается на два фрагмента: биполярный ион (карбонилксид) и карбонил; далее они реагируют друг с другом, водой или изомеризуются, образуя сложный набор кислородсодержащих соединений.

Механизм реакции озона с ароматическими углеводородами в основных чертах напоминает механизм реакции с непредельными соединениями. Первым актом реакции является образование лабильного комплекса озона с ароматическим ядром, который далее изомеризуется по двум направлениям, образуя либо продукты раскрытия ядра, либо оксипроизводные исходного ароматического соединения. В обоих случаях продукты реакции подвергаются дальнейшим превращениям легче, чем исходный субстрат, как в условиях окисления озоном, так и под действием природных факторов.

При взаимодействии озона с ароматическими углеводородами протекание реакции связано с нарушением ароматичности, поэтому реакция требует дополнительной активации частиц на величину энергии сопряжения, приходящуюся на одну С=C-связь ядра. В связи с этим скорости реакции озона с ароматическими углеводородами заметно меньше, чем с олефинами, а энергии активации выше. Константы скорости растут в ряду бензол < нафталин < фенантрен, принимая значения при 20 °С 0,028; 2,4 и 800 l/mol•s соответственно. Необходимость компенсации энергии сопряжения в акте присоединения молекулы озона к ароматическим системам часто приводит к заметной разнице в составе продуктов из-за неполного озонирования различных ароматических соединений. Так, например, для бензола характерно отсутствие в продуктах реакции соединений, соответствующих присоединению одной или двух молекул озона к ароматическому ядру, для нафталина типичным является присоединение двух молекул последнего, после чего скорость реакции сильно замедляется.

Многие производные антрахинона интенсивно окрашены, поэтому широко применяются как красители и часто попадают в водоемы со сточными водами текстильных фабрик. Возможно, что этой причиной вызван интерес к механизму реакции озона с антраценом и его производными. Речь идет, например, об эффективном разрушении производных антрахинона – хромового зеленого антрахинонового 2Ж и хромового красного ализаринового [1, раздел 2].

При озонировании природной воды выявлены разнообразные классы органических соединений - спирты, альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, которые являются продуктами окисления исходных веществ. Озон переводит много трудноокисляемых веществ в продукты, которые подвергаются дальнейшему биохимическому окислению; разрушает токсические органические соединения [3, раздел 1; 6, 12, раздел 2; 7-9].

Одними из трудноокисляемых соединений являются пестициды различных классов.

В работе [10] установлено, что раньше всего происходит разложение карбаматов (севина и пропоксура) и несколько медленнее – хлорфенвинфоса (фосфорорганического инсектицида). Наибольшей устойчивостью к действию озона обладали хлорорганические соединения (ГХЦГ, ДДТ и ДДЕ). При применении 5 mg/l озона уменьшение концентрации пестицидов в воде по сравнению с введенной дозой составляло от 14,4 % для ГХЦГ до 29,0 % для севина.

Исследование [11] показало, что озонирование воды (0,8-4,0 mg/l) сопровождалось деструкцией карбофоса на 50 %, трихлорметафоса на 60,6 %. При этом органолептические качества воды оставались неизменными.

ми, а при использовании технических образцов ядохимикатов, в состав которых входят поверхностно-активные вещества, даже ухудшались, что объясняется образованием промежуточных продуктов – альдегидов и кетонов, активных в органолептическом отношении.

Озонирование продуктов хлорирования фосфорорганических пестицидов, наоборот, приводило к снижению запаха и токсичности: запах хлорированного карбофоса снижался с 5 до 2-3 баллов, токсичность уменьшалась в 1,5 раза.

Таким образом, раздельное использование хлорсодержащих реагентов, перманганата калия, а также озонирования не обеспечивает значительного гигиенического эффекта при очистке питьевой воды от фосфорорганических пестицидов и продуктов их деструкции.

В работах [12, 13] изучены продукты окисления природных органических веществ (ПОВ), которые растворены в воде, при действии диоксида хлора и озона. Процедура выделения/фракционирования позволила получить шесть различных фракций ПОВ и продуктов их окисления. Гидрофобные фракции доминировали в одном из образцов природной воды. Озонирование снижало содержание гидрофобных фракций, а содержание гидрофильных фракций значительно возросло. Окисление ПОВ диоксидом хлора приводило к аналогичным изменениям состава ПОВ, но в меньшей степени.

Окисление ПОВ озоном и диоксидом хлора приводило к разложению высокомолекулярных фракций. При окислении диоксидом хлора наблюдался значительный рост низкомолекулярных фракций.

Озонирование вызывало значительные изменения в распределении молярных масс гидрофобных нейтральных фракций в гуминовых кислотах, в то время, как на фракции гидрофильных кислот и гидрофильных оснований влияло незначительно. Для гидрофильных нейтральных фракций изменения не выявлены.

Окисление отдельных фракций ПОВ диоксидом хлора и озоном привело к образованию значительного количества органических побочных продуктов, например, альдегидов и карбоновых кислот, которые разлагаются микроорганизмами. Наблюдалось тонкие отличия в качестве и количестве побочных продуктов окисления диоксидом хлора и озоном.

Окисление органических и неорганических соединений при озонировании может протекать при действии озона или ОН-радикалов или их комбинации.

Существует огромная база данных с несколькими сотнями констант скорости для озона и несколькими тысячами констант скорости для ОН-радикалов. Озон – электрофил с высокой селективностью. Величины констант скоростей второго порядка при окислении озоном

отличаются более чем на 10 порядков, и находятся в интервале между $0,1$ и 7×10^9 $l/mol \cdot s$. Реакции озона с неорганическими соединениями в питьевой воде обычно имеют высокие скорости и заключаются в передаче атомов кислорода. Органические микрозагрязнители окисляются озоном выборочно. Озон реагирует, главным образом, с соединениями с двойными связями, активирует ароматические системы и не присоединяет к аминам протон. Вообще, электроннодонорные группы усиливают окисление озоном, тогда как электронноакцепторные группы снижают скорости реакции. Кроме того, кинетика прямых реакций озона сильно зависит от вида (кислота-основание, комплексное соединение металла).

Реакцией ОН-радикалов почти с большинством неорганических и органических соединений управляет диффузия. Степень окисления озоном и ОН-радикалами определяется соответствующей кинетикой. Образование соединений при озонировании органических микрозагрязняющих веществ в водных системах установлено только для нескольких классов соединений. Это олефины, амины и ароматические соединения [17, раздел 2; 14].

Константы скорости для прямых реакций озона с 45 потенциальными органическими загрязнителями питьевой воды, включая растворители, галогеналканы, сложные эфиры, ароматические соединения и пестициды (алахлор, ардикарб, атразин, карбофуран, 2,4-дихлорфеноксисукусная кислота, эндрин, глифосат и др.), определены в воде в присутствии акцепторов гидроксильных радикалов, чтобы минимизировать интерферирующие радикальные цепные реакции. Полученные данные демонстрируют электрофильную природу реакции озонирования. Кроме того, для сложных молекул важны стерические факторы в связи с ограничением реакционной способности. Промежуточные соединения окисления озоном глифосат показывают сложную зависимость от рН, которая объясняется индуктивным эффектом протонизации амина на боковой цепи основного центра реакции. Константы скорости расхода озона отличаются между собой и, по-видимому, соответствуют стехиометрии реакции [15].

Реакция между озоном и тремя изомерами крезола была исследована в чистой воде. Крезолы были выбраны как образцовые соединения, представляющие важные побочные продукты гуминовых кислот. В состав крезолов входят гидроксильная и метиловая группы, каждая из которых теоретически увеличивает реакционную способность озона с ароматическим кольцом. Прямое сравнение реакционных способностей ароматического кольца и метиловой группы сделало возможным анализ возможных продуктов реакции. Была изучена кинетика разложения субстрата в водных растворах каждого крезола в процессе обработки

их озонем с увеличением интервала времени. Высказано предположение, что гидроксibenзальдегиды и оксibenзойные кислоты могут быть возможными промежуточными соединениями разложения крезолов. Для проверки этой гипотезы была изучена кинетика разложения трех гидроксibenзальдегидов и двух оксibenзойных кислот. Продукты реакции идентифицировали газовой хроматографией (ГХ), масс-спектрометрией (МС) и др.

Идентифицированы несколько высокогидрофильных промежуточных соединений, включая оксиянтарную, цитраконовую, итаконовую, малоновую, метилмуконовую и тартроновую кислоты, но гидроксibenзальдегидов не выявлено. Результаты подтверждают 3-х этапный механизм согласно ранее выдвинутой гипотезы, которая включает разрыв кольца у фенольной группы, что сопровождается образованием нескольких промежуточных высоко окисленных соединений и, в итоге, приводит к относительно устойчивым соединениям, таким как малоновые и щавелевые кислоты. Доказано, что во время разложения крезола не происходит окисления метиловой группы [14].

Ниже представлена схема окисления м-крезола озонем.

Исследовано влияние бикарбоната-иона на превращение фульвокислоты (ФК) и потенциал образования хлороформа (ПОХ) в процессе предозонирования. Порядок удаления растворенного органического углерода (РОУ) и остаточная концентрация озона во время предозонирования были определены с различной концентрацией бикарбонат-аниона в воде.

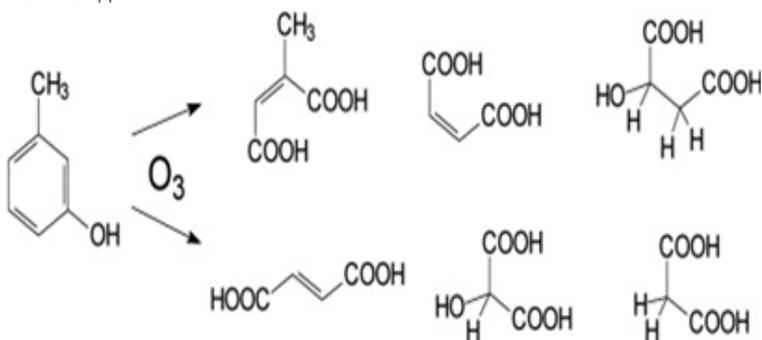


Рис. 3.2. Схема окисления м-крезола озонем

Присутствие бикарбоната замедляло удаление РОУ и уменьшало ПОХ в начальный период окисления. ФК были распределены по молекулярной массе (ММ) (<5, 5-10, 10-30, и > 30 kDa). ПОХ был исследован для ФК и ее последующих продуктов окисления.

Кроме того, превращение молекулярной структуры, основанной на распределении ММ, было также характеризовано инфракрасным спектром (ИКС) Фурье.

Бикарбонат-ион оказывал различное влияние на ПОХ органических разновидностей с различной ММ; более значительное возрастание ПОХ наблюдалось для высокой фракции ММ (> 30 kDa), чем для низких фракций ММ. Предозонирование приводило к очевидному снижению РОУ и УФ-поглощения при 254 nm в большинстве фракций ММ при наличии бикарбоната. Это свидетельствует, что озон синхронно вызывал и минерализацию органики, и изменение ее структуры.

Как показали результаты ИК - и масс-спектрометрии, газовой хроматографии, образование функциональных групп (спирты, эпоксиды и фенолы) под влиянием гидроксильных радикалов (OH^\cdot), которые ответственны за рост концентрации предшественников ТГМ во время озонирования, значительно замедляется бикарбонатом. Результаты этих исследований подтвердили воздействие низких концентраций бикарбоната на формирование промежуточных соединений и последующее образование хлороформа вследствие ингибирования реакций OH^\cdot -радикалов, главным образом, во фракциях с высокими ММ [16].

Гидроксильные радикалы получаются из озона и гидроксил-аниона в воде в определенных количествах. Органические соединения конкурируют друг с другом за потребление гидроксильных радикалов. Выход декарбоксилированной ^{14}C -маркированной бензойной кислоты указывает, что до $0,55 \pm 0,08$ mol гидроксильных радикалов могут быть произведены из 1 mol озона при рН = 10,5. Полученные данные по гидроксильным реакциям с участием свободных радикалов позволяют описать реакции окисления, инициированные озонированием. Растворенные в воде вещества заметно влияют на порядок цепной реакции, приводящей к разложению озона [1].

Исследовано образование галогенуксусных кислот (ГУК) с использованием фенола как предшественника ГУК и других побочных продуктов окисления, образующихся из фенола при озонировании (гидрохинон, катехол, глиоксаль, глиоксиловая и щавелевая кислоты). В результате последующего хлорирования определен потенциал образования ГУК.

Фенол показал самую высокую реакционную способность с хлором, приводя к образованию большинства ГУК. Даже при условии, что потенциал образования ГУК указанных побочных продуктов был ниже фенола, было подтверждено, что все побочные продукты могут действовать как предшественники ГУК.

Сравнение условий при рН 7 и 3 показало, что озонирование при рН 7 более эффективно при удалении полных предшественников ГУК,

чем при рН 3. Это объясняется действием вторичного окислителя в виде радикала О. после распада озона [17].

Озонирование является процессом окисления (удаления) органических микрозагрязняющих веществ (ОМВ) из воды и химической реакцией второго порядка. Углубленный процесс окисления (АОР), в котором реакционными частицами являются гидроксильные радикалы (ОН-радикалы), эффективнее по удалению более широкого диапазона ОМВ из воды, чем прямое озонирование. Константы скорости второго порядка ($K_{\text{ОН}}$ и $K_{\text{О}_3}$) являются адекватными критериями для оценки эффективности окисления, где более высокие константы скорости указывают на более быстрое окисление.

В этом исследовании были разработаны модели количественных зависимостей активности структуры соединения (QSAR) по отношению к процессу озонирования и процессам АОР и были предсказаны константы скорости, $K_{\text{О}_3}$ и $K_{\text{ОН}}$. Значения $K_{\text{О}_3}$ и $K_{\text{ОН}}$ колебались от 5×10^{-4} до 10^5 l/mol•s и 0,04 до 18×10^9 l/mol•s соответственно. Несколько молекулярных структур, которые потенциально окисляются озоном и ОН-радикалами, были идентифицированы и изучены. Для этих соединений характерно наличие двойных связей, близких значений потенциала ионизации, сродства к электрону и низкая полярность. Многократная линейная регрессия использовалась для построения моделей QSAR с высокой достоверностью r^2 ($> 0,75$). Правильность моделей были подтверждены внутренней и внешней проверкой [18].

Озон легко и быстро реагирует с аминами. Механизм реакции сложен и промежуточные продукты аминов различных степеней замещения заметно различаются. Так, для третичных аминов характерно образование высоких уровней оксидов аминов.

Первичная атака озоном происходит по двум возможным реакционным центрам: атому азота и ароматическому ядру. В органических растворителях выход оксидов невелик и образуются, главным образом, продукты разрушения ядра. В воде образование оксидов пиперидинов становится преобладающим направлением реакции (60–70 %). Найденные константы скорости имеют значения: $k = 3,47$ и $k = 0,85$ l/mol•s.

При действии озона на вторичные амины образуются гидроксильные радикалы. В продуктах реакции озона с первичными аминами присутствуют гидросиламины, нитрозо- и нитросоединения; при использовании хлоруглеводородов в качестве растворителей в системе появляются соли аммония.

Промежуточные продукты реакций озона с аминами (гидроксильные радикалы, гидросиламины, оксиды аминов) при продолжающемся

действию окисляются до нитросоединений и далее до продуктов глубокой деструкции.

Производные азота, содержащие диазогруппу ($-N=N-$), часто встречаются среди веществ, загрязняющих воду. Главным образом, это красители. Кинетика и механизмы реакций озона с такими соединениями исследованы для отдельных представителей. В частности, для диазобензола были измерены константа скорости ($k = 4,0 \text{ l/mol}\cdot\text{s}$) и стехиометрия первой стадии (1:1), исходя из которых можно предположить, что на первой стадии реакции происходит расщепление $-N=N-$ связи. Эффективное обесцвечивание красителей типа кислотного оранжевого происходит после присоединения 1 mol озона к 1 mol красителя [1].

В работе [19] изучены побочные продукты озонирования в природной воде, содержащей растворимые азотсодержащие органические соединения.

Побочными продуктами этого процесса могут быть нитрат-анионы и катионы аммония. Схема озонирования первичного амина приведена ниже.

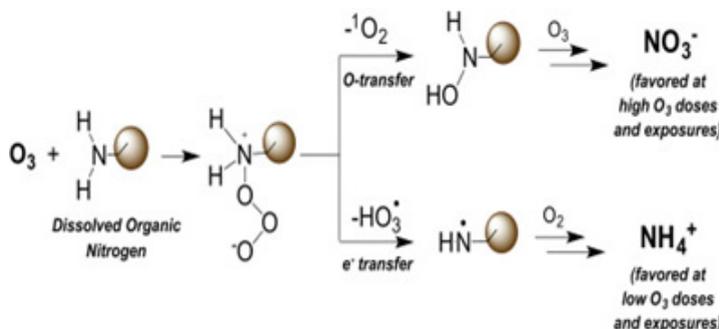


Рис. 3.3. Схема озонирования первичного амина

Сообщается о константах скоростей второго порядка для реакций озона с 40 неорганическими веществами, растворенными в воде. В состав этих соединений входят: сера (например, H_2S , H_2SO_3 , $HOCH_2SO_3H$), хлор (например, Cl^- , $HOCl$, NH_2Cl , $HClO_2$, ClO_2), бром (например, Br^- , $HOBr$), азот (например, NH_3 , NH_2OH , N_2O , HNO_2) и кислород (например, H_2O_2), так же как свободные радикалы (например, O_2^- , OH^\cdot). Для большинства этих соединений характерно увеличение константы скорости с возрастанием pH, соответствующим их степеням диссоциации. Константы скорости определены по поглощению озона, измеренным обычным методом или методом непрерывного потока (диапазон 10^{-3} - $10^{+6} \text{ l/mol}\cdot\text{s}$), с учетом стехиометрических факторов. Также приведены

данные по методикам пульсирующей радиации с использованием кинетической спектроскопии (диапазон 10^{10} l/mol•s) [20].

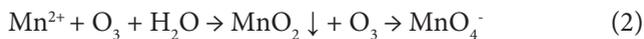
Степень окисления озонем цианистого калия до цианата была определена в щелочных водных растворах с буфером при pH=11,8 и температуре 20 °С. Начальная концентрация цианида составляла порядка 100 g/m^3 . При этих условиях скорость реакции может быть описана уравнением, которое имеет первый порядок по озону и не зависит от концентрации цианида, в пределах ошибки эксперимента. Скорость реакции является настолько большой, что превращение ограничено массообменом. Материальные балансы показывают, что один mol озона окисляет один mol цианида.

Окисление цианида – часть последовательности реакций, подобной механизму разложения озона. Предложены механизмы реакций окисления цианида и распада озона. Кинетика распада озона соответствует экспериментальным данным, изложенным в литературе.

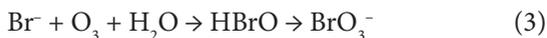
Предложенный механизм окисления цианида соответствует уравнению скорости реакции, как: $R = k_{\text{CN}} [\text{O}_3] [\text{CN}^-]^{1/2}$, $k_{\text{CN}} = 135 \text{ m}^{3/2} \text{ s}^{-1} \text{ kmol}^{-1/2}$. Это уравнение было подтверждено экспериментальными данными [21].



Окисление двухвалентного марганца озонем в воде может протекать до образования перманганат-иона (MnO_4^-), что нежелательно, потому что не удаляет марганец из воды и увеличивает ее цветность.



При озонировании природной воды, содержащей бромид-анионы, озон окисляет бромид-анион до гипобромистой кислоты или бромат-аниона:



При комбинированном использовании хлора и озона возможно протекание следующей реакции [22]:

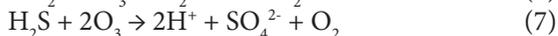


Эта реакция, а также ее побочные продукты, мало изучены, несмотря на то, что схема водоподготовки, которая включает первичное озонирование и вторичное хлорирование считается наиболее перспективную [23-26].

Хлораты могут образовываться в хлорированной воде (в присутствии остаточного свободного хлора) после ее обработки озоном; изучен и описан детальный механизм формирования хлоратов при этом. Важными условиями повышенного образования хлоратов являются высокая щелочность воды, а также одновременное использование для обработки воды перекиси водорода и озона [25, 27, 28].



Озон эффективно воздействует на сероводород при $\text{pH} = 5-9$ [45, 52]:



Озон в воде вытесняет иод из иодида калия:



Эту реакцию используют для качественного и количественного определения озона в воде.

Йодат – основной побочный продукт, который образуется во время озонирования вод, содержавших йодид-анионы, прямым окислением озона. Йодат считают непроблематичным, потому что он восстанавливается до йодида. Хлорид-анион не может быть окислен в условиях озонирования питьевой воды. Хлорат может образоваться в воде, предокисленной хлором или диоксидом хлора [25].

Связывание аммиака озоном протекает быстрее в присутствии бромид-иона, чем в его отсутствие. В отличие от прямого озонирования аммиака, на процесс, катализируемый бромидом, незначительно влияет pH . Предложена следующая схема реакции: бромид окисляется до HOBr , которая бромидирует аммиак с образованием бромаминов NH_2Br , а затем NO_3^- и Br^- , при этом последний действует как катализатор. В соответствии со схемой реакции, наблюдается кинетика нулевого порядка для расхода аммиака. Эта работа подчеркивает еще раз важность роли Br^- как катализатора в процессах озонирования и хлорирования [30].

Идентифицированы многочисленные органические и неорганические побочные продукты дезинфекции/окисления. Основным неорганическим побочным продуктом озонирования является бромат-анион, который образуется в водах, содержащих бромиды. Для бромата в питьевой воде установлен низкий норматив $10 \mu\text{g/l}$. Поэтому процессы дезинфекции и окисления должны оцениваться с учетом выполнения

этого норматива. В случаях, когда концентрации бромидов выше 50 $\mu\text{g/l}$, необходимо принимать меры контроля, чтобы снизить образование бромата (понижение рН, добавление аммиака) [31].

Таким образом, краткий анализ данных литературы относительно реакций озона с неорганическими и органическими соединениями в водной среде свидетельствует, что озон является одним из наиболее сильных окислителей (окислительно-восстановительный потенциал, $E_0 = 2,07 \text{ V}$) и радикалообразователей. При озонировании воды образуются активные формы кислорода (АФК), которые являются свободными радикалами и гидроксил-радикалы.

Озон реагирует в мягких условиях с большинством органических, элементо-органических и многими неорганическими веществами. Термодинамически эти реакции могут протекать до полного окисления, т.е. до образования воды, оксидов углерода и высших оксидов других элементов, но препятствуют этому очень низкие скорости конечных стадий окисления.

Окисляющее действие озона может проявляться в следующих формах: прямое окисление, окисление радикалами (непрямое окисление), озонлиз, катализ.

При озонировании органических соединений, которые содержатся в воде, происходит их деструкция, образование химических связей углерод-кислород, возможно образование новых химических связей углерод-углерод вследствие рекомбинации радикалов RH^\cdot .

При озонировании природной воды выявлены разнообразные классы органических соединений - спирты, альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, которые являются продуктами окисления исходных веществ.

Озонирование воды не приводит к образованию хлорорганических соединений, но в присутствии в воде бромид-аниона возможно образование следующих броморганических соединения: бромформ, монобромуксусная кислота, дибромуксусная кислота, дибромацетон, бромциан и др.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hoigné J. The role of hydroxyl radical reactions in ozonation processes in aqueous solutions / J. Hoigné, H. Bader // *Water Research*. – 1976. – V. 10, № 5. – P. 377 – 386.
2. Mechanistic and kinetic evaluation of organic disinfection by-product and assimilable organic carbon (AOC) formation during the ozonation of drinking water/ F. Hammes, E. Salh, O. Köster [et al.] // *Water Research*. – 2006. – V. 40, № 12. – P. 2275–2286.
3. Ozonation of NOM and algal toxins in four treated waters / J. Rositano, G. Newcombe, B. Nicholson [et al.] // *Water Research*. – 2001.– V. 35, № 1.– P. 23 – 32.

4. Warming to ozone // *Water and Waste Treat.* – 1992. – V. 35, № 4. – P. 12–16.
5. Гончарук В. В. Озонирование как метод подготовки питьевой воды: возможные побочные продукты и токсикологическая оценка / В.В. Гончарук, Н. Г. Потапченко, В. Ф. Вакуленко // *Химия и технология воды.* – 1995. – Т.17, № 1. – С. 3 – 33.
6. Апельцина Е. И. Проблемы озонирования при подготовке питьевой воды / Е. И. Апельцина, Л. П. Алексеева, Н. О. Черкаская // *Водоснабжение и санитарная техника.* –1992. – № 4. – С. 9 –11.
7. Andrews S. Using fractionated natural organic matter to quantitate organic by products of ozonation / S. Andrews, P. Huck // *Ozone: Sci. and Eng.* – 1994. – № 16. – P. 1 – 12.
8. Bose P. Effect of ozonation on some chemical and physical properties of aquatic natural organic matter / P. Bose, B. Boijayanta, D. Reckhow // *Ozone: Sci. and Eng.* – 1994. – № 16. – P. 89–112.
9. Образование и удаление мутагенов в процессе приготовления воды с использованием озонирования и ГАУ / D. Hitoshi, J. Takao, Y. Masashi, I. Yoshitaka // *J. Jap. Water Works Assoc.* –1989. –V. 58, № 11. – P. 8 – 17.
10. Выберальски Д. Ю. Очистка питьевой воды от остаточных количеств некоторых пестицидов коагуляцией и озонированием / Д. Ю. Выберальски // *Гигиена и санитария.* – 1980. – № 5. – С.48-49.
11. Елисеев Ю. Ю. Гигиеническая характеристика продуктов трансформации фосфорорганических ядохимикатов, образующихся в процессе обработки воды окислителями / Ю.Ю. Елисеев // *Гигиена и санитария.* –1981. – № 5. – С. 79-80.
12. Reactivity of natural organic matter fractions with chlorine dioxide and ozone / J. Świetlik, A. Dabrowska, U. Raczyk-Stanisławiak [et al.] // *Water Research.* – 2004. – V. 38, № 3. – P. 547–554.
13. Biodegradability of organic by-products after natural organic matter oxidation with ClO₂—case study / U. Raczyk-Stanisławiak, J. Świetlik, A. Dabrowska [et al.] // *Water Research.* – 2004. – V. 38, № 4. – 2004, P. 1044–1054.
14. Investigation of the degradation of cresols in the treatments with ozone / M. C. Valsania, F. Fasano, S. D. Richardson, M. Vincenti // *Water Research.* . – 2008. – V. 46, № 12. – P. 2795– 2804.
15. Yao C. D. Rate constants for direct reactions of ozone with several drinking water contaminants / C. D. Yao, W. R. Haag // *Water Research.* – 1991, V. 25, № 7. – P. 761 – 773.
16. Effect of preozonation on the characteristic transformation of fulvic acid and its subsequent trichloromethane formation potential: Presence or absence of bicarbonate / J. Li, H. Liu, X. Zhao [et al.] // *Chemosphere.* – 2008. – V. 71, № 9. – P. 1639 – 1645.
17. Oh B.S. Ozonation of haloacetic acid precursor using phenol as a model compound: effect of ozonation by-products / B. S. Oh, K. S. Kim, J.W. Kang // *Water Supply.* – 2006. – V. 6, № 2. – P. 215 – 222.
18. Sudhakaran S. QSAR models for oxidation of organic micropollutants in water based on ozone and hydroxyl radical rate constants and their chemical

classification / S. Sudhakaran, G. L. Amy // *Water Research*. – 2013. – V. 47, № 2. – P. 1111 – 1122.

19. Kinetics and mechanism of nitrate and ammonium formation during ozonation of dissolved organic nitrogen / G.A. de Vera, W. Gernjak, H. Weinberg [et al.] // *Water Research*. – 2017, V. 108, № 1. – P. 451 – 461.

20. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water—III. Inorganic compounds and radicals / J. Hoigné, H. Bader, W. R. Haag, J. Staehelin // *Water Research*. – 1985, V. 19, № 8. – P. 993 – 1004.

21. Mechanism and kinetics of cyanide ozonation in water / J. A. Zeevalkink, D. C. Visser, P. Arnoldy [et al.] // *Water Research*. – 1980, V. 14, № 10. – P. 1375–1385

22. Шевелев Ф. А. Водоснабжение больших городов зарубежных стран / Ф. А. Шевелев, Г. А. Орлов. – М.: Стройиздат, 1987. – 351 с.

23. Алексеева Л.П. Влияние озонирования и хлорирования на образование хлороформа / Л. П. Алексеева // *Химия и технология воды*. – 1986. – Т. 8, № 5. – С. 62 – 64.

24. Драгинский В.Л. Методические рекомендации по применению озонирования и сорбционных методов в технологии очистки воды от загрязнений природного и антропогенного происхождения / В. Л. Драгинский, Л. П. Алексеева. – М. – 1995. – 43 с.

25. Von Gunten U. R. Ozonation of drinking water: Part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine / U. R. Von Gunten // *Water Research*. – 2003. – V. 37, № 7. – P. 1469 – 1487.

26. Вигдорович В. Н. Проблемы озонпроизводства и озонобработки и создание озоногенераторов второго поколения / В. Н. Вигдорович, Ю. А. Исправников, Э.А. Нижаде-Гавгани. – М., С.Пб.: «Экоинформ-система» – «Озонит», 1994. – 112 с.

27. Siddiqui M. Chlorine-Ozone Interactions-Formation of Chlorate / M. Siddiqui, U. Von Gunten// *Ann. Conf. Proc. EAWAG, Switzerland*. – AWWA, 1998. – P. 855 – 877.

28. Siddiqui M. S. Chlorine-ozone interactions: formation of chlorate / M. S. Siddiqui // *Water Research*. – 1996. – V. 30, № 9. – P. 2160 – 2170.

29. Очистка воды от сероводорода / Строительные нормы и правила. Часть II. Нормы проектирования. 11-31-74. – М.: Стройиздат, 1978. – 187 с.

30. Haag W. R. Improved ammonia oxidation by ozone in the presence of bromide ion during water treatment / W. R. Haag, J. Hoigné, H. Bader // *Water Research*. – 1984. – V. 18, № 9. – P. 1125 – 1128

31. Magara Y. Disinfection and Disinfection By-products; Special Subject 5: Comparative Study of Disinfectants for Water Supply / Y. Magara, T. Sasaki, H. Kozasa // *Conf. Proc. «20-th Intern. Water Supply Congress and Exhibition»*, AWWA. – 1998. – P. 511 – 516.

РАЗДЕЛ 4. БИОЦИДНОЕ ДЕЙСТВИЕ ОЗОНА

4.1. Бактерицидное действие озона

Впервые в 1891 г. Охмюллер на основе практических исследований показал, что озоном можно уничтожать бактерии тифа и холеры. Механизм воздействия окислителя состоит в разрушении бактерий путем инактивации бактериальных протеинов, т.е. диффузией через мембрану клетки в цитоплазму с поражением жизненных центров. На эффективность бактерицидного действия озона в большей или меньшей степени оказывают влияние следующие параметры: рН, температура, наличие взвешенных и растворенных органических веществ, концентрация окислителя. Устойчивый бактерицидный эффект наблюдается в широком интервале рН (от 5,6 до 9,8) и температуры (от 0 до 37 °С). Наличие взвешенных веществ в обрабатываемой воде ограничивает возможности дезинфектанта, так как в большинстве случаев взвешенные частицы являются защитниками бактерий, адсорбируя последние на своей поверхности. В отношении влияния на бактерицидный эффект растворенных органических веществ и концентрации озона единодушного мнения нет. Некоторые исследователи являются сторонниками той позиции, что дезинфицирующее действие озона проявляется лишь при его определенной остаточной (или избыточной) концентрации в воде, когда уже окислены растворенные органические загрязнения. Другие полагают, что обеззараживающий эффект наблюдается одновременно с окислением озоном органических веществ. Довольно трудно допустить, что озон осуществляет атаку выборочно: сначала на растворенные органические примеси, а потом на бактерии, которые, по сути, также являются органическими веществами. Однако эффективная инактивация микроорганизмов наблюдается чаще именно в момент появления остаточного озона при концентрациях его, близких к 0,1– 0,4 мг/л [раздел 1, 2].

В.Ф. Кожин и И.В. Кожин [раздел 1, 3] приводят данные Пауэлла (США), согласно которым применение озона снижает общее количество бактерий в воде на 99,4%, а также Фетнер и Инголл (США), которые обрабатывали хлором и озоном суспензии *Escherichia coli* в дистиллированной воде при рН=6,8 и температуре 1 °С. Для наибольшей точности исследования они применяли для обеззараживания воды раствор озона в воде с величиной рН=2, который остается весьма стабильным при температуре 1 °С. В этих условиях бактерицидные дозы,

вызвавшие гибель 99 % *E. coli*, составили для хлора 0,25—0,3 mg/l за 16 min, а для озона 0,4 – 0,5 mg/l за 1 min.

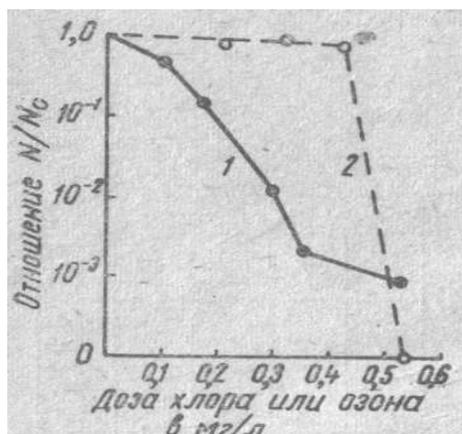


Рис. 4.1.1. График выживания бактерий при обработке воды хлором (1) и озоном (2)

Однако хлор и озон влияют на бактерии неодинаковым образом. Из графика, приведенного на рис. 4.1.1, видно, что кривая выживания бактерий, сохранивших жизнеспособность N , по отношению к общему количеству бактерий N_0 , падает с повышением дозы хлора. Иначе говоря, увеличение интенсивности хлорирования вызывает прогрессивное отмирание бактерий. Между тем, при озонировании обнаруживается внезапное резкое бактерицидное действие озона, соответствующее определенной критической дозе, в данном случае равной 0,4 – 0,5 mg/l. Для меньших доз озона (рис. 4.1.1) его бактерицидность незначительна, но как только достигается критическая доза, отмирание бактерий становится сразу резким и полным.

Авторы [раздел 1, 3] ссылаются на последние (1974 г.) исследования механизма озонирования бактерий, которые показали, что действие его происходит быстро при условии поддержания необходимой концентрации в течение определенного времени. Это действие обусловлено озонированием массы бактериальных протеинов в процессе каталитического окисления.

Окислительное действие озона обуславливается термодинамической неустойчивостью его молекул. Благодаря высокому окислительному потенциалу (2,07 V) озон энергично вступает во взаимодействие

со многими минеральными и органическими веществами, в том числе, с протоплазмой бактериальных клеток [раздел 1, 1].

Озон как обеззараживающий реагент действует быстрее хлора в 15 – 20 раз. Установлено, что вирус полиомиелита гибнет под действием 0,45 мг/л озона через 2 min, тогда как хлор оказывает тот же эффект лишь через 3 h при дозе 1 мг/л. При обработке воды озоном споры и бациллы гнойного воспаления гибнут через 10 min, возбудители тифа и холеры – через 2 min.

Патогенные, неспорообразующие микроорганизмы наименее стойки к действию озона. Сравнительная устойчивость к озону кишечной палочки, возбудителя брюшного тифа и дизентерии, изучены Р. Д. Габовичем с сотрудниками. Они показали, что кишечная палочка менее устойчива к озону, чем другие возбудители кишечных инфекций. Поэтому при озонировании нет оснований пересматривать критерий надежности обеззараживания воды, т. е. требовать увеличения или уменьшения коли-индекса водопроводной воды, принятого по ГОСТ 2874 – 82. Стойкость микроорганизмов к озону, по данным Зульцера, Вурмана и других, возрастает в ряду *E. coli*, *Streptococcus faecalis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Varavium*, винные дрожжи и споры *Penicilium notatum*.

Предполагается, что механизм бактерицидного влияния озона заключается в разрушении ферментов бактерий, что приводит к нарушению обмена веществ клеток и их гибели.

На различных бактериях показано, что после критической дозы озона (0,4 – 0,5 мг/л) его бактерицидное действие проявляется более резко и полно в отличие от хлора, обеззараживающий эффект которого при малых концентрациях монотонно возрастает с увеличением дозы реагента. Обеззараживающее действие озона на патогенные микроорганизмы в 15 – 20, а на споровые формы бактерий – примерно в 300 – 600 раз сильнее, чем хлора. Озон влияет также на жизнедеятельность гидробионтов – фито - и зоопланктона. На эффект обеззараживания воды при озонировании температура и рН среды оказывают меньшее влияние, чем при хлорировании.

Дозы озона и время его контакта с водой изменяются в довольно широких пределах и зависят от качества воды и условий ее обработки. В связи с малой растворимостью озона на процесс обеззараживания влияет не только его доза, но и другие факторы: концентрация озон-воздушной смеси, способ ее распределения в воде, высота контактных бассейнов, соотношение объемов воды и озон-воздушной смеси, содержание органических веществ в воде и пр. Совокупность всех факторов в значительной степени определяет эффективность обеззараживания воды озоном. Поэтому, объективные данные о его действии

на бактериальные загрязнения воды могут быть получены только в том случае, когда опыт проводится в условиях, близких к производственным [раздел 1, 1].

Ретроспекция (по состоянию на 1976 г.) исследований бактерицидного действия озона в руководстве [1] представлена следующим образом.

С гигиенической точки зрения метод озонирования воды имеет существенные преимущества благодаря высокому окислительно-восстановительному потенциалу бактерицидного действия.

Б. П. Сучков (1964) изучил сравнительную озоноустойчивость различных штаммов брюшнотифозных и дизентерийных бактерий. Очищенную речную воду, в которой содержалось $25 \cdot 10^6$ микробных тел в 1 л, обрабатывали одной и той же дозой озона в течение 5 min. Полученные данные свидетельствуют о том, что хотя степень озоноустойчивости изученных штаммов брюшнотифозных и дизентерийных бактерий оказалась близкой, некоторые из них отличались более высокой стойкостью к действию озона.

Р. Д. Габович (1965) приводит данные об изменениях вирулентности возбудителей мышинного тифа при воздействии суббактерицидных доз озона.

Исходный штамм сальмонеллы мышинного тифа, которым заражали стерильную воду, при пероральном введении белым мышам в дозе $250 \cdot 10^6$ микробных тел вызвал гибель 50 % животных. При дозе $750 \cdot 10^6$ микробных тел гибло 100 % животных. Атипичные штаммы мышинного тифа не вызывали гибели белых мышей даже при пероральном введении $2 \cdot 10^9$ микробных тел.

Таким образом, высеваемые после озонирования воды штаммы (ранее вирулентных микробов) с измененными морфологическими, биохимическими и культуральными свойствами могут утрачивать вирулентность или снижать ее. Последнее было установлено при проверке вирулентности атипичного штамма брюшнотифозной палочки, высеянного из озонированной воды.

Большое гигиеническое значение при оценке надежности обеззараживания питьевой воды озоном имеет сравнительная озоноустойчивость кишечной палочки и патогенных бактерий. Известно, что коли-индекс обеззараженной питьевой воды не должен превышать 3. Б. Н. Сучков (1964) изучал выживаемость различных штаммов брюшнотифозных и дизентерийных бактерий в речной очищенной воде, где микроорганизмы и кишечная палочка (штаммы средней устойчивости к озону) находились в соотношении 1:10 и 1:1. Отдельные штаммы брюшнотифозных и дизентерийных бактерий оказались несколько

более стойкими к действию озона, чем среднестойкие штаммы кишечной палочки. В связи с этим коли-индекс 3 может служить показателем надежности обеззараживания воды озонированием, когда начальная концентрация патогенных бактерий по крайней мере в 10 раз ниже концентрации кишечной палочки.

На бактерицидное действие озона оказывают влияние физико-химические свойства и состав воды (температура, мутность, активная реакция, минеральные примеси и др.).

Экспериментальные исследования К. К. Врочинского (1963) показали, что с повышением температуры воды необходимо увеличивать также дозу озона для получения одинакового эффекта обеззараживания воды. Если принять бактерицидную дозу озона-нетто (0,96 мг/л) при температуре воды 4 – 6° С за 100%, то при температуре 18 – 21°С составит 123,3%, при 36 – 38°С – 153,1 %. В этой связи была проведена специальная серия исследований для выяснения того, как влияет температура воды на величину неиспользованного озона (проскок) или, говоря иначе, как изменяется коэффициент использования озона. С этой целью через воду пропускали одинаковое количество озона (1 мг/л) при разных температурах воды и определяли проскок.

Установлено, что с повышением температуры воды при прочих равных условиях количество не использованного водой озона значительно возрастало, т. е. коэффициент использования озона уменьшался, поэтому при озонировании воды в практической обстановке необходимо стремиться к максимальному приближению брутто-озона к нетто-озону, что позволяет уменьшить расход озона на обработку воды. Увеличение проскока с повышением температуры воды обусловлено прежде всего уменьшением растворимости озона в воде.

При изучении влияния активной реакции воды на обеззараживающее действие озона было установлено, что увеличение рН более 7,1 сопровождалось значительным возрастанием бактерицидной дозы брутто-озона, в то время как нетто-озон практически не изменялся. Следовательно, с повышением значения рН уменьшается коэффициент использования озона водой (К. К. Врочинский, 1963).

Для изучения влияния мутности к дистиллированной воде К. К. Врочинский (1963) добавлял каолин в количестве 5; 10; 50 и 100 мг/л и взвесь суточной культуры кишечной палочки в таком количестве, чтобы коли-индекс воды равнялся 100 000. Проведенные исследования показали, что мутность до 5 мг/л оказывала незначительное влияние на обеззараживание воды озоном; при большей мутности бактерицидное действие озона значительно ухудшалось. Для получения бактерицидного эффекта при

мутности 5 мг/л необходимо 2 мг/л озона, при 10 мг/л – 3,6 мг/л, при 50 мг/л – 6,4 мг/л и, наконец, при 100 мг/л – 9,6 мг/л озона.

Экспериментальные исследования по изучению влияния некоторых солей на обеззараживающее действие озона показали, что кальций и магний (в количестве до 14 мг-экв/л каждый) не влияют на обеззараживание воды озонем. Трехвалентное железо в количестве 1 – 2 мг/л практически не влияло на бактерицидное действие озона и оказывало отрицательное действие, начиная с концентрации 5 мг/л. Двухвалентное железо снижало эффективность озонирования в концентрации 1 мг/л. Неблагоприятно также влияло наличие 1 – 2 мг/л аммония в воде (К. К. Врочинский, 1963).

На обеззараживающее действие озона влияет цветность воды, обусловленная легко окисляющимися органическими веществами из группы гумусовых (гуминовых) кислот. Так, исследования К. К. Врочинского (1964) показали, что добавление к дистиллированной воде гуминовой кислоты до цветности 20 ° сопровождалось увеличением окисляемости с 1,28 до 2,82 мгО/л и **бактерицидной дозы озона. Так, если для обеззараживания дистиллированной воды требовалось озона-нетто 1,2 мг/л, то при исходной цветности 20 ° – 3,14 мг/л. При более высокой цветности воды (40, 80 и 160 °) было отмечено значительное увеличение бактерицидной дозы озона-нетто; при цветности 40 ° – 9,36 мг/л, при 80 ° – 18 мг/л и при 160 ° – 28,66 мг/л. Таким образом, увеличение цветности воды в 2 раза приводило к увеличению бактерицидной дозы озона-нетто в 2,9 – 1,6 раза.**

Когда подавалось одинаковое количество озона-нетто, при более высокой исходной цветности воды отмечалось меньшее обеззараживание воды. Так, при цветности 80 ° доза озона-нетто 8,22 мг/л приводила к гибели 38 % кишечной палочки, в то время как при цветности 40 ° при той же дозе погибало более 99 %.

Проведенные эксперименты по эффективности обеззараживания воды при разной исходной цветности показали, что в начале озонирования количество бактерий снижается незначительно, так как озон расходуется на окисление гуминовой кислоты, что и приводит к значительному снижению цветности. Так, при исходной цветности 160 ° при продолжительности озонирования 10 min (доза озона-нетто 11,28 мг/л) практически весь озон расходуется на окисление гуминовой кислоты, что сопровождается снижением цветности со 160 до 90 ° (на 43,7 %). За это время озонирования количество кишечной палочки снижается на 9 %. При более продолжительном озонировании снижение цветности и отмирание бактерий идет примерно параллельно до определенного момента. В этот период озон расходуется не только на окисление

гуминовой кислоты, но также и не разрушение бактерий. Вследствие окисления гуминовых кислот в воде все больше накапливаются стойкие к окислению слабо окрашенные и бесцветные соединения. В конце озонирования поданный в воду озон еще меньше расходуется на окисление органических веществ и оказывает бактерицидное действие, вследствие чего кривая оставшихся в воде жизнеспособных бактерий круто идет вниз. Полное обеззараживание воды наблюдается при снижении цветности до 8,6 – 10,4 °.

Таким образом, озонирование воды является эффективным методом обеззараживания в отношении возбудителей брюшного тифа и бактериальной дизентерии. Степень стойкости брюшнотифозных и дизентерийных бактерий к действию озона при обеззараживании питьевой воды не обнаруживает существенных отличий. При озонировании речной воды, содержащей до $1 \cdot 10^4$ CFU/l возбудителей брюшного тифа или бактериальной дизентерии, остаточный озон порядка 0,15 – 0,2 mg/l свидетельствует об обеззараживании. С увеличением степени начального заражения величина остаточного озона, свидетельствующая о надежном обеззараживании, возрастает. При хранении воды, обеззараженной озоном, реактивации патогенных бактерий не наблюдается.

В известном руководстве по гигиене водоснабжения [раздел 1, 4] содержится ссылка на Fetner и Ingols (1956), которые отметили существенную разницу действие хлора и озона. В аналогичных условиях опыта бактерицидные дозы, соответствующие 99 % отмирания *E. coli*, составили для хлора 0,25 – 0,3 mg/l за 16 min, а для озона 0,4 – 0,5 mg/l за 1 min.

Было установлено (Б. П. Сучков), что в случае, если продолжительность озонирования не превышала 3 min, а продолжительность хлорирования – 30 min, то полное обеззараживание артезианской воды, зараженной брюшнотифозными или дизентерийными бактериями из расчета $1 \cdot 10^5$ CFU/l, обеспечивали одинаковые дозы озона и активного хлора (1 – 2 mg/l); грунтовой воды – 2,5 mg/l озона или 1,5 mg/l активного хлора; речной неочищенной – 22 mg/l озона или 4 – 6 mg/l активного хлора. Таким образом, на обеззараживание природных вод, содержащих значительное количество органических веществ и одинаковую концентрацию патогенных бактерий, озона затрачивается больше, нежели активного хлора, что связано, очевидно, с тем, что озон обладает более высоким окислительным потенциалом, чем активный хлор, и поэтому в большей мере расходуется на окисление органических примесей.

В работе [2] были использованы лекарственно-устойчивые штаммы дизентерийных бактерий Флекснера № 1402 и Ньюкасл № 687, резистентные к тетрациклину, тетрациклину, биомицину и стрептомицину, а также кишечная палочка (штаммы № 675 и 685) и аденовирусы

типа 7а. Опыты проведены с автоклавированной водопроводной водой (рН 7,3–7,4), содержащей различные концентрации бактерий и вирусов. Концентрация кишечной палочки в различных опытах колебалась в пределах $7,22 \cdot 10^5$ 000 – $1,71 \cdot 10^5$ CFU/L, **концентрация лекарственно-устойчивого штамма дизентерии Флекснера № 1402** – в пределах $7,1 \cdot 10^4$ – $1,77 \cdot 10^5$ CFU/L, Ньюкасл № 687 – в пределах $5,5 \cdot 10^4$ – $1,42 \cdot 10^5$ CFU/L.

К 50 ml бактериальной взвеси, помещенной в колбы емкостью 100 ml, добавляли 10 ml озонсодержащей воды. Содержимое колб интенсивно перемешивали и колбы ставили в затемненное место. Через 10 min после добавления озона (при озонировании бактериальной взвеси) или через каждые 2, 5 и 10 min (**при озонировании вирусосодержащей взвеси**) отбирали пробы воды для микробиологических исследований. Действие озона в них нейтрализовали гипосульфитом. Объем пробы для бактериологических исследований составлял 50 ml, для вирусологических – 2 ml. Активный озон определяли йодометрическим методом.

Озонирование зараженной бактериями и вирусом воды осуществляли добавлением заранее приготовленной озонсодержащей воды. Эту воду готовили барботированием полученной в озонаторе озono-кислородной смеси через столб охлажденной до 5-7 °C дистиллированной воды в течение 20-30 min. **При бактериальном заражении воды** применяли 24-часовую культуру бактерий, выращенную на косом агаре при 37 °C. Для определения количества бактерий в воде использовали методику с применением мембранных фильтров № 2 и последующим их проращиванием на среде Эндо при 37 ° в течение 48 h.

Наличие активного вируса и его количественное содержание в воде определяли по цитопатогенному действию, заражая каждым разведением вируса (по 0,2 ml) культуру перевиваемых клеток HeLa в 4 пробирках. Окончательно учитывали результаты при культивировании вирусов на 21–28-й день.

Результаты экспериментов по озонированию воды, зараженной лекарственно-резистентными штаммами бактерий дизентерии и кишечной палочкой, приведены в таблице 4.1.1.

Как видно из табл. 4.1.1, чувствительность к озону у изученных штаммов практически одинакова. При всех испытанных концентрациях остаточного озона (0,1, 0,2 и 0,3 mg/l) **разница в озonoустойчивости** была несущественной. Однако, в реальных условиях концентрация кишечной палочки во много раз превосходит возможную концентрацию исследованных лекарственноустойчивых штаммов дизентерии. Поэтому значительный интерес представляет та часть экспериментов, где концентрация кишечной палочки превосходила концентрацию

испытуемых дизентерийных штаммов в 10 раз. В этом случае кишечная палочка еще обнаруживалась тогда, когда наблюдалась полная гибель дизентерийных бактерий, т. е. она сохраняла значение санитарно-показательного микроорганизма при обеззараживании воды, зараженной лекарственно-устойчивыми штаммами дизентерии.

Таблица 4.1.1

Сравнительная озоноустойчивость кишечной палочки (№ 685) и лекарственно-устойчивых штаммов дизентерии Флекснера № 1402 и Ньюкасл № 687

Вид бактерий	Эффективность обеззараживающего действия озона (в %)		
	величина остаточного озона (mg/l)		
	0,1—0,15	0,2	0,3
<i>E. coli</i> № 685	76	85	93
Флекснер № 1402	78	80	92
Ньюкасл № 687	70	79	87

Проведенные опыты позволяют судить о роли остаточного озона при оценке эффективности озонирования. В одних и тех же начальных условиях (исходная концентрация озона, исходное заражение, срок контакта, температура и пр.) большая величина остаточного озона является, в известной мере, лучшей гарантией завершения процесса обеззараживания.

На работе Б. П. Сучкова [3], которая упоминалась выше, следует остановиться более подробно.

Автором изучена эффективность обеззараживания питьевой воды озоном в зависимости от ее качества, степени заражения брюшнотифозными и дизентерийными бактериями, дозы озона и других факторов; одновременно решали вопрос о санитарно-показательном значении кишечной палочки при обеззараживании воды озонированием.

Результаты исследований представлены в табл. 4.1.2, из которой видно, что в 1 л воды после озонирования остаются в среднем 2 брюшнотифозные бактерии менее стойкого штамма и несколько большее число микробных клеток устойчивого штамма. Максимально и минимально возможные концентрации микроорганизмов в изученных условиях озонирования, рассчитанные по доверительному интервалу и средней, показали, что минимальная концентрация брюшнотифозных бактерий может быть от 1 до 3, а максимальная — от 3 до 10 CFU/l.

Хотя степень устойчивости к озону изученных штаммов брюшнотифозных и дизентерийных бактерий оказалась близкой, некоторые из них отличались несколько более высокой стойкостью к действию озона.

Результаты экспериментов по изучению зависимости эффекта обеззараживания воды от степени начального заражения, дозы озона-нетто, продолжительности озонирования, концентрации остаточного озона свидетельствуют о том, что при действии одной и той же дозы озона-нетто бактерицидный эффект в значительной мере зависит от степени начального заражения воды. Так, затрачивая 4-5 мг/л озона-нетто, мы неизменно получали стерильную воду (отсутствие роста колоний при посеве 400 мл воды), если до озонирования в ней содержалось до $1 \cdot 10^4$ CFU/л. Если же степень заражения составляла $1 \cdot 10^5$ CFU/л, то для обеззараживания требовалось до 7 мг/л озона-нетто; при заражении порядка $1 \cdot 10^6$ CFU/л - свыше 10 мг/л и т. д.

Таблица 4.1.2

Сравнительная устойчивость к озону (пределы вариации) брюшнотифозных и дизентерийных бактерий (речная очищенная вода заражена $25 \cdot 10^6$ CFU/л, доза озона-нетто 14 мг/л, продолжительность озонирования 5 мин)

Вид и подвид возбудителей	Число штаммов	J_{95} (доверительный интервал)	100% J_{95} / N	Среднее число бактерий, найденных в одном определении
Брюшнотифозные бактерии	12	0,85-2,45	42,55-16,28	2-15
Дизентерийные бактерии: Флекснера				
серотип а	6	1,28-1,8	31,23-22,07	4-80
с	2	1,06-1,2	37,96-33,33	3-40
е	5	1,02-1,8	39,22-22,22	3-80
е	5	0,87-1,56	45,88-25,60	2-60
Ньюкастл	2	1,43-2,12	28,00-18,90	5-11
Бойд-Новгородской	2	1,44-1,98	27,73-20,20	5-10
Зонне	12	1,34-2,38	29,81-16,90	4-14
Штуцера	2	1,13-1,39	35,36-28,88	3-50

В экспериментах по озонированию воды, зараженной в разных концентрациях дизентерийными бактериями, выявлены те же закономерности, что и при обеззараживании воды, содержащей брюшнотифозные бактерии. Бактерицидные дозы были близки тем, при которых наступала гибель возбудителей брюшного тифа.

Влияние качества воды на эффективность обеззараживания изучали на дистиллированной (цветность 0 °, окисляемость 0,8 mgO/l, озонопоглощаемость 0,3 mg/l озона), очищенной речной (цветность 20 °, окисляемость 7,6 mgO/l, озонопоглощаемость 2,1 mg/l озона), неочищенной речной воде (цветность 110 °, окисляемость 24,3 mgO/l, озонопоглощаемость 7,2 mg/l озона).

Из табл. 4.1.3 видно, что бактерицидная доза озона значительно увеличивается с ростом концентрации органических веществ и озонопоглощаемости. Если для обеззараживания неочищенной речной воды расходовали 22 mg/l озона-нетто, то для обеззараживания той же воды, очищенной до требований ГОСТ 2874-54, расходовалось около 7 mg/l озона. Таким образом, как и следовало ожидать, перед обеззараживанием озоном воду целесообразно очищать. В случаях, когда степень начального заражения воды не превышала $1 \cdot 10^4$ CFU/l брюшнотифозных или дизентерийных бактерий, колебания активной реакции воды в пределах pH 5,8-8,0 оказывали лишь незначительное влияние на обеззараживание озоном.

Данные табл. 4.1.3 свидетельствуют о том, что при дезинфекции воды, физико-химические свойства которой отвечают требованиям ГОСТ 2874-54, а степень обсемененности патогенными бактериями составляет $1 \cdot 10^3$ - $1 \cdot 10^4$ CFU/l, величина остаточного озона порядка 0,15—0,2 mg/l указывает на надежность обеззараживания. С увеличением степени заражения величина остаточного озона, необходимая для надежности дезинфекции, возрастает. Так, например, обеззараживание воды, содержащей $1 \cdot 10^5$ CFU/l патогенных бактерий, происходит при концентрации остаточного озона 0,2 mg/l, а при заражении $2 \cdot 10^6$ CFU/l обеззараживание удается отметить лишь в тех случаях, когда концентрация остаточного озона превышает 2 mg/l. Таким образом, определение концентрации остаточного озона в конкретных условиях может быть, как и определение остаточного хлора, использовано в качестве оперативного метода контроля за обеззараживанием воды.

Таблица 4.1.3

Зависимость бактерицидных доз озона от качества обрабатываемой воды (до озонирования $1 \cdot 10^5$ CFU/l)

	Дистиллированная вода		Речная вода				
	1-й опыт	2-й опыт	Очищенная до требований ГОСТ 2874-54	неочищенная			
Продолжительность озонирования (min)	0,3	0,5	2,0	5,0	4,5	12,0	
Озон-нетто (mg/l)	0,3	0,9	2,1	7,0	7,2	22,0	
Остаточный озон (mg/l)	0,1	0,2	0,1	0,2	0,1	0,2	
Вид бактерии	Процент выживших бактерий						
Брюшнотифозные	0,30		0	0,90	0	1,90	0
Дизентерийные:							
Флекснера	0,01		0	0,06	0	0,10	0
Ньюкестл	0,01		0	0,09	0	0,20	0
Бойд-Новгородской	0,01		0	0,08	0	0,76	0
Зонне	0,01		0	0,11	0	0,20	0
Штуцера	0,002		0	0,04	0	0,02	0

Ряд исследователей указывает на возможность реактивации бактерий в озонированной воде, объясняя это тем, что в озонированной воде озон быстро распадается (Е. П. Ракушкина). Продолжая исследования в этом направлении, авторы установили, что, когда степень обеззараживания достигает высоких цифр (99,95%), но все же не является полной, из обеззараженной воды через несколько часов высевается значительно больше микроорганизмов, чем непосредственно после озонирования. Если же

проба, отобранная сразу после озонирования, стерильна (отсутствие роста колоний при посеве 400 ml воды), то и другие пробы той же воды, отобранные через 30 min в течение 6 h и затем через 24 и 48 h, также оказываются стерильными. В этом отношении полученные нами данные совпадают с результатами наблюдений Б. Л. Вахлера, выполненными при обеззараживании воды, содержащей кишечную палочку.

В соответствии с ГОСТ на качество питьевой воды коли-индекс ее не должен превышать 3 CFU/l. Руководствуясь этим требованием, авторы изучали выживаемость различных штаммов брюшнотифозных и дизентерийных бактерий в речной очищенной воде, в которой указанные микроорганизмы и кишечная палочка (штаммы средней устойчивости к озону) находились в соотношении 1 : 10. Средние данные представлены на рис. 4.1.2.

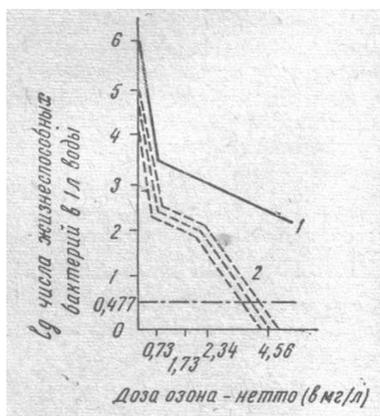


Рис. 4.1.2. Динамика отмирания кишечной палочки и брюшнотифозных бактерий при озонировании питьевой воды (начальная концентрация кишечной палочки в 10 раз превышает концентрацию патогенных бактерий).

- 1 – отмирание кишечной палочки;
- 2 – отмирание брюшнотифозных бактерий

Они свидетельствуют о том, что при таком соотношении патогенных бактерий и кишечной палочки коли-индекс 3 может служить показателем надежности обеззараживания воды озонированием. Авторы отметили, что в тех случаях, когда патогенные бактерии и кишечная палочка содержались в одинаковых концентрациях, после обеззараживания оставалась жизнеспособной некоторая часть брюшнотифозных и дизентерийных бактерий.

В работе обсуждаются экспериментальные данные к обеззараживанию воды озоном [4].

Сравнительное изучение дегидразной активности методом Тунберга исходных штаммов кишечной палочки и ее вариантов проведено автором на 22 субстратах (8 углеводов: рамноза, сахароза, лактоза, глюкоза, мальтоза, арабиноза, фруктоза, галактоза; 4 спирта: маннит, дульцит, сорбит, инозит и 10 карбоновых кислот: малоновая, фумаровая, янтарная, уксусная, щавелевая, α -кетоглутаровая, аконитовая, гликолевая, лимонная, яблочная). У выделенных вариантов была резко угнетена способность дегидрировать карбоновые кислоты, многоатомные спирты и углеводы, кроме сахарозы. Дегидрирование сахарозы, наоборот, ускорялось, что можно, по - видимому, объяснить приспособительным усилением образования микробной клеткой дегидрогеназы сахарозы. По литературным данным (Н. Н. Трахтман, Р. К. Липинска, Г. Н. Першин), при изучении механизма действия хлора и его соединений у кишечной палочки также отмечалось понижение дегидразной активности.

Изменчивость бактерий под воздействием озона автор отмечал также у *S. paratyphi B*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*. Вполне естественно было предположить, что при этом происходило также изменение и вирулентности патогенных бактерий. Для выяснения этого вопроса была изучена вирулентность исходного штамма *S. typhimurium* и выделенных из озонированной суббактерицидными дозами воды вариантов.

Полученные данные показали, что при пероральном введении белым мышам LD_{50} исходного штамма составляла $2,5 \cdot 10^8$ CFU/л микроорганизмов, в то время как выделенные из озонированной воды варианты не вызывали гибели белых мышей в дозе $1 - 2 \cdot 10^9$ CFU/л. Полученные результаты согласуются с данными А. Н. Пилипенко, которая показала, что при хлорировании воды изменялась вирулентность паратифозных А бактерий.

Для обоснования критерия надежности обеззараживания воды озоном (коли-индекс воды после обеззараживания не более 3 CFU/л) была изучена сравнительная озоноустойчивость кишечной палочки и некоторых патогенных бактерий (паратифа В и сальмонелл мышинного тифа). Исследования были проведены на дистиллированной и речной осветленной воде. Как показали эти исследования (рис. 4.1.3), устойчивость к озону снижалась в ряду: кишечная палочка, сальмонеллы мышинного тифа, паратифа В. Таким образом, полученные данные соответствуют также сравнительной хлорустойчивости указанных бактерий. Полученные данные не дают основания для изменения критерия надежности обеззараживания воды озоном — коли-индекса 3.

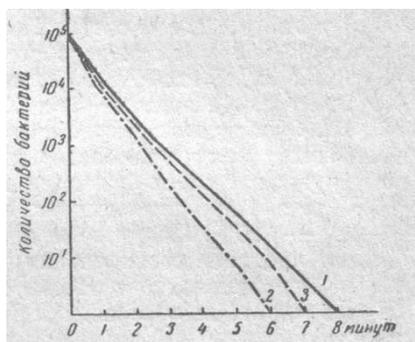


Рис. 4.1.3. Сравнительная озоноустойчивость кишечной палочки паратифа В и сальмонеллы Бреслау (данные исследования речной воды). 1 — кишечная палочка; 2 — сальмонелла паратифа В; 3 — сальмонелла Бреслау

О влиянии температуры воды на бактерицидное действие озона имеющиеся в литературе данные малочисленны и противоречивы, многие подробности эксперимента не указываются. В этих опытах были выбраны температуры 4–6, 18–21 и 36–38 °С, поскольку имеются указания на то, что температура воды в жарком климате в искусственных резервуарах достигает 38 ° (П. М. Литвиненко).

Полученные экспериментальные данные о влиянии температуры воды показали, что при низкой температуре в озонированной воде остается меньше жизнеспособных бактерий при обработке воды одной и той же дозой озона. Так, при исходном содержании кишечной палочки $1 \cdot 10^4$ CFU/l после обеззараживания воды дозой озона - брутто 0,6 mg/l оставалось $1,2 \cdot 10^2$ CFU/l бактерий (0,12 % исходного количества) при температуре воды 4–6 °С и $1,9 \cdot 10^3$ CFU/l (**1,9 %**) при температуре воды 18–21 °С. Особенно ощутимой становится разница при дозах озона, обеспечивающих получение бактерицидного эффекта. Если принять бактерицидную дозу озона-брутто (1 mg/l) при температуре воды 4–6 °С за 100 %, то она при температуре воды 18–21 °С составляла 160 %, при 36–38° –320 %. Полученные данные имеют прежде всего значение для практики озонирования воды, так как в теплое время года для обеспечения надежности обеззараживания воды необходимо значительно увеличивать дозу озона. На Часов-Ярской озонирующей водопроводной станции в летний период из-за того, что генераторы озона не могли дать большего количества озона, вновь переходили на хлорирование воды.

Представляло также интерес выяснить, как влияла температура воды на собственно процесс озонирования воды, т. е. как изменялся расход нетто-озона. В доступной на то время литературе авторы не нашли каких-либо сведений по этому вопросу. Проведенные экспериментальные исследования позволили сделать вывод, что с повышением температуры воды необходимо увеличивать также дозу нетто-озона для получения одного и того же эффекта обеззараживания воды, правда, в меньшей степени. Если принять бактерицидную дозу озона-нетто (0,96 mg/l) при температуре воды 4–6 °С за 100 %, то при температуре 18–21 °С она составит 123,3 %, 36–38 °С – 153,1 %. В этой связи была проведена специальная серия исследований для выяснения того, как влияет температура воды на величину неиспользованного озона («проскок»), или, говоря иначе, как изменяется коэффициент использования озона. С этой целью через воду пропускали одно и то же количество озона (1 mg/l) при разных температурах воды и определяли «проскок». Полученные данные представлены в табл. 4.1.4.

Таблица 4.1.4

**Влияние температуры воды на количество озона,
не использованного водой**

Температура воды	Брутто-озон	Нетто-озон	«Проскок»	Величина «проскока» (в процентах к брутто-озону)	Коэффициент использования озона (в %)
	mg/l				
4–6 °С	1,2	1,12	0,08	6,6	93,3
18–21 °С	1,2	1,01	0,19	15,8	84,1
36–38 °С	1,2	0,81	0,39	32,5	67,5

Из табл. 4.1.4 видно, что с повышением температуры воды при прочих равных условиях количество неиспользованного водой озона значительно возрастало, т.е. коэффициент использования озона уменьшался.

Поэтому, при озонировании воды в практической обстановке необходимо стремиться к максимальному приближению брутто-озона к нетто-озону что позволит уменьшить расход озона на обработку воды. Увеличение «проскока» с повышением температуры воды обусловлено прежде всего уменьшением растворимости озона в воде.

В следующих экспериментах для изучения влияния мутности к дистиллированной воде добавляли каолин в количестве 5, 10, 50 и 100 mg/l и взвесь суточной культуры кишечной палочки в таком количестве, чтобы коли-индекс воды равнялся $1 \cdot 10^5$ CFU/l. Проведенные

исследования (рис. 4.1.4) показали, что мутность до 5 mg/l оказывала незначительное влияние на обеззараживание воды озоном; при большей мутности бактерицидное действие озона значительно ухудшалось. Так, для получения бактерицидного эффекта при мутности 5 mg/l необходимо 2 mg/l брутто-озона, при 10 mg/l - 3,6 мг/л, при мутности 50 mg/l - 6,4 mg/l и, наконец, при мутности 100 mg/l - 9,6 mg/l озона. Параллельно возрастал также нетто-озон в отличие от влияния температуры воды на расход нетто-озона. Значит, для уменьшения расхода озона на обеззараживание воды ее необходимо предварительно освобождать от взвешенных веществ.

Изучали также влияние активной реакции на обеззараживание воды озоном на дистиллированной воде с добавлением фосфатного буфера. Результаты этих исследований представлены на рис. 4.1.5.

Таким образом, с повышением pH воды уменьшался коэффициент использования озона, что и приводило к увеличению брутто-озона, поэтому при изменении pH воды в сторону его увеличения расходуется больше озона для эффективного обеззараживания воды.

Наконец, экспериментально изучено влияние некоторых солей на обеззараживающее действие озона. С этой целью к воде (дистиллированной) добавляли отдельно соли, которые могут встречаться в воде (магния, кальция, железа) или вносятся при обработке воды (алюминия).

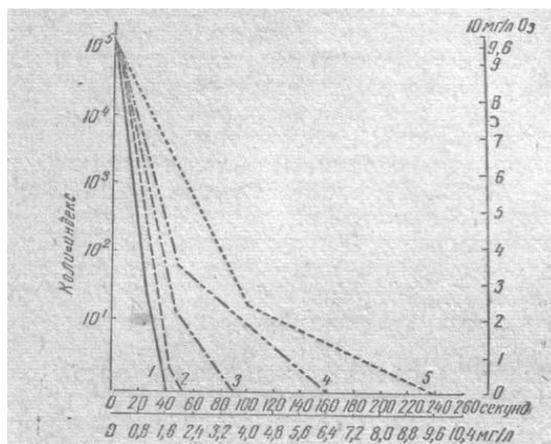


Рис. 4.1.4. Влияние мутности воды на обеззараживающее действие озона. 1 – каолина не добавлено; 2 – количество каолина 5 mg/l; 3 – 10 mg/l; 4 – 50 mg/l; 5 – 100 mg/l

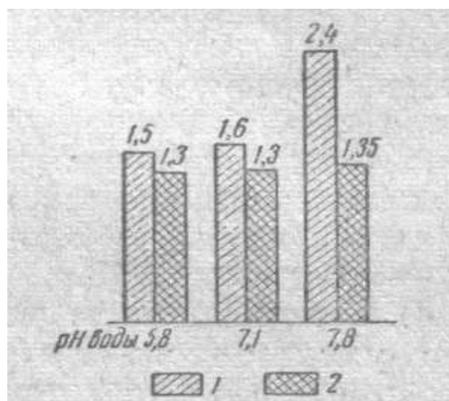


Рис. 4.1.5. Бактерицидная доза озона в зависимости от pH воды.
1 – брутто-озон (mg/l); 2 – нетто-озон (mg/l)

Проведенные исследования показали, что кальций и магний (в количестве до 14 mg-ekv/l каждый) не влияют на обеззараживание воды озоном. Трехвалентное железо в количестве 1–2 mg/l практически не влияло на бактерицидное действие озона и оказывало отрицательное действие начиная с концентрации 5 mg/l. **Двухвалентное железо снижало эффективность озонирования даже в концентрации 1 mg/l.** Неблагоприятно влияло также наличие алюминия в воде (1–2 mg/l).

Завершая подробный анализ отечественных работ, следует процитировать работу В. А. Рябченко и Н. А. Русановой [5] (1986 г.), посвященную действию озона при обеззараживании воды.

Авторы отмечают, что, несмотря на широкую мировую практику применения озона в водоснабжении, многие важнейшие вопросы, касающиеся обеззараживания, в литературе практически не освещены.

К ним относятся:

- эффективность воздействия озона не только на санитарно-показательную микрофлору воды, учитываемую по коли-индексу и числу сапрофитных бактерий, но и на представителей других групп микро- и макроорганизмов, поступающих на водоочистные сооружения с природной водой и подвергающихся озонированию в процессе ее обработки;
- глубина обеззараживающего действия и длительность сохранения качества питьевой воды после озонирования в системах водоснабжения;
- влияние предварительного хлорирования на эффект обеззараживания озоном, поскольку на водоочистных сооружениях, как правило,

осуществляется предварительное хлорирование и имеются данные практических лабораторий об отрицательном действии остаточного хлора на процессы обесцвечивания и дезодорации при озонировании.

В задачу этой работы [5] входило изучение указанных вопросов и на основании результатов исследований определение критериев эффективности обеззараживания и оптимальных условий применения озона на водопроводах в качестве обеззараживающего агента.

В результате исследований установлены малоизвестные зависимости степени обеззараживания воды от ее температуры, рН, наличия остаточного хлора.

В отличие от хлора при озонировании с понижением температуры воды лучше проходили процессы обеззараживания, инактивации вирусов, отмирания фито- и зоопланктона, что связано с увеличением растворимости озона в воде при низкой температуре. Во всех случаях эффективность воздействия озона при температуре воды 6–12 °С была на порядок выше, чем при 18–20 °С.

Более высокий эффект обеззараживания достигнут в слабокислой среде. В случае озонирования воды с рН 9,5–11,0 эффект обеззараживания снижался. Особенно четко это проявлялось при воздействии озона на спорообразующие микроорганизмы. Заметно это и на вирусах, инаktivация которых ускорялась в кислой среде, что было выражено в первые 10 min озонирования.

При более продолжительном воздействии озона эффективность обеззараживания в кислой и щелочной воде уравнивалась.

В табл. 4.1.5 приведены данные лабораторных исследований по изучению влияния температурного фактора и рН среды на спорцидный эффект озона.

Таблица 4.1.5.

Влияние температуры и рН воды на эффективность озонирования в отношении бацилл антракоида (доза озона 20–22 мг/л)

Число CFU/л исходной воды	Температура воды, °С	рН воды	Число CFU/л после озонирования
$2,3 \pm 0,63 \cdot 10^3$	25–30	7,8–8,0	320 ± 40
$3,7 \pm 0,31 \cdot 10^3$	18–20	7,8–8,0	12 ± 6
$1,8 \pm 0,10 \cdot 10^3$	6–12	7,8–8,0	Н/о
$1,38 \pm 0,03 \cdot 10^3$	18–22	10,0–11,0	$4,8 \pm 0,036 \cdot 10^2$
$2,1 \pm 0,66 \cdot 10^3$	18–22	10,0–11,0	$1,0 \pm 0,08 \cdot 10^3$
$2,2 \pm 0,01 \cdot 10^4$	18–22	6,5–6,8	$6 \pm 0,8$
$1,0 \pm 0,03 \cdot 10^3$	18–22	6,5–6,8	$1 \pm 0,3$

При исследовании воды, содержащей коли-фаги, установлено, что наличие в воде остаточного хлора в пределах 0,1-0,9 мг/л не сказывается на эффективности обеззараживания озоном. В ряде случаев может наблюдаться ее повышение. Так, в первые 3 min озонирования (остаточного озона 0,1-0,3 мг/л) воды, содержащей 1,5-2 мг/л остаточного хлора, эффект обеззараживания на порядок выше по сравнению с достигаемым одним озонированием.

Наибольший интерес представляют данные, полученные при исследовании воды, подвергнутой озонированию в соответствии со стандартом на питьевую воду (табл. 4.1.6).

Таблица 4.1.6.

Эффективность воздействия озона на микроорганизмы поверхностных вод в зависимости от длительности озонирования при остаточной концентрации озона в воде 0,1-0,3 мг/л

Показатели	До озонирования	После озонирования, продолжавшегося			
		4 мин	8 мин	12 мин	16 мин
Общее микробное число, CFU/ml	43±6	6±1	5±2	7±1	5±1
Коли-индекс, CFU/l	2,2±0,3 • 10 ⁴	3-6	3	<3	<3
Индекс грамотрицательных оксидазоположительных палочек, CFU/l	150±11	3	<3	<3	<3
Индекс бацилл антракоида, CFU/l	1,3±0,1 • 10 ³	140±5	75±6	27±4	24±3
Вирус полиомиелита, PFU/l	30±3	23±1	7±1	Н/о	Н/о
Коли-фаги, PFU/l	4,5±0,3 • 10 ⁴	1 • 10 ⁴	100±12	Н/о	Н/о

Результаты обеззараживания воды были различными в зависимости от вида микроорганизма и продолжительности озонирования. После озонирования воды в течение 4 min снижение коли-индекса до 3 CFU/l наблюдалось лишь в 60 % проб. Количество сапрофитов составило 5–7 CFU/ml, коли - фагов – 10⁴ PFU/l, вируса полиомиелита – 28 PFU/l, бацилл антракоида – 140 CFU/l

Озонирование в течение 8 min при том же содержании остаточного озона позволило получить воду более высокого качества по

микробиологическим показателям. Так, коли-индекс всегда снижался до 3 CFU/l, **численность группы грамотрицательных оксидазоположительных палочек** также уменьшалась до 3 и менее CFU/l, количество фагов – до $1 \cdot 10^2$ PFU/l, вируса полиомиелита – до 7 PFU/l, содержание бацилл антракоида – до 75 CFU/l.

Продление времени озонирования до 12 min привело к дальнейшему снижению численности микроорганизмов вплоть до их полного исчезновения: кишечные палочки, коли-фаги и энтеровирусы ни в одной из этих проб не были обнаружены. Отсутствовал рост грамотрицательных оксидазоположительных бактерий. Уменьшалось количество бацилл антракоида. На общее количество бактерий удлинение сроков озонирования даже до 16 мин практически не влияло.

Таким образом, при одной и той же концентрации (0,1-0,3 mg/l) остаточного озона эффект обеззараживания воды был достигнут по коли-индексу только за 8 min, по энтеровирусам – не менее чем за 12 min воздействия озона. Однако при увеличении содержания остаточного озона с 0,1-0,3 до 0,43-0,48 mg/l обеззараживание могло быть достигнуто по коли-индексу и вирусу полиомиелита за 4 min озонирования.

Полученные результаты показали, что степень воздействия озона на микроорганизмы зависит не только от его остаточной концентрации, но и от времени контакта с водой. Значение длительности контакта озона с водой для оценки эффективности озонирования подтверждается также результатами изучения глубины обеззараживающего действия озона.

С этой целью воду, обработанную озоном в течение 4, 8, 12, 16 min при его остаточной концентрации 0,1-0,3 mg/l, хранили 7 d в стерильных условиях в темноте при комнатной температуре. В качестве контроля в тех же условиях хранили неозонированную воду.

Установлено, что в контрольных пробах воды количество микроорганизмов в течение 7 d наблюдения находилось на неизменном уровне или постепенно снижалось. В озонированной же воде уже через 1 d хранения отмечались изменения, сходные с имевшимися при посеве непосредственно после воздействия озона. Через 2-4 d в воде, озонированной 4 и 8 min, возрастал коли-индекс, значительно повышалось количество грамотрицательных оксидазоположительных бактерий. Увеличивалось общее количество бактерий. В то же время концентрация бацилл антракоида за 7 d **практически не изменялась**. Содержание коли-фагов и энтеровирусов, наоборот, с течением времени снизилось, что свидетельствовало об их постепенном отмирании при хранении воды.

Микробиологические показатели озонированной в течение 12 и 16 min воды в течение 7 d хранения не ухудшались.

Внесение в обеззараженную воду (остаточного озона 0,1–0,3 mg/l, время контакта 4 и 8 min) биогенных элементов – азота (5–50 mg/l), фосфора (0,5–5 mg/l) и **комплекса органических веществ (белков, аминокислот, углеводов и витаминов)**, а также стерильных осадков и соскобов из водопроводных труб систем коммунального водоснабжения способствовало повышению коли-индекса, резко стимулировало размножение сапрофитных бактерий и грамотрицательных оксидазоположительных палочек, а также удлиняло сроки выживания вирусов и фагов. В воде, озонированной в течение 12 и 16 min при той же концентрации остаточного озона, развития микрофлоры при хранении и внесении минеральных и органических веществ не наблюдалось. Следовательно, для эффективного обеззараживания воды при остаточной концентрации озона 0,1–0,3 mg/l необходим контакт с озоном не менее 12 min.

Результаты проведенных исследований дают основание считать, что в качестве критерия эффективности обеззараживания недостаточно принимать только концентрацию остаточного озона в воде, как это имело место в прежнем ГОСТ 2874-73. Необходимо учитывать, как и в случае хлорирования, время контакта с озоном.

В связи с этим в ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая. Гигиенические требования и контроль за качеством» для оценки эффективности обеззараживания озоном, кроме его остаточной концентрации после камеры смешения 0,1–0,3 mg/l, введена экспозиция озонирования не менее 12 min.

В результате наблюдений на реальных водоочистных сооружениях и в лабораторных условиях при хранении обеззараженной озоном питьевой воды, как уже отмечалось выше, может возрасти численность бактериальных клеток. При хлорировании такое явление обычно наблюдалось только после исчезновения остаточного хлора, служащего консервантом воды. При этом отмечено что в первую очередь увеличивалось количество грамотрицательных оксидазоположительных палочек, образующих колонии на среде Эндо при 37 °С. Установлено, что если в посевах на среде Эндо через 48 h инкубации при 37 °С высевалось грамотрицательных оксидазоположительных палочек не более 3 CFU/l, то вода после озонирования не меняла своего качества по бактериологическим показателям в течение длительного периода (по крайней мере в течение 14 d). Если их было более 3 CFU/l, то уже на следующий день в этой воде наблюдался значительный рост, а отдельных случаях увеличивался и коли-индекс. Поэтому при озонировании представляется целесообразным в качестве критерия глубины обеззараживания воды озоном использовать дополнительный показатель - содержание в ней грамотрицательных оксидазоположительных палочек, растущих на

среде Эндо при 37 °С. Особенно важен этот показатель для тех систем водоснабжения, в которых вода находится длительно.

В отношении гидробионтов дозы озона, которые обычно применяются на водоочистных станциях, малоэффективны независимо от времени озонирования. Например, для гибели олигохет требовалось вместо 0,2 mg/l остаточного озона 0,5 mg/l при начальной дозе 6 mg/l и длительности контакта 1,5–2 h. Увеличение дозы озона до 20 mg/l не обеспечивало полного эффекта обеззараживания в отношении бактериальных спор. Изменение длительности контакта при дозе 20 mg/l также не дало желаемого эффекта. Следовательно, озонирование воды на водоочистных сооружениях не является препятствием для проникновения в сеть всевозможных микро- и макрогидробионтов.

В то же время установлено, что надежный эффект обеззараживания по санитарно-показательным микроорганизмам, коли-фагам, вирусу полиомиелита будет обеспечен при соблюдении совокупности следующих условий:

- на озонирование должна поступать вода с концентрацией указанных микроорганизмов, допустимой для источников хозяйственно-питьевого водоснабжения;
- вода, поступающая на озонирование, должна быть осветлена до требований ГОСТа 2874-82, так как при не полностью осветленной воде могут встречаться нестандартные пробы, особенно по вирусу;
- предварительное хлорирование, обеспечивающее необходимую концентрацию в воде остаточного хлора;
- контакт озона с водой должен быть не менее 12 min при обеспечении остаточного озона в течение всего времени озонирования 0,1–0,3 mg/l;
- озон не должен применяться в качестве заключительного этапа обработки воды, направляемой в систему водоснабжения; в противном случае озонированную воду перед поступлением в сеть необходимо хлорировать с целью введения консерванта.

Авторы работы [6] (1973) отмечают, что озон является адекватной альтернативой хлору [7]. К тому времени был накоплен достаточный массив информации об устойчивости вегетивных клеток к озону [8-13], особенно *E. coli* [8,9, 14-17].

Установлено, что к концентрациям остаточного озона чувствительность вегетивных клеток чрезвычайно низкая: для *E. coli* 0,19 mg/l. Эти уровни коррелируют с известными в литературе. По данным Whitson [13], Bringmann [14], Sykes [12], Guinvarch [16], Bean [8] и Torricelli [17] для *E. coli* эффективные концентрации остаточного озона колебались в пределах от 0,1 до 0,2 mg/l. Во всех случаях установлен

эффект «all-or-none» («все или ничего»). При этом не найдено каких-либо корреляций устойчивости к озону со структурой мембраны бактерий используемых штаммов.

Когда данные по невымытым вегетативным клеткам были сравнены с вымытыми, стало очевидно, что органическая питательная среда в первом случае значительно повышает озонопоглощаемость.

В заключении авторы отмечают, что озон в относительно низких концентрациях, является эффективным бактерицидом. На практике озон наиболее вероятно должен быть применен в более высоких дозах (0,5-10 mg/l) и в течение большей экспозиции (2-10 min), поскольку наличие органических веществ неизбежно будет повышать озонопоглощаемость [9, 16, 17].

В работе [18] суспензия бактерий *E. coli* штамма HB101 с плазмидой ДНК pBR322 была подвергнута озонированию с последующим исследованием повреждения плазмиды *in vivo* и выживания клеток. Механизм преобразования был подобен наблюдаемому *in vitro*. Эти результаты показывают, что озон пенетрирует мембрану клетки и реагирует с цитоплазматическими субстанциями. Поэтому, хромосомная ДНК может быть одной из целей повреждения озоном и это может быть одним из факторов инактивации клеток.

Относительно инактивации вирусов озоном высказано мнение о повреждении белка оболочки как ведущей причине при инактивации бактериофага ϕ 174 [19], f2 [20, 21] и T4 [21], а также и полиовируса тип 2 [22]. С другой стороны, с точки зрения [23] повреждение РНК может быть главной причиной инактивации озоном полиовируса типа 1. Механизм инактивации бактерий озоном более сложный, поскольку озон атакует белки и ненасыщенные липиды в мембране клетки [24-27] и также ферменты в клетках [28-30]. Кроме того, о деструкции ДНК у *E. coli* сообщали [20, 31-33].

Показано [34], что озон может вызывать одно - и двухнитевые разрывы ДНК в клетке «дикого» типа *E. coli* и чувствительного к озону мутанта MQ1844 (ozrB). Другой тип повреждения ДНК восстанавливается только ozrB геном, который может также быть ответственным за инактивацию озоном *E. coli*.

Чтобы получить дальнейшее понимание механизма инактивации, предыдущие исследования авторов были сосредоточены на деградации нуклеиновых кислот озоном. Показано, что остатки гуанина в РНК [35-37] и гуанина и/или остатки тимина в ДНК [38, 39], были наиболее восприимчивыми к озону. Также найдено, что деструкция РНК и ДНК в ранней фазе озонирования не происходила. Однако, это не соответствует данным [40-42], согласно которым происходило преобразование

закрытой круглой ДНК (ccDNA) плазмиды pBR322 ДНК в открытую круглую ДНК (ocDNA) при озонировании, что подразумевает разделение ДНК.

Несоответствие этих результатов объяснено при секвенировании обработанной озон ДНК. Показано, что дегградация тимина и/или остатков гуанина вызывает быстрое разделение обработанной плазмиды ДНК [43, 44]. Так как морфологическое изменение от ccDNA до ocDNA при озонировании является чрезвычайно чувствительным тестом, его можно использовать при исследовании ранней фазы изменения внутриклеточной ДНК при воздействии озон. Поэтому, цель данного исследования [18] состояла в оценке влияния озона на ДНК в бактериальных клетках *in situ* и объяснении механизма инактивации бактерий озон.

Ранее авторы показали, что плазида pBR322 ccDNA преобразуется в ocDNA после обработки озон *in vitro*. Поэтому, это преобразование должно происходить во внутренней плазмиде *E. coli*, если озон достигает цитоплазмы. На рис. 4.1.6 представлены образцы электрофореза в агарозном геле исходной плазмиды после воздействия озона на клетки *E. coli*. Интенсивность полосы ocDNA увеличивалась с продолжительностью озонирования и впоследствии появилась линейная полоса ДНК, тогда как полоса ccDNA становилась бледнее после 40 минут воздействия, при этом заметного изменения не наблюдалось в образцах электрофореза в геле контроля.

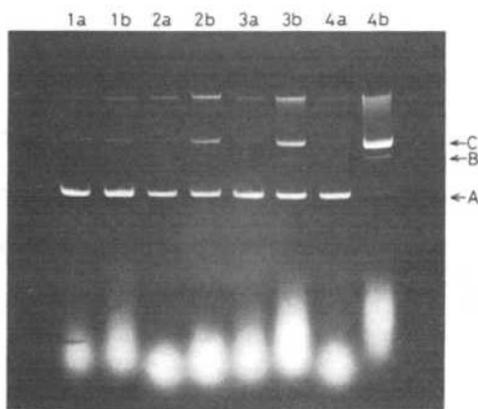


Рис. 4.1.6. Электрофорез в геле pBR322 DNAs в обработанной озон *E. coli*. Линии: а, контроль; b, обработка озон; время обработки, 1 – 10 min; 3 – 30 min; 4 – 40 min. Фрагменты: А – ccDNA; В – линейная DNA; С – ocDNA.

Далее *ccDNA*, *ocDNA* и другие ДНК были отдельно определены хроматографией фильтрации в геле. Типичные профили ДНК плазмиды, изолированной из неповрежденных и обработанных озоном в течение 25 min клеток представлены на рис. 4.1.7. Вторые и третьи пики соответствовали *ocDNA* и *ccDNA* соответственно, а первый, очевидно, соответствовал более деградированному ДНК. Количественные исследования были сделаны при интеграции пиковых областей. Области перекрывания на пиках были разделены, как показано пунктирами. Проценты *ccDNAs* после озонирования были вычислены, исходя из 100 % пиковой области *ccDNA* соответствующих неповрежденных клеток. Количество изменений *ccDNA* показано на рис. 4.1.8. Установлено, что более чем 90 % *ccDNA* преобразовались в другие формы ДНК через 40 min озонирования.

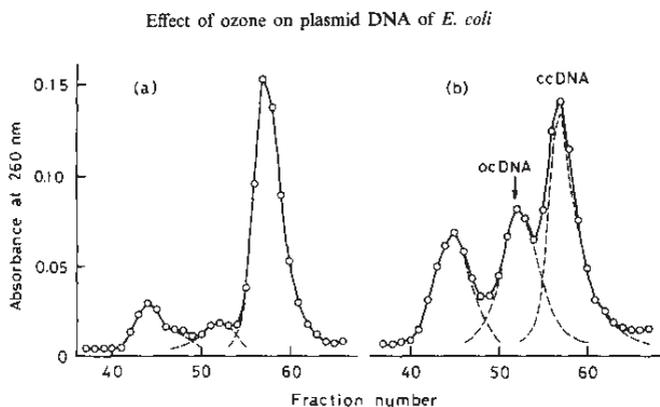


Рис. 4.1.7. Гель фильтрационные хроматограммы рВR322 DNAs в (a) интактных *E. coli* и (b) *E. coli* через 25 min обработки озоном.

Для оценки способа деградации ДНК плазмиды озоном *in vivo*, *ocDNA*, изолированная из обработанных озоном клеток *E. coli*, была обработана ферментами и проанализирована электрофорезом в геле. Образцы не показали различия при сравнении с соответствующими образцами *ocDNA*, полученными при озонировании рВR322 ДНК *in vitro* в присутствии NaCl. Поэтому, механизм формирования *ocDNA* из *ccDNA* при озонировании *in vivo*, как полагают авторы, подобен такому *in vitro* [42-44].

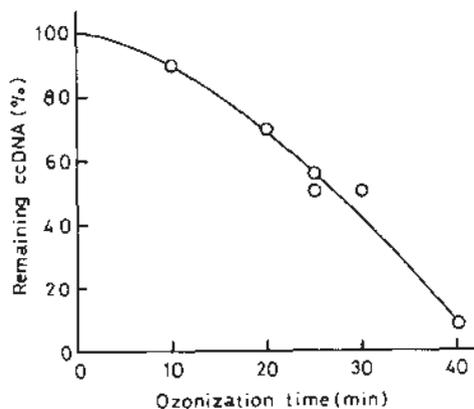


Рис. 4.1.8. Разрушение ccDNA плазмиды pBR322 *E. coli* в процессе обработки озоном

Выживание E. coli HB101

Влияние озона на выживании *E. coli* показано на рис. 4.1.9. Исходное число жизнеспособных клеток в суспензии составляло порядка $2 \cdot 10^8$ CFU/ml. **Какого-либо существенного различия между показателями смертности** в двух видах контрольных опытов не отмечено. Поэтому, влиянием веществ, которые могут быть произведены при озонировании, на выживание клеток можно пренебречь. Другой эксперимент был выполнен, чтобы исследовать, сохранили ли оставшиеся в живых после обработки озоном клетки резистентность к ампициллину. Это было сделано путем оценки жизнеспособных клеток, культивированных на питательном агаре с добавлением ампициллина. Результат был почти тот же, что и без ампициллина; соответственно устойчивость к ампициллину сохранялась у оставшихся жизнеспособными клеток.

Таким образом, в этом исследовании установлено, что клетки не распадаются при 40-min обработке озоном при условии почти полной стерилизации всех клеток *E. coli*, поскольку отсутствовало какое-либо существенное уменьшение числа клеток после центрифугирования, а извлечение плазмид соответствовало контрольному опыту. Это подтверждено микроскопией (использовался Olympus Normarski Differential Interference Contract Microscope BHS-N): клетки сохранили свою оригинальную форму после 40-min обработке озоном, хотя в большинстве случаев отмечено образование агрегатов [45, 46].

