

POLITECHNIKA WROCŁAWSKA
WYDZIAŁ INŻYNIERII ŚRODOWISKA

Magdalena Sitarska

**Biofilm w sieci wodociągowej –
podatność wybranych wewnętrznych
powierzchni rur na obrosty
mikrobiologiczne**

Praca doktorska

PROMOTOR:

dr hab. Teodora Małgorzata Traczewska, prof. nadzw.

Wrocław, 2010 r.

SPIS TREŚCI

WPROWADZENIE	11
CZĘŚĆ TEORETYCZNA	13
1. Wody ujmowane do celów wodociągowych.....	13
2. Technologie uzdatniania wody.....	14
3. Materiały techniczne wykorzystywane do budowy sieci wodociągowych i ich wpływ na jakość przesyłanej wody.....	18
4. Zmiany właściwości wody w systemach dystrybucji.....	23
4.1. Czynniki strukturalne.....	24
4.2. Czynniki eksploatacyjne.....	26
4.3. Czynniki jakościowe.....	27
5. Biofilm w sieci wodociągowej.....	29
5.1. Mechanizm powstawania i budowa błony biologicznej.....	30
5.2. Wpływ błony biologicznej na jakość wody wodociągowej oraz system dystrybucji.....	34
CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	37
1. Cel i zakres pracy.....	37
2. Materiały i metody.....	39
2.1. Rodzaje materiałów syntetycznych/polimerów wykorzystywanych w badaniach.....	39
2.2. Pożywki i roztwory wykorzystywane w analizach mikrobiologicznych.....	39
2.3. Drobnoustroje wykorzystywane w badaniach.....	42
2.3.1. Inokulum drobnoustrojów wody wodociągowej wykorzystywanych w badaniach zmian tekstury powierzchni.....	42
2.3.2. Szczep bakterii <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 13388 zastosowany do określenia zmian tekstury powierzchni oraz oceny wpływu działalności drobnoustrojów na tworzywa sztuczne.....	43
2.3.3. Izolacja bakterii do oceny ich wrażliwości na środki dezynfekcyjne.....	43
2.4. Metody mikrobiologiczne.....	44
2.4.1. Określanie ogólnej liczby bakterii psychrofilnych i mezofilnych.....	44
2.4.2. Analiza ilościowa i jakościowa biofilmów powstałych na materiałach syntetycznych.....	45
2.4.3. Identyfikacja bakterii i bakteriofagów występujących w błonach biologicznych.....	45
2.5. Metody oznaczania wybranych parametrów fizyczno-chemicznych wody.....	47
2.6. Pomiar tekstury powierzchni.....	47
2.7. Ocena struktury biofilmu oraz powierzchni badanych polimerów z wykorzystaniem elektronowego mikroskopu skaningowego (SEM).....	49
2.8. Stanowiska badawcze oraz procedury wykonywania badań.....	51
2.8.1. Hodowle statyczne.....	52
2.8.1.1. Ocena podatności na obrosty mikrobiologiczne materiałów syntetycznych.....	52

2.8.1.2. Ocena korozji mikrobiologicznej.....	53
2.8.1.2.1. Ocena zdolności korozyjnych bakterii wyizolowanych z wody wodociągowej.....	53
2.8.1.2.2. Ocena podatności na korozję badanych materiałów na podstawie wzrostu bakterii <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 13388.....	53
2.8.1.3. Ocena wpływu oddziaływania drobnoustrojów na tworzywa sztuczne (norma PN EN ISO 846:2002).....	54
2.8.2. Badania w układach przepływowych.....	55
2.8.2.1. Badania rozwoju biofilmu w układzie badawczym zasilanym wodą wodociągową z punktu czerpalnego.....	55
2.8.2.2. Badania rozwoju biofilmu w układzie badawczym zasilanym uzdatnioną niedezynfekowaną wodą wodociągową.....	57
2.8.3. Badania w warunkach rzeczywistych – sieć wodociągowa.....	59
2.8.3.1. Określenie zmian jakości wody w systemie dystrybucji podczas jej przesyłu.....	59
2.8.3.2. Określenie wrażliwości wyizolowanych z wody wodociągowej form morfologicznych bakterii na chemiczne środki dezynfekcyjne.....	62
3. Omówienie wyników badań.....	62
3.1. Rezultaty badań w hodowlach statycznych.....	62
3.1.1. Ocena podatności na obrosty mikrobiologiczne materiałów syntetycznych (badania wstępne).....	62
3.1.2. Ocena korozji mikrobiologicznej.....	65
3.1.2.1. Ocena zdolności korozyjnych bakterii wyizolowanych z wody wodociągowej.....	65
3.1.2.2. Badania prowadzone w hodowli statycznej a podłożu stałym z wykorzystaniem szczepu <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 13388.....	78
3.1.3. Ocena wpływu działalności drobnoustrojów na tworzywa sztuczne (norma PN EN ISO 846:2002).....	79
3.2. Rezultaty badań w układach przepływowych.....	82
3.2.1. Ocena wpływu wybranych polimerów na jakość wody w układach zasilanych wodą wodociągową z punktu czerpalnego.....	82
3.2.1.1. Badania mikrobiologiczne.....	82
3.2.1.2. Wybrane parametry fizyczno-chemiczne.....	90
3.2.2. Ocena wpływu wybranych polimerów na jakość wody w układach zasilanych wodą uzdatnioną nie dezynfekowaną (mikrostat).....	99
3.2.2.1. Badania mikrobiologiczne.....	99
3.2.2.2. Wybrane parametry fizyczno-chemiczne.....	109
3.3. Wyniki analiz ilościowych oraz wstępnej bioróżnorodności błon biologicznych powstałych na próbkach materiałów syntetycznych.....	116

