

Słowa kluczowe: błona biologiczna, rurociągi z tworzyw syntetycznych, analiza mikrobiologiczna wody

Teodora Małgorzata TRACZEWSKA*, Magdalena SITARSKA*

MATERIAŁY SYNTETYCZNE PODŁOŻEM DLA ROZWOJU BIOFILMU W SYSTEMACH DYSTRYBUCJI WODY

Oceniono podatność na obrosty mikrobiologiczne PP i PB, poprzez kontrolę przyrostu liczby bakterii w odpływie z reaktorów zawierających płytki z badanymi materiałami.

Po zakończeniu pracy reaktorów poddano analizie powstały na ich powierzchni biofilm oraz jego wpływ na sam materiał. Dokonano częściowej identyfikacji drobnoustrojów wchodzących w skład błon biologicznych z wykorzystaniem standardowych analiz mikrobiologicznych jak również wykonane zostały zdjęcia z SEM uwidaczniające strukturę przestrzenną powstałej błony biologicznej oraz zmiany w materiale po usunięciu biofilmu metodą ultradźwięków.

1. WSTĘP

Mikroorganizmy w sieci wodociągowej mogą występować w postaci pojedynczych komórek unoszonych z wodą lub tworzyć błony biologiczne pokrywające wewnętrzne powierzchnie rurociągów oraz elementów armatury. Ich obecność jest w dużym stopniu uwarunkowana brakiem stabilności mikrobiologicznej wody, warunkami hydraulicznymi panującymi w systemie dystrybucji oraz zachodzącymi tam licznymi procesami fizyczno-chemicznymi. Szybkość narastania biofilmu zależy zarówno od czynników biologicznych tj. składu mikrobiologicznego wody wprowadzanej do sieci jak i jej fizyczno-chemicznych parametrów czy ilość substancji biogennych, równie istotne jest natężenie przepływu, temperatura wody czy rodzaj podłoża, na którym powstaje, a więc materiał z jakiego wykonany jest rurociąg oraz czas jego eksploatacji [1,6]. Zależność wzrostu błony biologicznej od rodzaju podłoża wynika przede wszystkim od szorstkości powierzchni, gdyż pierwszy etap tworzenia biofilmu to adhezja mikroorganizmów do podłoża. Parametr ten stymuluje początkowy etap tworzenia, w kolejnym etapie należy zwrócić uwagę na skład chemiczny materiału,

* Politechnika Wroclawska, Instytut Inżynierii Ochrony Środowiska, Zakład Biologii i Ekologii, 50-370 Wrocław, Wybrzeże Wyspiańskiego 27, teodora.traczewska@pwr.wroc.pl.

gdyż zawarte w nim substancje biogenne mogą przyspieszać rozwój biofilmu poprzez intensyfikację podziałów komórkowych drobnoustrojów lub też spowalniać ten proces w wyniku zawartych w nim substancji toksycznych dla mikroorganizmów [3,8].

W ostatnich latach stwierdzono, że stopień chropowatości powierzchni tylko w niewielkim stopniu utrudniają powstawanie biofilmu. Właściwości adhezyjne drobnoustrojów są cechą charakterystyczną danego gatunku, wynikającą z ich genetycznych uwarunkowań np. zdolności tworzenia pozakomórkowych polimerów pokrywających powierzchnię bakterii oraz obecności fimbrii, ich budowy, ilości czy rozmieszczenia na powierzchni. Utrudnione warunki przytwierdzenia do podłoża prowadzą do powstania początkowej warstwy błony biologicznej, w której skład wchodzi przede wszystkim drobnoustroje o najlepiej wykształconych mechanizmach adhezyjnych, a dopiero na ich powierzchnię osiadają mikroorganizmy innych gatunków [1].

W systemach dystrybucji wody do picia obrosty mikrobiologiczne prowadzą do pogorszenia jakości wody, wzbudzają i intensyfikują procesy korozji, zwiększając zużycie dezynfektanta [9].

Zagrożenie powstawania biofilmów w sieci przyczyniło się do zwiększenia stosowanych dawek dezynfektantów. Środki utleniające takie jak chlor czy dwutlenek chloru stosowane do dezynfekcji wody nie tylko pogarszają jej właściwości organoleptyczne, ale przede wszystkim prowadzą do zmian struktury chemicznej wielu związków zawartych w wodzie, czyniąc je łatwiej dostępnymi dla mikroorganizmów. Niestabilna chemicznie woda, poprzez dużą ilość substancji biogennych nie tylko wpływa na zwiększenia liczebności drobnoustrojów w wodzie, ale również na ich bioróżnorodność [4,7].