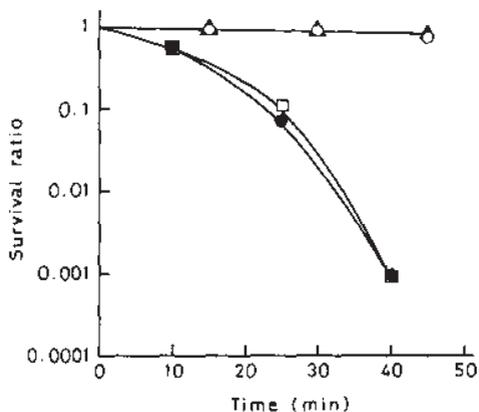


Рис. 4.1.9 ▲, *E. coli* после обработки кислородом без озона;
 ● *E. coli* после обработки озоном, культивированная на питательном агаре без ампициллина; □, *E. coli* после обработки озоном, культивированная на питательном агаре с ампициллином.

Помимо реакции озона с компонентами мембраны клетки, он проникает внутрь и реагирует с цитоплазматическими веществами. Это продемонстрировано преобразованием *ccDNA* в *ocDNA* в этом исследовании, которое наблюдалось даже при слабой обработке озоном. Преобразование *ccDNA in vivo* может происходить идентично таковому *in vitro*.

Предыдущие исследования показали деградацию ДНК плазмиды *in vitro* [42, 43], при этом основой повреждения (тимин, и/или остатки гуанина) в ДНК является ее непосредственное разделение с преобразованием *ccDNA* в *ocDNA*. Результаты этого исследования предполагают, что озон также реагирует с хромосомной ДНК в клетках. Так, как молекулярный размер хромосомной ДНК приблизительно в тысячу раз больше ДНК плазмиды *pBR322*, воздействие озона на первую, вероятно, будет более интенсивным, чем на вторую. Поэтому, по мнению авторов [18], есть все основания предположить, что повреждение ДНК является одним из важных факторов, ответственных за инактивацию клеток озоном. В дополнение к этому, другие факторы, такие как мембрана клеток и эссенциальные ферменты [45-48], могут быть вовлечены в механизм инактивации бактерий. Таким образом, авторы [18] установили повреждение озоном ДНК *in vivo* и обосновали его существенность в механизме инактивации *E. coli*. Вместе с тем, по мнению авторов [18], необходимы

дальнейшие исследования для определения степени вклада индивидуальных факторов в инактивацию.

В работе [49] (1999 г.) исследованы реакции инактивации озоном *E. coli* в отсутствие и в присутствии гуминовой кислоты в непрерывном потоке трубчатого реактора.

Авторы ссылаются на результаты изучения инактивации *E. coli* в предыдущих работах [50-52]. В целом, кинетика инактивации не зависит от рН и совместима с классической моделью Chick-Watson [53,54] согласно уравнению 1:

$$\frac{dn}{dt} = -k_i cN \quad (1)$$

где N – плотность жизнеспособных микроорганизмов;

c – концентрация растворенного молекулярного озона;

t – время от начала реакции; k_i – константа инактивации [52], где k_i :

$$k_i = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) \quad (2)$$

в котором $E_a = 37,100 \text{ J/mol}$ – энергия активации;

$A = 5,37 \times 10^8 \text{ l/(mgs)}$ – фактор частоты;

$R = 8,314 \text{ J/(mol K)}$ – идеальная газовая константа и T – абсолютная температура в К.

Отклонения от уравнения 1, включая кривую инактивации, являются результатом отклонения экспериментальных данных от идеальных условий реактора и возникновения небольших фракций колоний бактерий [53, 54].

Последовательность экспериментальных данных по уравнению 1 показывает, что кинетика инактивации моделируется как гомогенная реакция второго порядка. Вместе с тем, процесс инактивации – более сложное гетерогенное явление, включающее различные этапы перемещения массы и реакции. Дезинфицирующее средство должно воздействовать на поверхность микроорганизма и затем проникнуть в мембрану и цитоплазму. Это перемещение обусловлено реакцией с биомолекулами различных внутриклеточных и внеклеточных структур. Инактивация или потеря жизнеспособности происходят тогда, когда жизненные компоненты получают определенный уровень необратимого повреждения. В связи с этим, важно ответить на вопрос: продолжают ли химические реакции между озоном и биомолекулами после потери жизнеспособности микроорганизма вплоть до исчезновения дезинфицирующего средства или сначала происходит поглощение окислителя биомолекулами.

По мнению авторов [49], несмотря на десятилетия усилий по исследованию различных механизмов, ответственных за инактивацию *E. coli*, они все еще не поняты в достаточной степени. Christensen и Giese (1954) [55] предположили, что бактериальная мембрана является первым участком воздействия озона.

Учитывая это, Scott и Leshner (1963) [24] показали, что озон при воздействии на мембрану клетки изменяет ее проходимость и в конечном счете приводит к утечке ее содержимого в среду. Возникновение утечки подтверждено увеличением концентрации нуклеиновых кислот и белков в среде и уменьшением в клетках. Хотя озон вызвал дезагрегацию нуклеопротеинов в клетках, он не реагировал заметно с нуклеиновыми кислотами до их выхода в среду. Новые доказательства неспособности озона проникнуть в клетки состоят в том, что очень реактивные серогруппы глутатиона в клетках не изменялись, тогда как в среде озон очень быстро реагировал с глутатионом. Позже другие авторы сообщили, что белки и ненасыщенные липиды в мембране клетки - мишень для озона (Pruog и соавт., 1983) [56] и утечка содержимого клетки в среду и, в конечном счете, распад клетки наблюдаются после продолжения озонирования (Scott, 1975; Hamelin и соавт., 1978) [57, 58]. Hamelin и соавт. (1978) [32] предположили, что озон вызывает дискретные разрывы ДНК *E. coli* и, в конечном счете, потерю жизнеспособности микроорганизма. Помимо этих повреждений, озон может вызвать повреждение ДНК за счет дегградации ДНК-полимеразы (Hamelin и другие. 1977) [31].

Perrich и соавт. (1975) [50] заключили, что распад клетки не является главным механизмом инактивации *E. coli* и что клетки оставались морфологически неповрежденными после инактивации. В предыдущей проанализированной работе [18] Ishizaki и соавт. (1987) пришли к заключению, что озон воздействует на ДНК плазмиды в цитоплазме клетки *E. coli*, преобразуя закрытую ДНК в открытую. Это наблюдение показало, что озон в состоянии проникать через мембрану клетки и реагировать с ее компонентами. Авторы предположили, чтобы повреждение хромосомной ДНК может быть одной из причин инактивации *E. coli* озоном. Hamelin и Chung (1974) [58] изучили способность озона вызывать мутации у *E. coli* и установили, что озон проникает в клетку и генетически изменяет цитоплазматические компоненты до разрушения мембраны. Авторы решили, что инактивация является функцией количества озона, поступившего в бактерию, поэтому ниже определенной пороговой концентрации озон не оказывает значимого влияния на выживание бактерий.

Инактивация *E. coli* в природной воде и сточных водах представляет дополнительную степень сложности, поскольку озон будет также

реагировать с суспендированными коллоидными и взвешенными частицами, что оказывает существенное влияние на инактивацию *E. coli*. Это требует одновременного рассмотрения всех реакций с учетом концентрации растворенного озона и его участия в процессе инактивации.

Главная цель этого исследования [49] состояла в моделировании реакции инактивации *E. coli* озоном в присутствии гуминовой кислоты, как фракции природного органического вещества природных вод, и оценке степени трансформации структуры *E. coli* при различных уровнях воздействия озона.

Экспериментальные результаты оценки полной кинетики распада озона в присутствии *E. coli*, представлены на рис. 4.1.10.

Моделирование показало, что очевидное разложение озона может быть представлено смешанным выражением второго порядка

$$\frac{dx}{dt} = -k_x cx \quad (3)$$

где k_x – константа второго порядка в $l/mol \cdot s$, и x – озонопоглощаемость компонентов клеток *E. coli* в $mg/l O_3$, определяемая как:

$$x = c - c_0 + x_0 \quad (4)$$

в котором x_0 – исходная озонопоглощаемость как количество, пропорциональное начальному числу жизнеспособных микроорганизмов N_0 или $x_0 = \dot{\alpha}_0 \times N_0$. $\dot{\alpha}_0$ может быть выражено в $mg O_3$ озона на колоний образующую единицу (mgO_3/CFU) или озонопоглощаемость одной клетки *E. coli*. Это предполагает, что каждая бактериальная колония развивается из индивидуальной клетки-бактерии.

Интеграция уравнения 3 с учетом уравнения 4 приводит к следующему уравнению (5):

$$c = \frac{c_0(c_0 - x_0 c n_0)}{c_0 - x_0 n_0 \exp(-k_{ov}(c_0 - x_0 n_0)t)} \quad (5)$$

Уравнение 5 использовалось для соответствия всего набору данных, представленных на рис. 4.1.10, методу квадратичного отклонения. Вследствие этого кривые представлены непрерывными линиями. Полученные параметры составляют для $k_x = 1,72 \pm 0,15 l/mol \cdot s$ и $\dot{\alpha}_0 = 1,29 \pm 0,05 \cdot 10^{-11} mgO_3/CFU$.

Как изображено на рис. 4.1.10, кинетическая модель второго порядка соответствовала экспериментальным данным при $t < 15 s$. Хотя наблюдались отклонения для $t > 15 s$, этим можно пренебречь, поскольку

реакция инактивации *E. coli* проходит намного быстрее ($k_i/k_x \sim 80$) и фактически заканчивается до этого срока для всего диапазона экспериментальных исследованных условий. Исследования общего органического углерода (ТОС) инактивированных клеток суспензии *E. coli* с исходным уровнем в пределах $6,8 - 11 \cdot 10^9$ CFU/l показали, что его среднее содержание в каждой клетке составляло приблизительно $\text{TOC}_0/N_0 = 2,56 \pm 0,10 \cdot 10^{-10}$ mgC/CFU.

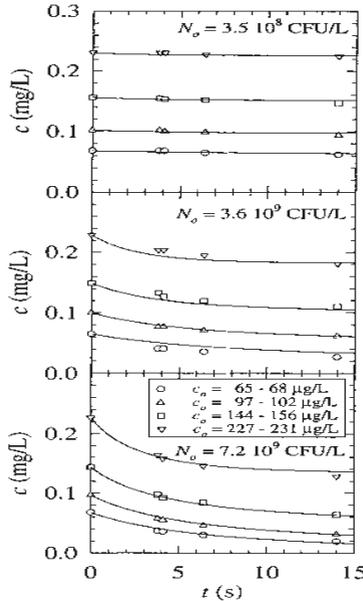


Рис. 4.1.10. Полный распад озона в присутствии первоначально жизнеспособной популяции *E. coli* при различных исходных концентрациях озона и микроорганизма

Озонопоглощаемость на массу ТОС выражено новым параметром $\beta_0 = \dot{\alpha}_0 \cdot N_0 / \text{TOC}_0 = 0,0504 \pm 0,0040$ mgO₃/mgC. Параметры озонопоглощаемости могут быть также выражены на молекулярной основе как $\dot{\alpha}_0 = 1,62 \cdot 10^8$ молекул O₃/CFU и $\beta_0 = 0,0126$ молекулы O₃/C атом *E. coli*. Интересно, что уровень $\dot{\alpha}_0$ для озона согласуется с уровнем $7 \cdot 10^7$ молекул O₃/CFU для йодопоглощаемости *E. coli*, о чем сообщено Scott и Leshner (1963) [24].

Эти авторы предположили, чтобы поглощаемость окислителя определяется наличием углерода в ненасыщенных жирных кислотах в мембране клеток. Если предположить, что каждая молекула озона реагирует

с одним атомом углерода, то углеродная фракция *E. coli* составила бы приблизительно 2,52 % содержания общего органического углерода.

Согласно уравнению 3, уровень распада озона в присутствии *E. coli* может быть представлен правилом второго порядка. Вероятность этого предположения была проверена в экспериментах с первоначально жизнеспособными и разрушенными ультразвуком клетками *E. coli* (рис. 4.1.11). Несколько более быстрый уровень распада озона наблюдался во втором случае. Как и ожидалось, предположения по уравнению 3, где $k_x = 1,72 \pm 0,15 \text{ l/mol}\cdot\text{s}$ и $\dot{\alpha}_o = 1,29 \pm 0,05 \cdot 10^{-11} \text{ mgO}_3/\text{CFU}$ (непрерывные линии), были ближе к данным, соответствующим первоначально жизнеспособным клеткам. Небольшие наблюдаемые отклонения, возможно, следовали из комбинации аналитических и экспериментальных погрешностей. Чтобы сравнить эти результаты, уравнение 3 использовалось для соответствия набора данных для первоначально живой и разрушенной ультразвуком клетки (пунктирные линии). Полученные параметры были $k_x = 1,33 \pm 0,14 \text{ l/mol}\cdot\text{s}$ и $\dot{\alpha}_o = 1,66 \pm 0,07 \cdot 10^{-11} \text{ mgO}_3/\text{CFU}$ для первоначально живых клеток и $k_x = 2,38 \pm 0,36 \text{ l/mol}\cdot\text{s}$ и $\dot{\alpha}_o = 1,77 \pm 0,08 \cdot 10^{-11} \text{ mgO}_3/\text{CFU}$ для разрушенных ультразвуком клеток. Факт, что уровни $\dot{\alpha}_o$ сопоставимы, подтверждается тем, что финальная озонопоглощаемость была практически идентичной для обеих суспензий с незначительными различиями на уровне погрешности опыта.

Различные уровни k_x показывают, что процесс инактивации соответствовал механизмам дезинфекции, основанным на реакциях с компонентами мембраны (Scott и Leshner, 1963; Christensen и Giese, 1954) [24, 55].

Соответственно, более быстрый уровень реакции для разрушенных ультразвуком клеток свидетельствует, что молекулы озона реагировали быстрее с компонентами клетки. Следовательно, уравнение 5 следует интерпретировать как модель для количественного анализа, но не обязательно как точное представление более сложных путей перемещения массы и гетерогенных реакций, имеющих место во время процесса инактивации. Экспериментальные результаты, полученные при исследовании распада озона в присутствии гуминовой кислоты при $\tau < 15 \text{ s}$, представлены на рис. 4.1.12. Уравнения 3-5 использовались для соответствия всему набору данных при $x_o = \dot{\alpha}_o N_o$ для $y_o = \beta_o \text{ TOC}_o$. y_o – быстро реагирующая часть TOC также выражена в mg/l O_3 , y_o – исходный уровень для y . TOC_o – начальная концентрация гуминовой кислоты в растворе и β_o – начальная озонопоглощаемость гуминовой кислоты в mgO_3/mgC . Полученные кривые соответствовали экспериментальным данным, представленным на рис. 4.1.12. Коэффициенты, соответствующие этим параметрам, составляли для $k_y = 3,20 \pm 0,16 \text{ l/mol}\cdot\text{s}$ и $\dot{\alpha}_o =$

$0,324 \pm 0,005 \text{ mgO}_3/\text{mgC}$. Следует сказать, что в подобных наблюдениях для реакции с *E. coli* модель отклонялась от экспериментальных данных для $t > 15 \text{ s}$, возможно, из-за реакций озона с медленно реагирующими органическими молекулами и радикалами. Как бы то ни было, более длительные экспозиции вообще не относились к процессу инактивации при данных экспериментальных условиях.

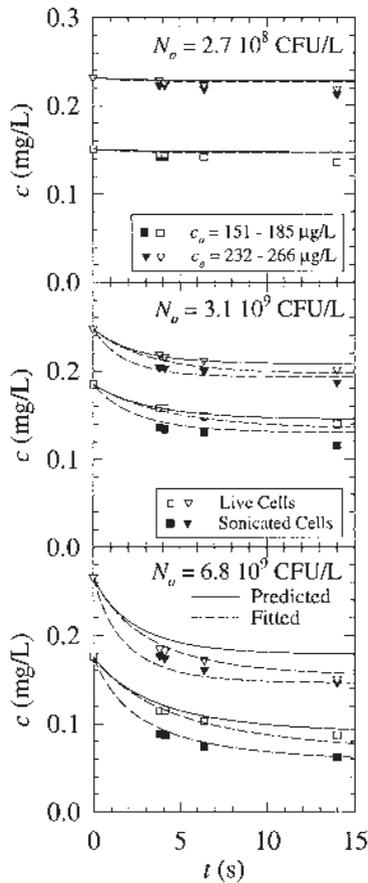


Рис. 4.1.11. Полный распад озона в присутствии первоначально жизнеспособных и разрушенных ультразвуком клеток *E. coli* при различных исходных концентрациях озона и микроорганизма

Распад растворенного озона при одновременном присутствии *E. coli* и гуминовой кислоты, может быть представлен уравнениями 6-8:

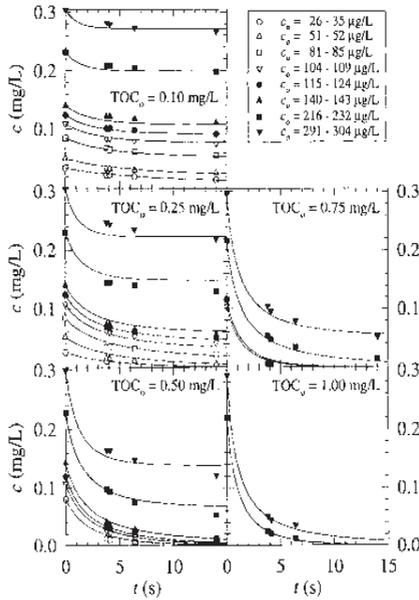


Рис. 4.1.12. Полный распад озона в присутствии гуминовых кислот для различных начальных концентраций озона и микроорганизма

$$\frac{dc}{dt} = -k_x cx = -k_y cy \quad (6)$$

$$\frac{dy}{dt} = -k_y cy \quad (7)$$

$$\frac{dx}{dt} = -c_x cx \quad (8)$$

Эти уравнения представляют систему независимых нелинейных уравнений, отражающих полный массовый баланс $(c_0 - x_0 - y_0) = (c - x - y)$, который может использоваться для замены любым из этих трех уравнений. Нелинейность системы уравнений потребовала решения подходом аппроксимирования. Конечный дифференцированный подход использовался с временным интервалом $\Delta t = 0,003$ s или в общей сложности 500 временных элементов в пределах диапазона 0 – 15 s. Эмпирический подход показал, что фактически прогноз был ниже уровня Δt . Рис. 4.1.13 представляет сравнение моделируемого прогноза и экспериментальных данных при $N_0 = 1,3 \times 10^{10}$ CFU/l, $TOC_0 = 0 - 0,50$ mg/l и $c_0 = 206-374$ mg/l.

Модельные параметры соответствовали данным на рис. 4.1.10 и 4.1.12 (то есть $k_x = 1,72 \pm 0,15 \text{ l/mol}\cdot\text{s}$, $k_y = 3,20 \text{ l/mol}\cdot\text{s}$, $\dot{\alpha}_0 = 1,29 \pm 0,05 \times 10^{-11} \text{ mgO}_3/\text{CFU}$ и $c_0 = 0,324 \text{ mgO}_3/\text{mgC}$). Как показано на рис. 4.1.13, модель удовлетворительно прогнозирует данные в пределах диапазона экспериментальных исследованных условий.

Инактивация *E. coli* озонем в присутствии природного органического вещества, например гуминовой кислоты, может быть представлена интегрированной формулой 9

$$\ln\left(\frac{N}{N_0}\right) = k_i \int_0^{\tau} c dt \quad (9)$$

где c изменяется со временем согласно уравнениям 6-8.

Результаты экспериментов по инактивации, выполненных с растворами, содержащими гуминовую кислоту при концентрациях $\text{TOC}_0 = 0,1-0,5 \text{ mg/l}$, показаны на рис. 4.1.14.

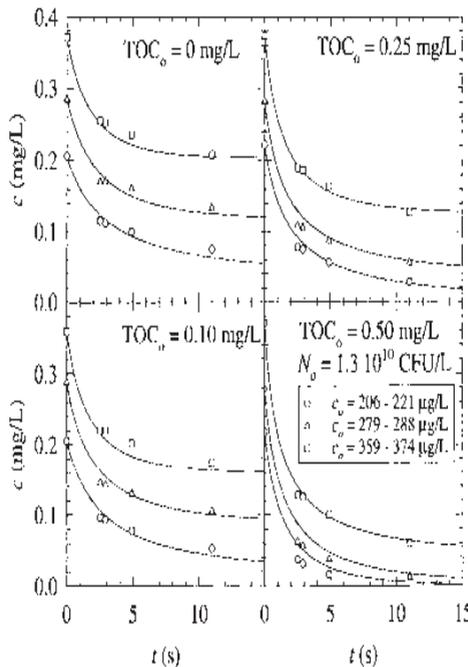


Рис. 4.1.13. Полный распад озона при одновременном присутствии первоначально жизнеспособных *E. coli* и гуминовых кислот при различных исходных концентрациях озона, общего органического углерода и микроорганизмов

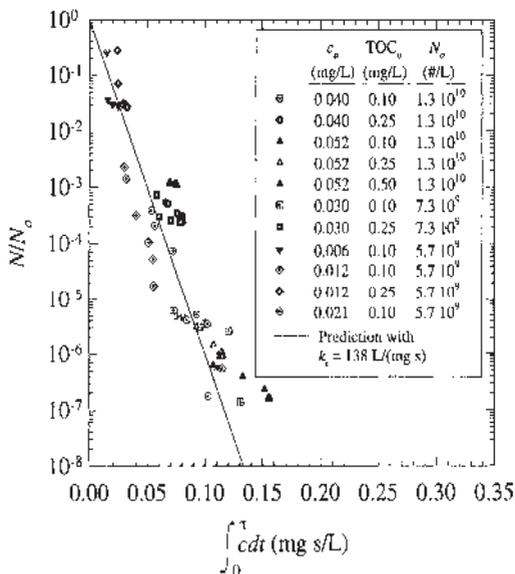


Рис. 4.1.14. Инактивация *E. coli* озоном в присутствии гуминовых кислот при различных концентрациях озона, общего органического углерода и микроорганизмов

Линия, соответствующая уровню инактивации, является константой $k_1 = 138 \text{ l/mol}\cdot\text{s}$ в отсутствие гуминовой кислоты по уравнению 2 для экспериментальной температуры 20°C [52]. В целом, наблюдалось удовлетворительное согласование между данными инактивации в присутствии гуминовой кислоты и линией, соответствующей отсутствию природного органического вещества.

Отношения кинетики инактивации и кинетики реакции между молекулярным озоном и быстро реагирующей частью клетки *E. coli* могут быть установлены уравнением 10:

$$\left(\frac{n}{n_0}\right) = \left(\frac{x}{x_0}\right)^{k/k_x} \quad (10)$$

которое было получено путем комбинации уравнений 9 и 3. Уровни корреляции между N/N_0 и x/x_0 согласно уравнению 10 представлены в табл. 4.1.7 совместно с прогнозируемым воздействием озона.

Потеря приблизительно 2,8 % быстро реагирующих компонентов *E. coli* соответствовала 99%-ой инактивации этого микроорганизма к тому времени, когда 25 % быстро реагирующих групп взаимодействовали

с молекулярным озоном. Фактически все присутствующие микроорганизмы в растворах, проверенных в этом исследовании ($N_0 \sim 10^{10}$ CFU/l), были инактивированы.

Микрофотограммы, представленные на рис. 4.1.15, получены методом трансмиссивной электронной микроскопии (ТЕМ). Исходная концентрация озона, интегрированный продукт концентрации озона и времени контакта для образцов, исследованных ТЕМ, и соотношение экспериментальных и модельных данных представлены в табл. 4.1.8.

Контрольные образцы, не обработанные озоном, показаны на фото А. Фото В представляет образец, который обработан озоном с начальной концентрацией 9 $\mu\text{g/l}$ в течение 30 с. Согласно описанной ранее модели инактивация составляла порядка 99,999 %, вместе с тем, нежизнеспособные бактерии не отличались заметно от контроля. На фото С представлен образец, обработанный озоном при 0,175 mg-s/l . По существу все бактерии при этих условиях были инактивированы. По сравнению с двумя предыдущими фото, наблюдались определенные изменения в бактериальных клетках в виде очевидной преципитации ДНК.

Таблица 4.1.7

Модельное выживание микроорганизмов, исходный озон – остаточный озон и соответствующий интегрированный продукт концентрации озона и времени контакта

N/N_0	x/x_0	$f^r \cdot c \cdot dt$
1	1	0
0,5	0,991	0,00502
10^{-1}	0,972	0,0167
10^{-2}	0,944	0,0334
10^{-3}	0,917	0,0501
10^{-4}	0,891	0,0667
10^{-5}	0,866	0,0834
10^{-6}	0,841	0,100
10^{-7}	0,818	0,117
10^{-8}	0,794	0,133
10^{-9}	0,772	0,150
10^{-10}	0,750	0,167

О подобном эффекте сообщали Woldringh и Nanninga (1985) [59], когда обнаружили разрушение вторичной структуры ДНК-связывающих белков. Вероятно, в этом случае озон проник в клетку, что вызвало

дезинтеграцию белков или многочисленных ферментов, ответственных за поддержание обычной структуры ДНК в нуклеотиде. Другое главное отличие между фото С и двумя предыдущими состояло в сморщивании мембраны бактерий. Фото D иллюстрирует бактериальные клетки после моделируемого воздействия озоном 4,21 мг-с/л.

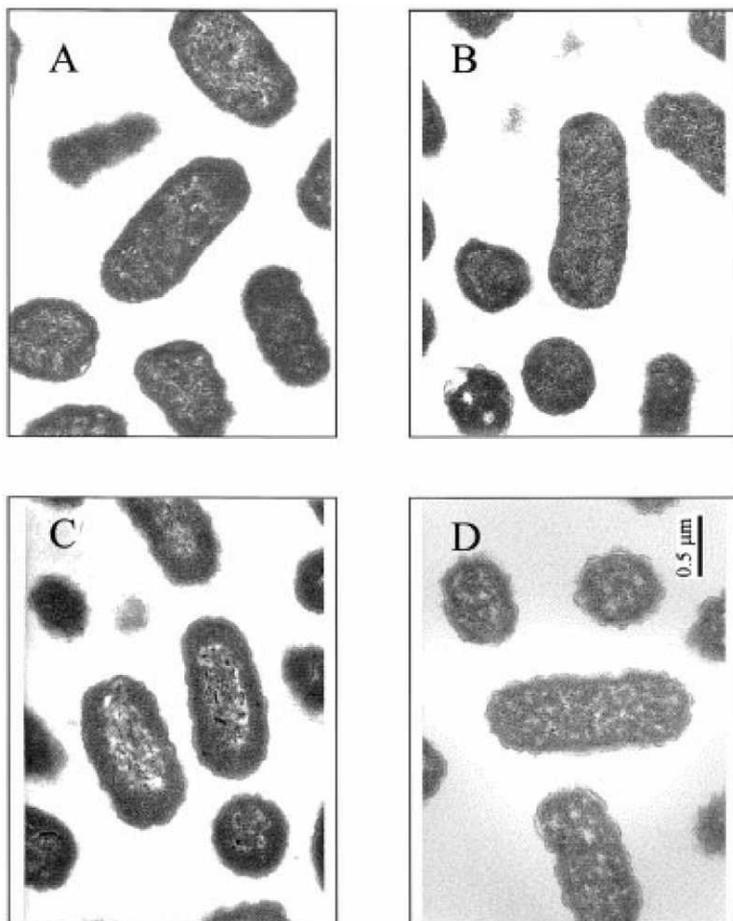


Рис. 4.1.15. Трансмиссивные электронные микрофотографии клеток *E. coli* после воздействия озоном в непрерывной струе трубчатого реактора. Эксплуатационные режимы: pH 7,2; температура = 20 °C; $N_0 = 5 \times 10^9$ CFU/l; $\tau = 30$ s; $c_0 = 0$ μg/l (A), 9 μg/l (B), 18 μg/l (C) и 196 μg/l (D)

Таблица 4.1.8

Исходная концентрация озона, интегрированный продукт концентрации озона и времени контакта для образцов, исследованных ТЕМ, и соотношение экспериментальных и модельных данных

Микрофото- граммы на рис. 4.1.15	c_o (mg/l)	$f_o^{\tau} c dt$ mg-s/l ^a	N/N _o		x/x _o
			наблюдае- мый	модельный	
А	0	0	1	1	1
В	9	0,0826	~10 ⁻⁵	1,12 x 10 ⁻⁵	0,868
С	18	0,175	~10 ⁻⁷	3,25 x 10 ⁻¹¹	0,740
Д	197	4,21	<10 ^{-7b}	~10 ⁻²⁵	0,00071
Е ^c	1000	28,1	<10 ^{-7b}	- ^b	10 ⁻²¹

^a Время контакта $\tau = 30$ s для всех экспериментов.

^b Нет формирования колоний.

^c Не показано на рис. 4.1.15. Образец не мог быть получен центрифугированием.

Наблюдается низкая плотность содержимого ядра по сравнению с предыдущими образцами, разрушение мембраны клеток и самих бактерий на отдельные фрагменты. Распад клеток подтверждается фактом, что образец не мог быть получен центрифугированием при параметре 28,1 mg-s/l (образец Е в табл. 4.1.8).

Уровень инактивации *E. coli* озоном более интенсивный по сравнению с патогенами, например, *Cryptosporidium parvum*. Согласно данным Rennecker и соавт, 1999 [60], для инактивации *C. parvum* oocysts, по сравнению с *E. coli*, требуются в несколько тысяч раз большие дозы озона. Следовательно, кинетика инактивации *E. coli*, изученная в этой работе, неприменима для стандартных условий обработки питьевой воды, но более уместна для обеззараживания сточных вод (Blank и соавт., 1993) [61]. Например, наблюдаемый уровень инактивации для фекальных колиформ составил 99 99,99 %, или N/No = 0,0001-0,01 (Blank и соавт., 1993) [61].

Таким образом, установлено [49], что инактивация озоном *E. coli* в присутствии гуминовой кислоты, как природного органического вещества, происходила медленнее, чем в ее отсутствии из-за более быстрого распада растворенного озона и обусловленного этим более низкого его воздействия на клетки *E. coli*. Однако, константа инактивации второго порядка была приблизительно такой же и в присутствии, и в отсутствии гуминовой кислоты. Это подтверждает, что молекулярный озон,

а не радикалы ответственны за инактивацию. Реакция между озоном и органическим веществом клеток *E. coli* была медленнее, чем при инаktivация *E. coli*. Только 25 % исходной озонопоглощаемости были использованы к тому времени, когда фактически все присутствующие микроорганизмы были инаktivированы. Трансмиссивная электронная микроскопия показала отсутствие значимых изменений в структуре клеток *E. coli*, пока большинство бактерий в образце не потеряло жизнеспособность.

В статье [62] представлены результаты оценки биоцидной эффективности озонированной воды в реакторе рециркуляции по отношению к четырем грамположительным и четырем грамотрицательным бактериям. Установлена мгновенная инаktivация на более чем 5 log для *Salmonella typhimurium* и *E. coli* с или без добавления 20 ppm растворенного крахмала (SS). Различия в уровнях инаktivации грамотрицательных бактерий *S. typhimurium*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Yersinia enterocolitica* были недостоверны ($P > 0,05$), тогда как для грамположительных (*Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) бактерий достоверны ($P < 0,05$). В присутствии органических веществ показатели инаktivации *S. aureus* по сравнению с *L. monocytogenes* и *E. coli* по сравнению с *S. typhimurium* были недостоверны ($P > 0,05$) при добавлении SS, но достоверны ($P < 0,05$) при добавлении 20 ppm бычьего сывороточного альбумина (BSA).

Антибактериальные эффекты озона против двух грамположительных бактерий *S. aureus* и *L. monocytogenes* показаны на рис. 4.1.16.

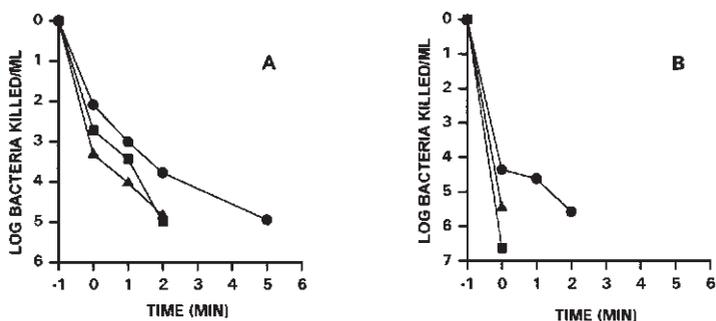


Рис. 4.1.16. Инаktivация жизнеспособных бактерий *S. aureus* (А) и *L. monocytogenes* (В) озоном в деионизированной воде, не содержащей добавленного органического вещества (▲) или 20 ppm SS (■) или BSA (●). Средние данные для по крайней мере двух повторов в экспериментах

Установлено отсутствие достоверных различий ($P > 0,05$) между уровнями инактивации в деионизированной воде с и без крахмала SS, крахмала и альбумина BSA. Однако, различия были достоверны при сравнении уровней инактивации в воде без органического вещества и воды, содержащей BSA ($P < 0,05$). Установлено более чем 4 log мгновенной инактивации *L. monocytogenes* в отсутствие или присутствии добавленного органического вещества (рис. 4.1.16А).

Уровни инактивации озоном *S. typhimurium* и *E. coli* в деионизированной воде с и без добавленного органического вещества показаны на рис. 4.1.17. Какое-либо существенное различие ($P > 0,05$) между озонированной водой с и без SS для этих двух грамотрицательных бактерий не наблюдалось. Однако, для каждой бактерии показатели полной инактивации достоверно отличались от таковых ($P < 0,05$) для воды, содержащей BSA. Более чем 5 log мгновенной инактивации *S. typhimurium* и *E. coli* установлены для озонированной воды с или без SS, тогда как эквивалентные уровни инактивации для *S. typhimurium* и *E. coli* в присутствии BSA достигались только после 2 и 5 мин воздействия, соответственно (рис. 4.1.17).

Обобщение антибактериальных эффектов озона в деионизированной воде без добавления органического вещества против восьми штаммов бактерий представлены на рис. 4.1.18.

Относительно уровней инактивации четырех грамотрицательных бактерий следует отметить отсутствие существенных различий ($P > 0,05$) (рис. 4.1.18А). Среди грамположительных бактерий различий в уровнях инактивации для *S. aureus* и *E. faecalis* не наблюдалось ($P > 0,05$); тогда как для *L. monocytogenes* по сравнению со *S. aureus* и *E. faecalis* отмечено ($P < 0,05$) (рис. 4.1.18В). Для *L. monocytogenes* установлена мгновенная инактивация на более чем 5 log, а для *S. aureus*, *E. faecalis* и *B. cereus* на 3 log (рис. 4.1.18В). В целом, за исключением мгновенного эффекта, большинство бактерий показало двухфазные кривые инактивации, тем большие, чем меньшей была эффективность в присутствии BSA (рис. 4.1.16 – 4.1.18).

Исследована эффективность инактивации *E. coli* озоном в дозах 0,91–4,72 mg/l в зависимости от концентрации и экспозиции [63]. Уровень дезинфекции соответствовал кинетике псевдопервого порядка в зависимости от числа микробов и исходной концентрации озона. Оценено влияние pH и температуры на уровни инактивации: инактивация ускорялась при более низком pH. Молекулярный озон сочтен более эффективным при дезинфекции, чем гидроксильные радикалы. Обсуждены два механизма антибактериальной активности озона в водных средах по данным литературы. Предложен основанный на экспериментальных результатах вероятный механизм инактивации.

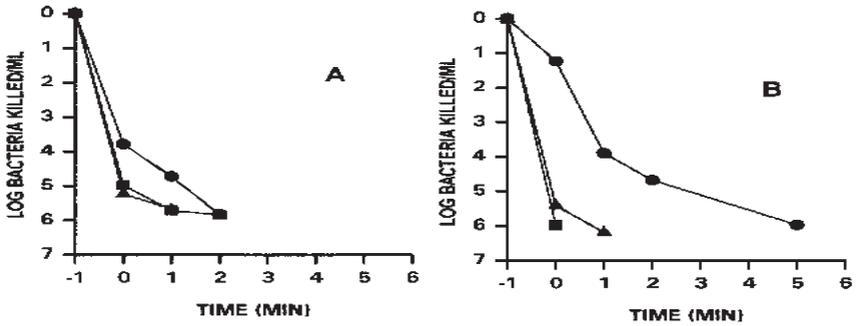


Рис. 4.1.17. Инактивация жизнеспособных бактерий *S. typhimurium* (A) и *E. coli* (B) озоном в деионизированной воде, не содержащей добавленного органического вещества (▲) или 20 ppm SS (■) или BSA (●). Средние данные для по крайней мере двух повторов в экспериментах

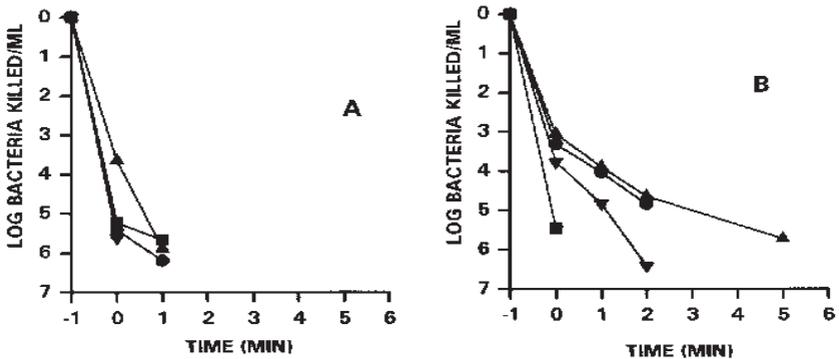


Рис. 4.1.18. Антибактериальная эффективность озона в деионизированной воде по отношению к грамотрицательным бактериям *E. coli* (●), *S. typhimurium* (■), *P. aeruginosa* (▲) и *Y. enterocolitica* (▼) (A) и грамположительным бактериям *S. aureus* (●), *L. monocytogenes* (■), *B. cereus* (▲) и *E. faecalis* (▼) (B). Средние данные для по крайней мере двух повторов в экспериментах

В предварительных экспериментах при $25 \pm 2^\circ \text{C}$, уровне *E. coli* = 10^8 CFU/ml и воздействии кислорода с расходом 2 л/мин в течение 20 мин не установлено заметного изменения числа *E. coli*. Это подтверждает, что в отсутствие озона дезинфекция кислородом незначительна.

Эксперименты по инактивации *E. coli* проводились с избыточными концентрациями озона ($> 10^{18}$ молекул озона в мл) и концентрацией

микроорганизма $\sim 10^8$ CFU/ml. Инактивацию бактерий определяли как функция времени озонирования.

Исследовано влияние исходной популяции бактерий на начальную кинетику инактивации озоном. Использованы два раствора суточной культуры *E. coli* ($2,1 \times 10^8$ и $8,1 \cdot 10^8$ CFU/ml) при расходе озона 2 l/min, концентрации озона 0,906 mg/l и температуре $25 \pm 2^\circ\text{C}$ с оценкой изменений CFU от времени озонирования. Два log CFU от времени представляли собой прямые линии с подобными градиентами, указывающими, что реакция инактивации следует за кинетикой первого порядка относительно популяции бактерий. Соответствующие константы реакции псевдопервого порядка составляли 1,81 min и 1,85 min соответственно.

Эксперименты по инактивации повторили, контролируя кинетику инактивации с различными концентрациями озона в водном растворе, содержащем бактерии в фиксированном состоянии. В табл. 4.1.9 приведены кинетические данные при различной исходной концентрации озона. Рис. 4.1.19, иллюстрирует уровень популяции *E. coli*, (измеренный как log CFU/ml) против времени воздействия различных начальных концентраций озона. Все зависимости выражались прямыми линиями.

Таблица 4.1.9

Кинетика инактивации *E. coli**

Время, min	Концентрация озона, mg/l				
	0,91	1,78	2,78	3,44	4,72
	log CFU/ml				
0	8,2792	8,2881	8,2345	8,0881	8,1303
1	7,7753	7,5902	7,4960	7,1266	6,3890
2	7,0192	6,7260	6,5090	6,1010	5,2160
3	6,2771	5,7610	5,5600	4,6021	4,0512
4	5,6909	4,9031	4,5920	3,8865	3,0000
5	5,2000	4,0607	3,7080	2,9890	
6	4,6989	3,4920	2,7780	2,4000	

*n = 2 и коэффициент относительной вариативности <5%, *E. coli* = 10^8 CFU/ml; расход = 2 l/min; температура = $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Как видно из представленных данных, константы инактивации увеличивались пропорционально росту концентрации озона от 0,91 до 4,72 mg/l и времени озонирования от 1,42 до 2,90 min соответственно. Озон является эффективным средством инактивации бактерий *E. coli*. Типичный эксперимент с концентрацией озона 0,906 mg/l показал 4 log

сокращения за 6 min при исходной популяции 10^8 CFU/ml, тогда как при дозе 4,724 mg/l - 5 log за 4 min. Подобный эксперименты были повторены при расходах 3, 4, 5 и 6 l/min.

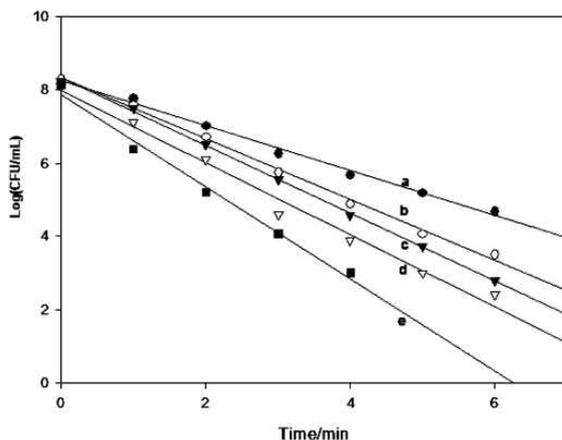


Рис. 4.1.19. Зависимость эффективности инактивации *E. coli* (log CFU/ml) от экспозиции воздействия озоном; расход 2 l/min; озон, mg/l: a - 0,91, b - 1,78, c - 2,78 d - 3,44, e - 4,72

Korol и соавт. [64], сравнивая активность озона и хлора по отношению к микроорганизмам, установили, что озон в концентрации 0,35 mg/l произвел сокращение > 5 log популяции порядка 10^6 CFU/ml *E. coli* и *P. aeruginosa* [15]. При дозе хлора 0,50 mg/l сокращение было намного меньшим для тех же самых микроорганизмов, в то время как эффект хлора в дозе 2 mg/l был подобен обработке озоном.

Средний уровень константы реакции второго порядка для этих пяти расходов составил $0,49 \pm 0,11 \cdot 10^5$ l/mol·min. Небольшое увеличение константы наблюдалось с увеличением расхода, что обусловлено, возможно относительно низкими концентрациями озона с увеличением расхода (рис. 4.1.20). Растворенный озон более эффективен в реакции с микроорганизмами, а газообразный (молекулярный) озон менее реакционно способен из-за меньшего количества времени пребывания в растворе. Таким образом, возможно, при более высоких концентрациях озон не участвует пропорционально в процессах инактивации из-за его ограниченной растворимости в воде и минимального взаимодействия газообразного озона с микроорганизмом.

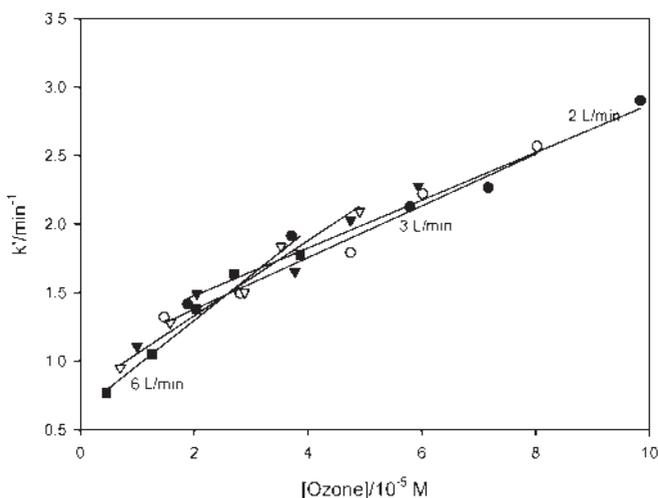


Рис. 4.1.20. Зависимость констант k' от содержания озона при различных расходах

Как известно, диапазон температур для роста большинства бактерий колеблется от 5 °С до 60 °С. Озон устойчив при более низких и разлагается при более высоких температурах. Эксперименты по влиянию температуры на уровни инактивации проводились при температурах 8 °С и 25 °С, так как минимум и максимум температуры роста для *E. coli* составляет ~ 4 °С и ~ 50 °С соответственно [65]. В экспериментах использован уровень контаминации *E. coli* = 10⁸ CFU/ml, расход 2 l/min, озон = 0,906 mg/l при уровне k' 1,98 и 1,80 l/mol·min при 8 °С и 25 °С соответственно. Установлено, что температура оказывала незначительное влияние на уровень инактивации. Это согласуется в данными Киптап [66], согласно которым увеличение температуры от 0 до 30 °С значительно уменьшает растворимость озона и увеличивает уровень его распада, но это не оказывает какого – либо влияния на уровень инактивации *E. coli*, то есть этот процесс не зависит от температуры.

Известно, что уровни pH природных вод колеблются от 6,5 до 9,0. Бактерии могут быть классифицированы по диапазонам pH, в которых они растут. pH внутри клеток близок к нейтральному, чувствительность организма к колебаниям pH отражает способность мембранных помп поддерживать этот pH. Большинство бактерий растет при pH 5,0 и 8,0. Для *E. coli* минимальный pH составляет 4,4, а максимальный 9,0 [66].

Установлено, что рН в различном диапазоне не оказывает влияния на инактивацию *E. coli*, поскольку число бактериальных клеток было постоянным после воздействия в кислой или основной среде. Константы реакции псевдопервого порядка при рН 4,93, 5,93, 6,96, 7,93 и 9,16 (*E. coli* = 10⁸ CFU/ml, озон = 0,906 mg/l, расход = 2 l/min, 25 ± 2°C) представлены в табл. 4.1.10.

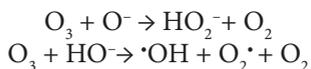
Анализ этих данных показывает, что с увеличением рН от 4,93 до 9,16 константы уменьшились примерно до 56 %, что указывает на уменьшение уровня дезинфекции. Для инактивации *E. coli* при рН 9,16 требовалось удвоение времени озонирования по сравнению с рН 4,93. Это свидетельствует, что озон более эффективен при инактивации *E. coli* при низких уровнях рН, когда преобладает молекулярный озон.

Таблица 4.1.10
Влияние рН на инактивацию озонем *E. coli**

<i>рН</i>	<i>k'</i> , l/mol·min	<i>полураспад/min</i>
4,93	2,209	0,31
5,93	2,049	0,34
6,96	1,396	0,49
7,93	1,164	0,59
9,16	1,126	0,62

Примечание: n = 2; **E. coli* = 10⁸ CFU/ml; озон = 0,906 mg/l; расход = 2 l/min; температура = 25 ± 2°C.

Кинетика инактивации *E. coli* была намного быстрее в кислой, чем в основной среде. Причина этого, возможно, в реакции озона с микробами в водном растворе двумя главными путями. Один - непосредственно молекулярным озонем, который является преобладающим при низком рН, второй – за счет косвенной реакции радикалов, которые сформировались при распаде озона при высоком рН.



Радикалы, произведенные позже, могут вызвать другие реакции с озонем с вторичным формированием большего количества гидроксильных радикалов. Это исследование показывает, что свободные радикалы, сформированные вследствие распада озона, менее эффективны для микробной инактивации, чем молекулярный озон. Возможно, это

объясняется тем, что акцепторы гидроксильных радикалов, например ионы бикарбоната в микробных клетках, могут подавить реакцию свободных радикалов, или наличием фермента каталазы, который контролирует свободные радикалы [67]. Это также позволяет предположить, что факторы ускорения распада озона нежелательны для инактивации, тогда как в кислой среде преобладает молекулярный озон и, поэтому, инактивация более эффективна.

Исходя из вышеизложенного, инактивацию можно выразить следующей формулой:

$$\text{Норма инактивации} = \{k_1 [\text{O}_3] + k_2 [\cdot\text{OH}]\} [M],$$

где $[M]$ представляет микроорганизм, k_1 и k_2 - константы для инактивации микроорганизма молекулярным озоном и гидроксильным радикалом, соответственно. С концентрацией озона в избытке реакция может быть выражена как норма $= k' [M]$, где k' представляет константу псевдопервого порядка и $k' = \{k_1 [\text{O}_3] + k_2 [\cdot\text{OH}]\}$. Концентрации молекулярного озона и $\cdot\text{OH}$ - радикалов являются функцией pH. Это принято для упрощения механизма реакции с учетом того, что реакционная способность растворенного кислорода и газообразного озона к микроорганизму неравнозначны. Возможно, растворенный озон будет более эффективным при инактивации, чем газообразный озон из-за его более длительного времени пребывания в растворе. Распределение озона между водной и газообразной фазами является очевидной функцией полной концентрации озона с устойчивым состоянием между ними.

По мнению авторов [63], механизм бактерицидного действия озона состоит в следующем.

Эффективность дезинфектанта пропорциональна его способности окислять биологические молекулы и проникать через мембрану клетки. Хотя известные дезинфицирующие средства (HOCl , ClO_2 , $\cdot\text{OH}$ и O_3) в определенной им присущей степени эффективны при инактивации микроорганизмов, механизмы их воздействия существенно отличаются, что определяет преимущества одного дезинфектанта перед другим. Например инактивация спор *B. subtilis* озоном, хлором и гидроксильными радикалами объясняется окислением или разрывом мембраны клетки с последовательным ее распадом, в то время как гипохлорит и диоксид хлора сначала проникают в клетку и затем воздействуют на клеточную активность, поэтому для них требуется больше времени для дезинфекции [68].

Озон разрушает микроорганизмы путем прогрессирующего окисления витальных клеточных компонентов. Поверхность бактериальной клетки рассматривается как первичная цель озонирования. Предложены два главных механизма инактивации: первый - путем

окисления сульфгидрильных групп и аминокислот ферментов, пептидов и белков до более коротких пептидов. Второй - вследствие окисления полиненасыщенных жирных кислот до кислых пероксидов [70]. Деградация озоном ненасыщенных липидов мембраны клетки приводит к ее разрушению и последующей диффузии клеточного содержимого. Двойные связи ненасыщенных липидов особенно уязвимы для воздействия озона. У грамотрицательных бактерий липопротеин и липополисахариды являются первыми участками деструкции, что приводит к увеличению проницаемости клетки и, в конечном счете, к ее распаду. Озон вызывает прогрессирующее окисление белков цитоплазмы, вызывая быстрый лизис клетки. Инактивация может также произойти из-за мощного разрушения и повреждения нуклеиновых кислот [70].

E. coli, как грамотрицательные бактерии, более восприимчивы к озону вследствие наличия тонкой мембраны из пептидогликана и наружной мембраны из липопротеинов и полисахаридов, поэтому время контакта меньше из-за низкой устойчивости [68]. Исследуя воздействие озона на мембрану, белки, ДНК плазмиды и выживание *E. coli* в водном растворе, Komanapalli и соавт. [71] установили, что жизнеспособность бактерий сохранялась при краткосрочном воздействии O_3 (1-5 min), однако проницаемость мембраны повысилась, судя по диффузии белков, нуклеиновых кислот и окислению липидов. Внутриклеточные компоненты, белок и ДНК, оставались неповрежденными. При более длинных экспозициях воздействия O_3 (до 30 min) жизнеспособность бактерий уменьшилась при более существенном окислении липидов и белков и диффузии нуклеиновой кислоты. В этих исследованиях порядка 8-10 min воздействия озоном вызывало полную инактивацию микроорганизмов.

В этой работе [63] дополнительное исследование было предпринято для оценки воздействия озона на БПК₅ (BOD₅) природных вод. Исходное БПК₅ образца природной воды (река Msunduzi) составляло 9,36 mg/l. Исследовали три водные матрицы: (i) сырая речная вода. (ii) речная вода, загрязненная *E. coli* и (iii) речная вода, загрязненная *E. coli*, и озонированная. Условия эксперимента: объем образца – порядка 300 ml; доза озона = 0,906 mg/l; расход = 2 l/min; экспозиция = 15 min; температура = 25 ± 2°C.

Таким образом, в этом исследовании [63] подтверждено, что озон является эффективным средством инактивации *E. coli*. Кинетика инактивации быстрая и соответствует кинетике первого порядка относительно концентраций озона и микроорганизма. Средняя константа второго порядка составила 0,49 ± 0,11 × 10⁵ l/mol•min. Для микробной инактивации температурные изменения оказывали незначительное влияние, тогда как реакция ускорялась при более низком pH. Это указывает, что

молекулярный озон более эффективен при инактивации микроорганизмов, чем гидроксильные радикалы.

В работе [72] изучено антимикробное действие озона на выживаемость *E. coli* в воде. Установлено, что обеззараживающий эффект озона зависит только от дозы озона, подаваемой в обрабатываемую воду, которая, в свою очередь, зависит от концентрации озона в озono-воздушной смеси (ОВС) и скорости ее подачи. Показано, что несмотря на высокий антимикробный эффект, озону присущи такие недостатки, как длинные «хвостовые» эффекты на кинетических кривых инактивации и реактивация части поврежденных микроорганизмов.

Первоначально исследована зависимость скорости инактивации *E. coli* в воде от концентрации озона в ОВС, скорости ее подачи, исходной зараженности воды.

Скорость инактивации микроорганизмов (K) рассчитывали по формуле

$$K = \frac{\lg \left(\frac{n_t}{n_0} \right)}{\tau}$$

где $\lg(N_t/N_0)$ - десятичный логарифм отношения числа выживших клеток к их исходному количеству; τ - экспозиция.

На рис. 4.1.21-4.1.23 представлены кинетические кривые инактивации бактерий *E. coli* в воде под действием озона.

Как видно из представленных данных, скорость инактивации бактерий зависит как от концентрации озона в ОВС (рис. 4.1.21), так и от скорости подачи ОВС (рис. 4.1.22) и количества бактерий в воде (рис. 4.1.23). Если в первых двух случаях она возрастала с увеличением концентрации озона в ОВС и повышении скорости подачи, то в последнем - возрастала при уменьшении исходной зараженности воды.

На рис. 4.1.21-4.1.23 выживаемость бактерий ($\lg(N_t/N_0)$) выражали как функцию продолжительности контакта с озоном. Видно, что процесс дезинфекции при этом имеет две стадии - быстрая начальная стадия инактивации, которая затем переходит в более медленную. Из экспериментальных данных, приведенных на рис. 4.1.21, определена скорость инактивации бактерий в первые 3 min контакта с озоном (быстрая стадия), которая составила для исследованных концентраций озона в ОВС (0,43; 0,22; 0,16; 0,11; 0,07 mg/l) соответственно 1,68; 1,60; 1,40; 1,20 и 1,07 мин. При дальнейшем росте дозы поданного озона скорость инактивации бактерий резко падала и практически не зависела от концентрации озона в ОВС, колеблясь в пределах 0,21-0,32 min (медленная стадия, период экспозиции 3-7 min), что и обуславливает длинные остаточные хвосты на кинетических кривых.

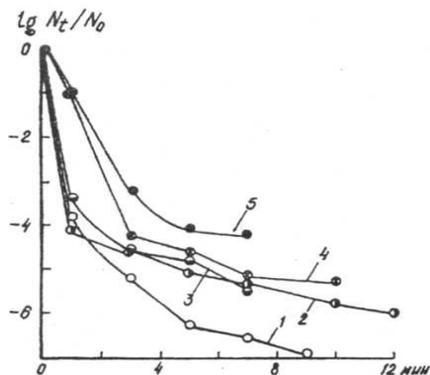


Рис. 4.1.21. Зависимость скорости инактивации бактерий *E. coli* (микробная нагрузка 10^8 CFU/ml) в физиологическом растворе от концентрации озона в подаваемой ОВС: 0,43 (1); 0,22 (2); 0,16 (3); 0,11 (4) и 0,07 mg/l (5). Скорость подачи ОВС 0,82 l/min

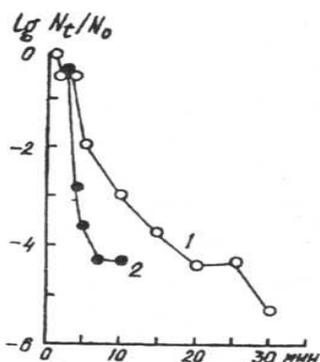


Рис. 4.1.22. Влияние скорости подачи ОВС (концентрация озона 0,25 mg/l) на инактивацию бактерий *E. coli* в водопроводной воде: 0,15 (1) и 0,82 l/min (2). Микробная нагрузка – 10^7 CFU/ml

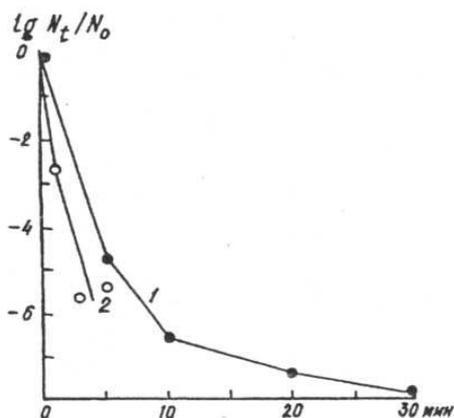


Рис. 4.1.23. Зависимость скорости инактивации бактерий *E. coli* в дистиллированной воде под действием озона (скорость протока ОВС 0,167 l/min; концентрация в ней озона 1,87 mg/l) от микробной нагрузки: 10^8 (1) и 10^6 CFU/ml (2)

Анализ приведенных данных, полученных на озонаторе малой производительности (до 0,3 г/ч), а также данных по кинетике отмирания бактерий *E. coli*, полученных на более мощных озонаторах (до 5 г/ч), показали, что, в конечном итоге, выживаемость микроорганизмов зависела только от подаваемой дозы озона в воду, которая, в свою очередь, определялась концентрацией озона в ОВС и скоростью ее подачи. Полученные кинетические кривые отмирания бактерий в воде в зависимости от дозы подаваемого озона имеют экспоненциальный характер, типичный для других дезинфектантов, и представлены на рис. 4.1.24, где также показаны данные целого ряда экспериментов, проведенных при различных концентрациях озона (0,07– 6,82 мг/л) и скорости подачи ОВС (0,18– 0,82 л/мин). Объем реакторов составлял 100, 200 и 300 ml, концентрация микроорганизмов в обрабатываемой воде колебалась в пределах 10^7 – 10^8 CFU/ml. Наблюдаются две группы экспериментальных точек, которые отражают кинетику отмирания бактерий в водопроводной и дистиллированной водах или физиологическом растворе (соответственно кривые 1 и 2). Из указанного рисунка следует, что чем выше доза подаваемого в воду озона, тем выше его антимикробное действие, однако обеззараживающая эффективность в расчете на каждый последующий порядок отмерших бактерий падает. Обеззараживание водопроводной воды на 99,99% ($\lg(N_t/N_0) = -4$), что в практике водоподготовки считается хорошим показателем, достигается при дозе 4, а на 99,999%– при дозе 5,2 мг/л. Эффективность обеззараживания в малопоглощающей озон воде (дистиллированная вода или физиологический раствор) выше и для соответствующего обеззараживания потребуются доза озона 1 и 2 мг/л.

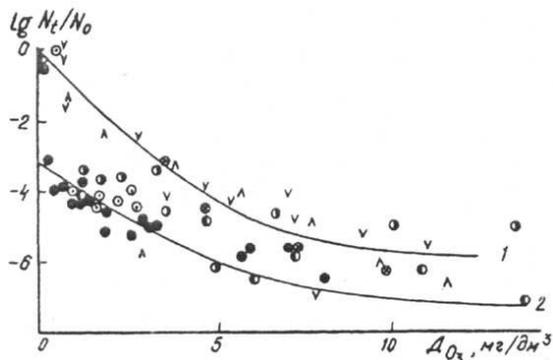


Рис. 4.1.24. Дозовая зависимость скорости отмирания бактерий *E. coli* 1257 в водопроводной (1) и дистиллированной <2> водах под действием озона (микробная нагрузка 10^8 CFU/ml)

Следует отметить, что во всех экспериментах, приведенных выше, для определения выживших после действия озона микроорганизмов посев осуществляли сразу после отбора проб. Эксперименты, в которых посевы микроорганизмов проводили не только сразу после отбора проб, но и спустя некоторое время, показали некоторую реактивацию бактерий.

В пробах обработанной озоном воды, в которых посев проводили сразу после отбора, а затем несколько раз в течение 20 min, отмечено увеличение числа выживших бактерий на 2-3 порядка в первые 5-10 min с последующей стабилизацией их численности. Так как начало реактивации микроорганизмов, ее величина и продолжительность менялись в различных экспериментах, на рис. 4.1.25 приведены результаты одного наиболее типичного опыта.

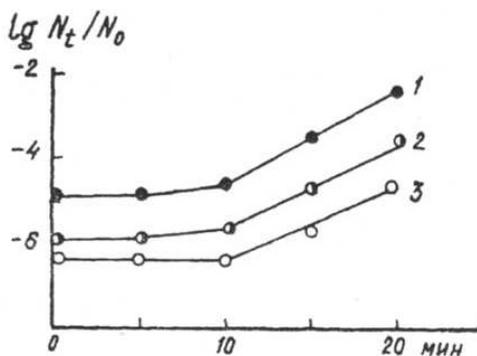


Рис. 4.1.25. Реактивация в воде бактерий *E. coli*, подвергнутых обработке озоном в дозах: 5 (1); 7 (2) и 10 мг/л (3)

Таким образом, озон, хотя и обладает высоким бактерицидным действием, не лишен ряда недостатков, таких, как длинные «хвостовые» эффекты на кинетических кривых отмирания, реактивация части поврежденных микроорганизмов и, как известно, отсутствие последствия, что препятствует сохранению санитарно-гигиенических качеств воды до подачи ее потребителю. Устранение этих недостатков возможно в результате комбинированной обработки озоном с другими дезинфектантами.

Исследование инактивации озоном *Mycobacterium fortuitum* было выполнено в двух лабораторных экспериментах в системе непрерывного потока для определения влияния температуры (9-37 °С) и УФО на выживание этого потенциального микробного индикатора эффективности дезинфекции. Определена параллельность роста степени инактивации и температуры. Энергия инактивации составляла 18,3 килокалории. УФО

как катализатор дезинфекции озоном не оказывало какого-либо существенного увеличения степени инактивации *M. fortuitum* ни в лабораторной системе (деионизированный фосфатный буфер), ни во вторично очищенных сточных водах. Однако, изолированное воздействие УФО было эффективным [73].

В работе [74] продемонстрирована высокая эффективность озона при преозонировании воды поверхностного водоисточника с неудовлетворительными бактериологическими показателями, которая очищается на предприятии подготовки питьевой воды Neuilly-sur-Marne. Показано существенное улучшение микробиологических параметров фильтрованной воды по колиформам при дозе озона 0,5 мг/л.

В работе [75] продемонстрирована реакция озона с аминокислотами мембраны устойчивых микроорганизмов в сточных водах. Вторичная цель состояла в проверке возможности образования побочных продуктов при инактивации *Vibrio cholerae* NO 01 WFCC-449, *Salmonella typhi* ATTC-6539, фекальных колиформ и яиц аскарид *Ascaris suum*). Озон применяли в концентрации 18,4 мг/л при pH 3 в течение различных отрезков времени. Для бактерий показано, что в течение 8 мин их количество сокращено до $1 \cdot 10^3$ CFU/100ml. Коэффициенты корреляции микробных концентраций от времени контакта озона составили 0,95 – 0,99. Экспозиция 100 %-ой инактивации исходной популяции бактерий колебалась от 2 до 14 min, тогда как для яиц *Ascaris suum* – 1 h. При лизисе грам-отрицательных бактерий наблюдалось освобождение эндотоксинов. Озонирование аминокислот в оболочке яиц аскариды приводит к формированию альдегидов (формальдегида и уксусного альдегида в низких, безвредных концентрациях (0,0003 и 0,0005 µg/ml соответственно).

Особые формы инфекционных протеинов – прионов *Misfolded prions* (PrPSc) известны по их резистентности к обычным процессам дезинфекции и потенциальному риску загрязнения водных объектов. В этом эксперименте озон тестировали на его способность инактивировать прионы. Условия обработки включали начальную дозу озона (7,6 – 25,7 мг/л), время контакта (5 s – 5 min), температуру (4 °C и 20 °C) и pH (4,4, 6,0 и 8,0). Воздействие озоном на разведенную суспензию зараженного мозга хомяка (0,01 %) привело к разрушению PrPSc. Самые высокие уровни инактивации приона ($\geq 4 \log_{10}$) наблюдались при дозах озона 13,0 мг/л, pH 4,4 и 20 °C и Ct 0,59 мг-мин/л. Сравнение Ct озона с различными патогенами свидетельствует, что прионы более восприимчивы к деградации озоном, чем некоторые модельные бактерии и протозоа. Поэтому, обработка озоном может быть эффективным решением для инактивации прионов в воде и сточных водах [76].

В диссертационной работе [77, 78] обоснована возможность использования озона для обеззараживания воды и систем водоснабжения на морских судах.

Следует отметить, что условия хранения на судах воды характеризуются специфическими особенностями. Это относительно высокая длительность хранения, достигающая на судах большой автономности 60 и более д, повышенные температуры хранящейся и потребляемой воды (30 -36 °С), то есть приближающиеся к температуре термостатирования микроорганизмов, состояние антикоррозийного покрытия цистерн пресной воды, которое в зависимости от степени однородности поверхностного слоя и рецептуры материала может способствовать развитию в пристеночном слое биопленок и водорослевых обрастаний. Совокупность указанных факторов обуславливает возрастающее в динамике рейса размножение микроорганизмов, в том числе, условно-патогенных, что может являться причиной интенсивной бактериальной контаминации судовой системы водоснабжения. Поэтому, цель этой работы состояла в гигиеническом обосновании способа автономной дезинфекции воды и систем водоснабжения озоном на морских судах как альтернативы хлорированию.

Для дезинфекции озоном модельных цистерн в стендовых условиях и судовых систем водоснабжения в натуральных испытаниях использована методика дезинфекции озоно-водяным аэрозолем, усовершенствованная авторами и адаптированная к рейсовым условиям [79].

Анализ результатов обеззараживания воды озоном в стендовых (модельных цистернах, окрашенных применяемыми на флоте покрытиями, доза загрязнения $1 \cdot 10^4$ CFU/ml), заводских (испытания станций/установок приготовления воды) и рейсовых исследований в различных климато-географических зонах Мирового океана позволяет заключить, что вне зависимости от дозы загрязнения (не менее $1 \cdot 10^4$ CFU/l); **разновидности** микроорганизма (санитарно-показательная *E. coli*, условно-патогенная *P. aeruginosa*); типа антикоррозийного покрытия (цементное, лакокрасочные материалы); наименования обеззараживаемой воды (полученная в портах, опресненная минерализованная) озон оказывает высокий обеззараживающий эффект в дозах 0,3– 0,5 мг/l [80].

Данные лабораторных экспериментов (контаминация 10^4 CFU/dm² стенок модельных цистерн, покрытых различными антикоррозийными покрытиями, взвесями суточных культур *E. coli* и *P. aeruginosa*) и натуральных испытаний по дезинфекции озоном судовых систем водоснабжения во время стоянок судов в портах и в рейсовых условиях свидетельствуют о достаточно выраженном и надежном бактерицидном действии этого дезинфектанта. Это позволяет в динамике

водорасхода обеспечить стабильность соответствия санитарно-микробиологических показателей качества потребляемой воды нормативным требованиям [81– 83].

Как показывают результаты рейсовых исследований на различных судах в процессе гигиенической апробации станций/установок приготовления питьевой воды из морской заборной, применение озона позволяет обеспечить постоянство качественного обеззараживания и соответствия потребляемой воды требованиям санитарного законодательства по санитарно-микробиологическим показателям; обезвредить приготавливаемую воду от остаточных количеств антропогенных загрязнителей, минимизируя образование галогенсодержащих соединений; обеззараживать в динамике хранения «береговую» воду, как поступающую без сертификата, удостоверяющего ее качество, так и хранящуюся; проводить эффективную и надежную дезинфекцию судовой системы водоснабжения непосредственно в рейсовых условиях, что исключает необходимость проведения такой дезинфекции в портах с выводом системы из эксплуатации. В случае отсутствия на судах озонатора предложено использовать мобильный блок дезинфекции озоном (МБДО), эксплуатация которого уже на этапе бункеровки судна водой, изменяя технологические параметры озонирования, обеспечивает эффективное обеззараживание воды и/или качественную дезинфекцию системы водоснабжения [84].

Как в автономных условиях, так и при эксплуатации МБДО, процесс озонирования воды и судовых систем водоснабжения может быть существенно интенсифицирован, если использовать специально разработанные для этих целей устройства и способ [85-87]. Испытания этих устройств в натуральных условиях позволили установить, что при прочих равных условиях они позволяют повысить эффективность и надежность и в 2,5-5 раз сократить длительность озонирования .

Учет всего комплекса критериев (бактерицидная эффективность, степень влияния на антикоррозийные покрытия цистерн пресной воды, безвредность воды по достижении бактерицидного эффекта, комплексность и автономность использования, экологическая безопасность) позволили разработать принципиальную схему Гигиенической регламентации средств для дезинфекции воды и систем водоснабжения на морских судах [88]. Согласно предложенной схеме, озон отвечает всем требованиям, что позволяет рассматривать его как гигиенически адекватное средство обеспечения эпидемиологической безопасности и химической безвредности воды, потребляемой моряками на судах.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Зарубин Г.П. Современные методы очистки и обеззараживания питьевой воды / Г. П. Зарубин, Ю. В. Новиков // М.: Медицина. – 1976. – 192 с.
- 2 Яковлева Г. П. К вопросу обеззараживания озонем воды, содержащей лекарственно-устойчивые формы бактерий дизентерии и аденовирусы / Г. П. Яковлева, А. П. Ильницкий // Гигиена и санитария. – 1967. – № 12. – С. 17–19.
- 3 Сучков Б. П. Исследования по озонированию питьевой воды, содержащей патогенные бактерии и вирусы / Б. П. Сучков // Гигиена и санитария. – 1964. – № 6. – С. 22–29.
- 4 Врочинский К. К. Экспериментальные данные к обеззараживанию воды озонем / К. К. Врочинский // Гигиена и санитария. – 1963. – № 12. – С. 3–9.
- 5 Рябченко В. А. Действие озона при обеззараживании воды / В. А. Рябченко, Н. А. Русанова. – 1986. – № 4. – С. 20–23.
- 6 Broadwater W. T. Sensitivity of Three Selected Bacterial Species to Ozone / W. T. Broadwater, R. C. Hoehn, P. H. King // Applied Microbiology. – 1973. – P. 391–393
- 7 Morris J. C. Chlorination and disinfection—state of the art / J. C. Morris // J. Amer. Water Works Ass. – 1971. – V. 63. – P.669.
- 8 Bean E. L. Ozone production and cost / E. L. Bean // Advan. Chem. Serol. – 1956. – V. 21. – P. 430.
- 9 Dickerman J. M. Action of ozone on water-borne bacteria / J. M. Dickerman, A. O. Castraberti, J. E. Fuller // J. N. Engl. Water Works Ass. – 1954. – V. 68. – P. 11.
- 10 Hann V. A. Disinfection of drinking water with ozone / V. A. Hann // J. Amer. Water Works Ass. – 1956. – V.48. – P. 1316.
- 11 Ingram M. Inhibition of bacterial growth by pure ozone in the presence of nutrients / M. Ingram, R. B. Haines // J. Hyg. – 1949. – V. 47. – P. 146.
- 12 Sykes G. Disinfection and sterilization, 2nd ed. // G. Sykes // Lippincott, Philadelphia. – 1965. – 206 p.
- 13 Whitson M. T. B. Other processes with special reference to ozone / M. T. B. Whitson // J. Inst. Water Eng. – 1950. – V. 6. – P. 600.
- 14 Bringmann G. Versuche zur quantitativen Bestimmung der letalen Wirksamkeit von Chlor und Ozon auf *E. coli* / G. Bringmann // Z. Hyg. – 1954. – V. 139. – P. 130.
- 15 Fetner R. H. A comparison of the bactericidal action of ozone and chlorine against *Escherichia coli* at 1° / R. H. Fetner, R. S. Ingols // J. Gen. Microbiol. – 1956. – V. 15. – P. 381.
- 16 Guinvarch P. Three years of ozone sterilization of water in Paris / P. Guinvarch // Advan. Chem. Serol. – 1959. – V. 21. – P. 416.
- 17 Torricelli A. Drinking water purification / A. Torricelli // Adv.Chem. Serol. – 1959. – V. 21. – P. 453.
- 18 Effect of ozone on plasmid DNA of *Escherichia coli* in situ / K. Ishizaki, K. Sawadaishi, K. Miura [et al.] // Water Research. – 1987. – V. 21, I. 7. – P. 823–827.
- 19 De Mik G. Mechanisms of inactivation of bacteriophage ϕ X174 and its DNA in aerosols by ozone and ozonized cyclohexene / G. De Mik, I.D.A. De Groot // J. Hyg. – 1977. – V. 78. – P. 199–211.

- 20 Kim C. K Mechanism of ozone inactivation of bacteriophage f2 / C. K. Kim, D. M. Gentile, O. J. Sproul // *Appl. envir. Microbiol.* – 1980. – V. 39. – P. 210 – 218.
- 21 Sproul O. J. The mechanism of ozone inactivation of waterborne viruses / O. J. Sproul, R. M. Pfister, C. K. Kim // *Wat. Sci. Technol.* – 1982. – V. 14. – P. 303 – 314.
- 22 Possible mechanism of poliovirus inactivation by ozone / V. W. Riesser, J. R. Perrich B. B., Silver [et al.] / In *Forum on Ozone Disinfection* (Edited by Fochtman E. G., Rice R. G. and Browning M. E.), P. 186-192. International Ozone Institute. New York. – 1977.
- 23 Mechanism of enteroviral inactivation by ozone / D. Roy, P. K. Y. Wong, R. S. Engelbrecht [et al.] // *Appl. envir. Microbiol.* – 1981. – V. 41. – P. 718 – 723.
- 24 Scott D. B. M. Effect of ozone on survival and permeability of *Escherichia coli* / D. B. M. Scott, E. C. Lesher // *J. Bad.* – 1963. – V. 85. – P. 567 – 576.
- 25 Goldstein B. D. Effect of ozone on lipid peroxidation in the red blood cell / B. D. Goldstein, O. J. Balchum // *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* – 1967. – V. 126. – P. 356 – 358.
- 26 Reaction of ozone with amino acids and proteins / J. B. Mudd, R. Leavitt, A. Ongun [et al.] // *Atmosph. envir.* – 1969. – V. 3. – P. 669 – 682.
- 27 Pryor W. A. Mechanisms for the reaction of ozone with biological molecules: the source of the toxic effects of ozone / W. A. Pryor, M. M. Dooley D. F., Church / In *Advances in Modern Environmental Toxicology* (Edited by Mustafa M. G. and Mehlman M. A.), P. 7 – 19. Ann Arbor Science, Ann Arbor, Mich. – 1983.
- 28 Menzel D. B. Oxidation of biologically active reducing substance by ozone / D. B. Menzel // *Archs envir. Hlth.* – 1971. – V. 23. – P. 149 – 153.
- 29 Kuroda M. Oxidation of tryptophan in lysozyme by ozone in aqueous solution / M. Kuroda, F. Sakiyama, K. Narita // *J. Biochem.* – 1975. – V. 78. – P. 641 – 651.
- 30 Tamaoki H. Chemical modification of ribonuclease T with ozone / H. Tamaoki, F. Sakiyama, K. Narita // *J. Biochem.* – 1978. – V. 83. – P. 771 – 781.
- 31 Hamelin C. Ozone-induced DNA degradation in different DNA polymerase I mutants of *Escherichia coli* K12 / C. Hamelin, F. Sarhan, Y. S. Chung // *Biochem. biophys. Res. Commun.* – 1977. – V. 77. – P. 220 – 224.
- 32 Hamelin C. Induction of deoxyribonucleic acid degradation in *Escherichia coli* by ozone / C. Hamelin, F. Sarhan, Y. S. Chung // *Experientia.* – 1978. – V. 34. – P. 1578 – 1579.
- 33 Chaney S. G. Effects of ozone on leukocyte DNA / S. G. Chaney // Report, EPA-600/1-81-031; Order No. PB81-179277. – 1981.
- 34 Hamelin C. Repair of ozone-induced DNA lesions in *Escherichia coli* B cells / C. Hamelin, Y.S. Chung // *Mutat Res.* – 1989. – V. 214, N.2 – P. 253 – 255.
- 35 Degradation of nucleic acids with ozone—II. Degradation of yeast RNA, yeast phenylalanine tRNA and tobacco mosaic virus RNA / N. Shinriki, K. Ishizaki, A. Ikehata [et al.] // *Biochem. biophys. Acta.* – 1981. – V. 655 – P. 323 – 328.
- 36 Degradation of nucleic acids with ozone—III. Mode of ozone-degradation of mouse proline transfer ribonucleic acids (tRNA) and isoleucine tRNA / N. Shinriki, K. Ishizaki, K. Miura [et al.] // *Chem. pharm. Bull.* – 1983. – V. 31 – P. 3601 – 3608.
- 37 Degradation of nucleic acids with ozone—IV. Specific internucleotidic bond-cleavage of ozone-treated transfer ribonucleic acids with aniline-acetate / K. Miura, T. Ueda, N. Shinriki [et al.] // *Chem. pharm. Bull.* – 1984a. – V. 32 – P. 651 – 657.

- 38 Ishizaki K. Degradation of nucleic acids with ozone-V. Mechanism of action of ozone on deoxyribonucleoside 5'-monophosphates / K. Ishizaki, N. Shinriki, T. Ueda // Chem. pharm. Bull. – 1984. – V. 32 – P. 3601 – 3606.
- 39 Degradation of nucleic acids with ozone—VI. Labilization of the double-helical structure of calf thymus deoxyribonucleic acid / N. Shinriki, K. Ishizaki, S. Sato [et al.] // Chem. pharm. Bull. – 1984. – V. 32 – P. 3636 – 3640.
- 40 Mode of ozone-degradation of calf thymus DNA and plasmid DNA / K. Miura, K. Sawadaishi, N. Shinriki [et al.] // Proceedings of the Symposium on Ozone and Biology, International Ozone Association, Rennes, April, 1984.
- 41 Mode of degradation of plasmid DNA with ozone / K. Sawadaishi, K. Miura, E. Ohtsuka [et al.] // Nucleic Acids Res. – 1984. – V. 15 – P. 151 – 154.
- 42 Ozonolysis of supercoiled pBR322 DNA resulting in strand scission to open circular DNA / K. Sawadaishi, K. Miura, E. Ohtsuka [et al.] // Nucleic Acids Res. – 1985a. – V. 13 – P. 7183 – 7194.
- 43 Sequence specificity of ozone-degradation of bases in supercoiled plasmid DNA / K. Sawadaishi, K. Miura, E. Ohtsuka [et al.] // Nucleic Acids Res. – 1985b. – V. 13 – P. 205 – 208.
- 44 Structure- and sequence-specificity of ozone degradation of supercoiled plasmid DNA / K. Sawadaishi, K. Miura, E. Ohtsuka [et al.] // Nucleic Acids Res. – 1986. – V. 14 – P. 1159 – 1169.
- 45 Structure-modifying action of ozone on plasmatic membranes / V. K. Matus, A. M. Mel'nikova, I. M. Okun [et al.] // Vestsi Akad. Navuk BSSR, Ser. Biyal. Navuk. – 1980. – P. 125 – 128.
- 46 Verweij H. Ozone-induced cross-linking of erythrocyte membrane proteins / H. Verweij, J. Van Steveninck // Protides biol. Fluids. – 1982. – V. 29 – P. 129 – 132.
- 47 Heath R. L. Ozone alteration of membrane permeability in chlorella-I. Permeability of potassium ion as measured by a rubidium-86 tracer PI / R. L. Heath, P. E. Frederick // Physiol. – 1979. – V. 64 – P. 445 – 459.
- 48 Johnson D. A. Ozone inactivation of human α_1 -proteinase inhibitor / D. A. Johnson // Am. Rev. resp. Dis. – 1980. – V. 121 – P. 1031 – 1038.
- 49 Hunt N. K. Inactivation of *Escherichia coli* with ozone: chemical and inactivation kinetics / N. K. Hunt, B. J. Mariñas // Water Research. – 1999. – V. 33, I. 11. – P. 2633 – 2641.
- 50 Inactivation kinetics of virus and bacteria in a model ozone contacting reactor system / J. R. Perich, L. R. McCammon, L. S. Cronholm [et al.] // In Proceedings of the Second International Symposium on Ozone Technology, Montreal Canada, eds. R. G. Rice, P. Pichet and M. Vincent. P. 486. International Ozone Institute, New York, NY. – 1975.
- 51 Zhou H. Kinetics of ozone disinfection in completely mixed system / H. Zhou, D. W. Smith // J. Environ. Eng. Div. ASCE. – 1994. – V. 120. – P. 841 – 858.
- 52 Hunt N. K. *Escherichia coli* inactivation with ozone / N. K. Hunt, B. J. Mariñas // Water Research. – 1997. – V. 31. – P. 1355 – 1362.
- 53 Chick H. An investigation of the laws of disinfection / H. Chick // Journal of Hygiene. – 1908. – V. 8. – P. 92 – 158.

- 54 Watson H. E. A note on the variation of rate of disinfection with the change in the concentration of disinfectant / H. E. Watson // *Journal of Hygiene*. – 1908. – V. 8. – P. 536 – 542.
- 55 Christensen E. Changes in absorption spectra of nucleic acids and their derivatives following exposure to ozone and ultraviolet radiations / E. Christensen, A. C. Giese // *Archives of Biochemistry and Biophysics*. – 1954. – V. 50. – P. 206 – 209.
- 56 Pryor W. A. Mechanisms of the reactions of ozone with biological molecules: the source of toxic effects of ozone / W. A. Pryor, M. M. Dooley, D. F. Church // In *Advances in Modern Environmental Toxicology*, eds. M. G. Mustafa and M. A. Mehlman. Ann Arbor Science Publishers. Ann Arbor. MI. – 1983.
- 57 Scott D. B. M. The effect of ozone on nucleic acids and their derivatives / D. B. M. Scott // In *Aquatic Application of Ozone*, eds. W. J. Blogoslawski and R. G. Rice, p. 1. International Ozone Institute. New York. NY. – 1975.
- 58 Hamelin C. Optimal conditions for mutagenesis by ozone in *Escherichia coli* K12 / C. Hamelin, Y. S. Chung // *Mutation Research*. – 1974. – V. 24. – P. 271 – 279.
- 59 Woldringh C. L. Nucleoid and cytoplasm in the intact cell / C. L. Woldringh, N. Nanninga // In *Molecular Cytology of Escherichia coli*, ed. N. Nanninga. Academic Press. London. UK. – 1985.
- 60 Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts with ozone / J. L. Rennecker, B. J. Marinas, J. H. Owens [et al.] // *Water Research*. – 1999. – V. 33, I. 11. – P. 2481 – 2488.
- 61 Enhancement of wastewater disinfection efficiency in full-scale ozone bubble-diffuser contactors / B. D. Blank, B. J. Marinas, K. Corsaro [et al.] // *Ozone Science and Engineering*. – 1993. – V. 15. – P. 295 – 310.
- 62 Efficacy of Ozonated Water against Various Food-Related Microorganisms / L. Restaino, E.W. Frampton, J. B. Hemphill [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1995. – V. 61, N. 9. – P. 3471 – 3475.
- 63 Zuma F. Ozone-initiated disinfection kinetics of *Escherichia coli* in water / F. Zuma, J. Lin, S. B. Jonnalagadda // *J. Environ. Sci. Health Part A*. – 2009. – V. 44. – P. 48 – 56.
- 64 Korol S. Disinfection of water: Comparative action of ozone and chlorine on a wide spectrum bacteria / S. Korol // *Rev. Microbiol. Argentina*. – 1995. – V. 27. – P. 175 – 183.
- 65 Relationship between temperature and growth rate of bacterial cultures / D.A. Ratkowsky, J. Olley, T.A. McMeekin [et al.] // *J. Bacteriol.* – 1982. – V. 149. – P. 1 – 5.
- 66 Kinman R.N. Water and wastewater disinfection with ozone: A critical review / R.N. Kinman // *Crit. Rev. Environ. Contr.* – 1975. – V. 5. – P. 141 – 152.
- 67 LeChevallier M.W. Water treatment and pathogens control / M.W. LeChevallier, K.-K. Au // WHO. IWA Publishing House. London. 2004. – P. 41 – 61.
- 68 Maillard Y.I. Bacterial target sites for biocide action / Y.I. Maillard // *J. Appl. Microbiol. Sym. Supp.* – 2002. – V. 92. – P. 16S – 27S.
- 69 Victorin K. Review of the genotoxicity of ozone / K. Victorin // *Mutat. Res.* – 1992. – V. 277. – P. 221 – 238.

70 Kim J.G. Application of ozone for enhancing the microbial safety and quality of food: A review / J.G. Kim, A.E. Yousef // J. Food Protect. – 1999. – V. 62, N. 9. – P. 1071 – 1087.

71 Komanapalli I.R. Ozone-induced damage of *Escherichia coli* K-12 / I.R. Komanapalli, B.H.S. Lau // Appl. Environ. Biotechnol. – 1996. – V. 46, N. 9. – P. 610 – 614.

72 Обеззараживающее действие озона в воде на *Escherichia coli* 1257 / Н. Г. Потапченко, О. С. Савлук, В. Ф. Горчев [и др.] // Химия и технология воды. – 1997. – V. 19, № 3. – С. 315 – 319.

73 Farooq S. Influence of temperature and u.v. light on disinfection with ozone / S. Farooq, R. S. Engelbrecht, E. S. K. Chian // Water Research. – 1977. – V. 11, I. 8. – P. 737 – 741.

74 The effect of preozonation on microorganism and particle removal / J.Y. Gaubert, C. Piet, D. Gatel [et al.] // Water Science and Technology. – 2000. – V. 41, N 7. – P. 9 – 16.

75 Ozonation by-products issued from the destruction of microorganisms present in wastewaters treated for reuse / M.N. Rojas-Valencia, M.T. Ortade-Velásquez, M. Vaca-Mier [et al.] // Water Science & Technology. – 2004. – V. 50, N 2. – P. 187 – 193.

76 Inactivation of Template-Directed Misfolding of Infectious Prion Protein by Ozone / N. Ding, N. F. Neumann, L. M. Price [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 2012. – V. 78. – P. 613 – 620.

77 Мокиенко А.В. Гигиеническое обоснование способа автономной дезинфекции воды и систем водоснабжения озона на морских судах / А.В. Мокиенко // дис.... канд. мед. наук:14.00.07 / М., 1990. – 120 с.

78 Мокиенко А.В. Гигиеническое обоснование способа автономной дезинфекции воды и систем водоснабжения озона на морских судах / А.В. Мокиенко // автореф. дис.... канд. мед. наук: 14.00.07 / НИИ общей и ком. гиг. – М., 1989. – 22 с.

79 Методические указания по дезинфекции озонами воды и систем водоснабжения судов / А.М. Войтенко, Т.В. Стрикаленко, А.В. Мокиенко [и др.] Утв. Нач. Гл. санэпидупр. Минздрава СССР 22.07.1988, №4684-88. – М., 1988. – 17 с.

80 Рахманин Ю.А. Гигиеническая оценка обеззараживания питьевой воды озонированием на морских судах / Ю.А. Рахманин, Т.В. Стрикаленко, А.В. Мокиенко // Тез. докл. Всес. науч.-тех. сем. “Обеззараживание питьевой воды”. – Москва, 1991. – С. 14 – 15

81 Мокиенко А.В. Дезинфекция воды и системы водоснабжения на морских судах (обзор) / А.В. Мокиенко // Гигиена и санитария. – 1992. – №3. – С. 6 – 8

82 Применение озона для дезинфекции систем водоснабжения, инфицированных синегнойной палочкой / Ю.А. Рахманин, Т.В. Стрикаленко, А.В. Мокиенко [и др.] // Гигиена и санитария. – 1990. – №11. – С. 32 – 33

83 Preventive Measures of Ship Water System Pollution / A. M. Voitenko, T.V. Strikalenko, A.V. Mokienko [et al.] // Programme and abstracts XI International symp. of maritime medicine. – Gdynia (Poland). – 1989. – P. 217.

84 Гигиеническая оценка способов кондиционирования воды на морских судах / Ю.А. Рахманин, Т.В. Стрикаленко, А.В. Мокиенко [и др.] // Гигиена и санитария. – 1991. – №1. – С. 17 – 19.

85 Устройство для дезинфекции озоном цистерн питьевой воды / А.В. Мокиенко, Т.В. Стрикаленко, А.М. Войтенко [и др.] // А.с. 1353736 СССР, МКИ4 С 02 F 1/78.– № 4015120; Заявлено 14.01.86; Опубл. 23.11.87; Бюл №43. – 2 с.

86 Устройство для дезинфекции цистерны пресной воды / А.В. Мокиенко, Т.В. Стрикаленко, А.М. Войтенко [и др.] // А.с. 1465417 СССР, МКИ4 С 02 F 1/78.– №4209911; Заявлено 07.01.87; Опубл. 15.03.89; Бюл №10. – 1 с.

87 Способ дезинфекции водоразводящей сети судовой системы / А.В. Мокиенко, Т.В. Стрикаленко, Ю.П. Авласович [и др.] // А.с. 1655507 СССР, МКИ4 С 02 F 1/50.- №4660155; Заявлено 06.01.89; Опубл. 15.06.91. – Бюл №22. – 1 с.

88 Стрикаленко Т.В. Гигиеническая регламентация средств для дезинфекции воды и систем водоснабжения на морских судах / Т.В. Стрикаленко, А.В. Мокиенко // Информационный листок №017-89/Р. – ОЦНТЭИ, 1989. – 6 с.

4.2 Вирулицидное действие озона

В.Ф. Кожин и И.В. Кожин (1974) [раздел 1, 3] в своей монографии излагают такое суждение по данному вопросу.

Озон оказывает резко выраженное, быстрое и радикальное воздействие на многие вирусы. Механизм этого явления объясняется полной деструкцией вируса.

Еще в период с 1943 по 1956 г. ряд специалистов США и ФРГ выполнили серию опытов с суспензиями вируса полиомиелита в целях нейтрализации его с помощью хлора, озона и двуокиси хлора.

Штейнгарт, основываясь на исследованиях американских гигиенистов Хетча и Шульца-Эльбека, приходит к следующим выводам.

1. Уничтожение вируса хлором достигается дозой 0,1 mg/l при температуре воды 18 °С; при температуре воды 7 °С доза хлора должна быть не менее 0,25 mg/l.

2. Нейтрализация вируса с помощью озона достигается дозой 0,1 mg/l при температуре воды 18 °С; для холодной воды с температурой 7 °С доза озона должна быть повышена до 0,15 mg/l.

3. Уничтожение вируса двуокисью хлора (ClO₂) возможно только при дозе 0,6 mg/l и температуре воды 18 °С; для воды с температурой 7 °С доза двуокиси хлора должна составлять 1 mg/l.

Райдинор и Ингольс нашли, что свободный хлор значительно активнее по отношению к вирусу полиомиелита, чем связанный хлор. Остаточный озон в количестве 0,15 mg/l лишает активности вирус при разбавлении в 1/500 за 4 min, а при дозе 0,1 mg/l и том же разбавлении – за 20 min.

По данным Науманна возбудители полиомиелита уничтожаются озоном за 2 min при концентрации 0,45 mg/l, тогда как при хлорировании дозой 1 mg/l для этого требуется 5 h.

Кессел, Элисон, Мур и Кэйм (США) сравнивали действие хлора и озона на вирус полиомиелита. Исследования выполнялись на двух видах вируса MV и LE.

Выводы экспериментаторов следующие. Раствор газообразного хлора или гипохлорита с остаточным содержанием хлора 0,5 mg/l не обеспечивал нейтрализацию вируса MV при разбавлении в 1/1000 после 90 min контакта, а вирус LE становился бездейственным только через 180 min. Содержание остаточного озона 0,45 mg/l делает бездейственным вирус LE при разбавлении в 1/1000 за 2 min, а при разбавлении в 1/100 за 45 min. Вирус MV при разбавлении в 1/10 и том же содержании остаточного озона становится бездейственным через 30 min. На основе этих исследований авторы полагают, что в равных экспериментальных условиях идентичного рода вирусы при одинаковом разбавлении становятся недейственными: а) почти немедленно (через 2 min) при обработке озоном с остаточной величиной 0,045–0,45 mg/l) значительно медленнее (от 1,5 до 3 h) при обработке хлором с остаточной величиной 0,5– 1 mg/l.