3.4. Wyniki identyfikacji bakterii i bakteriofagów występujących w błonie biologicznej.....	118
3.5. Analiza SEM podatności na obrosty mikrobiologiczne i biokorozję badanych polimerów.....	119
3.6. Wyniki badań zmian jakościowych parametrów mikrobiologicznych i fizyczno-chemicznych w wybranych punktach kontrolnych systemu dystrybucji wody.....	149
3.7. Wyniki badań wpływu rodzaju dezynfektanta i dawki na różne formy morfologiczne bakterii wyizolowanych z wody wodociągowej.....	169
4. Dyskusja.....	175
5. Wnioski.....	183
Spis skrótów.....	187
Piśmiennictwo.....	189
Spis tabel.....	199
Spis rysunków.....	201

WPROWADZENIE

Głównym problemem przedsiębiorstw wodociągowych ostatnich lat jest utrzymanie wymaganej jakości wody dostarczanej odbiorcom. Dostosowanie polskich przepisów prawnych dotyczących jakości wody do picia do przepisów Unii Europejskiej zaostrzyło wymagania dotyczące parametrów wody w punkcie jej poboru przez odbiorcę. W latach wcześniejszych badania jakości wody wodociągowej ograniczone były do monitorowania jej parametrów w punkcie wprowadzania do sieci, obecnie zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Ministra Zdrowia [110] wymagana jest również kontrola zmian jakości wody w systemach dystrybucji, a więc i jej jakość u odbiorcy [121,123,125].

Pogarszające się warunki hydrauliczne panujące w systemach dystrybucji wody spowodowane zmniejszeniem poboru, przewymiarowaniem sieci oraz stanem technicznym rurociągów wpływają bardzo niekorzystnie na jakość przesyłanej wody powodując zjawisko określane mianem wtórnego zanieczyszczenia [55,64,128]. Sieć wodociagową należy rozpatrywać jako reaktor, w którym zachodzą liczne procesy fizyczne, chemiczne i biochemiczne mające istotny wpływ na parametry przesyłanej wody i są następstwem ilości i jakości wprowadzanej wody oraz ilości wody jaka jest pobierana z układu [10,11,128]. Do najważniejszych czynników, których efektem jest wtórne zanieczyszczenia wody należą parametry fizyczno-chemiczne wody surowej oraz oczyszczonej, rodzaj i dawki dezynfektantów, stabilność mikrobiologiczna wody, rodzaj i stan techniczny materiałów, z których wykonana jest sieć, jej rozległość oraz natężenie przepływu. Jednym z istotnych skutków tego zjawiska jest powstawanie błon biologicznych na wewnętrznych powierzchniach rur [11,91,128,129].

Woda przed wprowadzeniem do systemu dystrybucji zostaje poddana licznym procesom uzdatniania, układ technologiczny zależy od rodzaju i jakości ujmowanej wody surowej. W Polsce w wielu zakładach ujmowana jest woda powierzchniowa i to głównie klasy III, a tylko w nielicznych infiltracyjna i podziemna [58,62]. W wielu miastach, oprócz niskiej jakości ujmowanej na cele wodociagowe wody, sieć jest w złym stanie technicznym wynikającym z jej wieloletniej eksploatacji oraz zmniejszenia poboru wody. Stagnacja wody prowadzi do licznych procesów korozyjnych niszczących rurociągi, które stają się idealnym podłożem do powstawania błon biologicznych, co niekorzystnie wpływa na jej jakość, w tym głównie właściwości organoleptyczne [11,35,40,128].

W ostatnich latach do dystrybucji wody do picia i na cele gospodarcze stosowane są materiały syntetyczne takie jak polichlorek winylu, polietylen, polibutylen oraz polipropylen. Tworzywa te są obecnie szeroko stosowane zarówno w sanitarnych instalacjach wewnętrznych, jak również w rurociągach przesyłowych (np. magistrale). Atrakcyjna cena oraz łatwość montażu sprawiają, iż procentowy udział polimerów w sieciach wodociągowych stale wzrasta, ponieważ zastępowane są nimi stare, skorodowane rurociągi oraz stanowi główny budulec nowych odcinków [64,157]. Uważa się, że rurociągi wykonane z tworzyw sztucznych charakteryzują się małą chropowatością powierzchni, co ma między innymi minimalizować powstawanie

obrostów mikrobiologicznych, głównie poprzez wydłużenie początkowej fazy tworzenia błony biologicznej, w której najistotniejszą rolę odgrywa adhezja mikroorganizmów do podłoża. Jednak kompozyty te mogą stanowić źródło substancji odżywczych dla drobnoustrojów. Związki chemiczne wykorzystywane przy ich produkcji takie jak utwardzacz, utrwalacz czy stabilizatory mogą być z czasem wypłukiwane i stają się wówczas potencjalnym substratem dla drobnoustrojów stymulując ich przyrost [159].

Mikroorganizmy wchodzące w skład błony biologicznej, w wyniku swojej działalności życiowej, wytwarzają metabolity, które dostając się do wody powodując zwiększenie stężenia i różnorodności substancji chemicznych niekorzystnie wpływających na jakość wody. W czasie eksploatacji rurociągów często dochodzi do zmian natężenia przepływu, powodowanego różnicowaniem poboru przez odbiorców, każda taka zmiana może spowodować oderwania całych fragmentów błony i przenoszenie ich na dalsze odcinki sieci często nie zasiedlone przez drobnoustroje [16,36,128].