2. PRZEDMIOT I ZAKRES BADAŃ

Badania szybkości wzrostu mikroorganizmów na powierzchniach PB i PP były prowadzone na stanowisku badawczym umieszczonym w laboratorium Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej. W skład układu badawczego wchodziły dwa reaktory wykonane z kwasoopornej stali nierdzewnej, w których umieszczono po dwie próbki badanych materiałów o wymiarach 25×50 mm i grubości 5 mm. Reaktory zasilano wodą wodociągową z punktu czerpalnego wody zimnej, zlokalizowanego na wrocławskiej sieci wodociągowej.

Prędkość przepływu wody w sieci wynosi 0,5–0,8 m/s dla rurociągów o średnicy poniżej 300 mm [2]. W prowadzonych badaniach prędkość wody w układzie wynosiła 0,2 m/s, co prowadziło do stagnacji wody, zjawiska często występującego w systemie dystrybucji w dużych miastach, gdzie mamy do czynienia z przewymiarowaniem sieci. W takich warunkach szybkość tworzenia błony biologicznej znacznie wzrasta.

W celu oceny wpływu polimerów na przyrost mikroorganizmów kontrolowano liczebność bakterii na dopływie i odpływie z reaktorów. Analizy obejmowały badania

ogólnej liczby bakterii mezofilnych (czas inkubacji 24h, temperatura 37⁰C) i psychrofilnych (czas inkubacji 72h, temperatura 22⁰C) metodą płytkową Kocha na agarze wzbogaconym.

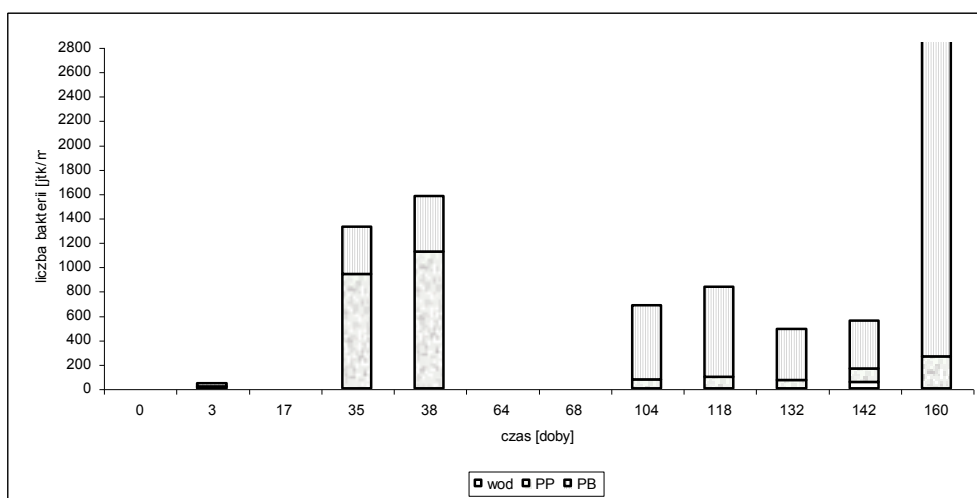
Próbki wody pobierano w odstępach 3–4 dób z punktu czerpalnego zasilającego układ badawczy oraz na wypływie z reaktorów.

Czas trwania badań to około 160 dni, po upływie tego okresu próbki materiałów z reaktorów poddano dalszym analizom. Między innymi zostały wykonane zdjęcia z elektronowego mikroskopu skaningowego oraz analizy mikrobiologiczne mające na celu określenie różnorodność mikrobiologiczną biofilmu powstałego na powierzchni badanych materiałów.

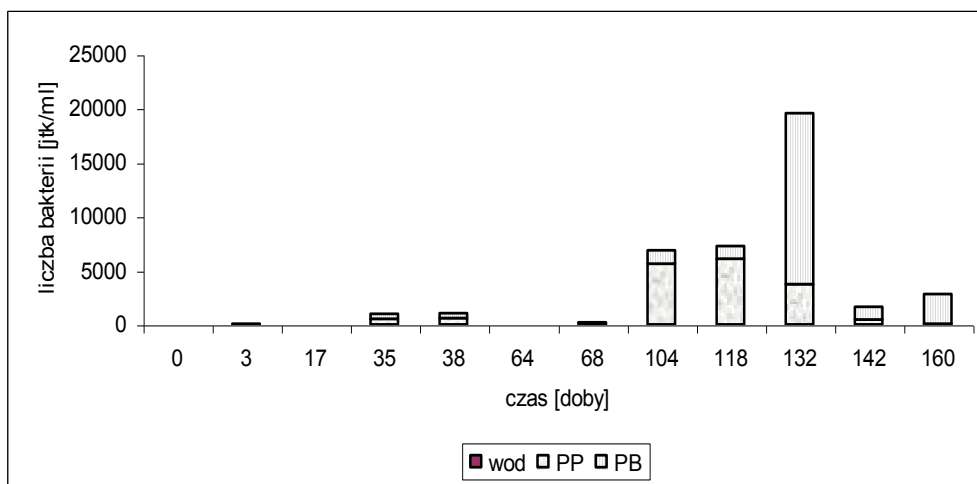
3. WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