Во Франции были проведены эксперименты по определению инактивирующей способности озона по отношению к различным вирусам, в частности, вызывающим полиомиелит, и к другим энтеровирусам.

Гомелла в сотрудничестве с Институтом Пастера и лабораторией гигиены г. Парижа (д-р Куан) показал, что существует пороговая концентрация озона 0,3 g/m³, выше которой инактивация является полной. Если эта пороговая концентрация O₃ сохраняется в течение хотя бы 4 min, то коэффициент инактивации превышает 99,99% для всех присутствовавших вначале вирусов, независимо от того, брали ли при эксперименте речную, фильтрованную или дистиллированную воду. На рис. 4.2.1 представлены результаты динамических испытаний. По оси ординат отложены величины показателей вирусной взвеси, которые выражены количеством зараженных частиц в 1 ml дистиллированной воды. По оси абсцисс отложено время, показывающее изменения в содержании вируса, которое вызвано воздействием всевозрастающих концентраций озона. Эти изменения титра вирусной взвеси отмечались каждые 3 min. Выход остаточного озона в mg/l показан для каждой из точек наблюдений, обозначенных на рис. 4.2.1 цифрами I–III.

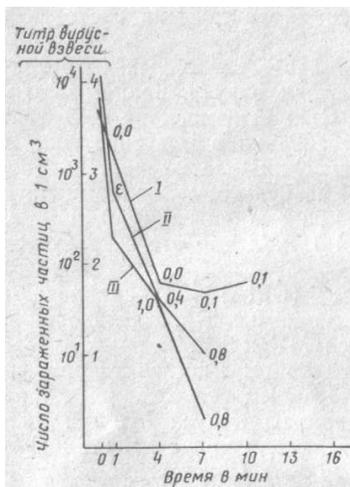


Рис. 4.2.1 Воздействие возрастающих концентраций озона на вирусную суспензию в дистиллированной воде

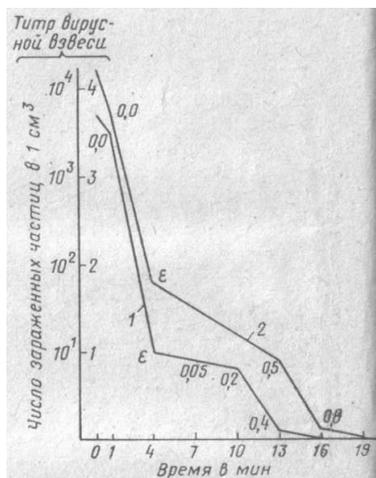


Рис. 4.2.2 Воздействие возрастающих концентраций озона на вирусную суспензию в фильтрованной воде р. Сены (район Парижа)

На рис. 4.2.2 показано воздействие возрастающих концентраций озона на вирусную суспензию в фильтрованной воде р. Сены, взятой в разных створах – в Шуази ле Руа 1 и в Сюрене 2.

В самом начале обработки воды, даже при отсутствии выхода остаточного озона, содержание вируса быстро падает в течение 4 min с 10^4 μI (международных единиц) до менее чем 10^2 μI на 1 ml в дистиллированной и до 10 μI на 1 ml в фильтрованной воде. Следовательно, озон, еще не поддающийся обнаружению, уже в некоторой мере воздействует на вирус. Далее, когда выход остаточного озона увеличивается, обезвреживание продолжается, но весьма медленно: в течение 6 min содержание вируса уменьшается только с 10^2 до 10 μI на 1 ml в дистиллированной воде и с 10 до 1 μI на 1 ml в фильтрованной воде. Таким образом, вследствие небольшого количества оставшегося вируса обезвреживание его становится более затруднительным.

Наконец, когда концентрация остаточного озона превышает 0,4 mg/l, процесс обезвреживания вируса идет очень быстро и становится тотальным по прошествии немногим более 3 min.

Эти результаты наблюдений практически одинаковы как для дистиллированной, так и для фильтрованной воды.

В обоих случаях наблюдается каталитическое усиление окисляющего действия кислорода, присутствующего в используемом озонированном воздухе. Иначе говоря, вирулицидное действие озона имеет, по-видимому, каталитическую природу. Следует также отметить, что хотя хлор и двуокись хлора обеспечивают достаточное бактерицидное действие, но они не позволяют производить вирулицидную обработку. Дело в том, что инактивация вирусов соединениями хлора требует очень высокой концентрации и весьма значительной продолжительности контакта – порядка 48 h [раздел 1, 3].

При изучении вирулицидных свойств озона в экспериментах были использованы штаммы Коксаки В типа 3 и полиомиелита серотипа 3 [4.1, 3]. При выборе штаммов учитывали вирусологическую характеристику заболеваний полиомиелитом и парополиомиелитом в Киеве и на Украине. Указанные вирусы были адаптированы к росту и культивировались на клетках амниотической оболочки плаценты (на тканевой культуре «АМК»). Вирусологические исследования выполнены в лаборатории полиомиелита Киевского института инфекционных болезней.

В экспериментах использована очищенная и стерилизованная речная вода. Воду заражали центрифугированной вирусосодержащей жидкостью. Концентрация активных вирусов в смеси достигала $5 \cdot 10^{3,5}$ ТЦЛ₅₀/ml, что во много раз превышает возможное заражение воды в естественных условиях. Вместе с содержащей вирус жидкостью в воду вводили органические вещества, которые более чем в 10 раз повышали ее окисляемость. Последнее в эксперименте неизбежно. В связи с этим следует учитывать, что в экспериментальных условиях озон расходовался не только на инактивацию вирусов, но и на окисление большого количества сопутствующих органических веществ. Поэтому затраты озона в эксперименте значительно больше, чем в условиях практики водоснабжения.

В каждом опыте обеззараживали 3 пробы вирусосодержащей смеси объемом 50 ml каждая. При этом в 1-й пробе определяли концентрацию вирусов (до и после озонирования), во 2-й – концентрацию остаточного озона, в 3-й пробе – окисляемость без нагревания (легко-окисляемые вещества) и обычным методом. Цитопатогенное действие вирусов ежедневно учитывали на протяжении 7 суток. Количество доз ТЦЛ₅₀/ml подсчитывали по способу Reed и Muench.

Динамика инактивации энтеровирусов при озонировании воды свидетельствует о связи вирулицидного действия озона с продолжительностью озонирования, величиной остаточного озона, концентрацией и характером (легко- и трудно-окисляемые) примесей (рис. 4.2.3). Так, в течение первых 5 min инактивацию вирусов не обнаруживали; при этом

не определялся и остаточный озон, так как он полностью расходовался на окисление органических веществ. Окисляемость воды за это время снизилась на 10 %. При этом легко-окисляемые вещества были разрушены уже в 1-ю min озонирования. В последующие 2 min, т. е. на 7-й min озонирования, инактивировалось 90% вирусов полиомиелита и 97 % вирусов Коксаки, в воде обнаруживалось около 0,1 mg/l остаточного озона.

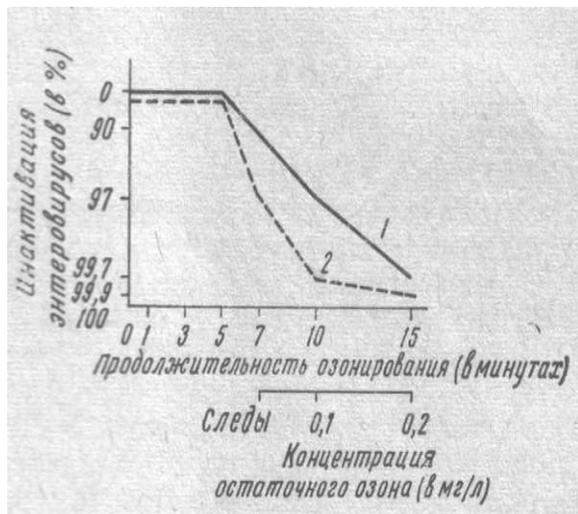


Рис. 4.2.3. Зависимость эффекта обеззараживания речной воды, содержащей вирус полиомиелита и Коксаки, от концентрации остаточного озона в воде. 1 – динамика инаktivации вирусов полиомиелита; 2 – вирусов Коксаки

Затем инаktivация энтеровирусов тормозится, что объясняется, вероятно, неодинаковой устойчивостью отдельных вирусных частиц к действию озона, и к 15-й min озонирования достигает 99,7–99,9 %; остаточный озон определяется в концентрации 0,2 mg/l. Таким образом, по величине остаточного озона можно судить о степени инаktivации энтеровирусов.

Полученные данные позволяют заключить, что вирусы Коксаки В типа 3 менее стойки к действию озона, чем вирусы полиомиелита серотипа 3. По данным литературных источников, первые менее стойки к действию хлора и ультрафиолетовых лучей.

В работе [3.1, 2] на примере аденовирусов было изучено влияние на эффективность озонирования также некоторых других факторов: исходной концентрации и температурного режима. Меньшая озono -

устойчивость аденовирусов по сравнению с кишечной палочкой показана ранее. Влияние исходной концентрации аденовирусов на конечный эффект озонирования демонстрируется следующими опытами. Озонированию подвергали воду, содержащую $25 \text{ ТЦЛ}_{50}/\text{ml}$ и $5 \cdot 10^3 \text{ ТЦЛ}_{50}/\text{ml}$ аденовирусов типа 7а (остаточный озон равен $0,1 \text{ mg/l}$), а также 25 и $5 \cdot 10^2 \text{ ЦЛ}_{50}/\text{ml}$ (остаточный озон равен $0,3 \text{ mg/l}$). Анализ данных инактивации вируса подтвердил, что величина исходного заражения вирусом оказывает существенное влияние на конечный эффект озонирования. Из экспериментов следует, что чем выше исходное заражение вирусом, тем больше остается его после срока контакта.

Температурный фактор, как показали исследования ряда авторов, заметно влияет на бактерицидное действие озона. Авторы попытались установить, существует ли подобная зависимость и при обеззараживании воды, содержащей вирусы. Изучена эффективность озонирования воды при $13\text{--}15$ и $20\text{--}21$ °С. Проведены 2 группы опытов с различной исходной концентрацией вируса ($\lg \text{ТЦЛ}_{50}/\text{ml}$ $2,5$ и $1,4$). В каждой группе по 3 серии опытов.

Как оказалось, при более низкой температуре ($13\text{--}15$ °С) на протяжении всего контрольного срока (10 min) уровень озона в воде был выше, чем при более высокой температуре ($20\text{--}21$ °С). В соответствии с этим наблюдался вирулицидный эффект: при $13\text{--}15$ °С он был выше, чем при $20\text{--}21$ °С. В этих экспериментах разница в температуре составляла лишь $5\text{--}7$ °С. Это обусловило сравнительно небольшое различие в уровнях концентрации озона в вирулицидном эффекте. Очевидно, выявившаяся в опытах тенденция станет более наглядной при большей разнице температур.

В целом следует сказать, что вирулицидный эффект озонирования ухудшается с повышением температуры. Причиной этого служит, по видимому, малая стойкость озона, еще больше уменьшающаяся при повышении температуры. Быстрый распад озона приводит к тому, что процесс обеззараживания остается незавершенным. Кроме того, при повышении температуры понижается растворимость озона в воде, что тоже уменьшает эффективность озонирования.

Первые из известных нам зарубежных исследований были посвящены механизмам инактивации вирусов озоном.

В работе [20, 4.1] изучена кинетика инактивации бактериофага f2 озоном в лабораторных условиях. Установлена быстрая инактивация фага в первые 5 с на 5 и 7 logs при концентрациях озона $0,09$ и $0,8 \text{ mg/l}$, соответственно. В течение следующих 10 min фаг продолжал инаktivироваться более медленно в обоих случаях. Были исследованы [^3H] маркированный уридином фаг f2 и его рибонуклеиновая кислота (РНК)

для объяснения механизма инактивации озоном, для чего использовали адсорбцию, градиентный анализ плотности сахарозы и электронную микроскопию. Результаты показывают, что озон разрушает белки капсулы вируса, освобождая РНК, что уменьшает адсорбцию вируса к клетке - хозяину, при этом РНК инактивируется вне зависимости от степени повреждения капсулы.

Эта ранняя (1980) работа [20, 4.1] интересна в том плане, что подводит итоги еще более ранних исследований вирулицидного действия озона и превосходит более поздние, на которые мы здесь ссылаемся. Уже до этого кинетика инактивации озоном множества микроорганизмов, включая вирусы, активно изучалась в лабораторных и пилотных экспериментах [1-3]. Накопилось большое число данных о превосходстве озона перед другими химическими дезинфектантами [4, 5] с точки зрения более низких концентраций и большей эффективности по отношению к более стойким микроорганизмам, включая цисты амёб и вирусы.

Более раннее представление об инактивации озоном по озонопоглощаемости [6] уточнено данными о пороговом эффекте при озонировании вирусов [7, 8]. Katzenelson и Biedermann [4] сообщали о двухэтапной инактивации озоном, в которой 99 % микроорганизмов инактивируются за 8 сек, а остальные только после нескольких минут контакта. Они продемонстрировали, что такая двухэтапная кинетика обусловлена вирусными агрегатами.

РНК – содержащий бактериофаг f2, который является химически и структурно очень подобным кишечным вирусам, с 1964 г. используется как модель в исследованиях по инактивации кишечных вирусов [9]. С тех пор этот фаг использовался многими исследователями [10-13] при изучении кинетики и механизмов инактивации различными дезинфектантами. Hsu и соавт. [9] показали, что РНК фага f2 и РНК полиовируса стойкие к иодированию, о чем говорит ингибирование инактивации с увеличением концентрации йодида. Фаг f2 использовался Olivieri и соавт. [11] при изучении хлора, брома и иода. Они обнаружили, что способ воздействия зависит от дезинфектанта. Хлор инактивировал голую РНК f2 на том же уровне, что и в неповрежденном фаге при pH 7,5 или ниже. Белок инактивированного фага оказывался интактным, что отражалось на уровне адсорбции фага к клетке - хозяину. Для брома была характерна значительно меньшая инактивация. Они предположили, что первичной мишенью инактивации бромом является белок капсулы вируса. Иод воздействовал на аминокислоту тирозин в белке капсулы фага и почти не оказывал никакого эффекта на нуклеиновую кислоту.

Механизм инактивации озоном был частично изучен при использовании вирусов и бактерий. Используя озон для обеззараживания

вторично – очищенных сточных вод, Ravoni и соавт. [12] установили, что механизм разрушения фага f2 и бактерий является окислительным. Riesser и соавт. [22, 4.1] сообщали, что повреждение белковой капсулы вируса полиовируса типа 2 озоном ингибирует адсорбцию вируса к клетке. Аналогичные данные получены DeMik и DeGroot [19, 4.1] на бактериофаге ϕ X174. Они также наблюдали разрывы в дезоксирибонуклеиновой кислоте фага. Christensen и Giese [55, 4.1] показали, что эффект озона на нуклеиновых кислотах объясняется его действием на пурины и пиримидины. В исследованиях Prat и соавт. [14] и Scott [57, 4.1] на *E. coli* продемонстрировано, что пиримидин и тимин ДНК являются более чувствительными к озону, чем цитозин и урацил. Вместе с тем, эти сообщения предоставляют ограниченную информацию о механизмах инактивации озоном вирусов и, особенно, о влиянии озона на вирусную РНК и белок оболочки вирусов.

Бактериофаг f2 является адекватной моделью в изучении механизма инактивации озоном, поскольку состоит из единственной переплетенной РНК и двух структурных белков с известной последовательностью аминокислот [15]. А также потому, что его подобность кишечным вирусам доказана в предыдущих исследованиях по инактивации хлором и другими дезинфицирующими средствами [10].

Изучение кинетики инактивации бактериофага f2 показало следующее. Быстрая инактивация фага на 5 logs происходила за 5 s при дозе озона 0,09 mg/l и более чем на 7 logs при дозе озона 0,8 mg/l. В течение последующих 10 мин. фаг значительно инактивировался с медленной скоростью при обеих дозах. Специфическая адсорбция фага на клетках *E. coli* K-13 существенно уменьшалась, при этом более медленно при первой дозе и более быстро при второй. При обеих обработках общая тенденция сокращения специфической адсорбции фага характеризовалась ускорением в первые 5 s и замедлением в последующие 10 min. С другой стороны, неспецифическая адсорбция фага на *E. coli* K-15 и на мембране фильтра из нитрата целлюлозы существенно не изменялась при обеих дозах озона.

Интактный фаг контроля и образцы фага, обработанные озоном в дозе 0,09 mg/l за 5 s (т.н. «легкая» обработка) и 0,8 mg/l за 30 s (т.н. «тяжелая» обработка) были седиментированы в 5%-ой сахарозе и фракционированы с отбором 25 капель каждой фракции. С другой стороны, РНК фага f2 была сначала извлечена из фага и затем подвергнута «легкой» или «тяжелой» обработке озоном. Образцы голой РНК были седиментированы и фракционированы тем же способом, как и образцы фага. PFU фага и радиоактивности фага и голой РНК показаны на рис. 4.2.4. Пики кривых PFU в контроле и опыте обнаружены в смеси фракций 9 и 10 во всех трех образцах; более низкие числа PFU найдены в образцах

после «тяжелой» обработки озоном в течение более длительного времени. Однако, радиоактивность (присутствие РНК f2) обработанного озоном фага была локализована в верхних фракциях, у которых были более низкий удельный вес.

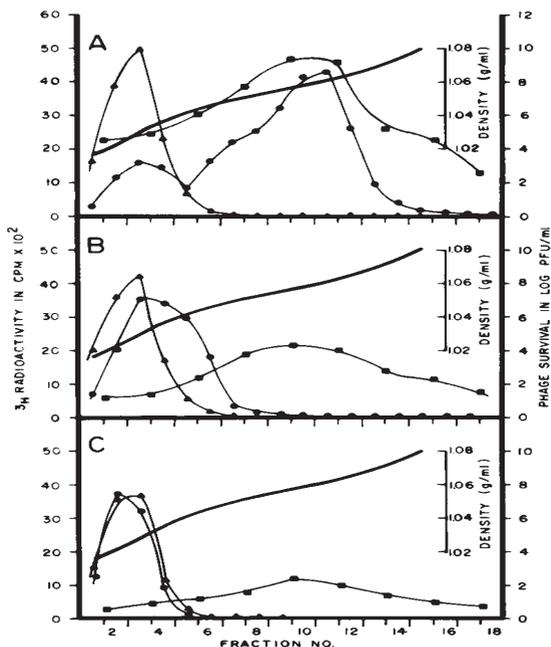


Рис. 4.2.4. Градиентный анализ плотности сахарозы необработанного бактериофага f2 в контроле (A) и образцы после обработки озоном в дозе 0,09 mg/l за 5 s (B) и 0,8 mg/l за 30 s (C). Голая РНК, которая была извлечена из фага, озонирована так же, как фаг. Три отдельных градиента использовались для измерения радиоактивности фага и голой РНК и инфекционности фага. Оба образца фага и голой РНК центрифугировались при 110 000 g 4 h в 5%-ой сахарозе. Для каждой фракции были отобраны 25 капель с поверхности для анализа радиоактивности фага (●) и голой РНК (▲). Для каждой фракции отбирали 50 капель для титрования инфекционности фага (■). Пики PFUs оставались в смеси фракций 9 и 10 после озонирования, тогда как пики радиоактивности образцов голых РНК были вызваны озонированием. Радиоактивность всех образцов голых РНК была практически неизменна с пиками во фракции 3. Следует отметить незначительный пик радиоактивности образца фага контроля во фракции 3

Радиоактивность фага в контроле была найдена, главным образом, в тех же фракциях, в которых отмечен пик кривой PFU (рис. 4.2.4А), но радиоактивность после легкой и тяжелой обработки наблюдалась во фракциях 3 и 4 и фракциях 2 и 3, соответственно (рис. 4.2.4В и 4.2.4С). Радиоактивность голой РНК в контроле и обработанные озоном образцы голой РНК были почти идентичными; их пики были во фракциях 2 и 3 во всех трех образцах. Распределение тяжело обработанной голой радиоактивной РНК было идентично такому же тяжело обработанному образцу фага (рис. 4С), что указывает на выход РНК из озонированного фага в воду.

Чтобы доказать утечку РНК из фага во время озонирования и корреляцию определенной адсорбции обработанного озоном фага с уровнем инактивации фага, контрольный и обработанный озоном фаг смешивали с бактериями и наблюдали под электронным микроскопом (рис. 4.2.5). Фаг контроля сохранял целостность двадцатигранной структуры (рис. 4.2.5А), тогда как неадсорбированный фаг был рассеян на отдельные частицы. Несколько разрушенных частиц наблюдались также в контрольном образце. В образцах фага после «легкой» обработки озоном отмечены некоторые разрушенные фаги, а неповрежденный фаг присоединен к клеткам (рис. 4.2.5В). В случае «тяжелой» обработки (рис. 4.2.5С) обнаруживались только некоторые неповрежденные фаги на заднем плане и фрагменты белка капсулы вируса.

Фракции выживших фагов и голых образцов РНК были исследованы после озонирования по сравнению с РНК, извлеченной из фага ранее и обработанной озоном (рис. 4.2.6).

В случае «легкой» обработки озоном РНК, извлеченная из обработанного озоном фага (приблизительно 5 logs инактивации), показала порядка 3 logs инактивации, но отдельно обработанная голая РНК потеряла меньше 1 log во время озонирования (рис. 4.2.6А).

В «тяжело» обработанном образце фага РНК, извлеченная из обработанного фага и голая РНК, показали более 7, 5, и 2 logs инактивации соответственно (рис. 4.2.6В). В обеих обработках голая РНК была намного менее инактивирована, чем РНК в фаговой частице.

Для исследования любого различия в нормах инактивации между голой РНК и РНК в фаге, обработанные озоном и необработанные образцы обеих РНК были седиментированы в 5%-ой сахарозы и фракционированы с отбором 15 капель каждой фракции. Градиентный анализ плотности сахарозы показан на рис. 4.2.7. В голых образцах РНК (рис. 4.2.7А) была немного изменена скорость отложения осадка после обработки озоном, пики радиоактивности отмечены в верхних фракциях с более низким удельным весом. С другой стороны, РНК, извлеченная

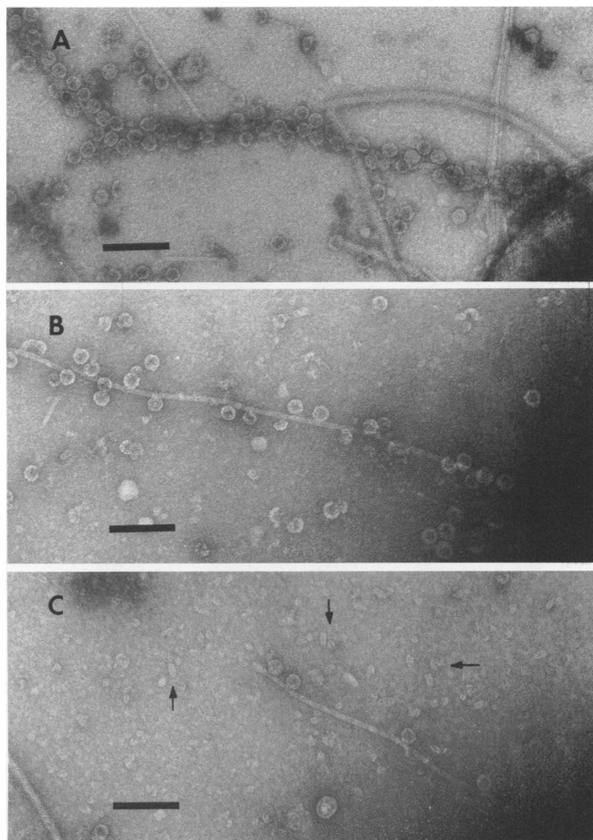


Рис. 4.2.5. Электронные микрофотографии фага f2 в контроле (А) и фага, обработанного озоном в дозе 0,09 mg/l за 5 s (В) и 0,8 mg/l за 30 s (С). Образцы фага, адсорбированные к бактериям хозяина, были окрашены 2 % гранилацетатом. Контрольный образец показал целостность почти всех фаговых частиц, многие из которых адсорбированы к клеткам хозяина. Несколько из них отмечены как частично поврежденные. Часть «легко» обработанного фага была не повреждена и адсорбирована к клеткам, часть разрушена. Большая часть «тяжело» обработанного фага была разрушена до фрагментов капсулы вируса и только несколько из них оставались неповрежденными, адсорбированными или неадсорбированными. Стрелками показаны многочисленные фрагменты белка капсулы вируса. Разрешение – 0,1 μ.

из фага ранее и обработанная озоном, после озонирования седиментировалась более медленно, чем голая РНК (рис. 4.2.7B). Различия в изменении скоростей отложения осадка между голой РНК и РНК, извлеченной из ранее обработанного озоном фага, согласуются с результатами, показанными на рис. 4.2.6. Это свидетельствует, что голая РНК в меньшей степени инактивируется озоном, чем РНК в неповрежденном фаге. Распределения радиоактивности обеих групп РНК после озонирования были смещены к фракциям с более низким удельным весом в зависимости от концентрации озона и продолжительности реакции.

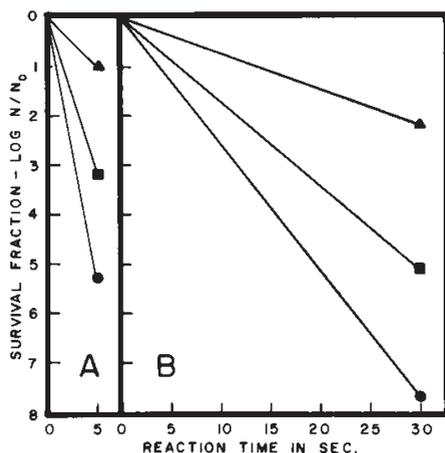


Рис. 4.2.6. Сравнение фракций выжившего фага f2 (●), РНК, извлеченная из фага ранее, обработанная озоном (■), и голая РНК (▲). Образцы обрабатывали озоном в дозе 0,09 mg/l за 5 s (A) и 0,8 mg/l за 30 s (B). РНК, извлеченная из обработанного озоном фага, была менее инактивирована, чем фаг и более инактивирована, чем голая РНК, в обеих обработках

Таким образом, в этой работе продемонстрирована инактивация бактериофага f2 в результате быстрой реакции при низких дозах озона, что было отмечено ранее Venosa [5]. Только 5 с **необходимы для инактивации** фага на 5 logs озоном в дозе 0,09 mg/l, но более длительное время необходимо для полной инактивации (10 мин при дозе озона 0,8 mg/l). Кинетика инактивации фага показала двухэтапное действие озона. Ранее это показано Katzenelson и соавт. [7] для полиовируса 1. Есть свидетельство, что агрегация небольшого количества кишечных вирусов, защищая их от контакта с дезинфицирующими средствами, может уменьшить уровень инактивации.

Katzenelson и Biedermann [4] предложили сохранять фаг при 70 °С перед использованием, чтобы уменьшить любые возможные изменения в его чувствительности к озону. В этом исследовании агрегация фагов не была обнаружено электронной микроскопией.

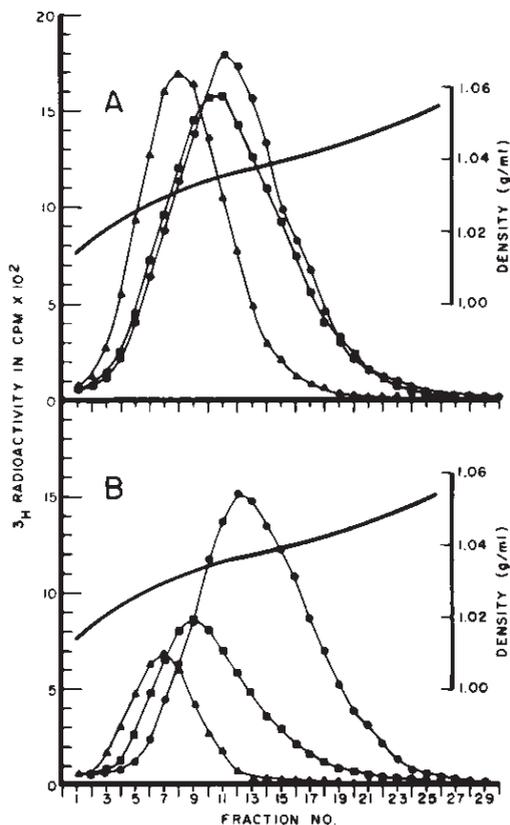


Рис. 4.2.7. Градиентный анализ плотности сахарозы озонированной голый РНК (А) и РНК, извлеченная из фага ранее, обработанной озон (В). Образцы РНК контроля (●), РНК, обработанная озонем в дозе 0,09 mg/l за 5 s (■) и 0,8 mg/l за 30 s (▲), центрифугировались в 5 %-ом градиенте сахарозы при 149 000 g 8 h, 15 капель каждой фракции были отобраны с поверхности. РНК, извлеченная из обработанного озонем фага, отмечена в верхних фракциях, которые имеют более низкую плотность, по сравнению с голый РНК в обеих обработках

Электронные микрофотографии обработанного озоном фага показали разрушение и альтерацию фаговых частиц. Степень повреждения была пропорциональна концентрации озона и времени реакции. «Легко» обработанный фаг показал некоторые деформированные частицы и большие части разрушенных капсул вируса, тогда как однородные частицы капсулы наблюдались в «тяжело» обработанных фагах. Эти субъединицы напоминают субъединицы S 11 бактериофага f2 [17] и R17 [18], которые были получены при обработке фагов 4 М гуанидина гидрохлорида при нейтральном рН. О повреждении белковой оболочки озоном сообщали и в содержащем РНК полиовирусе [26, 4.1], и в содержащем дезоксирибонуклеиновую кислоту бактериофаге ϕ X174 [19, 4.1]. Эти изменения сопровождаются сдвигами спектральной поглощательной способности белков и аминокислот [26, 4.1] после воздействия озона, при этом белки инактивируются непосредственно вследствие реакции озона с восприимчивыми кислотными остатками аминокислот цистеина, триптофана и метионина как самыми восприимчивыми среди аминокислот. Также показана особенная чувствительность к озону триптофана и метионина [19]. Разрушение фага f2 озоном, таким образом, может быть объяснено, так как белки оболочки содержат цистеин, триптофан и метионин.

Результаты, полученные в этом исследовании, показывают, что озон разрушает белковую капсулу фага f2 на многие субъединицы, освобождая РНК и ингибируя адсорбцию к клетке хозяина. РНК в интактном фаге была менее инактивирована озоном, чем целый фаг, но более инактивирована, чем голая РНК. Это позволяет предположить, что белок оболочки может быть вовлечен в инактивацию РНК, вероятно, вследствие вторичной реакции РНК с молекулами белка, измененными озоном. РНК, извлеченные из фага f2 до и после обработки озона, сохранили свою инфекционность к сферопластам после озонирования несмотря на некоторое сокращение. Эти результаты показывают, что РНК кишечных вирусов может сохранять свою инфекционность после освобождения из вирусных частиц во время озонирования воды и сточных вод, если они инактивированы озоном при тех же условиях, что и фаг f2.

В работе [23, 4.1] исследован механизм инактивации энтеровирусов озоном на модели полиовируса 1 (Mahoney). Озон альтерировал две из четырех полипептидных цепей в вирусной белковой оболочке полиовируса. Однако, это существенно не изменяло вирусную адсорбцию или целостность вирусной частицы. Показано, что повреждение вирусной нуклеиновой кислоты - главная причина инактивация озоном полиовируса 1.

Энтеровирусы состоят из рибонуклеиновой кислоты (РНК) 2×10^6 дальтон в белковой оболочке, состоящей из 60 капсомеров. Толщина белковой оболочки составляет приблизительно 6 nm, **общая молекулярная масса** $5,7 \times 10^6$. Каждый капсомер имеет молекулярную массу порядка 95 000 и состоит из четырех полипептидных цепей с молекулярными массами 35 000, 28 000, 24 000 и 8 000 [20].

Полиовирусная инфекция начинается с адсорбции вируса на клетке хозяина. После вскрытия белковой оболочки вирусная РНК проникает в цитоплазму клетки, где начинается синтез белков и репликация РНК. После периода исчезновения (так названа эта фаза Martin и Work [21]), когда идет накопление вирусной РНК и белка, появляются зрелые вирусы. Очевидно, что любое вещество, чтобы быть эффективным как вирулицидный агент, должно быть способным к физическому разрушению вириона или реакции с белковой оболочкой или вирусной РНК или обоими путями таким образом, чтобы предотвратить вирусную репликацию.

Цель этого исследования [23, 4.1] состояла в объяснении механизма энтеровирусной инактивации озоном путем идентификации главной реакции или летального участка, вовлеченных в этот процесс.

Изучение влияния озона на структурную целостность вируса показало следующее. Маркированный [^3H] уридином полиовирус 1 был обработан озоном в остаточной концентрации 0,32 mg/l в течение 30 s при комнатной температуре. Необработанные и обработанные озоном маркированные вирусные препараты центрифугировали на 10-40 %-ой сахарозе 2 h при 35 000 g/min при 5 °C, фракционировали и определяли изотоп. Как показано на рис. 4.2.8, и во втором, и в первом случаях наблюдался единственный пик радиоактивности, что указывает на чрезвычайную гомогенность препаратов неповрежденных вирусных частиц. Коэффициент седиментации, вычисленный по методу Гриффита [22], составил порядка 158S, **что согласуется с диапазоном 153 -160S для полиовируса по Ruckert [23].**

Если бы маркированные [^3H] уридином вирусы были так существенно повреждены озоном, то это вызвало бы выход нуклеиновой кислоты, имеющей намного более низкую молекулярную массу, что отразилось бы на результатах седиментации. Эти результаты свидетельствуют, что структурная целостность вируса в результате воздействия озона существенно не изменялась и большинство вирионов оставались интактными.

Несмотря на это, авторы не исключили, что частичное повреждение или незначительную альтерацию вирусного капсида в одной или более полипептидных цепях. Для проверки этой гипотезы вирусы, маркированные ^{14}C -аминокислотой, обрабатывали озоном с остаточной

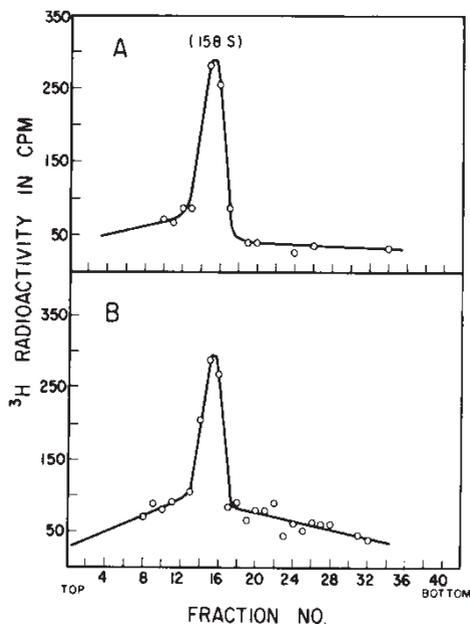


Рис. 4.2.8. Анализ центрифугирования $[^3\text{H}]$ маркированного уридином полиовируса 1 на 10 %-ой сахарозе в течение 2 h при 35 000 g/min и 5 °C для (A) контрольной вирусной суспензии и (B) вирусов, обработанных озоном в остаточной концентрации 0,32 mg/l за 30 s.

концентрацией 0,7 mg/l в течение 60 s и затем проанализированы гель электрофорезом в SDS-полиакриламиде. **Необработанные вирусы** использованы в качестве контроля. Электрофоретический профиль необработанных вирусов (рис. 4.2.9A) показал три больших пика, соответствующие полипептидным цепям VP1, VP2 и VP3, и небольшой пик VP4. Структура этих полипептидов соответствовала тем, о которых сообщает Maizel и соавт. [24]. Сравнение этого контроля с опытом (рис. 4.2.9B) показывает возможное повреждение полипептидных цепей VP1 и VP2. Кроме того, отмечено появление нового пика с фракцией номер 19, что позволяет предположить возможное разрушение полипептидной цепи большой молекулярной массы. Полипептидная цепь VP4, по-видимому, оставалась интактной. Для энтеровирусов было показано, что VP4 ответственен за вирусную адсорбцию [25-28]. Профили белка, показанные здесь и исследования адсорбции, обсужденные ниже, указывают, что инактивация энтеровирусов низкой дозой озона не может быть объяснена повреждением вирусной капсулы.

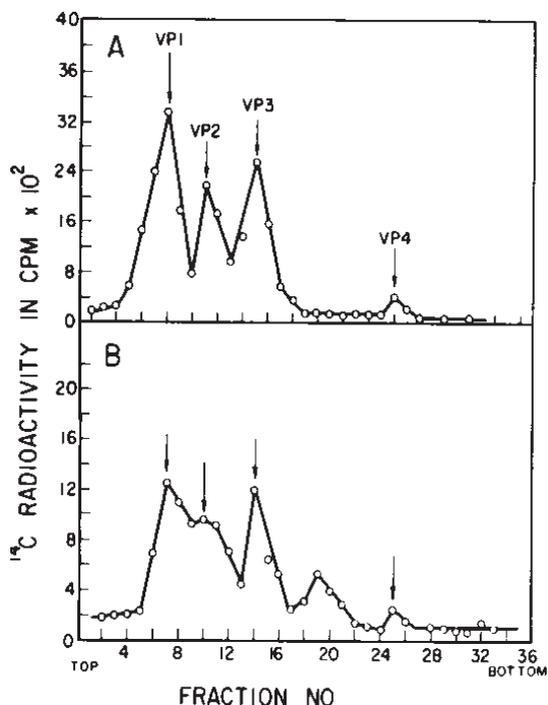


Рис. 4.2.9. Образец гель – электрофореза белка полиовируса в SDS-полиакриламиде для (A) контрольной вирусной суспензии; и (B) вирусов, обработанных озоном в остаточной концентрации 0,7 mg/l за 60 s. Полиовирусы были маркированы смесью ^{14}C -аминокислоты

Таким образом, инактивация полиовируса 1 озоном связана с изменением в полипептидной структуре белковой оболочки. Хотя такое изменение не вызывало распад вирусных частиц, возможность воздействия на адсорбцию вирусных частиц на клетках - хозяевах не могла быть исключена. После адсорбции вирусы проникают в клетки – хозяева, при этом адсорбция и проникновение рассматриваются авторами [23, 4.1] как один процесс.

В следующем эксперименте различные образцы тех же препаратов полиовируса 1, маркированных ^{3}H уридином, были обработаны различными концентрациями остаточного озона за 30 s при pH 7,2 и инокулированы на монослой клеток. После инкубации была измерена связанная с клеткой радиоактивность. Результаты представлены на рис. 4.2.10.

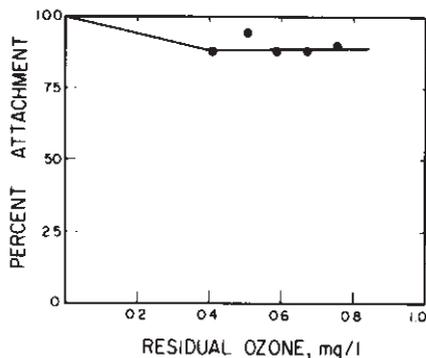


Рис. 4.2.10. Влияние различных концентраций озона на адсорбцию – пенетрацию полиовируса 1 к клетке – хозяину BGM за 30 сек при рН 7,2. Вирусы были маркированы [³H] уридином

Процент адсорбции – пенетрации (проникновения) был вычислен как отношение связанного с клеткой изотопа при остаточной концентрации озона 0,51 mg/l и рН 7,2. Маркированный ¹⁴C-аминокислотой полиовирус был обработан с учетом этой концентрации в течение различных экспозиций. Результаты этих экспериментов представлены на рис. 4.2.11. Сокращение процента адсорбции – пенетрации, полученного в эксперименте, было выше, чем в предыдущем. Это увеличенное сокращение можно объяснить потерей радиоактивности от полипептидных цепей VP1 и VP2, которые не принимают участие в процессе адсорбции. Приблизительно 1 log различия наблюдался между кривой выживания (survival) и кривой проникновения (penetration) (рис. 4.2.11). Это указывает, что альтерация вирусной белковой оболочки, возможно, не главная причина инактивации.

Для определения повреждения вирусной РНК озоном [³H] маркированные уридином полиовирусы обработаны озоном при остаточной концентрации 0,31 mg/l при рН 4,3 за 45 s. Затем извлекали РНК из контрольных и опытных образцов, центрифугировали на 5%-ой сахарозе при 35 000 g/min 210 min. Результаты этих экспериментов представлены на рис. 4.2.12А и 4.2.12В.

Профиль седиментации осадка РНК, извлеченной из вируса контроля (рис. 4.2.12А), показывает активность маркированного вируса в контрольной суспензии. Данные, представленные на рис. 4.2.10, показывают, что сокращение процента вирусной адсорбции – пенетрации существенно не изменилось после обработки озоном с остаточными концентрациями до 0,8 mg/l.

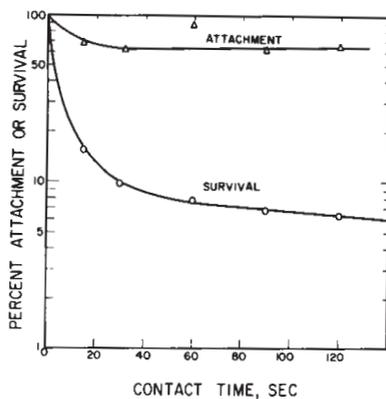


Рис. 4.2.11. Влияние озона в концентрации 0,51 мг/л на адсорбцию – пенетрацию полиовируса 1 к клетке – хозяину ВGM и выживание при 20 °С и рН 7,2. Вирусы были маркированы смесью ^{14}C -аминокислоты. Процент выживания вычислен как отношение титров обработанных вирусов к контрольным

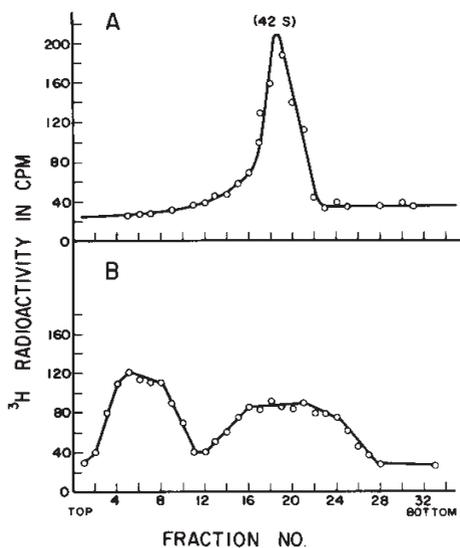


Рис. 4.2.12. Анализ центрифугирования РНК маркированного [^3H] уридином полиовируса 1 на 5 %-ой сахарозе при 35 000 g/min в течение 210 min. (A) РНК, извлеченная из вирусной суспензии в контроле; (B) РНК, извлеченная из озонированной вирусной суспензии при остаточной концентрации озона 0,3 мг/л в течение 30 s при рН 4,3.

Коэффициент отложения осадка РНК в пике (рис. 4.2.12В) составлял 42 по методу Гриффита [22], что коррелируется с данными литературы о таком коэффициенте для РНК полиовируса [25]. Профиль отложения осадка РНК обработанных озоном вирусов (рис. 4.2.12В) показывает, что вирусная РНК была повреждена озоном путем фрагментации на много коротких цепей.

В обсуждении авторы [23, 4.1] отмечают следующее.

Инактивация вирусов определяется по потере способности к репликации в клетке - хозяине. Рассматривая структуру кишечных вирусов, разумно предположить, что озон вызывает физическое разрушение вириона путем разрушения белковой оболочки или нуклеиновой кислоты или обоими путями. Таким образом, повреждение вируса может выражаться во: (i) внеклеточных реакциях между клетками - хозяевами и вирусными частицами, приводящими к адсорбции и последующему проникновению вирусов в клетку - хозяина; или (ii) внутриклеточных реакциях после проникновения вирусного генома в клетку - хозяина или в обоих механизмах.

Внеклеточные реакции начинаются, когда вирусная частица адсорбирована на поверхности восприимчивой клетки - хозяина. Это, вероятно, включает взаимодействие между белком капсулы вируса и определенными компонентами мембраны клетки - хозяина. Rekosh [29], в обзоре относительно молекулярной биологии вирусов предположил, что вирусный полипептид VP4 играет важную роль в адсорбционном процессе. Crowell и Philipson [27], Longer-Holm и Kornat [28] продемонстрировали, что вирусы Коксаки и риновирусы с дефицитом VP4 могут быть элюированы от клеток хозяев, которые они поражают. Кроме того, Cords и соавт. [26], Breindl и Koch [25] сообщали, что потеря в инфекционности к клетке - хозяину связана с потерей полипептидной цепи VP4 у полиовируса и вирусов Коксаки.

В исследованиях механизма инактивации полиовируса озоном Riessler и соавт. [22, 4.1] установили, что после реакции с озоном капсула вируса повреждена. Они заключили, что это, в свою очередь, влияет на адсорбцию вируса к восприимчивой клетке - хозяину. Однако, их результаты показали, что это не главная причина вирусной инактивации озоном.

В другой работе Mudd и соавт. [26, 4.1] исследованы реакции озона с белками аминокислот. Они сообщили, что цистеин, метионин, триптофан, тирозин, гистидин, цистин и фенилаланин окисляются озоном, тогда как другие аминокислоты остаются интактными. Влияние озона на нуклеиновые кислоты было изучено Christensen и Giese [55, 4.1]. Они использовали метод оценки спектральной поглощательной

способности при длине волны 260 nm, которая приблизительно пропорциональна концентрации нуклеиновых кислот. После 15 s воздействия озоном пиковая спектральная поглощательная способность уменьшилась до 50 % по сравнению с контролем, а при экспозиции 60 s не обнаруживалась.

Сравнение электрофоретических профилей обработанных озоном вирусов с таковыми в контроле показало, что две полипептидных цепи капсулы вируса VP1 и VP2 были повреждены озоном. Наименьшая вирусная полипептидная цепь, которая ответственна за адсорбцию (VP4), существенно не повреждалась. Как показано, адсорбция обработанных озоном вирусов была меньше по сравнению с контролем. Однако, это не позволяет судить о значимой инактивации. Таким образом, можно прийти к заключению, что способность вирусов адсорбироваться к клеткам - хозяевам существенно не изменилась в результате воздействия озона с низкой остаточной концентрацией. Это заключение подтверждается отсутствием изменений полипептидной цепи VP4, которая отвечает за адсорбцию вируса.

Сравнивая профили седиментации осадка нуклеиновых кислот, обработанных озоном, с контролем, авторы [23, 4.1] отметили, что вирусная нуклеиновая кислота повреждается в результате озонирования. Очевидно, что главной причиной вирусной инактивации озоном при остаточной концентрации меньше 0,3 мг/л и времени контакта до 2 минут, как это определено на полиовирусе 1, является повреждение РНК. Это заключение совпадает с результатами кинетических исследований [31], согласно которым инактивация вирусов озоном вызывается его диффузией через белковую оболочку и воздействием на нуклеиновую кислоту.

На основании изложенных выше исследований [23, 4.1, 30] этими же авторами [31] разработана математическая модель инактивации энтеровирусов озоном, согласно которой прогнозируемые уровни выживания согласовывались с экспериментальными данными.

Авторы [31] заключают, что вирусная инактивация озоном отклонялась от простой кинетики первого порядка, при этом такое отклонение не может быть объяснено гетерогенностью вирусной популяции. Рассчитанные значения выживания вирусов по этой модели находились в близком согласовании с экспериментальными данными.

Согласно упоминавшемуся правилу Chick (1908) [53, 4.1] выживание микроорганизмов может быть описано экспоненциальной функцией времени в виде линейного графика зависимости логарифма выживания от экспозиции. Однако, экспериментальные данные инактивации сильными окислителями микроорганизмов редко выражают линейную

зависимость. Полученные нелогарифмические кривые выживания обычно приписывались ошибкам измерения или неоднородности популяции и/или выборки. Понятие микробной популяции микроорганизмов с различной чувствительностью к летальным агентам известно как «виталистическая концепция» [32], которая была популярна в течение некоторого времени, но дальнейшие исследования показали, что она не может адекватно объяснить нелогарифмические кривые выживания, полученные при тщательно разработанных дизайнах экспериментов.

Была также предложена «механистическая концепция» для объяснения нелогарифмического микробного выживания, которая объясняет нелинейность специфическими функциями микроорганизма. Согласно этой концепции, нелинейность обусловлена неединичностью порядков реакции. Различные возможные кривые выживания были рассмотрены Hiatt (1964) [33] и Prokop и Humphrey (1970) [34].

Berg и др. (1967) [35] получили нелогарифмические кривые выживания при инаktivации энтеровирусов иодом и объяснили формирование «плеча» присутствием скоплений на основе мультитихит-модели. Chang (1971) [36] и Wei и Chang (1975) [37] предложили более сложную базовую мультимультитихит-модель для вариации размеров скоплений. Другой эмпирический подход был разработан Clark и Niehaus (1967) [38] и Clark (1968) [39], которые использовали двойное суммационное уравнение для объяснения конфигурации «плеча» на кривых вирусной инаktivации.

Зачастую в экспериментах по вирусной инаktivации при использовании различных дезинфектантов получают изгиб вверх вместо плеча: это явление не может быть объяснено присутствием скоплений. Gard (1957) [40] при изучении инаktivации полиовируса формальдегидом получил логарифм выживания с изгибом вверх и разработал эмпирическое уравнение для описания полученных результатов. Автор пришел к выводу, что в результате реакции формальдегида с белковой оболочкой вируса последняя приобретает прогрессирующую непроницаемость, минимизируя транспорт формальдегида. Такая вогнутость вверх или «эффект наращивания» также наблюдались в исследованиях Katzenelson и соавт. (1974) [7] и Riesser и соавт. (1977) [22, 4.1] при использовании озона для инаktivации полиовируса. Подобные кривые инаktivации получены Engelbrecht и соавт. (1978) [41] при инаktivации хлором энтеровирусов. Koch (1960) [42] также сообщал о тепловых кривых инаktivации полиовируса с двумя компонентами и предложил базовую схему реакции при условии, что тепловая денатурация белка и нуклеиновых кислот продолжается одновременно с различной скоростью. Hiatt (1964) [33] предположил, что, если наклон изменений кривой выживания выше

выживания на 0,001 %, выбор между механистическим и виталистическим понятием должен быть доказан сопутствующей информацией. Однако, в настоящее время математические модели инактивации энтеровируса, которые показывают «эффект наращивания», отсутствуют.

Цель работы состояла в разработке математической модели инактивации энтеровирусов озоном на основе кинетической и механистической информации, полученной в непрерывной струе смешанного реактора (Roy и соавт., 1980) [43].

Установлено, что степень инактивации полиовируса увеличилась с возрастанием остаточной концентрации озона в диапазоне 0,1-0,21 мг/л (рис. 4.2.13). Кинетика инактивации озоном полиовируса при трех температурах показала увеличивающуюся скорость инактивации с увеличением температуры (рис. 4.2.14). Кривые выживания, представленные на рис. 4.2.13, 4.2.14, показывают вогнутую восходящую тенденцию; то есть начальная быстрая скорость инактивации сопровождалась более медленной скоростью инактивации.

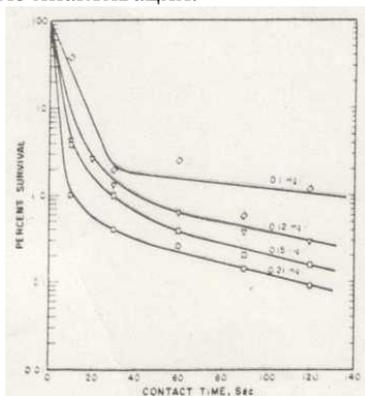


Рис. 4.2.13. Влияние остаточного озона на выживаемость полиовируса 1 при 20 °С, рН 7,2 (Roy et al., 1980).

О кривых выживания с уменьшением скорости инактивации и увеличением отставания от кинетики первого порядка часто сообщали и приписывали это неоднородности вирусной популяции. В этом случае, под неоднородностью понималась, по-видимому, различная чувствительность вирусов к дезинфектанту. Если такая гетерогенная вирусная популяция обрабатывается дезинфицирующим средством, сначала инактивируются более чувствительные вирусы с высокой скоростью и затем более стойкие вирусы с медленной скоростью. Эта интерпретация кривых выживания, имеющих вогнуто-восходящую форму, известна как «виталистическая концепция» [32].

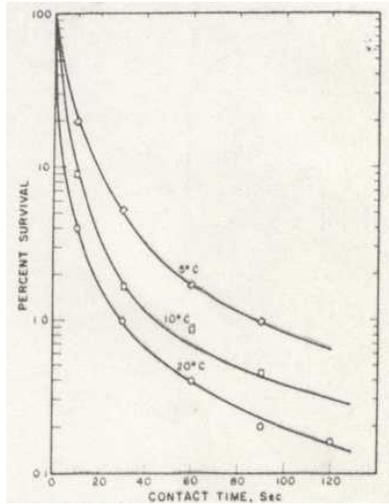


Рис. 4.2.14. Влияние температуры на выживаемость полиовируса 1 при pH 7,2 и концентрации остаточного озона 0,15 mg/l

Из вышеупомянутого обсуждения очевидно, что дезинфекция гетерогенной популяции произведет вогнуто-восходящую кривую выживания, однако, вогнуто-восходящая кривая выживания не обязательно является отражением гетерогенной популяции микроорганизмов. Например, в исследованиях Gard (1957) [40] по инаktivации полиовируса формальдегидом автор объяснил вогнуто-восходящие кривые выживания прогрессирующим формированием непроницаемой белковой оболочки.

Дополнительные эксперименты были выполнены для определения причины вогнуто-восходящей тенденции кривых выживания (рис. 4.2.13, 4.2.14) при инаktivации энтеровирусов озоном. Так называемая резистентная культура полиовируса была получена из суспензии полиовируса, ранее обработанной озоном с остаточной концентрацией 0,12 mg/l при 120 s, то есть от хвоста или вогнуто-восходящей части кривой выживания. Вирусы, пережившие воздействие такой концентрации озона, как можно логически предположить, будут самыми стойкими при специфических экспериментальных условиях. Резистентные вирусы были рекультивированы, очищены и инаktivированы при прежних условиях. Кривую выживания резистентных вирусов, инаktivированных озоном в остаточной концентрации 0,12 mg/l при pH 7,2 и 20 °C, показано на рис. 4.2.15. Также представлена кривая выживания оригинальной вирусной суспензии, обработанной при идентичных

условиях. Очевидно, что кинетика инактивации для этих двух вирусных суспензий значительно не отличается. Это наблюдение ясно показывает, что вогнуто-восходящая тенденция кривых выживания, наблюдаемых в этом и других исследованиях, не объясняется присутствием вирусов, более стойких к озону.

Кинетика вирусной инактивации озоном в непрерывной струе смешанного реактора может быть выражена следующим уравнением:

$$\frac{dN}{dt} = -kN^a$$

где:

dN/dt = процент вирусной инактивации;

k = константа скорости при постоянном остаточном озоне и температуре;

N = число жизнеспособных вирусов за время « t »;

a = порядок реакции относительно вирусной концентрации.

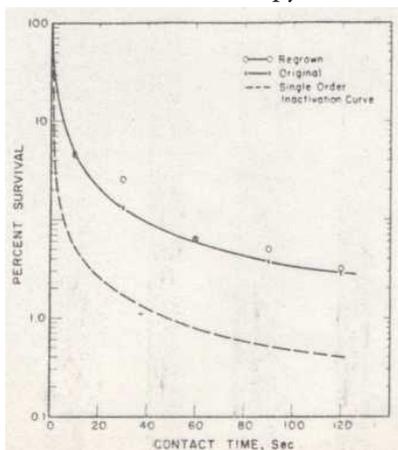


Рис. 4.2.15. Сравнение выживаемости резистентных и исходных полиовирусов 1 после воздействия озоном в остаточной концентрации 0,12 mg/l при 20 °C и pH 7,2

Анализ кинетических данных показывает значение порядка реакции от 0,65 до 0,72 для диапазона температур 5-20 °C и диапазона концентрации остаточного озона 0,1-0,21 mg/l. Этот диапазон свидетельствует, что инактивация энтеровирусов озоном не следует за кинетикой первого порядка. Гипотетическую кривую вирусной инактивации согласно кинетике первого порядка показывает на рис. 4.2.15 пунктирная линия.

Как сообщали ранее авторы этой работы [31], при воздействии на полиовирус озон альтерирует две из четырех полипептидных цепей вирусной белковой оболочки (Roy и соавт., 1981 a,b) [23, 4.1; 30]. Однако, это повреждение не ослабляло значительно способность вируса к адсорбции/пенетрации в клетку хозяина. Нуклеиновая кислота вируса также была повреждена, поэтому авторы пришли к заключению, что это было главной причиной вирусной инактивации озоном. Другое важное наблюдение состояло в том, что вирусная популяция, состоящая из отдельных вирионов, после воздействия озона не формировала агрегаты.

Развитие модели

Экспериментальные результаты исследований кинетики и механизма вирусной инактивации озоном [23, 4.1; 30] позволяют разработать следующую математическую модель.

1. Кривые выживания при инактивации озоном полиовируса не следовали за кинетикой первого порядка: за начальной высокой скоростью инактивации следует более медленная.

2. Существенная инактивация полиовируса наблюдалась в течение времени контакта менее 10 с при остаточном озоне 0,10 mg/l. Это наблюдение четко аннулирует предложенный ранее эффект “все или ничего” озона при инактивации вирусов.

3. Отсутствие любой конфигурации плеча в кривых выживания указывает на отсутствие вирусных агрегатов.

4. Вирусная популяция была гомогенной, то есть состояла из идентичных по своей резистентности вирусов.

5. Исходная агрегация вирусных частиц после озонирования существенно не изменялась.

6. Воздействие озона на энтеровирусы существенно не ослабляло адсорбцию вирусов к восприимчивым клеткам – хозяевам, несмотря на некоторые изменения в белке вирусной оболочки.

7. Потеря инфекционности, вероятно, объясняется повреждением нуклеиновой кислоты.

Основываясь на вышеупомянутых результатах, можно разработать общие математические выражения для вирусной инактивации озоном в реакторе непрерывной струи. При этом следует исходить из того, что механизм вирусной инактивации представляет собой комплекс подобных реакций. Эти индивидуальные реакции могут иметь различные порядки, но из-за нехватки достаточной информации, они, предположительно, удовлетворяют условиям кинетики первого порядка. Две общих модели вирусной инактивации, которые совместимы с вышеупомянутыми результатами, обсуждены ниже.

Модель 1

Вероятно, реакция озона с белком оболочки позволяет ему диффундировать внутрь вируса с последующей деградацией нуклеиновой кислоты и инактивацией вируса. Таким образом, процесс инактивации может визуализироваться как:



где:

V – инфекционные вирусы с неповрежденной белковой оболочкой и нуклеиновой кислотой:

I – инфекционная промежуточная форма вируса с небольшим повреждением белковой оболочки, но неповрежденной нуклеиновой кислоты:

D – неинфекционный вирус:

N – общее количество бляшко-образующих единиц V + I;

k_1, k_2, k_3 = константы скорости реакций.

В вышеупомянутой схеме предполагается повреждение белка оболочки вируса в виде промежуточной формы, однако способность вируса проникать в клетку хозяина не изменена; эти вирусы являются все еще инфекционными и образуют бляшки на культуре клеток. Таким образом, общее количество бляшко-образующих единиц является суммой инфекционных вирусов, то есть V + I.

Отношение выживания вирусов для вышеупомянутой схемы может быть получено из массового баланса различных компонентов в непрерывной струе при стационарных условиях:

$$\text{ВХОД} = \text{ВЫХОД} + \text{ИНАКТИВАЦИЯ} \quad (2)$$

Используя уравнение (2) массовый баланс для компонентов V и I может быть изложен следующим образом:

$$QC_{vo} = QC_v + k_1 C_v V + k_2 C_v V \quad (3)$$

и

$$QC_{io} = QC_i - k_2 C_i V + k_3 C_i V \quad (4)$$

где

Q – расход, ml / min;

V – объем жидкости реактора, ml;

t = время задержки V/Q ;

C_{vo} - начальная концентрация инфекционных вирусов;

C_{io} - начальная концентрация промежуточной формы = 0;

C_o - концентрация жизнеспособных вирусов за время t ;

C_i - концентрация промежуточной формы за время t .

От уравнения (3):

$$C_{vo} = C_v + (k_1 + k_2) C_{vt}$$

$$\frac{C_v}{C_{v0}} = \frac{1}{1+k_1 t+k_2 t}$$

и от уравнения (4)

$$0 = C_i - k_2 C_v t + k_3 C_i t$$

$$\frac{C_i}{C_v} = \frac{k_2 t}{1+k_3 t} \quad (5)$$

или

$$\frac{C_i}{C_{v0}} = \frac{k_2 t}{1+k_3 t} \frac{C_v}{C_{v0}} \quad (6)$$

Замена C_v/C_{v0} от уравнения (5) в уравнении (6) дает уравнение

$$\frac{C_i}{C_{v0}} = \frac{k_2 t}{1+k_3 t} \frac{1}{1+k_1 t+k_2 t} \quad (7)$$

Добавление уравнений (5) и (7)

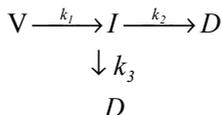
$$S = \frac{C_v + C_i}{C} = \frac{1+k_2 t+k_3 t}{(1+k_3 t)(1+k_1 t+k_2 t)} \quad (8)$$

где S – отношение выживания, полученное из экспериментальных результатов.

Модель 2

Во второй модели исходили из вероятности, что озон реагирует с белковой оболочкой путем ее повреждения. Эта промежуточная форма может быть определена как I , в котором поврежден белок оболочки, но вирусы все еще инфекционные. Повреждение белка оболочки лимитируется полипептидными цепями, которые не могут вовлечены в

процесс приложения. Добавленный озон может затем реагировать с промежуточной формой с инактивацией или дальнейшим повреждением полипептидной цепи или нуклеиновой кислоты. Эта схема инактивации может быть представлена так:



Выживание S для этой схемы может быть получено подобно Модели 1:

$$S = \frac{C_v + C_i}{C_{v0}} = \frac{1 + k_1 t + k_2 t + k_3 t}{1 + k_1 t (1 + k_2 t + k_3 t)} \quad (9)$$

где символы подобны Модели 1.

Анализ модели.

У математических моделей, разработанных выше, есть общее выражение:

$$S = \frac{1 + At}{(1 + Bt)(1 + Ct)} \quad (10)$$

где:

Константы	Модель 1	Модель 2
A	$k_3 + k_2$	$k_1 + k_2 + k_3$
B	$k_1 + k_2$	$K_2 + k_3$
C	K_3	k_1

Математическая обработка соответствия вышеупомянутых нелинейных уравнений выживания (8 и 9) экспериментальным данным показала их несоответствие. Нехватка конвергенции параметров в уравнениях (8) и (9) исходит из природы уравнения (10), поскольку множество значений параметров B и C в знаменателе останется тем же самым.

Модели, представленные выше, основаны на фундаментальных результатах изучения механизма и кинетики вирусной инактивации озоном. Кроме того, для упрощения и из-за нехватки подробной информации предполагалось, что индивидуальные реакции в предложенных моделях следуют за кинетикой первого порядка.

Из-за трудности в получении единственного математического решения для вышеупомянутых моделей было предложено использовать эмпирические модели, подобные по форме уравнению (10).

Поэтому, была предложена модель, в которой константа В равна С. Таким образом, модельное уравнение может быть выражаться как:

$$S = \frac{1+At}{(1+Bt)^2} \quad (11)$$

Далее была предпринята попытка поиска соответствия эмпирической модели (уравнение 11) данным для вирусного выживания при трех различных температурах (рис. 4.2.15) с использованием описанных выше объединенных констант А и В. Установлено, что уравнение (11) сопоставимо с экспериментальными данными. Модельные значения для процента вирусного выживания представлены в табл. 4.2.1 – 4.2.3 для трех различных температур 20, 10 и 5 °С соответственно. Сравнивая экспериментальное и модельные значения можно сделать вывод об их практически полном согласовании.

Получение любой физической интерпретации для констант А и В представляет определенные трудности. Однако, если константы аналогичны константам скорости реакции, они могут быть описаны классическим уравнением Arrhenius:

$$k = A_f e^{-E/RT} \quad (12)$$

Уравнение Arrhenius может быть преобразовано в линейную форму, если взять log обеих сторон уравнения (12):

$$\ln k = \ln A_f - E/RT \quad (13)$$

где:

k = постоянная скорости реакции;

A = коэффициент столкновения;

T = абсолютная температура;

R = универсальная газовая постоянная.

Таблица 4.2.1

Сравнение модельных значений и экспериментальных данных для инактивации полиовируса 1 озоном в остаточной концентрации 0,15 mg/l при 20 °С, рН 7,2; A=0,0546, B = 0,5213

Экспозиция, s	Экспериментальный % выживания	Модельный % выживания
0,0	100,00	100,00
10,0	4,00	4,01
30,0	1,00	0,95
60,0	0,40	0,41
90,0	0,20	0,26
120,0	0,16	0,19

Таблица 4.2.2

Сравнение модельных значений и экспериментальных данных для инактивации полиовируса 1 озоном в остаточной концентрации 0,15 mg/l при 10 °С, рН 7,2; A = 0,00811, B = 0,2469

Экспозиция, s	Экспериментальный % выживания	Модельный % выживания
0,00	100,00	100,00
10,00	9,00	8,98
30,0	1,65	1,76
60,0	0,87	0,59
90,0	0,45	0,32

Таблица 4.2.3

Сравнение модельных значений и экспериментальных данных для инактивации полиовируса 1 озоном в остаточной концентрации 0,15 mg/l при 5 °С, рН 7,2; A = 0,00591, B = 0,1297

Экспозиция, s	Экспериментальный % выживания	Модельный % выживания
10,0	20,00	20,07
30,0	5,30	4,92
60,0	1,73	1,75
90,0	0,95	0,95

Таким образом, график натурального логарифма (\ln) константы скорости реакции относительно величины абсолютной температуры будет прямой с наклоном E/R .

График Arrhenius для констант A и B от уравнения (11) представлен на рис. 4.2.16.

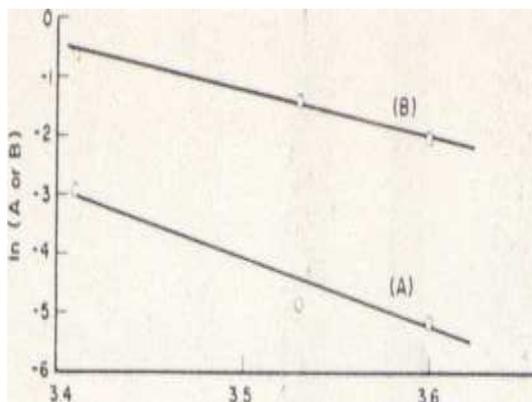


Рис. 4.2.16. График Arrhenius для объединенных констант A и B

Энергии активации 16 и 23,2 килокалории для констант A и B соответственно были получены из наклона линий. Из этого следует, что константы A и B могут быть описаны уравнением Arrhenius, если предположить, что константы A и B в эмпирической модели аналогичны константам скорости реакции.

Хотя предложенная модель очень эффективна для прогнозирования экспериментальных данных, она не может быть получена из основных результатов вирусной инактивации. Для этого разработаны другие четыре эмпирические модели для такого соответствия. Эти модели и их константы представлены в табл. 4.2.4. Сравнение суммы ошибки квадратичного отклонения показывает, что эмпирические модели 2 и 3 столь же адекватны, как и предложенная модель прогноза экспериментальных данных. Однако, константы, полученные для моделей 2 и 3, не соответствовали какой-либо тенденции. С другой стороны, константы в предложенной модели согласовывались с уравнением Arrhenius, позволяющим предсказывать эти константы при любой другой температуре. Поэтому, сравнивая применимость и полноценность этих моделей можно прийти к выводу, что модель, представленная в уравнении (11), является наиболее соответствующей.

В заключении авторы отмечают следующее.

Инактивация энтеровирусов озоном не соответствует кинетике первого порядка. Причина такого отклонения, вероятно, объясняется специфическими свойствами вируса (механистическая концепция), а не гетерогенностью вирусной популяции (виталистическая концепция). Эмпирическая модель, которая напоминает точные уравнения выживания, позволяет предсказать инактивацию озоном полиовируса с точностью до $\pm 0,5$ %. Константы, используемые в модели, могут быть описаны уравнением Arrhenius.

Инактивация ротавируса обезьяны SA-11 и ротавируса тип 2 человека (Wa) озоном при 4 °C изучена в работе [45]. Хотя штамм человека был более чувствительным, оба вируса были быстро инаktivированы концентрациями озона 0,25 mg/l или больше при всех значениях pH. Сравнение вирулицидной активности озона и хлора в идентичных условиях экспериментов показали несущественные различия в инаktivации вируса при концентрациях 0,25 mg/l или больше. Хотя известно, что озон менее опасное и более эффективное дезинфицирующее средство, чем хлор [45 - 47].

Предыдущие исследования показали, что озон эффективен при инаktivации некоторых вирусов. Первая работа Kessel и соавт. [45] продемонстрировала быструю инаktivацию полиовируса типа 1. Другие вирусы также были чувствительны к озону, включая вирусы везикулярного стоматита, энцефаломиокардита [48], полиовируса типа 2 и 3, Coxsackie, ЕСНО и аденовирусы [8, 49]. В исследовании [49] установлено изменение резистентности штаммов вирусов ЕСНО к озону от наиболее чувствительного типа 29 до самого устойчивого типа 12. Другие исследования имели дело с кинетикой инаktivации полиовируса в чистой культуре [7] и в смешанных культурах микроорганизмов [50].

Эти исследования не сосредоточились на эффективности озона при инаktivации тех вирусов, которые обычно идентифицировались при вспышках водно-обусловленных инфекций (вирус гепатита, вирус Норвалка и ротавирус человека [HRV]). Ротавирусы были предметами данного исследования [44], в котором уровни инаktivации озоном суспензий ротавируса SA-11 и HRV 2 Wa были определены по диапазону дезинфицирующих концентраций и уровням pH. Полученные данные сравнивали с таковыми для хлора [51], которые были проведены при идентичных экспериментальных условиях.

Средние концентрации остаточного озона в ходе каждого эксперимента (то есть 60 s), колебались от 0,02 до 0,08 mg/l. Все концентрации озона, которые приводятся ниже, измерены в начале этих экспериментов. Точки на каждой кривой представляют средние уровни в нескольких экспериментах.

Инактивация SA-11 была наиболее быстрой при pH 6 (рис. 4.2.17 – 4.2.19), когда озон в остаточной концентрации 0,1 - 0,25 mg/l вызывал полную инактивацию $> 10^5$ PFU/l в пределах 30 с.

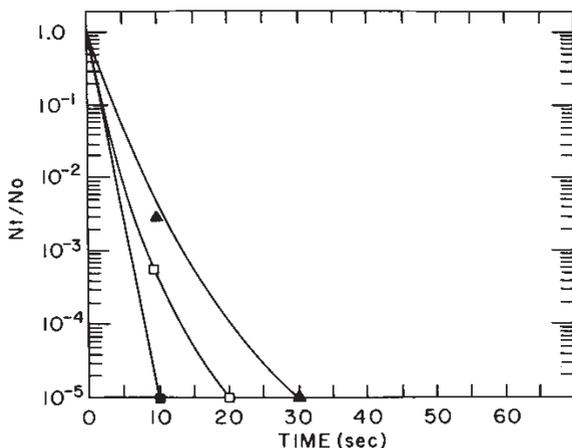


Рис. 4.2.17. Инактивация ротавируса SA-11 озонem при pH 6,0. Концентрации озона (mg/l): \blacktriangle 0,10; \square 0,17; \blacksquare 0,25. N_t/N_0 , число вирусов в любое время/число вирусов в нулевое время.

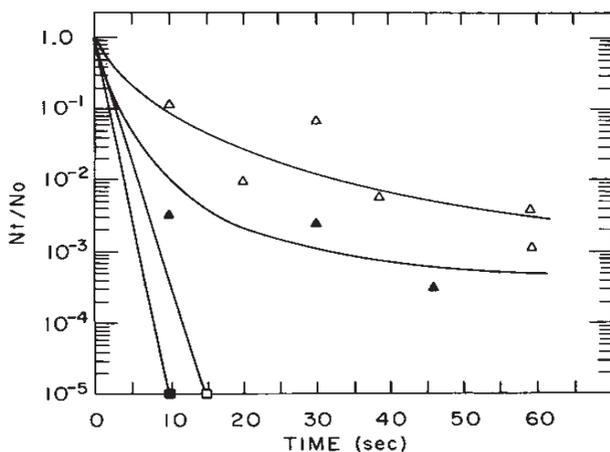


Рис. 4.2.18. Инактивация ротавируса SA-11 озонem при pH 6,0. Концентрации озона (mg/l): \triangle 0,07; \blacktriangle 0,12; \square 0,18; \blacksquare 0,25. N_t/N_0 , число вирусов в любое время/число вирусов в нулевое время.

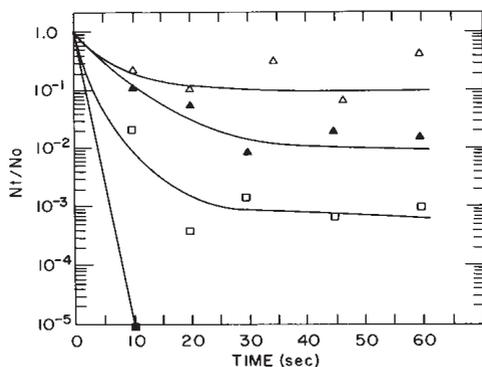


Рис. 4.2.19. Инактивация ротавируса SA-11 озоном при pH 8,0. Концентрации озона (mg/l): Δ 0,05; \blacktriangle 0,11; \square 0,15; \blacksquare 0,30. N_t/N_0 , число вирусов в любое время/число вирусов в нулевое время.

Инактивация HRV озоном была значительно более выраженной при всех уровнях pH. Остаточный озона 0,05 mg/l вызвал полную инактивацию (5 logs) исходного вируса при pH 6 и 7 в пределах 10 s (рис. 4.2.20). Вирусная устойчивость была лишь несколько увеличена при pH 8,0, при котором инактивация на 5 log наблюдалась в пределах 20 s при том же остаточном озоне (рис. 4.2.21). Минимальное повышение вирусной устойчивости отмечено при pH 9,0 (рис. 4.2.21), когда полная инактивация была достигнута за 25 s при концентрации озона 0,1 mg/l.

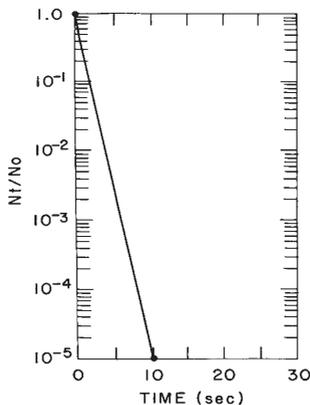


Рис. 4.2.20. Инактивация ротавируса HRV озоном при pH 6,0 и 7,0. Концентрация озона 0,05 mg/l. Результаты идентичны для обоих pH. N_t/N_0 , число вирусов в любое время/число вирусов в нулевое время

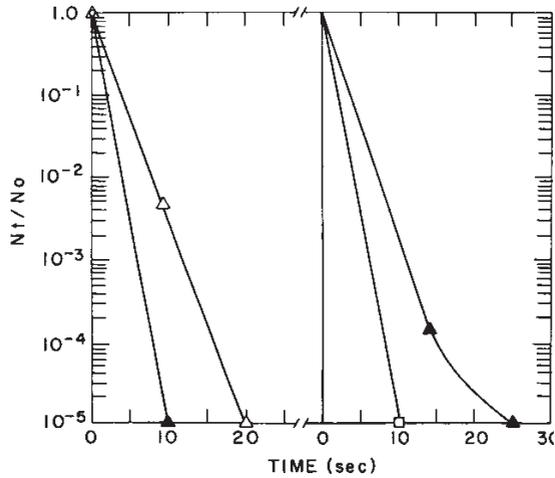


Рис. 4.2.21. Инактивация ротавируса HRV озоном при pH 8,0 и 9,0. Концентрации озона mg/l: pH 8,0: Δ 0,05; \blacktriangle 0,10. pH 9,0: \blacktriangle 0,10; \square 0,20. N_t/N_0 , число вирусов в любое время/число вирусов в нулевое время.

Это позволило авторам [44] дать, с их точки зрения, точное сравнение относительной вирулицидной активности хлора и озона. Время вирусной инактивации (на 99,9 %) на 3 log (рис. 4.2.17 – 4.2.21) и то, о которых сообщает Vaughn и соавт. [51] было получено при расширении линии через ось Y (N_t/N_0 [число вирусов в любое время/число вирусов в нулевое время]) к его пункту пересечения на каждой кривой инактивации и затем вертикально к его соответствующему пункту на оси X (время). Данные были сравнены на основе дезинфицирующей концентрации и уровня pH (табл. 4.2.4). В некоторых случаях инактивация произошла почти мгновенно, устраняя любое точное измерение инактивации на 3 log. В этом случае исходили из максимальной величины 6,0 s в табл. 4.2.4 (хотя фактическая величина, вероятно, намного ниже).

Как ранее отмечено [51], время инактивации SA-11 и HRV под влиянием хлора было подобным. Уровни инактивации SA-11 озоном не были совместимы с данными для хлора при каждом pH. Хлор, как оказалось, был более эффективным вирулицидом при pH 7, тогда как озон вызывал более быструю инактивацию при pH 6 и 8. Время инактивации HRV было значительно меньше при всех концентрациях озона и уровнях pH, что демонстрирует повышенную чувствительность этого штамма к озону.

Таблица 4.2.4

Приблизительное время для 99,9% инактивации ротавирусов SA-11 и HRV при сравнимых концентрациях хлора и озона (4°C)

Вирус	pH	Концентрация дезинфектанта, mg/l	Время для 99,9% инактивации, s	
			Хлор ^a	Озон
SA-11	6,0	0,17	20,0	8,0
		0,25	6,0 ^b	6,0
	7,0	0,1	21,0	32,0
		0,2	6,0	9,0
	8,0	0,1	28,5	6,0
	HRV	6,0	0,1	46,0
0,2			10,0	6,0
0,3			7,0	6,0
7,0		0,1	60,0	6,0
		0,2	8,0	6,0
		0,3	6,0	6,0
8,0		0,1	39,0	6,0
		0,2	22,0	6,0
		0,3	10,0	6,0

^a по данным Vaughn и соавт. [51].

^b представляет самое короткое время, которое может быть оценено на кривых инактивации. Так как инактивация на 5 log в этих экспериментах была меньше чем за 10 s, фактическая инактивация на 99,9 % происходила, вероятно, меньше, чем за 6,0 s.

Инактивация вирусов человека, преимущественно энтеровирусов, озоном была предметом многих лабораторных исследований. Однако, следует отметить ограниченность таких данных для препаратов чистых вирусов, о кинетике инактивации HRVs информация на то время (1987 г.). отсутствовала.

В данном исследовании [44] ротавирус обезьяны и HRV были экспонированы как отдельные частицы различным концентрациям озона и уровням pH при 4 °C. HRV был значительно более чувствительным, чем SA-11, с мгновенной инактивацией при концентрациях озона 0,5 mg/l, pH 6,0 и 7,0, остаточной концентрации 0,1 mg/l, полной инактивацией на 99,999 % за 25 s при pH 8,0 и 9,0. Остаточные концентрации озона 0,1 - 0,2 mg/l были обычно достаточны, чтобы обеспечить подобную (<25 s)

инактивацию SA-11 при всех уровнях рН. Эффективность дезинфекции озоном для ротавирусов была такова, что рН влиял незначительно при концентрациях озона выше 0,15 мг/л.

Сравнение времен инаktivации вирусов на 99,9 % в данном исследовании с аналогичными исследованиями для хлора показало общие черты между инаktivацией SA-11 и HRV хлором и инаktivацией SA-11 озоном. Значительно более низкие уровни данных HRV-озон продемонстрировали преимущество озона при инаktivации этого штамма. Однако, на основе одних только этих данных судить о преимуществе использования любого дезинфицирующего средства нельзя, особенно когда речь идет о концентрациях свыше 0,25 мг/л.

Данное исследование представляет предварительную информацию об уровнях инаktivации озоном ротавирусов обезьяны и HRV в управляемой лабораторной системе. В то время, как общие принципы, объясненные во время исследования, должны остаться постоянными, вероятно, уровни инаktivации будут отличаться значительно в зависимости от образцов воды (питьевая, сточные, грунтовые воды и т.д.).

Цель исследования [52] состояла в оценке возможности использования колифага MS2 в качестве индикатора инаktivации кишечных вирусов озоном. Эксперименты проводились в 2-х литровых реакторах, содержащих 0,05 М фосфатный буфер при рН 6,9 и 22 °С. Озон добавляли в поток из концентрированного раствора. Установлено, что при остаточном озоне менее 40 µг/л в конце 20 с инаktivировалось > 99,99 % колифага, то есть на 4 log. Для сравнения, полиовирус тип 3 сокращался только на 1,6 log. Авторы приходят к выводу, что использование колифага MS2, как индикатора инаktivации кишечных вирусов озоном, приводит к переоценке степени инаktivации данных вирусов. Это не согласуется с руководящими документами США, согласно которым колифаг MS2 рекомендован как суррогат кишечных вирусов [53] исходя из предположения, что инаktivация на 99,99 % колифагов гарантирует отсутствие энтеровирусов в питьевой воде [54].

Предыдущие исследования инаktivации озоном полиовируса как индикаторного микроорганизма были выполнены в различные годы [8, 30, 55-57]. В предыдущих обзорах литературы высказано предположение, что полиовирусы более стойкие к озону, чем другие энтеровирусы [58, 59]. Ранее сообщалось что колифаги f2 и MS2 более стойкие к хлору, чем другие колифаги, что позволяет использовать их как суррогаты кишечных вирусов при исследованиях дезинфекции [60-62].

Предшествующие исследования показали, что колифаги 185, f2 и MS2 значительно более чувствительны к озону, чем кишечные вирусы,

с 6 - 7 log инактивации, происходящей очень быстро в присутствии небольшого или отсутствии остаточного озона [56, 61, 63-65].

Эти наблюдения подвергают сомнению надежность колифагов как индикаторов эффективности инактивации озонем кишечных вирусов.

Цель исследования [52] состояла в оценке сопоставимости инактивации озонем колифага MS2 (ATCC 15597-B1) и полиовируса тип 3.

Ряд опытов был выполнен отдельно с MS2. Дозы озона сохраняли очень низкими, время контакта составляло 20 с. Данные представлены на рис. 4.2.22.

Некоторые эксперименты были также выполнены отдельно с полиовирусом. В последующих испытаниях использовали MS2 и полиовирус в том же реакторном сосуде для получения сравнения.

Результаты трех экспериментов с определением абсорбции растворов показаны на рис. 4.2.23 – 4.2.25 и в табл. 4.2.5. Итог инактивации MS2 и полиовируса в этих экспериментах представлен на рис. 4.2.26. Во всех испытаниях уровень инактивации полиовируса типа 3 был меньше, чем колифага MS2, при тех же условиях воздействия озона. Инактивация полиовируса в эксперименте 2 была больше ожидаемой - > 3,6 log (табл. 4.2.6).

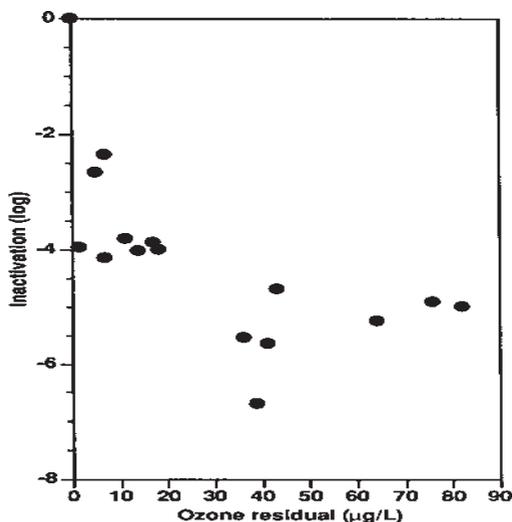


Рис. 4.2.22. Инактивация озонем колифага MS2 в фосфатном буфере при pH 6,9 и 22 °C

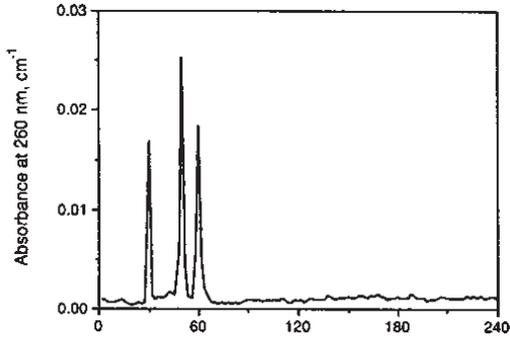


Рис. 4.2.23. Тестирование абсорбции раствора в процессе инактивации озонем колифага MS2 и полиовируса типа 3 в опыте 1 (экспозиция 26, 44 и 54 s)

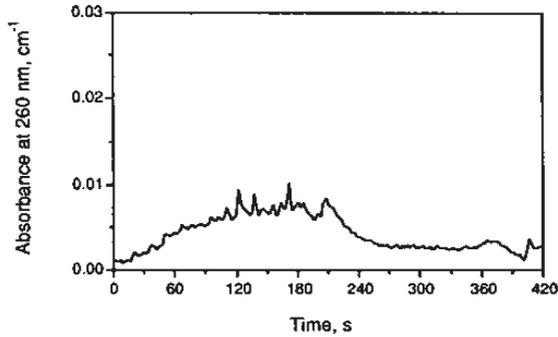


Рис. 4.2.24. Тестирование абсорбции раствора в процессе инактивации озонем колифага MS2 и полиовируса типа 3 в опыте 2 (экспозиция 16, 32, 48, 60, 70, 80, 90, 100, 112, 130, 144, 160 и 170 s)

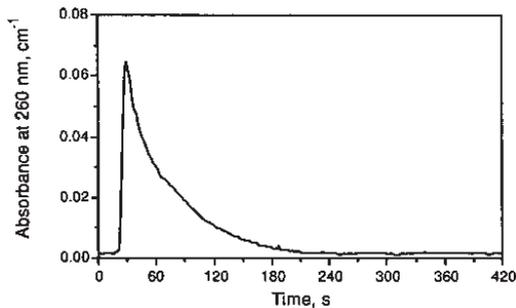


Рис. 4.2.25. Тестирование абсорбции раствора в процессе инактивации озонем колифага MS2 и полиовируса типа 3 в опыте 3 (экспозиция 20 s)

Таблица 4.2.5

Инактивация озоном колифага MS2 и полиовируса типа 3

Опыт	Доза озона, mg/l ^a	Экспозиция, s	Инактивация [log (N/N0)] ^b :	
			Колифаг MS2	Полиовирус типа 3
1	0,60	0	0	0
		60	2,96	1,63
		120	2,72	1,64
		240	2,66	1,98
2	1,29	0	0	0
		60	5,68	>3,6
		120	5,14	>3,6
		240	4,81	>3,6
3	1,76	0	0	0
		60	7,00	3,52
		120	6,15	3,52
		240	5,46	3,52

^a расчетная масса озона, добавленного к реактору, разделенная на объем реактора; ^b No, 10^{6,9}, 10^{5,3}, 10^{3,9} PFU/ml для колифага MS2 для опытов 1, 2, 3 и 10^{4,0} PFU/ml для полиовируса типа 3 во всех опытах, соответственно.

Обсуждая полученные результаты авторы [52] отмечают следующее. В опыте 1 (рис. 4.2.23), как это видно по быстрому уменьшению абсорбции, остаточный озон быстро распадался. Это происходило из-за существенной озонопоглощаемости вирусного материала.

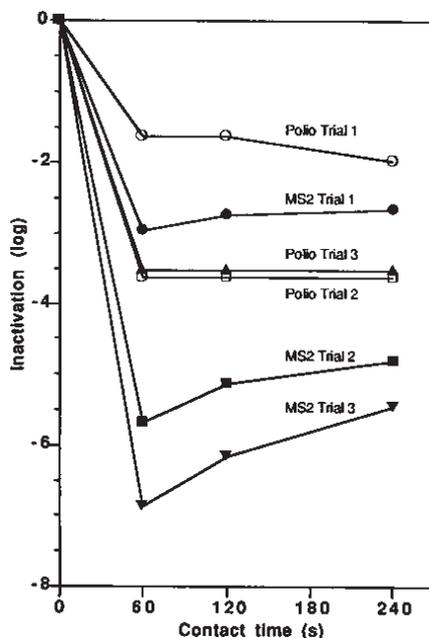


Рис. 4.2.26. Сравнение инактивации озонем колифага MS2 и полиовируса типа 3. Дозы озона составляли 0,60 (опыт 1), 1,29 (опыт 2) и 1,76 (опыт 3) mg/l

В опыте 2 (рис. 4.2.24), в котором была применена более высокая доза озона из 13 экспозиций, постепенное увеличение абсорбции происходило по мере распада озона в соответствии с озонопоглощаемостью. Когда озон был внезапно добавлен в реактор в опыте 3 (рис. 4.2.25), это приводило к быстрому повышению абсорбции, сопровождаемому быстрым распадом до нуля.

В каждом из этих рисунков иллюстрируется, что озон быстро потребляется полиовирусом, что приводит к отсутствию обнаружимого озона в конце 2 min контакта. Однако, остаточный озон обнаруживался в течение переменных периодов во всех испытаниях. Кривые инактивации для MS2 и полиовируса при этих условиях представлены на рис. 4.2.26. Эти кривые относительно сопоставимы в сроках абсолютной инактивации полиовируса, так как дозы озона колебались от 0,6 до 1,76 mg/l. Однако, представляет интерес, что результаты опытов 2 и 3 кажутся подобными. Это, вероятно, результат различных методов добавления озона в реактор.

Таблица 4.2.6

**Обобщение результатов отдельных исследований по
инактивации озоном полиовирусов**

Тип полио- вируса	Тип воды (рН, температура, °С)	Прото- кол	Контактное время	Доза озона, mg/l	Остаточный озон, mg/l	Инак- тива- ция [log N/ N0)]	Источник
1	2	3	4	5	6	7	8
1	Сточная вода (7,2, 15)	Постоян- ство	15 min	NR ^a	0,26	-0,5	61
1	Фосфатный буфер (7,2, 20)	Постоян- ство	0,1 s	0,17 ^b	0,10	- 4	57
1	Фосфатный буфер (7,2, 20)	Постоян- ство	2 min	NR ^a	0,21	- 3	30
1	Дистиллирован- ная вода (NR ^a , 20)	Сниже- ние	4 min	0,6 ^b	NR ^a	- 1	8
1	Фосфатный буфер (7,0, 25)	Постоян- ство	10 min	NR ^a	0,13	- 2,5	56
2	Фосфатный буфер (7,0, 25)	Постоян- ство	10 min	NR ^a	0,13	- 4,9	56
3	Фосфатный буфер (7,0, 25)	Постоян- ство	10 min	NR ^a	0,13	- 2,7	56
1	Фосфатный буфер (7,2, 5)	Сниже- ние	2 min	0,3	>0,24	- 3,6	7
1	Дистиллирован- ная вода	Сниже- ние	4 min	4-5	0,23	-2,7	55

NR^a не сообщается

^b сообщается после мгновенного «удовлетворения» озонопоглоща-
емости

Сверхчувствительность колифага MS2 к озону в фосфатном буфере
иллюстрирована рис. 4.2.22. За экспозицию 20 s < 40 µg/l остаточного

озона инактивировали MS2 на 4 log. Увеличение остаточного озона до 80 µg/l обеспечило полную инактивацию на 5 log.

Эти данные подтверждают сообщения других исследователей [56, 61, 65] и позволяют предположить, что адекватная инактивация колифага может быть достигнута при незначительных обнаружимых концентрациях остаточного озона за короткое время контакта. Однако, вопрос сопоставимости результатов для колифагов и кишечных вирусов остается открытым.