Jednym z ważniejszych zagadnień jest podnoszony obecnie problem obecności w sieci wodociągowej bakterii z rodzaju *Legionella* oraz grzybów mikroskopowych, które stwarzają zagrożenie epidemiologiczne [10,33]. Bakterie te są szczególnie nie pożądane w sieci wodociągowej z uwagi na swój patogenny charakter oraz zdolności szybkiej adaptacji w środowisku biofilmów. W zależności od rodzaju materiału mogą stanowić 1-35% ogólnej liczby wyizolowanych bakterii. Zdolność ich szybszego rozmnażania się w obecności organizmów jednokomórkowych takich jak słodkowodne pierwotniaki, może prowadzić do nagłych wzrostów ich liczebności w wodzie co nie pozostaje bez znaczenia w przypadku procesu tworzenia błony biologicznej [27,33]. Grzyby natomiast oprócz swoich właściwości chorobotwórczych dodatkowo są odporne na działanie dezynfektantów, gdyż główną formą ich występowania w systemach dystrybucji są spory, bądź skupiska grzybni do wnętrza których utrudniony jest dostęp chemicznych środków dezynfekcyjnych. W obrostach mikrobiologicznych rozwijają się one bardzo szybko, a ich metabolity prowadzą do znacznych uszkodzeń materiałów syntetycznych [10,158].

Z uwagi na zagrożenia techniczne oraz epidemiologiczne powodowane przez obrosty mikrobiologiczne w sieciach wodociągowych istotne jest zbadanie odporności na nie materiałów wykorzystywanych do dystrybucji wody. Stosowanie nowych materiałów do budowy instalacji sanitarnych, jak również rozwój technologii ich produkcji stwarza wiele zagadnień wymagających wyjaśnienia. Jednym z nich jest wpływ parametrów fizycznych jak i chemicznych podłoża na szybkość powstawania obrostów mikrobiologicznych. W niniejszej pracy została podjęta próba oceny wpływu rodzaju materiału wykorzystywanego do przesyłu wody na szybkość tworzenia błony biologicznej, związane z tym zmiany jakości wody oraz częściowej identyfikacji tworzących go drobnoustrojów poprzez określenie jej bioróżnorodność z wykorzystaniem mikrobiologicznych metod izolacji oraz wpływu wieku rurociągu na jakość mikrobiologiczną wody.

Dodatkowo przedstawiono wpływ rodzaju i dawki dezynfektanta na bakterie wyizolowane z wody wodociągowej, co jest bardzo istotne w procesie usuwania błon biologicznych w instalacjach wodociągowych.

CZEŚĆ TEORETYCZNA

1. Wody ujmowane do celów wodociągowych

Powierzchnia Ziemi pokryta jest w około 70 % wodą, jednak ponad 98 % tych zasobów stanowią wody słone zgromadzone w oceanach i morzach. Wody te tylko w bardzo małym procencie są wykorzystane do celów komunalnych, z uwagi na zbyt wysokie koszty odsalania i uzdalniania. Pozostałe 2 % to wody słodkie, jednak znaczna ich część, bo 96-98 % stanowią czapy lodowe na biegunach, lądolody i lodowce. Ostatecznie wody, które mogą być ujmowane do celów konsumpcyjnych, przemysłowych i rolniczych stanowią jedynie 0,04 % wodnych zasobów ziemskich [54,58,154].

Wody słodkie ujmowane na cele wodociągowe dzielimy na dwie grupy: wody powierzchniowe oraz wody podziemne. Wody podziemne, a w szczególności wgłębne, czyli zbiorniki wodne znajdujące się poniżej kilku nieprzepuszczalnych warstw gruntu i zawierające poniżej 1 g/dm³ substancji rozpuszczonych stanowią cenne źródło wody do picia o wysokiej jakości. W szczególnych przypadkach woda powierzchniowa zostaje poddana procesowi filtracji przez warstwy drenażowe, w wyniku, czego nabiera cech wody podziemnej i określana jest jako woda infiltracyjna [154]. W warunkach naturalnych woda nigdy nie występuje w stanie czystym chemicznie, gdyż rozpuszcza wiele substancji, z którymi ma kontakt, przenosząc je w postaci rozpuszczonej, koloidalnej lub zawieszanej. Jest ona jednocześnie środowiskiem bytowania wielu organizmów żywych, w którym zachodzą liczne skomplikowane procesy biochemiczne w wyniku ich działalności życiowej, co prowadzi do zmian składu chemicznego. Często konsekwencją tych zmian jest zwiększenie bioróżnorodności i liczebności zasiedlających je organizmów [92].

Dostępność wody słodkiej na świecie nie jest równomierna. W Polsce ilość słodkich wód powierzchniowych to ok. 47,1 km³, natomiast zasobów eksploatacyjnych wód podziemnych 16 km³. Oznacza to że na 1 mieszkańca w Polsce przypada 1600 m³ i jest to jeden z najniższych wskaźników w Europie [154]. Według danych z 2004 roku wodociągi polskie pobierają rocznie ok. 21 km³ wody z zasobów powierzchniowych i podziemnych. W ostatnich latach udział wody podziemnej pobieranej na potrzeby komunalne stale wzrastał i obecnie wynosi on około 86 % całkowitego poboru wód w Polsce, pokrywając w 66,6 % potrzeby wodociągów komunalnych, natomiast pozostałe 33,3 % to pobór wód powierzchniowych [56]. Znaczna część zasobów wód powierzchniowych w Polsce charakteryzuje się dużym stopniem zanieczyszczenia co kwalifikuje je na ogół do III klasy czystości czyli wody określanej jako wody zadawalającej jakości, spełniające wymagania określone dla wód powierzchniowych wykorzystywanych do zaopatrzenia ludności w wodę przeznaczoną do spożycia, w przypadku ich uzdatniania sposobem właściwym dla kategorii A2 oraz wartości biologicznych wskaźników jakości wody wykazujących umiarkowany wpływ oddziaływań antropogenicznych [62,109]. Wymagania jakościowe stawiane wodzie są uzależnione od jej przeznaczenia i często ściśle określone przez użytkownika. Jakość wody określana jest przez tzw. wskaźniki jakości wody, a ich ilość oraz dopuszczalne

wartości są różne w zależności od kraju. W Polsce jakość wód wykorzystywanych w rolnictwie i różnych gałęziach przemysłu określana jest w odpowiednich normach branżowych, natomiast woda przeznaczona do picia i na potrzeby gospodarcze przez rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej [58].