Pierwsze analizy zostały przeprowadzone po trzech dobach od uruchomienia układu, i już po tak krótkim kontakcie wody z polimerem były widoczne zmiany w ilości mikroorganizmów w badanych próbkach wody, w stosunku do wody zasilającej.

Na poniższych wykresach przedstawiono częściowe wyniki z wykonanych analiz mikrobiologicznych.



Rys. 1. Zmiany ogólnej liczby bakterii mezofilnych na podłożu agar wzbogacony



Rys. 2. Zmiany ogólnej liczby bakterii psychrofilnych na podłożu agar wzbogacony

W odciekach z układu ilość bakterii mezofilnych i psychrofilnych wzrasta, a wzrost ten był zależny od czasu pracy układu.

Już po upływie pierwszych trzech dób zaobserwowano niewielki wzrost liczby bakterii mezofilnych i psychrofilnych w próbkach wody z reaktorów co mogło wskazywać na powstawanie początkowej fazy tworzenia błony biologicznej.

W kolejnych dobach liczebność bakterii w próbkach wody z reaktorów wykazywała oscylacje okresową i tendencję wzrostową w przypadku bakterii mezofilnych, natomiast bakterie psychrofilne utrzymywały się na stałym poziomie aż do 64 doby, kiedy to ich liczba zmalała do liczby bakterii w wodzie zasilającej układ. Znacznie zwiększona liczba bakterii w odpływach w 61 dobie pracy układu może wskazywać na ponowne oderwanie się od uformowanego biofilmu jego mniej skumulowanych fragmentów i uwolnieniu do wody znacznej liczby drobnoustrojów.

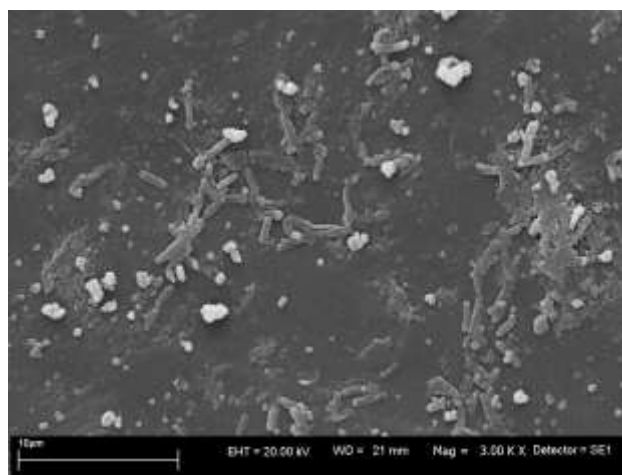
Badania prowadzono przez kolejne dni jednak liczebność bakterii w wodzie na odpływie utrzymywała się na podobnym poziomie. Około 130 doby nastąpił wyraźny wzrost liczby bakterii psychrofilnych dla próbek wody z reaktora zawierającego PB i jednocześnie zmniejszenie liczebności bakterii mezofilnych dla tej wody. Mogło to być spowodowane uwalnianiem bakterii z biofilmu do wody czy też odrywaniem się całych jego fragmentów. Podobne zmiany obserwowano w czasie dalszej pracy układu badawczego. Sugerować by to mogło uformowanie biofilmu na powierzchni polipropylenu oraz polibutylenu.

Uważa się, że biofilm na wewnętrznych powierzchniach rurociągów może uformować się w ciągu 1–3 tygodni w zależności od warunków hydraulicznych oraz składu wody [5].

Porównując ilość bakterii mezofilnych i psychrofilnych w próbkach wody z obu reaktorów można stwierdzić, że badane materiały różnią się podatnością na obrosty biologiczne.