Эксперимент, представленный на рис. 4.2.24, показывает два интересных явления. Первое состоит в подобности относительного постоянства остаточного озона в течение экспериментов, что подтверждается другими авторами [7]. После начального резкого падения какая-либо существенная инактивация после 60 s не наблюдалась ни в одной из используемых доз. Это отмечалось другими исследователями, использующими бактерии и вирусы [7, 30, 66, 67].

Причина этой особенности озона не ясна. Finch и соавт. [67] объяснили это явление кинетикой конкурирующей реакции озона. Это может также быть артефактом используемого экспериментального протокола. Практическое значение этого явления состоит в том, что несоответствие остаточной концентрации озона нельзя компенсировать увеличением времени контакта.

Второе явление состояло в восстановлении колифага MS2 в опытах 2 и 3 после очевидной начальной инактивации свыше 5 log. Восстановление в опыте 2 было приблизительно на 0,9 log за период от 60 до 240 s. Восстановление в опыте 3 было выше, приблизительно 1,5 log за тот же самый период. Причина этого явления не известна, но, возможно, объясняется тем, что пробоподготовка MS2 не включала обработку ультразвуком, как это имело место у полиовируса тип 3. Katzenelson и соавт. [7] продемонстрировали эффективность ультразвука при воздействии озона на полиовирусы.

Данные Evison's [56] показали намного большие различия между полиовирусом тип 3 и колифагом по сравнению с данным исследованием. Этот автор также установил, что полиовирус тип 3 намного более трудно инактивировать озоном, чем полиовирус тип 1. Учитывая, что во множестве исследований инактивации использовали полиовирус тип 1 как индикаторный микроорганизм, это может быть причиной беспокойства для регулирующих органов [53, 54].

Существенная разница в инактивации полиовирусов по данным литературы является, возможно, результатом различий в дизайне исследований по дезинфекции озоном. Во многих работах по дезинфекции озоном последний непрерывно добавляли в реакционную систему

с целью достижения остаточной концентрации [57, 58, 68]. Согласно этому протоколу учитывается озонопоглощаемость, а не фактическое количество использованного озона. Так как инактивация вирусов происходит быстро, количество инаktivированных вирусов может быть в начале реакции на стадии «удовлетворения» озонопоглощаемости, приводящей к переоценке остаточного озона для желательной инаktivации. В других исследованиях следовали подобному протоколу, но не сравнивали кишечные вирусы с колифагом MS2 [7, 55].

Суммирование результатов некоторых из этих исследований представлено в табл. 4.2.6. Очевидно отсутствие определенной последовательности в уровнях инаktivации озонем полиовирусов. Narakeh и Butler [68] сообщили об инаktivации на 0,5 log при остаточном озоне 0,26 mg/l в течение 15 min при обеззараживании сточных вод. Это не согласуется с сообщением Herbold с соавт. [57], где 0,10 mg/l остаточного озона обеспечили инаktivацию на 4 log в пределах 0,1 s. Coim с соавт. [55, 69] представили наиболее ранние данные по инаktivации озонем полиовирусов. Они обнаружили > 4 log инаktivации полиовируса типа 1 в фильтрованной речной воде при концентрации остаточного озона 0,3 mg/l в конце 4 min. Их работа в конечном счете обосновала стандартные условия дезинфекции озонем на заводах по обработке воды во Франции, где 0,4 mg/l остаточного озона в конце 4 min необходимы для достаточной инаktivации кишечных вирусов.

Выводы, которые могут быть сделаны в результате анализа литературы по сравнению с результатами данного исследования состоят в том, что текущее понимание инаktivации озонем кишечных вирусов в воде неудовлетворительно. Это обуславливает необходимость четкого экспериментального протокола в комбинации с более совершенными вирусологическими методами для надежного сопоставления данных.

В работе [70] отмечается недостаток информации относительно эффективности озона при инаktivации калицивирусов и кишечных аденовирусов. Эксперименты по инаktivации проводились с кошачьим калицивирусом (FCV), родственным калицивирусу человека по структуре нуклеиновой кислоты и архитектуре капсулы вируса, и аденовирусом типа 40 (AD40). Эксперименты были выполнены в свободной от дезинфектанта воде при pH 7 и 5 °C. Уровни St для инаktivации озонем на 4 log (99,99 %) колебались от 0,07 до 0,60 mg-min/l для AD40 и <0,01 – 0,03 mg-min/l для FCV. Эти уровни были ниже регламентированных EPA в “Guidance Manual for Compliance with Filtration and Disinfection Requirements for Public Water Systems Using Surface Water Sources”. При

изученных условиях очень низкие концентрации остаточного озона (<0,01 mg/l) существенно инактивировали FCV и AD40.

В предыдущих исследованиях сообщалось, что озон эффективно инактивирует некоторые вирусы в воде и сточных водах [71, 72], однако информация об инаktivации кошачьего калицивируса (FCVs) (суррогата норовируса /NV/) и кишечных аденовирусов в обработанной воде отсутствует.

NV являются основной причиной небактериального острого гастроэнтерита [73, 74] и идентифицированы как этиологические агенты водных вспышек [75, 76]. Предыдущие вспышки, вызванные контаминированным льдом и приготовленными моллюсками, свидетельствуют, что эти вирусы устойчивы к экстремальным условиям окружающей среды [77]. Уровень резистентности NV существующим методам обеззараживания питьевой воды также в значительной степени неизвестен из-за отсутствия моделей на животных или клеточных культур для оценки инфекционности. Ранее проведено два альтернативных исследования на культуре клеток человека и PCR [78, 79]. Однако, эти противоречивые результаты затрудняют оценку устойчивости NV хлору. Позже, FCV, как суррогат NV, использовался для инаktivации в нескольких исследованиях [80-82]. У FCV есть подобная NVs организация генома [83, 84], и архитектура капсулы вируса [85] и они могут быть легко выращены в клеточной культуре.

Как и NV, кишечные аденовирусы 40 (AD40) и 41 (AD41) являются также важными причинами острого гастроэнтерита, особенно у детей в возрасте менее чем 4 лет [86]. Кишечные аденовирусы более устойчивы в окружающей среде по сравнению с другими кишечными вирусами [87], поэтому их присутствие в сточных и поверхностных водах воде представляет потенциальную опасность для питьевой воды [88, 89]. Помимо этого, кишечные аденовирусы и NV идентифицированы как этиологические агенты водной вспышки острого гастроэнтерита в Финляндии [76]. Кишечные аденовирусы чувствительны к хлору [82], но очень стойкие к УФО [81].

Цель этого исследования [70] состояла в: (1) сравнении инаktivации озоном AD40 и FCV; (2) определении St для каждого вируса; и (3) сравнении определенных уровней St с таковыми Руководству US EPA.

В табл. 4.2.7 представлены $-\log_{10}$ инаktivации в зависимости от средних доз озона, концентраций остаточного озона и времени контакта. Результаты демонстрируют, что озон эффективен при инаktivации вирусов в очень низких концентрациях остаточного озона.

Таблица 4.2.7

Средние дозы озона, концентрации остаточного озона и времени контакта для низкой и высокой инактивации AD40 и FCV

AD40			FCV		
$-\log_{10}$ инактивации	Время контакта, min	Остаточный озон, mg/l ^a	$-\log_{10}$ инактивации	Время контакта, min	Остаточный озон mg/l ^a
Доза озона=0,49 mg/l			Доза озона =1,00 mg/l		
2,63	0,25	0,108	4,28	0,25	0,110
3,28	2,00	<0,001	>4,74	1,20	<0,0001
Доза озона =0,30 mg/l			Доза озона =0,06 mg/l		
3,04	0,50	0,014	1,85	0,25	0,020
3,55	10	<0,001	2,77	5,00	<0,0001

^a - остаточный озон определен по уравнению распада в течение указанного времени контакта.

Следует отметить, что это первое сообщение, описывающее эффективность озона при инактивации FCV и AD40 в воде. Это исследование демонстрирует сопоставимость установленных уровней Ct с таковыми EPA для инактивации AD40 и FCV на 99,0-99,99, то есть, по крайней мере на 4 logs при данных экспериментальных условиях. Сравнение уровней Ct при инактивации изученных вирусов показывает, что AD40 является более стойким к воздействию озоном по сравнению с FCV.

Показано, что озон – очень эффективное средство инактивации вирусов в воде. AD40 и FCV были инаktivированы низкими дозами озона 0,30 и 0,06 mg/l, соответственно. При этом уровни Ct для 99,99 %-ной инактивации составляли 0,60 и 0,03 mg-min/l для AD40 и FCV, соответственно. При более высоких дозах озона 1,00 mg/l FCV инаktivировался на 4,28 logs в пределах 15 s. Предыдущие исследования также продемонстрировали эффективность озона при вирусной инаktivации. Например, полиовирус 1 тип был инаktivирован дозой озона 0,15 mg/l на 2 logs в пределах 30 s [90]. Вирус гепатита инаktivирован на 5 logs в пределах 1 min при дозе озона 1 mg/l [72], а вирус Норвалка на 3 logs за 10 s при дозе озона 0,37 mg/l, pH 7 и 5 °C [71]. Ct 99,99 %-ной инаktivации

ции аденовируса типа 2 на уровнях 0,17 и $> 2,0$ mg-min/l был определен при дозе озона 0,2 mg/l и pH 7 [91]. Вместе с тем, различия между этими исследованиями затрудняют сравнение и заключение относительно дезинфицирующей эффективности [81, 82].

Результаты этого [70] исследования демонстрируют, что даже очень низкие концентрации остаточного озона могут инактивировать AD40 и FCV в воде. Используя ранее описанные уравнения [71, 72], остаточный озон был вычислен в течение различных времен контакта для FCV и AD40. Для AD40 при дозе озона 0,30 mg/l **концентрации остаточного** составляли в среднем 0,015 mg/l и меньше чем 0,0001 mg/l за 30 s и 10 min, соответственно. Даже в этом случае концентрация AD40, наблюдаемого при 30 s, была впоследствии уменьшена на 67 % за 10 min. Подобное же сокращение наблюдалось для FCV, где концентрации FCV за 15 s были уменьшены в среднем на 76 % за 10 min контакта. Остаточный озон в этих экспериментах с FCV составлял 0,02 mg/l за 15 s по сравнению с $< 0,001$ mg/l за 45 s. Колифаг был инактивирован на 4 logs в пределах 20 s при концентрации озона менее 0,04 mg/l [52], а полиовирус тип 1 был полностью инактивирован за 2 min концентрацией озона 0,05 mg/l [90].

В заключении авторы отмечают: озон в низких концентрациях очень эффективен при инаktivации FCV и AD40 в обрабатываемой воде; уровни Ct в Руководстве EPA адекватны для инаktivации на 4 log FCV и AD40 при условиях этого исследования; остаточный озон ($< 0,01$ mg/l) **через 10 min контакта уменьшает FCV и AD40 на 67 % и 76 %, соответственно.**

В работе [92] отмечается, что, несмотря на важность норовирусов (NoVs) как водно-обусловленных патогенов, информация относительно эффективности озона против этих вирусов ограничена. Определяли эффективность дезинфекции озоном крысиного норовируса (MNV) как суррогата норовируса человека. При заданных условиях эксперимента более 99 % MNV были инаktivированы озоном в дозе 1 mg/l в течение 2 min. Результаты авторов показывают, что **NoVs могут быть более стойкими к озону, чем ранее сообщалось.** Вместе с тем, дезинфекция озоном может использоваться для контроля передачи этого патогена с водой.

Как известно норовирусы (NoVs) являются главным этиологическим агентом гастроэнтерита, передаваемого фекально-оральным путем, во всех возрастных группах во всем мире [63, 93-96]. Как важные водные патогены NoV **включены в соответствующий американский федеральный регистр** [97, 98]. Вода может быть загрязнена содержащими NoV фекалиями от больных или бессимптомных пациентов [99]. Высокие концентрации вируса в стуле зараженных людей ($\sim 10^9$ /g) [100], низкие инфекционные дозы (< 10) [73] и высокое сопротивление различным

экологическим факторам [101, 102] способствуют высокой распространенности вспышек, вызванных NoVs. В связи с этим необходима надлежащая дезинфекция питьевых и рекреационных вод для предотвращения водных вспышек [103].

Крысиный норовирус (MNV), передаваемый также фекально-оральным путем, является более стойким к колебаниям pH [104]. Поэтому, MNV, как полагают, является наиболее подходящим заместителем в определении выживания и особенностей инактивации NoVs, которые вызывают вирусный гастроэнтерит [105]. Следует добавить неясность правомочности использования реакции LT RT-PCR для оценки инактивации NoV, как это ранее предложено [106].

Цель этого исследования [92] состояла в определении кинетики инактивации озоном MNV при различных pH и температурах, характеристике и сравнении уровней инактивации MNV при измерении методами ST RT-PCR, LT RT-PCR и культуральным (plaque assay PA).

Рис. 4.2.27 показывает уровень инактивации MNV озоном (1 mg/l) при использовании различных аналитических методов (ST RT-PCR, LT RT-PCR и PA).

MNV, суспендированный в буфере ODF, был быстро инактивирован озоном. Во всех экспериментах кривая инактивации MNV постепенно повышалась во время начального периода (30 с) и затем выравнивалась, поскольку обработка продолжалась. И при 20 °C, и при 5 °C уровень инактивации была выше при pH 5,6, чем при pH 7. MNV был инактивирован озоном более быстро при более низких температурах, чем более высоких, но различие не было существенным.

И ST RT-PCR, и LT RT-PCR в значительной степени недооценили уровень инактивации MNV по сравнению с методом PA. Достаточно сказать, что ST RT-PCR не показывал существенной инактивации при большинстве экспериментальных условий. С другой стороны, LT RT-PCR показал существенный уровень инактивации, который, тем не менее, отличался на 1 log от данных, установленных методом Pa.

Табл. 4.2.8 суммирует результаты трех математических моделей дезинфекции озоном, основанной на тесте PA. В целом, у модели MCW были более высокие уровни ESS (ошибки суммы квадратов) и намного более низкие коэффициенты корреляции по сравнению с моделями моделью EFH. Адекватные кинетические параметры для трех моделей дезинфекции представлены в табл. 4.2.8. Как отмечено в исследовании [107], у моделей, имеющих больше параметров, существует тенденция представления относительно лучшего порядка данных ($P < 0,05$). Основываясь на ESS и уровнях R^2 модель EFH является, вероятно, лучшей из трех прикладных моделей.

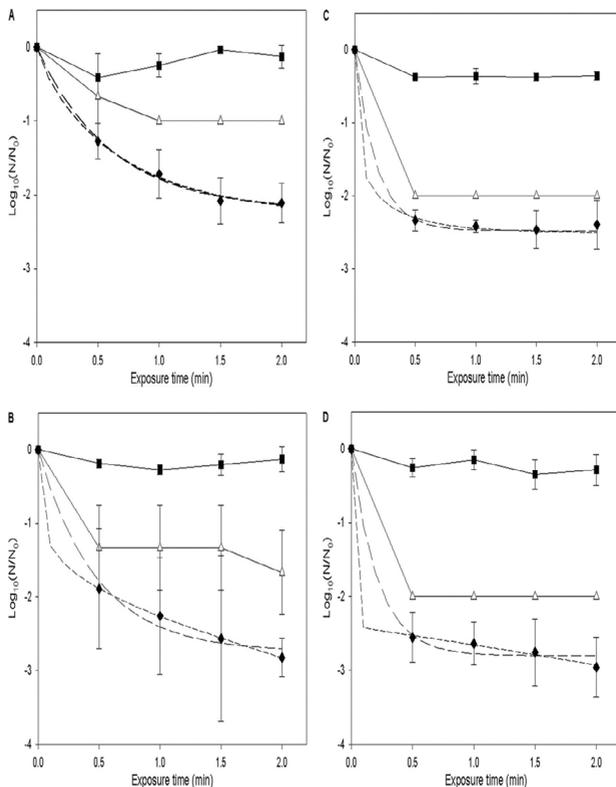


Рис. 4.2.27. Кинетики инактивации озонем MNV (исходная концентрация, 1 mg/l) при: (A) pH 7 и 20 °C, (B) pH 7 и 5 °C, (C) pH 5,6 и 20 °C, (D) pH 5,6 и 5 °C, измеренные ST RT-PCR (■), LT RT-PCR (Δ) PA (◆). Короткий и длинный пунктиры представляют лучшие результаты по моделям EFH (efficiency factor hom model) и MCW (modified Chick-Watson model) соответственно

Табл. 4.2.9 показывает уровни C_t согласно моделям MCW и EFH с использованием результатов PA. Эти модели дали подобные результаты, за исключением тех, когда использовалось короткое время контакта, особенно при pH 5,6. Во время этого периода кривая была более крутой с моделью EFH, чем с моделью MCW. Например, для сокращения на 2 log MNV модель EFH предсказала уровень $C_t < 0,01$ mg-min/l при pH 5,6 и 20 °C, тогда как модель MCW - 0,16 mg-min/l при тех же самых условиях. В целом, сокращение на 2 log MNV было достижимо

при Ct озона < 0,72 mg-min/l при всех экспериментальных условиях (рН 5,6 или 7 при 5 °С или 20 °С).

Это исследование [92] демонстрирует, что озон может быть эффективным средством контроля NoV в воде. Согласно полученным экспериментальным данным, уровни Ct для сокращения на 2 и 3 log составили приблизительно 0,3 и 1,2 mg-min/l, соответственно. Руководство EPA для дезинфекции озоном вирусов в поверхностной воде при 5 °С рекомендует уровни Ct 0,6 и 0,9 mg-min/l для сокращения на 2 и 3 log, соответственно [103].

Таблица 4.2.8

Три кинетических модели и кинетические параметры инактивации MNV озоном

Условия (рН; °С)	k ^a	Модель ^b	Параметры			ESS ^f	R ₂
			k ^c	n ^d	m ^e		
7;20	5,005	CW	1,294			0,822	0,832
		MCW	8,414	0,331		0,050	0,997
		EFH	6,374	0,201	0,788	0,043	0,997
7; 5	5,139	CW	1,693			1,725	0,794
		MCW	13,275	0,409		0,275	0,990
		EFH	4,871	-0,025	0,212	<0,001	1,000
5,6; 20	5,849	CW	1,647			3,53	0,566
		MCW	32,243	0,967		0,035	0,999
		EFH	6,932	0,087	0,220	0,021	0,999
5,6;5	6,354	CW	1,861			3,821	0,620
		MCW	29,876	0,729		0,241	0,992
		EFH	5,661	-0,015	0,009	0,015	1,000

^a средний распад дезинфектанта, постоянный для повторных экспериментов; ^b CW, Chick-Watson модель; MCW, модифицированная Chick-Watson модель; модель EFH; ^c константа инактивации.; ^d коэффициент растворения; ^e константа правила инактивации (описывает отклонение от кинетики Chick-Watson); ^f ошибка суммы квадратов.

Эти [92] результаты подтверждают, что рекомендуемый EPA уровень % Ct 99 для сокращения на 2 log MNV при рН 7 и 5 °С достаточный. Однако, они показывают, что Ct выше, чем рекомендуемый EPA уровень, который требуется для сокращения на 3 log MNV. В предыдущем исследовании сообщено об уровнях % Ct 99,9 в пределах от 0,04 до 0,10 mg-min/l при инактивации кишечного аденовируса [70]. Кроме того,

концентрация озона 0,37 mg/l **инактивировала полиовирус тип 3** в пределах 10 s; озон в дозе 1 mg/l **инактивировал вирус гепатита** на 5 log в пределах 60 s [72].

Таблица 4.2.9

Уровни Ct по моделям MCW и EFH при инаktivации MNV озоном

Условия (pH; °C)	Модель	Предполагаемый уровень Ct, mg·min/l		
		1 log ₁₀ (90%) сокращения	2 log ₁₀ (99%) сокращения	3 log ₁₀ (99,9%) сокращения
7; 20	MCW	0,21	0,72	
	EFH	0,18	0,70	
7; 5	MCW	0,14	0,33	
	EFH	0,03	0,36	1,18
5,6; 20	MCW	0,07	0,17	
	EFH	<0,01	0,13	
5,6; 5	MCW	0,07	0,16	
	EFH	<0,01	<0,01	1,12

В этом эксперименте [92] модель EFH предсказала уровень Ct 1,18 mg·min/l для инаktivации MNV на 99,9 % при pH 7 и 5 °C. Полученные результаты позволяют предположить, чтобы по сравнению с другими кишечными вирусами, для NoVs требуется более высокая доза озона для сокращения больше чем на 3 log. **Однако, эти данные [92] должны тщательно интерпретироваться, поскольку различия в воздействии озона и условиях реакции дезинфекции могут влиять на эффективность [71].** Кроме того, эти эксперименты были выполнены в фосфатном буфере (ozone demand-free ODF). Сообщалось, что на дезинфекцию озоном влияют растворенное органическое вещество (DOM) и pH [108, 109]. Поэтому, количество озона, необходимого для инаktivации вируса, должно быть выше в естественных условиях.

Эти [92] экспериментальные данные не демонстрировали инаktivацию MNV больше чем на 3 log из-за низкой исходной контаминации MNV (~10⁴ PFU/ml).

Для оценки уровня инаktivации MNV озоном использование культуральных сред является более адекватным по сравнению с молекулярными методами, которые не отражают вирусную инфекционность, поскольку нуклеиновые кислоты инаktivированных вирусов также обнаружены. Как ожидается, использование ST RT-PCR в значительной

степени недооценивает вирусную инактивацию, поскольку короткий шаблон PCR (54 bp), используемый в этом тесте, обнаруживает короткие фрагменты нуклеиновой кислоты инактивированных вирусов. Эти результаты совместимы с предыдущими исследованиями [102, 110].

Однако, тест LT RT-PCR может быть применим для некультивируемых вирусов, поскольку нуклеиновые кислоты, обнаруженные более длинным шаблоном, вероятно связаны с инфекционными вирусами [71]. Таким образом, LT RT-PCR может использоваться для обнаружения активных вирусов как индикаторов вирусной инактивации. В предыдущем исследовании [71] предположили, что LT RT-PCR может служить адекватным методом оценки инфекционности при определении инактивации озоном NoVs. Однако, без прямого сравнения между LT RT-PCR и испытанием инфекционности эти данные трудно интерпретировать. Поэтому, авторы [92] использовали сравнение культурального метода РА с LT RT-PCR как шаблоном, который отражает порядка 11 % всего генома MNV. Предыдущее исследование NoVs человека с использованием NoVs показало, что сокращение на 3 log произошло при воздействии озона в дозе 0,37 mg/l за 10 мин [71]. По сравнению с этим результаты авторов [92], использующих РА и LT RT-PCR, показали более высокое сопротивление MNV к озону. Не ясно, это истинное различие между NoVs и MNV, или это различие объясняется расхождениями аналитических методов. Это объясняет необходимость дальнейших исследований.

Результаты этой работы [92] показали, что температура (5 °C и 20 °C) не оказывает существенного влияния на эффективность озона при инактивации MNV в отличие от предыдущих исследований с *E. coli* [63, 66, 4.1]. С другой стороны, pH оказывал существенное влияние на эффективность озона. MNV инактивировался более быстро при pH 5,6, чем 7. Это сопоставимо с результатами предыдущего исследования с *E. coli* [63, 4.1]. Низкое pH может влиять на растворимость и особенности озона как окислителя.

Эти результаты свидетельствуют, что NoVs является более стойкими к озону, по сравнению с более ранними сообщениями [71]. Однако, сравнение должно учитывать тип вируса, состояние воды и систему дезинфекции. Необходимы дальнейшие исследования в производственных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Keller J. W. Ozone disinfection pilot plant studies at Laconia N.H. / J. W. Keller, R. A. Morin, T. J. Schaffernoth // J. Am. Water Works Assoc. – 1974. – V. 66. – P. 730 – 733.

2. Ozone disinfection of industrial-municipal secondary effluents / C. Nebel, R. D. Gottschling, R. L. Hutchison / [et al.] // *J. Water Pollut. Control Fed.* – 1973. – V. 45. – P. 2493– 2507.
3. Sommerville R. C. Ozone for supplementary water treatment / R. C. Sommerville, G. Rempel // *J. Am. Water Works Assoc.* – 1972. – V. 64. – P. 377– 382.
4. Katzenelson E. Disinfection of viruses in sewage by ozone / E. Katzenelson, N. Biedermann // *Water Res.* – 1976. – V. 10. – P. 629 – 631.
5. Venosa A. D. Ozone as a water and wastewater disinfectant: a literature review, p. 82-100 / A. D. Venosa // In F. L. Evans III (ed.), *Ozone in water and wastewater treatment*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Mich. – 1972.
6. Poynter S. F. G. The disinfection of water with special reference to viruses / S. F. G. Poynter, J. S. Slade, H. H. Jones // *Water Treat. Exam.* – 1973. – V. 22. – P. 194 – 208.
7. Katzenelson E. Inactivation kinetics of viruses and bacteria in water by use of ozone / E. Katzenelson, B. Kletter H. I. Shuval // *J. Am. Water Works Assoc.* – 1974. – V. 66. – P. 725 – 729.
8. Majumdar S. B. Inactivation of polioviruses in water by ozonation / S. B. Majumdar, W. H. Ceckler, O. J. Sproul // *J. Water Pollut. Control Fed.* – 1973. – V. 45. – P. 2433 – 2443.
9. Hsu Y. C. Some bactericidal and virucidal properties of iodine not affecting infectious RNA and DNA / Y. C. Hsu, S. Nomura, C. W. Kruse // *Am. J. Epidemiol.* – 1966. – V. 82. – P. 317 – 328.
10. Cramer W. N. Chlorination and iodination of poliovirus and f2 / W. N. Cramer, K. Kawata, C. W. Kruse // *J. Am. Water Works Assoc.* – 1976. – V. 68. – P. 61 – 76.
11. The comparative mode of action of chlorine, bromine, and iodine on f2 bacterial virus, p. 145-162 / V. P. Olivieri, C. W. Kruse, Y. C. [et al.] // In J. D. Johnson (ed.), *Disinfection–water and wastewater*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Mich. – 1975.
12. Virus removal from wastewater using ozone / J. L. Pavoni, M. E. Tittlebaum, H. T. Spencer [et al.] // *Water Sewage Works.* – 1972. – V. 119. – P. 59 – 67.
13. Shah P. Relative resistance of poliovirus 1 and coliphage f2 and T2 in water / P. Shah, J. McCamish // *Appl. Microbiol.* – 1972. – V. 24. – P. 652 – 659.
14. Prat R. Effects de l'hypochlorite de sodium, de l'ozone et des radiations ionisantes dur les constituants pyrimidiques Escherichia coli / R. Prat, C. Nofre, A. Cier // *Ann. Inst. Pasteur Paris.* – 1968. – V. 114. – P. 595 – 607.
15. Weber K. Proteins of the RNA phages, p. 51-84 / K. Weber, W. Konigsberg // In N. D. Zinder (ed.), *RNA phages*. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y. – 1975.
16. Young D. C. Poliovirus aggregates and their survival in water / D. C. Young, D. G. Sharp // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1977. – V. 33. – P. 168 – 177.
17. Zelazo P. Specific dissociation of bacteriophage f2 protein to an 11S component / P. Zelazo, R. Haschemeyer // *Biochemistry.* – 1969. – V. 8. – P. 3587 – 3592.
18. O'Callaghan R. Controlled alterations in the physical and biological properties of R17 bacteriophage induced by guanidine hydrochloride / R. O'Callaghan, R.

Bradley, W. Paranchych // *Virology*. – 1973. – V. 54. – P. 476 – 494.

19. Previero A. Localization of non-essential tryptophan residues for the biological activity of lysozyme / A. Previero, M. A. Coletti-Previero, P. Jolles // *J. Mol. Biol.* – 1967. – V. 24. – P. 261 – 268.

20. Kuchler R. Editor's comments on papers 17, 18 and 19, p. 212-213 / R. Kuchler // In R. Kuchler (ed.), *Animal cell cultures and virology*. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc., Pa. – 1976.

21. Martin E. M. Studies on protein and nucleic acid metabolism in virus infected mammalian cells / E. M. Martin, T. S. Work // *J. Biochem.* – 1962. – V. 83. – P. 574 – 582.

22. Griffith O. M. Techniques of preparative, zonal and continuous flow ultracentrifugation / O. M. Griffith // Beckman Instruments, Inc., Fullerton, Calif. – 1976.

23. Ruckert R. R. Picornaviral architecture / R. R. Ruckert // In E. Maramorosch and E. Kurstan (ed.), *Comparative virology*. Academic Press, Inc., New York. – 1971.

24. Maizel J. V. SDS-acrylamide gel electrophoresis and its application to the protein of poliovirus and adenovirus infected human cells / J. V. Maizel, D. F. Summers, M. D. Scharff // *J. Cell Physiol.* – 1970. – V. 76. – P. 273 – 288.

25. Breindl M. Competence of suspended HeLa cells for inactivation by inactivated poliovirus particles and by isolated viral RNA / M. Breindl, G. Koch // *Virology*. – 1972. – V. 48. – P. 136 – 144.

26. Cords C. E. Alterations of capsid proteins of coxsackievirus A13 by low ionic strength / C. E. Cords, C. G. James, L. C. McLaren // *J. Virol.* – 1975. – V. 15. – P. 244 – 252.

27. Crowell R. L. Specific alterations of coxsackie B3 eluted from HeLa cells / R. L. Crowell, L. Philipson // *J. Virol.* – 1971. – V. 8. – P. 509 – 515.

28. Longer-Holm K. Early interaction of rhinovirus with host-cells / K. Longer-Holm, B. D. Kornat // *J. Virol.* – 1972. – V. 9. – P. 29 – 40.

29. Rekosh D. M. K. The molecular biology of picornaviruses, p. 63-110 / D. M. K. Rekosh // In D. P. Nayak (ed.), *Molecular biology of animal viruses*, vol. 1. Marcel Dekker, Inc., New York. – 1977.

30. Roy D. Kinetics of enteroviral inactivation by ozone / D. Roy, E. S. K. Chian, R. S. Engelbrecht // *J. Environ. Eng. Div. Proc. Am. Soc. Civ. Eng.* – 1981. – V. 10. – P. 887 – 901.

31. Roy D. Mathematical model for enterovirus inactivation by ozone / D. Roy, E. S. K. Chian, R. S. Engelbrecht // *Water Research*. – 1982. – V. 16, I. 5. – P. 667 – 673.

32. Cerf O. A Review. Tailing of survival curves of Bacterial spores / O. Cerf // *J. appl. Bact.* – 1976. – V. 42.

33. Hiatt C. W. Kinetics of the inactivation of viruses / C. W. Hiatt // *Bact. Rev.* – 1964. – V. 28. – P. 150 – 163.

34. Prokop A. Kinetics of disinfection / A. Prokop, Humphrey A. E. // In *Disinfection* (Edited by Benarde M. A.). Marcel Dekker, New York. – 1970.

35. Aberrations in survival curves / G. Berg, Clark R. M., Berman D. [et al.] // In *Transmission of Viruses by Water Route* (Edited by Berg G.), 235 pp. Interscience, New York. – 1967.

36. Chang S. L. Modern concepts of disinfection / S. L. Chang // *J. Sanit. Engng. Div. Proc. Am. Soc. civ. Eng.* – 1971. – V. 5. – P. 689.

37. Wei J. H. A multi-poisson distribution model for treating disinfection data / J. H. Wei, S. L. Chang // *In Disinfection: Water and Waste-water* (Edited by Johnson J. D.). Ann Arbor Science. Ann Arbor. – 1975.
38. Clark B. M. A mathematical model for virus deactivation / B. M. Clark, J. F. Nichaus // *In Transmission of Viruses by Water* Rome (Edited by Berg G.), 241 p. Interscience. New York. – 1967.
39. Clark O. M. A mathematical model of the kinetics of virus deactivation / Clark O. M. // *Math. Biosci.* – 1968. – V. 2. – P. 413.
40. Gard S. Chemical inactivation of viruses / S. Gard // *Ciba Found. Symp. Nature Viruses.* – 1957. – P. 123.
41. Virus sensitivity to chlorine disinfection of water supplies / R. S. E. Engelbrecht, M. Weber, C. A. Schmidt [et al.] // Report No. EPA-600/2-78-123. NTIS. Springfield, VA. – 1978.
42. Koch G. Influence of assay conditions on infectivity of heated poliovirus / G. Koch // *Virology.* – 1960. – V. 12. – P. 601.
43. Inactivation of enteroviruses by ozone / P. Roy, R. S. Engelbrecht, P. K. Y. Wong [et al.] // *Prog. Wat. Technol.* – 1980. – V. 12. – P. 819.
44. Inactivation of human and simian rotaviruses by ozone / J. M. Vaughn, Y. S. Chen, K. Lindburg [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology.* – 1987. – V. 53, No. 9. – P. 2218 – 2221.
45. Comparison of chlorine and ozone as viricidal agents of poliomyelitis virus / J. F. Kessel, D. K. Allison, F. J. Moore [et al.] // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1943. – V. 53. – P. 71 – 73.
46. National Academy of Sciences. The disinfection of drinking water: report of the subcommittee on efficacy of disinfection of the Safe Drinking Water Committee to the U.S. EPA. National Academy of Sciences, Washington, D.C. – 1979.
47. Venosa A. D. Current state-of-the-art of wastewater disinfection / A. D. Venosa // *J. Water Pollut. Control Fed.* – 1983. – V. 55. – P. 457 – 466.
48. Burleson G. R. Inactivation of viruses and bacteria by ozone, with and without sonication / G. R. Burleson, T. M. Murray, M. Pollard // *Appl. Microbiol.* – 1975. – V. 29. – P. 340 – 344.
49. Snyder J. E. Relative resistance of eight human enteric viruses to ozonation in Saugatucket River water, p. 82-99 / J. E. Snyder, P. W. Chang // *In Proceedings of the IOI Workshop on Aquatic Applications of Ozone.* International Ozone Institute, Boston. – 1974.
50. Farooq I. Comparative response of mixed cultures of bacteria and virus to ozonation / I. Farooq, S. Akhlaque // *Water Res.* – 1983. – V. 17. – P. 809 – 812.
51. Vaughn J. M. Inactivation of human and simian rotaviruses by chlorine / J. M. Vaughn, Y.-S. Chen, M. Z. Thomas // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1986. – V. 51. – P. 391 – 394.
52. Finch G. R. Comparative inactivation of poliovirus type 3 and MS2 coliphage in demand-free phosphate buffer by using ozone / G. R. Finch, N. Fairbairn // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1991. – V. 57. – P. 3121 – 394.
53. Malcolm Pirnie, Inc., HDR Engineering, Inc. Guidance manual for compliance with the filtration and disinfection requirements for public water systems using surface water sources. American Water Works Association, Denver. – 1991.

54. U.S. Environmental Protection Agency. Drinking water; national primary drinking water regulation; filtration, disinfection; turbidity, *Giardia lamblia*, viruses, *Legionella*, and heterotrophic bacteria; final rule. Fed. Regist. 54:27486-27541. – 1989.
55. Coin L. Inactivation par l'ozone du virus de la poliomyélite présent dans les eaux / L. Coin, C. Hannoun, C. Gomella // Presse Med. – 1964. – V. 72, N 37. – P. 2153 – 2156.
56. Evison L. M. Inactivation of enteroviruses and coliphages with ozone in water and waste waters / L. M. Evison // Prog. Water Technol. – 1978. – V. 10. – P. 365 – 374.
57. Herbold K. Comparison of ozone inactivation, in flowing water, of hepatitis A virus, poliovirus 1, and indicator organisms / K. Herbold, B. Flehmig, K. Botzenhart // Appl. Environ. Microbiol. – 1989. – V. 55. – P. 2949 – 2953.
58. Roy D. Comparative inactivation of six enteroviruses by ozone / D. Roy, R. S. Englebrecht, E. S. K. Chian // J. Am. Water Works Assoc. – 1982. – V. 74. – P. 660 – 664.
59. Hoff J. C. Inactivation of microbial agents by chemical disinfectants / J. C. Hoff // EPA/600/2-86/067. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati. – 1986.
60. Safe Drinking Water Committee. Drinking water and health. National Academy Press, Washington, D.C. – 1980.
61. Harakeh M. Inactivation of human rotavirus, SA11, and other enteric viruses in effluent by disinfectants / M. Harakeh, M. Butler // J. Hyg. – 1984. – V. 93. – P. 157 – 163.
62. Kott Y. Coliphage survival as viral indicators in various wastewater quality effluents / Y. Kott, H. Ben-Ari, L. Vinokur // Prog. Water Technol. – 1978. – V. 10. – P. 337 – 346.
63. Tobin R. J. Indicator systems for microbiological quality and safety of water / R. J. Tobin // J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol. – 1987. – V. 7, N. 5/6. – P. 115 – 201.
64. Effect of particulates on ozone disinfection of bacteria and viruses in water / O. J. Sproul, C. E. Buck, M. A. Emerson [et al.] // EPA-600/2-79-089. U.S. Environmental Protection Agency, Cincinnati, Ohio. – 1979.
65. Disinfection of model indicator organisms in a drinking water pilot plant by using PEROXONE / R. L. Wolfe, M. H. Stewart, S. Liang [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 1989. – V. 55. – P. 2230 – 2241.
66. Dahi E. Physicochemical aspects of disinfection of water by means of ultrasound and ozone / E. Dahi // Water Res. – 1976. – V. 10. – P. 677 – 684.
67. Finch G. R. Dose response of *Escherichia coli* in ozone demand free phosphate buffer / G. R. Finch, D. W. Smith, M. E. Stiles // Water Res. – 1988. – V. 22. – P. 1563 – 1570.
68. Harakeh M. S. Factors influencing the ozone inactivation of enteric viruses in effluent / M. S. Harakeh, M. Butler // Ozone Sci. Eng. – 1985. – V. 6. – P. 235 – 243.
69. Inactivation par l'ozone du virus de la poliomyélite présent dans les eaux / L. Coin, C. Gomella, C. Hannoun [et al.] // Presse Med. – 1967. – V. 75, N.38. – P. 1883 – 1884.
70. Inactivation of enteric adenovirus and feline calicivirus by ozone / J. A. Thurston-Enriquez, C. N. Haas, J. Jacangelo [et al.] // Water Research. – 2005. – V. 39, I. 15. – P. 3650 – 3656.

71. Shin A. Reduction of norwalk virus, poliovirus 1, and bacteriophage MS2 by ozone disinfection of water / A. Shin, M.D. Sobsey // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003. – V. 69. – P. 3975 – 3978.
72. Effects of ozone treatment on the infectivity of hepatitis A virus / J.M. Vaughn, Y. Chen, J.F. Novotny [et al.] // *Can. J. Microbiol.* – 1990. – V. 36. – P. 557 – 560.
73. Molecular epidemiology of “Norwalk-like Viruses” in outbreaks of gastroenteritis in the United States / R.L. Fankhauser, J.S. Noel, S.S. Monroe [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 1998. – V. 178. – P. 1571 – 1578.
74. Kapikian A.Z. Norwalk group of viruses / A.Z. Kapikian, M.K. Estes, R.M. Chanock // In: Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds.), *Fields Virology*, vol. 1, third ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, pp. 783–810. – 1996.
75. Hafliger D., Outbreak of viral gastroenteritis due to sewage-contaminated drinking water / D. Hafliger, P. Hubner, J. Luthy // *Int. J. Food Microbiol.* – 2000. – V. 54. – P. 123 – 126.
76. Waterborne outbreak of viral gastroenteritis / M. Kukkula, P. Arstila, M.L. Klossner [et al.] // *Scand. J. Infect. Dis.* – 1997. – V. 29. – P. 415 – 418.
77. The epidemiology of enteric caliciviruses from humans: a reassessment using new diagnostics / R.I. Glass, J. Noel, T. Ando [et al.] // *J. Infect. Dis.* – 2000. – V. 181. – P. S254 – S261.
78. Inactivation of norwalk virus in drinking water by chlorine / B.H. Keswick, J. Vinje, M.d. Wit [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1985. – V. 50. – P. 261 – 264.
79. Shin G.A. Reduction of Norwalk virus, poliovirus 1, and coliphage MS2 by free chlorine, chlorine dioxide, and ozone disinfection of water / G.A. Shin, D. Battigelli, M. D. Sobsey // In: *Proceedings of the Water Quality Technology Conference. American Water Works Association, Denver, CO.* – 1998.
80. Nuanualsuwan S. Capsid functions of inactivated human picornaviruses and feline calicivirus / S. Nuanualsuwan, D.O. Cliver // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003. – V. 69. – P. 350 – 357.
81. Inactivation of feline calicivirus and adenovirus type 40 by UV radiation / J.A. Thurston-Enriquez, C.N. Haas, J.G. Jacangelo [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003a. – V. 69. – P. 577 – 582.
82. Chlorine inactivation of adenovirus type 40 and feline calicivirus / J.A. Thurston-Enriquez, C.N. Haas, J.G. Jacangelo [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003b. – V. 69. – P. 3979 – 3985.
83. Clarke I.N. Organization and expression of Calicivirus genes / I.N. Clarke, P.R. Lambden // *J. Infect. Dis.* – 2000. – V. 181. – P. S309 – S316.
84. Sequence and genomic organization of Norwalk virus / X. Jiang, M. Wang, K. Wang [et al.] // *Virology*. – 1993. – V. 195. – P. 51 – 61.
85. Prasad B.V.V. Structural studies of recombinant Norwalk capsids / B.V.V. Prasad, M.E. Hardy, M.K. Estes // *J. Infect. Dis.* – 2000. – V. 181. – P. S317 – S321.
86. Horowitz M.S. Adenoviruses / M.S. Horowitz // In: Fields, B.N., Knipe, D.M., Howley, P.M. (Eds.), *Fields Virology*, vol. 1, third ed. Lippincott-Raven, Philadelphia. – 1996. – p. 2149 – 2171
87. Enriquez C.E. Survival of the enteric Adenovirus-40 and Adenovirus-41 in tap, sea, and waste-water / C.E. Enriquez, C.J. Hurst, C.P. Gerba // *Water Res.* – 1995. – V. 29. – P. 2548 – 2553.

88. Hurst C.J. Comparison of cytopathogenicity, immunofluorescence and in situ DNA hybridization as methods for the detection of adenoviruses / C.J. Hurst, K.A. McClellan, W.H. Benton // *Water Res.* – 1988. – V. 22. – P. 1547 – 1552.
89. Irving L.G. One-year survey of enteroviruses, adenoviruses, and reoviruses isolated from effluent at an activated-sludge purification plant / L.G. Irving, P.A. Smith // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1981. – V. 41. – P. 51 – 59.
90. Ellis K.V. Water disinfection: a review with some consideration of the requirements for the third world / K.V. Ellis // *Crit. Rev. Environ. Control.* – 1991. – V. 20. – P. 341 – 407.
91. Inactivation of microbial contaminants in the USEPA's drinking water contaminant candidate list (CCL) by various disinfectants / K.R. Riley, D. M. Gramos, C. P. Gerba [et al.] // Presented at the Proceedings of the International Water Association's Disinfection 2002 Meeting, St. Petersburg, FL. – 2002.
92. Characterization of Ozone Disinfection of Murine Norovirus / M. Y. Lim, J.-M. Kim, J. E. Lee [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology.* – 2010. – V. 76, N. 4. – P. 1120 – 1124.
93. Molecular epidemiology of caliciviruses causing outbreaks and sporadic cases of acute gastroenteritis in Spain / J. Buesa, B. Collado, P. Lopez-Andujar [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2002. – V. 40. – P. 2854 – 2859.
94. Molecular epidemiology of norovirus in outbreaks of gastroenteritis in southwest Germany from 2001 to 2004 / A. C. Ike, S. O. Brockmann, K. Hartelt [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2006. – V. 44. – P. 1262 – 1267.
95. Viral gastroenteritis outbreaks in Europe, 1995-2000 / B. A. Lopman, M. H. Reacher, Y. Van Duynhoven [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* – 2003. – V. 9. – P. 90 – 96.
96. Evidence of the etiological predominance of norovirus in gastroenteritis outbreaks—emerging new-variant and recombinant norovirus in Hungary / G. Reuter, K. Krisztalovics, H. Vennema [et al.] // *J. Med. Virol.* – 2005. – V. 76. – P. 598 – 607.
97. Waterborne outbreaks reported in the United States / M. F. Craun, G. F. Craun, R. L. Calderon [et al.] // *J. Water Health.* – 2006. – V. 4. – P. 19 – 30.
98. Federal Register. Announcement of the drinking water contaminant candidate list. Fed. Regist. 63:10273-10287. – 1998.
99. Waterborne outbreak of gastroenteritis associated with a norovirus / S. U. Parshionikar, S. William-True, G. S. Fout [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003. – V. 69. – P. 5263 – 5268.
100. Norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food handlers in Japan / K. Ozawa, T. Oka, N. Takeda [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* – 2007. – V. 45. – P. 3996 – 4005.
101. Persistence of caliciviruses on environmental surfaces and their transfer to food / D. H. D'Souza, A. Sair, K. Williams [et al.] // *Int. J. Food Microbiol.* – 2006. – V. 108. – P. 84 – 91.
102. Lee J. E. Inactivation and UV disinfection of murine norovirus with TiO₂ under various environmental conditions / J. E. Lee, K. D. Zoh, G. P. Ko // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2008. – V. 74. – P. 2111– 2117.
103. U.S. Environmental Protection Agency. Guidance manual for compliance with the filtration and disinfection requirements for public water systems using surface water sources. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. – 1991.

104. STAT1-dependent innate immunity to a Norwalk-like virus / S. M. Karst, C. E. Wobus, M. Lay [et al.] // *Science*. – 2003. – V. 299. – P. 1575– 1578.
105. Surrogates for the study of norovirus stability and inactivation in the environment: a comparison of murine norovirus and feline calicivirus / J. L. Cannon, E. Papafragkou, G. W. Park [et al.] // *J. Food Prot.* – 2006. – V. 69. – P. 2761– 2765.
106. Slomka M. J. Feline calicivirus as a model system for heat inactivation studies of small round structured viruses in shellfish / M. J. Slomka, H. Appleton // *Epidemiol. Infect.* – 1998. – V. 121. – P. 401– 407.
107. Haas C. N. Effect of initial microbial density on inactivation of *Giardia muris* by ozone / C. N. Haas, B. Kaymak // *Water Res.* – 2003. – V. 37. – P. 2980– 2988.
108. Cho M. Disinfection of water containing natural organic matter by using ozone-initiated radical reactions / M. Cho, H. Chung, J. Yoon // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2003. – V. 69. – P. 2284– 2291.
109. von Gunten U. Ozonation of drinking water: part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide, chlorine / U. von Gunten // *Water Res.* – 2003. – V. 37. – P. 1469 – 1487.
110. RT-PCR amplification detects inactivated viruses in water and wastewater / M. D. Sobsey, D. A. Batigelli, G. A. Shin [et al.] // *Water Sci. Tech.* – 1998. – V. 38. – P. 91 – 94.

4.3 Протозооцидное действие озона

В работе [1] проведена серия экспериментов по инаktivации ооцист *Cryptosporidium parvum* диоксидом хлора или озоном. Предварительные опыты показали, что минимальный уровень 10^3 ооцист/0,1 ml был необходим для 100 %-ой инвазии у новорожденных мышей. Обработка воды, содержащей 10^4 ооцист/ml озоном в дозе 1,11 mg/l в течение 6 min полностью устранила инфекционность ооцист. Уровень 2,27 mg/l озона был необходим для инаktivации 5×10^5 ооцист/ml за 8 min.

В эксперименте 1 установлено следующее. Инвазирование новорожденных мышей различными дозами ооцист вызвала симптомы заболевания только после введения 10^3 или больше ооцист. Наиболее высокие числа ооцист были обнаружены на 7 день, когда 100 % мышей были заражены. На 6 день 4 из 7 мышей, которым было введено 10^4 ооцист были позитивными, 4 из 12 мышей, инокулированных 10^3 ооцист, позитивны на 8 день. Поэтому, все мыши были выведены из эксперимента на 7 день в последующих экспериментах.

Эксперименты 2 – 4. В течение первой минуты воздействия озона на суспензию ооцист его концентрация снизилась на 12 – 26 % в зависимости от числа ооцист. В течение следующих 5 – 7 min наблюдалось снижение на 8 – 33 %.

Отмечено достоверное ($P < 0,05$) снижение инфекционности ооцист *C. parvum*. Влияние различных доз озона и экспозиций его воздействия на инфекционность ооцист *C. parvum* представлена в табл. 4.3.1.

Данные эксперимента 2 показывают, что эффект зависел от числа ооцист. Введение озона в дозе 2,25 mg/l в воду, содержащую 10^4 ооцист/ml, вызвало инвазирование только 1 из 9 мышей после 2 min контакта, тогда как подобная обработка воды, содержащей 5×10^5 ооцист/ml, не была в состоянии предотвратить инвазию (эксперименты 2 и 3). После увеличения экспозиции доза озона 1,1 mg/l в течение 6 min была достаточна для инактивации 10^4 ооцист/ml (эксперимент 4) и 2,25 mg/l в течение 8 min для инактивации 5×10^5 ооцист/ml (эксперименты 2 и 3).

Таблица 4.3.1

Инфекционность ооцист *S. parvum* для новорожденных мышей после воздействия озона

№ эксп.	Ооцист /ml	Доза озона mg/l	Экс-позиция, min	Число положительных мышей/общее	\log_{10} инфективности ооцист	% уменьшения ооцист
1	2	3	4	5	6	7
2	1×10^4	2,25	0	6/7	$5,23 \pm 1,35$	0
			2	1/9	<4	>98
			8	0/8	0	100
	1×10^5	2,25	0	4/5	$5,20 \pm 1,50$	0
			2	3/5	$4,11 \pm 1,25$	81
			8	1/7	<4	>99
	5×10^5	2,25	0	5/5	$6,52 \pm 0,10$	0
			2	4/4	$4,67 \pm 0,85$	93
			8	0/7	0	100
3	5×10^5	Нет		8/8	$6,82 \pm 0,16$	0
		0,59	2	7/8	$5,10 \pm 1,44$	75
			5	3/8	<4	>99
			8	6/10	$4,42 \pm 1,31$	96
		1,06	2	13/13	$6,20 \pm 0,35$	72
			5	3/4	$4,48 \pm 1,02$	99
			8	5/9	$4,17 \pm 1,27$	95
		2,27	2	7/7	$5,40 \pm 1,06$	86
			5	2/10	<4	99
			8	0/4	0	100
4	1×10^4	Нет		7/7	$5,82 \pm 0,67$	0
		1,11	2	4/9	<4	92
			4	2/6	<4	99
			6	0/7	0	100

Значимость влияния общего органического углерода (ООУ) в суспензии ооцист на исходную и конечную концентрации озона показана в табл. 4.3.2.

Таблица 4.3.2

Влияние общего органического углерода (ООУ) в суспензии ооцист на исходную и конечную концентрации озона

№ эксп.	Концентрация, ООУ, mg/l	Максимальная экспозиция, min	Концентрация, mg/l	
			Исходная	Конечная
2	3,5	8	2,25	1,80
3	14,5	8	0,59	0,24
		8	1,06	0,51
		8	2,27	1,49
4	1,5	6	1,11	0,77

Результаты вышеописанных экспериментов показывают, что озон является средством инактивации *C. parvum oocysts* при дезинфекции питьевой воды. Во время этих испытаний использовался минимальный уровень инвазии 10^4 ооцист/ml (см. эксперимент 1). Это сопоставимо с результатами Ernest и соавт. [2] о 100%-ости инфекционной дозы 500 – 1 000 ооцист. Этот уровень выше тех, которые обнаруживались в поверхностных водах [3].

Несколько поставляющих воду компаний используют озон для дезинфекции воды. Согласно технологической схеме необходимо поддерживать минимальную остаточную концентрацию озона 0,4 mg/l в течение 6 min при исходной дозе 1,5 – 4 mg/l. Это совпадает с вышеуказанными данными [1] и соответствует этим экспериментальным условиям, то есть таких доз достаточно для дезинфекции воды, содержащей меньше чем 10^4 ооцист/ml.

В исследовании [4] очищенные ооцисты *C. parvum* были обработаны озоном, диоксидом хлора, хлором и монохлорамином. Сравнивали эксцистирование и инфекционность на мышах для оценки жизнеспособности ооцист. Озон и диоксид хлора более эффективно инактивировали ооцисты, чем хлор и монохлорамины. Установлена более чем 90 %-ая инактивация по инфекционности при воздействии озона дозой 1 mg/l за 5 min. Данные показывают, что ооцисты *C. parvum* являются в 30 раз более стойкими к озону, чем цисты *Giardia* при тех же условиях.

Ооцисты *Cryptosporidium* являются чрезвычайно стойкими к обычно используемым дезинфицирующим средствам. Их жизнеспособность

сохраняется при воздействии 1,05 и 3 %-ого гипохлорита натрия в течение 18 час. Для полного устранения инфекционности необходимы длительное воздействие 10 %-ого формалина, 5 %-ого аммиака или 70 %-ого отбеливающего средства в течение 30 min при температуре выше 65 °C или замораживание [5-7]. Дезинфекция хлором не достаточна для предотвращения инвазии *Cryptosporidium*. Исследование влияния озона и диоксида хлора на жизнеспособность ооцист *C. parvum* в питьевой воде показало, что обработка воды озоном в дозе 1,11 mg/l полностью устранило инфекционность за 5 min [1].

Применение большинства дезинфектантов предполагает гарантию безопасности питьевой воды в плане отсутствия бактерий, вирусов и *Giardia spp.* [8, 59, 4.2]. Однако, число таких исследований относительно ооцист *C. parvum* ограничено.

Результаты фрагмента исследований по озону состоят в следующем. Эксцистированные ооцисты, обработанные 1 mg/l озона, уменьшились от 84 % до 0 % через 5 min воздействия. Уровень уменьшения был самым высоким в течение 1 – 4 min, несмотря на постоянную дозу озона 1 mg/l. Результаты исследований инфекционности на мышах были подобны. Например, 5 из 21 мыши (24 %) и 5 из 36 мышей (14 %) оказались зараженными при дозе 6 000 ооцист, обработанных озоном в течение 5 и 10 min соответственно. Все 11 мышей при дозе 60 000 ооцист после воздействия озона в течение 5 min были зараженными, в то время как ни одна из 21 мыши, получающей в то же самое число ооцист, обработанных озоном в течение 10 min, не заразились. Таким образом, по крайней мере 90 % ооцист были инактивированы в течение 3 min, 90 – 99 % – 5 min, и 99 – 99,9 % – 10 min. **Основываясь на этих данных, авторы рассчитали приблизительный St для 99 %-ой инактивации ооцист *C. parvum* между 5 и 10 mg-min/l.**

В работе [9] (1993 г.) отмечена незначительность исследований относительно инактивации озоном ооцист *Cryptosporidium* [1, 4, 10-14]. Большинство этих исследований использовало инфекционность для животных как критерий степени инактивации. Korich и соавт. [4] сообщили о сопоставимости данных эксцистирования *in vitro* с таковыми на моделях животных при идентичных условиях. Однако, большая часть этой работы посвящена изучению инактивации при комнатной температуре, при этом не исследовалась кинетика инактивации. Цель этого исследования [9] состояла в сравнении эксцистирования с инфекционностью у новорожденных мышей линии CD-1 для определения жизнеспособности после дезинфекции, определении озонопоглощаемости при комнатной температуре и при 7 °C и кинетики инактивации.

Результаты определения жизнеспособности после инактивации суммированы в табл. 4.3.3, где отражены условия озонирования каждого эксперимента.

В табл. 4.3.4 представлены результаты инфекционности ооцист *S. parvum* для новорожденных мышей CD-1 после обработки озонем. Данные инактивации были оценены при использовании двух методов расчета эксцистирования и модели доза – ответ для новорожденных мышей CD-1. Установлено, что результаты эксцистирования достоверно ниже таковых для инфекционности животных ($P < 0,05$). При этом, с увеличением степени инактивации различие между эксцистированием и инфекционностью также увеличилось.

На рис. 4.3.1 и 4.3.2 представлены результаты инактивации на основе эксцистирования и инфекционности как функции интегрированной концентрации остаточного озона и экспозиции. Инактивация ооцист *S. parvum* по инфекционности и эксцистированию при 7 °С показана на рис. 4.3.3.

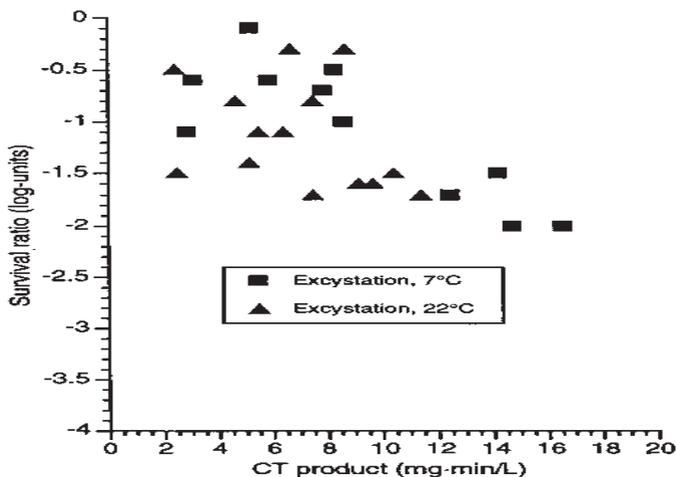


Рис. 4.3.1. Результаты инактивации ооцист *S. parvum* при 7 и 22 °С на основе эксцистирования как функции интегрированной концентрации остаточного озона и экспозиции

Обобщение экспериментальных условий и инактивации ооцист
S. parvum в 0,05 mol фосфатном буфере (рН 6,9)

№ кода экпер.	Объем реакторной камеры, ml	T, °C	Скорость вращения, rpm	Вводимая доза озона, mg/l	Конц-я видимого озона, mg/l	Остат-я конц-я озона, mg/l	Интергальная остат-я конц-я озона, mg/l	Снижение инфективности (log)	Снижение экскитирования (log) ^a	Снижение экскитирования (log) ^b
6	50	22	5	1,6	1,5	0,3	0,7	2,5	нд	нд
10	125	24	5	0,7	0,7	0,4	0,5	2,6	0,5	0,7
16	50	21	5	2,6	2,7	1,4	1,9	>2,4	1,6	1,4
17	50	21	5	1,8	1,8	0,9	1,3	2,1	1,1	1,1
30	50	22	5	2,1	2,0	0,9	1,3	0,8	0,3	0,4
35	125	22	10	2,9	2,9	1,3	2,0	>2,5	1,6	1,8
37	125	22	5	2,8	2,7	1,9	2,3	>2,5	1,7	1,5
43	50	22	10	1,6	1,7	0,3	0,8	>1,5	0,8	0,5
45	50	22	15	1,4	1,4	0,1	0,4	>1,9	1,1	0,6
56	50	22	10	1,7	1,7	0,3	0,8	3,6	0,8	0,9
58	50	22	5	2,4	2,4	1,2	1,7	3,7	0,3	0,5
62	50	7	5	1,6	1,5	0,9	1,2	1,6	0,6	0,8
64	50	7	10	1,5	1,5	0,5	0,8	>1,9	0,5	0,6
68	50	5	5	2,9	2,6	1,2	1,7	2,4	1,0	1,1
70	50	5	10	2,0	1,9	0,3	0,8	2,8	0,7	0,9
73	50	3	5	0,8	0,8	0,4	0,6	1,0	1,1	0,6
75	50	3	10	0,6	0,6	0,2	0,3	0,7	0,6	0,6
78	50	8	10	2,4	2,3	0,9	1,5	3,7	2,0	1,9
80	50	8	5	1,3	1,4	0,8	1,0	0,7	0,1	0,1
84	50	7	10	2,3	2,3	0,7	1,2	3,2	1,7	1,4
88	50	10	9	2,6	2,7	1,3	1,8	2,8	2,0	1,4
93	50	8	15	1,9	2,0	0,5	0,9	3,6	1,5	1,56
95	50	22	5	1,4	1,4	0,6	0,9	1,2	0,8	0,59
97	50	22	10	1,7	1,7	0,3	0,7	2,5	1,7	1,54
100	50	22	5	0,8	0,7	0,3	0,5	1,9	1,5	1,03
102	50	22	10	2,6	2,4	0,5	1,0	4,2	1,5	1,15
105	50	22	10	1,6	1,5	0,2	0,5	3,5	1,4	1,11
107	50	22	15	2,4	2,2	0,2	0,6	4,7	1,6	1,20

^a определение методом Korich и соавт. [4]; ^b определение методом Woodmansee [15]; нд – нет данных.

Таблица 4.3.4
Обобщение результатов экспериментов по оценке снижения инфекционности ооцист *S. parvum* для новорожденных мышей CD-1 после инактивации озоном

№ кода эксп.	Доза заражения (ооцист/животное)	Число живых животных в группе	Число инфицированных животных в группе	Соотношение ^a	Оцененная инфекционная доза (ооцист/животное) ^b	N/N_0^c	Снижение инфективности (log)
6	$8,84 \times 10^4$	7	6	0,86	254	$2,87 \times 10^{-3}$	2,5
10	$8,31 \times 10^4$	5	4	0,80	195	$2,35 \times 10^{-3}$	2,6
16	$6,00 \times 10^3$	8	0	0,00	<23	$<3,83 \times 10^{-3}$	>2,4
17	$2,88 \times 10^3$	9	1	0,11	21	$7,14 \times 10^{-3}$	2,1
30	$2,00 \times 10^2$	5	1	0,20	32	$1,61 \times 10^{-1}$	0,8
35	$7,29 \times 10^3$	6	0	0,00	<23	$<3,15 \times 10^{-3}$	>2,5
37	$8,13 \times 10^3$	6	0	0,00	<23	$<2,83 \times 10^{-3}$	>2,5
43	$6,95 \times 10^2$	6	0	0,00	<23	$<3,31 \times 10^{-2}$	>1,5
45	$2,03 \times 10^3$	4	0	0,00	<23	$<1,13 \times 10^{-2}$	>1,9
56	$1,33 \times 10^5$	5	1	0,20	32	$2,43 \times 10^{-4}$	3,6
58	$1,54 \times 10^5$	5	1	0,20	32	$2,10 \times 10^{-4}$	3,7
62	$1,30 \times 10^3$	5	1	0,20	32	$2,48 \times 10^{-2}$	1,6
64	$1,39 \times 10^3$	3	0	0,00	<23	$<1,65 \times 10^{-2}$	>1,8
68	$2,17 \times 10^4$	4	2	0,50	79	$3,66 \times 10^{-3}$	2,4
70	$2,19 \times 10^4$	4	1	0,25	39	$1,78 \times 10^{-3}$	2,8
73	$1,06 \times 10^3$	5	3	0,60	103	$9,70 \times 10^{-2}$	1,0
75	$6,80 \times 10^2$	6	4	0,67	124	$2,19 \times 10^{-1}$	0,7
78	$1,52 \times 10^5$	6	1	0,17	28	$1,84 \times 10^{-4}$	3,7
80	$1,81 \times 10^2$	5	1	0,20	32	$1,79 \times 10^{-1}$	0,7
84	$1,19 \times 10^5$	6	3	0,50	79	$6,68 \times 10^{-4}$	3,2
88	$1,36 \times 10^5$	5	4	0,80	195	$1,44 \times 10^{-3}$	2,8
93	$1,21 \times 10^5$	6	1	0,17	28	$2,31 \times 10^{-4}$	3,6
95	$1,08 \times 10^3$	5	2	0,40	61	$5,63 \times 10^{-2}$	1,2
97	$1,10 \times 10^4$	5	1	0,20	32	$2,95 \times 10^{-3}$	2,5
100	$1,65 \times 10^4$	5	4	0,80	195	$1,18 \times 10^{-2}$	1,9
102	$1,49 \times 10^6$	5	3	0,60	103	$6,91 \times 10^{-5}$	4,2
105	$2,02 \times 10^5$	5	2	0,40	61	$3,02 \times 10^{-4}$	3,5
107	$1,57 \times 10^6$	5	1	0,20	32	$2,06 \times 10^{-5}$	4,7

^a отношение числа инфицированных животных к общему числу опытных; ^b определение реакции доза-ответ на модели новорожденных мышей линии CD-1; ^c N/N_0 отношение предполагаемого числа инфекционных ооцист к числу введенных ооцист.

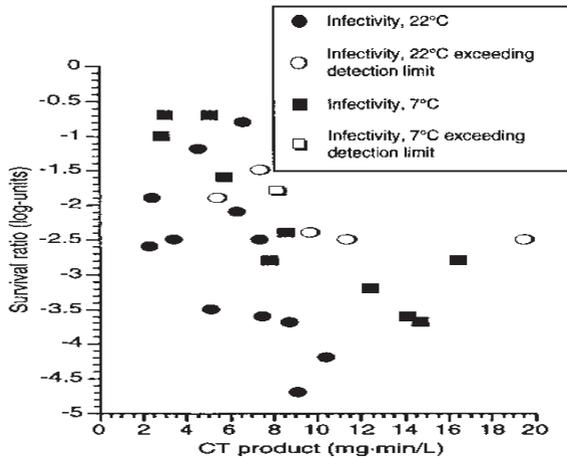


Рис. 4.3.2. Результаты инактивации ооцист *C. parvum* при 7 и 22 °С на основе инфекционности как функции интегрированной концентрации остаточного озона и экспозиции

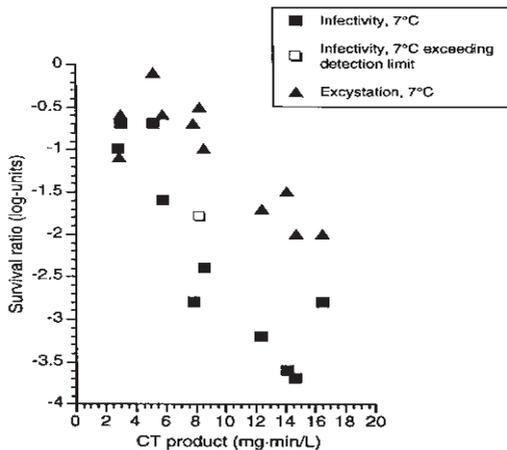


Рис. 4.3.3. Сравнение эксцистирования и инфекционности как критериев жизнеспособности ооцист *C. parvum* после инактивации озоном при 7 °С как функции интегрированной концентрации остаточного озона и экспозиции

Недооценка инактивации ооцист в пробирочном тесте эксцистирования имеет важное значения для интерпретации данных в этом и других исследованиях. В некоторых опубликованных работах по инактивации *C. parvum* при использовании общепринятых средств обеззараживания воды эксцистирование рассматривалось как критерий инактивации [13]. Уровни St , о которых сообщается в этих статьях, частично могли ввести в заблуждение из-за недостатков процедуры эксцистирования. Рис. 4.3.3 иллюстрирует различие в отношениях выживания, определенных эксцистированием и инфекционностью при 7 °С. Для разработки лучших критериев оценки жизнеспособности *C. parvum* требуются дополнительные исследования. Тем временем, очевидно, что использование модели инфекционности на животных остается лучшим выбором для определения степени инактивации *C. parvum* химическими дезинфектантами.

Обсуждение критериев дизайна озонирования для контроля *C. parvum* в воде должно включать сравнение с другими аналогичными исследованиями. Однако, такое сравнение затруднено по трем причинам: о подходящей кинетической модели в предыдущих исследованиях не сообщается; существуют потенциальные различия в оценке жизнеспособности между инфекционностью и эксцистированием; протоколы озонирования варьируют в различных исследованиях. Только в одном предыдущем исследовании эти условия были соблюдены [1]. Табл. 4.3.5 представляет условия экспериментов и их результаты в этом и других исследованиях.

St для 99 и 99,9 % инактивации в данном исследовании представлен в табл. 4.3.6 и 4.3.7. Эти значения при температурах 22 и 7 °С составили 3,5 и 7 mg-min/l для 99 %-ой инактивации, 5 и 10 mg-min/l для 99,9 % инактивации соответственно.

Korich и соавт. [4] использовали 0,01 mol фосфатный буфер при pH 7 с непрерывным добавлением озона для поддержания постоянной остаточной концентрации 1 mg/l. Для определения жизнеспособности ооцист использовались новорожденные мыши линии BALB/c. Постоянный остаточный озон 1,0 mg/l вызвал 99 %-ую инактивацию через 5 min контакта (St 5 mg-min/l). **О дозе озона и распаде озона в течение экспериментов не сообщено, что обуславливает недооценку фактической дозы озона, требуемой для инактивации.**

Таблица 4.3.5

Обобщение результатов инактивации ооцист *Cryptosporidium* sp. с использованием линейной зависимости при расчете Ст

Виды	Протокол озонирования	Тип воды	Остаточная концентрация озона, mg/l	Экспозиция, min	Т, °С	Линейная зависимость Ст для $\geq 99\%$ инактивации, mg-min/l ^a	Источник
C. parvum	Batch liquid, batch ozone	0,05 М фосфатный буфер	0,16-1,3	5, 10, 15	7	7	9
	Batch liquid, batch ozone	0,05 М фосфатный буфер	0,17-1,9	5, 10, 15	22	3,5	9
	Batch liquid, batch ozone	Деионизированная вода	0,77	6	К*	4,6	4
	Batch liquid, batch ozone	Деионизированная вода	0,51	8	К*	4	4
	Batch liquid, continuous gas	0,01 М фосфатный буфер	1,0	5,10	25	5-10	6
	Batch liquid, continuous gas	Дистиллированная вода	0,44	6	20	2,6	5
	Batch liquid, modified batch gas	Дистиллированная вода	0,6 – 0,8	4	25	2,4-3,2	10

^a Интерпретация зависит от протокола и метода оценки данных, используемых авторами;

* – комнатная температура

Таблица 4.3.6

**Обобщение параметров озонирования для 99%-ой инактивации
ооцист *Cryptosporidium***

Концентрация остаточного озона, mg/l	Экспозиция, min		Линейная зависимость Ct		Нелинейная зависимость $C^{n_t}t^m$	
					n = 0,68, m = 0,95	n = 0,23, m = 0,64
	7 °C	22 °C	7 °C	22 °C	7 °C	22 °C
0,25	20,6	6,6	5,1	1,7	6,9	2,4
0,50	12,5	5,2	6,3	2,6	6,9	2,4
0,75	9,4	4,5	7,0	3,3	6,9	2,4
1,00	7,6	4,0	7,6	4,0	6,9	2,4
1,25	6,5	3,7	8,1	4,6	6,9	2,4
1,50	5,7	3,5	8,6	5,2	6,9	2,4
1,75	5,1	3,3	8,9	5,8	6,9	2,4
2,00	4,6	3,1	9,3	6,3	6,9	2,4
2,25	4,3	3,0	9,6	6,8	6,9	2,4
2,50	4,0	2,9	9,9	7,2	6,9	2,4
2,75	3,7	2,8	10,2	7,7	6,9	2,4
3,00	3,5	2,7	10,4	8,1	6,9	2,4

Таблица 4.3.7

**Обобщение параметров озонирования для 99,9 %-ой инактивации
ооцист *Cryptosporidium***

Концентрация остаточного озона, mg/l	Экспозиция, min		Линейная зависимость Ct		Нелинейная зависимость $C^{n_t}t^m$	
					n = 0,68, m = 0,95	n = 0,23, m = 0,64
	7 °C	22 °C	7 °C	22 °C	7 °C	22 °C
0,25	31,6	12,5	7,9	3,1	10,3	3,7
0,50	19,2	9,7	9,6	4,9	10,3	3,7
0,75	14,4	8,4	10,8	6,3	10,3	3,7
1,00	11,7	7,6	11,7	7,6	10,3	3,7
1,25	10,0	7,0	12,5	8,8	10,3	3,7
1,50	8,8	6,6	13,1	9,8	10,3	3,7
1,75	7,8	6,2	13,7	10,9	10,3	3,7
2,00	7,1	5,9	14,2	11,8	10,3	3,7
2,25	6,5	5,7	14,7	12,8	10,3	3,7
2,50	6,1	5,5	15,2	13,6	10,3	3,7
2,75	5,7	5,3	15,6	14,5	10,3	3,7
3,00	5,3	5,1	16,0	15,3	10,3	3,7

Langlais и соавт. [10] использовали самцов иммуносупрессивной линии крыс Sprague-Dawley для определения инфекционности ооцист *C. baileyi* после озонирования. Они сообщили, что Ct для инактивации ооцист на 3 – 4 log (99,9 и 99,99 % соответственно) составляет 3,2 mg-min/l; на 4 – 5 log (99,99 и 99,999 % соответственно) – 4,4 mg-min/l.

Peeters и соавт. [1] использовали тот же экспериментальный протокол. Использовались новорожденные швейцарские мыши OF1 для определения жизнеспособности ооцист. Приблизительно 99 %-ая инактивация была достигнута при остаточном озоне 0,51 mg/l и экспозиции 8 min для Ct 4,1 mg-min/l и 0,77 mg/l и экспозиции 6 min для Ct 4,6 mg-min/l.

Perrine и соавт. [12] сообщали, что постоянный остаточный озон 0,44 mg/l в течение 6 min вызвал 99 %-ую инактивацию ооцист *C. parvum*. Полученный уровень Ct составлял 2,6 mg-min/l. Однако, авторы использовали непрерывную систему подачи озона и, таким образом, недооценили фактическую дозу озона. Langlais и соавт. [10] использовали другой протокол озонирования для ооцист *C. baileyi*. Вместо того, чтобы добавлять озон в раствор, содержащий ооцисты, они ввели ооцисты к раствору с озоном, содержащему необходимый остаточный озон после определения озонопоглощаемости. Полученный Ct был ниже, чем в этом исследовании.

Сравнивая эти исследования, можно заметить, что существует широкий диапазон Ct для достижения 99 или 99,9 % инактивации. Результаты данного исследования [9] в комплексе с таковыми других исследований предполагают, что Ct для 99 %-ой инактивации ооцист озоном в лабораторной воде без поглощаемости при комнатной температуре составляет 3 или 4 mg-min/l. Это свидетельствует, что снижение температуры воды приводит к увеличению Ct.

Необходимая экспозиция воздействия остаточного озона для 99 и 99,9 % инактивации *C. parvum* при 7 и 22 °C представлена в табл. 4.3.4 и 4.3.5. Полученные C_t^m при 22 °C для 99 и 99,9 % инактивации составляют 2,4 и 3,7 соответственно; при 7 °C – 6,9 и 10,3 соответственно. Кинетическая модель была также рассчитана по данным инактивации Peeters и соавт. [1] при комнатной температуре. Прежде, чем сделать эту оценку, высказано два предположения для адаптации этих данных к существующему анализу. Во-первых, распад остаточного озона соответствовал реакции первого порядка, поскольку авторы использовали деионизированную воду, в которой такие реакции являются типичными. Второе предположение состоит в том, что модель доза – ответ для новорожденных мышей в этом исследовании применима именно к таким новорожденным мышам. У этого предположения есть максимум неуверенности, но это необходимо для последующего анализа.

Полученные уровни C_{nt}^m составляли 1,6 и 2,4 для 99 и 99,9 % инактивации соответственно. Модель Peeters и соавт. [1] предполагает, что концентрация озона имела меньшую важность по сравнению со временем контакта, тогда как в данном исследовании [9] концентрация озона и время контакта одинаково важны. Эти исследования представляют собой предварительные попытки определения необходимой дезинфекции *C. parvum* при использовании озона. Следует получить больше данных, прежде всего, уточняющих важность времени контакта и концентрации озона.

Табл. 4.3.6 и 4.3.7 иллюстрируют различия в экспозиции и концентрации озона при сравнении с уровнями Ct для одинаковых условий озонирования. Например, в табл. 4.3.6 интегрированный остаточный озон 0,25 mg/l для 99 %-ой инактивации требует времени контакта 6,6 min (Ct 1,7 mg-min/l). Если эта цифра удваивается до 0,50 mg/l, необходимое время контакта падает до 5,2 min для 99 %-ой инактивации (Ct 2,6 mg-min/l). Следует отметить, что Ct увеличивается. Этот пример иллюстрирует нелинейность модели.

Результаты этого исследования [9] позволяют получить дополнительные сведения по инактивации озоном *C. parvum* и показывают, что озон эффективно инактивирует *C. parvum* в лабораторных условиях. Дальнейшие исследования необходимы для оценки эффективности озона при обеззараживании питьевой воды в реальных условиях водоподготовки.

В работе [16] изучали сравнительную эффективность инактивации озоном цист *Giardia lamblia* и *Giardia muris* с использованием фосфатного буфера (0,05 mol) при 22 °C и экспозиции 2 и 5 min. Жизнеспособность цист в контроле и опыте оценивали при использовании мышей СЗН/HeN и монгольских песчанок для *G. muris* и *G. lamblia* соответственно. Устойчивость *G. lamblia* к озону не отличалась достоверно от *G. muris*, вопреки предположениям, что *G. lamblia* значительно более чувствительны к озону, чем *G. muris*. Уровень Ct для 2 log инактиваций *G. lamblia* был в 2,4 раза выше того, который рекомендуется Правилем Обработки Поверхностных Вод (Surface Water Treatment Rule).

Хорошо известно, что в исследованиях по дезинфекции озоном *G. muris* является адекватным суррогатом *G. lamblia*. При этом, по мнению некоторых исследователей *G. muris* предпочтительнее, поскольку этот паразит непатогенен для человека и имеет высокий уровень эксцистирования и инфекционности у мышей [17-19]. Напротив, *G. lamblia* является патогеном, отличается низким процентом эксцистирования и неустойчивым выпуском цист при инфицировании монгольской песчанки [18-20]. Ранее сообщалось, что цисты *G. lamblia* в 3,5 раза более

чувствительны к озону, чем *G. muris*, при 5 °С и в 1,5 раза – при 25 °С [9]. Эти результаты получены при сравнении уровней 99 %-ой инактивации, полученных при эксцистировании [8]. По другим данным, различия между *St* для инактивации на 3 log *G. muris* и *G. lamblia* по эксцистированию несущественны [21].

Цель этой работы [16] состояла в сравнении инактивации цист *G. muris* и *G. lamblia* озоном в 0,05 М фосфатном буфере при использовании соответствующей модели животных для определения жизнеспособности цист до и после озонирования.

Распространенным заблуждением исследований озона является постоянство *St*. На самом деле, в силу чрезвычайно реакционной способности озон непрерывно исчезает в течение времени контакта. Существует несколько методов определения концентрации озона в зависимости от метода его введения [22]. В данном исследовании, в котором озон вводится из концентрированного раствора, реакторный сосуд можно считать сегментом идеального потока [67, 4.2]. Это позволяет поддерживать максимально стабильной дозу озона.

В табл. 4.3.8 представлены экспериментальные условия инактивации *G. lamblia* и *G. muris* и обобщенные концентрации озона для каждого эксперимента. Рис. 4.3.4 иллюстрирует выживание *G. muris* и *G. lamblia* как функции *St*, основанного на концентрации остаточного озона и экспозиции. *St* для 2, 3, и 4 log инактивации *G. muris* составляет приблизительно 0,24, 0,45 и 0,86 mg-min/l соответственно. Данные *St* для *G. lamblia* более трудно интерпретировать. Приблизительный *St* для инактивации *G. lamblia* на 2 log составлял приблизительно 0,65 mg-min/l. Это более чем в два раза превышает подобный показатель для *G. muris*. Для 3 log инактивации эта величина составляла 1.23 mg-min/l, то есть, больше, чем в 2,5 раза для *G. muris*. Для 4 log инактивации – 2,57, то есть почти в 3 раза больше, чем для *G. muris*. Пять log инактивации *G. lamblia* были за пределами чувствительности используемой модельной системы.

При интерпретации данных табл. 4.3.8 следует учесть несколько обстоятельств.

Во-первых, два пункта данных по инактивации превысили пределы чувствительности *G. lamblia* на модели животных, что затрудняет количественный анализ. Приблизительные пределы чувствительности составляют 30 жизнеспособных цист *G. lamblia*, которые могут вызвать инфекцию в модели песчанки. Этот уровень был средним числом двух самых низких доз цист (20 и 40 цист на животное), которые вызвали инфекцию. Для *G. muris* было одно наблюдение, в котором превышен предел чувствительности. Во всех случаях предел чувствительности использовался при числовом анализе данных.

Таблица 4.3.8

Экспериментальные условия инаktivации цист *G. muris* и *G. lamblia* в 0,05 mol фосфатном буфере при 22 °С

Микро-организм	УКП	pH	Экспозиция, мин	Доза озона mg/l	Концентрация исходного озона mg/l	Концентрация/доза	Концентрация остаточного озона, mg/l	Константа распада озона (k') (min ⁻¹) ^a	Отношение выживания (log N/N ₀)	% инаktivации (N/N ₀)
<i>G. lamblia</i>	4	6,85	13	2,52	1,76	0,70	0,32	0,13	<-4,4 ^b	>99,996 ^b
<i>G. lamblia</i>	5	6,85	2	1,69	0,93	0,55	0,56	0,25	-3,1	>99,92
<i>G. lamblia</i>	6	6,85	5	2,16	1,44	0,67	0,49	0,22	-3,5	99,97
<i>G. lamblia</i>	7	6,85	5	1,88	1,17	0,62	0,54	0,16	<-4,3 ^b	>99,995 ^b
<i>G. lamblia</i>	8	6,85	2	1,10	0,79	0,72	0,43	0,30	-2,3	99,5
<i>G. muris</i>	9	6,70	5	0,62	0,47	0,76	0,26	0,12	-4,2	99,994
<i>G. muris</i>	10	6,70	5	0,64	0,52	0,81	0,37	0,07	-4,2	99,994
<i>G. muris</i>	11	6,70	5	0,26	0,18	0,69	0,08	0,16	-3,1	99,92
<i>G. muris</i>	12	6,70	5	0,30	0,22	0,73	0,11	0,14	-3,1	99,92
<i>G. muris</i>	13	7,60	5	0,82	0,70	0,85	0,36	0,13	<-5,1 ^c	>99,9992 ^c

^a основана на исходной и конечной концентрации остаточного озона за время контакта; ^b 0/5 песчанкам;

^c превышение предела чувствительности метода

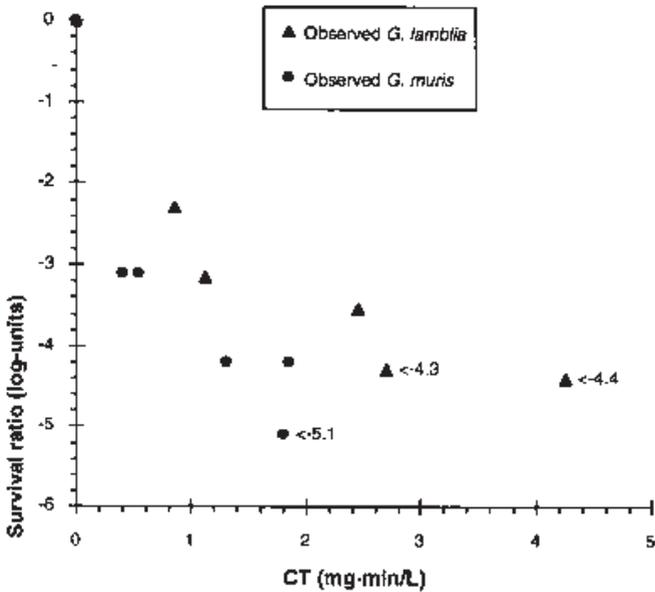


Рис. 4.3.4. Инактивация *G. muris* и *G. lamblia* как функция СТ

Во-вторых, данные инактивации, показанные на рис. 4.3.4, не отвечают линейной зависимости реакции первого порядка в модели Chick-Watson. Это результат конечного эффекта инактивации микроорганизмов озоном [7, 48, 4.2; 23]. Поэтому, экстраполяция этих данных к более высоким уровням инактивации при использовании модели Chick-Watson могла привести к серьезной недооценке величин необходимого озона для более высоких уровней инактивации.

Второе существенное различие между текущим исследованием и более ранней работой Wickramanayake и соавт. [24] состоит в том, что во втором случае озон непрерывно вводили для поддержания его постоянной остаточной концентрации в воде. О дозе озона не сообщалось. В этом [16] исследовании озон вводился из концентрированного раствора и его концентрация непрерывно проверялась в течение эксперимента. Значение различий в экспериментальном протоколе между этим исследованием и более ранней работой состоит в том, что доза озона была выше, чем концентрация остаточного озона. Важность исходного измерения остаточного озона иллюстрируется рис. 4.3.5. Более высокий исходный остаточный озон, как очевидно, привел к более высокому Ст.

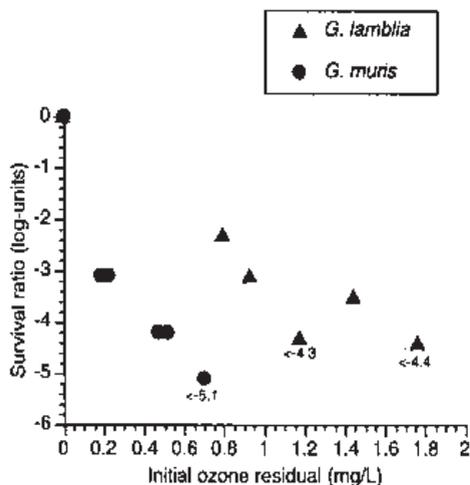


Рис. 4.3.5. Инактивация *G. muris* и *G. lamblia* как функция исходного остаточного озона

Третье важное наблюдение состоит в том, что количество озона, необходимого для инактивации *G. lamblia* на 2 log, значительно больше ранее сообщенных, согласно которым эта цифра составляет приблизительно 0,17 mg-min/l при 25 °C, что в 3,8 раза выше данных этого исследования [16]. Между этим исследованием и работами Wickramanayake и соавт. [8, 24] есть два критических различия. Во-первых, в ранних исследованиях для оценки жизнеспособности цист *G. lamblia* использовался пробирочный метод эксцистирования, тогда как в этом исследовании – инфекционность у животных. Последний метод является более оптимальным индикатором эффективности дезинфицирующего средства. Кроме этого, первый метод редко превышает 50 % в контроле и ограничен немного более чем 2 log инактивации.

В другом исследовании Wallis и соавт. [21] получено, что Ct инактивации цист *G. lamblia* (штаммы, полученные из ондатры) на 3 log в природной воде при температуре 8 – 9 °C составляет 1,7 mg-min/l.

Значение результатов этой работы, по мнению авторов [16], состоит в следующем. Агентство охраны окружающей среды США использовало данные Wickramanayake и соавт. при расчете Ct для 2 log инактивации *G. lamblia* [53, 4.2]. Уровни 3 log инактивации были получены путем экстраполяции этих данных от 2 log [53, 4.2] и составили 0,52 mg-min/l при 22 °C. Уровни, полученные в данном [16] исследовании были

в 2,4 раза больше. Причины в более высоких количествах озона для 3 log инактивации *G. lamblia* в этом [17] исследовании состоят в различных протоколах озонирования, процедуре испытания жизнеспособности и используемых штаммах *G. lamblia*. Результаты этого исследования предполагают, что патоген человека *G. lamblia* является более стойким к озону, чем *G. muris*, который обычно используется на экспериментальных моделях животных (мышях) как суррогат *G. lamblia*.

Очевидно, что эффективность инактивации разновидностей *Giardia* химическими дезинфектантами остается сомнительной. Поэтому, их использование, как единственного барьера передачи цист *Giardia*, в питьевом водоснабжении не может быть рекомендовано. Данные этого исследования свидетельствуют, что уровни инактивации *G. muris* и *G. lamblia* больше чем на 3 log достоверно не отличаются. Поэтому, необходимо расширить исследования по инактивации *G. lamblia* при различных температурах воды, качестве воды и штаммах *G. lamblia*, чтобы судить о надежности одного только химического окисления как барьера передачи гьярдиаза водным путем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Effect of disinfection of drinking water with ozone or chlorine dioxide on survival of *Cryptosporidium parvum* oocysts / J. E. Peeters, E. A. Mazas, W. J. Masschelein [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 1989. – V. 55. – P. 1519 – 1522.
2. Infection dynamics of *Cryptosporidium parvum* (Apicomplexa: Cryptosporidae) in neonatal mice (*Mus musculus*) / J. A. Ernest, B. L. Blagburn, D. S. Lindsay [et al.] // J. Parasitol. – 1986. – V. 72. – P. 796 – 798.
3. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts in sewage effluents and selected surface waters / M. S. Madore, J. B. Rose, C. P. Gerba [et al.] // J. Parasitol. – 1987. – V. 73. – P. 702 – 705.
4. Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability / D. G. Korich, J. R. Mead, M. S. Madore [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 1990. – V. 56. – P. 1423 – 1428.
5. Effect of disinfectants on survival of *Cryptosporidium* oocysts / I. S. Campbell, S. Tzipori, G. Hutchinson [et al.] // Vet. Rec. – 1982. – V. 111. – P. 414 – 415.
6. Reduker D. W. Factors influencing excystation of *Cryptosporidium* oocysts from cattle / D. W. Reduker, C. A. Speer // J. Parasitol. – 1985. – V. 71. – P. 112 – 115.
7. Schupp D. G. A new method to determine *Giardia* cyst viability: correlation of fluorescein diacetate and propidium iodide staining with animal infectivity / D. G. Schupp, S. L. Erlandsen // Appl. Environ. Microbiol. – 1987. – V. 53. – P. 704 – 707.
8. Wickramanayake G. B. Effects of ozone and storage temperature on *Giardia* cysts / G. B. Wickramanayake, A. J. Rubin, O. J. Sproul // J. Am. Water Works Assoc. – 1985. – V. 77. – P. 74 – 77.
9. Ozone inactivation of *Cryptosporidium parvum* in demand-free phosphate buffer determined by *in vitro* excystation and animal infectivity / G. R. Finch, E. K. Black, L. Gyiirek [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 1993. – V. 59. – P. 4203 – 4210.

10. The Ct value concept for evaluation of disinfection process efficiency; particular case of ozonation for inactivation of some protozoan: free living *Amoeba* and *Cryptosporidium* / B. Langlais, D. Perrine, J. C. Joret [et al.] // In New developments: ozone in water and wastewater treatment. Proceedings of the International Ozone Association Spring Conference, 27-29 March 1990, Shreveport, La. International Ozone Association, Pan American Committee, Norwalk, Conn. – 1990.
11. Parker J. F. W. The effect of ozone on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts and a comparison of experimental methods / J. F. W. Parker, G. F. Greaves, H. V. Smith // Water Sci. Technol. – 1993. – V. 27. – P. 93 – 96.
12. Perrine D. Efficacite de l'ozonation des eaux sur Pinactivation des oocystes de *Cryptosporidium* / D. Perrine, P. Georges, B. Langlais // Bull. Acad. Natl. Med. – 1990. – V. 174. – P. 845 – 850.
13. Ransome M. E. Effect of disinfectants on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts / M. E. Ransome, T. N. Whitmore, E. G. Carrington // Water Supply. – 1993. – V. 11. – P. 75 – 89.
14. Sundermann C. A. Evaluation of disinfectants for ability to kill avian *Cryptosporidium* oocysts / C. A. Sundermann, D. S. Lindsay, B. L. Blagburn // Companion Anim. Pract. – 1987. – V. 2. – P. 36 – 39.
15. Woodmansee D. B. Studies of in vitro excystation of *Cryptosporidium parvum* from calves / D. B. Woodmansee // J. Protozool. – 1987. – V. 34. – P. 339 – 402.
16. Comparison of *Giardia lamblia* and *Giardia muris* cyst inactivation by ozone / G. R. Finch, E. K. Black, C. W. Labatiuk [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 1993. – V. 59. – P. 3674 – 3680
17. Belosevic M. *Giardia muris*: correlation between oral dosage, course of infection and trophozoite distribution in mouse small intestine / M. Belosevic, G. M. Faubert // Exp. Parasitol. – 1983. – V. 56. – P. 93 – 100.
18. Faubert G. M. Animal models for *Giardia duodenalis* type organisms, p. 77-90 / G. M. Faubert, M. Belosevic // In E. A. Meyer (ed.), Giardiasis. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam. – 1990.
19. Schaefer F. W. Methods for excystation of *Giardia*, p. 111-136 / F. W. Schaefer // In E. A. Meyer (ed.), Giardiasis. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam. – 1990.
20. *Giardia lamblia* infections in Mongolian gerbils: an animal model / M. Belosevic, G. M. Faubert, J. D. MacLean [et al.] // J. Infect. Dis. – 1983. – V. 147. – P. 222 – 226.
21. Inactivation of *Giardia* cysts in a pilot plant using chlorine dioxide and ozone, p. 695-708 / P. M. Wallis, A. van Roodselaar, M. Neuwirth [et al.] // In Proceedings of the Water Quality Technology Conference, 12 to 16 November 1989, Philadelphia, Pa. American Water Works Association, Denver, Colo. – 1990.
22. Lev O. Evaluation of ozone disinfection systems: characteristic concentration / O. Lev, S. Regli // C. J. Environ. Eng. – 1992. – V. 118. – P. 477 – 494.
23. Finch G. R. Inactivation of *Escherichia coli* using ozone and ozone-hydrogen peroxide / G. R. Finch, W. C. Yuen, B. J. Uibel // Environ. Technol. – 1992. – V. 13. – P. 571 – 578.
24. Wickramanayake G. B Inactivation of *Giardia lamblia* cysts with ozone / G. B. Wickramanayake, A. J. Rubin, O. J. Sproul // Appl. Environ. Microbiol. – 1984. – V. 48. – P. 671 – 672.