Woda powierzchniowa i infiltracyjna ujmowana przez zakłady uzdatniania, (tzw. woda surowa) z uwagi na swój skład chemiczny jak i jakość mikrobiologiczną poddawana jest szeregowi procesów uzdatniania. Układ technologiczny stosowanych procesów oczyszczania wody projektowany jest na podstawie wiadomości o składzie wody oraz jego zmienności w ciągu roku. Postęp techniczny ostatnich lat daje obecnie możliwość oczyszczania nawet bardzo zanieczyszczonej wody i zapewnienia utrzymania jej parametrów jakościowych zgodnych z wymaganiami dotyczącymi wody przeznaczonej do picia, podczas jej przesyłu do odbiorcy. Są to jednak często procesy bardzo kosztowne, dlatego wiele zakładów produkujących wodę do picia poszukuje źródeł wody o możliwie jak najlepszych parametrach jakościowych [58].

Wprowadzana do systemu dystrybucji woda ulega zmianom jakościowym pod względem fizyczno-chemicznym jak i mikrobiologicznym w czasie jej przesyłu do odbiorcy. Wielkość tych zmian zależy w dużym stopniu, od jakości wody wprowadzonej, gdyż wraz ze wzrostem niestabilności chemicznej i biologicznej, szybkość pogarszania jej parametrów znacznie wzrasta [11]. Nieoczyszczona woda ujmowana zawiera organizmy patogenne (np. *Vibrio fulvis*) oraz oportunistyczne (np. *Aeromonas* sp., *Bacillus cereus*, *Flavobacteria* czy *Pseudomonas* spp.). W wodzie oczyszczonej obecne są głównie bakterie Gram-ujemne stanowiące aż 448 wśród 495 zidentyfikowanych, wśród których obecne były między innymi *Alcaligenes* spp., *Pseudomonas* spp., *Flavobacterium*, *Achromabacter*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Conybacterium*, *Mycobacterium*, *Spirillum*, *Clostridium*, *Arthrobacter*, *Gallionella* i *Leptothrix* [19,65,92].

Wody powierzchniowe stanowiące element środowiska przyrodniczego, przez co są narażone na zanieczyszczenia, w tym głównie antropogeniczne. Ich skład charakteryzuje się znacznymi zmianami parametrów fizyczno-chemicznych oraz bakteriologicznych w ciągu roku, a nawet doby, czego przyczyną jest intensywny rozwój organizmów wodnych w okresach zwiększonej temperatury wody i nasłonecznienia oraz przemiany biochemiczne wynikające z działalności mikroorganizmów w niej występujących oraz zanieczyszczeń pochodzenia antropogenicznego [8,32,58,92].

Światowa Organizacja Zdrowia (WHO), jako jeden z dziesięciu największych zagrożeń zdrowia człowieka uznał zanieczyszczoną wodę do picia [118].

2. Technologie uzdatniania wody

Wody ujmowane do celów wodociągowych zawierają zarówno szkodliwe związki chemiczne jak i drobnoustroje, dlatego też nie mogą być bezpośrednio z ujęcia wprowadzone do systemu dystrybucji, należy je uprzednio poddać procesom uzdatniania. W tym celu projektowane są układy technologiczne oparte na jednostkowych procesach oczyszczania, dobieranych na podstawie rodzaju i stopnia

zanieczyszczenia ujmowanej wody [58,105]. Celem uzdatniania wód jest uzyskanie wymaganej, jakości pod względem parametrów fizyczno-chemicznych i mikrobiologicznym, jak również ich utrzymanie na odpowiednim poziomie podczas dystrybucji do odbiorców tak, aby nie dochodziło do wtórnego zanieczyszczenia wody [110,125,127].

Zastosowane w układzie technologicznym procesy jednostkowe są dobierane na podstawie analiz chemicznych i mikrobiologicznych ujmowanej wody, gdyż muszą one zapewnić optymalny technicznie i ekonomicznie proces oczyszczania przy jednoczesnym uzyskaniu dużej sprawności usuwania zanieczyszczeń [58,150]. Należy pamiętać, aby woda wprowadzana do sieci nie tylko spełniała wymagania jakościowe dla odbiorców, ale również nie stanowiła zagrożenia dla systemu dystrybucji poprzez intensyfikację procesów korozji oraz zwiększone wytrącanie się osadów [126,144].

Zjawiskiem często występującym w systemach dystrybucji wody do picia jest jej wtórne zanieczyszczenie. Dochodzi wówczas do pogorszenia fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody jak również zwiększenia zagrożenia epidemiologicznego poprzez wzrost liczebności drobnoustrojów. Przyczyną tego zjawiska jest wprowadzanie do rurociągów niestabilnej chemicznie i biologicznie wody, w wyniku czego zachodzą liczne procesy chemiczne oraz wzrasta intensywność rozmnażania drobnoustrojów [59,60,126]. Przyczynia się to do powstawania błon biologicznych na powierzchniach wewnętrznych rur, a metabolity tworzących je bakterii i grzybów często stanowią dodatkowe zanieczyszczenie wody [26,33]. Na intensywność wzrostu liczby bakterii i grzybów w wodzie wodociągowej wpływa przede wszystkim stężenie oraz rodzaj substancji organicznych i nieorganicznych biogenów takich jak związki fosforu i azotu, ale również mętność wody. Zawiesiny zawarte w wodzie umożliwiają osadzanie się na nich mikroorganizmów tworzących aglomeraty, dzięki czemu mają one bardzo dobre warunki do rozmnażania przy jednoczesnej ochronie przed środkami dezynfekcyjnymi [63,114].