Po zakończeniu pracy układu badawczego próbki materiałów zostały poddane analizom mającym na celu określenie zróżnicowania mikrobiologicznego biofilmów powstałych na powierzchni badanych polimerów. Wykazano, że błony biologiczne powstałe na powierzchniach materiałów syntetycznych wykorzystanych w badaniach zawierały przede wszystkim bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, głównie *Pseudomonas fluorescens* i nielicznie *Spirillum* oraz liczne grzyby i drożdżaki. Nie stwierdzono obecności bakterii z rodzaju *Staphylococcus*, *Streptococcus* czy z rodziny *Enterobacteriaceae*.

W dalszym etapie badań próbki materiałów zostały poddane analizie mikroskopowej z wykorzystaniem skaningowego mikroskopu elektronowego. Na rysunkach 3 i 4 przedstawiono próbkę polipropylenu po zakończeniu pracy układu.



Rys. 3. Zdjęcie z elektronowego mikroskopu skaningowego biofilmu powstałego na powierzchni polipropylenu



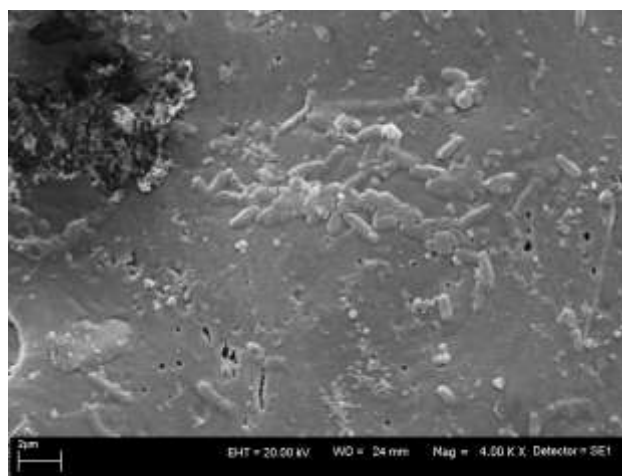
Rys.4. Zdjęcie z SEM próbki polipropylenu po usunięciu z jego powierzchni biofilmu metodą ultradźwięków

Rysunek nr 4 uwidacznia powstałą na polimerze błonę biologiczną. Obserwujemy, że w miejscach zagłębień podłoża liczebność bakterii znacznie wzrasta, jest to wynikiem sprzyjających warunków fizycznych. Biofilm uformowany w nierównościach podłoża jest mniej narażony na zmiany warunków hydraulicznych panujących w sieci wodociągowej. Nie dochodzi do tak częstych zrywów błony jak w miejscach mniej osłoniętych gdzie każda zmiana natężenia przepływu może spowodować zmiany w strukturze błony. Dodatkowo w wyniku zmniejszenia prędkości przepływu w opisanych miejscach zostaje ułatwione bakteriom wychwycenie z przepływającego medium substancji odżywczych, jak również częściej dochodzi tam do adhezji mikroorganizmów z przepływającej wody do powierzchni uformowanego biofilmu. Warunki takie sprzyjają zwiększeniu szybkość narastania błony biologicznej.

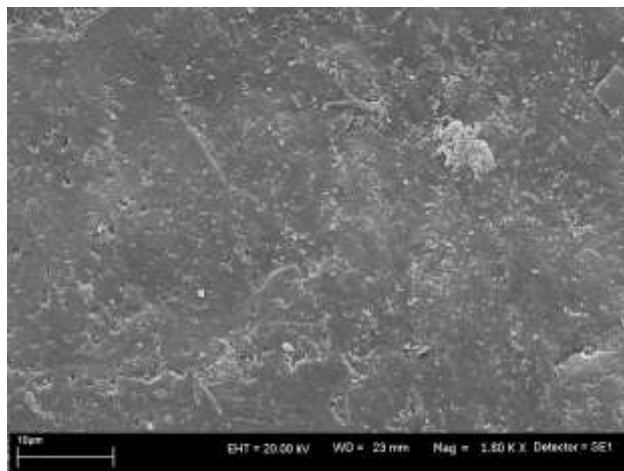
Na zdjęciach widoczne są liczne grzyby oraz bakterie cylindryczne co zostało potwierdzone w badaniach mikrobiologicznych.

Rysunek piąty przedstawia powierzchnię polipropylenu po usunięciu biofilmu z wykorzystaniem ultradźwięków. Na zdjęciu widoczne są liczne „wżery” spowodowane działalnością metaboliczną drobnoustrojów, widoczne są również pojedyncze komórki bakteryjne których nie udało się usunąć.

Kolejne fotografie przedstawiają powierzchnie rurociągu wykonanego z polibutylenu.