4.4. Спороцидное действие озона

Исследование [1] было нацелено на определение выполнимости быстрой стерилизации поверхностей озонированной водой. Поскольку спороцидная активность озона была изучена на то время (1987 г.) недостаточно, в этой работе оценивали эффективность высоких концентраций озона в воде при разрушении бактериальных спор в суспензии.

Прежде всего отмечается трудность сравнения результатов немногих исследований, в которых оценивали спороцидную активность озона [2-5] из-за различий в условиях экспериментов, доз и остаточных концентраций озона. Несмотря на это, для эффективного разрушения бактериальных спор по сравнению с вегетативными формами необходимы большие дозы озона и/или более длительные экспозиции.

Результаты оценки спороцидной активности озона по отношению к спорам *Bacillus subtilis* или *Clostridium sporogenes* показаны в табл. 4.4.1. Инактивация достигалась за 8 min и для *B. subtilis*, и для *C. sporogenes*. Fagoog и соавт. [6] подчеркивали важность наличия остаточного озона в барботажной камере для инактивации микроорганизмов. Однако, в этом исследовании такая закономерность не обнаружена. Устойчивость к озону увеличивалась, когда оба вида спор были высушены на носителях. Жизнеспособные микроорганизмы были восстановлены в небольшом количестве (10 - 20 %) после 40 min воздействия озона при температуре среды (табл. 4.4.2).

Таблица 4.4.1

Спороцидная активность насыщенной озонм воды^a

Экспозиция, min	№ образца (из 5) спор в суспензии:	
	<i>B. subtilis</i> ATCC 19659 ^b	<i>C. sporogenes</i> ATCC 3584 ^c
1	3	4
2	1	1
4	0	1
8	0	0
16	0	0

^a концентрация озона в газовой фазе составляла 8 % (по весу); температура порядка 20 °C; ^b исходная контаминация порядка $1,6 \times 10^7$ CFU/5 ml образца; ^c исходная контаминация порядка $2,8 \times 10^7$ CFU/5 ml образца.

Таблица 4.4.2

Спороцидная активность насыщенной озонем воды при 20 и 60 °С^a

Экспозиция, min	№ носителей для роста спор/№ инокулированных спор			
	<i>B. subtilis</i> ATCC 19659 ^b		<i>C. sporogenes</i> ATCC 3584 ^c	
	20°C	60°C	20°C	60°C
5	1/10	6/8	8/8	8/8
10	1/10	8/8	8/8	8/8
20	1/10	0/8	5/8	6/8
30	0/10	1/8	3/8	6/8
40	2/10	0/8	1/8	3/8

^a Споры высушены на фарфоровом цилиндре. Концентрация озона в газовой фазе составляла 8 % (по весу); ^b исходная контаминация порядка $1,5 \times 10^4$ CFU на носитель; ^c исходная контаминация порядка $6,5 \times 10^5$ CFU на носитель.

Dahi [66, 4.2] отмечал, что микроорганизмы, заключенные в капсулу из органического материала, выживают дольше не из-за медленного проникновения озона или его радикалов, но потому, что свободные радикалы реагируют с материалом прежде, чем достигнут жизненных участков микробов. Это может помочь объяснить уменьшенную эффективность озона при повышенных температурах и различия в сопротивлении между испытываемыми микроорганизмами, когда они были инокулированы и высушены на носителях.

Fargoоq и соавт. [73, 4.1] установили, что степень инактивации микроорганизмов озонем существенно повышалась при более высоких температурах, несмотря на уменьшенную растворимость озона и, соответственно, более низкие остаточные концентрации. Следует отметить, что микроорганизмы были суспендированы в воде без органического вещества, что облегчало их быстрое окисление озонем и/или свободными радикалами. Результаты в табл. 4.4.2 показывают, что эффективность озона уменьшалась, когда температура воды увеличивалась до 60 °С.

Как предполагал Dahi [66, 4.2], органические вещества на фарфоре поглощали свободные радикалы перед их контактом со спорами. Поэтому, растворенный остаточный озон при 20 °С может быть более эффективным в инактивации микроорганизмов, чем свободные радикалы в присутствии органического вещества.

Повышенная устойчивость к озону спор *C. sporogenes* по сравнению со спорами *B. subtilis* объясняется большим количеством органики из остатков питательной среды в первом случае. Это подтверждают результаты в табл. 4.4.3 с отмытыми от сред спорами: уровень и скорость инактивации значительно повышались.

Таблица 4.4.3

Спороцидная активность насыщенной озоном воды после отмывки спор от питательных сред перед высушиванием на фарфоре^a

Экспозиция, min	№ носителей для роста спор/№ инокулированных спор	
	<i>B. subtilis</i> ATCC 19659 ^b	<i>C. sporogenes</i> ATCC 3584 ^c
5	1/8	8/8
10	0/8	0/8
20	0/8	0/8
30	0/8	0/8
40	0/8	0/8

^a концентрация озона в газовой фазе составляла 8 % (по весу); температура порядка 20 °С; ^b исходная контаминация порядка 1×10^4 CFU на носитель; ^c исходная контаминация порядка $5,1 \times 10^5$ CFU на носитель.

Споры, которые были инокулированы на шелке (данные не показаны) были более стойкими к озону, чем инокулированные на фарфоре. На каждом носителе отмечен рост на питательной среде после воздействия озоном в течение 40 min при температуре 60 °С для обоих спор. Более длительные экспозиции не исследовались. Эти результаты не могут интерпретироваться исключительно с учетом мешающего влияния органических веществ. Показано, что на структуре шелка формируется множество мельчайших пузырьков, которые, возможно, препятствуют проникновению озона в ткань, что обуславливает выживание значительного количества спор.

Добавление сурфактанта также может увеличить эффективность проникновения озона, однако, эта чревато внезапным вспениванием воды [7]. Другое неудобство связано с необходимостью промывки после озонирования перед стерилизацией, например, медицинских инструментов.

В заключении авторы отмечают следующее. Супендированные споры были быстро инактивированы воздействием насыщенной озоном воды при температуре среды. Полная инактивация наблюдалась через 8 min при концентрации озона, превышающей 10 mg/l. Каких-либо очевидных различий в устойчивости озона между двумя видами спор не наблюдалось. Результаты спороцидных тестов показывают, что споры, высушенные на носителях, являются более стойкими к озону, чем супендированные в воде. Жизнеспособные споры восстанавливались на фарфоре через 40 min при температуре среды. Увеличение температуры воды до 60 °С снижало эффективность озона при обработке поверхностей.

Спороцидная активность озона нивелировалась при обработке на поверхности шелка. Поэтому, результаты этого исследования свидетельствуют, что стерилизация поверхностей насыщенной озоном водой невыполнима в пределах апробированных экспозиций.

Авторы работы [8] отмечают, что множество исследований по дезинфекции озоном сосредоточились на эффективности озона при инактивации различных микроорганизмов и факторах, влияющих на инактивацию, таких как рН, температура, время контакта, доза озона и озонопоглощаемость [48, 4.2; 9-11].

Среди факторов роль рН в инактивации микроорганизмов несколько спорная и недостаточно понятная [53, 4.1; 58, 4.2; 12, 13].

В частности, отсутствуют данные о каком-либо определенном уровне рН для оптимальной инактивации или более быстрой инактивации при низком рН без учета точной продолжительности воздействия озона или сосуществования гидроксильных радикалов. Это происходит, частично, из-за ограничения используемых подходов, поскольку оценивалась, главным образом, биоцидная активность молекулярного озона [53, 3.1; 5, 14], а не косвенное воздействие гидроксильных радикалов, образующихся при его распаде. С другой стороны, несколько исследований действительно подчеркивали важность гидроксильных радикалов в инактивации микроорганизмов [6, 19]. Например, Cho и соавт. [12] сообщили, что при определенных экспериментальных условиях присутствие гидроксильных радикалов при дезинфекции озоном играет существенную роль в инактивации спор *B. subtilis* в рН - контролируемой свободной от озона дистиллированной воде. В их исследовании наблюдаемые уровни *St* инактивации на 2 log были на 40 % ниже при рН 8,2, чем при рН 5,6; распад озона как функцию времени реакции рассматривали относительно различия рН. Однако, в присутствии *t*-бутанола, который связывает гидроксильные радикалы, наблюдаемые уровни *St* достигли паритета, в пределах 10 %-ого предела погрешности, независимо от различия рН. Это указывает, что различие в дезинфекции озоном было вызвано, главным образом, присутствием гидроксильных радикалов, а не изменением рН.

Разумеется, полностью экстраполировать эти результаты на натурные условия озонирования воды следует с большой осторожностью [65, 4.2; 15]. Например, касается ли это питьевой воды, содержащей природное органическое вещество (NOM), или источников питьевой воды.

Цель этой работы [8] состояла в исследовании процесса дезинфекции путем инициированной озоном реакции радикалов в воде, содержащей NOM. Для этого использовали два образца: (i) вода, содержащая искусственную гуминовую кислоту и (ii) вода реки Ханьшуй, которая

является источником питьевой воды для Сеула (Республика Корея). Количественная оценка роли гидроксильных радикалов в инактивации микроорганизмов была предпринята при использовании уровней Ct в воде, содержащей NOM.

Использованы следующие четыре известные кинетические модели дезинфекции для сравнения результатов, полученных при различных экспериментальных условиях, включающих концентрацию озона, pH и время реакции:

модель Chick-Watson

$$\ln \frac{N}{N_0} = -kCt$$

модифицированная модель Chick-Watson

$$\ln \frac{N}{N_0} = -\frac{kC_0^n}{nk'} [1 - \exp(-nk't)]$$

модифицированная Ном-модель

$$\ln \frac{N}{N_0} = -\left(\frac{m}{nk'}\right)^m kC_0^n \left[1 - \exp\left(\frac{-nk't}{m}\right)\right]^m$$

отсроченная модель Chick-Watson

$$\ln \frac{N}{N_0} = \begin{cases} 0 & \text{if } \bar{C}t \leq \bar{C}T_{\text{lag}} = \frac{1}{k} \ln\left(\frac{N}{N_0}\right) \\ -k\bar{C}t - k\bar{C}T_{\text{lag}} & \text{if } \bar{C}t \geq \bar{C}T_{\text{lag}} = \frac{1}{k} \ln\left(\frac{N}{N_0}\right) \end{cases}$$

где N_0 – исходная популяция спор *B. subtilis* (CFU/ml), N – сохранившиеся споры *B. subtilis* за время t , C – концентрация озона (mg/l), \bar{C} – усредненная временем концентрация озона (mg/l), k – константа инактивации озоном (реципрокные минуты), k' – константа первого порядка распада озона (реципрокные секунды), m и n – модельные параметры модифицированной модели Ном.

Статистическая обработка результатов проведена методом среднего квадратичного отклонения (ESS) [16] по программе MATLAB с использованием нелинейной регрессионной модели.

Как показано в табл. 4.4.4, экспериментальным результатам в наибольшей степени соответствует отсроченная модель Chick-Watson, у которой наименьшие уровни ESS среди четырех моделей, что также подтверждается высоким коэффициентом корреляции ($R^2 > 0,96$). Это сопоставимо с данными предыдущего исследования этих авторов [12]. В этой работе [8] показано, что для воды, у которой контролируется

pH, в отсутствие t-бутанола существуют относительно большие уровни ESS. В данном случае ESS (среднее квадратичное отклонение) получено из различия между измерениями и расчетами. Большие уровни ESS должны ожидаться в случае больших значений, полученных в эксперименте. Учитывая это, все кривые инактивации в экспериментах по дезинфекции были получены при использовании отсроченной модели Chick-Watson.

Дистиллированная вода. Для дистиллированной воды эксперименты по дезинфекции были выполнены для подтверждения предыдущего наблюдения [13] относительно роли гидроксильных радикалов в инактивации спор *B. subtilis*. Кривые инактивации спор *B. subtilis* при pH 5,6 – 8,2 в присутствии и отсутствии гидроксильных радикалов согласно отсроченной модели Chick-Watson представлены на рис. 4.4.1.

Таблица 4.4.4.

Сравнение ESS согласно четырем кинетическим моделям дезинфекции

Образец воды	pH	Присутствие t-бутанола present	ESS ^a :				R ²
			CW	MCW	MHM	DCW	
pH-контролируемая дистиллированная вода	5,6	Да	3,56	2,74	2,58	2,36	0,96
	7,1	Нет	4,49	3,90	2,24	2,11	0,97
	8,2	Нет	9,92	4,87	4,17	3,48	0,98
	5,6	Да	3,54	1,34	0,56	0,45	0,97
	7,1	Да	3,95	2,25	0,32	0,31	0,97
	8,2	Да	4,12	1,85	0,38	0,48	0,97
Вода, содержащая гуминовую кислоту	7,1	Нет	0,45	0,97	0,09	0,09	0,98
	8,2	Нет	2,40	1,36	0,26	0,23	0,98
	7,1	Да	1,92	0,97	0,29	0,06	0,99
	8,2	Да	2,22	1,02	0,18	0,07	0,97
Речная вода	5,7	Нет	4,10	0,97	0,21	0,13	0,98
	7,1	Нет	2,45	1,12	0,32	0,31	0,99
	8,2	Нет	2,44	1,44	0,34	0,17	0,99
	8,2	Да	3,15	1,57	0,44	0,21	0,98

^a CW – модель Chick-Watson; MCW – модифицированная модель Chick-Watson; MHM – модифицированная модель Ном; DCW – отсроченная модель Chick-Watson; ^b – коэффициент корреляции.

Кривые инактивации характеризовались CT_{lag} и соответствовали инактивации псевдопервого порядка в отсутствие гидроксильных радикалов, при этом наблюдались существенные различия в кривых инактивации в зависимости от pH (рис. 4.4.1a).

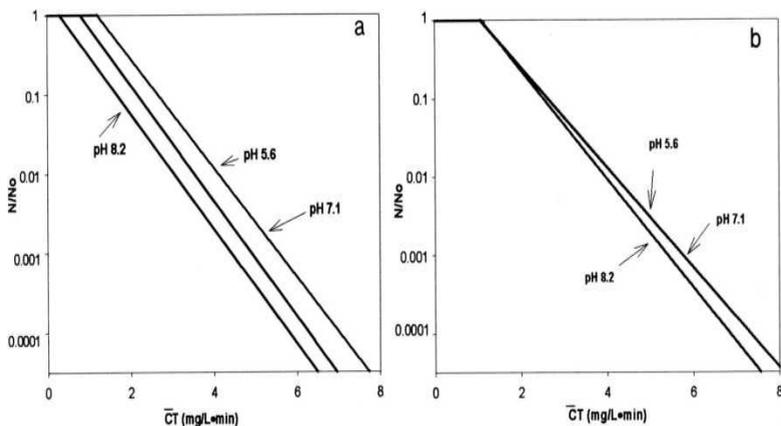


Рис. 4.4.1. Инактивация спор *B. subtilis* в контролируемой pH дистиллированной воде: (а) отсутствие *t*-бутанола; (б) присутствие *t*-бутанола

Инактивация спор *B. subtilis* озоном при pH 8,2 была приблизительно на 25 % более эффективной, чем при pH 5,6. Это наблюдение о меньших уровнях CT при более высоком pH совместимо с предыдущим исследованием авторов [12], хотя наблюдаемое небольшое различие может, вероятно, объясняться различиями используемых штаммов *Bacillus*. С другой стороны, три кривые инактивации (рис. 3.4.1b) стали весьма подобными в присутствии гидроксильных радикалов независимо от pH, по сравнению с данными на рис. 3.4.1a. Этот результат показывает, что различие в уровнях St , вызванных изменением pH, было вызвано присутствием гидроксильных радикалов, как демонстрируется в предыдущем исследовании [12].

Вода, содержащая гуминовую кислоту. Гуминовая кислота (NOM) является вездесущим веществом в поверхностных водах, используемых как источники питьевой воды. Поэтому, важно исследовать влияние NOM на дезинфекцию, исходя из инициированной озоном реакции радикалов. Рис. 4.4.2 представляет кривые инактивации *B. subtilis* при обработке озоном воды, содержащей гуминовую кислоту (1,2 и 1,5 mg/l).

Как видно из представленных данных, наблюдается схожая закономерность с рис. 4.4.1. В отсутствие *t*-бутанола инактивации спор на 2 log озоном при рН 7,1 и 8,2 была на 35 и 50 % более эффективна, чем в присутствии *t*-бутанола, соответственно. Однако, присутствие *t*-бутанола в воде, содержащей гуминовую кислоту, привело к двум очень подобным кривым инактивации независимо от рН (7,1 и 8,2).

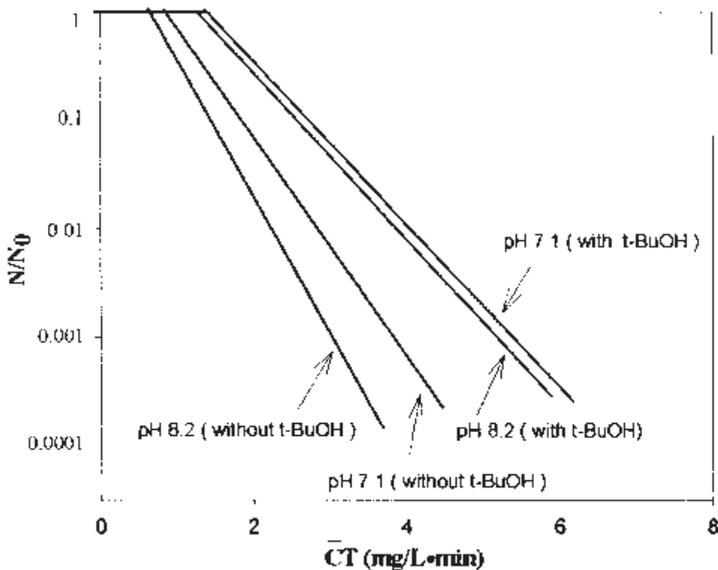


Рис. 4.4.2. Инактивация спор *B. subtilis* в воде, содержащей гуминовую кислоту (по растворенному органическому углероду /DOC/) 1,2 мг/л при рН 7,1 и 1,5 мг/л при рН 8,2.

Речная вода. Рис. 4.4.3 показывает кривые инактивации *B. subtilis* в образце реки Ханьшуй. Также отмечены более низкие уровни *Ct* при высоком рН, что сопоставимо с рис. 4.4.1 и 4.4.2. На рис. 4.4.4 видно, что инактивация озоном спор была приблизительно на 20 % более эффективной при рН 8,2, чем при рН 5,6. Кривые инактивации *B. subtilis* в образце реки Ханьшуй показали более быструю инактивацию, чем в дистиллированной воде, но более медленную, чем в воде, содержащей гуминовую кислоту. Присутствие *t*-бутанола привело к двум очень подобным кривым инактивации с подобными уровнями *Ct* при колебаниях от каждого рН в пределах 10 %.

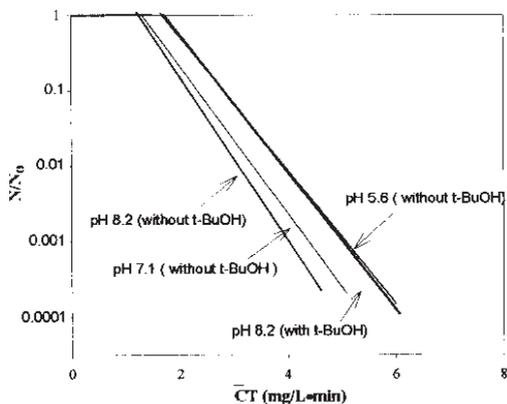


Рис. 4.4.3. Кривые инактивации спор *B. subtilis* в воде реки Ханьшуй. DOC = 2,4 mg/l

Формирование гидроксильных радикалов в воде, содержащей NOM. Изменение в концентрации рСВА было определено в воде, содержащей гуминовую кислоту, и воде реки Ханьшуй, поскольку дозы озона (0,8 mg/l для воды, содержащей гуминовую кислоту, и 2 mg/l для воды реки Ханьшуй), были применены в присутствии (10 mmol) или отсутствии *t*-бутанола при pH 8,2. рСВА (хлорбензойная кислота) использовалась как соединение, которое быстро реагирует с гидроксильными радикалами ($5 \cdot 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$), но не реагирует в достаточной степени непосредственно с озоном ($0,15 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$). Рис. 4.4.4 показывает уменьшение уровней рСВА и остаточного озона со временем в воде, содержащей гуминовую кислоту, и воде реки Ханьшуй.

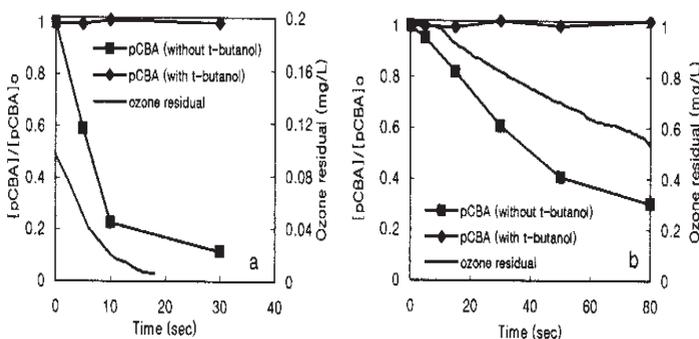


Рис. 4.4.4. Формирование гидроксильных радикалов в воде, содержащей NOM (pH 8,2, $[\text{pCBA}]_0 = 300 \text{ } \mu\text{g/l} = 1,92 \text{ } \mu\text{mol}$): (a) вода, содержащая гуминовую кислоту ($[\text{DOC}]_0 = 1,5 \text{ mg/l}$); (b) речная вода ($[\text{DOC}]_0 = 2,4 \text{ mg/l}$)

Результаты, показанные на рис. 4.4.4, позволяют сделать два интересных наблюдения. Во-первых, гидроксильные радикалы, образованные при распаде озона, были эффективно связаны в присутствии 100 mmol t-бутанола. Во-вторых, в отсутствие t-бутанола, количество гидроксильных радикалов, сформированных в воде, содержащей гуминовую кислоту в результате распада озона, было большим, чем в речной воде. Это подтверждается результатами рис. 4.4.3, где показана более быстрая инактивация спор *B. subtilis* в воде, содержащей гуминовую кислоту, когда возрастало количество гидроксильных радикалов в присутствии химически чистой гуминовой кислоты [17]. Это при том, что остаточная концентрация озона в воде, содержащей гуминовую кислоту, была намного ниже, чем в речной воде, как показано на рис. 4.4.4.

Подобие уровней *St* связано с тем же самым интегрированным воздействием озона без гидроксильных радикалов. Сравнительная оценка *St* для инактивации спор *B. subtilis* на 2 log в различных типах воды представлена на рис. 4.4.5. Показано, что *St* в присутствии t-бутанола во всех случаях колеблется в пределах 4 mg-min/l (от 3,96 до 4,27 mg-min/l), в пределах 10%-ых расхождений, независимо от pH и типа воды. Этот результат очень отличается от данных предыдущего исследования [13] о зависимости инактивации спор *B. subtilis* от pH при дезинфекции озоном.

Facile и соавт. [13] сообщали о более высокой инактивации при более низком pH, поэтому распад озона рассматривался как функция pH. Однако, в этом исследовании [13], *St* для инактивации спор *B. subtilis* на 2 log колебался от 3,02 до 3,56 mg-min/l при двух pH, что сопоставимо с данными исследования [8]. С другой стороны, уровни *St* колеблются в широком диапазоне, когда не подавлено формирование гидроксильных радикалов. Например, для воды, содержащей гуминовую кислоту, уровень *St* для инактивации спор *B. subtilis* на 2 log в отсутствие t-бутанола составлял только порядка 50 % из наблюдаемого в присутствии t-бутанола. Это означает, что, пока микроорганизм подвергнут интегрированному воздействию озона без гидроксильных радикалов, в конечном счете достигается такой же или подобный уровень инактивации спор *B. subtilis*.

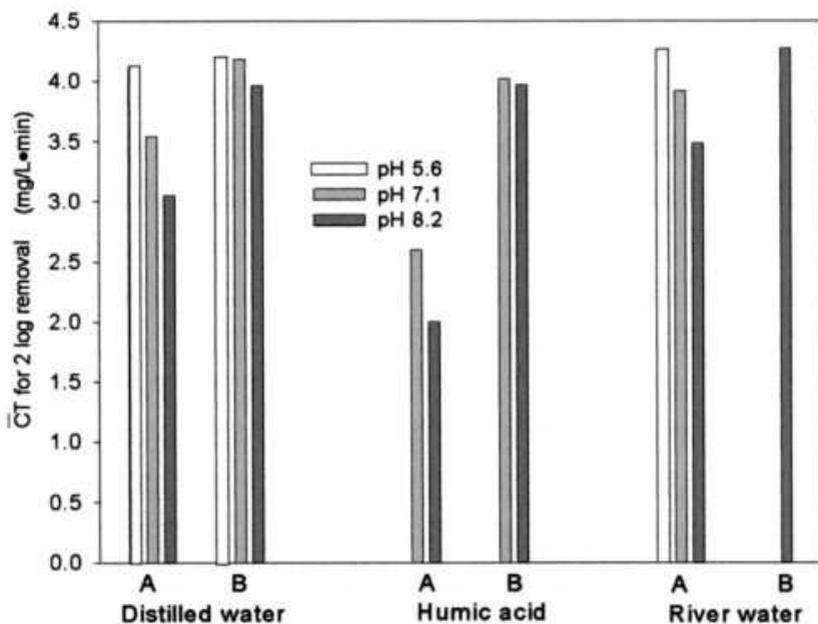


Рис. 4.4.5. Сравнительная оценка уровней CT для инактивации спор *B. subtilis* на 2 log в различных типах воды (A, отсутствие t-бутанола; B, присутствие t-бутанола)

У этого результата есть практическое значения для оптимальной дезинфекции озоном с учетом формирования гидроксильных радикалов в присутствии NOM. Рис. 4.4.6а показывает, что присутствие гидроксильных радикалов имеет ограниченное влияние на инактивацию, за исключением образцов воды, содержащих гуминовую кислоту. С другой стороны, как показано на рис. 4.4.6б, присутствие гидроксильных радикалов имеет существенное влияние на изменение фазы задержки кривых инактивации во всех случаях.

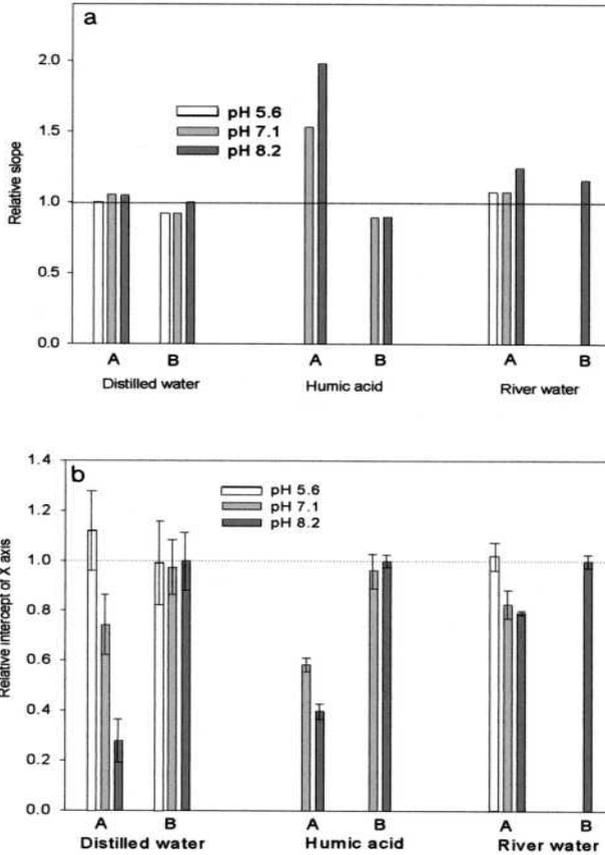


Рис. 4.4.6. Сравнение наклона (а) и фазы задержки (b) кривых инактивации согласно отсроченной модели Chick-Watson. Относительный наклон определен как (наклон в отсутствии t-бутанола при каждом экспериментальном условии) / (наклон в присутствии t-бутанола при pH 8,2). Относительная точка пересечения оси X определена как (точка пересечения в отсутствии t-бутанола при каждом экспериментальном условии) / (точка пересечения в присутствии t-бутанола при pH 8,2). А, отсутствие t-бутанола; В, присутствие t-бутанола

Это означает, что в присутствии того же самого количества гидроксильных радикалов, фаза задержки (точка пересечения оси X) кривой

инактивации более изменчива, чем наклон. В большинстве случаев, уровень гидроксильных радикалов оказывал незначительное влияние на изменение наклонов кривых инактивации спор *B. subtilis*.

Влияние гидроксильных радикалов на сокращение фазы задержки кривых инактивации может быть объяснено механизмом дезинфекции озона. Сообщалось, что окисление и деструкция мембраны клеток молекулярным озоном может вызвать их распад, что приводит к микробной инактивации. Однако, цитоплазма спор *B. subtilis* окружена плотной оболочкой, которая действует как барьер дезинфектанту, что объясняет начальную медленную инактивацию (фаза задержки) на рис. 4.4.3, 4.4.4 [18 - 22].

В свете этой схемы дезинфекции озоном присутствие гидроксильных радикалов наряду с озоном может иметь синергетический эффект при инактивации спор *B. subtilis*. Это объясняется, вероятно, разнообразными особенностями гидроксильных радикалов. Во-первых, способность химического дезинфектанта окислить поверхность клетки близко связана с его ОВП (окислительно-восстановительным потенциалом). Гидроксильные радикалы обладают более высоким ОВП (2,70 V) по сравнению с озоном (2,07 V) и могут быть более эффективными для разрушения мембран бактерий [23, 24]. Во-вторых, для гидроксильных радикалов свойственно отсутствие селективности с компонентами мембраны, которые могут быть устойчивыми к озону.

Известно, что NOM является источником гидроксильных радикалов при озонировании. Согласно схеме реакции, предложенной Xiong и Legube [25], у NOM может быть четыре различных типа реакции: прямая реакция озона (HSd), инициирование гидроксильных радикалов (HSi), промоция (HSp) и реакция scavenging («уборки мусора» (HSs). Если участок, имеющий отношение к радикальной промотирующей реакции, является большим по сравнению с таковым для радикальной реакции scavenging (или $[HSp] \gg [HSs]$), может ожидать большее формирование гидроксильных радикалов в присутствии NOM [18], в зависимости от типа органического вещества в воде. Поэтому, природная органика, такая как гуминовая кислота, может способствовать увеличенному формированию гидроксильных радикалов в присутствии озона.

Концентрации гидроксильных радикалов в речной воде и в воде, содержащей гуминовую кислоту, (рис. 4.4.4) рассчитаны с использованием понятия R_{ct} , первоначально предложенного Elovitz и соавт. [15], как отношения воздействия озона к воздействию гидроксильных радикалов:

$$R_{ct} = \int [\cdot\text{OH}]dt / \int [\text{O}_3]dt$$

Установлено, что в озонированной воде с гуминовой кислотой [9], содержится приблизительно в 100 раз больше гидроксильных радикалов, чем в речной воде: $R_{ct} = 5,54 \cdot 10^{-5}$ ($R^2 = 0,955$) (1) при pH 8,2; $4,25 \cdot 10^{-7}$ ($R^2 = 0,964$) при pH 8,2 и $8,75 \cdot 10^{-8}$ ($R^2 = 0,989$) в воде реки Ханьшуй при pH 7,1. Более низкая концентрация гидроксильных радикалов должна ожидать при pH 7,1, чем при pH 8,2, согласно химии распада озона. Эти результаты подразумевают, что более высокая концентрация гидроксильных радикалов в воде, содержащей гуминовую кислоту, привела к более быстрой инактивации спор *B. subtilis*.

Учитывая отсутствие синергизма между молекулярным озоном и гидроксильными радикалами при инактивации спор *B. subtilis*, определены уровни C_t гидроксильных радикалов. Хотя это предположение, возможно, не совсем верно, оно позволяет установить по крайней мере приблизительные уровни C_t для гидроксильных радикалов. Полная инактивация микроорганизма может быть выражена как сумма инактивации озоном и гидроксильными радикалами, как в уравнении.

$$\ln \left(\frac{N}{N_0} \right)_{\text{total}} = \ln \left(\frac{N}{N_0} \right)_{\text{O}_3} + \ln \left(\frac{N}{N_0} \right)_{\text{OH}}$$

где

$$\ln (N/N_0)_{\text{O}_3} = k_1 \int_0^t [\text{O}_3] dt$$

и

$$\ln (N/N_0)_{\text{OH}} = k_{1D} \int_0^t [\cdot\text{OH}] dt$$

Поскольку $\ln (N/N_0)$, соответствующая прямой инактивации озона, может быть найден только от результатов инактивации *B. subtilis* в присутствии *t*-бутанола, инактивация *B. subtilis* гидроксильными радикалами может быть определена уравнением

$$\begin{aligned} \ln \left(\frac{N}{N_0} \right)_{\text{OH}} &= \ln \left(\frac{N}{N_0} \right)_{\text{total}} - \ln \left(\frac{N}{N_0} \right)_{\text{O}_3} = k_{1D} \int_0^t [\cdot\text{OH}] dt \\ &= k_{1D} R_{ct} \int_0^t [\text{O}_3] dt \end{aligned}$$

Установленный уровень C_t гидроксильных радикалов для инактивации на 2 log составил порядка $1,7 \cdot 10^{-4}$ mg-min/l. Следует отметить,

что это значение базируется на условии отсутствия синергизма между озоном и гидроксильными радикалами. Для сравнения авторы [8] констатируют, что этот уровень значительно ниже аналогичного показателя для других дезинфектантов: в $2,4 \cdot 10^4$ раза для озона (4,1 mg-min/l), 10^6 раз для свободного хлора (450 mg-min/l), 10^5 раз для диоксида хлора (50 mg-min/l) при pH 8,0 [26].

ЛИТЕРАТУРА

1. Rickloff J. R. An Evaluation of the Sporicidal Activity of Ozone / J. R. Rickloff // Applied and Environmental Microbiology. – 1987. – V. 53, N. 4. – P. 683 – 686.
2. Dickerman J. M. Action of ozone on water-borne bacteria / J. M. Dickerman, A. O. Castraberti, J. E. Fuller // J. N. Engl. Water Works Assoc. – 1954. – V. 68. – P. 11 – 15.
3. Haufe A. Ozone for disinfection of water contaminated with vegetative and spore forms of bacteria, fungi, and viruses / A. Haufe, H. V. Sprockhoff // Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. 1 Orig. Reihe A. – 1973. – V. 175. – P. 53 – 70.
4. Hoffman R. K. Toxic gases, p. 226-258 / R. K. Hoffman // In W. B. Hugo (ed.), Inhibition and destruction of the microbial cell. Academic Press, Inc., London. – 1971.
5. Miller S. Disinfection and sterilization of sewage, p. 381-387 / S. Miller, B. Burkardt, R. Ehrlich // In Ozone chemistry and technology. American Chemical Society, Washington, D.C. – 1959.
6. Farooq S. The effect of ozone bubbles on disinfection / S. Farooq, R. S. Engelbrecht, E. S. K. Chian // Prog. Water Technol. – 1977. – V. 9. – P. 233 – 247.
7. Uses of ozone in drinking water treatment / R. G. Rice, M. Robson, G. W. Miller [et al.] // J. Am. Water Works Assoc. – 1981. – V. 73. – P. 44 – 57.
8. Cho M. Disinfection of water containing natural organic matter by using ozone-initiated radical reactions / M. Cho, H. Chung, J. Yoon // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – V. 69. – P. 2284 – 2291.
9. Ozonation and oxidation competition values: relationship to disinfection and microorganisms regrowth / K. Bancroft, P. Chrostowski, R. L. Wright [et al.] // Water Res. – 1984. – V. 4. – P. 473 – 478.
10. Farooq S. Basic concepts in disinfection with ozone / S. Farooq, E. S. K. Chian, R. S. Engelbrecht // J. Water Pollut. Control Fed. – 1977. – V. 49. – P. 1819 – 1831.
11. Ozone inactivation kinetics of *Cryptosporidium* in phosphate buffer / L. L. Gyurek, H. Li, M. Belosevic [et al.] // J. Environ. Eng. – 1999. – V. 125. – P. 913 – 914.
12. Cho M. Effect of pH and importance of ozone initiated radical reactions in inactivating *Bacillus subtilis* spore / M. Cho, H. Chung, J. Yoon // Ozone Sci. Eng. – 2002. – V. 24. – P. 145 – 150.
13. Evaluating bacterial aerobic spores as a surrogate for *Giardia* and *Cryptosporidium* inactivation by ozone / N. Facile, B. Barbeau, M. Prevost [et al.] // Water Res. – 2000. – V. 34. – P. 3238 – 3246.

14. Hoigne J. Ozonation of water: selectivity and rate of oxidation of solutes / J. Hoigne, H. Bader // *Ozone Sci. Eng.* – 1979. – V. 1. – P. 73 – 85.
15. Elovitz M. S. Hydroxyl radical/ ozone ratios during ozonation processes. II. The effect of temperature, pH, alkalinity, and DOM properties / M. S. Elovitz, U. von Gunten, H. P. Kaiser // *Ozone Sci. Eng.* – 2000. – V. 22. – P. 123 – 150.
16. Development and validation of radiational design methods of disinfection / C. N. Haas, J. Joffe, U. Anmangandla [et al.] // AWWA Research Foundation, Denver, Colo. – 1995.
17. Guittonneau S. Free radicals formation induced by the ozonation of humic substances in aqueous medium / S. Guittonneau, D. Thibaudeau, P. Meallier // *Catalysis Today.* – 1996. – V. 29. – P. 323 – 327.
18. Khadre M. A. Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study / M. A. Khadre, A. E. Yousef // *Int. Food Sci. Technol.* – 2001. – V. 71. – P. 131 – 138.
19. Langlais B. Study of the mechanisms of cyst killing action of ozone on free amoebae / B. Langlais, D. Perrine // *Tech. Sci. Methodes.* – 1989. – V. 84. – P. 215 – 219.
20. Montgomery J. M. Water treatment principles and design / J. M. Montgomery // John Wiley & Sons, New York, N.Y. – 1985.
21. Setlow B. Binding of small, acid-soluble spore proteins to DNA plays a significant role in the resistance of *Bacillus subtilis* spores to hydrogen peroxide / B. Setlow, P. Setlow // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1993. – V. 59. – P. 3418 – 3423.
22. Wickramanayake G. B. Inactivation of *Naegleria* and *Giardia* cysts in water by ozonation / G. B. Wickramanayake, A. J. Rubin, O. J. Sproul // *J. Water Pollut. Control Fed.* – 1984. – V. 56. – P. 983 – 988.
23. Sonntag V. Disinfection by free radicals and UV-radiation / V. Sonntag // *Water Supply.* – 1986. – V. 4. – P. 11 – 18.
24. Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent / R. J. Watts, S. Kong, M. P. Orr [et al.] // *Water Res.* – 1995. – V. 29. – P. 95 – 100.
25. Xiong F. Enhancement of radical chain reaction of ozone in water in the presence of an aquatic fulvic acid / F. Xiong, B. Legube // *Ozone Sci. Eng.* – 1991. – V. 13. – P. 349 – 363.
26. Disinfection of *Bacillus subtilis* spores with chlorine dioxide: a bench-scale and pilot-scale study / C. Radziminski, L. Ballantyne, J. Hodson [et al.] // *Water Res.* – 2002. – V. 36. – P. 1629 – 1639.

4.5 Альгацидное действие озона

В исследовании [1] авторы сообщают об эффектах трех окислителей на коагуляцию морских микроводорослей. Как видно из представленных данных, культуры водоросли показали образец дозы – ответа на каждый из трех окислителей: с увеличением дозы сокращалась жизнеспособность клеток и концентрации хлорофилла параллельно с расширенным выходом клеточных органических соединений, судя по УФ – абсорбции при 254 nm и уровню DOC. Помимо этого, оптическая плотность культуры при 420 nm, которая обозначает концентрацию клеток водоросли, снижалась с увеличением концентраций примененного окислителя.

Для озона было характерно почти параллельное повышение DOC и УФ – поглощения. Это можно объяснить чрезвычайно высокой окислительной реакционной способностью озона в воздействии на системы двойной связи, которые привели к уменьшению УФ – поглощения как результат суммации увеличения выхода внутриклеточных компонентов и их дальнейшего окисления. Итоговые результаты увеличения концентраций озона в процессе удаления микроводорослей при коагуляции сернокислым алюминием представлены на рис. 4.5.1. Эффективность удаления выражена как отношение между биомассой культуры перед введением коагулянта, измеренное в конце теста хлопьеобразования.

Табл 4.5.1. освещает концентрации коагулянта для 50 и 90 %-ого удаления биомассы микроводоросли после предокисления озоном по сравнению с контролем. Как видно из полученных данных, предварительная обработка озоном ускоряла коагуляцию, судя по меньшим дозам коагулянта по сравнению с контролем.

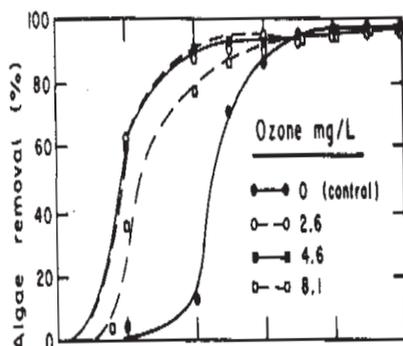


Рис. 4.5.1. Влияние предокисления O_3 на коагуляцию *Scenedesmus* sp. $Al_2(SO_4)_3 \cdot 18H_2O$

Таблица 4.5.1.

Взаимосвязь преокисления O_3 с дозами коагулянта, необходимыми для 50 и 90%-ого удаления микроводорослей

Доза озона, mg/l		$Al_2(SO_4)_3 \times 18H_2O$, необходимый для удаления микроводорослей, на:			
		50 %		90 %	
		μmol	Уровень уменьшения	μmol	Уровень уменьшения
Контроль	0	68	1,00	95	1,00
	2,6	29	0,32	60	0,63
	4,6	29	0,32	60	0,63
	8,1	38	0,59	83	0,87
	5	17	0,25	27	0,28

В этом исследовании была использована терминология архитектуры внешней поверхности различных видов *Scenedesmus sp.*, описанная Staehlin и Pickett-Heaps (1975) [2].

Типичная картина (рис. 4.5.2 а, б) при условиях данного эксперимента представляет собой четыре – или восьмиклеточный ценобий с двумя спинными хребтами.

Все четыре клетки примерно идентичны по размерам (порядка 9 x 3 мкм). Клетки окружены оболочкой, которая называется сетчатым слоем. Структурными особенностями поверхности *Scenedesmus sp.* являются бородавки, розетки и соты. Бородавки беспорядочно рассеяны на поверхности клетки и формируют одну параллель кромки с продольной осью клетки. Две круглых розетки с продольной полосатостью находятся на поверхности каждой из внутренних клеток. Соты формируют длинные (и иногда короткие) наружные границы внешних клеток.

Экспертиза клеток после озонирования показала две закономерности. Первая характеризовалась хорошим сохранением структуры поверхности клеток с минимальными витками сетчатого слоя (как в клетках контроля). Вторая показала открытые поверхностные витки с отчетливым повреждением сетчатого слоя между соседними клетками, которые выглядели разобщенно (рис. 4.5.3 а, б). В обеих группах рядность бородавок не сохранялась, во втором случае они были беспорядочно распределены. Розетки также не избежали разрушительных изменений. Эффект озона был дозо – зависимым: при его самой низкой концентрации в популяциях клеток хорошо сохраненный тип поверхности клетки был преобладающим, в то время как его самая высокая концентрация

вызывала преобладание поврежденного типа поверхности. При промежуточной концентрации пропорция составляла 50:50.

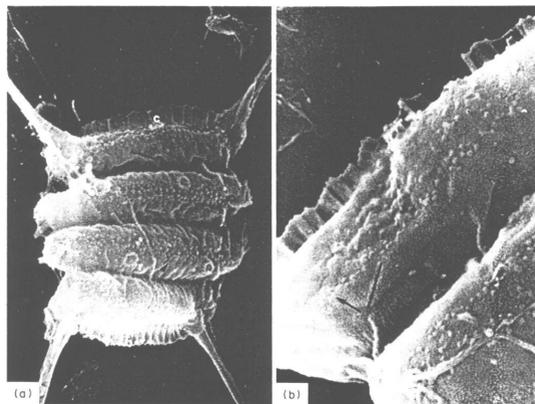


Рис. 4.5.2. Необработанные клетки. Четырехклеточный ценобий с двумя длинными, прямыми спинными хребтами, образованными концами терминальных клеток. Ценобий покрыт сетчатым слоем, свободный слой фасонной части трубы удерживает ценобий. Видны бородавки (стрелки), беспорядочно рассеянные и организованные как одна параллель кромки с продольной осью клетки. Круглые розетки (r) с полосатостью по две на каждой из внутренних клеток и сот (с) на внешних границах клеток. (a) x 9500; (b) x 19 000

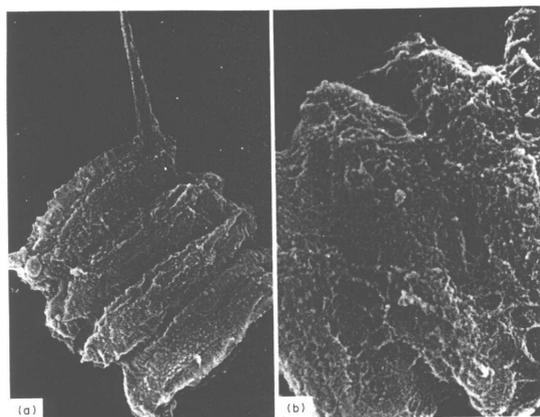


Рис. 4.5.3. Обработанные озонем клетки. Выраженное повреждение сетчатого слоя в виде перфорирования и волокнистости даже при малой увеличении. Бородавки и розетки не наблюдаются. (a) x 9500; (b) x 19 000

Обсуждая полученные результаты, авторы [1] подчеркивают, что озон воздействует и на структуры защитного покрытия клетки, и на внутриклеточные компоненты. Обесцвечивание хлорофилла после окисления ясно указывает на повреждение фотосинтетического аппарата и сопровождается увеличением DOC, что отражает экстрацеллюлярное выведение внутриклеточного содержимого. Согласование химического и ультрамикроскопического доказательств свидетельствует о моделировании последовательности событий от преокисления клеток водорослей до хлопьеобразования при коагуляции. Поскольку окислитель поражает поверхность микроводоросли и содержимое клетки, компоненты последней (макромолекулы), такие как мембранные полисахариды, белки и нуклеиновые кислоты, выводятся из клетки и накапливаются в среде (наряду с клеточными низкомолекулярными соединениями). Это накопление сталкивается со взаимодействием между коагулянтном и водорослевыми клетками и, таким образом, замедляет выпадение хлопьев [3, 4].

В присутствии O_3 DOC далее окислялся и расщеплялся до меньших молекул [5]; при этом последние не выпадали хлопьями [1]. Однако, повышение коагуляции не может объясняться исключительно как результат расщепления внеклеточных органических веществ. Авторы предполагают, что изменение оболочки микроводорослей редуцирует их коллоидную стабильность и усиливает хлопьеобразование (рис. 4.5.1). Природа этого явления может быть объяснена после уточнения химической структуры оболочки клеток *Scenedesmus sp.* и механизма реакций окислителей с ее компонентами.

Микроводоросль FSP-3 используют в биотехнологии для производства липидов. В работе [6] для этой цели использована дисперсионная флотация озоном. В процессе озонирования определены уровни удаления морских водорослей, изменение их поверхности, гидрофобность водорослевых клеток, характеристики флюоресценции, содержание белков и полисахаридов в АОМ (альгогенном органическом веществе). Белки, как компоненты АОМ с прочными связями, являются эссенциальными для изменения гидрофобности поверхности пузырьков при флотации. Гуминовые вещества в суспензии поглощают озон, что неблагоприятно воздействует на эффективность флотации озоном водорослевых клеток.

Как известно, озон эффективно окисляет двойные связи и богатые электронами ароматические кольца в насыщенных кислородом функциональных группах, таких как альдегидные, кетоновые и, особенно, карбоксильные (Von Gunten, 2003; Beltran, 2004; Li и соавт., 2008) [7-9]. Betzer и соавт. (1980) [10] исследовали флотацию озоном для удаления морских водорослей и очистки сточных вод. Они решили, что

дозированный озон вызывал пенообразование, что привело к образованию ила с содержанием 2-7 % твердых частиц. Venoufella и соавт. (1994) [11] установили инактивацию *Microcystis cyanobacteria* при использовании озонифлотации.

Результаты этого исследования [6] состоят в следующем.

Сильная турбулентность в барботажной колонне при флотации озона во всех тестах свидетельствовала о полном перемешивании суспензии. Тогда, как в контрольном испытании простое воздушное аэрирование не обеспечивало всплытие водорослевые клетки к вершине колонны. Определена остаточная мутность (исходная и в разбавлении 100 % и 200 %) при трех концентрациях озона и четырех вариантах водорослевых суспензий.

Полученные данные имели тенденцию к колебанию (рис. 4.5.4). При дозе озона, превышающей пороговое значение, мутность водорослевых суспензий уменьшалась. Например, 0,16-0,20 mg O₃/mg биомассы было необходимо для инициирования удаления мутности исходных суспензий (800-1000 NTU). Всего, порядка 0,52 mg O₃/mg биомассы обеспечивало снижение мутности на 95 %. При двойном разбавлении образцов (400 NTU) требовалось 0,09 mg O₃/mg биомассы для инициирования удаления мутности (0,36 mg O₃/mg биомассы для удаления мутности на 95 %). Для тройного разбавления (240 NTU) эти цифры составляли 0,05 и 0,22 mg/mg соответственно. Дополнительно, сконцентрированная водорослевая суспензия потребляла больше озона, чем разбавленная суспензия в той же самой фракции.

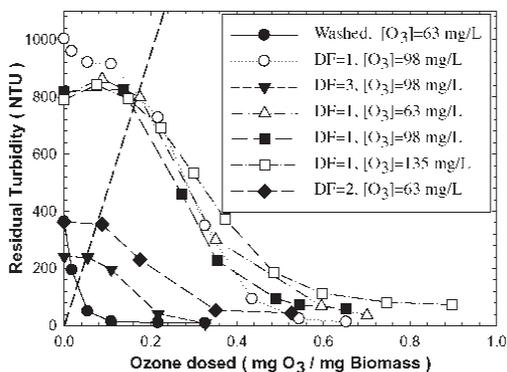


Рис. 4.5.4. Остаточная мутность в колонке флотации; DF: степень разбавления; washed – вымытые клетки альга в соленом фосфатном буфере (PBS) (pH 7,4); пунктирная линия – $NTU_0 = 4800 O_{3,i}$ (в биомассе mg/mg)

Наоборот, мутность вымытых водорослевых клеток начала уменьшаться немедленно после начала озонирования. В этом случае какая-либо пороговая доза озона отсутствовала. При исходных 400 NTU было необходимо 0,07 mg O₃/mg биомассы для удаления мутности на 95 %, что составляет приблизительно 15 % для невымытых образцов с тем же самым NTU.

Установлены некоторые особенности озонированных образцов.

ζ-потенциалы исходных суспензий составляли (-6) – (-7 mV), а дважды разбавленных образцов и вымытых клеток – (-13 mV) (рис. 4.5.5).

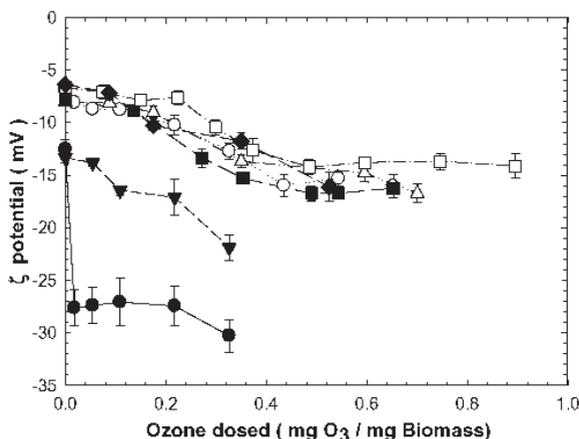


Рис. 4.5.5. ζ-потенциалы морских водорослей как функции дозированной дозы озона: для исходной суспензии (-6) – (-7 mV), для дважды разбавленных образцов и вымытых клеток – (-13 mV)

Следовательно, водорослевые клетки отрицательно заряжены. Таким образом, разбавление или вымывание водорослевых клеток сокращает их ζ – потенциалы. Озонирование постепенно снижало потенциалы исходных и разбавленных образцов, что означало увеличение отрицательного заряда поверхности клеток, а также незначительно увеличивало поверхностную гидрофобность водорослевых клеток.

При использовании модифицированного теста BATH (bacterial adhesion to hydrocarbons) установлено, что порядка 50-80 % клеток в исходной водорослевой суспензии или 40 % вымытых клеток после смешивания составили водную фазу (рис. 4.5.6).

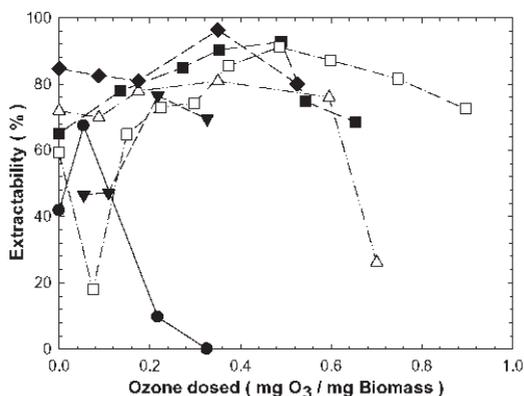


Рис. 4.5.6. Экстрактивность с использованием слоя углеводорода в тесте BATH

Озонирование сначала увеличивало, а затем уменьшало экстрактивность водорослевых клеток: пик ее отмечен при 0,4-0,5 mg O₃/mg биомассы, в то время как для вымытых клеток эта цифра составляла примерно 0,05 mg.

АОМ в образцах.

Содержание DOC в LBAOM (свободно связанном АОМ) и ТВАОМ (прочно связанном АОМ) в исходных суспензиях составляло $51,7 \pm 0,73$ и $199,5 \pm 2,9$ mgC/l соответственно, то есть ТВАОМ содержал почти в четыре раза больше DOC, чем LBAОМ.

Всего были идентифицированы шесть характерных пиков ЕЕМ (матрица эмиссии возбуждения) для исходных и озонированных образцов (показаны ниже). Пики ЕЕМ эллипсе концентрировались в Ex/Em = 350/460 nm и 320/415 nm и относились, вероятно, к гумино – подобным веществам (HA1 и HA2), а при Ex/Em = 260/460 – фульво – подобным (FA1). Помимо этого, три пика (PR1-PR3) при Ex/Em = 280/360 nm, 255/300 nm и 230/365 nm объяснялись наличием подобных белкам соединений (Chen и соавт., 2003) [12].

Рис. 4.5.7 демонстрирует пики флюоресценции ЕЕМ исходной водорослевой суспензии. Высокие пики HA1 и FA1 позволяют предположить присутствие в суспензии гуминовых веществ. Образец ЕЕМ для LBAОМ напоминал исходную суспензию. Это свидетельствует, что LBAОМ прежде всего состоит из гумино- и фульво – подобных веществ. Наоборот, ТВАОМ преимущественно состоит из протеино – подобных веществ.

На рис. 4.5.8 представлены ЕЕМ водорослевых суспензий под влиянием озонирования. Рис. 4.5.9 демонстрирует максимум интенсивности ЕЕМ как функции дозирования озона. Пик интенсивности HA1 и FA1 для исходных водорослевых суспензий уменьшился, поскольку доза озона увеличилась (рис. 4.5.8).

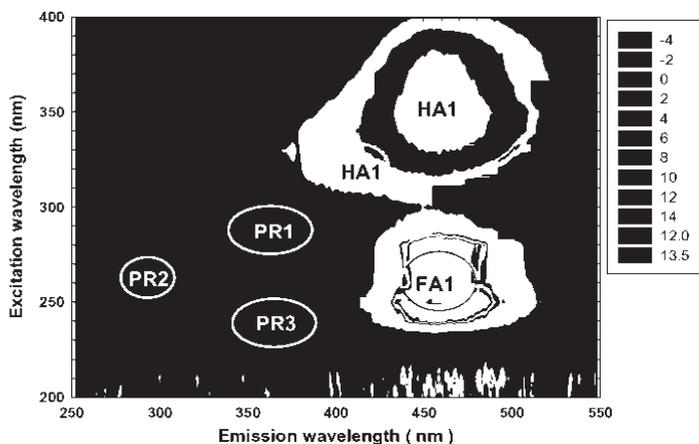


Рис. 4.5.7. ЕЕМ исходной водорослевой суспензии. HA1-HA2, FA1 и PR1-PR3 обозначают характерные пики для гумино-, фульво- и протеино-подобных веществ

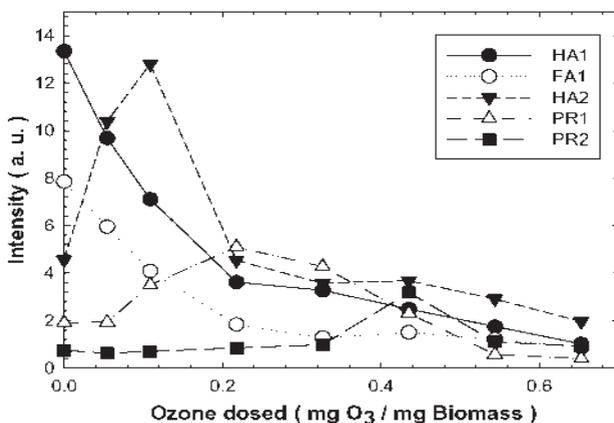


Рис. 4.5.8. Интенсивность ЕЕМ достигает максимума для исходной водорослевой суспензии при дозе озона 98 mg/l

Пик НА2 увеличивался, пока доза озона не достигла 0,11 mg/mg биомассы, а затем уменьшился после увеличения дозы. Пик PR1 увеличился, поскольку доза озона увеличилась до 0,22 mg O₃/mg биомассы, а PR2 – до 0,43.

Рис. 4.5.9 иллюстрирует изменение содержания полисахаридов (PS) и протеинов (PN) в растворенном органическом веществе в озонированных образцах. Содержание PN увеличилось, а затем уменьшилось, поскольку доза озона увеличилась. Наоборот, содержание PS было почти постоянным при озонировании.

В обсуждении авторы [6] отмечают следующее. Озонирование обычно расценивается как дорогостоящий процесс для обработки воды и сточных вод. По данным Chang и Singer, 1991 [13] для предокисления на семи американских водопроводных станциях применены дозы озона 0,4-0,8 mgO₃/mgC, что позволяло удалять общий органический углерод (TOC) как предшественник тригалометанов (THM). Здесь доза озона для деструкции *S. obliquus* FSP-3 в биомассе составляла 0,2-0,5 mg/mg, что близко или еще ниже принятой в практике водоочистки.

Согласно данным Nawrocki и соавт. (2003) [14], озон вызывает деструкцию молекулы природного органического вещества (NOM) с образованием гидрофильных низкомолекулярных фрагментов. Cheda и Grasso (1994) [15] продемонстрировали, что озон уменьшал стабильность частиц Na-монтмориллонита (Na-M), покрытых NOM, в речной воде. Они отметили, что адсорбция NOM на Na-M делает частицы все более и более гидрофильными, в то время, как озон частично dealюминирует Na-M и преобразует NOM, что сопровождается увеличением гидрофобности поверхности частицы, дестабилизируя ее. Grasso и Weber (1988) [16] отметили, что озон увеличивает полярность, расщепляет ароматические кольца и уменьшает молекулярные массы веществ в гуминовых кислотах. Вместе с тем, эти авторы пришли к противоположному выводу, что озон уменьшает полярность с образованием длинного алифатического углеводорода и увеличением молекулярных масс органических соединений в природных водных образцах, отобранных из р. Huron (Мичиган, США). Henderson и соавт. (2008b) [17] продемонстрировали, что в АОМ, экстрагированном из четырех разновидностей морских водорослей (*Chlorella vulgaris*, *Microcystis aeruginosa*, *Asterionella formosa* и *Melosira sp.*), доминировали гидрофильные полисахариды и гидрофобные белки с низкой специфической УФ-абсорбцией (SUVA) и отрицательными ζ – потенциалами.

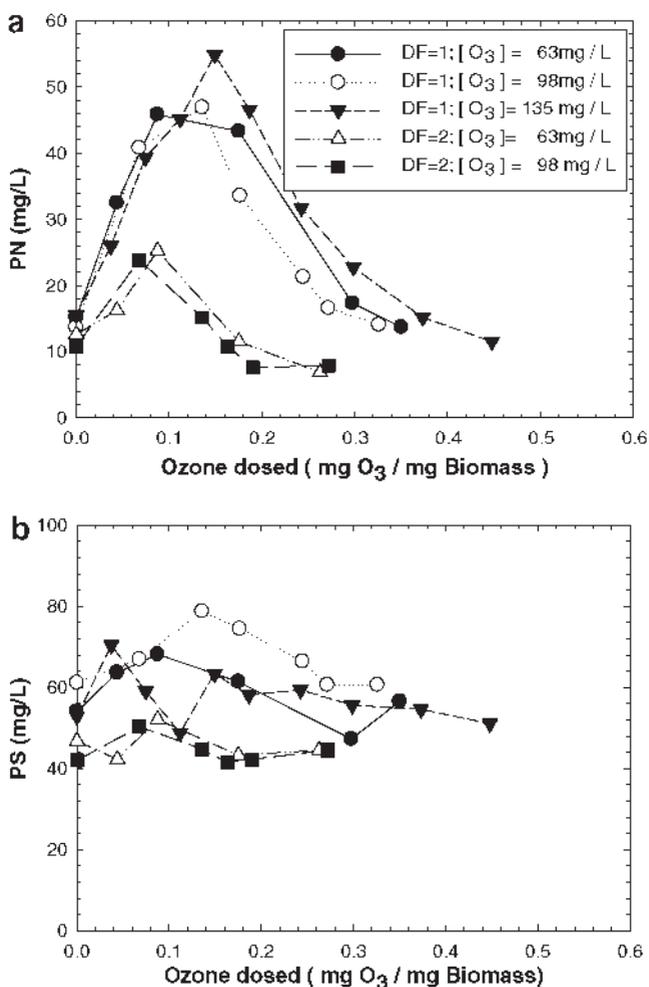


Рис. 4.5.9. Содержание белков (а) и полисахаридов (б) в зависимости от дозы озона.

Reckhow и соавт. (1986) [18] продемонстрировали, что озон может лизировать морские водоросли с выделением биополимеров как коагулянтов полимеров. Ма и Liu (2002) [19] при предокислении морских водорослей ферратом калия предположили, что биополимеры из поврежденных клеток могут присутствовать как вспомогательные вещества при коагулировании. В этом исследовании [6] озон в суспензиях сначала

разлагал гумино – подобные вещества (HA1 и FA1) (рис. 4.5.8), а затем протеино – подобные соединения (PR1), связанные с поверхностью клетки морских водорослей. Авторы [6] предполагают, что PR1 обладают поверхностной активностью, которая повышает прочность поверхности пузырьков.

В заключении авторы [6] отмечают, что озон инициирует отрицательный заряд водорослевых клеток, что сопровождается экспоненциальным ростом гидрофобности поверхности по сравнению с неповрежденными клетками. Белки из лизированных клеток следует расценивать как поверхностно-активные вещества, которые делают пузырьковую поверхность все более и более гидрофильной, повышая таким образом пенообразование.

В более ранней работе [20] те же авторы использовали микроводоросль *Chlorella vulgaris*. Установлено, что доза озона для достаточной водорослевой флотации была $< 0,05 \text{ mg/mg}$ биомассы, что намного ниже используемых в практике водоподготовки ($0,1-0,3 \text{ мг/мг}$ суспендированных взвешенных частиц). Показана эффективность получения целевых продуктов липидов C16:0 в фазе флотации.

В работе [21] проведены лабораторные и пилотные эксперименты для сравнения эффективности предокисления озонем и перманганатом при удалении альга коагуляцией. Оба соответственно дозированных предокислителя показали в той или иной степени свою эффективность. Это можно объяснить уменьшением стабильности клеток. Однако, сверхдозирование может вызвать распад клеток с выходом органики. Присутствие кальция далее усиливает воздействие предокисления на коагуляцию альга, но это явление более значимо для использования перманганата, чем озон. Авторы предполагают, что положительно заряженные ионы кальция могут служить мостами для отрицательно заряженных MnO_2 и водорослевых клеток. Это также объясняет большую эффективность перманганатного предокисления по сравнению с озонем при удалении коагуляцией альга в экспериментальном тестировании, поскольку исходная вода содержала высокие уровни кальция.

Как известно, присутствие альга в исходной воде чревато определенными проблемами при очистке воды для питья. Альга и их метаболиты могут оказать значительное влияние на качество воды в виде посторонних неприятных вкуса и запаха, формирования побочных продуктов дезинфекции (DBPs) и токсинов цианобактерий. Кроме того, альга в процессе очистки воды сокращают фильтро-циклы, увеличивают потребность коагулянта, вызывают микробный послерост в распределительных системах (Suffet и соавт., 1995; Schmidt и соавт., 1998; Plummer и Edzwald, 2001) [22-24].

Коагуляция является ключевым звеном для удаления морских водорослей в обычных процессах очистки воды. Для повышения эффективности удаления альга, контроля роста других микроорганизмов и окисления железа и марганца может использоваться прехлорирование. Однако, в дополнение к образованию хлорированным DBP, хлор может вызвать повреждение мембран клеток с выходом вне – и внутриклеточного органического вещества (ЕОМ и ИОМ соответственно), что сопровождается ухудшением вкуса и запаха и образованием токсичных соединений (Peterson и соавт., 1995) [25]. Sukenik и соавт. (1987) [1] обнаружили, что хлор в низких дозах (2 mg/l) в процессе прехлорирования не приводит к изменению потребности в коагулянте, тогда как в более высокой (10 и 20 mg/l) доза коагулянта должна быть увеличена по сравнению с той же самой обработкой без прехлорирования.

Другие авторы продемонстрировали, что предокислители (озон, диоксид хлора и перманганат) могут улучшить удаление морских водорослей коагуляцией и процессы фильтрации в процессе очистки питьевой воды (Sukenik и соавт., 1987; Fitzgerald, 1966; Petrusevski и соавт., 1996; Steynberg и соавт., 1996) [1, 26-28].

Эти предокислители могут улучшить коагуляцию альга, инактивируя клетки, уменьшая их стабильность или выделяя в свободном состоянии ЕОМ. Эффекты окислителя при удалении альга во время очистки воды зависят от его типа, дозы и разновидности микроводоросли. Например, озон улучшает коагуляцию зеленых альга (*Scenedesmus quadricauda*), но не диатомовых микроводорослей (*Cyclotella sp.*) (Plummer и Edzwald, 2002) [24]. Это происходит, вероятно, из-за различия в свойствах поверхности клеток.

Bernhardt и Clasen (1991) [30] сообщали, что ЕОМ из культур зеленых и сине-зеленых альга и диатомовых микроводорослей подобно анионным и неионным полиэлектролитам. Количество и свойства ЕОМ меняется в зависимости от разновидностей альга, типа и дозы окислителя. ЕОМ, в зависимости от концентрации и молекулярной массы, может усилить или препятствовать хлопьеобразованию. Низкие дозы озона могут вызвать выход ЕОМ, который способствует коагуляции, но в более высоких дозах озон воздействует на структуру ЕОМ (например, снижая размер молекулы), что может препятствовать последующей коагуляции (Paralkar и Edzwald, 1996) [30].

Petrusevski и соавт. (1996) [27] сообщали, что предварительная перманганатная обработка поверхностной воды, сопровождаемая коагуляцией и прямой фильтрацией, отчетливо ускоряет удаление альга по сравнению с обработкой без предокисления. В этом случае возможными механизмами являются образование вспомогательного коагулянта

из альга и инактивация микроорганизмов. Кнарре и соавт. (2004) [31] продемонстрировали, что удаление *M. aeruginosa*, *Anabaena flos-aquae* и *Synura petersenii* улучшается с увеличением дозы KMnO_4 и контактного времени. Эксперименты с *S. petersenii* показали, что введение 3 mg/l KMnO_4 увеличивает расход коагулянта из-за выпуска ИОМ, формирования MnO_2 и окисления природного органического вещества. Однако, KMnO_4 -вызванный распад клеток не показывал увеличения хлорпоглощаемости или формирования DBP.

Предыдущие исследования эффективности озона или перманганата при удалении альга были проведены или только в лаборатории, или только в пилотном эксперименте. Не уделялось дополнительного внимания влиянию фоновых компонентов воды, таких как жесткость. Цель этого исследования состояла в сравнении влияния окисления на коагуляцию альга. В первой половине этого исследования использовалась вода из эвтрофированного водоемисточника. Во второй половине проведено лабораторное исследование с использованием суспензии чистых культур водорослей для объяснения результатов экспериментального тестирования. В лабораторном исследовании в водорослевую суспензию вводили ионы кальция для моделирования высокой жесткости исходной воды. Специальный акцент сделан на объяснении потенциальных механизмов усиления коагуляции альга двумя различными окислителями.

Результаты этих исследований состоят в следующем.

Исследования особенностей качества исходной воды озера во время пилотного эксперимента показали высокий уровень жесткости, умеренную мутность и низкое содержания растворенных органических веществ. Присутствие нутриентов в воде объясняет белесоватость альга, уровень которых достигал $1,6 \cdot 10^5$ cell/ml. Установлено наличие разновидностей альга, которые не только часто вызывают неприятный вкус и запах, но также препятствуют процессу коагуляции. Когда концентрация альга превышала 7000 cell/ml, мутность воды была не ниже 2 NTU.

Во время предварительного исследования доминирующими разновидностями альга в озерной воде являлись зеленые, сине-зеленые альга и диатомовые микроводоросли. Следует отметить, что оба предокислителя улучшали коагуляцию альга и седиментацию. Без предокисления удаление альга составляло 84 % при дозе коагулянта 70 mg/l. При предокислении озоном в дозе 1 mg/l эффективность удаления альга увеличивалась до 91 % при той же дозе коагулянта; однако, более высокие дозы озона далее не улучшали удаление альга. Когда доза озона достигла 7 mg/l, эффективность удаления уменьшилась до 43 %, то есть

намного ниже, чем без предокисления. Это могло произойти из-за выпуска ИОМ после распада клеток при более высокой дозе озона. Выпущенное органическое вещество может препятствовать удалению мутности при коагуляции (Chandrakanth и соавт., 1996) [32]. Перманганат калия, как предокислитель, также улучшал удаление альга коагуляцией. Здесь наблюдалась та же закономерность, Однако, Sukenik и соавт. (1987) [1] не отмечали разрушения альга (*Scenedesmus sp.*) при дозе озона 8,1 mg/l. Такое несоответствие можно объяснить различием на концентрации клеток альга в испытуемых водах. В исследовании Sukenik's использовалась высокая концентрация (2×10^6 cell/ml) чистых культур альга в суспензии. Тогда как в этом [21] предварительном исследовании концентрация альга в воде озера была ниже 10^4 cell/ml. Поэтому, количество окислителя на клетку альга было намного выше, чем у Sukenik.

Табл. 4.5.1 показывает результаты удаления альга в процессе двух одновременных параллельных обработок с коагуляцией в экспериментальном тестировании.

Таблица 4.5.1

Сравнительная оценка удаления альга предокислением озоном и перманганатом в пилотном эксперименте (70 mg/l коагулянта 7,5 % Al_2O_3)

Предокислитель	Кальций, mg/l	Число альга, cell/ml	% удаления
1 mg/l O_3	206	3150	73
0,75 mg/l $KMnO_4$			84
3 mg/l O_3	218	9460	93
0,75 mg/l $KMnO_4$			97

Единственное различие в этих двух экспериментах состояло в предокислителе и его дозе, один с озоном, другой с перманганатом. Результаты показывают, что перманганат вызывает более высокое удаление альга даже при более низкой дозе по сравнению с озоном.

Исследования в лабораторном эксперименте

Влияние предокисления на удаление альга представлено на рис. 4.5.10. Хотя оба предокислителя улучшают удаление, перманганат, даже в низких дозах, оказывал более эффективное действие по сравнению с озоном.

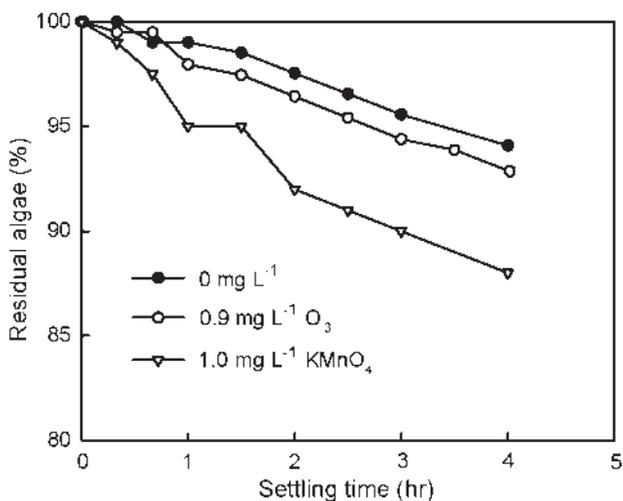


Рис. 4.5.10. Влияние озона и перманганата на удаление альга (модельная вода с исходной концентрацией альга 4×10^7 cell/ml).

На рис. 4.5.11 представлены микрофото альга *Chodatella sp.* до и после преокисления озонem или перманганатом. Рис. 4.5.11a демонстрирует тонкую маркировку стенки клеток и щетинок перед преокислением. На рис. 4.5.11b отчетливо видна обширная деструкция клеток с их распадом под воздействием озона в дозе 1,3 mg/l. При преокислении перманганатом в дозе 1,5 mg/l не наблюдалось значимого распада клеток, их поверхность покрыта густым слоем веществ, которые, вероятно, являются скоплениями ЕОМ и MnO_2 (рис. 4.5.11c). Большая эффективность перманганата по сравнению с озоном позволяет предположить включение хлопьев альга в восстановленное соединение MnO_2 , что увеличивает его плотность и скорость хлопьеобразования. Вероятно, перманганат может вызвать выпуск ЕОМ из клеток альга с последующим усилением их агрегации с MnO_2 (Chen и Yeh, 2005) [33].

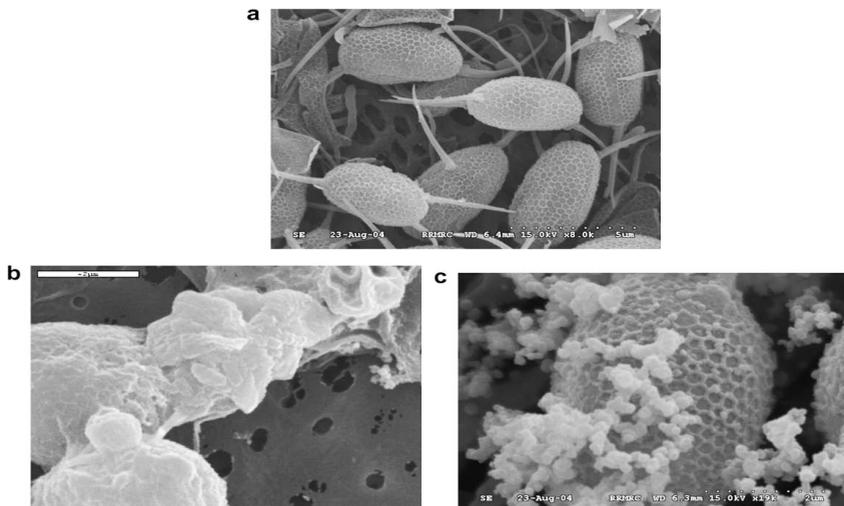


Рис. 4.5.11. SEM (сканирующая электронная микроскопия) морфологии поверхности клеток *Chodatella sp.* с и без преокисления. (а) без преокисления, х 8 к, (b) 1,3 mg/l O₃, х15 к, (с) 1,5 mg/l KMnO₄, х 19 к.

На рис. 4.5.12 представлено увеличение NPDOC (не поддающегося химическому разложению растворенного органического углерода) водорослевой суспензии при различных дозах преокислителя, особенно выраженное при дозах выше 1,2 mg/l. Очевидно, что увеличение NPDOC происходит из-за выпуска ЕОМ или ИОМ. Это явление более значительно для озона, чем перманганата, из-за более высокой окислительной способности первого. Фактически, выпуск NPDOC, связанный с распадом клетки, как это демонстрирует SEM, при более высоких дозах озона объясняет менее эффективное удаление при высоких дозах преокисления в предыдущем тестировании в пилотных условиях.

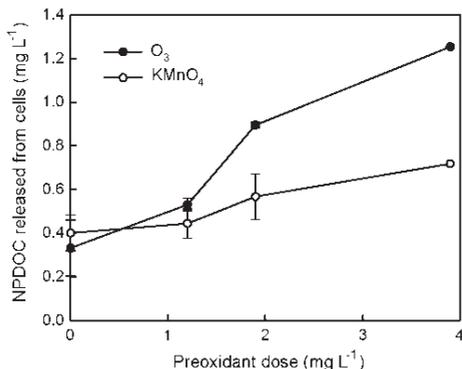


Рис. 4.5.12. Влияние преокисления на содержание NPDOC (модельная вода с исходной концентрацией альга 4×10^7 cell/ml).

Влияние преокисления на коагуляцию суспензии культуры водорослей.

На рис. 4.5.13а представлены результаты взаимодействия водорослевой суспензии с коагулянтом при различных дозах озона. Вероятно, главный механизм этого явления состоит в дестабилизации флокулированного осадка альга судя по уменьшению абсолютного значения ζ – потенциала с увеличением дозы озона (рис. 4.5.13б). Результаты также свидетельствуют об оптимальной дозе озона. Например, при низкой дозе коагулянта 10 мг/л озон в дозах свыше 1,2 мг/л неэффективен при последующем удалении альга коагуляцией (рис. 4.5.13а).

Это совместимо с показателями ζ -потенциала. Рис. 4.5.13б показывает отсутствие уменьшения абсолютных значений ζ -потенциала флокулированного осадка альга при дозе озона свыше 1,2 мг/л. Поскольку в этом случае озон вызывает распад клеток и выпуск ЕОМ или ИОМ, которые могут конкурировать с суспендированными и коллоидными взвешенными частицами за коагулянт.

Предыдущие исследования по влиянию преокисления на удаление коагуляцией альга также показали, что преокислители могут разрушать поверхности клеток и вызвать выпуск внутриклеточного содержимого в водной фазе (Sukenic и др., 1987; Peterson и др., 1995) [1, 25]. Будет ли преокисление усиливать или замедлять удаление коагуляцией альга зависит от многих факторов – разновидности морских водорослей, типа окислителей и отношения дозы окислителя к числу клеток. Plummer и Edzwald (2002) [24] показали, что преокисление озоном или хлором может привести к улучшению удаления коагуляцией полиалюминий хлоридом *Scenedesmus sp.*, но не диатомовой водоросли (*Cyclotella sp.*).

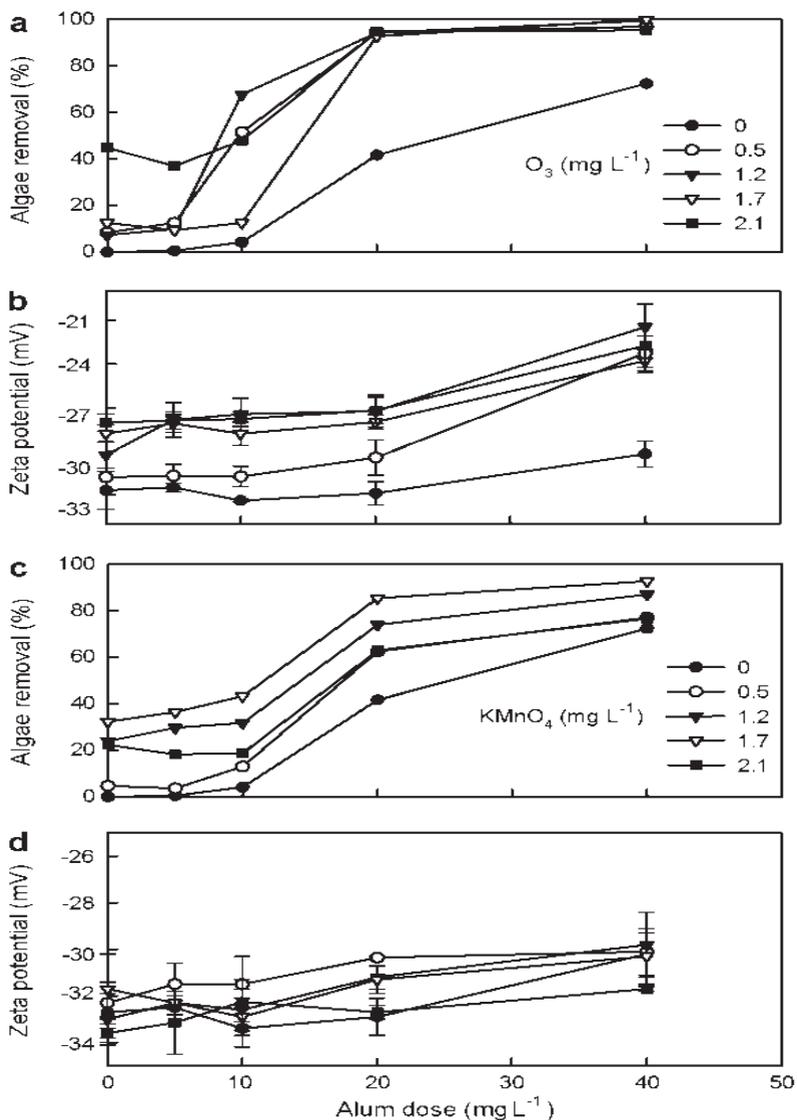


Рис. 4.5.13. Влияние предокислителей на удалении коагуляцией альга и ζ – потенциал водорослевого флокулированного осадка (а и б для озона, с и д для перманганата, модельная вода с исходной концентрацией альга 4×10^7 cell/ml).

Как отмечено в вышеизложенной работе (Sukenic и др. (1987) [1], где изучалось влияние хлора, озона и диоксида хлора на *Scenedesmus sp.*, прехлорирование в высокой дозе увеличило необходимую дозу коагулянта, что предполагает утечку макромолекулярной органики из клеток в результате их взаимодействия с коагулянтом, при этом замедлялось выпадение хлопьев. Предварительная обработка более сильными окислителями (диоксидом хлора и озоном) вызывала окисление выпущенной органики. Улучшение выпадения водорослей хлопьями в этом случае, как считали авторы [1], обусловлено изменением поверхности клеток, что привело к коллоидной дестабилизации и ускорению хлопьеобразования. Рис. 4.5.13а также показывает, что уменьшение в удалении коагуляцией альга, вызванное передозировкой озона, может компенсировать более высокая доза коагулянта .

Рис. 4.5.13с показывает подобность доз перманганата и озона на рис. 4.5.13а. Предокисление перманганатом усиливало коагуляцию альга. Установлена оптимальная доза 1,7 mg/l KMnO_4 , поскольку в этом случае более высокая доза не улучшала коагуляцию. Влияние перманганата на ζ – потенциал флокулированного осадка альга было менее значимым из-за меньшего ОВП. Зависимость между ζ – потенциалом и эффективностью удаления альга также была не столь очевидна, как при преозонировании. Это могло произойти из-за различия в механизме дестабилизации. Для перманганата, как упоминалось выше, это связано с адсорбцией MnO_2 флокулированным осадком альга, а не с обычной их инактивацией.

На рис. 4.5.14 а и с показано сравнение влияния присутствия или отсутствия кальция на удаление альга в процессе предокисления и коагуляции.

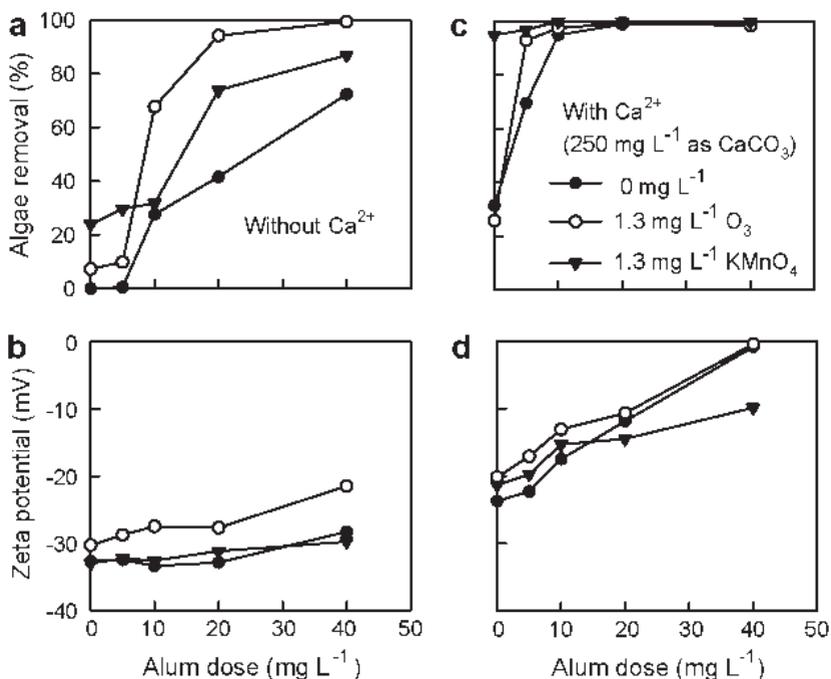


Рис. 4.5.14. Сравнение удаления коагуляцией морских водорослей и ζ – потенциала водорослевого флокулированного осадка с и без предокисления в отсутствии (a, b) и присутствии (c, d) кальция. (Модельная вода с исходной концентрацией альга 4×10^7 cell/ml).

Озон или перманганат в дозах 1,3 мг/л были эффективны при коагуляции. Добавление кальция значительно улучшило коагуляцию альга с или без предокисления. Однако, в отсутствии кальция, преозонирование вызвало более интенсивное удаление альга, особенно в более высокой дозе коагулянта (рис. 4.5.14а). В присутствии кальция (250 мг/л), перманганат был эффективнее озона, поскольку хорошая коагуляция достигалась низкими дозами коагулянта. Рис. 4.5.14b демонстрирует соответствующий ζ – потенциал коагулированного флокулированного осадка альга, представленного на рис. 4.5.14а. Без кальция преозонирование показало намного более низкое абсолютное значение ζ – потенциала, что соответствует более низкой коллоидной стабильности. Это обнаружение совместимо с более высоким удалением альга после преозонирования. Это также указывает, что инактивация,

вероятно, играет важную роль в удалении коагуляцией альга в отсутствии кальция. В присутствии кальция (рис. 4.5.14d) наблюдается намного более низкое абсолютное значение ζ – потенциала по сравнению с рис. 4.5.14b.

Более высокое абсолютное значение ζ – потенциала для перманганата по сравнению с озоном противоречит более высокому удалению альга перманганатом (рис. 4.5.14c). Это также подтверждает предыдущее предположение авторов [21], что для перманганата удаление альга связано с адсорбцией MnO_2 флокулированным осадком альга. В диапазоне нейтрального pH воды поверхности клеток альга и MnO_2 отрицательно заряжены. Ионы кальция могут служить мостами между двумя отрицательно заряженными поверхностями. Поэтому, в присутствии кальция предокисление перманганатом значительно повышает эффективность удаления коагуляцией альга. Результаты этих лабораторных экспериментов объясняют данные пилотных испытаний, в которых предокисление перманганатом вызвало лучшее удаление альга коагуляцией, чем озоном, поскольку жесткость исходной воды, поступающей на опытную установку, составляла порядка 240 мг/л.

Оба эксперимента показывают, что предокисление озоном и перманганатом в соответствующих дозах эффективно при удалении коагуляцией альга. Это можно объяснить уменьшением стабильности клеток; однако, сверхдозирование может вызвать распад клеток и выпуск органики, что может отрицательно влиять на коагуляцию клеток альга. В присутствии кальция оба предокислителя улучшают коагуляцию альга, но это более значимо для перманганата, чем озона. Это объясняется тем, что положительно заряженные ионы кальция могут служить мостами для соединения отрицательно заряженных MnO_2 и клеток альга. Лабораторные результаты также подтверждают наблюдения экспериментального тестирования, согласно которым предокисление перманганатом оказывает более выраженное влияние на удаление альга по сравнению с озоном. Это вызвано высокой жесткостью исходной воды в опытной установке.

В исследовании [35] представлены результаты инактивации озоном цианотоксинов (токсичных продуктов жизнедеятельности) сине – зеленых водорослей (цианобактерий) микроцистина LR и LA, сакситоксина и анатоксина-а. Для обоих токсинов 100 %-ое разрушение было связано с остаточной концентрацией озона через 5 мин. и исходным качеством воды. Показано, что прямая реакция с молекулярным озоном вызывает разрушение цианотоксинов. Результаты подтвердили, что оба токсины будут разрушены при условиях, обычно используемых для озонирования перед сорбцией на гранулированном активированном угле (GAC).

Класс сакситоксинов был очень стойким к окислению озоном, что требовало дальнейшей обработки, такой как фильтрация на GAC.

По мнению авторов, цветение цианобактерий (сине – зеленых водорослей) и возможность продукции ими цианотоксинов превратились в главные проблемы водоподготовки. Уоо и соавт. (1995) [35] утверждают, что по крайней мере три из 50 известных родов цианобактерий способны к токсинообразованию, из которых 50-70 % токсичны. Самые общие типы цианотоксинов – ациклические алифатические нейротоксины (анатоксин и сакситоксины) и пептиды гепатотоксины (микроцистины), которые вызывают повреждение печени и являются промоторами опухолеобразования (Nishiwaki-Matsushima и соавт., 1992) [36]. В связи с этим, присутствие цианотоксинов в водоисточниках представляет серьезную проблему для здоровья человека, а их удаление в широком диапазоне вод приобретает возрастающий интерес в международной водной промышленности.

Это в полной мере относится к озону как сильному окислителю. Однако, химические реакции при озонировании природных вод чрезвычайно сложны, а механизмы взаимодействия с озоном природного органического вещества (NOM) и деструкции микрополлютантов до конца не поняты. При обычных экспозициях молекулярный озон может реагировать непосредственно с растворенными компонентами или их продукты распада могут реагировать через гидроксильный радикальный механизм (Staehelin и Hoigne, 1985) [37]. Качество воды может влиять на реакции озона в водной среде и главными параметрами, влияющими на это, как полагают, являются NOM, pH и щелочность (Laplanche и др., 1995) [38]. NOM может действовать как инициатор и промотор распада озона и одновременно как ингибитор. Гидроксид – ионы инициируют формирование гидроксильных радикалов и также промотируют распад озона. Ионы карбоната поглощают радикалы и поэтому действуют как ингибиторы распада озона в зависимости от pH (Westerhoff и соавт., 1999) [39]. Очевидно, что влияние этих параметров качества воды на реакции озона с NOM и микрозагрязнителями не являются прямыми.