Jednym z podstawowych procesów stosowanych dla wód powierzchniowych jest koagulacja, która wykorzystuje zjawiska destabilizacji i agregacji organicznych oraz nieorganicznych cząstek koloidalnych o rozdrobnieniu $d = 10^{-7} - 10^{-5}$ cm, prowadząc do powstawania większych aglomeratów, które następnie usuwane są w procesach sedymentacji, flotacji i filtracji. Wraz z nimi w powstałych kłaczkach usuwane zostają: bakterie, jony metali ciężkich, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, pestycydy [58]. W procesie tym usuwane są również związki organiczne mające istotny wpływ na rozwój mikroorganizmów w sieci wodociągowej. Ilość biodegradowalnego rozpuszczonego węgla organicznego (BDOC) można zmniejszyć o 30-40% [116,143]. Qin i współ. wykazali skuteczność koagulacji w usuwaniu naturalnej materii organicznej do 45 %, a mętność nawet do 97%, przy odpowiednio dobranych parametrach prowadzenia procesu [106]. Podobne wyniki uzyskał Apolinariski, który w swoich badaniach stosując różne koagulanty i dawki uzyskał skuteczność usuwania zanieczyszczeń organicznych z wody podziemnej na poziomie 50 % [6]. Zgodnie z przeprowadzonymi przez Bose i Reckhow badaniami skuteczność usuwania materii organicznej z wody w procesie koagulacji można dodatkowo zwiększyć poprzez zastosowanie wstępnego ozonowania [13].

Często proces koagulacji stosowany jest przed procesami membranowymi znacznie podwyższając ich skuteczność w usuwaniu zanieczyszczeń organicznych. Xia i współpracownicy wykazali wzrost usuwania związków organicznych w procesie ultrafiltracji z 8 % do 48 % po zastosowaniu przed nią koagulacji [152].

Tabela 1 . Skuteczność [%] wybranych procesów uzdatniania na usuwanie z wody związków biogennych i bakterii (domieszek) [58].

domieszki proces	bakterie	wirusy	ogólny węgiel organiczny	nieorganiczne zw. biogenne	mętność (zawiesiny)
koagulacja + sedymentacja	60 - 100	60 - 100	0 - 60	0 - 20	90 - 100
adsorpcja	0 - 60	0 - 60	20 - 90	0 - 20	0 - 60
dezynfekcja + chemiczne utlenianie	90 - 100	90 - 100	60 - 100	0 - 100	0 - 20

Ponieważ martwe mikroorganizmy wykazują zbliżone właściwości do cząstek koloidalnych, skuteczność ich usuwania znacząco wzrasta przy wykorzystaniu środków dezynfekcyjnych przed koagulacją. Równie skuteczne jest zastosowanie koagulacji w środowisku alkalicznym z wykorzystaniem $Mg(OH)_2$. Neutralizacja ujemnego ładunku powierzchniowego biokoloidów prowadzi do powstania sorbentu bakterii i wirusów obecnych w wodzie. W procesie koagulacji usuwane są również glony, a jej skuteczność wynosi nawet do 60%. W wyniku wykorzystania w tym procesie soli glinu i żelaza powstaje agresywny dwutlenek węgla nadający wodzie korozyjny charakter, dlatego często konieczne jest jego usunięcie np. poprzez napowietrzanie. Po procesie koagulacji stosowany jest proces sedymentacji/flotacji polegający na strącaniu zawiesin w przypadku, gdy ich ciężar właściwy jest większy niż woda lub unoszenia na powierzchnię dla mniejszych ciężarów mas. Wraz z osadami i kłaczkami usuwane są drobnoustroje [58].

Globalny problem dostawców i odbiorców wody stanowi przenoszenie wraz z wodą do picia patogenów. Efektywnym procesem ich usuwania z wody jest między innymi proces filtracji, polegający na przepuszczaniu wody przez materiał porowaty (filtr) na którego powierzchni w wyniku licznych procesów fizycznych pozostają między innymi drobnoustroje [75,115].

Karanis przeprowadził badania na sześciu wodach powierzchniowych wybranych z różnych rejonów Niemczech. W próbkach wód określono liczebność *Gardia lamblia* i *Cryptosporidium parvum*. W około 76 % próbek wykryto ich obecność w średniej ilości 88/100 dm³ *Gardia lamblia* oraz 116/100 dm³ *Cryptosporidium parvum*. Po częściowych procesach uzdatniania wody (flokulacji i filtracji) ich obecność wykryto już jedynie w 33,3 % próbek. W wyniku przeprowadzenia całościowego procesu oczyszczania wody *Gardia lamblia* stwierdzono jedynie 14,9 % próbkach, a dla *Cryptosporidium parvum* 29,8%, w ilości odpowiednio 7/47 dm³ oraz 14/47 dm³ [49]. Natomiast Timms i współpracownicy uzyskali aż 100 % skuteczność usuwania oocyst *Cryptosporidium* w wyniku filtracji powolnej na filtrach piaskowych [135].

Przeprowadzone przez Lukasika i in. badania skuteczności usuwania bakterii i wirusów na filtrach piaskowych, modyfikowanych wodorotlenkami żelaza i glinu wykazały ich 99% skuteczność w przypadku usuwania bakterii *Escherichia coli*, *Vibrio cholerae* i poliovirusa [75].