Rys. 5. Zdjęcie z elektronowego mikroskopu skaningowego biofilmu powstałego na powierzchni polibutylenu



Rys. 6. Zdjęcie z SEM próbki polibutyleny po usunięciu z jego powierzchni biofilmu metodą ultradźwięków

Powstały na powierzchni polibutyleny biofilm ma inne uformowanie przestrzenne niż błona biologiczna powstała na powierzchni polipropyleny. W dużym stopniu wynika to ze struktury fizycznej obu materiałów. Na powierzchni widoczne są zarówno pojedyncze bakterie przytwierdzone do podłoża jak również większe ich skupiska, są one jednak mniej zróżnicowane przestrzennie w porównaniu do błony powstałej na polipropylenie. Taka struktura jest nie trwała i łatwo ulega zniszczeniu, dlatego też w przypadku reaktora zawierającego polibutylen obserwowaliśmy zwiększoną liczebność mikroorganizmów w odpływie w wyniku liczniejszych zrywów do jakich dochodziło w czasie trwania badań.

4. WNIOSKI

- Tworzywa sztuczne, tj. polipropylen czy polibutylen, są podatne na obrasty mikrobiologiczne, czego dowodzi zwiększona ilość drobnoustrojów na odpływie z reaktorów w stosunku do ich ilości w dopływie oraz zdjęcia wykonane elektronowym mikroskopem skaningowym.
- Przy zmniejszonej prędkości przepływu wody szybkość tworzącego się biofilmu wzrasta, zwiększoną ilość bakterii w odpływie z reaktorów obserwujemy już po 3-mej dobie pracy układu badawczego.
- Stosunek bakterii mezofilnych do bakterii psychrofilnych w biofilmach powstałych na badanych tworzywach sztucznych (PP oraz PB) jest różny co wskazuje na zróżnicowanie mikrobiologiczne błon biologicznych w zależności od rodzaju podłoża na jakim powstaje.

- Struktura fizyczna powierzchni materiału na jakim powstaje błona biologiczna ma duże znaczenie w szybkości tworzenia biofilmu jak również w kształtowaniu jego struktury przestrzennej.
- Okresowe „zrywy” błony biologicznej prowadzą do zwiększonej liczebności drobnoustrojów w odpływie z reaktorów zawierających próbki badanych tworzyw sztucznych, wielkość i częstotliwość tego zjawiska jest zależna od wielkości skumulowania biofilmu.

LITERATURA

- [1] Evans L. V. 2000 „*Biofilms: Recent advances in their study and control*” Harwood Academic Publishers ISBN 90-5823-093-7
- [2] Gabryszewski T. 1983 „*Wodociągi*” Warszawa Arkady
- [3] Kuś K.I, Ścieranka G. 2005 „*Wpływ materiału i parametrów eksploatacyjnych sieci wodociągowej na jakość wody na przykładzie Chorzowsko-Świętochłowickiego Przedsiębiorstwa Wodociągów i Kanalizacji w Chorzowie*”, *Ochrona Środowiska*, Nr 4, 31-33
- [4] Lipiak D., Kniotek W., Suchański W. 2003 „*Wykorzystanie dwutlenku chloru do dezynfekcji i stabilizacji mikrobiologicznej wody na przykładzie sieci wodociągowej w Nowym Targu*”, *Ochrona Środowiska*, Nr 3, 61-63
- [5] Łomotowski J. 2006 „*Biofilmy w sieci wodociągowej*” XIX Krajowa Konferencja, VII Międzynarodowa Konferencja „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód” 819-828
- [6] Olańczuk-Neyman K., Sokołowska A., Bray R., Skucha M. 2004 „*Changes of microbiological quality of water in distribution system*” , XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód”, 169-176
- [7] Raczyk-Stanisławiak U., Dąbrowska A., Świetlik J., Nawrocki J. 2004 „*Dezynfekcja wody dwutlenkiem chloru i chlorem a stabilność mikrobiologiczna wody wodociągowej*”, XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód”, 755-766
- [8] Zyski B., Żakowska Z. 2005 „*Mikrobiologia materiałów*”, Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej
- [9] Świdarska-Bróz M., Wolska M. 2007 „*Przyczyny zużycia chloru wolnego w systemie dystrybucji wody*”, *Ochrona Środowiska* 3/2007

SYNTHETIC MATERIALS BASE FOR BIOFILM GROWTH IN DRINKING WATER DISTRIBUTION SYSTEM

Susceptibility of biofilms PP and PB was assessed, through control growth the number of bacteria in outflow on reactors with studing materials.

The increase the number of psychrophilic bacteria and mesophilic bacteria was pronounced after three days. There was difference in total cell count on different surfaces.