Озон может эффективно разрушать такой важный гепатоксин как микроцистин LR. Несколько исследований показали, что удаление токсина строго зависит от дозы озона (Hart и Stott, 1993; Hart и соавт., 1997; Carlile, 1994; Fawell и соавт., 1993; Rositano, 1996; Croll и Hart, 1996) [40-45]. Существуют также некоторые данные, что эффективность озона зависит от качества воды. Исследование Hart и Stott (1993), Carlile (1994) [40, 42] продемонстрировали: более низкие дозы озона требовались для разрушения микроцистина в обработанной воде по сравнению с сырой (необработанной) водой, поскольку в обработанной воде была

значительно более низкая концентрация растворенного органического углерода (DOC), что снижало озонопоглощаемость. Однако, влияние концентрации DOC на эффективность разрушения токсина не изучалось.

Rositano (1996) [44] установил, что озонирование культуры *M. aeruginosa* с числом клеток, эквивалентным обильному цветению, требует высоких доз озона и экспозиций для разрушения микроцистина. Rositano (1996), Rositano и соавт. (1998) [44, 46] связали необходимую дозу для разрушения микроцистина LR с остаточной концентрацией озона в растворе. Авторы проводили исследования или с чистым токсином в свободной от органики воде или в той же воде с экстрактом токсичных водорослей. Эти результаты неприменимы к природным водам, поскольку в них особенность и концентрация NOM полностью различны и, как упомянуто выше, присутствие неорганической матрицы будет влиять на любую реакцию озона. Это же касается реакции озона с токсинами. Например, если разрушение токсинов происходит через свободнорадикальный механизм, присутствие остаточного озона может указывать на наличие карбонат ионов, поглощающих радикалы. Поэтому, повышенная щелочность может уменьшать разрушение токсинов, тогда как остаточный озон увеличивать. Констатация полного разрушения микроцистина LR в связи с наличием остаточного озона свидетельствует о необходимости дальнейших исследований в природных водах. Carlson (1993) [47], Bosc и соавт. (1994) [48], Andrews и Huck (1994) [49] показали, что концентрация и природа NOM, pH и содержания карбоната влияют на озонопоглощаемость воды. Поскольку она зависит от дозы и концентрации остаточного озона, вероятно, эта величина также очень важна в озонировании микроцистина LR.

Нейротоксин анатоксин- α , который обнаруживают весьма часто в Европе, также разрушается озоном, однако дозы, требуемые для полного разрушения, выше таковых для микроцистина (Carlisle, 1994; Pieronne, 1993) [42, 50]. Carlisle (1994) [42] установил выраженное влияние качества воды со специфической концентрацией DOC на дозы озона, требуемые для разрушения токсина. Кроме этого наблюдения, другие исследования в этом направлении не проводились.

Паралитические яды моллюска (PSP) или сакситоксины связаны с цветением нейротоксичных цианобактерий в Австралии (Humpage и соавт., 1993) [51]. Предварительное исследование Rositano и соавт. (1998) [46] показало, что токсичность сакситоксина в биопробе на мышцах уменьшается с увеличением дозы озона. В настоящее время аналитическая техника позволяет идентифицировать этот класс нейротоксинов, в связи с чем требуется дальнейшее исследование всех аспектов обработки воды для удаления этих веществ.

Совершенно очевидно, что эффективность озона в разрушении цианотоксинов напрямую зависит от особенностей воды. Как упомянуто выше, здесь приобретают особую важность концентрация DOC и особенность NOM. Помимо этого, параметры качества воды, такие как жесткость и pH, влияют на озонирование NOM и, в связи с этим, озонопоглощаемость (Andrews и Huck, 1994; Xiong и соавт., 1992) [49, 52]. Очевидно, что эти факторы будут также влиять на эффективность озона в разрушении цианотоксинов.

Цель исследования [34] состояла в оценке влияния параметров качества воды (4 образца) на разрушение озоном двух микроцистинов LR и LA, анатоксина- α и сакситоксинов с обобщением для более широкого диапазона вод.

В этом исследовании использовались четыре различных образца воды, параметры качества которых представлены в табл. 4.5.2.

Таблица 4.5.2

Параметры качества четырех фильтрованных вод

Образец воды	pH	Жесткость, mg/l (по CaCO ₃)	DOC, mg/l	Цветность, град	Цветность, mg/l	SUVA 254 nm
Hope Valley	7,8	77	5,3	10	1,9	1,8
Myponga	7,5	30	4,6	7	1,5	2,1
Morgan	7,8	109	5,7	11	1,9	1,9
Edenhope	7,1	133	15,5	7	0,5	1,4

Воды показывают диапазон жесткости, концентраций DOC и характера NOM. Хотя диапазон pH является относительно узким, возможно, это также может повлиять на реакцию озонирования (Laplanche и др., 1995) [38]. Дополнительная информация относительно особенности NOM получена при использовании УФО -сканирования и высокоэффективной жидкостной хроматографии для оценки распределения молекулярной массы.

Распределения молекулярной массы в образцах воды Hope Valley и Morgan показывают более высокие показатели УФ – абсорбции в этих двух водах. Это отражено до некоторой степени в цветности, которая является адекватным критерием относительных распределений молекулярной массы (Newcombe и соавт., 1997) [53]. Однако, несмотря на

подобность низких цветности и SUVA вод Муронга и Edenhope, у NOM в воде обнаружен очень низкий уровень гуминовых кислот ароматического ряда (Edzwald, 1993) [54].

УФ – сканограммы вод показаны на рис. 4.5.15. Результаты подтверждают данные табл. 4.5.2.

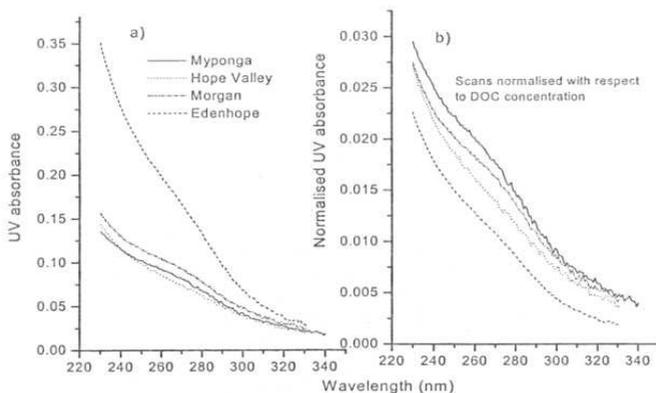


Рис. 4.5.15. УФ – сканограммы четырех вод, (а) природные; (б) нормализованные (относительно концентрации DOC)

Рис. 4.5.15а показывает, что УФ – абсорбция образца воды Edenhope выше других, судя по диапазону изученных длин волн. Это вполне объяснимо, поскольку концентрация DOC в этой воде намного выше. Различия уменьшаются с увеличением длины волны, отражая относительно низкую цветность изученных вод. Когда сканограммы нормализованы с акцентом на концентрации DOC, можно получить больше информации относительно особенности NOM.

Эти результаты также показывают, что NOM в образце воды Edenhope отличается относительно низким содержанием ароматических соединений и цветностью. У образца воды Муронга, вероятно, есть самый высокий уровень гуминовых веществ, на что указывает относительно низкое распределение молекулярной массы. Это свидетельствует, что в DOC образцы воды Муронга есть наибольшее число участков, восприимчивых к окислению озоном (Bose и др., 1994; Xiong и al. 1992) [48, 52]. Из-за высокой концентрации DOC в образце воды Edenhope наблюдается самое высокое фактическое число восприимчивых участков. Поскольку NOM – сложная смесь органических веществ, УФ – спектры обычно существенно не отличаются. Однако, можно обнаружить плечо в диапазоне длин волн 250-300 nm для трех образцов вод – Муронга, Edenhope и Morgan. Это будет обсуждено ниже.

Влияние различий в качестве воды на результаты озонирования показано на рис. 4.5.16. Доза озона, при которой обнаружен остаточный озон ($O_{3, \text{res}}$) подобна для образцов вод Hope Valley, Myronga и Morgan (0,6, 0,5 и 0,7 mg/l соответственно). Этот результат можно рассматривать как неожиданный: хотя у этих трех вод подобные концентрации DOC, однако жесткость их существенно отличается, а NOM имеет определенные особенности. Например, Westerhoff (1995) [55] показал, что в присутствии высоких концентраций карбоната распад озона ингибируется. Он объяснил этот эффект способностью иона карбоната поглощать гидроксильные радикалы. Это уменьшило уровень распада озона и привело к его более высокой концентрации. Поэтому, для образца воды Morgan можно было бы ожидать значительно более низких уровней $O_{3, \text{res}}$, чем для других вод с подобными концентрациями DOC. Фактически дело обстоит не так и уровень $O_{3, \text{res}}$ в расчете на миллиграмм DOC очень подобен в этих четырех водах.

Результаты представлены в табл. 4.5.3.

Таблица 4.5.3

Концентрация остаточного озона через 5 min экспозиции воздействия на mg растворенного органического углерода (DOC)^a

	Hope Valley	Myronga	Morgan	Edenhope
$O_{3, \text{res}} / \text{DOC}$	0,11	0,12	0,12	0,10

^a O_3 / DOC является расчетным отношением (mg/mg)

Известно, что особенность NOM, pH и жесткости воды может влиять на озонирование NOM (Bose и др., 1994; Andrews и Huck, 1994) [48, 49]. Определенное значение имеет постоянство уровня озона в растворе (Westerhoff, 1995) [55]. Например, низкая жесткость и высокая SUVA образца воды Myronga могли привести к более высокому соотношению $O_{3, \text{res}} / \text{DOC}$, в то время как низкая SUVA, высокая жесткость и низкое pH, как ожидалось, приведут к относительно низкому $O_{3, \text{res}} / \text{DOC}$ для образца воды Edenhope. По результатам, показанным в табл. 4.5.3, различия незначительны и, вероятно, концентрация DOC оказывает главное влияние, хотя сложность системы оставляет некоторое сомнение в этом предположении. Как только остаточный озон установлен, образцы воды ведут себя совсем по-другому (рис. 4.5.16).

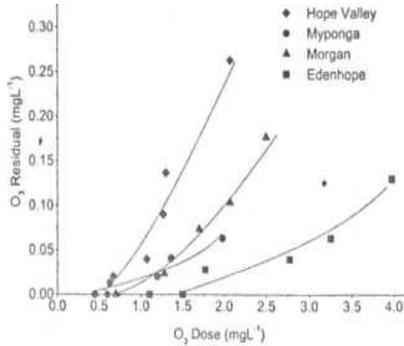


Рис. 4.5.16. Остаточный озон как функция дозы озона через 5 min воздействия

В образце воды Edenhope отмечена высокая озонопоглощаемость, что подтверждается низким остаточным озоном при увеличении его дозы. Это легко объяснить, поскольку концентрация DOC в этой воде очень высока по сравнению с другими водами. Однако, относительная важность влияния параметров качества воды на озонопоглощаемость не вполне объяснима. Laplanche с соавт. (1995) [38] разработали эмпирические соотношения между этими параметрами для прогноза кинетики потребления озона в природных водах. Эти зависимости выглядят следующим образом:

$$\log w = -3,94 + 0,25\text{pH} + 0,753$$

$$7 \log(\text{UV}_{\text{abs},254\text{nm}}) + 1,08 \log(\text{TOC}) - 0,1$$

$$9 \log(\text{жесткости})$$

где, w – константа уравнения $d[\text{O}_3] / dt = w[\text{O}_3]$, которая соответствует кинетическим данным распада O_3 в 56 природных водах. Согласно этому эмпирическому уравнению остаточный озон через 5 min в четырех образцах воды соотносится таким образом: Hope Valley = Myronga > Morgan > Edenhope. Хотя результат для Myronga не совсем точен, для других трех вод прогностическая ценность достаточно высока.

Дальнейшая информация может быть получена при расчете озонопоглощаемости (остаточного озона от его дозы) в дозе 2 mg/l для этих четырех вод. Потребление озона на mg DOC может быть получено путем деления концентрации DOC с определением специфического потребления O_3 . Эти результаты представлены в табл. 4.5.4.

Таблица 4.5.4

**Озонопоглощаемость и специфическая озонопоглощаемость^a O₃
при дозе 2 mg/l**

Образец воды	Озонопоглощаемость, mg/l	Специфическая озонопоглощаемость
Hope Valley	1,77	0,33
Morgan	1,90	0,33
Muronga	1,96	0,43
Edenhope	1,98	0,13

^a специфическая озонопоглощаемость является расчетным соотношением (mg/mg)

У воды Edenhope с самой высокой жесткостью самое низкое специфическое потребление O₃ и, наоборот, у воды Muronga с самой низкой жесткостью эта цифра самая высокая. Эти результаты сопоставимы с наблюдением, что остаточный озон сохраняется дольше в воде с высокой жесткостью, а также с различиями в особенности NOM в этих четырех водах.

Как упомянуто выше, образец воды Edenhope содержит вещества с относительно небольшой УФ – абсорбцией и низким содержанием ароматических соединений. Поэтому, следует предположить достаточно низкую озонопоглощаемость для NOM образца воды Muronga. Потребление озона может также быть связано с уровнями SUVA воды (табл. 4.5.2). Эти результаты коррелируют с данными Xiong и соавт. (1992) [52] по озонированию NOM, изолированного из воды различных источников. Они обнаружили отличия линейности в отношениях между O₃ – потреблением и концентрацией DOC для различных вод. Чем выше уровень SUVA, тем большим будет градиент или специфическое потребление O₃.

Особенность NOM.

Определена УФ – абсорбция каждого образца воды после озонирования. Как ожидалось, этот показатель уменьшался с увеличением дозы озона, что указывает на последовательное разрушение структур, ответственных за УФ-абсорбцию в этой области длины волны. Самое большое удаление было в области длины волны > 270 nm. Это свидетельствует, что главной целью в реакции озона являются вещества NOM, включающие ароматические соединения. Это соответствует области плеча на сканограммах, упомянутых выше. Рис. 4.5.17 показывает УФ-сканограммы до и после озонирования в нескольких дозах озона для этих четырех вод.

Эти числа показывают влияние озона на плечо (отмеченное при длине волны минимум 285 nm) начального УФ – сканирования с полным удалением плеча в образцах водах Morgan и Муронга при дозе озона порядка 2 mg/l. Образец воды Hope Valley показывает меньший эффект из-за первоначального отсутствия существенного плеча.

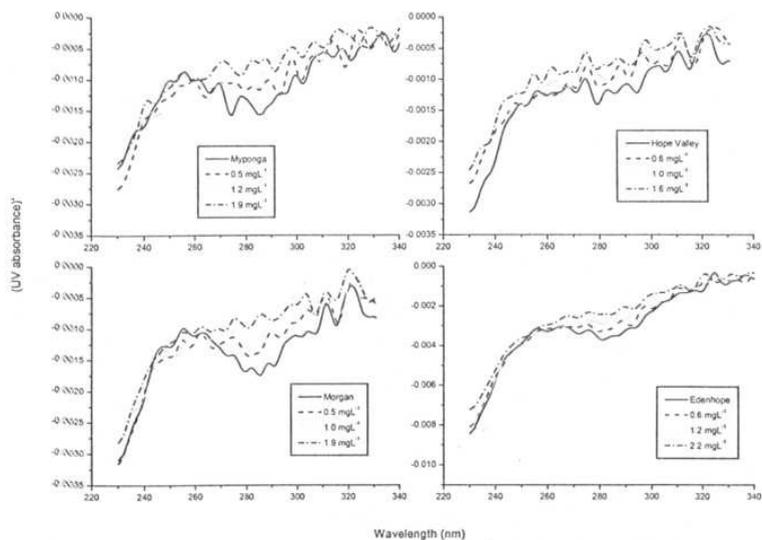


Рис. 4.5.17. УФ – сканограммы до и после озонирования четырех образцов вод при трех дозах озона

Korshin и соавт. (1999) [56], Li и соавт. (1998) [57] сообщали о подобном эффекте у хлора: при длине волны 272 nm NOM является наиболее восприимчивым к воздействию хлора. Авторы использовали “отличительные спектры” для поиска самой важной длины волны из различий между начальной и заключительной сканограммой и нашли, что различие УФ – абсорбции в этой длине волны могло быть линейно связано с формированием побочных продуктов дезинфекции. Ни о каком подобном исследовании озона ранее не сообщали, что требует дальнейшего исследования.

Дифференциальные спектры этих четырех вод представлены на рис. 4.5.18. Существенная длина волны для озонирования различного NOM может быть идентифицирована в этих кривых для трех из четырех образцов вод. Нехватка опознаваемого пика в дифференциальном спектре образца воды Hope Valley также отражает отсутствие плеча на сканограмме неозонированной воды.

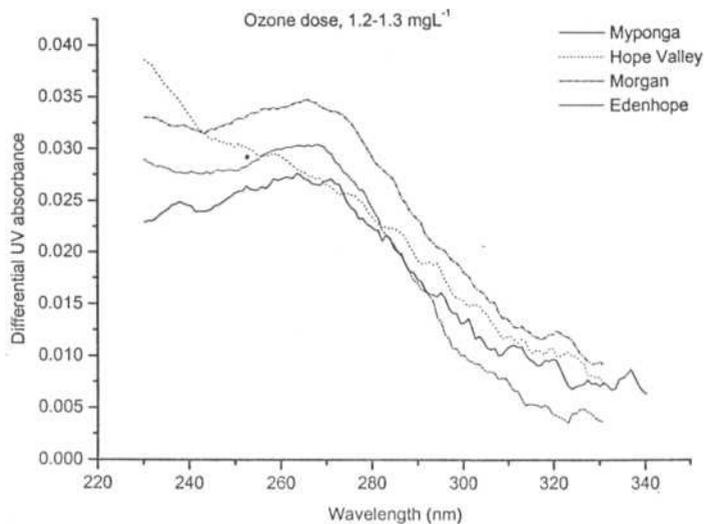


Рис. 4.5.18. Дифференциальные УФ – сканограммы образцов четырех вод после обработки озоном в дозах 1,2-1,3 mg/l

Разрушение токсина.

Разрушение анатоксина-а и смеси микроцистинов LR и LA в образцах четырех водах иллюстрируется рис. 4.5.19 и 4.5.20.

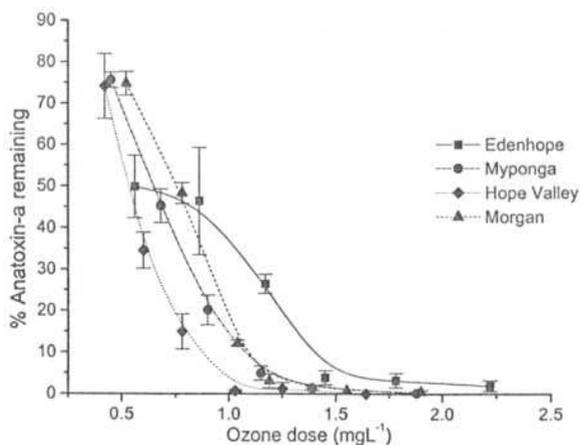


Рис. 4.5.19. Процент остающегося анатоксина-а после обработки ОЗОНОМ

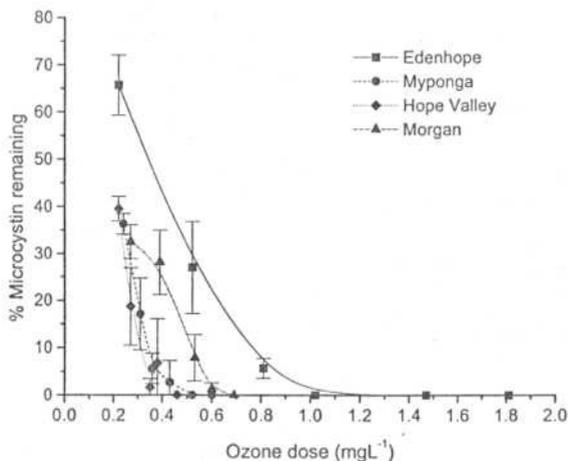


Рис. 4.5.20. Процент оставшегося микроцистина после обработки озоном

Стартовые концентрации каждого токсина составляли 20 $\mu\text{g/l}$. Озонирование микроцистинов приводило к очень подобным результатам судя по проценту от исходного токсина. Результаты показывают, что качество воды оказывает влияние на озонирование и анатоксина- α , и микроцистинов. Для сравнения вод важна доза озона, требуемая для 100 %-ого разрушения токсинов ($O_{3, \text{res}}$), Табл. 4.5.5 представляет эти данные, рассчитанные от кривых на графиках, с учетом остаточного озона через 5 min экспозиции.

Таблица 4.5.5

Предполагаемые дозы озона и концентрации остаточного озона, требуемые для 100%-ого разрушения двух цианотоксинов^a

Образец воды	Анатоксин- α ($O_{3,100\%}$)	Остаточный анатоксин- α ($O_{3,100\%}$)	Микроцистин ($O_{3,100\%}$)	Остаточный микроцистин ($O_{3,100\%}$)
Hope Valley	1.1	0.06	0.5	0.0
Myponga	1.7	0.06	0.6	0.0
Morgan	1.5	0.05	0.7	0.0
Edenhope	> 2.2	> 0.03	1.1	0.0

^a все единицы в $\mu\text{g/l}$

Эти результаты показывают, что уровень остаточного озона порядка 0,05-0,06 mg/l через 5 min контакта может быть достаточным для разрушения анатоксина-а́ и микроцистинов LR и LA (20 µg/l) в широком диапазоне вод. Этот результат согласуется с предыдущими исследованиями (Rositano, 1996; Rositano и др., 1998) [44, 46]. Когда результаты разрушения токсина и остаточного озона сопоставлены с дозой озона на mg DOC, установлены очень сходные тенденции. Это подтверждает, что главным механизмом реакции является молекула O₃, а не гидроксильные радикалы.

Обычное применение озона на станции водоочистки предполагает 5 min контакта и концентрацию остаточного озона не менее 0,2 mg/l, что должно быть достаточным для разрушения обоих альгатоксинов до уровней предела обнаружения. Однако, ролью температуры нельзя пренебречь. Исследования Hitzfeld и соавт. (1998) [58] показали, что при температуре воды озера 6,0 °C остаточный озон (0,1 mg/l) через 45 min реакции не всегда достаточный для окисления микроцистинов. Очевидно, что это требует дальнейших исследований.

Табл. 4.5.6 показывает влияние озона на четыре сакситоксина в трех водах.

Таблица 4.5.6

Влияние озона на четыре сакситоксина в трех обработанных водах

Доза O ₃ mg/l	GTX3, µg/l	GTX2, µg/l	Cl, µg/l	C2, µg/l
Myponga				
0	18,6	53,4	39,1	24,0
0,74	16,9	49,3	35,9	23,5
1,4	14,9	49,6	35,9	20,8
2,75	11,9	40,0	23,8	14,1
Hope Valley				
0	15,9	49,1	33,6	20,0
0,74	13,3	41,6	33,2	19,7
2,75	11,7	39,1	25,1	13,7
3,97	10,1	35,1	24,8	15,5
Morgan				
0	16,7	47,8	36,3	19,3
0,74	15,1	44	33,5	20,0
1,4	12,8	40,3	30,3	16,7
2,75	11,3	32,3	25,8	14,0
3,97	8,5	25,6	22,6	11,5

Эти результаты предварительны, поскольку получен только один набор данных для каждой воды.

Важно отметить, что эти результаты применимы только к определенным концентрациям токсина и температуре. Однако, изученные концентрации токсина выше найденных в поверхностных водах, используемых для производства питьевой воды. Поэтому можно предположить применимость полученных данных к большинству ситуаций цветения цианобактерий в умеренном климате. Вместе с тем, это должно быть проверено в будущем на более широком диапазоне природных и искусственных вод.

Рис. 4.5.21 иллюстрирует большие различия в эффективности озона при обработке трех различных цианотоксинов в воде Муронга.

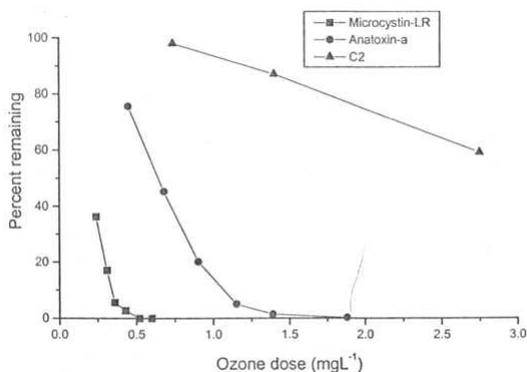


Рис. 4.5.21. Процент токсинов, остающихся после обработки озона воды Муронга

Различия в легкости окисления могут быть приписаны структурным различиям между токсинами. У микроцистинов существуют множество двойных связей, которые легко окисляются, другие вещества, например ароматические, являются более стойкими к окислению. Очевидно, что намного большие дозы озона должны разрушать сакситоксины. В этом исследовании примененная доза была ограничена фактором растворения при введении озона в раствор. Дальнейшее исследование должно быть предпринято с использованием полупилотных установок с газообразным озоном.

В заключении авторы [34] отмечают следующее.

Влияние озона на NOM и цианотоксины микроцистин LR и LA и анатоксин-а изучено в диапазоне доз озона в четырех водах. Предварительные результаты были также получены для класса сакситоксинов.

Эти четыре воды показали различные параметры качества, включая жесткость, DOC и NOM, что оказывало влияние на реакции озона. Соотношение дозы озона на mg DOC, при котором обнаружен остаточный озон, было практически одинаковым для всех вод. Возможно, что DOC оказывал главное влияние, хотя сложность системы подвергает сомнению такие предположения. Оценка УФ-абсорбции показала, что главный участок разрушения NOM озоном представлен структурами, абсорбирующими УФ-свет при длине волны 270-290 nm. Этот результат подобен данным Korshin и соавт. (1999) [56] для реакции хлора с NOM.

Микроцистины LR и LA были разрушены низкими дозами озона, требуемыми для получения остаточного озона для каждой воды. Анатоксин-á был разрушен дозой озона, соответствующей остаточной концентрации порядка 0,06 mg/l через 5 min. Предварительные результаты были также получены в трех водах для группы сакситоксинов. Восприимчивость к озону находилась в порядке микроцистины > анатоксин-á > сакситоксины. Различия в легкости окисления могут быть объяснены структурными различиями между токсинами.

Эти результаты показывают, что доза озона может быть важным фактором для разрушения цианотоксинов. Поэтому, влияние концентрации DOC и жесткости на остаточный озон будет иметь первостепенную важность в применении озона для разрушения цианотоксинов. Для природных вод очень трудно интерпретировать влияние качественных параметров на озонирование, поскольку невозможно их варьировать индивидуально. В перспективе необходимо использовать широкий диапазон искусственных вод с различными концентрациями DOC, особенностями NOM и показателями жесткости с анализом относительного влияния этих параметров. Результатом будет более уверенное применение озона для различных вод, загрязненных цианотоксинами.

Исследован потенциал озона при удалении морских водорослей динофлагеллят из балластной воды судов [59]. Морские водоросли *Dinoflagellate* и виды *Amphidinium*, изолированные из воды Большого Барьерного рифа (Таунсвилл, Австралия), использовались как индикаторы, так как они цистируются, что затрудняет инактивацию, но является относительно чувствительными в вегетативной форме. Эксперименты по озонированию продемонстрировали высокую озонопоглощаемость при инактивации культур водорослей, которая увеличивалась с возрастом. Главное место в этом занимают реакции с бромидом с формированием соединений брома. Высокие дозы озона (5-11 mg/l) за 6 h требовались для инактивации на 4 log видов *Amphidinium*. Авторы заключают, что озонирование, вероятно, будет малорентабельной технологией для удаления динофлагеллят, особенно если учесть особенности балластных

танков судов, вода которых имеет большое количество осадков, детрита и железа в результате коррозии внутренних поверхностей.

Присутствие клеток морских водорослей и их органического вещества (АОМ), включая внеклеточное (ЕОМ) и внутриклеточное (ИОМ), оказывает существенное влияние на обработку питьевой воды. Влияние преозонирования на особенности АОМ и клеток морских водорослей относительно их удаления последующим процессом коагуляции изучено в работе [60]. Клетки морских водорослей и АОМ были проанализированы микрофотографией, распределением размера частицы, УФ – абсорбцией, HPSEC-УФО и ультрафильтрацией (UF). Показано, что озон может окислить хлорофилл в клетках морских водорослей с их повреждением в различной степени. УФ – абсорбция установила, что в АОМ преобладали подобные белку вещества. Распределение молекулярной массы (МВТ) свидетельствует, что в ИОМ и ЕОМ присутствуют идентичные разновидности органического вещества: в ИОМ с высоким МВТ, в ЕОМ с более низким МВТ. В целом, преозонирование может усилить процесс коагуляции, увеличивая эффективность удаления клеток морских водорослей и частиц. В то же время, преозонирование не достаточно эффективно в удалении АОМ, поскольку разрушение ЕОМ сопровождается выходом ИОМ.

Показано, что предокисление озоном культуры микроводорослей *Chodatella sp.* вызвало выпуск внеклеточного органического вещества (ЕОМ) вследствие повреждения мембраны клеток, что уменьшало эффективность коагуляции [61].

Известно, что преозонирование цианобактерий (СВ) в исходной воде и промежуточное озонирование обработанной воды может вызвать их инактивацию. Однако, информация об уровне распада или изменениях в свойствах клеток после озонирования, а также выпуск внутриклеточных компонентов и их вклад в формирование побочных продуктов дезинфекции (DBPs) ограничены. Поэтому цель этого исследования [62] состояла в: (1) оценке влияния преозонирования на СВ; (2) определении Ст, требуемого для полной инактивации клеток; и (3) изучении формирования DBPs, связанных с преозонированием цианобактерий в лабораторных суспензиях. Суспензии *M. aeruginosa* и *Anabaena flos-aquae* в концентрациях $2,5 \cdot 10^5$ и $1,5 \cdot 10^6$ cell/ml были подвергнуты воздействию озона в дозе 0,5, 2,0 и 4,0 мг/л при pH 6 и 8. Быстрая и полная потеря жизнеспособности была достигнута для обеих разновидностей СВ при $C < 0,2$ mg-min/l, хотя никакого существенного уменьшения общего числа клеток не наблюдалось. Максимальный растворенный органический углерод (DOC) был обнаружен на уровне 0,96 и 1,63 mg/l после озонирования 250 000 cell/ml *M. aeruginosa* и *A.*

flos-aquae соответственно. Выпуск DOC зависел от pH и дозы озона. Озонирование клеток СВ увеличивало формирование тригалометанов (ТГМ) и галоуксусных кислот (НАА), главным образом для суспензий *A. flos-aquae* при pH 8 (на 174 % и 65 % для ТГМ и НАА соответственно). В связи с этим, авторы приходят к заключению, что применение озона в водоподготовке, в частности для инактивации цианобактерий, должно учитывать возможность увеличения формирования хлорированных DBPs.

ЛИТЕРАТУРА

1. Effect of oxidants on microalgal flocculation / Sukenik A., Teltch B., Wachs A. W. [et al.] // *Wat. Res.* – 1987. – V. 21, № 5. – P. 533 – 539.
2. Staehlin L. A. The ultrastructure of *Scenedesmus* (chlorophyceae). I. Species with the “reticulate” or “warty” type of ornamented layer / L. A. Staehlin, J. D. Pickett-Heaps // *J. Phycol.* – 1975. – V. 11. – P. 163 – 185.
3. Bernardt H. Der einfluss Algenburtiger organischer Verbindungen auf den Flokkungsprozess bei der Trinkwasseraufbereitung / H. Bernardt, A. Wilhelms // *In Organische Verunreinigungen in der Umwelt.* Schmidt, Berlin. – 1978.
4. Narkis N. The mechanism of the flocculation process in the presence of humic substances / N. Narkis, M. Rebhun // *J. Am. Wat. Wks Ass.* – 1975. – V. 67. – P. 101 – 104.
5. Narkis N. Evaluation of ozone biodegradability of wastewater treatment plant effluent / N. Narkis, M. Rotel // *Wat. Res.* – 1980. – V. 14. – P. 929 – 935.
6. Harvesting of *Scenedesmus obliquus* FSP-3 using dispersed ozone flotation / Y.-L. Cheng, Y.-C. Juang, G.-Y. Liao [et al.] // *Bioresource Technology.* – 2011. – V. 102. – P. 82 – 87.
7. Von Gunten U. Ozonation of drinking water: part I. Oxidation kinetics and product formation / U. Von Gunten // *Water Res.* – 2003. – V. 37. – P. 1443 – 1467.
8. Beltran F.J. Ozone Reaction Kinetics for Water and Wastewater Systems / F.J. Beltran // *CRC Press, Boca Raton, FL, USA.* – 2004.
9. Effect of preozonation on the characteristic transformation of fulvic acid and its subsequent trichloromethane formation potential: presence or absence of bicarbonate / J. Li, H. Liu, X. Zhao [et al.] // *Chemosphere.* – 2008. – V. 71. – P. 1639 – 1645.
10. Betzer N. Effluent treatment and algae recovery by ozone-induced flotation / N. Betzer, Y. Argaman, Y. Kott // *Water Res.* – 1980. – V. 14. – P. 1003 – 1009.
11. Elimination of *Microcystis cyanobacteria* (blue-green-algae) by an ozoflotation process a pilot plant study / F. Benoufella, A. Laplanche, V. Boisdon [et al.] // *Water Sci. Technol.* – 1994. – V. 30. – P. 245 – 257.
12. Fluorescence excitation- emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter / W. Chen, P. Westerhoff, J.A. Leenheer [et al.] // *Environ. Sci. Technol.* – 2003. – V. 37. – P. 5701 – 5710.
13. Chang S.D. The impact of ozonation on particle stability and the removal of TOC and THM precursors / S.D. Chang, P.C. Singer // *J. AWWA.* – 1991. – V. 83. – P. 71 – 79.

14. Influence of ozonation conditions on aldehyde and carboxylic acid formation / J. Nawrocki, J. Swietlik, U. Raczzyk-Stanislawiak [et al.] // *Ozone – Sci. Eng.* – 2003. – V. 25. – P. 53 – 62.
15. Chheda P. Surface thermodynamics of ozone-induced particle destabilization / P. Chheda, D. Grasso // *Langmuir.* – 1994. – V. 10. – P. 1044 – 1053.
16. Grasso D. Ozone-induced particle destabilization / D. Grasso, W.J. Weber // *J. Am. Water Works Assoc.* – 1988. – V. 80. – P. 73 – 81.
17. Characterisation of algogenic organic matter extracted from cyanobacteria, green algae and diatoms / R.K. Henderson, A. Baker, S.A. Parsons [et al.] // *Water Res.* – 2008b. – V. 42. – P. 3435 – 3445.
18. Reckhow D.A. Proc. American Water Works Association, Annual Conference / D.A. Reckhow, P.C. Singer, R.R. Trusell. – Denver, CO. – 1986.
19. Ma J. Effectiveness and mechanism of potassium ferrate (VI) preoxidation for algae removal by coagulation / J. Ma, W. Liu // *Water Res.* – 2002. – V. 36. – P. 871 – 878.
20. Dispersed ozone flotation of *Chlorella vulgaris* / Y.-L. Cheng, Y.-C. Juang, G.-Y. Liao [et al.] // *Bioresource Technology.* – 2010. – V. 101. – P. 9092 – 9096.
21. Chen J.-J. Effect of ozone and permanganate on algae coagulation removal – Pilot and bench scale tests / J.-J. Chen, H.-H. Yeh, I.-C. Tseng // *Chemosphere.* – 2009. – V. 74. – P. 840 – 846.
22. Suffet I.H. Advances in Taste-and-Odor Treatment and Control / I.H. Suffet, J. Mallevalle, E. Kawczynski // *Cooperative Research Reports, AWWA Research Foundation, Denver, CO, USA.* – 1995.
23. Schmidt W. Classification of algogenic organic matter concerning its contribution to the bacterial regrowth potential and byproducts formation / W. Schmidt, B. Hamsch, H. Petzoldt // *Water Sci. Technol.* – 1998. – V. 37 (2). – P. 91 – 96.
24. Plummer J.D. Effect of ozone on algae as precursors for trihalomethane and haloacetic acid / J.D. Plummer, J.K. Edzwald // *Environ. Sci. Technol.* – 2001. – V. 35. – P. 3661 – 3668.
25. Physiological toxicity, cell membrane damage and the release of dissolved organic carbon and geosmin by *Aphanizomenon flos-aquae* after exposure to water treatment chemicals / H.G. Peterson, S.E. Hrudehy, I.A. Cantin [et al.] // *Water Res.* – 1995. – V. 29. – P. 1515 – 1523.
26. Fitzgerald G.P. Use of potassium permanganate for control of problem algae / G.P. Fitzgerald // *J. Am. Water Works Ass.* – 1966. – V. 58 (5). – P. 609 – 614.
27. Petrushevski B. Effect of permanganate pretreatment and coagulation with dual coagulants on algae removal in direct filtration / B. Petrushevski, A.N. van Breemen, G. J. Alaerts // *Water Supply Res. Technol. – AQUA.* – 1996. – V. 45 (6). – P. 316 – 326.
28. Chlorine and chlorine dioxide: preoxidants used as algocide in potable water plants / M.C. Steynberg, M.M. Guleilm, J.C. Geldenhuys [et al.] // *Water Supply Res. Technol. – AQUA.* – 1996. – V. 45 (4). – P. 162 – 170.
29. Bernhardt H. Flocculation of microorganisms / H. Bernhardt, J. J. Clasen // *Water Supply Res. Technol. – AQUA.* – 1991. – V. 40 (2). – P. 76 – 87.

30. Paralkar A. Effect of ozone on EOM and coagulation / A. Paralkar, J.K. Edzwald // *J. Am. Water Works Ass.* – 1996. – V. 88 (4). – P. 143 – 154.
31. Algae Detection and Removal Strategies for Drinking Water Treatment Plants / R. Knappe, R.U. Detlef, C. Belk [et al.] // *AWWA Research Foundation, Denver, CO, USA.* – 2004.
32. Chandrakanth M.S. Interactions between ozone, AOM, and particles in water treatment / M.S. Chandrakanth, S. Krishnan, G.L. Amy // *J. Environ. Eng. – ASCE.* – 1996. – V. 122. – P. 459 – 468.
33. Chen J.J. The mechanisms of potassium permanganate on algae removal / J.J. Chen, H.H. Yeh // *Water Res.* – 2005. – V. 39. – P. 4420 – 4428.
34. Ozonation of nom and algal toxins in four treated waters / J. Rositano, G. Newcombe, B. Nicholson [et al.] // *Water Research.* – 2001. – V. 35, I. 1. – P. 23 – 32.
35. Cyanobacterial (blue-green algal) toxins: a resource guide / R. Yoo, W. Carmichael, R. Hoehn [et al.] // *American Water Works Association Research Foundation Report.* – 1995.
36. Liver tumor promotion by the cyanobacterial peptide toxin microcystin-LR / R. Nishiwaki-Matsushima, T. Ohta, S. Nishiwaki [et al.] // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* – 1992. – V. 118. – P. 420 – 424.
37. Stachelin J. Decomposition of ozone in water in the presence of organic solutes acting as promoters and inhibitors of radical chain reaction / J. Stachelin, J. Hoigne // *Environ. Sci. Technol.* – 1985. – V. 19. – P. 1206 – 1213.
38. Modelisation of micropollutant removal in drinking water treatment by ozonation or advanced oxidation processes / A. Laplanche, M. Orta de Velasquez, V. Boisdon [et al.] // *Ozone Sci. Eng.* – 1995. – V. 17. – P. 97 – 117.
39. Relationships between the structure of NOM and its reactivity molecular ozone and hydroxyl radicals / P. Westerhoff, G. Aiken, G. Amy [et al.] // *Wat. Res.* – 1999. – V. 33(10). – P. 2265 – 2276.
40. Hart J. Microcystin-LR removal from water (Report FR0367) / J. Hart, P. Stott // *Foundation for Water Research, Buckinghamshire. Marlow.* – 1993.
41. Hart J. The fate of both intra- and extra-cellular toxins during drinking water treatment / J. Hart, J.K. Fawell, B. Croll // *Special Subject No. 18, SSI8-1-6, IWSA World Congress.* – 1997.
42. Carlile P.R. Further studies to investigate microcystin-LR and anatoxin-a removal from water (Report FR0458) / P.R. Carlile // *Foundation for Water Research, Buckinghamshire, Marlow.* – 1994.
43. Blue-green algae and their toxins — analysis, treatment and environmental control / J. K. Fawell, J. Hart, H. A. James [et al.] // *Water Supply.* – 1993. – V. 11(3/4). – P. 109 – 115.
44. Rositano J. The destruction of cyanobacterial peptide toxins by oxidants used in water treatment / J. Rositano // *Urban Water Research Association of Australia, Research Report No. 110, Melbourne, Vic.* – 1996.
45. Croll B. Algal toxins and customers / B. Croll, J. Hart // *UKWIR-AWWARF Technology Transfer Conference, Philadelphia, October 14-16.* – 1996.
46. Rositano J. Destruction of cyanobacterial toxins by ozone / J. Rositano, B. C. Nicholson, P. Pieronne // *Ozone: Sci. Eng.* – 1998. – V. 20. – P. 223 – 238.

47. Carlson M. The effect of organic carbon on ozone demand and decay / M. Carlson // Proceedings of the Water Quality Technology Conference, American Water Works Association, Miami, FL, November 7-11. – 1993.
48. Bose P. Effect of ozonation on some chemical and physical properties of aquatic natural organic matter / P. Bose, B. Buijijayanta, D. Reckhow // *Ozone Sci. Eng.* – 1994. – V. 16. – P. 89 – 112.
49. Andrews S. Using fractionated natural organic matter to quantitate organic by-products of ozonation / S. Andrews, P. Huck // *Ozone Sci. Eng.* – 1994. – V. 16. – P. 1 – 12.
50. Pieronne P. FAIR (French-Australian Industrial Research Programme) / P. Pieronne // Australian Water Quality Centre. Internal Report. – 1993.
51. Paralytic shellfish poisons from freshwater blue – green algae / A. R. Humpage, J. Rositano, P. D. Baker [et al.] // *Med. J. Aust.* – 1993. – V. 159. – P. 423 – 431.
52. Xiong F. Long-term ozone consumption by aquatic fulvic acids acting as precursors of radical chain reactions / F. Xiong, J.-P. Croue, B. Legube // *Environ. Sci. Technol.* – 1992. – V. 26. – P. 1059 – 1064.
53. The influence of characterised natural organic material on activated carbon adsorption: I. Characterisation of concentrated reservoir water / G. Newcombe, M. Drikas, S. Assomi [et al.] // *Water Res.* – 1997. – V. 31, I. 5. – P. 963 – 972.
54. Edzwald J. K. Coagulation in drinking water treatment: particles, organics and coagulants / J. K. Edzwald // *Water Sci. Technol.* – 1993. – V. 27, I. 11. – P. 21 – 35.
55. Westerhoff P. Ozone oxidation of bromide from natural organic matter / P. Westerhoff. – Ph.D. dissertation. Universe Colorado, Boulder, CO. –1995.
56. Korshin G. Use of differential spectroscopy to evaluate the structure and reactivity of humics / G. Korshin, M. Benjamin, C.-W. Li // *Water Sci. Technol.* – 1999. – V. 40, I. 9. – P. 9 – 16.
57. Li C.-W. Monitoring DBP formation with differential UV spectroscopy / C.-W. Li, G. Korshin, M. Benjamin // *J. Am. Water Works Assoc.* – 1998. – V. 90, I. 8. – P. 88 – 100.
58. Hitzfeld B. Cyanobacterial toxin removal by ozonation / B. Hitzfeld, S. Hoger, D. R. Dietrich // 4th International Conference on Toxic Cyanobacteria Compilation of Abstracts, Beaufort, NC, 27 September-4 October. – 1998.
59. Oemcke D.J. Ozonation of the marine dinoflagellate alga *Amphidinium* sp.—implications for ballast water disinfection / D.J. Oemcke, J. (Hans) van Leeuwen // *Water Research.* – 2005. – V. 39, I. 20. – P. 5119 – 5125.
60. Effect of preozonation on characteristics of algae cells and algae-derived organic matter (AOM) with respect to their removal by coagulation / J. Ma, J.Y. Fang, L.N. Wang [et al.] // *Water Science & Technology: Water Supply.* – 2006. – V. 6, No 4. – P. 145 – 152.
61. Chen J.-J. Comparison of the effects of ozone and permanganate preoxidation on algae flocculation / J.-J. Chen, H.-H. Yeh // *Water Science & Technology: Water Supply.* – 2006. – V. 6, No 3. – P. 79 – 88.
62. Oxidation of *Microcystis aeruginosa* and *Anabaena flos-aquae* by ozone: Impacts on cell integrity and chlorination by-product formation / L. A. Coral, A. Zamyadi, B. Barbeau [et al.] // *Water Research.* – 2013. – V. 47, I. 9. – P. 2983 – 2994.

4.6. Комплексные исследования биоцидного действия озона

Цель исследования [1] состояла в том, чтобы установить в лабораторных условиях минимальные дозы озона для инактивации *E. coli* и спор *Bacillus cereus* и *Bacillus megaterium*. Эти исследования проводились в контексте оценки ответа «all-or-none» (все или ничего) [14, 4.1], согласно которой пороговая доза биоцида должна предшествовать инактивации бактерий.

Установлено, что невымытые (unwashed) клетки *B. cereus* и *E. coli* не инактивировались в течение 5 мин озонирования при восьми концентрациях в диапазоне 0,04 – 0,71 mg/l. Однако, когда клетки *B. megaterium* и *E. coli* были вымыты дважды в физиологическом растворе до обработки озоном, популяция бактерий уменьшалась до нуля через 5 мин. экспозиции при концентрации озона 0,19 mg/l и 0,12 mg/l для *B. cereus* (рис. 4.6.1). Эти данные ясно показывают, что разрушение клеток происходит при почти одинаковой концентрации озона для каждой из трех бактерий и что полная инактивация происходит при достижении некоторой критической концентрации.

Рис. 4.6.2 показывает влияние озона на споры *B. cereus* и *B. megaterium*. Установлены намного более высокие концентрации остаточного озона, чем требуемые для разрушения вегетативных форм бактерий: 2,29 mg/l при 5 мин для полной инактивации.

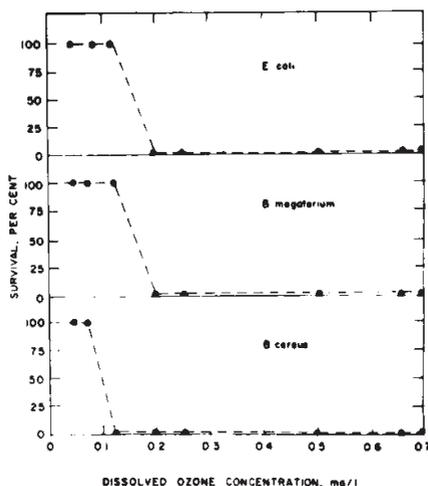


Рис. 4.6.1. Влияние озона на вымытые вегетативные клетки *E. coli*, *B. megaterium* и *B. cereus* в деионизированной воде. Точки на кривых – средние числа трех повторов в экспериментах при каждой дозе для каждого штамма.

Чувствительность вегетативных клеток чрезвычайно низкая к концентрациям остаточного озона. Порог инактивации для *B. cereus* составлял приблизительно 0,12 mg/l, тогда как это для *B. megaterium* и *E. coli* – 0,19 mg/l. Эти уровни коррелируют с известными в литературе, особенно для *E. coli*. По данным Whitson [13, 4.1], Bringman [14, 4.1], Sykes [12, 4.1], Guinvarch [16, 4.1], Bean [8, 4.1] и Torricelli [17, 4.1] для *E. coli* эффективные концентрации остаточного озона колебались в пределах от 0,1 до 0,2 mg/l. Во всех случаях установлен эффект «all-or-none». При этом не найдено каких-либо корреляций устойчивости к озону со структурой мембраны бактерий используемых штаммов.

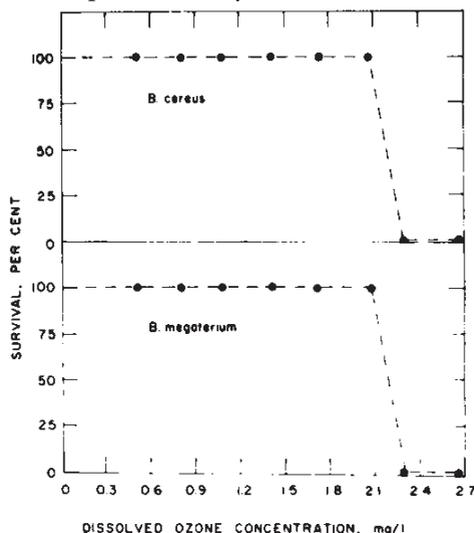


Рис. 4.6.2. Влияние озона на вымытые споры *B. cereus* и *B. megaterium* в деионизированной воде. Точки на кривых – средние числа трех повторов в экспериментах при каждой дозе для каждого штамма *Bacillus*.

Когда данные по невымытым вегетативным клеткам были сравнены с вымытыми, стало очевидно, что органическая питательная среда в первом случае значительно повышает озонопоглощаемость.

Споры *B. cereus* и *B. megaterium* были в 10 – 15 раз более стойкие к озону, чем их вегетативные аналоги. Это, вероятно, результат защиты оболочкой споры. Bringmann [14, 4.1] и Fetner и Ingols [15,4.1] описали озон как общий протоплазматический окислитель. Протоплазма вегетативной клетки защищена только мембраной, тогда как протоплазма споры защищена многослойной оболочкой и экзоспорангиумом.

Споры *B. cereus* и *B. megaterium* были одинаково стойкими к озону в этих экспериментах, вероятно потому, что их химические и физические составы подобны: порог инактивации колебался между 2,03 и 2,29 мг/л.

В заключении авторы отмечают, что озон в относительно низких концентрациях, является эффективным бактерицидом и спороцидом. На практике озон наиболее вероятно должен быть применен в более высоких дозах (0,5-10 мг/л) и в течение большей экспозиции (2-10 min), поскольку наличие органических веществ неизбежно будет повышать озонопоглощаемость [9, 16, 17; 4.1].

Исследования [50, 4.2] по дезинфекции озоном были выполнены на пяти культурах микроорганизмов: дрожжи *Candida parapsilosis*, кислотоустойчивый микроорганизм (КМ) *Mycobacterium fortuitum*, *Salmonella typhimurium*, *E. coli* и полиовирус для определения их относительной устойчивости в смешанной системе непрерывного потока. Эксперименты проводились и в чистой водной системе, и во вторично очищенных сточных водах. Устойчивость к озону в обоих случаях соответствовала следующему порядку: *M. fortuitum* > полиовирус тип 1 штамма *Mahoney* > *C. parapsilosis* > *E. coli* > *S. typhimurium*.

Ранее Engelbrecht и соавт. (1974) [2] изолировали несколько дрожжей и КМ из хлорированных сточных вод в поиске нового биоиндикатора для определения эффективности дезинфекции сточных вод хлором из-за низкой устойчивости колиформ к хлору по сравнению с вирусами. Использованы четыре представителя дрожжей (*C. parapsilosis*, *C. kru-sei*, *Trichosporon fermentans*, *Rhodotorula rubra*) и три КМ (*M. fortuitum*, *M. phlei* и *M. Snwejmatis*). Устойчивость к свободному хлору ранжировалась следующим образом: кислотоустойчивые микроорганизмы > дрожжи > полиовирус тип *Mahoney* > *S. Typhimurium* > *E. coli* при использовании смешанных культур (рН 6,0; 7,0 и 10,0, температура 5 и 20 °С). Главная цель этого исследования [50, 4.2] состояла в определении чувствительности к озону биоиндикатора *E. coli*, *S. typhimurium* и полиовируса в чистой водной системе (деионизированная вода – фосфатный буфер) и вторично очищенных сточных водах при использовании смешанной системы непрерывного потока. *C. parapsilosis* и *M. fortuitum* выбраны как модельные микроорганизмы.

Исследование смешанной культуры, включая *E. coli*, *M. fortuitum*, *C. parapsilosis*, *S. typhimurium* и вирус полиомиелита тип 1 *Mahoney*, были выполнены в полностью смешанном реакторе непрерывной струи. Все микроорганизмы были культивированы отдельно и добавлены одновременно в расходный резервуар за 15 минут до эксперимента. Производили непрерывное перемешивание для гомогенизации суспензии. Концентрация озона в газовой фазе составляла 16,8 мг/л.

Первый эксперимент был выполнен на деионизированной воде при рН 7,0 и температуре 24 °С. Концентрация остаточного озона в реакторе составляла 0,23 – 0,26 mg/l в течение каждой из четырех экспозиций 6, 36, 72 и 108 с.

Озонированный образец отбирали в пробирку, содержащую 0,5 ml стерильного тиосульфата натрия (0,005 M) для инактивации остаточного озона. Как видно на рис. 4.6.3, *M. fortuitum* являлся наиболее устойчивым микроорганизмом из пяти. *S. typhimurium* был наименее стойким, в то время как *E. coli*, *C. parapsilosis* и полиовирус показали увеличение уровня резистентности. Устойчивость *S. typhimurium* была сопоставима с *E. coli*. Однако, полиовирус был более стойким, чем *E. coli* и *C. parapsilosis*, но менее стойким, чем *M. fortuitum*.

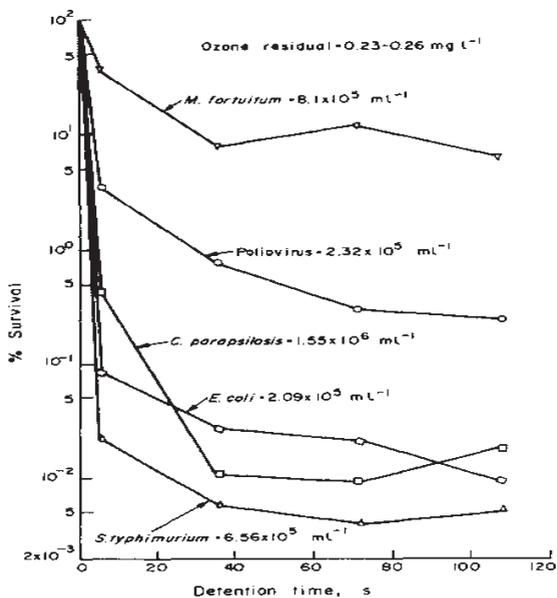


Рис. 4.6.3. Чувствительность пяти тестируемых микроорганизмов к озону в деионизированном растворе фосфатного буфера

Второй эксперимент был выполнен с использованием активного ила сточных вод как суспендированной среды. Экспериментальные условия были идентичны предыдущему эксперименту. Остаточный озон колебался от 0,29 до 0,36 mg/l. Уровень инактивации (рис. 4.6.4) был подобен модельной системе, а именно *M. fortuitum* < полиовирус < *C. parapsilosis* < *E. coli* < *S. typhimurium*. Изучении инактивации смеси организмов в сточных водах показало, что концентрация озона в газовой

фазе должна быть значительно увеличена для получения остаточного озона, сопоставимого с модельной системой. В этом случае порядок инактивации микроорганизмов идентичен.

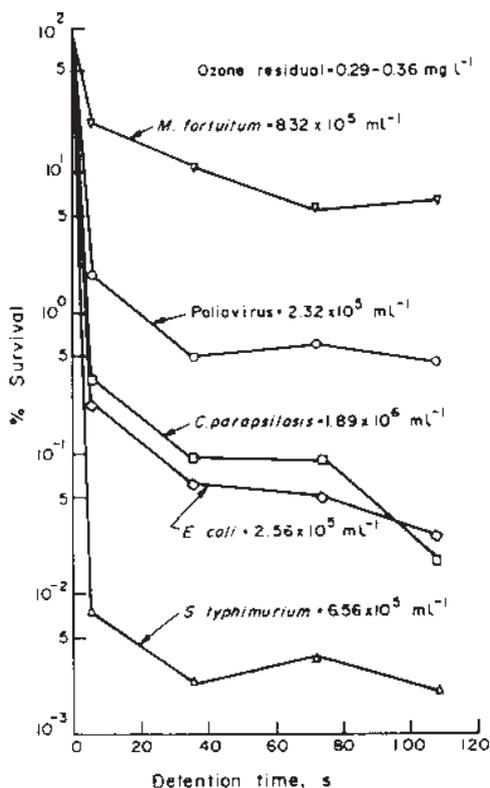


Рис. 4.6.4. Чувствительность пяти тестируемых микроорганизмов к озону в активном или сточных вод

Engelbrecht и соавт. (1977) [3] установили резистентность к хлору полиовируса тип 1 Mahoney, *E. coli*, *S. typhimurium* и смешанной культуры дрожжей и кислотоустойчивых микобактерий (КМ) в сточных водах. Инактивация была определена для свободного остаточного хлора 0,5 mg/l при pH 7,0 и 20 °C. Порядок устойчивости был следующим: КМ > дрожжи > полиовирус > *S. typhimurium* > *E. coli*.

Сравнение ранжирования устойчивости пяти различных микроорганизмов к озону и остаточному хлору показывает, что оно определяется типом дезинфектанта и механизмом дезинфекции. Предполагается, что механизм дезинфекции хлором состоит в окислении эссенциальных

клеточных функциональных единиц, таких как ферменты, коферменты и Н-носители обоих патогенов и других микроорганизмов. Venkobacher и Rao (1975) [4] показали, что хлор воздействовал на общую активность дегидрогеназы интактных клеток *E. coli* и что доза коррелировала с выживанием бактерий. Было также показано, что активность сукцинатдегидрогеназы уменьшена за счет окисления тиоловых групп, в то время как активность АТФ-азы не изменялась под влиянием бактерицидных концентраций хлора. Bringman (1955) [5] сообщал, что действие озона отличается от хлора: хлор избирательно разрушает определенные ферменты, тогда как озон действует как общий протоплазматический окислитель. Giese и Christenser (1954) [6] предположили, что первичным центром воздействия озона является поверхность бактериальной клетки. Barron (1954) [7] выдвинул гипотезу, согласно которой первичная инактивация микробов озоном связана с окислением сульфгидрильных групп, связанных с ферментами. Murray и соавт. (1965) [8] обнаружили, что у грамотрицательных микроорганизмов наиболее удаленный слой является липопротеином, следующим за липополисахаридным слоем, и заключили, что эти слои в первую очередь будут подвергнуты воздействию озона. Они пришли к выводу, что изменение проницаемости мембраны клеток в конечном счете приводит к их распаду.

Это исследование [1] представило дополнительную информацию относительно приемлемости *E. coli* как индикатора эффективности дезинфекции озоном. Результаты показывают: *E. coli* является менее стойкой к озону, чем полиовирус, что коррелируется с результатами по хлорированию (Engelbrecht и др., 1977) [3]. То есть, использование *E. coli* как индикаторного микроорганизма в определенной степени сомнительно. Это также противоречит критерию идеального микробиологического индикатора Bonde's (1966) [9], согласно которому индикатор должен быть более стойким к дезинфицирующему средству в водной среде, чем болезнетворные организмы. Поэтому, очевидна необходимость нового индикаторного микроорганизма, гарантирующего инактивацию всех патогенов озоном.

В работе [10] установлено следующее. В условиях стабильного потока воды при 20 °С и рН 7 у пяти микроорганизмов устойчивость к озону (при его постоянных уровнях) ранжировалась таким образом: полиовирус 1 (PV1) < *E. coli* < вирус гепатит А (HAV) < *Legionella pneumophila* серогруппы 6 < споры *B. subtilis*. Тесты были повторены при 10 °С с HAV, PV1 и *E. coli*. Инактивация озоном HAV и *E. coli* была быстрее при 10 °С, чем при 20 °С. При 20 °С для полной инактивации HAV требовалось 0,25 – 0,38 мг/л O₃, PV1 – 0,13 мг/л.

Как известно, питьевая вода является природным путем передачи бактерий, вируса гепатита А (HAV) и других вирусов [11], что свидетельствует о необходимости их инактивации. Дезинфекция озоном представляет собой устойчивую альтернативу хлору.

Более ранние исследования показали, что при определенных условиях HAV является более стойким к хлору, чем некоторые типы бактерий [12, 13]. Однако, литература дает весьма спорные сообщения относительно устойчивости энтеровирусов к озону [14-16]. Здесь играют существенную роль различия в лабораторных условиях. Новые методы культивирования HAV в клеточных культурах позволили использовать точные числа инактивации HAV в экспериментах [17].

Авторы сравнили инактивацию озоном HAV и полиовируса 1 (PV1) при условиях постоянного потока [18]. Это позволило поддерживать устойчивую концентрацию и эффективность озона, несмотря на его потери из-за реакции с вирусами и другими веществами, что в наибольшей степени соответствует условиям обработки на водоочистных станциях.

Рис. 4.6.5 показывает эксперимент с HAV. Постоянные концентрации озона и HAV были установлены приблизительно через 10 минут с начальной концентрацией озона 0,14 мг/л O_3 и HAV $E 10^{3,5}$ TCID₅₀/ml.

Результаты экспериментов по инактивации показаны в табл. 4.6.1 – 4.6.7. Табл. 4.6.1 показывает инактивацию HAV при 20 °С.

Хотя какая-либо измеримая инактивация HAV при 0,03 мг/л O_3 отсутствовала, было инактивировано 77,3 % HAV, когда концентрация озона была удвоена. Константа инактивации составляла 11,7 min при 0,1 мг/л O_3 , полная инактивация наступала через 0,8 min. HAV был почти полностью инактивирован при 0,25 мг/л O_3 , отсутствие вирусов установлено при 0,38 мг/л O_3 .

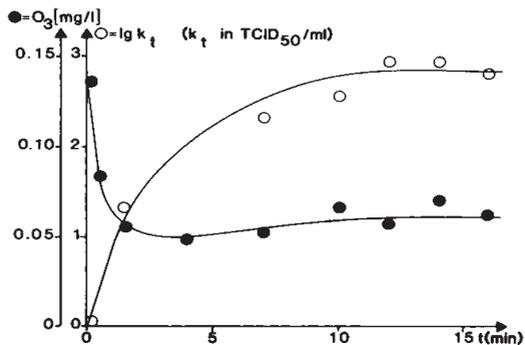


Рис. 4.6.5. Уровень HAV $E 10^{3,5}$ TCID₅₀/ml при 20 °С. Показаны концентрации озона и вируса.

Таблица 4.6.1

Инактивация HAV озоном при 20 °С ($E = 10^{3,5} \text{ TCID}_{50}/\text{ml}$)

Исходная концентрация O_3 , mg/l	Постоянная концентрация O_3 , mg/l	K_{∞}^a , $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$	λ , min	T, 10^4 min	Уменьшение ^b (%)
0,10	0,03	$10^{3,5}$	1,0	9,20	0,0
0,14	0,06	$10^{2,9}$	4,4	2,10	77,3
0,16	0,08	$10^{2,7}$	6,9	1,30	85,5
0,29	0,10	$10^{2,4}$	11,7	0,80	91,4
0,50	0,18	$10^{2,3}$	14,8	0,60	93,2
0,85	0,22	$10^{1,6}$	87,3	0,10	98,8
0,94	0,24	$10^{1,0}$	353,0	0,03	99,7
1,04	0,25	$10^{0,7}$	599,0	0,02	99,8
1,22	0,38	$<10^{0,7}$	ND ^c	ND ^c	100,0

^a K_{∞} , постоянная концентрация HAV.

^b % инактивации.

^c ND, отсутствие вирусной активности в 0,8 ml.

Инактивация HAV была значительно более быстрой после уменьшения температуры от 20 до 10°С (табл. 4.6.2).

Таблица 4.6.2

Инактивация HAV озоном при 10 °С

Исходная концентрация O_3 , mg/l	Постоянная концентрация O_3 , mg/l	K_{∞}^a , $\text{TCID}_{50}/\text{ml}$	λ , min	T, 10^4 min	Уменьшение ^b (%)
0,32	0,06	$10^{2,4}$	12,2	0,75	91,8
0,48	0,10	$10^{1,7}$	68,9	0,13	98,5
0,79	0,27	$<10^{0,7}$	^c -	^c -	100,0

^a K_{∞} , постоянная концентрация HAV.

^b % инактивации.

^c Отрицательный результат

Как видно из представленных данных, фактор сокращения 10^4 при 10 °С составлял 1/4 времени при 20 °С, а инактивация на 91,8 % наблюдалась уже при постоянной концентрации 0,06 mg/l O_3 . Отсутствие вирусов констатировано при 0,27 mg/l O_3 .

PV1 был значительно более чувствительным к озону, чем HAV. Табл. 4.6.3 показывает инактивацию PV1 при 20 °С.

Фактор сокращения 10^4 при устойчивой концентрации 0,1 mg/l O_3 составил 1/10 min для PV1, тогда как для HAV 47 s. Активность PV1 была ингибирована при 0,13 mg/l O_3 .

Инактивация PV1 была также проверена при 10 °С. Табл. 4.6.4 показывает видимое различие в устойчивости при этих двух температурах. Инактивация при постоянной концентрации 0,02 mg/l O_3 для PV1 составляла 95,5 min при 10 °С, тогда как при 20 °С 12 min. Вирусы не обнаруживались при концентрации озона 0,08 mg/l.

Таблица 4.6.3

Инактивация PV1 озоном при 20 °С

Исходная концентрация O_3 , mg/l	Постоянная концентрация O_3 , mg/l	K_{∞}^a , TCID ₅₀ /ml	λ , min	T, 10 ⁴ min	Уменьшение ^b (%)
0,03 ^c	0,02	$10^{2,7}$	12,0	45,0	91,87
0,09 ^c	0,04	$10^{2,2}$	43,0	12,7	97,71
0,11 ^d	0,10	$10^{1,0}$	6,000.0	0,1	99,98
0,19 ^c	0,13	$<10^{0,7}$	- ^e	- ^e	100,00

^a K_{∞} , постоянная концентрация PV.

^b % инактивации.

^c $E = 10^{3,8}$ TCID₅₀/ml.

^d $E = 10^{4,8}$ TCID₅₀/ml.

^e Отрицательный результат.

Таблица 4.6.4

Инактивация PV озоном при 10 °С ($E = 10^{3,6}$ TCID₅₀/ml)

Исходная концентрация O_3 , mg/l	Постоянная концентрация O_3 , mg/l	K_{∞}^a , TCID ₅₀ /ml	λ , min	T, 10 ⁴ min	Уменьшение ^b (%)
0,04	0,02	$10^{1,6}$	95,5	5.8	98,95
0,05	0,03	$10^{1,4}$	153,0	3.6	99,34
0,13	0,08	$<10^{0,7}$	- ^c	- ^c	100,00

^a K_{∞} , постоянная концентрация PV.

^b % инактивации.

^c Отрицательный результат.

E. coli, как бактерия – индикатор фекального загрязнения воды, также была тестирована в этом эксперименте. Табл. 4.6.5 показывает результаты инактивации при 20 °С.

Таблица 4.6.5

Инактивация *E. coli* озоном при 20°С

Исходная концентрация O ₃ , mg/l	Постоянная концентрация O ₃ , mg/l	K _∞ ^a , TCID ₅₀ /ml	λ, min	T, 10 ⁴ min	Уменьшение ^b (%)
0,10 ^c	0,07	3,4 x 10 ⁴	2,9	3,1	66,0
0,15 ^c	0,10	6,8 x 10 ³	14,7	0,6	93,2
0,36 ^d	0,16	3,0 x 10 ⁴	95,5	0,1	99,0
0.43 ^c	0,31		°CI	°CI	100,0

^a K_∞, постоянная концентрация *E. coli*.

^b % инактивации.

^c E = 10⁵ CFU/ml.

^d E = 3 • 10⁶ CFU/ml.

^e Полная инактивация.

E. coli была несколько более чувствительна к озону, чем HAV. Фактор сокращения 10⁴ при 20 °С составил 0,6 min при 0,1 mg/l O₃ по сравнению с 0,8 min для HAV. PV1 был инактивирован приблизительно в 300 раз быстрее, чем *E. coli* при этой концентрации озона. Жизнеспособные *E. coli* не обнаруживались при 0,31 mg/l O₃. Инактивация *E. coli*, как HAV и PV1, происходила намного быстрее при 10 °С и была полной при 0,1 mg/l O₃ (табл. 4.6.6).

Таблица 4.6.6

Инактивация *E. coli* озоном при 10 °С (E = 10⁶ CFU/ml)

Исходная концентрация O ₃ , mg/l	Постоянная концентрация O ₃ , mg/l	K _∞ ^a , TCID ₅₀ /ml	λ, min	T, 10 ⁴ min	Уменьшение ^b (%)
0,10	0,06	2,4 x 10 ⁴	42,7	0,220	97,65
0,25	0,10	7,5 x 10 ³	134,0	0,070	99,25
0,27	0,17	1,0 x 10 ²	10,0	0,001	99,99
0,36	0,31		CI ^c	CI ^c	100.00

^a K_∞, постоянная концентрация *E. coli*.

^b % инактивации.

^c Полная инактивация.

L. pneumophila серогруппы 6 показала значительно большую устойчивость к озону по сравнению с *E. coli* (табл. 4.6.7).

При 20 °С λ составлял 4 min для *L. pneumophila* и 95,5 min для *E. coli* при 0,17 mg O₃/l, но 14,8 min для HAV, то есть *L. pneumophila* более устойчивая, чем HAV. Уровень инактивации *L. pneumophila* составлял 99,5 % при 0,32 mg O₃/l, тогда как HAV 99,7 % уже при 0,24 mg O₃/l.

Два ряда экспериментов были предприняты с *B. subtilis*. Однако, не обнаружено какого-либо существенного сокращения числа спор при 0,18 или 1,2 mg O₃/l.

Эксперименты по инактивации показали четкие различия в устойчивости к озону вирусов и бактерий. Рис. 4.6.8 представляет обобщение полученных данных. Константы инактивации повышались почти по экспоненте, поскольку концентрация озона увеличивались.

Таблица 4.6.7

Инактивация *L. pneumophila* серогруппы 6 озоном при 20 °С

Исходная концентрация O ₃ , mg/l	Постоянная концентрация O ₃ , mg/l	K _∞ ^a , TCID ₅₀ /ml	λ, min	T, 10 ⁴ min	Уменьшение ^b (%)
0,20 ^c	0,14	2,4 x 10 ⁴	2,6	3,50	63,1
0,26 ^c	0,17	1,6 x 10 ⁴	4,0	2,30	75,4
0,50 ^d	0,20	1,0 x 10 ⁴	8,0	1,20	87,5
0,64 ^d	0,25	6,0 x 10 ³	13,2	0,70	92,5
0,85 ^d	0,28	1,8 x 10 ³	43,7	0,20	97,8
1,00 ^d	0,32	4,3 x 10 ²	185,0	0,05	99,5
1,40 ^e	1,20		^c CI	^c CI	100,0

^a K_∞, постоянная концентрация *L. pneumophila* серогруппы 6.

^b % инактивации.

^c E = 6,5 • 10⁴ CFU /ml.

^d E = 2 • 10⁷ CFU/ml.

^e Полная инактивация.

Температурная зависимость устойчивости к озону HAV и *E. coli* является очевидной: эффективность озона уменьшилась, поскольку температура повысилась. То, что HAV более резистентны к озону, чем PV1, совпадает с результатами Flehmig и соавт. [19], в котором HAV показал большую стабильность при высокой температуре, чем PV1. Это трудно объяснить, так как эти два вируса очень подобны по своей структуре [20]. Сравнительные эксперименты показали, что озон инактивирует

вирусы и бактерии быстрее, чем хлор [21], но к этому необходимо относиться с осторожностью из-за различий в лабораторных условиях и, особенно потому, что эти эксперименты не были выполнены с постоянными концентрациями при постоянно проточной воде.

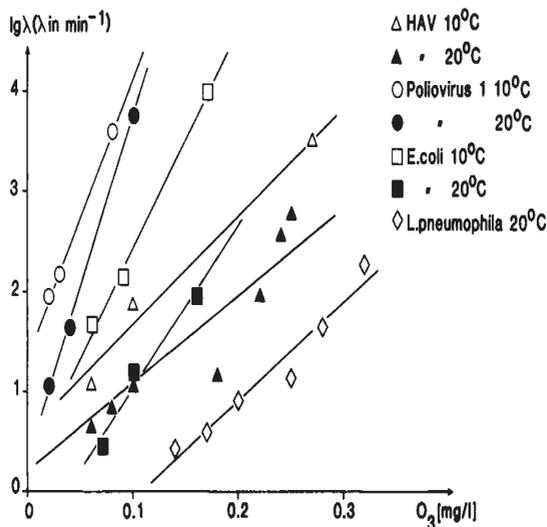


Рис. 4.6.6. Уровни инактивации HAV, PV1, *E. coli* и *L. pneumophila* серогруппы 6 озоном при 10 и 20 °C

Даже при том, что концентрации озона, соответствующие расчетным уровням для λ и t (10^4), могут измениться при других методах измерения, зависимость от температуры и резистентности к озону микроорганизмов остается постоянной. Эти эксперименты показали следующее ранжирование устойчивости к озону при 20 °C: PV1 < *E. coli* < HAV < *L. pneumophila* серогруппы 6 < споры *B. subtilis*.

Время инактивации было определено как фактор сокращения 10^4 . Эта величина, за исключением спор, колебалась от секунд до несколько минут.

В речной воде может содержаться до 300 PFU/l энтеровирусов [22]. В сырой воде найдены 3 – 100 самых вероятных чисел цитопатогенных единиц (MPNCU)/l, и 0,02 – 0,0006 MPNCU/l после хлорирования, отстаивания, фильтрации и озонирования [23]. В некоторых образцах энтеровирусы или ротавирусы изолированы из воды при остаточных уровнях хлора более чем 0,2 mg/l и нормативе общего числа колиформ <1 CFU/100 ml [24].

Сравнивая эти условия, предложенные авторами [10] уровни контаминации были относительно высоки: порядка 10^4 TCID₅₀/ml для вирусов и 10^6 CFU/ml для бактерий.

Концентрации озона изменяются при фактической дезинфекции питьевой воды. Некоторые исследователи считают остаточную концентрацию озона 0,4 mg/l в течение 4 min адекватной [14, 15].

В целом, эти результаты [10] подтверждают: расчетное **t при данной концентрации** составляло несколько **s. С другой стороны, 1,2 % исходной концентрации HAV** остаются неинaktivированными в каждом эксперименте.

Вирусы и бактерии часто обнаруживаются в питьевой воде после дезинфекции, что объясняется формированием агрегатов и коллоидов. Поэтому, в дополнение к адекватному времени реакции и достаточно высокой концентрации антибактериального средства, предварительная фильтрация для устранения агрегатов должна быть обязательным компонентом подготовки питьевой воды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Broadwater W. T. Sensitivity of Three Selected Bacterial Species to Ozone / W. T. Broadwater, R. C. Hoehn, P. H. King // Applied Microbiology. – 1973. – P. 391 – 393.
2. New microbial indicators of wastewater chlorination efficiency / R. S. Engelbrecht, D. H. Foster, E. O. Greening [et al.]. – EPA-670/2-73 082, Cincinnati OH 45268. – 1974.
3. New microbial indicators of disinfection efficiency / R. S. Engelbrecht, B. F. Severin, M. T. Masarik [et al.]. – EPA-600,/ 2-77-052, Cincinnati, OH 45268. – 1977.
4. Venkobachar L. I. Mechanism of disinfection / L. I. Venkobachar, A. V. S. P. Rao // Water Res. – 1975. – V.9. – P. 119 – 124.
5. Bringman G. Determination of lethal activity of chlorine and ozone on *E. coli* / G. Bringman // Wat. Pollut. – Abs. – 1955. – V.28. – P. 12 – 124.
6. Giese A. C. Effects of ozone on organisms / A. C. Giese, E. Christenser // Physiol. Zool. – 1954. – V. 27, N 2. – P. 101.
7. Barron E. S. The role of free radicals of oxygen in reactions produced by ionizing radiations / E. S. Barron // Radiation Res. – 1954. – V.1. – P. 109.
8. Murray R. G. E. Location of mucopeptide of selections of the cell wall of *E. coli* and other gram-negative bacteria / R. G. E. Murray, S. Pamela, H. E. Elson // Can. J. Microbiol. – 1965. – V. II. – P. 547.
9. Bonde G. J. Bacteriological methods for estimation of water pollution / G. J. Bonde // Health Lah. Sci. – 1966. – V. 3. – P. 124.
10. Herbold K. Comparison of Ozone Inactivation, in Flowing Water, of Hepatitis A Virus, Polio virus 1, and Indicator Organisms / K. Herbold, B. Flehmig, K. Botzenhart // Applied and Environmental Microbiology. – 1989. – V. 55, N 11. – P. 2949 – 2953.

11. Viruses in a community water supply associated with an outbreak of gastroenteritis and infectious hepatitis / T. W. Heijkal, B. Keswick, R. L. LaBelle [et al.] // *J. Am. Water Works Assoc.* – 1982. – V. 74. – P. 318 – 321.
12. Inactivation of hepatitis A virus and indicator organisms in water by free chlorine residuals / W. O. K. Grabow, V. Gauss-Muller, O. W. Prozesky [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1983. – V. 46. – P. 619 – 624.
13. Inaktivierung von Hepatitis-A-Virus durch Chlor / U. Mellert, A. Billing, B. Flehmig [et al.] // *Wasser/ Abwasser.* – 1983. – V. 124. – P. 590 – 592.
14. Disinfection des eaux par l'ozone / J. C. Block, Y. Richard, P. Hartemann [et al.] // *L'Eau et L'Industrie.* – 1981. – V. 58. – P. 69 – 76.
15. Farooq S. Basic concepts in disinfection with ozone / S. Farooq, E. S. K. Chian, R. S. Engelbrecht // *J. Water Pollut. Control Fed.* – 1977. – V. 49. – P. 1818 – 1831.
16. Wastewater disinfection: elimination of fecal bacteria and enteric viruses by ozone / J. C. Joret, J. C. Block, P. Hartemann [et al.] // *Ozone Sci. Eng.* – 1982. – V. 4. – P. 91 – 99.
17. Gauss-Muller V. Propagation of hepatitis A virus in human embryo fibroblasts / V. Gauss-Muller, G. G. Frosner, F. Deinhardt // *J. Med. Virol.* – 1981. – V. 7. – P. 233 – 239.
18. Botzenhart K. Wirkung von Ozon auf Mikroorganismen / K. Botzenhart, P. Fischer // p. 308-320. In 1977 Internationales Symposium Ozon und Wasser, Jahrestagung der Fachgruppe Wasserchemie in der Gesellschaft Deutscher Chemiker, Berlin. – 1978.
19. Inactivation of hepatitis A virus by heat and formaldehyde / B. Flehmig, A. Billing, A. Vallbracht [et al.] // *Water Sci. Technol.* – 1984. – V. 17. – P. 43 – 45.
20. The physicochemical properties of infectious hepatitis A virions / G. Siegl, G. G. Frosner, V. Gauss-Miiller [et al.] // *J. Gen. Virol.* – 1981. – V. 57. – P. 331 – 341.
21. Effect of chlorine treatment on infectivity of hepatitis A virus / D. A. Peterson, T. R. Hurley, J. C. Hoff [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1983. – V. 45. – P. 223 – 227.
22. World Health Organization Scientific Group. Human viruses in water, waste water and soil, p. 5-50. Technical Report Series no. 639. World Health Organization, Geneva. – 1979.
23. Payment P. Elimination of viruses and indicator bacteria at each step of treatment during preparation of drinking water at seven water treatment plants / P. Payment, M. Trudel, R. Plante // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1985. – V. 49. – P. 1418 – 1428.
24. Detection of enteric viruses in treated drinking water / B. H. Keswick, C. P. Gerba, H. L. DuPont [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol.* – 1984. – V. 47. – P. 1290 – 1294.

4.7. Проблема послероста бактерий в озонированной воде

Быстрый распад озона в обработанной воде ограничивает его применение в качестве конечного дезинфицирующего средства. При рН=7,6 и 20 °С остаточный озон в концентрации 0,4 мг/л распадается менее чем за 1 час [раздел 1, 2].

Так, результаты исследований [1], проведенных на экспериментальной модели системы водоснабжения, показали, что, хотя после озонирования дозой 1,5 мг/л вода оставалась стерильной в течение месяца, при прохождении воды через модельную водоразводящую сеть длиной 1200 м происходило заражение воды и значительный рост микроорганизмов. Следует отметить, что после того, как в стерильную озонированную воду вносили популяции водных бактерий, их рост становился более выраженным, чем без озонирования (в контроле). Авторы приходят к выводу, что продукты окисления природной органики (в том числе, гуминовых кислот), как легкоокисляемые, являются более адекватными питательными веществами для бактерий, чем первичная органика.

Это согласуется с данными [2] о том, что органические вещества микроводорослей, образующиеся после озонирования воды, являются биодegradируемым растворенным органическим углеродом – источником питания *E. coli* в системах водораспределения.

Работа [3], вышедшая в 1984 г., но не утратившая актуальности поныне, посвящена обоснованию роли значения конкурентного окисления в процессах дезинфекции озоном и для оценки способности к потенциальному бактериальному росту в воде в результате озонирования. Установлена значимая корреляция между ООУ, значением конкурентного окисления и тремя уровнями микробной инактивации (50 %, 90 %, 100 %) для воды из пяти различных поверхностных источников водоснабжения. Скорость инактивации была связана с количеством введенного озона. Применение озона для обработки вода р. Делавер повышало рост синегнойной палочки.

Во введении авторы констатируют определенные затруднения в поиске взаимосвязи практической водоподготовки с лабораторными исследованиями, основанными на использовании «чистых» систем и музейных штаммов. На то время было подготовлено обобщение результатов оценки действенности озона по отношению к бактериям, вирусам и другим возбудителям в зависимости от температуры, рН и концентрации озона [4].

При этом отмечено, что понимание механизма действия озона лимитируется неясностью влияния центров активности клеточных структур

и их компонентов, но не исключает обсуждения возможных активных форм дезинфектанта. Результаты дезинфекции могут быть связаны с любыми дозами озона или озонированными остаточными продуктами. Независимо от этого, доказано, что для озона требуется более короткое время контакта, чем для хлора в эквивалентных дозах для дезинфекции. Также необходимо установить пороговую дозу озона до дезинфекции, что связано с наличием определенных концентраций органики в озонированной воде.

Исследования показывают [5], что тип действия «все или ничего» характерен для дезинфекции в тех случаях, когда определенная доза требуется до инактивации микроорганизмов. Это не объясняет наличие других окислительных реакций, что неизбежно связано с дополнительным расходом озона.

Таким образом, озонопоглощаемость воды и скорость химического окисления будут обусловлены тем, как много озона расходуется именно на дезинфекцию. Другое объяснение для типа реакций «все или ничего» заключается в том, что она основана вместо конкуренции для озона на активности свободных гидроксильных радикалов.

Установлено, что важным фактором в процессе озонирования является озонопоглощаемость воды, которая означает расход озона на все другие реакции помимо дезинфекции. Существуют различные методы оценки озонопоглощаемости, включая значение конкурентного окисления (oxidation competition value) (Ω) J. Hoigne и H. Bader [6]. Значение Ω характеризует эффективность реакции гидроксильных радикалов с органическими компонентами в воде и определяет пропорцию константы реакции с ОН-радикалами со всеми загрязнителями воды. Несмотря на то, что озонирование воды вызывает уменьшение концентрации органического углерода, следует учитывать преобразование под влиянием озона небиодegradуемой органики в биодegradуемую [6].

Это может быть причиной размножения и регенерации некоторых бактерий в озонированной воде. По сути, инкубация озонированной грунтовой воды дает более высокий бактериальный рост, чем в неозонированной воде [7, 8].

Целью данной работы [3] было обоснование роли значения конкурентного окисления в процессах дезинфекции озоном и оценка потенциальной способности бактериального роста в воде в результате озонирования.

Результаты данного исследования представлены в табл. 4.7.1.

Таблица 4.7.1

Сравнение значений конкурентного окисления (Ω),
ОУУ и примененных доз озона для образцов воды

Образец	Ω , mg/l	ОУУ, mg/l	Примененная доза озона, mg/l		
			Точка перелома	50%	90%
Ручей Pennypack I	0,85	7,10	0,89	1,06	2,01
Ручей Pennypack II	1,02	8,98	1,46	1,75	2,54
Река Delaware I	1,00	7,54	0,88	1,11	1,73
Река Delaware II	0,59	4,28	0,78	0,88	1,85
Ручей Wissahickon I	0,46	5,03	0,65	0,68	0,81
Ручей Wissahickon II	0,76	3,45	0,90	0,93	1,50
Река Schuylkill	0,67	3,57	0,25	0,28	1,00
Дистиллированная вода I	0,34	1,83	0,03	0,04	0,14
Дистиллированная вода II	0,32	1,51	11,06	0,10	0,32

Значение Ω для всех образцов воды в этом исследовании ранжировалось от 0,32 mg/l для дистиллированной воды до 1,02 mg/l для образца воды из ручья Pennypack. Исходные значения ОУУ образцов воды колебались от 1,5 до 8,98 mg/l. Построена линия аналитической регрессии ОУУ в зависимости от значения Ω . При анализе вариаций была получена положительная корреляция на уровне 0,88 с доверительным интервалом $< 0,0025$. Регрессионный анализ корреляции значения Ω с концентрацией ОУУ представлен на рис. 4.7.1.

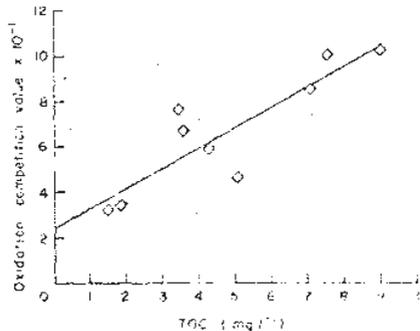


Рис. 4.7.1. Регрессионный анализ корреляции значения Ω с концентрацией ОУУ

Эти результаты свидетельствуют о соответствии высокой исходной концентрации ООУ с высоким значением Ω . Дозы примененного озона, необходимые для 90%-ной, 50%-ной инактивации и точки перелома были сравнимы с ООУ (рис. 4.7.2) и значением Ω (рис. 4.7.3).

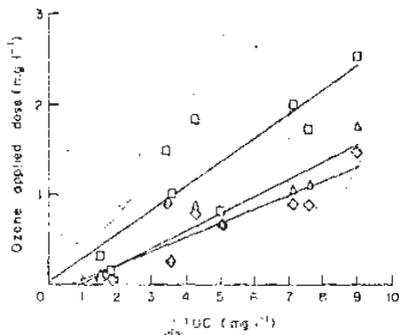


Рис. 4.7.2 Влияние ООУ на эффективность озонирования: точка перелома (\diamond), 50 %-ная инактивация (Δ), 90 %-ная инактивация (\square)

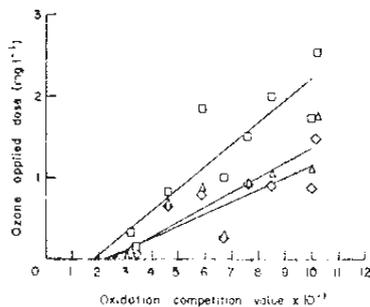


Рис. 4.7.3 Влияние значения Ω на эффективность озонирования: точка перелома (\diamond), 50 %-ная инактивация (Δ), 90 %-ная инактивация (\square)

Это объяснялось повышением дозы озона с возрастанием концентрации ООУ и значения Ω . Вместе с тем, количество потребляемого озона для получения этих параметров не зависело от исходной бактериальной контаминации.

Значения соотношений, определенные путем анализа вариаций, представлены в табл. 4.7.2.

Пример снижения уровня бактерий в зависимости от продолжительности озонирования для образцов воды с различными показателями ООУ и значения Ω представлен на рис. 4.7.4.

Все кривые инактивации имели сигмовидную форму с тремя независимыми фазами. Инициация инактивированных клеток находилась в конце первой фазы и время достижения этой точки совпадало с увеличением органического составляющего образца воды. Параметры 50%-ной и 90%-ной инактивации находили в течение экспоненциального уменьшения числа клеток.

Таблица 4.7.2

Значения корреляционных коэффициентов и доверительных интервалов ООУ и Ω в точке перелома, при 50 %-ной и 90 %-ной инактивации

		Точка перелома	50%-ная инактивация	90%-ная инактивация
ООУ	r	0,87	0,91	0,87
	P <	0,0025	0,001	0,005
Ω	r	0,88	0,86	0,88
	P <	0,005	0,0005	0,0025

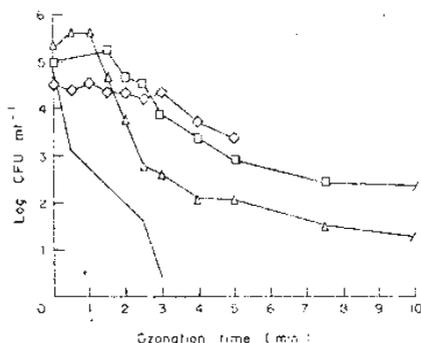


Рис. 4.7.4. Влияние времени озонирования на уровень бактерий в образцах воды: дистиллированная вода (—); ручей Wissahickon (Δ), река Delaware (\square); ручей ПеннуPACK (\diamond).

Третья фаза была определена, когда численность бактерий оставалась неизменной. Графическое построение статистического анализа было основано на сравнении исходной скорости инактивации в зависимости от исходных ООУ и значения Ω . Доверительный интервал P между ООУ и исходной скоростью инактивации составлял < 0,01, для значения Ω < 0,025, для количества озона, требуемого для инициации гибели бактерий < 0,05. Между тем, исходная скорость гибели бактерий не была связана с потребляемым озоном для параметров 50%-ной и 90%-ной инактивации.

Взаимодействие бактерий с ООУ было определено путем деления \log числа бактерий на концентрацию ООУ в образце воды. Для этих расчетов было предложено, что все бактерии содержат эквивалентные концентрации углерода. В связи с этим, не было необходимости превращать бактериальную популяцию в органический углерод. Когда это отношение сравнили со скоростью инактивации, доверительный интервал P составил $< 0,0005$ (рис. 4.7.5).

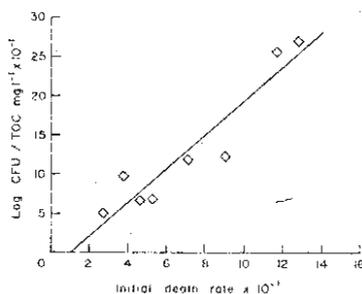


Рис. 4.7.5. Влияние вклада бактериального ООУ на исходный уровень инактивации

Отмечена высокая корреляция при сравнении уменьшения бактериального органического углерода как части ООУ с уменьшением скорости инактивации микроорганизмов: доверительные интервалы P для параметров 90%-ной и 50%-ной инактивации составили $< 0,0005$ и $< 0,01$ соответственно.

Результаты роста *Ps. aeruginosa* и абсорбции A254 для озонированных образцов р. Delaware представлены на рис. 4.7.6. В то время, как увеличение времени озонирования вызывало уменьшение абсорбента, число бактерий увеличивалось до определенного постоянного уровня.

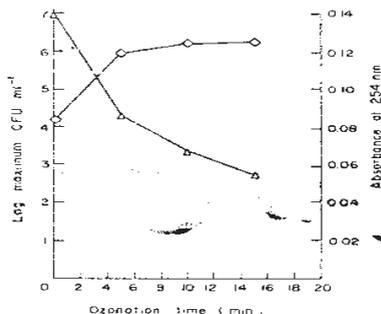


Рис. 4.7.6. Влияние времени озонирования на рост *Ps. aeruginosa* (○) и абсорбцию при 254 nm (Δ)

В обсуждении авторы [3] отмечают следующее. Значение Ω является критерием возникновения OH^- -радикалов и не дает иного ответа на прямые реакции озона. Таким образом, большая конкурентность другой органики определяют высокое значение Ω . Представленная в этой работе взаимосвязь между значением Ω и концентрацией ООУ согласуется с предыдущими исследованиями, где уменьшение концентрации ООУ соответствовало уменьшению Ω . Сравнение количеств озона, требуемого для точки перелома, 50%-ной и 90%-ной инактивации бактерий были показаны на значениях корреляции (табл. 4.7.2, рис. 4.7.2, 4.7.3). Ответ бактерий на продолжительность озонирования доказан характеристиками отрицательной сигмовидной кривой, сходной с данными [9].

Количества озона для любого уровня инактивации коррелировали с ООУ, Ω и соотношением бактерий к ООУ. Это позволяет предположить, что остаточное время контакта основано на этих параметрах, могущих быть использованными как мера дезинфекции. Интересно отметить, что полной инактивации никогда не происходило. Можно предположить, что в воде присутствуют многие виды бактерий с различной природной резистентностью к дезинфектантам. Наблюдаемая тенденция может быть результатом избирательной дезинфекции. Идентификация видов в данной работе не выполнялась.