Równie często stosowanym procesem, w którym usuwane są związki organiczne jest adsorpcja na węglu aktywnym. Jej skuteczność w przypadku usuwania przyswajalnego węgla organicznego osiąga wartość nawet 60% [73,151]. Zanieczyszczenia organiczne zostają zużywane przez drobnoustroje zasiedlające złoża węglowe w ich procesach metabolicznych, przez co stężenie OWO w wodach maleje. Biocenozę filtra stanowią bakterie i grzyby mikroskopowe, które z czasem mogą wypłukiwać się ze złoża [79]. Przeprowadzone przez Żubrowską-Sudoł i współpracowników badania wykazały zwiększającą się liczbę wymywanych drobnoustrojów z filtrów w miarę wydłużania czasu eksploatacji czy wzrostu prędkości przepływu [160]. Potwierdziły to również badania Kiedryńskiej, w których to po półrocznym okresie wpracowania filtry węglowe zostały zasiedlone przez mikroorganizmy w średniej ilości $100 \cdot 10^6$ jtk/g złoża, a ich liczebność w filtracji wynosiła $35 \cdot 10^4$ jtk/cm³ [52]. Wypłukiwanie drobnoustrojów z filtrów węglowych przy jednoczesnej ich ochranianiu przez pył węglowy przed fizycznymi i chemicznymi środkami dezynfekcyjnymi, skutkuje obniżeniem skuteczności procesu dezynfekcji, co w konsekwencji prowadzi do ich przedostawania się do sieci wodociągowej, a w następstwie wtórnego zanieczyszczenia wody.

Największą skuteczność usuwania przyswajalnego i biodegradowalnego rozpuszczalnego węgla organicznego sięgającą 95-97 % uzyskuje się w procesach membranowych, głównie odwrócona osmoza i nanofiltracja [24]. Jest ona jednak rzadko stosowana do oczyszczania wody do picia z uwagi na wysokie koszty procesu.

Woda przed wprowadzeniem do systemu dystrybucji zostaje poddana procesowi dezynfekcji, która ma na celu zabicie drobnoustrojów wciąż obecnych w wodzie, pomimo wcześniej zastosowanych procesów uzdatniania. Chlorowanie wody zapobiega epidemiom związanym z chorobami przenoszonymi wraz z wodą do picia. Jednak jej skuteczność ulega znacznemu obniżeniu w przypadku wód zawierających znaczne ilości zawiesin oraz związków organicznych. Zawiesiny pozwalają „ukryć” się mikroorganizmom przez co może nie dochodzić do kontaktu bakterii/dezynfektant, natomiast związki organiczne wykorzystują utleniacze stosowane do dezynfekcji w reakcjach utleniania [22,71,72,]. Do procesu dezynfekcji stosowane są: ozon, ditlenek chloru, chlor, podchloryn sodu.

Ozon podobnie jak inne utleniacze w pierwszej kolejności reaguje w procesach chemicznych z materią organiczną zawartą w wodzie, a dopiero w dalszej kolejności eliminuje drobnoustroje. Dlatego też na skuteczność stosowania ozonu, jako środka dezynfekcyjnego podobnie jak w przypadku innych chemicznych utleniaczy takich jak ditlenek chloru czy chlor, ma skład chemiczny wody [25,127]. Dodatkowo w wyniku ozonowania związki organiczne zostają utlenione i często przechodzą w formy chemiczne łatwiej przyswajalne dla mikroorganizmów [107,131]. Escobar i Randall wykazali wzrost stężenia przyswajalnego węgla organicznego po procesie ozonowania o ponad 200 % [25]. Ozon jako najsilniejszy utleniacz stosowany do dezynfekcji wody

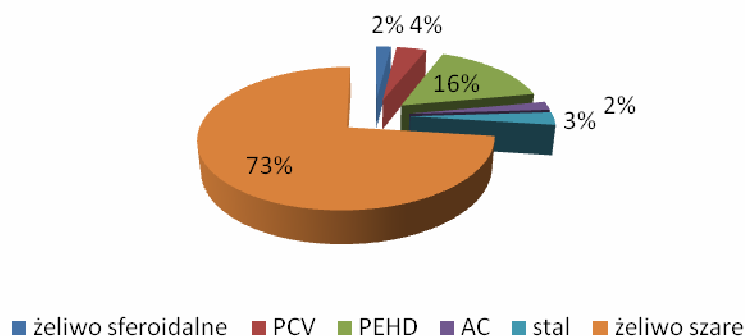
efektywnie eliminuje mikroorganizmy w tym również trudne do usunięcia przez inne dezynfektanty, takie jak oocysty *Cryptosporidium parvum* czy spory *Bacillus subtilis* [15,72].

Omówione procesy uzdatniania nie zapewniają całkowitej eliminacji drobnoustrojów z wody. Zacheus (2000) wraz z współpracownikami badał szybkość formowania biofilmu na polichlorku winylu, polietylenie oraz stali nierdzewnej. Do badań wykorzystano wodę oczyszczoną w procesie koagulacji, sedymentacji i filtracji na filtrach piaskowych. Następnie woda była ozonowana i przepuszczana przez rury wykonane z badanych materiałów. Wyniki analiz wykazały, że w przeciągu trzech tygodni na ich powierzchniach powstała błona biologiczna wielkości $7,7 \times 10^5$ jtk/cm², co dowodzi braku 100 % skuteczności oczyszczania wody, w której nadal pozostają drobnoustroje mogące w sprzyjających warunkach rozmnażać się i w dalszym etapie tworzyć obrosty mikrobiologiczne [153].

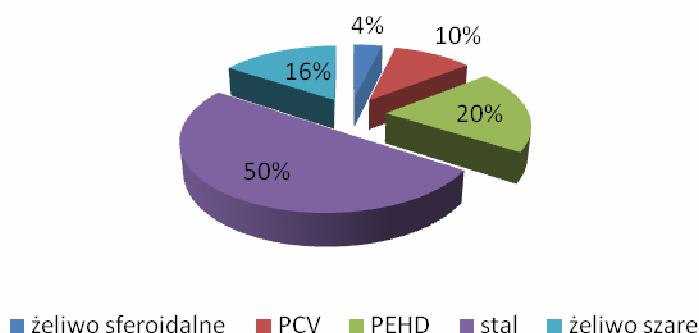
3. Materiały techniczne wykorzystywane do budowy sieci wodociągowych i ich wpływ na jakość przesyłanej wody

Do przesyłu wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi wykorzystywane są różne materiały techniczne, wśród których wyróżniamy oparte na surowcach naturalnych takie jak stal, miedź czy żeliwo oraz wytwarzane w procesach chemicznych przez człowieka określane mianem tworzyw sztucznych, do których należy polichlorek winylu (PCV), polietylen (PE), polipropylen (PP) oraz poli-1-buten (PB) [28,93].

a).



b).



Rysunek 1. Procentowy udział rurociągów wykonanych z różnych materiałów na przykładzie Wrocławia (a) i Chorzowa (b) [64,157]

Początkowo znaczną część systemów dystrybucji budowano ze stali i żeliwa, oraz z miedzi, choć w nieco mniejszym udziale. Już w XIX wieku znane były przeciwbakteryjne właściwości miedzi, jednak wysokie ceny rurociągów miedzianych powodowały ich ograniczone stosowanie [69]. Matuszewska i Krogulska przeprowadziły badania dotyczące obecności bakterii z rodzaju *Legionella* w próbkach wód oraz w wymazach pobieranych z eksploatowanych rurociągów wykonanych z różnych materiałów. Bakterie te wykryto w wodach pobieranych z wszystkich badanych rurociągów, a mianowicie z miedzi, PP, PCV i stali ocynkowanej w zakresie $1 \cdot 10^1/100 \text{ cm}^3$ – $2,2 \cdot 10^3/100 \text{ cm}^3$. Natomiast w wymazach ich obecność stwierdzono w przypadku rurociągów wykonanych z PP ($1,9 \cdot 10^4/100 \text{ cm}^3$), PCV ($3 \cdot 10^2/100 \text{ cm}^3$) oraz stali ocynkowanej ($1,9 \cdot 10^3/100 \text{ cm}^3$), a na rurociągach miedzianych nie. Powodem obecności bakterii w wodzie pobieranej z rurociągów miedzianych mogła być ich obecność we wcześniejszych odcinkach instalacji wykonanej z innego materiału, dlatego ich obecność nie została potwierdzona badaniami w wymazach z rurociągów [82].

W przypadku rurociągów o dużych średnicach tj. magistrale, przewody tranzytowe, lepiej sprawdza się stal oraz żeliwo, dlatego też ich udział w systemach dystrybucji w Polsce stanowi 50-75% [64,156]. Niestety materiały te częściej ulegają uszkodzeniom mechanicznym i korozji elektrochemicznej, co prowadzi do zwiększenia awaryjności sieci. Przeprowadzone przez S.-T. Tu i In. oraz Makera badania dowiodły zwiększonej podatności na korozję rurociągów wykonanych ze stali i żeliwa, gdyż podczas procesu hartowania często dochodzi do powstawania mikroszczelin i pęknięć, w których podczas eksploatacji osiadają mikroorganizmy powodujące korozję mikrobiologiczną [78,140]. Również miedź wykazuje wzrost podatności na korozję w wyniku eksponowania m.in. na różnice temperatur. Rushing i Edwards przeprowadzili badania, w których określali wpływ temperatury otoczenia rur miedzianych na intensywność procesów korozji. Rurociąg wykonany z miedzi umieszczono tak, aby jedna jego połowa znajdowała się w temperaturze 5°C , a druga 25°C i przesyłano nim wodę. Procesy fizyczne i chemiczne zachodzące w rurociągu podczas zmian temperatury otoczenia i umieszczania mas wody prowadziły do zmniejszenia masy rurociągu o około 0,07 %, w skali roku [111]. Dlatego też obecnie zalecane jest izolowanie od siebie sekcji wody zimnej i ciepłej w przypadku instalacji miedzianych [158].

Problemy związane ze zjawiskiem korozji metali, z których wykonane są instalacje sanitarne wynikają również z ich niewłaściwego łączenia. Przykładowo łączenie elementów stalowych z mosiężnymi, powoduje że na styku dochodzi do korozji elektrochemicznej. Podobnie jest w przypadku łączenia rur stalowych z elementami miedzianymi, gdyż osadzające się na powierzchni stali jony miedzi intensyfikują procesy korozyjne, dlatego też podczas łączenia elementów instalacji wodociągowej wykonanych z różnych materiałów istotny jest kierunek przepływu wody [122].

Materiały zawierające metale ulegają nie tylko korozji elektrochemicznej, ale również korozji mikrobiologicznej, będącej wynikiem obecności drobnoustrojów wykorzystujących substancję zawartą w rurociągach w swoich procesach metabolicznych [128]. Zjawisko korozji jest więc ściśle powiązane z obecnością błony

biologicznej, gdyż pod warstwą mikroorganizmów łatwiej dochodzi do uszkodzeń materiałów technicznych. W przypadku stali i żeliwa są to najczęściej bakterie z rodzaju *Thiobacillus*, *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Gallionella* i *Sphaerotilus* [158]. Badania przeprowadzone przez Shenga i współ. potwierdziły intensyfikację procesów korozji w wyniku obecności błony biologicznej powstałej na powierzchni stali [117].

Początkowo twierdzono, że miedź z uwagi na swoje antybakteryjne właściwości nie ulega korozji pod wpływem działalności drobnoustrojów, a jedynie korozji elektrochemicznej. Jednak w 1987 roku, w jednym ze szkockich szpitali wykonano badania na podstawie których stwierdzono korozję rur i kształtek miedzianych wywołaną przez drobnoustroje. Na rurociągach miedzianych najczęściej obserwowano bakterie z rodzajów *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Methylobacterium* i *Pseudomonas* oraz grzyby i bakterie wykazujące zdolności do redukcji siarczanów [158].