Взаимосвязь ООУ с бактериальной инактивацией демонстрируется тем, что органические загрязнения сдерживают дезинфекционную способность озона. Во многих исследованиях показана связь дезинфекции с органическим загрязнением. Показана значимость свободных радикалов при инактивации микроорганизмов озоном [9]. Вместе с тем, поскольку ООУ и значение Ω коррелируют, дезинфекция зависит от Ω . Эти взаимосвязи недостаточно ясно представляют активность механизма инактивации свободными OH^- -радикалами. Между тем, первая фаза кривой инактивации, где дезинфекция не происходит, является предположительно результатом спонтанной озонопоглощаемости воды [9]. Роль активности свободных OH^- -радикалов более-менее определена, то есть бактерии как загрязнители конкурируют за озон с органическим веществом. То есть представляется очевидным наличие конкуренции между реакциями радикалов и озона с субстратом. При рН выше 6,5 процесс может быть представлен тремя путями:

- 1) масс-трансфер озона: O_3 (газ) \rightarrow O_3 (вода);
- 2) распад озона O_3 (вода) \rightarrow оксиданты (включая OH^- и O_2);
конкурентные реакции:
 - 3а) оксиданты + ООУ \rightarrow продукты окисления;
 - 3б) оксиданты + бактерия \rightarrow дезинфекция.

Распад озона всегда быстрый и скорость этого процесса никогда не лимитируется. Обычно скорость масс-трансфера озона более медленная, чем реакции с бактериями и/или ООУ. При этом, увеличение концентрации ООУ удлиняет бактериальную инактивацию.

Если принимать во внимание реакции конкуренции 3а и 3б, то скорости обеих реакций определяются константами скорости, концентрацией субстрата и концентрацией оксиданта. Очевидно, что эти величины для ООУ превышают аналогичные для бактерий. Следовательно, корреляция инактивации бактерий с ООУ и Ω может быть объяснена как результат предпочтительной конкуренции для озона. Таким образом, уменьшаются оксиданты, способные к реакции инактивации. Очевидно, что скорость реакции на этапе 3а является более высокой, чем на этапе 3б. Таким образом, как только озон растворяется, он немедленно реагирует с ООУ. Когда достаточное количество ООУ прореагировало и накопилось определенное количество озона, начинается бактериальная инактивация.

Реакции озона с гуминовыми кислотами, исследованы ранее [раздел 4.2; 66]. Показано, что последние являются источником свободных радикалов. Бактерии и гуминовые кислоты во многом сходны, например размерами, зарядом, функциональными группами. Вместе с тем, это не объясняет, почему ОН⁻ радикалы способны распознавать эти загрязнители. Корреляция между Ω и дезинфекцией показывает их очевидную взаимосвязь. Ω связано с ОН⁻-радикалами, но не с озоном [9]. Озон, в отличие от хлора, реагирует как общий протоплазмацидный оксидант с воздействием на поверхность клетки.

Реакция озона с микроорганизмами прямая и является противоположностью переносу свободных радикалов. Если это так, то Ω можно считать косвенно связанным с продуктами окисления ООУ (3а). То есть, очевидно существует параллельный механизм окисления ООУ и механизм реакции образующихся продуктов окисления с бактериями. Несмотря на снижение абсорбции при 254 nm, способность к пост-росту бактерий в воде р. Delaware повышается. Продемонстрировано повышение роста природной популяции бактерий после озонирования, что объяснялось повышением концентрации биodeградируемой органики. Это также подтверждено исследованиями роста в озонированной воде лабораторных культур *Pseudomonas* [9], *Aeromonas* [10], *Flavobacterium* [11].

Вышеизложенное свидетельствует о серьезных последствиях для процессов водообработки в связи с возможностью роста бактерий после озонирования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Stalder R. Studies on the reap-pearance of a bacterial flora in drinking water after ozonisation / R. Stalder, W. Klosterkoetter // *Zbl. Bact. Reihe.* – 1976. – V. 161, N 5. – P. 474 – 481.
2. *Escherichia coli* Behavior in the Presence of Organic Matter Released by Algae Exposed to Water Treatment Chemicals / C. Bouteleux, S. Saby, D. Tozza [et al.] // *Applied and Environmental Microbiology.* – 2005. – V. 71, N 2. – P. 734 – 740.
3. Ozonation and oxidation competition values: Relationship to disinfection and microorganisms regrowth / K. Bancroft, P. Chrostowski, R.L. Wright [et al.] // *Water Research.* – 1984. – V. 18, N 4. – P. 473 – 478.
4. Safe Drinking Water Committee Drinking Water and Health, V. 2, p. 42—51. National Academy Press, Washington DC. – 1980.
5. Scaccia C. Ozone contacting: what is the answer? / C. Scaccia, H. M. Rosen // *IOI Symposium for Advanced Ozone Technology.* Toronto, Canada. – 1977.
6. Hoigne J. Ozone requirements and oxidation of trace impurities / J. Hoigne, H. Bader // *Oxidation Techniques in Drinking Water Treatment* (Edited by Kuhn W, and Sontheimer H.). EPA-570/9-79-020. – 1979a.
7. Uses of ozone in drinking water treatment / R. G. Rice, C. M. Robson, G. W. Miller [et al.] // *J. Am. Wat. Wks As.* – 1981. – V. 73. – P. 44 – 57.
8. Schalekamp M. Experiences in Switzerland with ozone, particularly in connection with change of hygienically undesirable elements present in water / M. Schalekamp // *Ozonews.* – 1979. – V. 7, N 5. – P. 1 – 8.
9. Van der Kooij D. Drinking water / D. Van der Kooij // *Technical Report 11/78.* The Netherlands Waterworks Testing and Research Institute, KIWA. Ltd. Rijswijk, Netherlands. – 1978.
10. Van der Kooij D. Growth of *Acromonas hydrophila*'s at low concentrations of substrate added to tap water / D. Van der Kooij, A. Visser, W. A. M. Higner // *Appl. env. Microbiol.* – 1980. – V. 39. – P. 1198 – 1204.
11. Van der Kooij D. Utilization of low concentrations of starch by a *Flavobacterium* species isolated from tap water / D. Van der Kooij, W. A. M. Higner // *Appl. env. Microbiol.* – 1981. – V. 41. – P. 216 – 221.

РАЗДЕЛ 5. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОЗОНА КАК СРЕДСТВА ОБЕЗЗАРАЖИВАНИЯ ВОДЫ

5.1 Токсикологическая оценка побочных продуктов озонирования воды

Подробная оценка этой проблемы содержится в фундаментальном руководстве ВОЗ, посвященном дезинфектантам и побочным продуктам дезинфекции [1].

Во время озонирования вод, содержащих бромид- и иодид-ионы, может быть произведена часть галогенсодержащих окислителей, включая свободный бром, гипобромную кислоту, гипобромат ион, бромат ион, свободный иод, гипойодную кислоту и йодат ион.

Сообщалось, что озон реагирует со многими ионами металлов и с ионом цианида [2, 3]. Обсуждалось формирование озонатов, компонентов металлических катионов, имеющих общую формулу $M+O_3^-$ [4]. Перекись водорода была идентифицирована как побочный продукт озонирования органических ненасыщенных соединений [4].

Согласно вышеуказанного документа [1] озон вызывает образование следующих побочных продуктов дезинфекции (ППД) (табл. 5.1).

Все дезинфектанты, в частности окислители, в той или другой мере могут неблагоприятно влиять на здоровье человека, так как имеют реакционные молекулы, которые способны изменить химическую природу органических веществ в воде или в живом организме. Поэтому общая оценка влияния обеззараживания на здоровье человека должна учитывать не только микробиологическое качество обработанной воды, но и токсичность обеззараживающих веществ и продуктов их реакций.

Таблица 5.1.1

Побочные продукты дезинфекции (ППД) в озонированной воде

Галоген-содержащие ППД	Неорганические ППД	Негалоген-содержащие ППД
Бромформ, монобромуксусная кислота, дибромуксусная кислота, дибромацетон, цианогенбромид	Хлорат, йодат, бромат, перекись водорода пероксид, гипобромная кислота, эпоксиды, озонаты	Альдегиды, кетоуксусные кислоты, кетоны, карбоновые кислоты

По мнению многих авторов, руководящим фактором в механизме действия окислителей является стимуляция свободно - радикальных процессов. Теория свободных радикалов касается не только оксидантов, содержащих кислород, но и галогенов и физических методов, которые содействуют образованию свободных радикалов. Свободные радикалы взаимодействуют с большинством биохимических компонентов клетки и вызывают деградацию жизненно важных молекул [4, раздел 2; 28, раздел 3; 5 – 8].

Многочисленные органические и неорганические побочные продукты озонирования воды идентифицированы, но исследования в этом направлении продолжаются.

Одной из характеристик токсичности питьевой воды является суммарная мутагенная активность (СМА) – оценка биологической активности всей суммы химических загрязнителей воды при использовании биологических тест-объектов как индикаторов (тест Эймса [9]).

Авторы работы [10] сравнивали токсичность воды с начальным содержанием общего органического углерода (ООУ) 21 mg/l после обработки озоном, хлором и диоксидом хлора. Воду окисляли высокими дозами хлора и диоксида хлора – 21 mg/l так, чтобы получить остаточную концентрацию 0,2 mg/l после 60 h экспозиции. Озон применяли в дозе 10 mg/l. Полученные методом адсорбции на смоле экстракты показали, что хлорированная вода высокотоксичная. Не выявлена токсичность в воде, которая обработана диоксидом хлора или озоном. Наблюдалась незначительная мутагенность при использовании хлора вместе с диоксидом хлора в концентрациях 10,5 mg/l. Эквивалентные уровни мутагенности, которые получили при хлорировании воды, оказались при обработке одновременно озоном и хлором в концентрациях соответственно 10 и 21 mg/l. В этом случае мутагенность снижалась при повышении концентрации озона до 33,2 mg/l.

Проблемы токсичности озона и побочных продуктов озонирования остаются актуальными. Это связано с широким спектром органических веществ, которые могут образоваться при озонировании природной воды, среди которых есть токсичные соединения [3, раздел 2; 11-13].

В обзоре [3, раздел 2] обобщены данные в этой области исследований. Так, при озонировании природных вод идентифицированы альдегиды, содержащие от 1 до 14 атомов углерода, кетоны, карбоновые кислоты, содержащие от 1 до 24 атомов углерода, сложные эфиры, двухосновные кислоты, окси- и диоксibenзойные кислоты, глиоксаль, акролеин, метилглиоксаль, глиоксалева кислота [14-17].

В работе [18] отмечено снижения СМА воды, которая обработана озоном, но другие окислители (хлорамин, диоксид хлора, H_2O_2)

не оказали существенного влияния на СМА воды. После хлорирования СМА воды возрастает пропорционально дозе хлора.

Результаты исследований СМА воды из поверхностных источников после обработки озоном, иодом или их комбинацией с хлором показали, что исходная вода не имела мутагенной активности, но после хлорирования СМА возрастала с увеличением дозы хлора. Озонирование исходной воды не меняло ее СМА; озонирование хлорированной воды, как и озонирование до хлорирования, значительно снижало ее СМА – сравнительно с хлорированной водой [19].

В работе [20] проведены экспресс -токсикологические исследования образцов воды бюветных комплексов г. Одесса на бактериальной тест-системе *S. typhimurium* TA 100. Результаты представлены в табл. 5.1.2.

Таблица 5.1.2

Результаты токсико-генетической оценки проб воды из бюветных комплексов в бактериальной тест-системе *S. typhimurium* TA 100

№ п/п	Проба воды	Токсичность, % жизнеспособных клеток	Мутагенная активность, отн. ед.
	Контроль	100	1,0
1.	подземная	255	1,0
	очищенная	985	1,0
2	подземная	540	1,0
	очищенная	210	1,0
3	подземная	50	1,0
	очищенная	50	1,8
4.	подземная	103	1,0
	очищенная	103	1,0
5.	подземная	150	1,0
	очищенная	300	4,1
6	подземная	50	4,4
	очищенная	50	6,7
7	подземная	180	1,1
	очищенная	60	1,8
8	подземная	103	1,0
	очищенная	103	1,0
9	подземная	630	1,0
	очищенная	180	1,0

10	подземная	107	1,0
	очищенная	235	1,0
11	подземная	30	6,7
	очищенная	40	1,8
12	подземная	360	1,0
	очищенная	280	1,0
13	подземная	260	1,0
	очищенная	400	1,0
14	подземная	710	1,0
	очищенная	210	1,0
15	подземная	40	1,0
	очищенная	50	1,2

Для подготовки питьевой воды из 15 скважин (глубина 120-130 м, Верхнесарматский водоносный горизонт) применяется современная технология очистки и обеззараживания: комбинированное последовательное применение обратно - осмотического опреснения и озono-сорбционной очистки/ обеззараживания.

При исследовании 15 образцов подземной воды выявлено следующее:

- мутагенная активность - в 3-х пробах (№№ 6, 7, 11), в которых превышение контроля составляло в 4,4; 1,1 и 6,7 раза соответственно;
- токсичность – в 4-х пробах (№№ 3, 6, 11, 15); стимуляция роста клеток – в 8 пробах воды, 3 пробы практически не отличались от контроля.

В 15 образцах очищенной воды выявлено следующее:

- мутагенная активность выявлена в 6-ти пробах (№№ 3, 5, 6, 7, 11, 15), в которых превышение контроля составляло 1,8; 4,1; 6,7; 1,8; 1,8 и 1,2 раза соответственно;
- токсичность – в 5-ти пробах (№№ 3; 6; 7; 11; 15) стимуляция роста клеток – в 8 пробах, 2 пробы практически не отличались от контроля.

Следует отметить, что 5 проб очищенной воды имели большую мутагенную активность после очистки, чем до очистки; только в пробе воды № 11 мутагенная активность после очистки снизилась с 6,7 до 1,8 в сравнении с контролем.

Очистка подземной воды снижала токсичность воды в 2 пробах (№№ 11, 15) на 10 %, в 2 пробах - осталась без изменений (№№ 3, 6) и лишь в одной пробе (№ 7) токсичность после очистки увеличилась. Очистка

подземной воды увеличивала стимуляцию роста клеток в 4-х образцах сравнительно с подземной водой, уменьшала - в 5 образцах.

Не выявлено корреляции токсичности и мутагенной активности воды, в том числе эффекта стимуляции, с химическим составом образцов воды.

С помощью экспрессных тестов на бактериях достаточно полно изучена генотоксичность продуктов озонирования гуминовых кислот – альдегидов, кетонов и карбоновых кислот [13, 21, 22]. Мутагенная активность выявлена у формальдегида, иона [23], акролеина, изофорона [24]; с активацией микросомных ферментов – у формальдегида, глиоксаля, фурфурола, акролеина [25], ацетальдегида, ацетилацетата, бензальдегида, 2-метил-2-бутанона, фурфурола [13, 22].

Наибольшую опасность среди них представляет бромат-ион, для которого установлен норматив содержания в питьевой воде – 10 $\mu\text{g}/\text{l}$.

При озонировании воды, содержащей бромид-ионы, образуются броматы, которые хотя не обладают мутагенной активности при исследовании экспрессными методами, но с высокой вероятностью индуцируют развитие рака почек в грызунов. Рассчитанная с помощью математических моделей вероятность риска заболевания раком при употреблении воды, содержащей броматы, очень высокая и составляет 10^{-5} (1 на 100 000) при содержании 0,5 $\mu\text{g}/\text{l}$. С такой же вероятностью, концентрация хлороформа в воде должна быть 30 $\text{мкг}/\text{дм}^3$, а бромдихлорметана 280-716 $\mu\text{g}/\text{l}$ [24].

Образование бромата при озонировании зависит от нескольких факторов, в том числе концентрации бромид-иона и озона и pH. Удаление бромид-иона из исходной и бромата из озонированной связано с определенными сложностями, хотя, по некоторым данным, эффективна фильтрация через гранулированный активный уголь. Образование бромата может быть минимизировано путем использования более низкой дозы озона, сокращения времени контакта и снижения остаточной концентрации озона. Обработка при более низком pH (например, при pH 6,5) с последующим повышением pH после озонирования также снижает образование бромата; может также быть эффективно добавление аммиака; добавление пероксида водорода может увеличить или уменьшить образование бромата [26].

В случаях, когда концентрация бромид-иона $\geq 50 \text{ mg}/\text{l}$, необходимо принимать меры для снижения уровней образования бромата [31, раздел 3].

Озон окисляет бромид с образованием бромноватистой кислоты (HBrO), которая реагирует с органическими соединениями с образованием бромированных тригалогенметанов.

Цель работы [27] состояла в развитии глобальной методологии оценки и управления риском образования бромат-аниона при озонировании питьевой воды для обеспечения норматива (с 2008 г.) **содержания броматов (10 $\mu\text{g/l}$)**. Для **вычисления риска образования бромата** использовали данные качества воды и условия озонирования в реальных условиях озонирования воды, что позволило разработать конкретные рекомендации для шести предприятий (пригороды Парижа). Модель может легко использоваться операторами в процессе работы. Результаты показали эффективность в прогнозировании риска и уровней (низкий, средний, высокий) образования бромата в очищенной воде в зависимости от качества исходной.

Изучены модельные растворы, содержащие аммиак, бикарбонат-ион, перекись водорода и природное органическое вещество (ПОВ), для выявления влияния этих соединений (индивидуально и в комбинации) на образование броматов. Установлено, что только аммиак значительно уменьшает образование броматов вследствие образования промежуточных соединений в виде броаминамов. ПОВ быстро реагировало с броаминами, которые могли уменьшить способность аммиака блокировать образование бромата. Бикарбонат-ион усиливал влияние аммиака по ингибированию образования броматов в результате блокирования процесса ОН-радикального окисления. Перекись водорода снижала влияние аммиака на подавление образования бромата [28].

Оценено влияние предозонирования на **формирование галогенацетонитрилов (ГАЦН), трихлорнитрометана (ТХНМ) и галогенкетонов (ГК) во время хлорирования**. Доза озона, используемая в этом исследовании, составляла 8,0, 10,0 и 25,0 mg/l . **Результаты показали значительное снижение УФ-поглощения при 254 nm (> 80 %) и относительно низкое удаление растворенного органического углерода (40-70 %) после озонирования**. Это свидетельствует, что озон оказывает существенные изменения химических свойств ПОВ исходной воды. Отмечено образование побочных продуктов озонирования (альдегидов и кетонов). При высокой дозе озона 25,0 mg/l **образование дихлорацетонитрила и бромхлорацетонитрила значительно уменьшалось**. При хлорировании озонированной воды констатировано формирование высоких концентраций ТХНМ и ГК – **8-10 и 31-48 mg/l соответственно**. Предозонирование до хлорирования показало **различное (неоднозначное) влияние на образование ТХНМ и ГК**. Разработанная модель позволяет определить константы скорости реакции, например образования и гидролиза ГАЦН, ГК и ТХНМ, а также интерпретировать механизмы образования и гидролиза ГАЦН, ГК и ТХНМ во время хлорирования ПОВ [29].

Установлено, что мутагенная активность (хромосомные aberrации) смеси бромсодержащих побочных продуктов дезинфекции (ППД) была приблизительно в три раза выше, чем у хлорсодержащих аналогов при той же самой дозе гипогалогеновой кислоты. Проведена дифференциация вклада полного органического хлора (ПОХ) и **полного органического брома (ПОБ) в образование ППД. Установлено, что ПОБ коррелировал с мутагенностью хлорированных вод.** При соотношении бромидов к общему органическому углероду 0,1mg/mgC доля бромсодержащих ППД может составлять по крайней мере 29 % полной мутагенности ППД, которые образовались во время хлорирования. В процессе озонирования с последующим хлорированием бромат-ион не оказывал существенного влияния на хромосомные aberrации. Поэтому, озонирование является эффективным средством минимизации риска для здоровья, связанного с ППД даже в присутствии бромидов [30].

Некоторые продукты озонирования по ДНК-повреждающему действию более активны, чем типичные продукты хлорирования, но с санитарно-гигиенической точки зрения они не равнозначны. Хлорорганические соединения не подвергаются биологическому окислению и имеют тенденцию к кумуляции в организме человека, в то время, как альдегиды биodeградируют и быстро распадаются в распределительной сети.

Цель исследования [31] состояла в оценке генотоксических и острых токсических эффектов озонированных муниципальных сточных вод. Токсичность была проверена на организмах трех трофических уровней: бактериях (*Salmonella*/микросомный тест), которые запускают обнаружение генных мутаций; в биопробе на растениях (микроядерный тест на клетках *Allium cepa*), который отражает кластогенные и анеугенные эффекты; в простом электрофорезе геля клеток (SCGE) млекопитающих, который обнаруживает разрывы ДНК. В бактериальном тесте получен отрицательный результат на необработанных образцах, но после концентрирования обнаружен положительный на штаммах TA1537 и TA98, в то время как мутации у других штаммов (TA100, TA102 и YG1024) отсутствовали. Обработка озоном привела к уменьшению мутагенной активности образцов. В экспериментах SCGE **разрывы ДНК были обнаружены при оценке неконцентрированных сточных вод, озонирование привело к реальному уменьшению этого эффекта.** Обработка озоном также не вызывала изменение частоты микроядер. Были проверены острые токсические эффекты на различных индикаторных организмах при всех экспериментальных условиях, если таковые обнаруживались у сконцентрированных образцов, после озонирования отмечено уменьшение. После воздействия сточных вод не отмечена никакая-либо острая

токсичность в экспериментах с клетками растений и животных, озонирование также не оказывало влияния на их жизнеспособность. Таким образом, озонирование третично очищенных муниципальных сточных вод уменьшает отрицательные воздействия мутагенов в водных экосистемах и не снижает жизнеспособность бактерий и эукариот.

При применении озона как первичного или вторичного дезинфектанта установлено образование в высоких количествах галоацетальдегидов (НАs). В этом исследовании оценен генотоксический потенциал двух НАs бромала (ТВА) и хлоралгидрата (СН) на культурах клеток человека ТК6 и лимфоцитах периферической крови. Использовался тест *comet assay*, что позволило измерить индукцию разрывов ДНК, оценить способность стимулирования окислительного повреждения ДНК, определить кинетику репарации ДНК после первичного генетического повреждения. Повреждение хромосомы, как мера фиксированного повреждения, было оценено посредством микроядерного теста. Результаты тест *comet assay* показали, что оба вещества являются выраженными генотоксикантами, вызывая высокие уровни ДНК-разрывов, однако после воздействия ТВА отмечена репарация (восстановление) ДНК со временем. Микроядерный тест не выявил генотоксичности. Это указывает, что первичное повреждение после воздействия этих НАs не вызывает повреждения хромосом, возможно из-за эффективной репарации [32].

Проведена батарея биопроб, включая биологическую токсичность по лимфопролиферативному ответу селезенки мыши *in vitro* и производство цитокина, для сравнения эффективности третичных методов обработки сточных вод, таких как коагуляция, адсорбция на гранулированном активированном угле и дезинфекция (хлорирование и озонирование) в удалении токсинов или стресс - индуцирующих агентов в регенерированных сточных водах. Установлено, что озонирование изолированно или в комбинации с любой другой обработкой удаляло эндотоксин более эффективно, чем хлорирование и, таким образом, восстанавливало лимфопролиферативный ответ селезенки и продукцию интерлейкина IL-1 [33].

Установлено, что озон в высоких дозах вызывает образование His ревертантов у *Salmonella typhimurium* штамм TA100 с и без метаболической активации, что свидетельствует о слабом мутагенном действии [34].

Взрослые особи белого окуня *Morone americana*, который широко выращивается для употребления в пищу и популярен среди рыбаков востока Северной Америки, акклиматизированные при 15 °C, были подвергнуты воздействию ряда концентраций произведенных озонном оксидантов (ОРО) в течение 96 часов с использованием методики

биопробы непрерывного потока. Во время экспонирования при 24, 48 и 96 часах и через 4 и 14 дней в период восстановления проанализированы рН крови, гематокрит и гистопатологические изменения путем прямой и электронной микроскопии. LC_{50} для 24-, 48- и 96-часовой экспозиций составляли 0,38, 0,26 и 0,20 mg/l OPO, соответственно. рН крови значительно уменьшался при концентрациях $\geq 0,15$ mg/l OPO, но не при 0,1 mg/l или более низких концентрациях. Гематокрит значительно увеличивался при концентрациях $\geq 0,1$ mg/l. **Гистопатологическая экспертиза** показала минимальные эффекты при 0,01 mg/l OPO, умеренное эпителиальное воздействие и интенсивное образование слизи при 0,05 mg/l OPO l⁻¹ и выраженное повреждение ткани при концентрациях $\geq 0,10$ mg/l. Полученные результаты сравнены с эффектами воздействия произведенных хлором окислителей (CPO) по данным литературы. Отмечено подобие воздействия [35].

Третично очищенные сточные воды до и после озонирования (0,6-1,1 g озона/1 g DOC) **были проверены на экотоксичность в батарее стандартизованных микробиопроб** с зелеными морскими водорослями, дафнидами и яйцами *Danio rerio* — вида пресноводных лучепёрых рыб семейства карповых, который является модельным организмом в биологии развития. Кроме того, были определены несвязанный эстроген и 17 β -гидроксиандроген у 21-дневных самцов и самок японской оризии (*Oryzias latipes*). Озонирование уменьшило иммунореактивность эстрогена на $97,7 \pm 1,2$ % и, в меньшей степени, иммунореактивность андрогена на $56,3 \pm 16,5$ %. Ни одно из краткосрочных воздействий не показало неблагоприятных эффектов третично очищенных сточных вод ни до, ни после озонирования. Репродуктивные параметры не показали эффектов, присущих микрозагрязнителям, и какие-либо отрицательные влияния сточных вод не наблюдались. Таким образом, озонирование вызывало существенное уменьшение уровней стероидных гормонов при обработке сточных вод, не увеличивая их экотоксичность [36].

Показано, что озонированные вторичные сточные воды (С) от муниципальных заводов обработки сточных вод (MWTs) вызывают запоздалое развитие эмбрионов японской оризии (*Oryzias latipes*). Увеличение дозы озона от 0,26 до 0,96 mgO₃/mgDOC вызывало образование общего альдегида (смесь формальдегида, уксусного альдегида, пропиональдегида и глиоксаля) от 41,5 до 114,7 μ g/l, **что инициировало увеличение процента деформированных личинок** от 2,2 % до 24,1 %. Аналогичная картина наблюдалась со сточными водами от другого MWTs. Эксперимент с использованием раствора смеси альдегидов показал, что они вызывают 13,6 % личиночных дефектов, обусловленных озонированными С. Экспериментальные результаты в Тяньцзине и Пекине

(Китай) показали, что биофильтрация, как технология постобработки, эффективна в удалении альдегидов и уменьшении токсичности, вызванной озонированием [37].

ЛИТЕРАТУРА

1. IPCS (2000) Disinfectants and disinfectant by-products. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 216; <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc216.htm>). – 357 p.
2. Yang T.C. Relative stoichiometry of the oxidation of ferrous ion by ozone in aqueous solution / T.C. Yang, W.C. Neely // *Anal. Chem.* – 1986. – V. 58. – P. 1551 – 1555.
3. Rate constants of reactions of ozone with organic and inorganic compounds in water: III. Inorganic compounds and radicals / J. Hoigne, H. Bader, W.R. Haag [et al.] // *Water Res.* – 1985. – V. 19, I. 8 – P. 993 – 1004.
4. Bailey P.S. Ozonation in organic chemistry / P.S. Bailey. – New York, London, Academic Press. – 1978.
5. Пак З. П. Токсикологическая значимость окислителей в загрязнении питьевой воды / З. П. Пак, Г. В. Лобачева // *Химия и технология воды.* – 1986. – Т. 8, № 3. – С. 59 – 64.
6. Токсиколого-гигиеническая характеристика дезинфицирующих средств на основе перекиси водорода и ее производных / П. П. Лярский, С. Е. Глейберман, Г. П. Панкратова [и др.] // *Гигиена и санитария.* – 1983. – № 6. – С. 28 – 31.
7. Гончарук Є. Г. Вільнорадикальні окислення як універсальний неспецифічний механізм пошкоджуючої дії шкідливих чинників довкілля (огляд літератури та власних досліджень) / Є. Г. Гончарук, М. М. Коршун // *Журнал АМН України.* – 2004. – Т. 10, № 1. – С. 131 – 150.
8. Величковский Б. Т. Свободнорадикальное окисление как звено срочной и долговременной адаптации организма к факторам окружающей среды / Б. Т. Величковский // *Вестник РАМН.* – 2001. – № 5. – С. 45 – 51.
9. Ames B. N. Methods for detecting carcinogenes and mutagenes with a Salmonella. Mammalian-microsome mutagenicity test / B. N. Ames, J. McCann, E. Yamasaki // *Mutation Research.* – 1975. – V.31, № 6. – P. 347 – 364.
10. Mutagenic activity in humic water and alum flocculated humic water treated with alternative disinfectants / P. Backlund, L. Kronberg, G. Pensar [et al.] // *Sci. Total Environ.* – 1985. – № 47. – P. 257 – 264.
11. Кирьянова Е. В. Гигиенические аспекты озонирования питьевой воды / Е. В. Кирьянова, Т. Г. Шлепинка, В. Т. Мазаев // *Тез. докл. Всесоюзн. научн. – техн. семинара «Обеззараживание питьевой воды».* – М. – 1991. – С. 2–3.
12. Гигиеническая оценка трансформации органических веществ в воде под действием озона / А.Г. Малышева, Е.Г. Растяников, А.А. Беззубов [и др.] // *Тез. докл. IV Междунар. конгресса «Вода: экология, технология» (Экватек-2000).* – М.: Сибико Инт. – 2000. – С. 376 – 377.
13. Mutagenicity of ozonation products from humic substances and their components / H. Matsudo, H. Yamamori, T. Sato [et al.] // *Water Sci. and Technol.* – 1992. – V. 25, № 11. – P. 363 – 370.

14. Comparing peroxone and ozone for controlling taste and odor compounds, desinfection by-products and microorganisms / D. W. Ferguson, M. J. McGuire, B. Koch [et al.] // J. AWWA. – 1990. – V. 82, № 4. – P. 181–191.
15. Miltner R. Y. Desinfection byproducts formation and control by ozonation and biotreatment / R. Y. Miltner, H. T. Shukairy, R. S. Summers // J. AWWA. – 1992. – V. 84, № 11. – P. 53 – 62.
16. Lundgren B. V. Formation and removal of off flavour compounds during ozonation and filtration through biologically active sand filters / B. V. Lundgren, A. Grimvall, R. Savenhed // Water Sci. and Technol. – 1988. – V. 20, № 8/9. – P. 245 – 253.
17. Characterization and identification of odours compounds in ozonated water / B. Thorell, H. Boren, A. Grimvall [et al.] // Water Sci. and Technol. – 1992. – V. 25, № 2. – P. 139–146.
18. Суммарная мутагенная активность (СМА) питьевой воды и способы водоподготовки из поверхностных водоисточников / Т.Е. Можаяева, В.С. Журков, В.В. Сокольский [и др.] // Тез. докл. II Междунар. конгресса «Вода: экология, технология» (Экватек-96). – М.: Сибико Инт. – 1996. – С. 510 – 511.
19. Дезинфектанты и суммарная мутагенная активность (СМА) воды поверхностных водоисточников / В.С. Журков, Л.В. Охальцева, Н.Э. Лукманова [и др.] // Тез. докл. IV Междунар. конгресса «Вода: экология, технология» (Экватек-2000). – М.: Сибико Инт. – 2000. – С. 749 – 750.
20. Петренко Н. Ф. Наукове обґрунтування комбінованих методів знезараження питної води: дис. ... д. б. н: 14.02.01 / Н.Ф. Петренко; ДУ „Інститут гігієни та медичної екології ім. О.М. Марзєєва Академії медичних наук України”. – К., 2012. – 396 с.
21. Lykins B.W. Chemical products and toxicologic effects of desinfection / B.W. Lykins, W. Koffskey, R. L. Miller // J. AWWA. – 1986. – № 78, № 11. – P. 66 – 75.
22. Matsui S. The Bacillus subtilis / microsome recassay for the detection of DNA damaging substances which may occur in chlorinated and ozonated water / S. Matsui, R. Yamamoto, H. Yamada // Water. Sci. and Technol. – 1989. – V. 21, № 8/9. – P. 875 – 887.
23. Ono Y. The evaluation of genotoxicity using DNA repairing test for chemicals produced in chlorination and ozonation processes / Y. Ono, I. Sonuja, M. Kawamura // Water Sci. and Technol. – 1991. – V. 23, № 1–3. – P. 329–338.
24. Fawell A. K. Carcinogenic micropollutans in drinking water-risk and regulation / A. K. Fawell // Water Sci. and Technol. – 1992. – V. 25, № 11. – P. 473 – 479.
25. Van Hoof F. Formation of mutagenic activity during surface water preozonation and its removal in drinking water treatment / F. Van Hoof, J.C. Janssens, H. Van Duck // Chemosphere. – 1985. – V. 14, № 5. – P. 501–509.
26. Payment P. Tap water and public health - the risk factor / P. Payment // Water – 21. – 2000. – № 8. – P. 9.
27. Assessment and management of risk associated with bromate formation in drinking water / Z. Do Quang, I. Baudin, R. Bonnard [et al.] // Water Science & Technology: Water Supply—WSTWS. – 2008. – V. 8, № 3. – P. 339–345.
28. Hofmann R. Effect of several natural water constituents on bromate formation during ozonation / R. Hofmann, S. Larcher, R. Andrews // Water Supply. – 2002. – V. 2, № 5-6. – P. 501–507.

29. Evaluating and elucidating the formation of nitrogen-contained disinfection by-products during pre-ozonation and chlorination / P.-. Chiang, E.-E. Chang, C. Chin [et al.] // *Chemosphere*. – 2010. – V. 80, № 3. – P. 327–333.
30. Contribution of brominated organic disinfection by-products to the mutagenicity of drinking water / S. Echigo, S. Itoh, T. Natsuiet [et al.] // *Water Science & Technology*. – 2004. – V. 50, № 5. – P. 321 – 328.
31. Impact of ozonation on the genotoxic activity of tertiary treated municipal wastewater / M. Mišić, S. Knasmueller, F. Ferk [et al.] // *Water Research*. – 2011. – V. 45, N. 12. – P. 3681 – 3691.
32. Liviac D. DNA damage induction by two halogenated acetaldehydes, byproducts of water disinfection / D. Liviac, A. Creus, R. Marcos // *Water Research*—2011. – V. 44, N. 8. – P. 2638 – 2646.
33. Effectiveness of ozonation and chlorination on municipal wastewater treatment evaluated by a battery of bioassays and biomarkers / A. Kontana, C. A. Papadimitriou, P. Samaras [et al.] // *Water Science & Technology—WST*. – 2009. – V. 60, N. 6. – P. 1497 – 1505.
34. Determination of mutagenic activity in salmonella of residual fulvic acids after ozonation / D. J. Kowbel, E. R. Nestmann, M. Malaiyandi [et al.] // *Water Research*. – 1982. – V. 16, N. 11. – P. 1537 – 1538.
35. Lethal and sublethal exposure and recovery effects of ozone-produced oxidants on adult white perch (*Morone americana* Gmelin) / L.B. Richardson, D.T. Burton, R. M. Block [et al.] // *Water Research*. – 1983. – V. 17, N. 2. – P. 205 – 213.
36. Impact of ozonation on ecotoxicity and endocrine activity of tertiary treated wastewater effluent / D. Altmann, H. Schaar, C. Bartel [et al.] // *Water Research*. – 2008. – V. 46, N. 12. – P. 3693 – 3702.
37. Fish larval deformity caused by aldehydes and unknown byproducts in ozonated effluents from municipal wastewater treatment systems / Z. Yan, Y. Zhang, H. Yuan [et al.] // *Water Research*. – 2014. – V. 66. – P. 423 – 429.

5.2 Токсикологическая оценка бромата как побочного продукта озонирования воды

Во время окисления или химической дезинфекции природных вод, содержащих бромид с озоном, бромат формируется при концентрациях в пределах от 0 до 150 мкг/л при обычных условиях очистки воды [1]. Формирование хлората после озонирования при исходной концентрации хлора 0,6 мг/л и уровнях рН 8,0, 7,0 и 6,0 оценено в пределах 10 – 106 мкг/л [2].

Табл. 5.2.1 иллюстрирует диапазон концентраций бромата, с которыми обычно сталкиваются в питьевых водах со множеством исходных особенностей воды после озонирования.

Таблица 5.2.1

Резюме потенциалов формирования бромат-ионов в различных источниках воды и условиях озонирования

Бромид, $\mu\text{g/l}$	Озон, mg/l	pH	Щелочность, mg/l	DOC, mg/l	Бромат, $\mu\text{g/l}$	Источник
10-800	1-9,3	5,6-9,4	20-132	2,2-8,2	<5-60	3
60-340	3-12	6,5-8,5	90-230	3-7	<5-40	4
10-100	2-4	6,8-8,8	20-120	0,3-11	<5-100	5,6
12-37	0-3,97	7,8	н/о	н/о	<7-35	7
500	2,3-9,5	7,2-8,3	н/о	н/о	13-293	8
12-207	0,3-4,3	5,7-8,2	14-246	0,5-6,8	<2-16	9
107-237	1-5	6,8-8,0	н/о	2-5	<5-50	10

Примечание: DOC – растворенный органический углерод; н/о – не определяли.

Для бромата рекомендуемый уровень составляет $10 \mu\text{g/l}$, при этом в примечании указано следующее: предварительное значение директивы, поскольку расчетное значение ниже достижимого количественного уровня; предварительное значение директивы, поскольку расчетное значение ниже уровня, который может быть достигнут в практике обработки воды; для веществ, которые, как полагают, являются канцерогенными, значение директивы - концентрация в питьевой воде, связанная с избытком верхнего предела прижизненного риска рака 10^{-5} (один дополнительный случай рака на 100 000 населения, потребляющего питьевую воду, содержащую вещество по значению директивы, в течение 70 лет). Концентрации, связанные с предполагаемым избытком верхнего предела прижизненного риска рака 10^{-4} и 10^{-6} , могут быть вычислены путем умножения и деления на 10 значение директивы, соответственно.

В другом документе ВОЗ [11] представлена краткая история нормирования бромата. Международные стандарты питьевой воды 1958, 1963 и 1971 гг. и первое издание Руководства по качеству питьевой воды 1984 г. не регламентировали содержание бромата. В Руководстве 1993 г. расчетная концентрация бромата в питьевой воде, связанная с избытком верхнего предела прижизненного риска рака 10^{-5} составляла $0,003 \text{ mg/l}$. Однако, из-за ограничений в доступных аналитических методах и технологиях обработки рекомендованное предварительное значение директивы составило $0,025 \text{ mg/l}$, связанное с избытком верхнего предела прижизненного риска рака $7 \cdot 10^{-5}$.

В этом документе представлены значительно более жесткие рекомендованные уровни бромата на уровне $2 \mu\text{g/l}$, связанном с избытком верхнего предела риска рака 10^{-5} . Подобный вывод может быть сделан в результате других методов экстраполяции, приводя к значениям в диапазоне 2-6 мкг/л.

Токсикологическая оценка бромата основана на результатах Национальной программы США [12], что нашло отражение в соответствующих документах Канады [13] и Калифорнии [14].

Бромат (BrO_3^-) является отрицательно заряженным многоатомным ионом, содержащим один атом брома и три атома кислорода. Типичные соли бромата – бромат калия (KBrO_3) и бромат натрия (NaBrO_3). В 1998 г. американское EPA предложило уровень MCL $0,010 \text{ mg/l}$ и нулевой уровень MCLG для бромата в питьевой воде, что обосновывалось его канцерогенностью у крыс обоих полов (полиорганный характер) и нераковыми эффектами.

Бромат калия отнесен Международным агентством исследования Рака (IARC) к группе 2B как возможный канцероген для человека [15]. В опытах *in vitro* и *in vivo* установлено, что бромат является мутагеном. Долговременное воздействие бромата в питьевой воде вызвало у крыс неблагоприятные изменения щитовидной железы и почек, а также замедляло прибавление в весе.

Воздействие бромата на организм человека происходит несколькими путями. Бромноватокислые соли использовались как добавки к говядине и сыру, а также как нейтрализующий агент для перманента стрижек [16, 17]. Броматы в настоящее время разрешены американским Управлением по контролю за продуктами и лекарствами (FDA) для использования в хлебопечении [18, 19] в максимальной концентрации $75 \mu\text{g}$. Бромат – весьма необычный химикат: хотя это группа 2B возможных канцерогенов для человека, его использование как пищевых добавок все еще разрешено не в готовом хлебе, поскольку в процессе выпекания большая часть бромата нейтрализуется [17, 20].

Фокусом перечисленных регламентирующих документов является оценка риска от потенциального воздействия на организм человека бромата при потреблении питьевой воды. Например, в Нидерландах воздействие бромата в питьевой воде относительно других путей поступления оценивается в 100 % [21]. Обычно бромат в питьевой воде отсутствует, однако ион бромата может формироваться как побочный продукт дезинфекции при озонировании [20], когда озон реагирует в воде с относительно нетоксичным бромидом или когда хлорированная вода подвергнута воздействию солнечного света [22, 23], а также при обработке воды концентрированным гипохлоритом [1, раздел 5.1; 20, 24-26].

Аму с соавт. (2000) [27] наблюдали формирование бромата в воде при различных условиях озонирования при инактивации *Cryptosporidium*. Установлено, что на этот процесс влияют концентрация бромидов, pH, температура, карбонатная щелочность, УФО, Ct (mg-min/l) и доза озона. Авторы отмечают, что даже при озонировании воды с низкими концентрациями бромидов при достаточных концентрациях озона и времени дезинфекции концентрации бромата могут приближаться к американскому стандарту EPA 10 µg/l [28].

О формировании бромата и галоаминов в морской воде, загрязненной хлорированными сточными водами, после воздействия солнечного света сообщали ранее [22]. Бромат был недавно обнаружен на относительно высоких уровнях в двух резервуарах Лос-Анджелеса, используемых для хранения хлорированной воды [23]. Аналогичные наблюдения касаются двух других резервуаров в Сан-Диего.

Bouland и соавт. (2005) [29] описали поступление в питьевую воду бромата как загрязнителя гипохлорита натрия. Weinberg и соавт. (2003) [25] исследовали водопроводные воды от сорока станций водоочистки в США, которые используют гипохлорит для дезинфекции. Они нашли бромат в пределах от 0,02 до 3,19 µg/l в воде после обработки (средняя 0,49 µg/l). Авторы объясняют наличие бромата загрязнением исходного гипохлорита.

По данным ВОЗ [20] ежегодная средняя концентрация бромата в водопроводной питьевой воде из поверхностных водоисточников в Соединенных Штатах составляет 2,9 µg/l при диапазоне <0,2-25 µg/l.

В бутилированной воде США бромат обнаружен на уровне 27 µg/l, превышая стандарт FDA 10 µg/l [30]. В 2003 г. в Великобритании в бутилированной воде популярного бренда найден бромат на уровне 20 µg/l [31].

5.2.1. Токсикологические эффекты бромата у экспериментальных животных

5.2.1.1. Острая токсичность

Бромат калия более токсичен, чем бромат натрия [13]; вместе с тем, первый более изучен.

Kurokawa и соавт. (1990) [32] определили оральные значения LD₅₀ бромата калия на крысах линии F334, мышах линии B6C3F1 и сирийских золотистых хомячках. Авторы заключили, что это вещество должно

быть классифицировано как “очень токсический химикат” (табл. 5.2.2). Они ссылаются на своего коллегу, который сообщил, что для крыс линии Wistar LD₅₀ бромата калия значительно ниже дозы 160-180 mg/kg для обоих полов. Kawana и соавт. (1991) к этому добавили, что оральные LD₅₀ бромата калия для самок и самцов крыс линии Wistar составляют 157 mg/kg. Эти авторы оценивали оральные дозы 85, 159, 325 и 602 mg/kg. **Через 72 h после воздействия авторы не наблюдали падежа животных** под воздействием низкой дозы и приблизительно 20-процентное выживание в группе, получавшей 159 mg/kg (пол не упомянут). Острые эффекты включают следовые количества метгемоглобина в крови крыс и значительный гемохроматоз в почке, селезенке и печени; доза и пол не упомянуты [33].

Таблица 5.2.2

Оральные значения LD₅₀ бромата калия

Вид	Линия	LD ₅₀ , mg/kg	
		Самцы	Самки
Крысы	F344 ^a	400	495
	Wistar ^b	157	
Мыши	B6C3F ^a	280	335
Хомячки	Сирийские золотистые ^a	388	460

Источники: [^a – 32, ^b – 33].

Токсичность бромата включает повреждение почек, гемолиз и метгемоглобинемию [34]. Для оценки вклада окиси азота к вызванному броматом повышению метгемоглобина авторы использовали 5-недельных самцов мышей линии ddY, которые получали перорально 1,2 mmol/kg бромата калия в разбавленной минерализованной воде через 15 min после внутрибрюшинного (i.p.) введения эбселена (противоспалительного антиоксиданта – имитатора пероксидазы глютаминил-цистеинил-глицина). Мышей выводили из эксперимента через шесть часов после воздействия; исследовали кровь и почки. Установлено, что повышение концентрации метгемоглобина совпадало с возрастанием уровня окиси азота и ослаблением активности пероксидазы глютаминил-цистеинил-глицина. Наблюдались почечный окислительный стресс и повреждение почек. Авторы заключили, что вызванная броматом калия метгемоглобинемия является следствием снижения активности пероксидазы глютаминил-цистеинил-глицина из-за увеличения супероксида, окиси азота и пероксинитрита.

Бромат натрия менее изучен. Однако, Sax (1979) [35] сообщал об i.p. LD₅₀ для мышей на уровне 140 mg/kg и оральном LD₅₀ на уровне 250 mg/kg для кроликов, а Merck (2004) [36] установил оральный LD₅₀ для крыс на уровне 400 mg/kg.

5.2.1.2 Субхроническая токсичность

Kurokawa и др. (1990) [32] процитировали неопубликованное исследование, в котором самцам и самкам крыс линии Wistar (по 10 в группе) давали бромат калия в питьевой воде в концентрациях 150, 300, 600, 1 250, 5 000 и 10 000 mg/l в течение 13 недель. В течение семи недель все животные на трех самых высоких уровнях погибли; все животные при 600 mg/l **или ниже выжили в течение 13 недель экспонирования**. При 600 mg/l наблюдали повышение активности глутамат оксалацетат трансминазы, глутамат пируват трансминазы (GPT), лактатдегидразы, щелочной фосфатазы, азота мочевины в крови (BUN), натрия и холинэстеразы в сыворотке крыс обоих полов; при этом уровень калия в сыворотке значительно уменьшился. В цитоплазме проксимальных канальцев почек самцов обнаружены каплевидные эозинофильные включения наряду с обширными регенеративными изменениями.

Kurokawa и соавт. (1990) [32], Guo и соавт. (2001) [37] оценили имунотоксический потенциал бромата натрия в концентрациях 20, 80, 400, 600 и 800 mg/l в 28-дневном исследовании питьевой воды на самках мышей линии B6C3F1. Авторы не нашли “откровенной токсичности” в какой-либо из групп; не наблюдали значительных различий между опытными и контрольной группами в весе тела, привесе и весах тимуса, печени и легких; влияния на число эритроцитов, уровень гемоглобина, гематокрит, лейкоцитарную формулу; грубых морфологических повреждений. Однако, обнаружено значительное увеличение относительного веса селезенки.

5.2.1.3 Генотоксичность.

Kurokawa и соавт. (1984) [38] провели исследования канцерогенного действия на кожу некоторых окислителей на 6-недельных самках мышей линии Sencar. Все вещества были растворены в ацетоне и 0,2 ml наносили на выбритую кожу спины мышей. В группе бромата калия 20 мышей получали 40 мг/мл или ацетон (15 мышей) два раза в неделю в течение 51 недели. Не установлено опухолей кожи или эпидермальной гиперплазии.

В двухступенчатом исследовании туморогенеза почек Kurokawa и соавт. (1985) [39] исследовали влияние бромата калия в питьевой воде на 6-недельных крыс линии F344. Установлено, что бромат калия в концентрации выше 30 ppm вызывал промоцию почечного туморогенеза, инициированного N-этил-N-гидроксиэтилнитрозамином (EHEN). Однако, какой-либо активности в этом плане выявлено не было. По мнению авторов, речь идет, вероятно, об индукции экспрессии неопластических характеристик популяции инициированных к туморогенезу клеток, а не на воздействии на темп роста и морфологию опухолевых клеток.

В обзоре группы экспертов CIR (CIR, 1994) [40] оценена генотоксичность бромата калия *in vitro* с использованием теста мутагенности *Salmonella typhimurium* TA102 и TA104 с и без метаболической активации. Результаты были слабоположительными на штаммах TA100 и отрицательны на штаммах TA92, TA1535, TA1537, TA94 и TA98 с или без метаболической активации. Констатированы дозо – зависимые хромосомные аберрации в клетках фибробластов китайского хомячка в отсутствии метаболической активации.

Morgan и соавт. (2002) [41] использовали технологию микроумножения cDNA для обнаружения химически индуцированных альтераций генов экспрессии в клетках HepG2, вызванных разнообразными химическими соединениями в “эквитоксичных” концентрациях. Отмечая дифференциацию генов экспрессии, авторы предложили уровни окислительного стресса как функцию отношения GSH:GSSG. Для бромата калия авторы заключили, что “наблюдаемые изменения включают доказательство активации p53 и задержки клеточного цикла, включая угнетение регуляции PCNA и гена TPO2A”. Как доказательство окислительного стресса, они упоминали рост регуляции генов HMOX1 и HSP70 и снижение регуляции гена CYO1A1.

Уметуга и соавт. (2004) [42] вводили бромат калия в питьевой воде в течение четырех недель самцам и самкам крыс линии F334 (по пять особей каждого пола в группе). Концентрации бромата в питьевой воде составляли 0, 15, 30, 60, 125, 250 и 500 mg/l. Установлено отсутствие повышения уровней тиобарбитуратов при любой дозе. Однако, при 250 mg/l и выше значительно повысились уровни 8-оксодеоксигуанозина (8-oxodG) в почке. При дозах 30 mg/l и выше для самцов и 250 mg/l и выше для самок индекс бромодоксиуридина в проксимальных канальцах почек значительно увеличивался. Помимо этого, аккумуляция α 2u-глобулина в почках самцов значительно возрастала при дозах 250 mg/l и выше. Авторы заключили, что вызванное броматом калия окисление ДНК независимо от перекисного окисления липидов и что воздействие питьевой воды, содержащей 250 mg/l этого вещества,

может проявить канцерогенный эффект у крыс вследствие окислительного стресса.

В более свежем обзоре Umemura и Kurokawa (2006) [43] заключили, что механизмы возникновения рака у крыс-самцов более сложные, чем у самок. Накопление 8-oxodG в почке подтверждает вклад окислительного стресса и/или цитостатических ответов на вызванный броматом калия канцерогенез у крыс-самок и потенциально у человека.

Ballmaier и Ere (2006) [44], Kawanishi и Murata (2006) [45] провели биопробы *in vitro* для оценки генотоксичности бромата калия на культурах клеток HL-60 и HL-100 и клетках лейкемии мыши L1210. Эти исследования показали, что бромат калия вызывает расщепление ДНК вследствие генерирования радикалов брома или окисных радикалов брома. Эти радикалы, которые сформированы в присутствии тиогрупп (глутатиона или цистеина), окисляют ДНК с образованием 8-оксодеоксигуанозина (8-oxodG). Накопление 8-oxodG связывают с увеличением мутаций в печени и почке *in vivo* у мышей и крыс, вероятно, вследствие трансверсии в ТА [44, 46,47].

Delker и соавт. (2006) [48] провели два исследования канцерогенности бромата калия на самцах крыс линии F344. Результаты развития опухолей подробно обсуждены в отдельной публикации [49]. В первом исследовании генной экспрессии 6 – 8-недельные самцы крыс F344 пили питьевую воду, содержащую бромат калия в концентрациях 0, 20 и 400 мг/л в течение 52 недель. Применяя анализ PCR-RT, исследователи нашли, что мультиплицирование генов, связанных с метаболизмом глутатиона, сверхрегулировано в почке группы высокой дозы, но не в почке животных низкой дозы. 8-оксодеоксигуанозин гликозилат (Ogg1), фермент репарации ДНК, в ответ на окислительный стресс был также сверхрегулирован в почке животных высокой дозы, но не у крыс низкой дозы, ни в щитовидной железе крыс в обеих дозах. Авторы предположили, чтобы канцерогенная доза бромата могла бы инактивировать внеклеточные антиоксиданты, что обеспечивало проникновение бромата в почечные клетки. Впоследствии, сульфгидрильно -обусловленное окисление ДНК могло быть причиной вызванного броматом почечного канцерогенеза у крыс-самцов F344.

Во втором исследовании [48] одноразовое внутрижелудочное введение ^{18}O -маркированного бромата калия (2,5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ к 25 mg/kg) четырем – шести крысам-самцам F344 в группе дозы привело к дифференцированному отложению ^{18}O в почке и щитовидной железе. Авторы наблюдали неустановившееся и нелинейно зависимое от дозы отложение ^{18}O в почке. Комбинируя результаты исследования генной экспрессии и отложения ^{18}O в почке, авторы предположили, что окислительное

повреждение ДНК может быть способом действия вызванного броматом почечного канцерогенеза у крыс-самцов F344. Намного более низкий уровень ^{18}O был обнаружен в щитовидной железе, что связано с отсутствием сверхрегуляции глутатиона и гена Ogg1. В связи с этим, бромат, вероятно, вызывал опухоли щитовидной железы у крыс-самцов линии F344 другим путем, но не окислительным повреждением ДНК.

Согласно докладу National Toxicology Program (NTP) [12], бромат калия вызывает хромосомные aberrации, микроядра, разрывы ДНК, окислительное повреждение ДНК и генные мутации гипоксантин-гуанин фосфорибозилтрансферазы в культурах клеток фибробластов китайского хомячка. Острое пероральное и интраперитонеальное введение привели к зависимым от дозы увеличениям частот хромосомных aberrаций в клетках костного мозга крыс и индукции микроядер в эритроцитах крыс и мышей.

Несмотря на обширные данные о генотоксичности бромата калия, информация о бромате натрия ограничена. Например, это вещество показало неактивность в тестах мутагенности на *S. typhimurium* и *Drosophila melanogaster* [12].

В четырех отдельных исследованиях NTP [12], исследователи подвергали гемизиготных (Tg. AC hemizygous) и гаплоинсуфициентных (p53 haploinsufficient) мышей (группы по 15 самцов и самок) воздействию бромата натрия в концентрациях 0, 80, 400 и 800 mg/l в питьевой воде в течение 27 недель. Еще в двух отдельных исследованиях авторы воздействовали на кожу гемизиготных мышей (группы по 15 самцов и самок) броматом натрия в дозе 0, 64, 128 и 256 mg/kg-d в этиловом спирте/воде пять дней в неделю в течение 26 недель. Авторы сообщили об изменениях всех шести микроядерных тестов у обоих полов обеих линий мышей во всех экспериментах. Бромат натрия значительно увеличивал частоты микроядер в эритроцитах во всех группах ($p < 0,008$). Кроме того, для гемизиготных мышей установлено увеличение процента полихромных эритроцитов у самок и самцов во всех группах, тогда как у гаплоинсуфициентных мышей это не выявлено.

5.2.1.4 Репродуктивная токсичность, связанная с развитием плода

В трех 35-дневных исследованиях в рамках NTP Wolf и Kaiser (1996) [50] оценили репродуктивную токсичность, связанную с развитием, бромата натрия на крысах Sprague-Dawley. Животные орально получали 0, 25, 80 и 250 mg/l в питьевой воде с соответствующими

предполагаемыми средними ежедневными дозами 0, 2,2, 7,7 и 22 mg/kg-d бромата. В первом исследовании оценивали влияние на зачатие и раннюю беременность на группе из 10 самок, которые получали бромат от 1 до 34 d. В другом – исследовали позднюю беременность и рождение в группе из 13 самок с 6 d беременности до 1 d после родов. Крысята наблюдались в течение 5 послеродовых d. **В третьем – определяли неблагоприятные эффекты на самцах, из которых 10 спаривались с самками второго исследования с 1 – 5 d (без обработки) и с 6 по 34/35 d, получавшие бромат.** Результаты не показали значимых изменений в развитии крысят и взрослых крыс: выживание, веса органов, весы тела, клинические тесты, репродукция, гистопатологические изменения в почке, печени, селезенке, яичке или эпидидимисе в любой группе. Хотя не было влияния на фертильность самцов, обнаружено статистически значимое и связанное с концентрацией уменьшение в плотности спермы (приблизительно 18 %) у самцов, получавших самую высокую дозу. Авторы заключили, что у бромата натрия отсутствует общая токсичность или неблагоприятное влияние на репродуктивную функцию самок крыс. NOAEL бромата для крыс составило 7,7 mg/kg-d, что основывалось на уменьшении плотности спермы.

В дополнительном исследовании NTP (2001) [51] репродуктивную токсичность бромата натрия оценивали на группах самок и самцов крыс Sprague-Dawley, которые получали 0, 30, 100 и 300 мг/л бромата натрия в питьевой воде. Общая токсичность наблюдалась у животных обоих полов при концентрациях 100 и 300 mg/l. Неблагоприятные эффекты включали хроническую прогрессирующую нефропатию у самцов, пролиферативные изменения в почечных клетках у самок. Однако, какие-либо связанные с воздействием бромата изменения в репродукции отсутствовали, за исключением незначительного уменьшения (8 %) в плотности спермы в генерации F1 и 16%-ного уменьшения плотности спермы в генерации F0. Авторы решили, что бромат натрия оказывает токсическое влияние на репродукцию.

В отчете рабочей группы по Механизмам Индукции Рака, организованной American Water Works Association Research Foundation, международной некоммерческой профессиональной организацией, Bull и Cotruvo (2006) [52] указали на нехватку информации относительно влияния бромата на репродукцию и развитие. В заключении авторы проанализировали несколько исследований для объяснения ототоксичности бромата.

Crofton (2006) [53] рассмотрел данные репродуктивной токсичности бромата и отметил необходимость его исследования как потенциального агента для нейротоксичности, связанной с развитием, определен-

ной ототоксичности в развивающемся организме из-за поступления трансплацентарным путем и с грудным молоком. Автор отметил, что существующие доказательства нейротоксичности бромата ограничены острыми опытами в высоких дозах на животных и описаниями случаев передозировки у человека. Рекомендованы долговременные исследования нейротоксичности, связанных с развитием, для восстановления пробелов в этой области.

5.2.1.5 Иммунотоксичность

Guo с соавт. (2001) [37] выполнили 28-дневное исследование иммунотоксического потенциала бромата натрия в питьевой воде в концентрациях 0, 20, 80, 400, 600 и 800 мг/л на самках мышей B6C3F1. Наряду с ранее описанными наблюдениями об отсутствии влияния на большинство систем организма (за исключением веса селезенки и связанного с дозой увеличения числа ретикулоцитов), авторы не наблюдали изменений общего числа Т – клеток, CD4CD8-Т клеток, NK-клеток или макрофагов. Авторы отметили “небольшое” увеличение абсолютного числа клеток В при дозе 600 мг/л. Авторы заключили, что 80 – 800 мг/л бромата натрия в питьевой воде оказывают “минимальное токсикологическое и иммунотоксическое влияния на самок мышей B6C3F1”.

5.2.1.6 Нейротоксичность

В течение некоторого времени было известно, что бромат вызывает ототоксичность у животных и человека [53-56]. Chiu и соавт. (2000) [57] предложили механизм этого эффекта, вводя бромат калия перкутанно изолированно (50 mg/kg) или в комбинации с тиогликолятом (15 mg/kg) группе из шести морских свинок однажды ежедневно в течение двух недель. Авторы оценивали воздействие по слуховому ответу стволовой области мозга и ее изменениям. Установлено, что бромат, особенно в комбинации с тиогликолятом, пролонгировал слуховую волну I латентности, что позволяло предположить угнетение проводимости слухового нерва. Это наблюдение контрастирует с нехваткой наблюдаемых изменений в интервале волны IV-V, что свидетельствует не о дисфункции проводимости в стволовой области мозга, а о периферийной причине потери слуха. Это соответствует наблюдению, в котором 44-летний мужчина преднамеренно глотал бромат калий в попытке самоубийства. Он выжил, но его периферийное слуховое восприятие отсутствовало.

5.2.1.7 Хроническая токсичность

Nakano с соавт. (1989) [58] полили питьевой водой, содержащей бромат (400 mg/l – примерно 30 mg/kg-d по расчетам EPA, 2001) и бромид (400 mg/l) калия, крыс-самцов линии SLC Wistar (группы 12, 5 и 5-недельных) в течение 15 месяцев. Авторы наблюдали через один месяц воздействия бромата калия значительное уменьшение роста животных, через 7-11 недель – очаги кариопикноза в канальцах почек, через 15 месяцев – структурные отклонения почечных канальцев, а также обнаружена нетипичная дегенерация, регенерация и кистозные изменения в коре почек. В двух из девяти случаев выявлена почечная аденокарцинома.

Ginocchio и соавт. (1979) [59] оценивали хроническую токсичность и канцерогенность бромата калия в экспериментах на мышах линии Theiller's (по 60 особей по полу и группам), которые питались кормом, содержащим бромат в концентрациях 0; 50; 75 mg/l, 30 mg/l аскорбиновой кислоты, 50 mg/l пероксида бензоила и 15 mg/l диоксида хлора. Ежедневная доза брома в расчете на бромат калия составляла 0; 1,76; 2,64; 1,70; 1,63 mg/kg-d у самцов и 0; 2,03; 2,99; 1,99; 2,08 mg/kg-d у самок. Все диеты содержали приблизительно 15 % белка, 6 % общего жира и 63 % углеводов, целлюлозы, витаминов, макро- и микроэлементов [60].

Длительность опыта составляла 80 недель. Через 18 месяцев авторы наблюдали анемию у самок всех групп и в трех из четырех опытных групп самцов, получавших 50 mg/l бромата. Отмечено связанное с дозой значительное сокращение числа эритроцитов у самцов через три месяца (15 % в группе высокой дозы и 17 % в дозе 50 mg/l бромата), увеличение нейтрофилов в группах самцов в 12 месяцев и в обработанных броматом группах самцов в 18 месяцев. Установлены значительные связанные с дозой различия в весе гипофиза, мозга, почек и щитовидной железы относительно веса тела у самцов опытных групп в конце исследования. Какие – либо различия в весе органов, среднем весе и смертности не отмечены [59].

Fisher и соавт. (1979) [60] выполнили исследования по хронической токсичности и канцерогенности бромата калия на крысах линии Wistar, которые были подобны описанным выше на мышах [59]. Крысы получали ту же диету в течение 104 недель. У самок из группы контроля был более высокий показатель смертности, чем в опытных группах, в частности, отмечено меньше смертельных случаев в группе высокой дозы, чем в любой из других групп. Не обнаружено значительных различий в среднем весе тела всех групп, кроме самцов в группе низкой дозы на 12, 25, 36, 60 недели и самок в группе низкой дозы на 104 недели. Авторы

не выявили «определенного» доказательства хронической токсичности бромата калия, что подтверждалось отсутствием куммуляции брома в жировой ткани крыс.

Kurokawa и соавт. (1986b) [61] изучали долговременное воздействие бромата калия (0, 250, 500 mg/l) в питьевой воде на крыс линии F334 (52 – 53 в группе) в течение 110 недель. Ежедневные дозы были оценены как 0, 12,5, и 27,7 mg/kg-d у самцов и 0, 12,5 и 25,5 mg/kg-d у самок. Авторы наблюдали значительное уменьшение GPT, отношения альбумина/глобулина, калия сыворотки крови и холинэстеразы у самок на уровне высокой дозы. Различий среди групп дозы в индексах RBC не обнаружено [32]. На 60 неделю в группе самцов высокой дозы последняя была уменьшена до 400 mg/l из-за замедления роста грызунов. Несмотря на это, отмечены различия веса между группой высокой дозы и контролем на 60 неделю и до конца исследования. Авторы не обнаружили очевидного снижения веса во всех других группах до 110 недель. Таким образом, NOAEL бромата калия для крыс составил 12,5 mg/kg-d.

DeAngelo и соавт. (1998) [49] оценили канцерогенный потенциал бромата калия в питьевой воде на крысах-самцах линии F344 и мышах линии B6C3F1. Крысы в группах по 50 особей получали бромат калия в дозах 0; 0,02; 0,1; 0,2 и 0,4 g/l (0; 1,5; 16,9 и 37,5 mg/kg-d) в течение 100 недель. Исследователи наблюдали связанные с обработкой увеличения уротелиальной гиперплазии. Авторы предложили NOAEL на уровне 1,5 mg/kg-d. Мыши также в группах по 50 особей получали бромат калия в дозах 0; 0,08; 0,4 и 0,8 g/l (0; 9,1; 42,4 и 77,8 mg/kg-d). Какие-либо значительные изменения в весе тела, органов и параметрах сыворотки крови во всех опытных группах отсутствовали. Гистопатологическая экспертиза также не обнаружила каких-либо отклонений.

В процессе реализации NTP (2007) [12] изучена токсичность бромата натрия на двух видах генетически модифицированных мышей. Исследования включали 26- и 39-недельные исследования кожно-резорбтивного действия на гемизиготных мышах Tg. AC (1); 27- и 43-недельные эксперименты с питьевой водой на гемизиготных мышах Tg. AC (2) и такие же с гаплоинсуфицированными мышами p53 (3).

(1) Исследователи применяли 0, 64, 128 и 256 mg/kg-d бромата натрия в этиловом спирте/воде пять дней в неделю в течение 26 недель по группам 15 самцов и 15 самок. Аналогично использовали дополнительные группы 10 самцов и 10 самок в течение 39 недель.

Отмечено значительное увеличение индекса ретикулоцитов при дозе 128 mg/kg-d у самок и 256 mg/kg-d у самцов и самок за 26 недель воздействия; существенное возрастание относительного веса почек за 26 недель у самцов во всех группах дозы за 39 недель; уменьшение за этот

же срок абсолютного веса яичка при 256 mg/kg-d у самцов и абсолютно-го веса почек при этой же дозе у самок. Нефропатия обнаружена у 14 из 15 самцов, получавших 128 и 256 mg/kg-d за 26 недель и у всех самок при дозе 256 mg/kg-d в обоих исследованиях. В щитовидной железе наблюдалась значительная гипертрофия фолликулярных клеток во всех группах доз самок и самцов в обоих исследованиях, фолликулярное секреторное истощение при дозах 128 и 256 mg/kg-d у самок в обоих исследованиях и лимфоцитарная клеточная инфильтрация при дозах 64 и 256 mg/kg-d за 26 недель и 128 и 256 mg/kg-d за 39 недель у самок.

(2) Группы по 15 мышей каждого пола были подвергнуты воздействию бромата в концентрациях 0, 80, 400 и 800 mg/l в питьевой воде в течение 27 недель. Эти концентрации были эквивалентны средним ежедневным дозам 0, 13, 63 и 129 mg/kg-d для самцов и 0, 15, 72, и 148 mg/kg-d для самок. Дополнительно, группы 10 мышей каждого пола получали питьевую воду с броматом натрия 0, 80, 400 и 800 mg/l в течение 43 недель, при этом ежедневные дозы составили 0, 11, 52 и 131 mg/kg-d для самцов и 0, 15, 65, и 152 mg/kg-d для самок. Установлено уменьшение выживания при 400 mg/l для самок и 800 mg/l для самцов и самок за 43 недели воздействия; более низкий средний вес тела при 400 mg/l для самцов и 800 mg/l для самцов и самок по сравнению с контролем в обоих исследованиях. Абсолютный вес почек уменьшен при 800 mg/l у самок, относительный вес почек увеличен при 400 и 800 mg/l у самцов за 27 недель. Абсолютный вес яичка был значительно уменьшен при 800 mg/l у самцов за 43 недели. Сообщалось также о дополнительных токсических эффектах в отношении почек и щитовидной железы.

(3) Группы по 15 мышей каждого пола были подвергнуты воздействию бромата натрия в концентрациях 0, 80, 400 и 800 mg/l в питьевой воде в течение 27 недель. Эти концентрации были эквивалентны в среднем ежедневным дозам 0, 8, 39 и 74 mg/kg-d для самцов и 0, 13, 72 и 136 mg/kg-d для самок. Дополнительно группы по 10 мышей каждого пола получали бромат натрия в концентрациях 0, 80, 400, или 800 mg/l в питьевой воде в течение 43 недель с ежедневными дозами 0, 7, 37 и 65 mg/kg-d для самцов и 0, 11, 58 и 107 mg/kg-d для самок. Установлено, что выживание опытных групп животных было подобно контрольным. Средний вес тела самок в группах при 400 и 800 mg/k был несколько ниже контроля [16].

5.2.1.8 Канцерогенность

Существует несколько исследований, которые описывают канцерогенное действие бромата калия в питьевой воде на животных.

Показано, что это вещество обладает полиорганным влиянием, вызывая мезотелиому, опухоли почек и щитовидной железы. Наоборот, бромат натрия, изученный недавно в нестандартных биопробах на трансгенных моделях мышей, не выявил признаков канцерогенности [12, 62].

Kurokawa и соавт. (1983) [63] исследовали канцерогенность бромата калия, который вводили per os крысам линии F344. Крысы обоего пола (по 53 в группах) получали 250 или 500 mg/l бромата в питьевой воде (контроль дистиллированная вода) в течение 110 недель. Установлено сокращение среднего времени выживания для самцов в группе высокой дозы (88,1 ± 18,1 недель в группе высокой дозы при 104,5 ± 11,3 недель в контроле). Однако, на 104 неделе процент выживания составлял для всех групп самок 61,5% к 66,0 % в контроле и самцов 77,4 % в контроле при 20,8 % в группе высокой дозы. Авторы наблюдали значительно возрастание числа почечных опухолей для самцов и самок для обеих групп дозы и мезотелиом брюшины для самцов высокой дозы. Вывод состоял в том, что бромат калия является канцерогеном для крыс линии F344 при оральном дозировании.

Kurokawa и соавт. (1986a) [64] далее представили характеристику зависимости «доза – ответ» для бромата калия на крысах-самцах линии F344. Крысы в группах по 20 – 24 получали бромат калия с питьевой водой в концентрациях 0, 15, 30, 60, 125, 250 и 500 mg/l в течение 104 недель. Обнаружено значительное сокращение времени выживания и уменьшение прибавления в весе при самой высокой дозе. Исследователи отметили образование почечных опухолей и аденом, но не аденокарцином, которое значительно превышало контроль, в зависимости от дозы при концентрациях 125, 250 и 500 mg/l бромата калия. Отмечено значительное увеличение очагов дисплазии в почке при концентрациях 30 mg/l и выше в зависимости от дозы. **Выявлены брюшинные мезотелиомы при 30 mg/l и выше со значительным увеличением при 500 mg/l.** Фолликулярные аденомы и аденокарциномы щитовидной железы были значительно увеличены при 500 mg/l.

Kurokawa и соавт. (1986b) [61] исследовали канцерогенные эффекты бромата калия на крысах линии F344 в группах 52 – 53 самцов и 52 самок. Животные получали бромат калия в питьевой воде в концентрациях 0, 250 и 500 mg/l в течение 110 недель. **Установлено значительное ингибирование привеса и более низкая выживаемость при 500 mg/l у самцов.** Авторы наблюдали значительные увеличения почечных опухолей, почечных аденокарцином и почечных аденом при обеих дозах для обоих полов; фолликулярных аденокарцином и аденом щитовидной железы у самцов при высокой дозе и брюшинной мезотелиомы у всех самцов в опытных группах.

С целью изучения зависимости между продолжительностью воздействия бромата калия и образованием опухолей, Kurokawa и соавт. (1987) [65], провели исследование на шестинедельных крысах самцах линии F344. В первом исследовании 10 группам из 8 – 20 крыс давали дистиллированную воду или 500 mg/l бромата калия в течение 13, 26, 39, 52 и 104 недели до выведения из эксперимента. Среднее суточное потребление составило $41,9 \pm 3,2$ mg/kg-d бромата калия. Среднее время выживания крыс, получающих бромат калия непрерывно в течение 104 недель, было значительно короче, чем в контроле ($84,1 \pm 12,0$ и $103,6 \pm 3,5$ недели соответственно, $p < 0,001$). По сравнению с контролем отмечено значительное ингибирование прибавления в весе у крыс за 104 недели с самой длинной продолжительностью экспонирования бромата калия ($330,0 \pm 64,5$ и $358,7 \pm 84,1$, $p < 0,001$). Гистопатологическая экспертиза тканей показала, что какие-либо новообразования или подобные изменения отсутствовали только у крыс в контроле. Обнаружены очаги дисплазии в почках и почечные аденомы у крыс, подвергнутых действию бромата калия непрерывно в течение 26 недель или дольше (вероятность образования опухолей составляла 5 – 95 % для 26-104-недельного экспонирования). Помимо этого, почечные аденомы и аденокарциномы обнаружены у трех и шести из 20 крыс соответственно после 104 недель непрерывного экспонирования. Фолликулярные аденомы щитовидной железы развивались на 26, 39 и 52 неделе; фолликулярные аденомы и аденокарциномы щитовидной железы обнаружены у пяти и двух из 20 крыс после 104 недель непрерывного экспонирования. Эозинофильные включения в ткани почки найдены у крыс, которые непрерывно получали бромат калия в течение 13 – 104 недель.

Kurokawa и соавт. (1987) [65] также провели исследования на четырех группах из 14 – 20 крыс, которые получали 500 mg/l бромата калия в течение 13, 26, 39 и 52 недель, после чего их переводили на дистиллированную воду до выведения из эксперимента на 104 неделю. Авторы сообщили, что среднее время выживания крыс в опытных группах было значительно короче, чем в контроле ($96,5 \pm 10,1$ и $84,8 \pm 19,6$ недель для 13-недельного и 52-недельному экспонирования при $103,6 \pm 3,5$ недели для контроля, $p < 0,05$). Гистопатологическая экспертиза тканей показала наличие к концу эксперимента у всех крыс опытных групп почечных аденом и аденокарцином. Сочетание почечных аденом и аденокарцином в этих группах было значительно выше, чем в контроле с дистиллированной водой (47 % и 64 % в опытных группах и 0 % в контроле, $p < 0,001$). Увеличение почечных диспластических очагов или сочетание почечных аденом и аденокарцином увеличивались по мере возрастания продолжительности экспонирования бромата калия. В щитовидной

железе сочетание фолликулярных аденом и аденокарцином было значительно выше у крыс, подвергнутых воздействию бромата калия в течение 26 недель (32 %) или 52 недели (36 %), чем в контроле (0 %). В брюшине идентифицированы мезотелиомы во всех опытных группах после прекращения введения бромата калия (30 – 42 % при 0 % в контроле, $p < 0,01$). В яичке независимо от обработки и продолжительности экспонирования к концу эксперимента у почти всех крыс отмечены промежуточные опухоли, появление которых, по мнению авторов, не зависело от поступления бромата калия. Кальцификаты в почечных лоханках установлены у всех крыс с непрерывным или прекращенным введением бромата калия. Анализируя эти результаты, авторы заключили, что более высокая доза бромата калия в пределах более короткого промежутка времени была более канцерогенно активной, чем более низкая доза за более длинный период. Эти исследования продемонстрировали, что бромат калия является полным канцерогеном для почек.

Авторы рассчитали TD_{50} бромата калия 6 mg/kg-d , а виртуальной безопасной дозой (virtually safe dose VSD) является $0,038 \text{ mg/kg-d}$. Это означает, что при уровне поступления с питьевой водой бромата калия в концентрации $0,95 \text{ mg/l}$ канцерогенный риск составляет один на миллион.

DeAngelo и соавт. (1998) [49] исследовали канцерогенность бромата калия на крысах самцах. 78 крыс самцов линии F344/N были ранжированы на пять групп с концентрациями бромата в питьевой воде 0, 20, 100, 200 и 400 мг/л. Продолжительность эксперимента составила 100 недель. Крысы содержались по три в клетке, у них был неограниченный доступ к воде. Определены средние ежедневные дозы бромата 0; 1,5; 7,9; 16,9 и 37,5 mg/kg-d , что при молекулярном весовом соотношении $\text{BrO}_3^- / \text{KBrO}_3$ (127,9/167,0) эквивалентно дозам бромата калия 0; 1,1; 6,1; 12,9 и 28,7 mg/kg-d .

Полный набор результатов со всеми доступными индивидуальными данными животных был получен DeAngelo в 2006 г. [66] Популяция состояла из 270 крыс, которых выводили из эксперимента на 100 неделе. 120 крыс, не включенных в эту популяцию, дополнительно выводили на 12, 26, 52 и 77 неделе (по шесть в каждой опытной группе).

Наблюдалось связанное с дозой уменьшение времени выживания и увеличение частоты мезотелиом, опухолей щитовидной железы и почечных опухолей. DeAngelo и соавт. (1998) [49] также сообщали о статистически значимом увеличении частоты почечных опухолей у мышей-самцов в группе низкой дозы, но эффект с дозой связан не был.

Takamuga и соавт. (1985) [67] исследовали влияние бромата калия в питьевой воде на сирийских золотистых хомячках (группы по 20

самцов с концентрациями 125, 250, 500 и 2 000 мг/л) в течение 89 недель. Средний заключительный вес животных в группе высокой дозы был значительно ниже контроля, а средний абсолютный и относительный вес почек значительно выше в двух группах самой высокой дозы, чем в контроле. Авторы не отметили очевидных различий во времени выживания среди групп. У семи из 75 грызунов в опытных группах обнаружены почечные аденомы: 1, 2, и 4 в группах с дозой 250, 500 2 000 мг/л соответственно. Авторы связывают появление аденом воздействием бромата калия, особенно в контексте низкой вероятности такой патологии у этой разновидности лабораторных животных.

Kurata и соавт. (1992) [68] оценивали канцерогенез бромата калия в единственной максимально допустимой дозе 300 мг/kg, которую вводили интрагастрально шестинедельным крысам самцам линии F344/NCr. Начиная с двух недель, группам крыс по 39 в опыте и контроле вводили в основной рацион 4 000 мг/л медунала как промотора. Животных выводили из эксперимента на 30, 52, 104 неделю. На 30 неделе авторы наблюдали развитие нефропатии у всех крыс в опытных группах, получавших бромат калия с последующим введением медунала и получавших только медунал, но не у крыс, подвергнутых воздействию одного только бромата калия. С 47 недели до конца исследования у этих животных отмечены диспластические очаги в канальцах почек, которые они связывали с нефропатией. Авторы предположили, что эта доза (300 мг/kg) не инициировала почечный канцерогенез.

В заключительном отчете NTP (2007) [12] относительно канцерогенности бромата натрия на двух разновидностях генетически модифицированных мышей отмечается следующее. Эти исследования включали 26- и 39-недельное изучение кожно-резорбтивного действия на гемизиготных мышцах Tg. AC, 27- и 43-недельное влияние питьевой воды на этих же мышцах и гаплоинсуфициентных мышцах p53. Какое либо доказательство канцерогенности бромата натрия не наблюдалось.

Конкретные результаты этих исследований состоят в следующем.

Исследователи дермальной токсичности применяли 0, 64, 128 и 256 мг/kg-d бромата натрия в этиловом спирте/воде пять дней в неделю в течение 26 недель (группы по 15 самцов и самок гемизиготных мышей Tg. AC). Аналогично дозировали в дополнительных группах по 10 самцов и самок гемизиготных мышей Tg. AC в течение 39 недель. Не отмечено увеличения неоплазий у подопытных животных.

Группы по 15 особей гемизиготных мышей Tg. AC каждого пола были подвергнуты воздействию бромата натрия в концентрациях 0, 80, 400 и 800 мг/л в питьевой воде в течение 27 недель. Расчеты показали, что эти концентрации были эквивалентны средним ежедневным дозам

приблизительно 0, 13, 63 и 129 mg/kg-d для самцов и 0, 15, 72 и 148 mg/kg-d для самок. В дополнительном эксперименте группы по 10 мышей каждого пола были подвергнуты действию бромата натрия в концентрациях 0, 80, 400 и 800 mg/l в течение 43 недель; средние ежедневные дозы составили 0, 11, 52 и 131 mg/kg-d для самцов и 0, 15, 65 и 152 mg/kg-d для самок. Абсолютный вес почек был уменьшен при 800 mg/l у самок, относительный вес почек увеличен при 400 и 800 mg/l у самцов за 27 недель. Абсолютный вес яичка был значительно уменьшен при 800 mg/l у самцов за 43 недели. Сообщается о других токсических эффектах для почек и щитовидной железы. Увеличение неоплазий не констатированы ни у самцов, ни у самок.

Группы по 15 особей р53 гаплоинсуфициентных мышей каждого пола были подвергнуты воздействию бромата натрия в концентрациях 0, 80, 400 и 800 mg/l в питьевой воде в течение 27 недель. Концентрации были эквивалентны средним ежедневным дозам приблизительно 0, 8, 39 и 74 mg/kg-d для самцов и 0, 13, 72 и 136 mg/kg-d для самок. Дополнительно, группы по 10 мышей каждого пола были подвергнуты действию тех же концентраций в течение 43 недель, при этом приблизительные ежедневные дозы составили 0, 7, 37 и 65 mg/kg-d для самцов и 0, 11, 58 и 107 mg/kg-d для самок. Установлено, что выживание опытных групп было подобно контрольной. Средний вес тела самок в группах 400 и 800 mg/l были меньше контроля в большинстве исследований. Каких-либо неоплазм или не относящихся к новообразованию повреждений не обнаружено.

Графические зависимости канцерогенеза бромата представлены на рис. 5.2.

В резюме отчета NTP (2007) [12] отмечено следующее: “Эти исследования свидетельствуют об отсутствии потенциальной токсичности и канцерогенности бромата натрия при использовании чувствительных трансгенных линий мышей как экспериментальных моделей”.

5.2.2 Токсикологические эффекты у человека

5.2.2.1 Острая токсичность

Большая часть информации относительно токсических эффектов бромата у человека относится к острым отравлениям. Острые признаки включают тошноту, рвоту, диарею и боль в эпигастрии, что сопровождается анурией, олигурией, депрессией центральной нервной

системы, звоном в ушах, глухотой и почечной недостаточностью [32, 69]. Kurokawa и соавт. [32] (1990) приводят многочисленные описания (31 случай) острых отравлений человека из-за случайного или намеренного приема внутрь бромата калия. Случайные интоксикации отмечены обычно у детей, проглатывающих содержащие бромат средства ухода за волосами; у взрослых это, главным образом, самоубийства или попытка самоубийства парикмахеров. Авторы сообщали, что диапазон отравляющих доз составляет 12 – 50 грамм (без ссылки на веса тела), из 24 случаев у взрослых девять были фатальными.

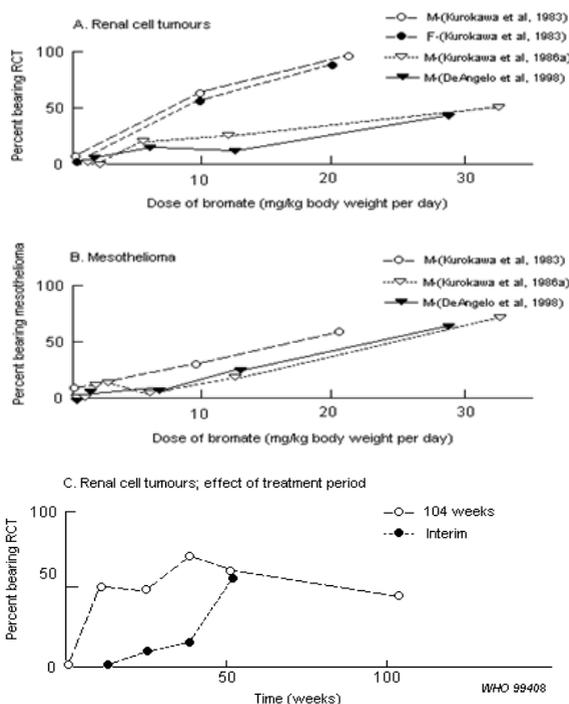


Figure 7. Bromate carcinogenesis in F344 rats.

Data were obtained from four studies: Kurokawa et al. (1983, 1986a, 1987a) and DeAngelo et al. (1998). The effective number of animals per treatment group was 46-53 in the first study, 19-24 in the second, 14-20 in the third and 30-49 in the fourth. Panel A displays the dose-response data for renal cell tumour induction (adenoma plus adenocarcinoma) at terminal sacrifice (up to 104 weeks of treatment). Panel B depicts the induction of mesothelioma in male rats under the same conditions (females did not develop mesothelioma). Panel C depicts the tumour development seen with varying durations of treatment with 500 mg of potassium bromate per litre of drinking-water (29.6-35.5 mg of bromate per kg of body weight per day). Open symbols represent animals that were treated for the indicated period, then placed on distilled water for the remainder of the experiment. All animals were sacrificed at 104 weeks. Solid symbols represent the incidence of tumours when animals were sacrificed at the indicated intervals. Abbreviations used: RCT = renal cell tumours; M = males; F = females.

Рис. 5.2. Графические зависимости канцерогенеза бромата

Кауа и Топактас (2007) [70] провели биопробы *in vitro* на гено- и цитотоксичность бромата калия на культуре лимфоцитов крови человека. Обмен сестринской хроматиды (SCE), хромосомные aberrации (СА), индекс пролиферации (PI), митотический индекс (МИ) и микроядра оценивали в клетках, обработанных броматом калия в концентрациях 400, 450, 500 и 550 $\mu\text{g/ml}$ в течение 24 или 48 часов. Митомицин-С использовался как надежный контроль. Бромат калия в концентрациях 400 – 550 $\mu\text{g/ml}$ вызывал статистически значимые увеличение SCE и уменьшение PI после 48-часовой инкубации; увеличение СА и уменьшение МИ при 24-часовых и 48-часовых инкубационных периодах; формирование микроядер при концентрациях 500 и 550 $\mu\text{g/ml}$ за 24-часовую инкубацию и при всех концентрациях за 48-часовую инкубацию. Авторы заключают о возможности индукции броматом калия формирования опухоли вследствие разрывов спирали ДНК. Хроматида и хромосомные разрывы (структурный СА) и, в меньшей степени, число СА были преобладающими механизмами генотоксического действия бромата калия в испытанной модельной системе.

Аналогично Луан и соавт. (2007) [71] провели исследование генотоксичности бромата калия *in vitro* на клетках лимфобластомы человека ТК6. Острое воздействие вызвало двунитевые разрывы ДНК. Также установлен положительный микроядерный тест и позитивная реакция при анализе генной мутации киназы тимидина в зависимости от дозы. Бромат калия вследствие генных мутаций вызывает дисрегуляцию стресса, апоптозы и повреждение генов, ответственных за репарацию ДНК. Вероятно, бромат калия вызывает значительное разрушение ДНК в клетках человека [46, 71], вместо ранее предложенной трансверсии GC > TA, вызванной накоплением 8-гидроксидиоксигуанозина [44].

5.2.2.2 Хроническая токсичность

В ОЕННА (Office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency) не найдено эпидемиологической информации, описывающей нераковые токсикологические или канцерогенные последствия длительного воздействия на человеческий организм броматов.

5.2.2.3 Нейротоксичность

В ОЕННА отсутствуют данные о нейротоксичности у человека при хроническом воздействии бромата. Однако, ассоциация острого воздействия высоких доз бромата с потерей слуха у людей хорошо известна

[55, 72]. Campbell (2006) [56] является автором академического обзора, посвященного ототоксичности бромата. Это касается, в частности нескольких ключевых вопросов:

Потеря слуха при приеме высоких доз бромата наступает быстро.

Фактические причины вызванной броматом потери слуха неизвестны, поскольку во многих случаях эта патология диагностируется как идиопатическая.

Вызванная броматом потеря слуха, вероятно, рефрактерна; звон в ушах может быть обратимым, а головокружение и звон в ушах могут предшествовать фактической потере слуха.

Первичный участок токсического повреждения, возможно, находится в улитке уха; потенциальное влияние на нерв VIII и центральную слуховую систему пока еще полностью не ясны.

Механизмы вызванной броматом ототоксичности полностью не исследованы.

Какая-либо достоверная информация о взаимосвязи воздействия низких доз бромата с ототоксичностью отсутствует.

Наиболее низкие дозы, связанные с ототоксичностью, не определены, из-за отсутствия информации о долгосрочном их воздействии [53, 56].

В ОЕННА отсутствует информация о воздействии броматов на иммунный статус или репродукцию и развитие.

5.2.3 Оценка ответа дозы

5.2.3.1 Влияние на нераковую патологию

Как отмечено выше, DeAngelo и соавт. (1998) [49] оценили хронические эффекты и канцерогенный потенциал бромата калия в питьевой воде у крыс самцов F344 и мышей B6C3F1 в течение 100 недель. Концентрации бромата составляли 0, 20, 100, 200 и 400 mg/l (0, 1,1, 6,1, 12,9 и 28,7 mg/kg-d). **Исследователи наблюдали не относящуюся к новообразованиям связанную с обработкой патологию в виде увеличения гиперплазий клеток почечных сосочков и лоханок, которое они назвали уротелиальной гиперплазией и описали как увеличение числа слоев уротелиальных клеток. Этот эффект обнаружен при дозе бромата 6,1 mg/kg-d, а NOAEL установлен на уровне 1,1 mg/kg-d. Это самый низкий уровень эффекта из доступных исследований токсичности. Поэтому ОЕННА выбрало этот уровень NOAEL как минимальный для бромата в питьевой воде.**

5.2.3.2 Канцерогенные эффекты

Биопробы по оценке влияния бромата на формирование рака у животных, которые потенциально полезны для анализа ответа дозы, были выполнены Kurokawa и соавт. (1983, 1986a, b, 1987); DeAngelo и соавт., 1998; Crosby и соавт., 2000; Wolf и соавт., 1998 [49, 61, 63-66, 73, 74]. DeAngelo и соавт. [49] использовали больше животных в группе дозы и включали больше групп в низкие дозы по сравнению с биопробами Kurokawa и соавт. Кроме того, индивидуальные данные по опухолям у животных были доступны только в экспериментах DeAngelo и соавт. [49]. Поэтому, результаты этих экспериментов были выбраны как наиболее соответствующие подходам U.S. EPA (2001, 2007) [75, 76].

Связанные с дозой увеличения частоты мезотелиом, опухолей щитовидной железы и почечных опухолей наблюдались у крыс самцов, подвергнутых действию бромата калия в питьевой воде [49, 73, 74]. DeAngelo и соавт. [49] также сообщали о статистически значимом увеличении почечных опухолей у самцов мышей при низкой дозе, хотя эффект с дозой не был связан. Исследования, обсуждаемые ниже, сосредоточены на крысах самцах как наиболее чувствительных.

DeAngelo и соавт. (1998) [49] отметили увеличение смертности с возрастанием дозы. Исследования предполагали учет потенциальной канцерогенности бромата для каждого органа, на который он воздействует; ранние случаи гибели животных; статистические распределения полученных результатов для каждого органа; оценку полной канцерогенности бромата путем статистического суммирования для отдельных органов.

Анализ ответа дозы был выполнен по данным на крысах самцах как наиболее чувствительных по полу/виду [49]. Оценивали влияние бромата калия на пяти группах из 78 крыс самцов линии F344/N с концентрациями в питьевой воде 0, 20, 100, 200 и 400 mg/l в течение 100 недель [49, 66]. Крысы размещались в клетке не более, чем по три, у них был неограниченный доступ к воде. Средние ежедневные дозы бромата калия составляли 0; 1,5; 7,9; 16,9 и 37,5 mg/kg-d, что в пересчете на бромат составило 0, 1,1, 6,1, 12,9 и 28,7 mg/kg-d.

DeAngelo и соавт. (1998) [49] сделали описание полного набора данных биопробы с броматом. Полный набор данных со всеми доступными индивидуальными данными по животным был получен DeAngelo в 2006 г. [66]. Популяция состояла из 270 крыс, которых выводили из эксперимента на 100 неделе. Помимо этого 120 крыс выводили из эксперимента на 12, 26, 52 и 77 неделе (по шесть каждый раз в опытных группах).

DeAngelo и соавт. (1998) [49] обсудили причину летальности только для группы самой высокой дозы, где была “значительная депрессия прибавления в весе”. Без подробной информации о подозреваемых причинах летальности изученных крыс для каждого участка контекст опухоли был установлен как “случайный” при наличии доброкачественной опухоли, “фатальный”, если присутствовала злокачественная опухоль, или “сомнительный”, если какая – либо опухоль отсутствовала. В случае мезотелиом все, как и предполагалось, были злокачественными и были установлены как “фатальные”. Животные удалялись из анализа при отсутствии какой-либо органоспецифической патологии. Из 387 крыс у 50 животных были мезотелиомы, 37 “сомнительные”. У двадцати восьми животных обнаружены опухоли щитовидной железы, 83 “сомнительные”. У двадцати девяти животных выявлены почечные опухоли, 64 “сомнительные”. Результаты экспериментов, где опухоли не выявлены, представлены в табл. 5.2.3; выявленные опухоли после исключения из общего числа животных, у которых опухоли не выявлены – в табл. 5.2.4.

Прижизненная вероятность смерти, индуцированной опухолью, при средней ежедневной дозе (d) описывается многоступенчатой моделью:

$$P(d) = 1 - \exp[-(q_0 + q_1 d + q_2 d^2 + \dots + q_i d^i)] \quad (1)$$

где $q_i \geq 0$ для всех i . Параметры q_i оценены от данных биопроб рака у животных с использованием методики максимальной вероятности. Параметр q_0 обеспечивает оценку фоновой прижизненной сферы действия опухоли. Параметр q_1 , относится к малым дозам, как отношение риска прижизненного рака к среднему числу рака при ежедневном воздействии.

Таблица 5.2.3

Число крыс-самцов в опытных группах, где опухоли не выявлены [66]

Доза бромата, mg/kg-d	Число животных без опухолей		
	Мезотелиома	Почки	Щитовидная железа
0	7/78	9/78	18/78
1,1	5/78	11/78	14/78
6,1	6/78	7/78	12/78
12,9	8/78	15/78	17/78
28,7	11/77	22/77	22/77
Общее количество	37	64	83
Общее количество в опыте	389	389	389

Поскольку выживание крыс самцов в исследованиях DeAngelo и соавт. 1998; Crosby и соавт., 2000; Wolf и соавт., 1998 [49, 73, 74] было недостаточным, многоступенчатая модель, возможно, не обеспечивает точное основание для оценки риска рака. Поэтому, был выполнен time-dependent анализ с использованием многоступенчатой модели Weibull- in-time. Эта модель, как распространение формы в уравнении 1, выражает вероятность опухоли во времени t:

$$P(t,d) = 1 - \exp[-(q_0 + q_1d + \dots + q_jd^j)(t - t_0)^k]$$

с $q_i > 0$ для всех i , и $0 < t_0 < t$,

где t_0 обычно интерпретируется как период ожидания, а k – показатель возрастной экспоненты. В этом случае, полученный канцерогенный потенциал для животных с применением максимальной вероятности предполагает моделирование подхода для оценки параметров (q_i , t_0 , и k) и распределения q_i . Канцерогенный потенциал для животных, q_{animal} , определен с учетом 95 %- ного доверительного интервала, привязанного к q_i , оцененного за 104 недели, которые составляют стандартную продолжительность жизни крыс.

Таблица 5.2.4

Число случаев опухолей у крыс самцов в результате воздействия бромата в питьевой воде [66]

Доза бромата, mg/kg-d	Случай опухоли		
	Мезотелиома	Аденома или карцинома почек	Аденома или кар- цинома щитовид- ной железы
0	0/71	1/69	0/60
1,1	4/73	1/67	4/64
6,1	5/72	6/71	2/66
12,9	10/70	3/63	5/61
28,7	31/67	18/56	17/56

Для получения потенциала рака для человека на основании данных экспериментов с животными предполагалось, что доза (например, в mg) на вес тела в % распространяется на всех теплокровных, включая человека. Этот % приводит к следующему уравнению для экстраполяции факторов рака у животных на человека:

$$q_{\text{human}} = q_{\text{animal}} \times (bw_{\text{human}} / bw_{\text{animal}})^{1/4} \quad (2)$$

где bw_{human} – средний вес тела человека (70 кг), и bw_{animal} – вес тела животного в килограммах (kg). ОЕННА оценили вес тела крысы самца в контроле, основываясь на данных DeAngelo и соавт. (1998) [53], приблизительно как 0,4 kg, что сопоставимо с аналогичными данными U.S. EPA (2001) [75].

Результаты

Оценка фактора рака (q_{human}) различных опухолей показана в табл. 5.2.5 (по данным ОЕННА) и табл. 5.2.6 (по данным U.S. EPA, 2001) [75].

Таблица 5.2.5

Потенциальность рака для человека и значения LED_{10} для бромата

Тип опухоли	q_{human} , mg/kg-d		LED_{10} , mg/kg-d
	Медиана	95%	Ниже 95%
Мезотелиома	0,017	0,13	1,1
Аденома или карцинома почек	0,074	0,11	0,96
Аденома или карцинома щитовидной железы	~0	0,054	2,0
Многочисленные локализации	0,11	0,21	0,55

Таблица 5.2.6

Потенциальность рака для человека и значения LED_{10} для бромата по сообщению U.S. EPA (2001) [75]

Тип опухоли	q_{human} , mg/kg-d		LED_{10} , mg/kg-d
	Медиана	95%	Медиана
Мезотелиома	0,27	0,54	0,20
Аденома или карцинома почек	0,08	0,18	0,59
Аденома или карцинома щитовидной железы	0,05	0,10	1,1
Многочисленные локализации ^a	0,41	0,70	0,15

^a значения представлены по расчетам ОЕННА.

Средние и верхние 95%-ые оценки фактора рака рассчитаны для индивидуальных и комбинированных опухолей. Представлен также показатель LED_{10} , который представляет оценку нижнего предела средней

прижизненной дозы, связанной с риском рака на 10%; вычислен с использованием аппроксимирования $LED_{10} = -\ln(0,9)/q_{\text{human}}$, где q_{human} – связанный к q_1 верхний 95%-ный доверительный интервал после коррекции различий в размере между подопытными животными и человеком.

Оценка потенциальности рака 0,21 (mg/kg-d) у крыс самцов выбрана как самая соответствующая для бромата. Эта оценка основывалась на данных об опухолях для мезотелиомы, опухолей почек и щитовидной железы у крыс самцов.

5.2.3.3 Вычисление эффектов нерака PHG

Для оценки защищающей здоровье (health-protective) концентрации любого ксенобиотика в питьевой воде сначала рассчитывают его приемлемую ежедневную дозу из всех источников. Это включает соответствующие оценки неопределенности в экстраполяции критической токсической дозы на человека по данным исследований на животных с учетом того, что ежедневная доза в течение целой жизни вряд ли приведет к любым токсическим эффектам. С этой целью, используют следующее уравнение:

$$ADD = \frac{\text{NOAEL/LOAEL in mg/kg-day}}{UF}$$

где,

ADD = приемлемая ежедневная доза, предполагающая максимум ежедневного потребления человеком в течение всей жизни без токсических эффектов;

NOAEL/LOAEL = уровень «отсутствия наблюдаемого неблагоприятного эффекта» или «самого низкого наблюдаемого неблагоприятного эффекта»;

UF = комбинированный фактор неопределенности.

Вычисление health-protective концентрации (C, mg/l) для ксенобиотика в питьевой воде включает ADD в следующее уравнение для неканцерогенных конечных точек:

$$C = \frac{\text{ADD mg/kg-day} \times \text{RSC}}{1/\text{kg-day}}$$

где,

RSC = относительный исходный вклад (обычно 20 – 80 %, выраженных как 0,20 – 0,80);

l/kg-d = 95%-ая вероятность ежедневного потребления водопроводной воды в популяции для этого случая.

Согласно DeAngelo и соавт. (1998) [49], нераковый NOAEL для бромата = 1,1 mg/kg-d, что основано на уротелиальной гиперплазии у крыс самцов. UF составляет 100, что подразумевает 10 для внутривидовых и 10 для межвидовых различий. Таким образом, рекомендуемая приемлемая ежедневная доза:

$$ADD = \frac{1,1 \text{ mg/kg-day}}{100} = 0,011 \text{ mg/kg-day}$$

Воздействие бромата с пищевыми продуктами может быть значительным, а концентрации, найденные в воде, являются обычно малыми. Таким образом, речь идет о многочисленных и многократных источниках воздействия. Однако, данных оценки RSC пищи и питьевой воды недостаточно, поэтому это значение по умолчанию 0,2 (20 %) считают наиболее соответствующим для воздействия питьевой воды.

Что касается нормы потребления воды, ОЕННА использует верхнюю 95 %-ую вероятность для общей популяции, а именно 0,044 l/kg-d на основе данных U.S. EPA (2004) [77]. Концентрация (C, mg/l), гарантирующая защиту здоровья потребителей при употреблении для питья воды (health-protective) для неракового воздействия бромата в питьевой воде рассчитывается следующим уравнением:

$$C = \frac{0,011 \text{ mg/kg-day} \times 0,2}{0,044 \text{ l/kg-day}} = 0,05 \text{ mg/l} \times \frac{1000 \text{ ppb}}{\text{mg/l}} = 50 \text{ ppb}$$

5.2.3.4 Канцерогенные эффекты

ОЕННА оценивает концентрацию health-protective бромата в питьевой воде для защиты против потенциальных канцерогенных эффектов согласно следующему уравнению:

$$C = \frac{R}{q_{\text{human}} \times \text{l/kg-day}} = \text{mg/l}$$

где,

R – минимальный уровень прижизненного индивидуального риска рака (один случай на миллион или 10^{-6});

q_{human} – фактор рака, исходя из верхней границы 95 %-ного доверительного интервала (q_1), эквивалентный человеку;

l/kg-day – верхняя граница 95 %-ного доверительного интервала потребления муниципальной воды для генеральной совокупности, или 0,044 l/kg-d (U.S. EPA, 2004) [77].

Таким образом, предполагаемая концентрация в питьевой воде, соответствующая риску рака один случай на один миллион с учетом потенциальной канцерогенности бромата:

$$C = \frac{1 \times 10^{-6}}{0,21 (\text{mg/kg-day})^{-1} \times 0,044 \text{ l/kg-day}} = 0,00011 \text{ mg/l}$$

$$C = 0.0001 \text{ mg/l (rounded)} \times \frac{1000 \text{ ppb}}{\text{mg/l}} = 0,1 \text{ ppb}$$

Для защиты всей популяции от канцерогенного риска воздействия бромата в питьевой воде эта округленная концентрация (0,1 ppb = 0,1 µg/l) используется как Public Health Goal (PHG) (Цель общественного здоровья) для бромата в питьевой воде. Поскольку это значение намного ниже значения нерака, популяция будет также защищена против эффектов нерака на этом уровне воздействия. Как показали оценки, PHG является профилактической для любой известной чувствительной популяции, включая беременных женщин, новорождённых, младенцев, детей и пожилых. Риски 10^{-5} и 10^{-4} связаны с прижизненным экспонированием концентраций 1 ppb и 10 ppb, соответственно.

Значение 0,1 ppb, как PHG, ОЕННА является самым сопоставимым MCLG (максимальный уровень загрязнения питьевой воды) U.S. EPA, однако намного ниже MCL (максимально допустимый уровень загрязнения воды) – 10 ppb. Американское EPA регламентирует MCL на уровне риска 1×10^{-4} (U.S. EPA, 1998) [78] и значение, фактически вычисленное для бромата, составляло, очевидно, 5 ppb. Оно было затем увеличено до 10 ppb для доступности аналитическим методам и регулирующий уровень был основан на практическом пределе количественного анализа (practical quantification limit) (PQL).

5.2.3.4 Другие регулирующие стандарты

MCLG U.S. EPA для бромата в питьевой воде составляет ноль и основывается на канцерогенности. MCL установлен на уровне 10 ppb, что обусловлено PQL [82].

Согласно заключению Международного агентства исследования рака [15] “существуют неадекватные доказательства канцерогенности бромата калия для человека при наличии достаточного количества фактов у подопытных животных. Поэтому общая оценка такова: бромат калия является возможным канцерогеном для человека (группа 2B)” [15].

Доступные регулирующие стандарты изложены в табл. 5.2.7.

Таблица 5.2.7

Регулирующие стандарты для бромата

Агентство	Стандарт или критерий	Уровень	Комментарий
U.S. EPA	MCL	10 ppb	Основан на PQL
U.S. EPA	MCLG	0 ppb	Целевой, основан на канцерогенности
California DPH	MCL	10 ppb	Основан на MCL U.S. EPA
FDA		50 ppm	KBrO ₃ в муке или крупе
FDA		75 ppm	KBrO ₃ в муке и солоде для производства ферментированных напитков, солода или спиртов – ректификатов
FDA	MRDL ^a	10 ppb ^a	Бромат в бутилированной воде
Health Canada	IMAC ^b	10 ppb ^b	Основан на PQL

Примечания: ^aMRDL – максимальный уровень остаточного дезинфектанта;

^bIMAC – промежуточные максимальные приемлемые концентрации. Источники: [13, 28, 79, 80].

5.2.4 Пример оценки риска бромата

Примером оценки риска бромата может служить работа [81].

В этом исследовании оценены отдельно два типа рисков: канцерогенный риск и риск химический токсичности. Избыточный риск рака из-за приема бромата в бутилированной воде основывался на стандартном методе EPA [82].

5.2.4.1 Методология оценки избыточного риска рака

Индивидуальный избыточный риск рака (IECR) согласно [82] может быть оценен следующим уравнением

$$IECR = UR_0 \times C_{bw}$$

где UR_0 – фактор риска в $\mu\text{g/l}$ из-за приема питьевой воды, согласно US EPA $UR_0 = 2 \times 10^{-5}$ ($\mu\text{g/l}$);

C_{bw} – предполагаемая концентрация бромата в бутилированной воде, $\mu\text{g/l}$.

5.2.4.2 Методология химической оценки риска

Для оценки химического риска токсичности бромата как прижизненной средней ежедневной дозы (lifetime average daily dose) (LADD) использовано соответствующее уравнение, которое сравнивали с референтной дозой (RfD) $0,372 \mu\text{g/kg-d}$, полученной на основе максимального приемлемого уровня бромата ($10 \mu\text{g/l}$) в питьевой воде согласно руководству US EPA, 1999 [83].

Норма приема воды была установлена 2 l/d , что соответствует уровню верхнего предела для ежедневного приема питьевой воды внутрь взрослыми в течение 350 дней [84].

Средняя продолжительности жизни мужчин и женщин в Индии по данным [85] составила 63,7 года (23250 дней), средний вес тела $51,5 \pm 8,5 \text{ kg}$ [86].

Фактор опасности (HQ) и риск химической токсичности (LADD) в результате приема бутилированной воде вычислены следующими формулами:

$$HQ = \frac{LADD}{RfD}$$

$$LADD(\mu\text{g/kg/day}) = \frac{C_i \times IR \times EF \times LE}{BW \times AT}$$

где, C = концентрация бромата в бутилированной воде, $\mu\text{g/l}$; IR = норма приема воды (l/d);

EF = частота экспонирования, дни/год;

LE = продолжительность жизни (годы);

B = среднее время (дни);

BW = вес тела (kg);

RfD = референтная доза, $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{d}$; $LADD$ = прижизненная средняя ежедневная доза, $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{d}$.

Физико-химические исследования образцов бутилированной воде показали следующее: рН воды был несколько щелочным и колебался в узких пределах 7,1 – 7,3; общая минерализация 150 – 170 **mg/l**; **концентрация** основных ионов была намного ниже допустимых индийских нормативов [87].

Уровни бромидов и броматов в бутилированной воде представлены в табл. 5.2.8.

Средняя концентрация бромидов и броматов в различных образцах составляла 11,17 $\mu\text{g}/\text{l}$ (диапазон: 2 – 30 $\mu\text{g}/\text{l}$) и 28,13 $\mu\text{g}/\text{l}$ (диапазон: 6 – 65 $\mu\text{g}/\text{l}$) соответственно. Среднее отношение $\text{BrO}_3^-/\text{Br}^-$ было равно 0,43 с диапазоном 0,16 – 0,62, тогда как согласно кинетике реакции должно быть 1,6, поскольку 62,5 % (6,25 $\mu\text{g}/\text{l}$) бромидов в бутилированной воде необходимы для образования броматов при озонировании для превышения минимального уровня загрязнения (10 $\mu\text{g}/\text{l}$). **Фактическое формирование** броматов колебалось от 0,45 % до 39,06 % со средним значением 25,86 % против предсказанной концентрации.

В табл. 5.2.8 представлены эти данные для различных областей Индии и расчет избыточного риска рака и химической токсичности. Сокращение уровней броматов объясняется формированием гипобромит-ионов (OBr^-), поскольку в диапазоне рН 7 – 8 только 1 % – 10 % бромноватистой кислоты (HOBr) (в форме OBr^-) принимает участие в реакциях с молекулярным озоном [88]. Окисление бромноватистой кислоты озоном происходит очень медленно, что не способствует значительному формированию броматов.

Кроме того, концентрация броматов также зависит от количества бромидов в исходной воде, концентрации озона и продолжительности контакта.

Для расчета корреляции бромидов и броматов в бутилированной воде использовались коэффициенты корреляции Pearson, которые показали достаточно высокую степень корреляции с коэффициентом (r) = 0,78 с точкой пересечения +2,17 и наклоном +0,31 (рис. 5.2.2). Это указывает, что содержание броматов определялось, главным образом, бромидом.

Таблица 5.2.8

Результаты исследований бромидов и брома в бутилированной воде

Код бутилированной воды	Город	Концентрация, Br µg/l	Концентрация, BrO ₃ µg/l	Отношение BrO ₃ ⁻ / Br ⁻	(% формирования BrO ₃ ⁻)	Избыточный риск рака (×10 ⁻⁴)	Химический риск	
							LADD, µg/kg-d	HQ, фактор опасности
1	2	3	4	5	6	7	8	9
BW-1	Mumbai	36	22	0,61	38,19	4,40	0,818	2,2
BW-2	Mumbai	11	4	0,36	22,72	0,80	0,149	0,4
BW-3	Mumbai	62	10	0,16	10,08	2,00	0,372	1
BW-4	Mumbai	32	12	0,37	23,43	2,40	0,446	1,2
BW-5	Mumbai	10	6	0,59	37,50	1,20	0,223	0,6
BW-6	Mumbai	10	5	0,50	31,25	1,00	0,186	0,5
BW-7	Mumbai	31	16	0,52	32,25	3,20	0,595	1,6
BW-8	Mumbai	59	13	0,22	13,77	2,60	0,484	1,3
BW-9	Mumbai	22	9	0,41	25,56	1,80	0,335	0,9
BW-10	Mumbai	53	24	0,43	27,12	4,80	0,855	2,3
BW-11	Mumbai	8	2	0,25	15,62	0,40	0,074	0,2
BW-12	Pune	16	10	0,62	39,06	2,00	0,372	1
BW-13	Bangalore	39	20	0,51	32,05	4,40	0,744	2
BW-14	Bangalore	17	6	0,35	22,05	1,20	0,223	0,6
BW-15	Bangalore	6	3	0,50	31,25	0,60	0,111	0,3
BW-16	Chennai	21	12	0,57	35,71	2,40	0,446	1,2
BW-17	Hydera-bad	7	2	0,28	17,85	0,40	0,074	0,2
BW-18	Surat	39	8	0,20	12,82	1,60	0,298	0,8
BW-19	Surat	8	5	0,62	39,06	1,00	0,186	0,5

1	2	3	4	5	6	7	8	9
BW-20	Surat	35	9	0,26	16,07	1,80	0,335	0,9
BW-21	Surat	9	5	0,56	34,72	1,00	0,186	0,5
BW-22	Baroda	18	11	0,61	38,19	2,20	0,409	1,1
BW-23	Baroda	57	26	0,46	28,50	5,20	0,967	2,6
BW-24	Ahmada-bad	33	9	0,27	17,04	1,80	0,335	0,9
BW-25	Jaipur	15	7	0,46	29,16	1,40	0,260	0,7
BW-26	Delhi	10	5	0,50	31,25	1,00	0,186	0,5
BW-27	Delhi	65	30	0,46	28,84	6,00	1,116	3
BW-28	Dehradun	29	14	0,48	30,17	2,80	0,521	1,4
BW-29	Shimla	38	17	0,45	27,96	3,40	0,632	1,7
BW-30	Alahabad	41	8	0,19	12,19	1,60	0,297	0,8
BW-31	Patna	35	16	0,46	28,57	3,20	0,595	1,6

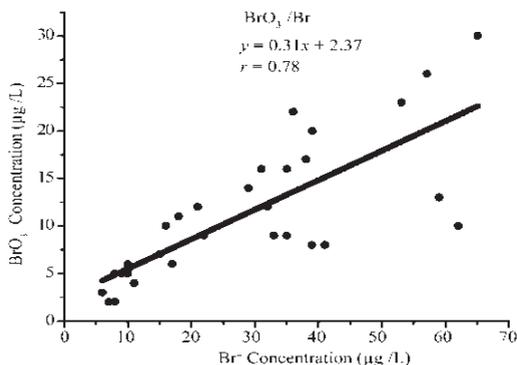


Рис. 5.2.2. Корреляционный анализ зависимости бромата от бромида в бутылированной воде

Расчет индивидуального избыточного риска рака в результате внутреннего приема бутылированной воды с измеренными концентрациями бромата при ежедневном потреблении в среднем 2 л/д в течение всей жизни (63,7 лет для взрослого индуса) колеблется в диапазоне $4 \cdot 10^{-5} - 6 \cdot 10^{-4}$ со средним значением $2,24 \cdot 10^{-4}$, что на порядок выше максимального приемлемого уровня ($2 \cdot 10^{-5}$) согласно директивам EPA. В худшем варианте (95 %), избыточный риск рака составляет 6 на 10 тысяч человек, что в 30 раз выше приемлемого риска.

5.2.4.3 Риск химической токсичности

Для оценки риска химической токсичности бромата прижизненную среднюю ежедневную дозу (LADD) бромата сравнивали с референтной дозой (RfD) 0,372 µg/kg-d и, таким образом, рассчитывали фактор опасности. Средняя величина LADD составила 0,414 µg/kg-d с диапазоном 0,074 – 1 116 µg/kg-d. Средний фактор опасности (LADD/RfD) был несколько выше 1, что указывает на определенную обеспокоенность с точки зрения химической токсичности. В худшем случае, основанном на очень консервативных предположениях (в 95 %), доза воздействия могла быть 0,967 µg/kg-d, что в 2 – 3 раза выше RfD. Основные статистические параметры рассчитанных рисков представлены в табл. 5.2.9.

В заключении авторы отмечают сравнительно высокий средний уровень воздействия бромата, что повышало химическую токсичность. Поэтому, предложено удаление бромида (как предшественника бромата) с использованием различных методов: мембранной фильтрации, ионного обмена, осаждения, озонлиза или ограничение формирования бромата во время озонирования путем уменьшения рН до 6,8 [89].

Из-за большого количества факторов, влияющих на формирование бромата, необходимо оптимизировать обработку, уравнивая преимущества и недостатки различных методов индивидуально для каждой технологической схемы очистки воды.

Таблица 5.2.9

Основные статистические параметры рисков бромата в индийской бутилированной воде

	Средняя	Медиана	Минимум	Максимум	Диапазон	5 %	25 %	75 %	95 %	Межкварти-льный диапазон (IQR)
Бромид (Br ⁻)	28,13	29	6	65	59	7	10	39	62	29
Бромат (BrO ₃ ⁻)	11,16	9	2	30	28	2	5	16	26	11
Избыточный риск рака (• 10 ⁻⁴)	2,24	1,84	0,40	6	5,6	0,40	1	3,2	5,20	2,20
Риск химической токсичности (LADD)	0,414	0,335	0,074	1,116	1,042	0,074	0,186	0,595	0,967	0,409
Фактор опасности (HQ)	1,113	0,90	0,2	3	2,8	0,2	0,5	1,6	2,6	1,2

ЛИТЕРАТУРА

1. Siddiqui M.S. Ozone-bromide interactions: Formation of DBPs / M.S. Siddiqui. – Tucson, Arizona, University of Arizona (Ph.D. Dissertation). – 1992.
2. Bromate ion removal by activated carbon / M.S. Siddiqui, W. Zhai, G.L. Amy [et al.] // Water Res. – 1996a. – V. 30, I. 7 – P. 1651 – 1660.
3. Formation and control of bromate during ozonation of waters containing bromide / S.W. Krasner, W.H. Glaze, H.S. Weinberg [et al.] // J. Am. Water Works Assoc. – 1993. – V. 85 – P. 73 – 81.
4. Siddiqui M.S. Factors affecting DBP formation during ozone-bromide reactions / M.S. Siddiqui, G.L. Amy // J. Am. Water Works Assoc. – 1993. – V. 85, N 1 – P. 63 – 72.
5. Threshold levels for bromate ion formation in drinking water / G. Amy, M. Siddiqui, K. Ozekin [et al.] // In: Proceedings of the International Water Supply Association Workshop, Paris. Boston, Massachusetts, Blackwell Scientific Publications. – 1993. – P. 169 – 180.

6. Survey on bromide in drinking water and impacts on DBP formation / G. Amy, M. Siddiqui, W. Zhai [et al.]. – Denver, Colorado, American Water Works Association (Report No. 90662). – 1994.
7. Hautman D.P. Using ion chromatography to analyze inorganic disinfection by-products / D.P. Hautman, M. Bolyard // J. Am. Water Works Assoc. – 1993. – V. 85, N 10 – P. 88 – 93.
8. Yamada H. By-products of ozonation of low bromide waters and reduction of the by-products by activated carbon / H. Yamada // In: Ozone in water and wastewater treatment – Proceedings of the Eleventh Ozone World Congress, San Francisco, California, 29 August – 3 September 1993. Lille, France, International Ozone Association. – 1993. – P. 9 – 58.
9. Bromide ion / bromate ion survey on different European water utilities / B. Legube, M. Bourbigot, A. Bruchet [et al.] // In: Proceedings of the International Water Supply Association Workshop, Paris. Boston, Massachusetts, Blackwell Scientific Publications. – 1993.
10. Kruithof J.C. Presence and formation of bromate ion in Dutch drinking water treatment / J.C. Kruithof, R.T. Meijers // In: Proceedings of the International Water Supply Association Workshop, Paris. Boston, Massachusetts, Blackwell Scientific Publications. – 1993. – P. 125 – 133.
11. WHO Bromate in drinking-water. Background document for preparation of WHO Guidelines for drinking-water quality. Geneva, World Health Organization (WHO/SDE/WSH/03.04/78). – 2003.
12. Natl. Toxicol. Program Genet. Modif. Model. Toxicology studies of sodium bromate (CAS No. 7789-38-0) in genetically modified (FVB Tg.AC Hemizygous) mice (dermal and drinking water studies) and carcinogenicity studies of sodium bromate in genetically modified [B6.129-Trp53tm1Brd (N5) haploinsufficient] mice (drinking water studies). – Rep. 2007. – 6. – P. 1 – 169.
13. Health Canada. Bromate. Guidelines for Canadian drinking water quality — supporting document. Ottawa, Ontario, Health Canada, Environmental Health Directorate, Health Protection Branch. – 1999. – 11 p.
14. Public Health Goal for Bromate in Drinking Water / Prepared Pesticide and Environmental Toxicology Branch Office, Office of Environmental Health Hazard Assessment, California Environmental Protection Agency. – 2009. – 61 p.
15. IARC. Potassium bromate. In: IARC Monograph on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Summary data report and evaluation. – 1999. – V.73. – P.481–496. Accessed at: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol73/volume73.pdf>.
16. Dupuis B. The chemistry and toxicology of potassium bromate / B. Dupuis // Cereal Foods World. – 1997. – V. 42, N 3 – P. 171 – 183.
17. IPCS. Potassium Bromate. WHO Food Additive Series 24. International Program on Chemical Safety. – 2006. Accessed at: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v024je03.htm>.
18. FDA (2007a). Chapter I, Subchapter B – Food for human consumption. Part 136 – Bakery products. Subpart B – Requirements for Specific Standardized Bakery Products. Food and Drug Administration, Washington, DC. Code of Federal

Regulations Title 21, Vol 2 (21 CFR 136.110). April 1, 2007. Accessed at: <http://www.gpoaccess.gov/cfr/retrieve.html>.

19. FDA (2007b). Chapter I, Subchapter B – Food for human consumption. Part 172 – Food additives permitted for direct addition to food for human consumption. Subpart H. Other specific usage additives. Food and Drug Administration, Washington, DC. Code of Federal Regulations Title 21, Volume 3 (21CFR172.730). January 1, 2007. Accessed at: <http://www.gpoaccess.gov/cfr/retrieve.html>.

20. WHO (2005). Bromate in drinking water. Background document for the development of WHO guidelines for drinking water quality. World Health Organization, Geneva, Switzerland (WHO/SDE/WSH/05.08/78). Accessed at: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/bromate030406.pdf.

21. Van Dijk-Looijaard A. Levels of exposure from drinking water / A. Van Dijk-Looijaard, J. Van Genderen // Food Chem Toxicol. – 2000. – V. 38, N S1 – P. S37 – S42.

22. Macalady D.L. Sunlight-induced bromate formation in chlorinated seawater / D.L. Macalady, J.H. Carpenter, C.A. Moore // Science. – 1977. – V. 195. – P. 133 – 157.

23. Kemsley J. Bromate in Los Angeles water / J. Kemsley // Chem. Eng. News. – 2008. – V. 85(52) . – P. 9. Accessed at: <http://pubs3.acs.org/cen/news/85/i52/8552notw4.html>.

24. Haag W. Ozonation of bromide containing waters: Kinetics of formation of hypobromous acid and bromate / W. Haag, J. Holgne // Environ. Sci. Technol. – 1983. – V. 17. – P. 262 – 277.

25. Weinberg H. Bromate in chlorinated drinking waters: occurrence and implications for future regulation / H. Weinberg, C. Delcomyn, V. Unnam // Environ. Sci. Technol. – 2003. – V. 37, N. 14. – P. 3104 – 3110.

26. Fawell J. Approaches to determining regulatory values for carcinogens with particular reference to bromate / J. Fawell, M. Walker // Toxicology. – 2006. – V. 221. – P. 149 – 153.

27. Amy G. Bromate formation under ozonation conditions to inactivate *Cryptosporidium* / G. Amy, C. Douville // Water Sci. Technol. – 2000. – V. 41, N. 7. – P. 61 – 66.

28. U.S. EPA. Disinfection Byproduct Information. Information Collection Rule, Office of Ground Water and Drinking Water. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. – 2006. Accessed at: <http://www.epa.gov/enviro/html/icr/dbp.html>.

29. Bouland S. Evaluation of bromate ions level introduced by sodium hypochlorite during post-disinfection of drinking water / S. Bouland, J.P. Duguet, A. Montiel // Environ Technol. – 2005. – V. 26, N. 2. – P. 121 – 125.

30. Mercer C. Breaking News on Food Safety & Quality Control: FDA to recall more bottled water in bromate scare / C. Mercer. – 2006. Accessed at: <http://www.foodqualitynews.com/news/ng.asp?id=70089-bromate-bottled-water-fda>.

31. U.K. FSA Antimony, Arsenic, Bromate and Nickel Contents of Bottled Water. Food Standards Agency, U.K. (Number 28/02). – 2002. Accessed at: <http://www.food.gov.uk/science/surveillance/fsis2002/FSISbadmineralsbottlewater>.

32. Toxicity and carcinogenicity of potassium bromate – a new renal carcinogen / Y. Kurokawa, A. Maekawa, M. Takahashi [et al.] // Environ. Health Perspect. – 1990. – V. 87. – P. 309 – 335.

33. Kawana K. Toxicological study of potassium bromate: I. Absorption, metabolism and excretion of potassium bromate after oral administration in rats / K. Kawana, T. Nakaoka, Eisie Kagaku [English translation of abstract]. – 1991. – V. 34, N. 4. – P. 258 – 265.
34. Watanabe S. Contribution of nitric oxide to potassium bromate-induced elevation of methaemoglobin concentration in mouse blood / S. Watanabe, S. Togashi, T. Fukui // *Biol. Pharm. Bull.* – 2002. – V. 25, N. 10. – P. 1315 – 1319.
35. Sax I. Sodium Bromate / I. Sax // In: *Dangerous properties of industrial materials*, 5th Ed. Van Nostrand Reinhold Co., New York, NY. – 1979. – 977 p.
36. Merck. Sodium Bromate. Chemdat MSDS. – 2004. – Accessed at: <http://www.merck-chemicals.com/is-bin/INTERSHOP.enfinity/WFS/Merck-International-Site>
37. Immunotoxicity of sodium bromate in female B6C3F1 mice: a 28 – day drinking water study / T.L. Guo, J.A. McCay, N.A. Karrow [et al.] // *Drug Chem. Toxicol.* – 2001. – V. 24, N. 2. – P. 129 – 149.
38. Studies on the promoting and complete carcinogenic activity of some oxidizing chemicals in skin carcinogenesis / Y. Kurokawa, N. Takamura, Y. Matsushima [et al.] // *Cancer Lett.* – 1984. – V. 24. – P. 299 – 304.
39. Dose-dependent enhancing effect of potassium bromate on renal tumorigenesis in rats initiated with N-ethyl-N-hydroxyethylnitrosamine / Y. Kurokawa, S. Aoki, T. Imazawa [et al.] // *Jpn. J. Cancer Res.* – 1985. – V. 76. – P. 583 – 589.
40. CIR Final report on the safety assessment of sodium bromate and potassium bromate. *Cosmetic Ingredient Review* // *J. Amer. Coll. Toxicol.* – 1994. – V. 13, N. 5. – P. 400 – 414.
41. Application of cDNA microarray technology to in vitro toxicology and the selection of genes for a realtime RT-PCR-based screen for oxidative stress in Hep-G2 cells / K.T. Morgan, H. Ni, H.R. Brown [et al.] // *Toxicol. Pathol.* – 2002. – V. 30, N. 4. – P. 435 – 451.
42. Dose-related changes of oxidative stress and cell proliferation in kidneys of male and female F334 rats exposed to potassium bromate / T. Umemura, Y. Kitamura, K. Kanki [et al.] // *Cancer Sci.* – 2004. – V. 95, N. 5. – P. 393 – 398.
43. Umemura T. Etiology of bromate-induced cancer and possible modes of action-studies in Japan / T. Umemura, Y. Kurokawa // *Toxicology.* – 2006. – V. 221. – P. 154 – 157.
44. Ballmaier D. DNA damage by bromate: mechanism and consequences / D. Ballmaier, B. Epe // *Toxicology.* – 2006. – V. 221. – P. 166 – 171.
45. Kawanishi S., Murata M. Mechanism of DNA damage induced by bromate differs from general types of oxidative stress / S. Kawanishi, M. Murata // *Toxicology.* – 2006. – V. 221. – P. 172 – 178.
46. Moore M.M. Mutagenicity of bromate: implications for cancer risk assessment / M.M. Moore, T. Chen // *Toxicology.* – 2006. – V. 221. – P. 190 – 196.
47. In vivo mutagenicity and initiation following oxidative DNA lesion in the kidneys of rats given potassium bromate / T. Umemura, K. Kanki, Y. Kuroiwa [et al.] // *Cancer Sci.* – 2006. – V. 97, N. 9. – P. 829 – 835.

48. Molecular biomarkers of oxidative stress associated with bromate carcinogenicity / D. Delker, G. Hatch, J. Allen [et al.]. *Toxicology*. – 2006. – V. 221. – P. 158 – 165.
49. Carcinogenicity of potassium bromate administered in the drinking water to male B6C3F1 mice and F344/N rats / A.B.DeAngelo, M.H. George, S.R. Kilburn [et al.] // *Toxicol. Pathol.* – 1998. – V. 26, N. 5. – P. 587 – 594.
50. Wolf G.W. Final report sodium bromate: short term reproductive and development toxicity study when administered to Sprague-Dawley rats in the drinking water / G.W. Wolf, L. Kaiser // Submitted to National Toxicology Program, Research Triangle Park, NC. NTP/NIEHS NO. NOI-ES-15323. – 1996. Accessed at: <http://ntp.niehs.nih.gov/index.cfm?objectid=070EAFCC-E977-3861-AC7327B175DE633C>
51. NTP (2001). Sodium bromate: reproductive assessment by continuous breeding when administered to Sprague-Dawley rats in drinking water. Unaudited Draft Final Report. Study number 7244-209. TherImmune Research Corporation, 15 Firstfield Road, Gaithersburg, MD. (Cited reference in NTP, 2007).
52. Bull R.J. Research strategy for developing key information on bromate's mode of action / R.J. Bull, J.A. Cotruvo // *Toxicology*. – 2006. – V. 221. – P. 135 – 144.
53. Crofton K. Bromate: Concern for developmental neurotoxicity? / K. Crofton // *Toxicology*. – 2006. – V. 221. – P. 212 – 216.
54. Clinical and experimental studies on ototoxicity of potassium bromate [in Japanese] / S. Kamata, J. Hozawa, T. Ishida [et al.] // *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho*. – 1983. – V. 86, N. 8. – P. 863 – 869.
55. Bromate intoxication: hairdressers' anuria / A. Kutom, N.G. Bazilinski, L. Magana [et al.] // *Am. J. Kidney Dis.* – 1990. – V. 15. – P. 184 – 185.
56. Campbell K. Bromate-induced ototoxicity / K. Campbell // *Toxicology*. – 2006. – V. 221. – P. 205 – 211.
57. Chuu J.J. The detrimental effects of potassium bromate and thioglycolate on auditory brainstem response of guinea pigs / J.J. Chuu, C.J. Hsu, S.Y. Lin-Shiau // *Chin. J. Physiol.* – 2000. – V. 43, N. 2. – P. 91 – 96.
58. Nakano K.O. Renal changes induced by chronic oral administration of potassium bromate or ferric nitrilotriacetate in Wistar rats [in Japanese, abstract in English] / K.O. Nakano, S. Toykokuni // *Jpn. Arch. Intern. Med.* – 1989. – V. 36. – P. 41 – 47.
59. Long-term toxicity and carcinogenicity studies of the bread improver potassium bromate 2. Studies in mice / A.V. Ginocchio, V. Waite, J. Hardy [et al.] // *Food Cosmet. Toxicol.* – 1979. – V. 17, N. 1. – P. 41 – 47.
60. Long-term toxicity and carcinogenicity studies of the bread improver potassium bromate. Studies in rats / N. Fisher, J.B. Hutchinson, R. Berry [et al.] // *Food Cosmet. Toxicol.* – 1979. – V. 17, N. 1. – P. 33 – 39.
61. Long-term in vivo carcinogenicity test of potassium bromate, sodium hypochlorite, and sodium chlorite conducted in Japan / Y. Kurokawa, S. Takayama, Y. Konishi [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 1986b. – V. 69. – P. 221 – 235.
62. The role of transgenic models in carcinogen identification / J.B. Pritchard, J.E. French, B.J. Davis [et al.] // *Environ. Health Perspect.* – 2003. – V. 111. – P. 444 – 454.
63. Carcinogenicity of potassium bromate administered orally to F344 rats / Y. Kurokawa, Y. Hayashi, A. Maekawa [et al.] // *J. Natl. Cancer. Inst.* – 1983. – V. 71, N. 5. – P. 965 – 971.

64. Dose-response studies on the carcinogenicity of potassium bromate in F344 rats after long-term oral administration / Y. Kurokawa, S. Aoki, Y. Matsushima [et al.] // *J. Natl. Cancer Inst.* – 1986a. – V. 77, N. 4. – P. 977 – 982.
65. Relationship between the duration of treatment and the incidence of renal cell tumors in male F344 rats administered potassium bromate / Y. Kurokawa, Y. Matsushima, N. Takamura [et al.] // *Jpn. J. Cancer Res.* – 1987. – V. 78. – P. 358 – 364.
66. DeAngelo A.B. Individual rat data from the study of DeAngelo et al., 1998 (see appendix). Personal Communication. – 2006.
67. Long-term oral administration of potassium bromate in male Syrian golden hamsters / N. Takamura, Y. Kurokawa, Y. Matsushima [et al.] // *Sci. Rep. Res. Inst. Tohoku Univ.* – 1985. – V. 32. – P. 43 – 46.
68. Kurata Y. Lack of renal tumour-initiating activity of a single dose of potassium bromate, a genotoxic renal carcinogen in male F344/NCr rats / Y. Kurata, B.A. Diwan, J.M. Ward // *Food Chem. Toxicol.* – 1992. – V. 30, N. 3. – P. 251 – 259.
69. Bromate / R.E. Gosselin, H.C. Hodge, H.R. Smith [et al.] // In: *Clinical Toxicology of Commercial Products, Acute Poisoning*, 4th ed. Williams and Wilkins, Baltimore, MD. – 1976. – P. 66 – 68.
70. Kaya F.F. Genotoxic effects of potassium bromate on human peripheral lymphocytes in vitro / F.F. Kaya, M. Topaktas // *Mutat. Res.* – 2007. – V. 626. – P. 48 – 52.
71. Potassium bromate treatment predominantly causes large deletions, but not GC>TA transversion in human cells / Y. Luan, T. Suzuki, R. Palanisamy [et al.] // *Mutat. Res.* – 2007. – V. 619. – P. 113 – 123.
72. Matsumoto I. Hearing loss following potassium bromate: two case reports / I. Matsumoto, T. Morizono, M.M. Paparella / *Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 1980. – V. 88, N. 5. – P. 625 – 629.
73. Origin and distribution of potassium bromate-induced testicular and peritoneal mesotheliomas in rats / L.M. Crosby, K.T. Morgan, B. Gaskill [et al.] // *Toxicol. Pathol.* – 2000. – V. 28, N. 2. – P. 253 – 266.
74. Time – and dose-dependent development of potassium bromate-induced tumors in male Fischer 344 rats / D.C. Wolf, L.M. Crosby, M.H. George [et al.] // *Toxicol. Pathol.* – 1998. – V. 26, N. 6. – P. 724 – 729.
75. U.S. EPA Toxicological Review of Bromate (CAS No. 15541-45-4). Prepared in support of the Integrated Risk Information System (IRIS). U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. EPA/635/R-01/002. Accessed at: www.epa.gov/ncea/iris/toxreviews/1002-tr.pdf. – 2001.
76. U.S. EPA Bromate (CASRN 15541-45-4). (Last updated 06/06/2001). Integrated Risk Information System, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. Accessed at: <http://www.epa.gov/iris/subst/1002.htm>. – 2007.
77. U.S. EPA Estimated per capita water ingestion and body weight in the United States – an update. October, 2004. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC. EPA/822/R-00/001. Accessed at: <http://www.epa.gov/waterscience/criteria/drinking/percapita/2004.pdf>. – 2004.
78. U.S. EPA (1998). National primary drinking water regulations: Disinfectants and disinfection byproducts. Federal Register 63(241):69405-11.

79. FDA. Food Additive Status List. Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, Washington, DC. Accessed at:<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/opa-appa.html>. – 2006c.
80. DPH Maximum Contaminant Levels and Regulatory Dates for Drinking Water, U.S. EPA vs. California. November 2008. Accessed December 2009 at: <http://www.cdph.ca.gov/certlic/drinkingwater/Pages/Chemicalcontaminants.aspx>. – 2008.
81. Kumar A. Health Risk Assessment for Bromate (BrO_3^-) Traces in Ozonated Indian Bottled Water / A. Kumar, S. Rout, R. K. Singhal // *Journal of Environmental Protection*. – 2011. – V. 2. – P. 571 – 580.
82. US EPA (United States Environmental Protection Agency). Preliminary Health Risk Reduction and Cost Analysis, Revised National Primary Drinking Water Standards for Radionuclides. Review Draft, Washington DC. – 2000.
83. US EPA, Guidelines for Carcinogen Risk Assessment. SAB Review Draft, US Environmental Protection Agency, Risk Assessment Forum (NCEA-F-0644), Washington DC. – 1999.
84. US EPA (United States Environmental Protection Agency), EPA Standard Default Exposure Factors, Washington DC. – 1991.
85. HDR (Human Development Report). National Resource Centre for urban poverty and All India Institute of Local Self Government, Mumbai, India. – 2009.
86. Physical, Anatomical, Physiological and Metabolic Data for Reference Indian Man: A Proposal / H. S. Dang, D. D. Jaiswal, M. Parmeshwaran [et al.] // BARC/1994/E/03, Board of Research in Nuclear Sciences, Mumbai, India. – 1994.
87. Indian Standard. Drinking Water–Specification (First Revision) IS-10500, BIS, New Delhi, India. – 1991.
88. Haag W. R. Ozonation of Bromide-Containing Waters: Kinetics of Formation of Hypobromous Acid and Bromide / W. R. Haag, J. Hoigne // *Environmental Science & Technology*. – 1983. – V. 17. – P. 261 – 267.
89. Kruithof J. C. The Formation and Removal of Bromate / J. C. Kruithof, J. C. Schippers // *Water Supply*. – 1993. – V. 11, N. 1. – P. 149 – 155.

РАЗДЕЛ 6

ПРИМЕНЕНИЕ ОЗОНА В ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СХЕМАХ ПОДГОТОВКИ ПИТЬЕВОЙ ВОДЫ

В промышленных условиях синтез озона осуществляется действием электрического разряда на пропускаемый через генератор воздух или кислород. Элементарный генератор озона состоит из двух электродов, разделенных диэлектриком. Электрод низкого напряжения представляет собой цилиндр из нержавеющей стали, в котором с зазором установлен полый цилиндрический стеклянный диэлектрик, покрытый с внутренней стороны тонким слоем металла. Электрод высокого напряжения размещен строго по центру стеклянного диэлектрика.

Работа генератора состоит в следующем. Поток сухого воздуха (или кислорода) поступает в пространство между цилиндрическим электродом и стеклянным диэлектриком. При наложении переменного тока высокой частоты происходит электрический разряд и образуется озон. Диэлектрик исключает появление разрядов дуговой формы и обеспечивает равномерную структуру лучистого разряда. Работа генератора сопровождается слабым фиолетовым свечением в пространстве между электродами и диэлектриком. При электрическом разряде выделяется тепло, что требует охлаждения электрода низкого напряжения. Количество получаемого озона при постоянстве температуры прямо пропорционально мощности, расходуемой при разряде. Отрицательное влияние на производительность генераторов озона могут оказывать влажность воздуха (или кислорода) и температура, повышение которых ведет к резкому снижению выхода озона.

Современные зарубежные промышленные генераторы, используемые для получения озона из воздуха, объединяют несколько сотен единичных генераторов и производят до 290 kg/d озона. При эксплуатации генераторов на частоте тока 600 Гц производительность их может достигнуть 900 kg/d озона, а при замене воздуха кислородом количество получаемого озона возрастет почти в 2 раза [2, раздел 1].

Технология озонирования воды широко применяется при очистке природных вод. Традиционным является использование озона для обеззараживания воды. С этой целью озон применяется на многих зарубежных водоочистных станциях (ВОС), главным образом в начале традиционной технологической схемы [22, раздел 3; 2-7]. Для эффективного обеззараживания питьевой воды необходимо вводить

дозу озона, достаточную для обеспечения остаточной концентрации 0,4 mg/l, которая должна поддерживаться на протяжении 4 min [2].

Оптимальные условия применения озона для обработки природных вод зависят от качества исходной воды. Доза озона колеблется в пределах от 2 до 10 mg/l [3]. После выявления флокулирующего эффекта, который возникает при озонировании, практическое применение приобрело использование озона в начале технологической схемы. Предозонирование повышает эффективность последующих стадий (коагуляции и фильтрование) в большей степени, чем прехлорирование. В настоящее время предварительному озонированию, как методу обработки воды, уделяется не меньше значения, чем обеззараживанию [2, раздел 1; 84, 2, 8-11]. Установлено, что дозы озона 0,5-1,5 mg/l (< 3 mg/l) [6, раздел 3] являются наиболее эффективными.

В последние годы внимание зарубежных и отечественных исследователей привлекает технология биологической очистки природных вод с использованием предварительного озонирования. Озонирование в сочетании с последующим фильтрованием через песчаные или угольные фильтры способствует нитрификации аммонийного азота, существенно снижает содержание общего органического углерода в воде, дозы хлора при заключительном обеззараживании и концентрации хлорорганических соединений [2, 6].

Дополнительное удаление общего органического углерода за счет биохимического окисления, кроме эффекта, который достигается за счет адсорбции, составляет 15-20 % [6], однако такое удаление в значительной мере зависит от характеристик природных органических соединений в неочищенной воде, а также от доз озона. Кроме положительного эффекта снижения нагрузки на сорбент в результате предварительного окисления органических загрязнителей возможно и отрицательное влияние озонирования на процесс сорбции за счет образования низкомолекулярных полярных продуктов, которые хуже сорбируются на угле.

Многофункциональность озона используется на водопроводных станциях, главным образом в ФРГ и Франции, где используют двухстадийное и даже трехстадийное озонирование воды [2, раздел 1; 22, 25, раздел 3; 2, 7, 12].

В работе [12] изучено влияние бромид-ионов на образование формальдегида во время озонирования растворов речных гуминовых кислот в присутствии трех различных концентраций бромид-ионов в полунепрерывной системе. В течение начальных 20 min озонирования отсутствует значительный эффект в присутствии 1 mg/l бромид-ионов и в течение 10 min при концентрации 10 mg/l. Однако, при дальнейшем

озонировании раствора гуминовой кислоты, содержащем mg/l бромида образование формальдегида значительно замедляется. Влияние бромид-ионов на более поздних стадиях озонирования происходило из-за образования кислородсодержащих соединений брома, которые воздействуют как эффективные акцепторы гидроксильных радикалов в системе. Присутствие хлорид-ионов до 10 mg/l в растворе не влияло на формирование формальдегида в течение 50 min озонирования.

Результаты исследований и данные промышленного применения показали, что многоэтапное озонирование может быть оправдано технологически, так как эксплуатационные затраты в установке с многоэтапным озонированием не превышают затраты в установках с одноэтапным озонированием. Теоретически обосновано, что двухстадийное введение озона с учетом длительности контакта может снизить дозу озона на 30% .

В работе [25, раздел 3] показана действующая технологическая схема на станции подготовки воды на р. Ойзе: предозонирование $0,5\text{-}1,0 \text{ mg/l}$, отстаивание, коагуляция, флокуляция, отстаивание, фильтрация через песок, озонирование дозой 2 mg/l , фильтрация через активный уголь, постозонирование $0,4 \text{ mg/l} - 4 \text{ min}$, введения $0,1 \text{ mg/l}$ диоксида хлора. Приведены данные по эффективности удаления вирусов на разных стадиях: количество вирусов снижается на 89% после предозонирования и отстаивания, на 77% после отстаивания и на 55% после фильтрации через песок. После 2-го озонирования вирусы отсутствуют.

Вместе с тем озонирование также не лишено недостатков. Быстрый распад озона в обрабатываемой воде ограничивает его применение как конечного обеззараживающего средства. При $\text{pH} = 7,6$ и $20 \text{ }^\circ\text{C}$ остаточный озон с концентрацией $0,4 \text{ mg/l}$ разлагается менее чем за 1 h . По этой причине возникает вопрос о необходимости поддержки микробиологического качества воды в водоразводящих системах.

Возможно также повторное обеззараживание воды озоном непосредственно в пределах города [2, раздел 1]. Однако, в большинстве случаев, для обеспечения качества воды в водораспределительных сетях, как и раньше, используется хлор и его препараты – хлорамины, гипохлориты, диоксид хлора в незначительных концентрациях. Кроме того, при использовании предозонирования для обеспечения надлежащего санитарно-технического состояния водоочистных сооружений необходимо периодически или постоянно вводить хлор перед сооружениями, хоть и в меньших дозах. Совместное применение соединений хлора и озона в технологической схеме может как снижать, так и увеличивать количество хлорорганических соединений (ХОС) в очищенной воде. Показано, что применение предозонирования или двухстадийного озонирования с заключительной обработкой хлорамином обеспечивает минимальное

количество ХОС, в то время как введение озона, а затем хлора в неочищенную воду может существенно увеличить содержание ХОС в воде в сравнении с использованием только хлора [23, раздел 3; 13, 14].

Теоретически применение озона в обработке поверхностных вод возможно в нескольких точках технологической линии, но приоритетным является предварительное озонирование и сочетание “озон + гранулированный активный уголь” на стадии доочистки воды, что является признаком современной технологии подготовки питьевой воды [4, раздел 3; 7].

Эта технология позволяет сократить общий расход сорбента. В результате сорбции окислителя на поверхности сорбентов протекают интенсивные процессы **окисления органических примесей**, причем, чем активнее окислитель, тем эффективнее **очистка воды и регенерация сорбента**. Сочетание озонирования с использованием **активного угля (АУ)** является одним из наиболее **эффективных способов** устранения соединений, придающих питьевой воде мутагенные свойства [15].

Для каталитического окисления сорбата на АУ озоном достаточно 3-5 min контакта при концентрации озона в воздухе около 1 % (об.). Обычная доза озона 1-3 mg/l при к.п.д. 97 %.

Однако озонирование на АУ, снижая концентрацию органических загрязнений, не всегда гарантирует бактериологическую безопасность воды. Поэтому в большинстве случаев очищенную озоном и углями дополнительно обрабатывают низкими дозами хлора или диоксида хлора (0,3-1,0 mg/l) [16].

Применение озона связано с возникновением проблемы повышения содержания микроорганизмов в очищенной воде.

Так, в [17] описаны проведенные в течение 14 месяцев испытания по очистке **озерной воды от органических примесей на пилотной установке, состоящей из узлов механо – химической обработки, озонатора, камеры озонирования, контактной камеры и ряда фильтров с ГАУ**, включенных в указанную схему как до озонирования воды, так и на различных этапах озонирования. В результате проведенных исследований установлено, что в начальный период работы установки очистка воды от органических примесей происходила главным образом за счет физико – химических процессов (окисление и адсорбция), тогда, как на более поздних стадиях существенно возростала роль биохимических процессов благодаря интенсивному развитию микроорганизмов в фильтрах с ГАУ, особенно после **озонирования воды. Это, вероятно, связано с переходом в результате обработки озоном биологически трудноокисляемых веществ в легкоокисляемые.**

Исследования, проведенные по определению видов и количества колоний микроорганизмов, размножающихся на фильтрующем материале, показали, что они в значительной степени зависят от марки угля и чрезвычайно разнообразны.

При озонировании воды перед фильтрами с активным углем микроорганизмы контаминируют 50 % поверхности фильтрующего материала [18].

Озон является одним из наиболее активных реагентов окислителей для обработки сероводородных вод.

При озонировании этих вод следует применять дозы окислителя из расчета 0,6-1,4 mg озона на 1 mg содержащихся в воде соединений серы (H_2S , HS^- , S_2^-). Были проведены опыты по окислению сероводорода, растворенного в воде, озоном. При расходе озона 0,5 mg на 1 mg сероводорода процесс окисления заканчивается образованием коллоидного раствора элементарной серы. При соотношении 1,87 mg на 1 mg сероводорода процесс окисления H_2S заканчивается образованием сульфатов. Для воды, содержащей 15-20 mg/l сероводорода, продолжительность озонирования составляет 20 min, расчетный расход озона равен 30 mg/l. В некоторых случаях вода приобретает легкую опалесценцию, что вызывает необходимость ее осветления и обесцвечивания. Рекомендуется комбинированная обработка воды предварительным барботированием ее воздухом с последующим озонированием [22, 29, раздел 3].

Озон – высоко эффективное дезинфекционное средство и может использоваться для инактивации простейших, которые являются очень стойкими к обычным дезинфекционным средствам. Соответствующие константы скорости инактивации микроорганизмов известны для *E. coli*, *Bacillus subtilis spores*, *Rotavirus*, *Giardia lamblia cysts*, *Giardia muris cysts*, *Cryptosporidium parvum oocysts*). Энергия активации для инактивации бактерий находится в интервале большинства химических реакций (35-50 kJ/mol), тогда как для инактивации простейших она намного выше (80 kJ/mol). Это требует значительных экспозиция воздействия озона при низких температурах. Для инактивации резистентных микроорганизмов даже ОН-радикалы играют незначительную роль [25, раздел 3].

Исследованы массо – обмен и кинетика реакции озона в водопроводной воде. Система контактов представляла собой реактор смешивания с перпендикулярными струями. Концентрация остаточного озона была низкой, на уровне чувствительности метода. Предложена простая математическая модель для описания механизма реакции озона в диапазоне скоростей водных потоков от 2,170 до 3,080 l/min, при расходе озона от 0,667 до 1,333 l/min и различных температурных условиях. Модель весьма точно описывает массообмен в реакторе и определяет

эксплуатационные параметры. Установлена линейная зависимость между скоростью подачи озона и остаточным озоном. Нулевой порядок кинетики лучше всего описывает самопроизвольный распад озона в водопроводной воде. Коэффициент массообмена составляет приблизительно $1,14 \text{ min}^{-1}$. Без использования перемешивания значительно снижается коэффициент массообмена, приблизительно до $0,250 \text{ min}^{-1}$. Величина константы скорости находится в диапазоне $0,05 - 0,13 \text{ mg} \cdot \text{min}/\text{l}$ [18].

В работе [19] представлены результаты экспериментальных исследований комбинированного озонирования и адсорбционных процессов на активном угле на заводе очистки воды (ЗОВ) в г. Кракове (Польша). Исследование сосредоточилось на выборе соответствующей точки ввода озонирования в схему обработки и на выборе марки активного угля для адсорбции. Анализ эффективности процесса в предложенной технологической конфигурации был выполнен на основании определения некоторых физико-химических параметров в сточных водах. Установлено, что озонирование снижало органические загрязнители. На основании предыдущих лабораторных исследований авторы предложили следующую последовательность процесса: озонирование – фильтрация через песок – адсорбция ГАУ. Применение ГАУ продемонстрировало снижение органических загрязняющих примесей, судя по перманганатной окисляемости, растворенному органическому углероду (РОУ), УФ-поглощению при 254 нм.

Исследовано [20] использование ГАУ (в лабораторных опытах на колонках) для удаления бромат-иона (BrO_3^-) и адсорбируемого органического углерода (АОУ) из питьевой воды..

Полученные результаты показали, что способность ГАУ удалять BrO_3^- зависела от типа ГАУ, времени контакта и исходного качества воды. ГАУ с высоким числом основных групп и значением pH в большей степени удалял BrO_3^- . Это же касалось увеличения времени контакта, что связано с большей возможностью для адсорбции BrO_3^- на поверхности ГАУ и восстановления до бромид-аниона. С другой стороны, присутствие РОУ и анионов хлорида, бромид-аниона и сульфата, тормозило удаление BrO_3^- . В колонке с ГАУ опытной установки, предварительно загруженной в течение 12 месяцев, диапазон удаления BrO_3^- и АОУ составлял 79-96 % и 41-75 % соответственно. Установлено, что количество удаленного BrO_3^- пропорционально концентрации BrO_3^- в исходной воде. Однако, степень удаления BrO_3^- уменьшалась с увеличением времени операции, тогда степень удаления АОУ увеличивалась. Это может быть результатом постепенного преобразования ГАУ в биологически активный уголь (БАУ), в результате чего бактерии, адсорбированные на поверхности

ГАУ, препятствуют удалению BrO_3^- путем блокирования пор для адсорбции на активных участках бромат-аниона.

Главная цель исследования [21] состояла в разработке простой процедуры описания кинетики биологического распада ПОВ в питьевой воде для оценки изменений концентрации разлагаемого микроорганизмами органического вещества во время озонирования и биообработки. Предложенный подход количественно описывает формирование и удаление легко- и трудноразлагаемых микроорганизмами фракций ПОВ. Это исследование показало, что, в зависимости от исходной воды, озонирование ПОВ может привести или к минимальному образованию разлагаемого микроорганизмами органического углерода, или к образованию преимущественно легко- и трудно-разлагаемого микроорганизмами ПОВ, или к формированию легко- и трудно-разлагаемого микроорганизмами ПОВ. Полученные кинетические данные свидетельствуют; если обычные процессы биофильтрации удаляют легко-разлагаемые микроорганизмами фракции ПОВ, то трудно-разлагаемое ПОВ может оставаться в фильтре и вызвать бактериальный рост в распределительной системе. Введение малого количества легко-разлагаемого микроорганизмами углерода («стимулируемый» биологический распад) в озонированную воду оказало определенный эффект при удалении трудно-разлагаемого ПОВ.

Проведены эксперименты для определения влияния озонирования на сорбцию ПОВ воды на биопленке лабораторного реактора [22]. Установлено, что 18-22 % ПОВ в виде растворенного органического углерода (РОУ), из которого 28-30 % обладает потенциалом образования хлороформа, удаляется из воды без биологического разложения. Удаление ПОВ объяснялось биосорбцией низкомолекулярных компонентов с молярной массой меньше 3000 Da. Озонирование в дозе 1 г O_3 / г РОУ не оказывало значительного влияния на биосорбцию ПОВ и одновременно уменьшало размер молекул и увеличивало кислотность ПОВ. Отмечено уравнивание этих эффектов при соотношении дозы озона к концентрации ПОВ 1:1, при этом значительное изменение в сорбции ПОВ не происходило.

Выполнены пробные испытания для оценки эффективности озонирования для обработки питьевой воды. Определен химический состав четырех природных вод. Идентифицированы различные органические соединения, включая пестициды, которые обнаружены также в традиционно обработанной водопроводной воде. Озонирование показало эффективность в удалении значительного загрязнения природной воды. Это же касалось других органических соединений – ароматических аминов, нитросоединений, кетонов и эфиров. В целом, летучая органика

удалялась эффективнее растворенного органического углерода и органики, экстрагируемой CH_2Cl_2 . Альдегиды увеличились после озонирования и были удалены на ГАУ. Отмечено образование бромата, которое уменьшалось в присутствии аммиака и ПОВ [23].

Исследовано в пилотном масштабе образование альдегидов и ТГМ во время промежуточной стадии озонирования воды в зависимости от концентрации озона и полихлорида алюминия. В грунтовой воде, богатой ПОВ, контролировали перманганатную окисляемость, общий органический углерод (ООУ) и потенциал образования хлороформа (ПОХ). Цель работы – распределение необходимых доз озона между предозонированием и промежуточной стадией озонирования для образования минимального количества альдегидов.

Установлено, что наименьшее содержание альдегидов при предозонировании возможно при соотношении $\geq 0,4 \text{ mg O}_3/\text{mg OOU}$ [24].

Проведено исследование опытной установки с четырьмя параллельными циклами фильтрации для определения эффекта озонирования и ГАУ для удаления предшественников побочных продуктов дезинфекции (ППД). Результаты показали, что озонирование значительно уменьшало адсорбируемые органические галогены (АОГ) на 35 %, адсорбируемый органический хлор (АОХ) на 37 % и ТГМ на 76 % по сравнению с традиционной обработанной водой озера (коагуляция, фильтрование через песок). Однако, при этом хлорпоглощаемость озонированной воды не уменьшалась.

Биофильтры с обработанным ГАУ имели незначительный эффект при удалении предшественников (0-20 %). Эффективность адсорбционной фильтрации ГАУ сильно зависела от возраста фильтрующего слоя ГАУ. Отмечена корреляция между концентрацией природного органического вещества (ПОВ) и потенциалом образования ППД. При обеззараживании хлораминном уровни ТГМ, АОХ, мутагенность МХ (Z-3-хлоро-4-дихлорметил-5-гидрокси-2(5H)-фуранон) значительно ниже по сравнению с обеззараживанием хлором [25].

Исследовано влияние катионов Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} и анионов SO_4^{2-} , Cl^- , HCO_3^- на антимикробное действие озона в воде в отношении тест-микроорганизма *E. coli*. Установлено, что наличие катионов Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} и анионов SO_4^{2-} , Cl^- в воде в количестве, характерном для поверхностных вод Украины, не влияет на дезинфицирующее действие озона. Присутствие бикарбонат-ионов в воде $> 61 \text{ mg/l}$ приводит к удлинению латентной фазы, снижению скорости отмирания тест-микроорганизмов во второй медленной фазе и не влияет на скорость первой быстрой фазы. Добавка в воду HCO_3^- ($\text{pH} > 8,8$) приводит к увеличению дозы поглощенного озона, необходимой для достижения определенной степени обеззараживания, что обусловлено его разложением в воде [26].

Широкое применение озон нашел в локальных системах подготовки питьевой воды, таких как установки дополнительной очистки водопроводной воды, очистка подземной воды, технологиях по производству расфасованной питьевой воды, бытовых водоочистных установках.

В работах [27, 28] представлены результаты исследований качества дополнительно очищенной водопроводной воды (г. Одесса) в водоочистных устройствах (ВОУ) коллективного пользования.

Локальные водоочистные устройства (ВОУ), технология очистки воды которых включает механическое фильтрование, озонирование и одностадийную адсорбцию на активном угле, вторичное озонирование, обеспечивают стабильное улучшение органолептических свойств воды (запах, вкус, привкус), удаление остаточного хлора, снижение перманганатной окисляемости на 20 - 50 %. Остаточные концентрации озона > 0,1 мг/л в воде гарантируют микробиологическое качество воды.

В табл. 6.1 приведены результаты санитарно-микробиологических исследований очищенной воды в 2-ух ВОУ “УДПВ” за 2 года.

Таблица 6.1

Результаты санитарно-микробиологических исследований воды, очищенной в ВОУ“УДПВ”

Число проб	Показатель, ед. измер.	Число проб, соответствующих/несоответствующих нормативам
208	ОМЧ, CFU/ml	93,3/6,7
	БГКП, CFU/l	97,6/2,4
	<i>P. aeruginosa</i> , CFU/l	98,6/1,4

Газообразный озон синтезируется из атмосферного воздуха в генераторе озона установки УДПВ. Атмосферный воздух нагнетается в генератор компрессором. Обработанная озонном вода из контактно-смесительной колонны поступает через сорбционные (угольные) фильтры в накопительные емкости. Избыточный озон из контактно-смесительной колонны подается к деструктору, в котором происходит его разложение. Для повышения санитарной надежности комплекса предусмотрена возможность периодического озонирования воды в накопительных емкостях с целью обеззараживания устройства для подачи воды в пунктах розлива.

Например, в 2010 г. исследовано 300 образцов подземной воды, очищенной озонно – сорбционным методом; количество нестандартных проб по санитарно-микробиологическим показателям – 6 (2 %) [29].

Использование в технологиях очистки ВОУ адсорбции на активированном угле приводит к размножению бактерий на угольных фильтрах, вследствие чего ухудшаются санитарно-микробиологические показатели очищенной воды. Недостаточная концентрация озона в воде ($\leq 1 \text{ mg/l}$), которую пропускают через фильтры с активным углем, приводит к более интенсивному микробному “обрастанию” активных углей.

Так как озono – сорбционная технология часто применяется для дополнительной очистки хлорированной водопроводной воды, содержащей побочные продукты хлорирования – тригалогенметаны (ТГМ) и др., представляет интерес эффективность удаления их из водопроводной воды.

По нашим данным [20, раздел 5.1, 29] при озонировании водопроводной воды в течение 10 min до остаточной концентрации озона $0,32 \pm 0,01 \text{ mg/l}$, из нее в среднем удаляется 66 % хлороформа, 54 % трихлорэтилена. Однако последующая адсорбция на АУ не обеспечивают стабильное удаление ТГМ до гигиенических нормативов. Имеют место процессы десорбции ТГМ в очищенную воду из активного угля до исчерпания его ресурса.

Озono – сорбционная очистка воды в начальный период работы ВОУ приводит к снижению в очищенной воде концентрации таких анионов, как нитраты, бораты и др., что является результатом окисления озонem активного угля и увеличение количества полярных функциональных групп на поверхности сорбента. Более длительное пропускание озонированной воды через фильтры с активным углем вызывает десорбцию этих анионов [28].

В работе [29] отмечают особенности применения озона на ВОС, ошибочные подходы и неправильные решения в этом вопросе. Для обеззараживания воды озон целесообразно применять только в случаях повышенного бактериального загрязнения источников воды или при наличии в ней патогенных микроорганизмов, энтеровирусов и цист лямблий, устойчивых к действию хлорсодержащих реагентов. При озонировании можно частично отказаться от первичного хлорирования воды, но целиком исключить обеззараживание воды хлором не желательно. Для обеспечения санитарно-гигиенической безопасности и сохранения качества воды в сети необходимо проводить ее обеззараживание хлорреагентами на заключительной стадии обработки.

К недостаткам озона как дезинфектанта питьевой воды относят практическое отсутствие последствия, что не гарантирует сохранения микробиологического качества воды, поступающей в водопроводную сеть. Озон в тех концентрациях, в которых он обычно применяется в практике водоподготовки, реагирует с органическими веществами

природной воды с образованием высоко окисленных компонентов, многие из которых являются питательными веществами для бактерий (как, например, альдегиды) и, таким образом, биоокисляемых [30].

В связи с этим, использование озона как дезинфектанта или единственного окислителя на конечной стадии обработки может оказывать содействие вторичному размножению микроорганизмов в распределительной сети [31].

В табл. 6.2 приведены технологические характеристики метода озонирования воды [1, 2, 3, раздел 1; 1, 4, раздел 2; 24, 26, раздел 3].

Таким образом, синтез озона является процессом энергоемким, технологически сложным, а озонирование воды наиболее дорогостоящим методом обеззараживания и окисления.

Таблица 6.2

Технологические характеристики озонирования воды

Технологические параметры	Преимущества озонирования	Недостатки озонирования	Применение
Применяемая доза до 10 mg/l; время контакта не менее 12 min, остаточная концентрация озона 0,1-0,3 mg/l.	Более сильное бактерицидное и вирулицидное действие по сравнению с хлором. Не образует токсичных хлорорганических соединений (ТГМ, хлорфенолы и др.). Не реагирует с аммиаком и ионом аммония. Наиболее высокая дезинфицирующая способность, улучшает вкус и запах воды.	Высокие затраты электроэнергии. Образование побочных кислотосодержащих органических соединений, броматов. Обязательная стадия адсорбции на активных углях после озонирования. Органические продукты окисления обладают мутагенной активностью. Незначительный период последствия.	Не применяется на стадии постобеззараживания, т.к. не имеет последствия, в водопроводных системах стимулирует рост микроорганизмов. Применяется в локальных системах подготовки питьевой воды.

Озон в технологиях очистки воды применяется для обеззараживания (инактивация бактерий, **вирусов, спор, цист простейших**) и окисления различных специфических химических соединений, имеющихся в природных водах.

Применение озонирования как самостоятельной ступени технологии очистки воды не всегда позволяет решить задачу повышения качества воды. В большинстве случаев требуется введение после озонирования сорбционной очистки воды с использованием активных углей (гранулированных или дробленых), загружаемых в сорбционные фильтры.

Активные угли позволяют удалить из воды побочные продукты озонирования (кетоны, альдегиды, карбоновые кислоты и другие гидроксильированные и ароматические углеводы в виде формальдегида, ацетальдегида и метилглиоксаля).

Озонирование воды способствует увеличению концентрации биологически разлагаемых органических соединений, что приводит к повышению эффективности биологической активности на угольной загрузке и способствует более глубокому удалению органических загрязнений и частичной реактивации активного угля, что позволяет увеличить срок работы угля до полной его регенерации. Вместе с тем, возможно повышение содержания микроорганизмов в очищенной воде.

Для подготовки питьевой воды централизованного водоснабжения озонирование применяется на стадии предокисления. **Предозонирование** повышает эффективность последующих стадий – коагуляции и фильтрования.

В связи с отсутствием последствия озон не применяется на стадии постобеззараживания для подготовки воды централизованного водоснабжения.

В технологиях подготовки воды централизованного водоснабжения применяют двухстадийную и даже трехстадийную озono-сорбционную очистку воды с финальным обеззараживанием диоксидом хлора или хлорпрепаратами.

Озонирование эффективно применяется в локальных системах подготовки питьевой воды (кондиционирование подземных вод, дополнительная очистка водопроводной воды и др.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Handbook of ozone technology and applications. V. 2. Ozone for drinking water treatment / Ed. R.G. Rice, A. Netzer // Boston 1984.: Ann. Arbor Science Publ., 1984. – 378 p.

2. Драгинский В.Л. Озонирование при подготовке питьевой воды / В. Л. Драгинский // Водоснабжение и санитарная техника. – 1993. – № 2. – С. 5–6.

3. Технические записки по проблемам воды / Барак К., Бебен Ж., Бернар Ж. [и др.] // Том. 1, 2. – М.: Стройиздат, 1983. – 1062 с.
4. Жуков Н. Н. Озонирование воды в технологии водоподготовки / Н. Н. Жуков, В. Л. Драгинский, Л. П. Алексеева // Водоснабжение и санитарная техника. – 2000. – № 1. – С. 2.
5. Достоинства и недостатки промышленных методов обеззараживания воды / В. М. Альшин, С. В. Волков, А. Я. Гильбух [и др.] // Водоснабжение и санитарная техника. – 1996. – № 12. – С. 2–6.
6. Singer P.C. Assessing ozonation research needs in water treatment / P.C. Singer // J.AWWA. – 1990. – V. 82, № 10. – P. 78 – 88.
7. Tate C. H. Latest study finds utilities satisfied with ozone / C. H. Tate // Water Eng. and Manag. – 1991. – V. 138, № 2. – P. 24 – 25.
8. Farvardin M. R. Preozonation as an aid in the coagulation of humic-substances – Optimum preozonation dose / M. R. Farvardin, A. G. Collins // Water Research. – 1989. – V. 23, № 3. – P. 307– 316.
9. Philipot J.-M. La preozonation, une etape de traitement en plein essor, interet economique et technique. Exemple de Choisy-le-Roi / J.-M. Philipot, X. Henrlet // Technol. Sci. Meth. – 1991. – № 4. – P. 175–179.
10. Slagle D. Ozonation an attractive option for groundwater system / D. Slagle // Public Works. – 1990. – V. 121, № 13. – P. 45 – 46.
11. Dernaucourt J.C., Delaye M. Ozonoflottation a l'usine de la Pape: une premiere technologique au service de l'agglomeration Lyonnaise // Eau, Ind., Nuisances. – 1991. – № 145. – P. 51 – 53.
12. **Can Z.S. Effect of bromide ions on formaldehyde formation during ozonation of drinking waters / Z.S. Can, M.D. Gurol // Water Science & Technology: Water Supply. – 2001. – V. 1, № 4. – P. 119 – 124.**
13. Jacangelo J. G. Ozonation: assessing its role in the formation and control of disinfection by-products / J. G. Jacangelo, N. L. Patania, R. M. Keagan // J. AWWA. – 1989. – V. 81, № 8. – P. 74 – 84.
14. Эффективность сочетания окислительных и коагуляционных методов в процессах очистки днепровской воды / Гончарук В.В., Вакуленко В.Ф., Горчев В.Ф. [и др.] // Химия и технология воды. – 1998. – Т. 20, № 5. – С. 476 – 492.
15. Role of ozone and granular activated carbon in the removal of mutagenic compounds // **M.M. Bjirbigot, M.C. Hascoet, Y. Levi [et al.] // Environ Health Perspect. – 1986. – 69. – P. 159–163.**
16. **Смирнов А. Д. Сорбционная очистка воды / А. Д. Смирнов. – Ленинград: «Химия», 1982. – 168 с.**
17. Pilot scale evaluation of ozone- granular activated carbon combinations for trihalomethane precursor removal / W.H. Glaze, I.L. Waliace, D. Wilcox [et al.] // Treat. Water Granular Activ. Carbon. Symp., 181 st Meet., Amer. Chem. Soc., Atlanta, Ga (30 March-3 Apr., 1981). – Washington, D.C., 1983. – P. 303 – 318.
18. Sheffer Sh. Mass transfer and reaction kinetics in the ozone/tap water system / Sh. Sheffer, G. L. Esterson // Water Research. – 1982. – V. 16, № 4. – P. 383 – 389.
19. Balcerzak W. Pilot scale experiments on surface water treatment sequence including ozonation and adsorption processes / W. Balcerzak, S. M. Rybicki //

Journal of Water Supply: Research and Technology—AQUA. – 2011. –V. 60, № 7. – P. 459 – 467.

20. Removal of bromate and assimilable organic carbon from drinking water using granular activated carbon / W.J. Huang, H.S. Peng, M.Y. Peng [et al.] // *Water Science & Technology*. – 2004. –V. 50, № 8. – P. 73–80.

21. Evaluation of biodegradability of NOM after ozonation / A. A. Yavich, K.-H. Lee, K.-C. Chen [et al.] // *Water Research*. – 2004. – V. 38, № 12. – P. 2839–2846.

22. Gary C. Effect of ozonation on sorption of natural organic matter by biofilm / C. Gary, S. Joann // *Water Research*. – 1997. – V. 31, № 10. – P. 2467–2478.

23. Effect of ozonation for treatment of micropollutants present in drinking water source / J.-W. Kang, H.-S. Park, R.-Y. Wang [et al.] // *Water Science and Technology*. – 1997. – V. 36, № 12. – P. 299 – 307.

24. Formation of by-products in the course of intermediate ozonation of groundwater pretreated with ozone and polyaluminium chloride / J. Agbaba, I. Ivan Čev-Tumbas, B. Dalmacija [et al.] // *Water Science & Technology*. – 2004. –V. 49, № 4. – P. 63 – 68.

25. **Vahala R. Controlling Adsorbable Organic Halogens (AOX) and Trihalo-**methanes (THM) Formation by Ozonation and Two-Step Granule Activated Carbon (GAC) Filtration / R. Vahala, R. Laukkanen // *Water Science and Technology*. – 1999. – V. 40, № 9. – P. 249 – 256.

26. Gilbert E. Biodegradability of ozonation products as a function of COD and DOC elimination by example of substituted aromatic substance / E. Gilbert // *Water Research*. – 1987. – V. 21, № 10. – P. 1273 – 1278.

27. Rice E. W. Correlation of coliform growth response with other water quality parameters / E. W. Rice, P. V. Scarpino, D. J. Reasoner // *J. AWWA*. – 1991. –V. № 83, № 7. – P. 98 – 102.

28. Мониторинг качества воды в локальных водоочистных установках / Н. Ф. Петренко, Е. Л. Винницкая, О. В. Лагода [и др.] // *Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія*. – 2006. – № 1(3). – С.74 – 78.

29. **Петренко Н. Ф. Дослідження ефективності видалення тригалогенметанів** за допомогою водоочисних пристроїв з різними технологіями очистки / Н. Ф. Петренко, М. О. Василькевич // *Актуальні проблеми транспортної медицини: навколишнє середовище; професійне здоров'я; патологія*. – 2009. – № 4(18). – С. 88 – 94.

30. Петренко Н. Ф. Санитарно-гигиенический мониторинг качества воды бьюетных комплексов г.Одессы / Н. Ф. Петренко, Е. Л. Винницкая, А. М. Войтенко // *Гігієна населених місць: зб. наук. праць*. – К., 2004. – Вып. 43. – С. 119 – 123.

31. **Очистка природных вод от органических примесей сочетанием озонирования с УФ – облучением** / В. В. Гончарук, В. Ф. Вакуленко, А. Н. Сова [и др.] // *Химия и технология воды*. – 2004. – Т. 26, № 1. – С. 34–49.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Резюмируя результаты вышеизложенных аналитических и собственных исследований, представляется целесообразным заключить следующее.

Как показывают данные литературы [разделы 2, 3], по своей химической природе озон является одним из наиболее сильных окислителей (окислительно-восстановительный потенциал, $E_0 = 2,07$ Вт) и радикалообразователей. При озонировании воды образуются активные формы кислорода (АФК), которые являются свободными радикалами и гидроксил-радикалы.

В связи с этим, озон реагирует с большинством органических, элементо-органических и многими неорганическими веществами. Термодинамически эти реакции могут протекать до полного окисления, т.е. до образования воды, оксидов углерода и высших оксидов других элементов, но препятствует этому очень низкие скорости конечных стадий окисления.

При этом следует отметить полиформность окисляющего действия озона: прямое окисление, окисление радикалами (непрямое окисление), озонлиз, катализ.

Озонирование органических соединений в воде сопровождается их деструкцией, образованием химических связей углерод-кислород, новых химических связей углерод-углерод вследствие рекомбинации радикалов RH^+ .

В процессе озонирования природной воды образуются разнообразные классы органических соединений - спирты, альдегиды, кетоны, карбоновые кислоты, которые являются продуктами окисления исходных веществ.

Озонирование воды не приводит к образованию хлорорганических соединений, но в присутствии в воде бромид-аниона, помимо бромата, возможно образование следующих броморганических соединения: бромформ, монобромуксусная кислота, дибромуксусная кислота, дибромацетон, бромциан.

Озон инактивирует микробы в силу феномена «все или ничего»: любые высокие концентрации озона в течение короткого периода (1 min) или любые более низкие концентрации озона в течение расширенного периода (5 min) обеспечили достаточную активность для достижения минимального порога инактивации [16, 3.1].

Finch и соавт. [67, 4.2] установили двустадийную (быстрая, сопровождаемая более медленной) стадию инактивации озонем *E. coli* в воде.

Несколько других исследований также показали, что кинетика инактивации озоном множества бактерий и вирусов показывает двухфазный процесс за расширенный период времени. В этом исследовании двухфазные кривые инактивации озоном наблюдались для большинства грамположительных и грамотрицательных бактерий в отсутствие добавленного органического вещества

Результаты исследований вирулицидного действия озона показывают, что озон разрушает белковую капсулу фага f2 на многие субъединицы, освобождая РНК и ингибируя адсорбцию к клетке хозяина. РНК в интактном фаге была менее инактивирована озоном, чем целый фаг, но более инактивирована, чем голая РНК. Это позволяет предположить, что белок оболочки может быть вовлечен в инактивацию РНК, вероятно, вследствие вторичной реакции РНК с молекулами белка, поврежденными озоном. РНК, извлеченные из фага f2 до и после обработки озоном, сохранили свою инфекционность к сферопластам после озонирования несмотря на некоторую редукцию. Эти результаты показывают, что РНК кишечных вирусов может сохранять свою инфекционность после освобождения из вирусных частиц во время озонирования воды и сточных вод, если они инактивированы озоном при тех же условиях, что и фаг f2 [20, 4.1].

При изучении спороцидного действия озона установлено, что суспендированные споры быстро инактивируются воздействием насыщенной озонной воды при температуре среды. Полная инактивация наблюдалась через 8 min при концентрации озона, превышающей 10 mg/l. Каких-либо очевидных различий в устойчивости озона между двумя видами спор не наблюдалось. Результаты спороцидных тестов показывают, что споры, высушенные на носителях, являются более стойкими к озону, чем суспендированные в воде. Жизнеспособные споры восстанавливались на фарфоре через 40 min при температуре среды. Увеличение температуры воды до 60 °C снижало эффективность озона при обработке поверхностей [1, 4.4].

Результаты экспериментов показывают, что озон является эффективным средством инактивации *C. parvum* oocysts при обеззараживании питьевой воды [1, 4.3]. Во время этих испытаний использовался минимальный уровень 10^4 oocyst/ml. Это сопоставимо с результатами Ernest и соавт. [2, 4.3] о 100 %-ости инактивации при дозах контаминации 500–1 000 oocyst/ml, которые выше обнаруженных в поверхностных водах [3, 4.3].

Согласно технологической схеме озонирования воды необходимо поддерживать минимальную остаточную концентрацию озона 0,4 mg/l в течение 6 min при исходной дозе 1,5 - 4 mg/l. Это совпадает с вышеу-

казанными данными [1, 4.3] и соответствует этим экспериментальным условиям, то есть таких доз достаточно для дезинфекции воды, содержащей менее 10^4 оосyst/ml.

Мы неслучайно в конце характеристики биоцидной активности озона подробно остановились на проблеме послероста бактерий в озонированной воде, которая неопровержимо свидетельствует: без финального дезинфектанта в системах централизованного водоснабжения озон применять нельзя. Авторы работы (4, 4.7) (1984 г.) отметили, что полной инактивации апробированных условиях озонирования поверхностных вод никогда не происходило; предположили, что в воде присутствуют многие виды бактерий с различной природной чувствительностью к дезинфекции; продемонстрировали, что органические загрязнения сдерживают дезинфекционную способность озона.

При обсуждении токсикологических особенностей озона как средства обеззараживания воды следует отметить, что львиную долю в этом фрагменте занимает оценка бромата, как побочного продукта окисления воды озонем.

Вместе с тем, нельзя не акцентировать внимание на вопросе образования ТГМ при озонировании с последующим хлорированием. Совместное использование хлора и озона в технологической схеме может как уменьшать, так и увеличивать количество хлорорганических соединений (ХОС) в очищенной воде. Показано, что использование предозонирования или двухстадийного озонирования с заключительной обработкой хлорамином обеспечивает минимальное количество ХОС, в то время как введение озона, а затем хлора в неочищенную воду может существенным образом увеличить содержание ХОС в воде по сравнению с использованием одного хлора [4, раздел 2; 23, раздел 3; 24, 5.1].

В работе [2], посвященной вопросу образования ТГМ при озонировании их предшественников с последующим хлорированием, установлено, что при озонировании гуминовых кислот (концентрация 100 mg/l) с последующим хлорированием создаются условия, при которых образуются максимальные количества хлороформа.

Проблемы токсичности озона и его побочных продуктов остаются актуальными [11, 5.1; 3], несмотря на то, что озон общепризнанный дезинфектант в водоподготовке и широко применяется во многих странах. Это связано с широким спектром органических веществ, которые могут образовываться при озонировании природной воды: алифатические и

ароматические спирты, альдегиды, кетоны, одно- и двухосновные карбоновые кислоты, оксикарбоновые кислоты и другие, среди которых есть токсичные вещества [5, раздел 3; 12, 5.1]. В обзоре [4] обобщены данные в этой области исследований.

Показано, что мутагенные и, возможно, канцерогенные побочные продукты могут формироваться при определенных условиях озонирования [5, 6]. Согласно данным, опубликованным в работе [7], семь из 28 озонированных органических соединений обладают мутагенной активностью. В результате исследования [8] установлено, что озонирование толуола приводит к образованию 10 и более других веществ, среди которых идентифицированы более опасные и токсичные, чем исходные. Об актуальности данной проблемы констатируется в обобщающей статье [4, раздел 3].

При количественном сравнении мутагенной активности отдельных побочных продуктов хлорирования и озонирования растворов гуминовых кислот и известных канцерогенов оказалось, что акролеин, формальдегид и глиоксаль, как продукты озонирования, имели такой же ДНК - повреждающий потенциал, как и типичные канцерогены 2-ацетил-2-аминофлуорен, N-метил-N(-нитро-N-нитрозогуанидин, ацетилтансульфонат, бенз(а)пи-рен и более высокий, чем такие продукты хлорирования, как ТГМ (бромформ, хлороформ, дибромхлорметан, дихлорбромметан). Хотя некоторые продукты озонирования по ДНК - повреждающим свойствам более активны, чем типичные продукты хлорирования, с санитарно-гигиенической точки зрения они не равнозначны. Хлорорганические соединения не подвергаются биологическому окислению и имеют тенденцию к накоплению в организме человека, тогда как кислородсодержащие органические соединения биодеградируют и достаточно быстро распадаются при прохождении воды через распределительную сеть. Фильтрация озонированной воды через ГАУ значительно снижает ее мутагенную активность [7]. По мнению авторов [6, раздел 6], только схема обработки воды с озоном и угольными фильтрами позволяет получить воду с показателями качества, которые отвечают требованиям мировых и европейских стандартов к качеству и безопасности.

Определенную гигиеническую значимость представляют собой броматы, значимость которых мы подробно обсудили в разделе 5.2. Согласно заключению Международного агентства исследования рака [15, 5.2] “существуют неадекватные доказательства канцерогенности бромата калия для человека при наличии достаточного количества фактов у подопытных животных. Поэтому общая оценка такова: бромат калия является возможным канцерогеном для человека (группа 2В)”.

Мы сочли необходимым процитировать работу [81, 5.2], где среднее значение индивидуального избыточного риска рака составило $2,24 \cdot 10^{-4}$, что на порядок выше максимального приемлемого уровня ($2 \cdot 10^{-5}$) согласно директивам ЕРА. Также высказана определенная обеспокоенность с точки зрения химической токсичности, поскольку средний фактор опасности (LADD/RfD) был несколько выше 1.

Анализ технологического раздела показывает, что синтез озона является процессом энергоемким, технологически сложным, а озонирование воды наиболее дорогостоящим методом обеззараживания и окисления.

С гигиенической и медико-экологической точек зрения применение озонирования как самостоятельного средства обеззараживания воды в системах централизованного хозяйственно - питьевого водоснабжения невозможно. Это объясняется необходимостью как дополнительной сорбционной доочистки воды, так и обязательного введения финального дезинфектанта (хлора, хлораминов, диоксида хлора), обеспечивающего пролонгирующий обеззараживающий эффект в водоразводящих сетях.

Следует сказать, что мы осознанно не подвергли анализу другие окислители, которые можно использовать для обеззараживания воды. Речь идет о перекиси водорода, йоде, броне, перманганате калия [9], перуксусной кислоте [10]. Однако, начиная этот труд, мы заранее оговаривали анализ средств обеззараживания воды, применяемых в промышленных технологиях водоподготовки. Для перечисленных окислителей это пока пилотные либо промышленные испытания, поэтому их доля в рынке обеззараживания воды относительно невелика.

В заключение отметим, что эпилогом нашей работы будет гигиеническая и медико-экологическая характеристика УФО и комбинированных методов, а также сравнительный анализ всех обсуждаемых в этой работе средств обеззараживания воды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эффективность сочетания окислительных и коагуляционных методов в процессах очистки днепровской воды / В.В. Гончарук, В.Ф. Вакуленко, В.Ф. Горчев [и др.] // Химия и технология воды. – 1998. – Т.20, № 5. – С. 476 – 492.
2. Nawrocka - Kiepal E. Trojhalogeny metany w wodzie do picia / E. Nawrocka - Kiepal // Gas, woda i tech. sanit. – 1978. – V. 52, N 12. – P. 373 – 375.
3. Скворцов А.Ф. К вопросу о гигиенической оценке озона в питьевой воде / А.Ф. Скворцов / Гигиенические аспекты охраны окружающей среды. – М., 1978. – Вып. 6. – С. 130 – 132.
4. The health implications of water treatment with ozone / H.G. Camichal, C. Winder, S.H. Borges [et al.] // Life Sci. – 1982. – V.30, N 2. – P. 117 – 129.

5. Cotruvo J.A. Investigation of mutagenic effects of products of ozonation reactions / J.A. Cotruvo, V.F. Simmon, R.J. Spangord // *Am. N.J. Acad. Sci.* – 1977. – V. 298. – P. 124 – 140.
6. Mutagenicity of ozonation products from humic substances and their components / H. Matsudo, H. Yamamori, T. Sato [et al.] // *Water Sci. and Technol.* – 1992. – V.25, N 11. – P. 363 – 370.
7. Van Hoof F. Formation of mutagenic activity during surface water preozonation and its removal in drinking water treatment / F. Van Hoof, J. C. Janssens, H. Van Duck // *Chemosphere.* – 1985. – V.14, N 5. – P. 501 – 509.
8. Малышева А.Г. Неучтенная опасность воздействия химических веществ на здоровье человека / А.Г. Малышева // *Гигиена и санитария.* – 2003. – № 6. – С. 34 – 36.
9. Aragones J. Application of permanganat for manganese removal and disinfection by-products control: a case study / J. Aragones, P. Vella // *Вода : гигиена и экология.* – 2015. – №2. – С. 48 – 55.
10. Luukkonen T. Wastewater disinfection with peracetic acid: background information and experimental results / T. Luukkonen // *Вода : гигиена и экология.* – 2015. – №3–4. – С.47 – 56.

Наукове видання

**МОКІЄНКО Андрій Вікторович
ПЕТРЕНКО Наталія Федорівна
ГОЖЕНКО Анатолій Іванович**

**ЗНЕЗАРАЖЕННЯ ВОДИ
ГІГІЄНІЧНІ І МЕДИКО-ЕКОЛОГІЧНІ
АСПЕКТИ**

**Том 3
ОЗОН**

Монографія

Підписано до друку 27.06.2017. Формат 60x84/16.
Папір офсетний. Друк на дуплікаторі. Ум.- друк. арк. 18,36.
Зам. № _____-_____.

Видано і віддруковано ПП «Фенікс»
(Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК №1044 від 17.09.02.)
м. Одеса, 65009, вул. Зоопаркова, 25. Тел. (048) 7777-591
www.law-books.od.ua