Podatność na korozję materiałów naturalnych doprowadziła do stosowania inhibitorów korozji, którymi najczęściej są substancje zawierające fosfor tj. mono-, poli- i orto- fosforany sodu i cynku (np. liniowe długo łańcuchowe polifosforany cynku). Ponieważ fosfor należy do pierwiastków biogennych przeprowadzono w MAX v. PETTENKOFER-INSTITUT w Monachium badania wpływu inhibitorów korozji na rozwój mikroorganizmów w sieci wodociągowej. Ostatecznie wykluczono wpływ poli- i mono- fosforanów na przyrost biomasy drobnoustrojów w wodzie wodociągowej oraz wykazano, że zwiększenie liczebności mikroorganizmów jest rezultatem nie tylko wysokich stężeń fosforu, ale proporcji jego stężenia do zawartości azotu, głównie amonowego [121].

Li Shiyin i in. wykazali, że na efektywność działania ortofosforanowych inhibitorów korozji ma znaczący wpływ skład wody, gdy w badaniach rurociągów miedzianych zastosowano wodę modelową zawierającą alginian sodu i kwasy fulwowe imitujące pozakomórkowe polimery produkowane przez bakterie i naturalną materię organiczną, zaobserwowano wzrost stężenia miedzi w wodzie, tym samym wykazano obniżoną efektywność działania inhibitorów korozji w obecności wysokiego stężenia związków organicznych [70].

Duża awaryjność, podatność na procesy korozji oraz skomplikowane technologie montażu rurociągów stalowych, żeliwnych i miedzianych skłoniły do poszukiwania nowych rozwiązań. Wynikiem tego było wprowadzenie w latach 60. rurociągów z tworzyw sztucznych. Początkowo uważano, że gładka powierzchnia pozwoli na obniżenie ilości zalegających w rurociągach osadów, a tym samym zmniejszy ryzyko powstawania obrostów mikrobiologicznych. Uważano również, że materiały te są odporne na zasiedlanie przez drobnoustroje, a tym samym nie będą ulegały korozji mikrobiologicznej. Jednak w latach 90. zarówno Witney i współ. jak i Scott, Wool czy Ikada stwierdzili, biodegradowalność materiałów syntetycznych, co dało początek przypuszczeniom, że materiały te mogą również ulegać korozji mikrobiologicznej w czasie eksploatacji. Jednocześnie stwierdzili oni, że jest to proces długotrwały. Degradacja materiałów zarówno pod wpływem czynników fizyczno-chemicznych jak również działalności drobnoustrojów objawia się między innymi poprzez zmianę struktury powierzchni (powstawanie rys, pęknięć), zmianę struktury chemicznej oraz powstawaniem wolnych rodników i metabolitów pośrednich [44,159].

Rozkład tworzyw, z jakich wykonane są rurociągi, prowadzony przez mikroorganizmy to przede wszystkim aktywne chemicznie metabolity drobnoustrojów (głównie kwasy organiczne) i reakcje enzymatyczne. Istotny wpływ na intensywność biokorozji ma obecność w błonie biologicznej grzybów strzępkowych, które poprzez wzrost grzybni prowadzą do zwiększenia degradacji [18,114,159]. Stopień tego rozkładu uzależniony jest od rodzaju grup funkcyjnych, masy cząsteczkowej, budowy morfologicznej materiału, jego twardości i hydrofobowości, gdyż są to czynniki wpływające na przyswajalność danego materiału przez mikroorganizmy [93,114].

Degradacja biotyczna materiałów polimerowych często poprzedzona jest degradacją abiotyczną, w wyniku, której mogą następować zmiany formy chemicznej występowania węgla, przez co staje się on łatwiej przyswajalny dla mikroorganizmów. W przypadku rurociągów syntetycznych głównym czynnikiem fizycznym wpływającym na zmiany materiału jest promieniowanie słoneczne. Rury, zwłaszcza o dużych średnicach, często magazynowane są w zakładach produkcyjnych oraz w miejscach sprzedaży, na otwartym terenie, gdzie w wyniku nasłoneczniania ulegają fotodegradacji. Skutkiem aktywacji makrocząstek polimeru przez energię świetlną głównie w zakresie ultrafioletu, jest rozerwanie wiązań chemicznych występujących w polimerach. W początkowej fazie fotooksydacji może dochodzić do wytwarzania grup karbonylowych na powierzchni materiału, przez co zwiększa się jego charakter hydrofilowy. Wynikiem tego jest zwiększenie zwilżenia, co prowadzi do mikropęknięć powierzchni materiału rurociągów [159].

Najczęściej do wytwarzania rurociągów stosowany jest **twardy polichlorek winylu**. Czysty polimer nie ulega fotodegradacji jednak stosowane w procesie technologicznym wytwarzania rur substancje dodatkowe, które mogą stanowić nawet 40 %, powodują absorbowanie promieni o długości około 220 nm. Badania przeprowadzone, przez Terkiewicza i wsp. wykazały podatność polichloroku winylu na korozję wywołaną obecnością drobnoustrojów. W procesie tym duże znaczenie odgrywają warunki środowiskowe tj. wilgotność oraz dostępność łatwo przyswajalnych substancji organicznych stymulujących wzrost mikroorganizmów. Intensywność procesu korozji wzrasta w obecności drobnoustrojów odpornych na wydzielany podczas procesu rozkładu polimeru chlorowódor [134].

W procesie wytwarzania polichloroku winylu dla utrzymania odpowiedniego pH dodawane są fosforany, węglany oraz wodorotlenki metali alkalicznych. Substancję pomocnicze stosowane przy produkcji rurociągów z PCV mogą z czasem być wypłukiwane do wody oraz stanowić źródło pokarmu dla bakterii i grzybów je zasiedlających lub charakteryzować się szkodliwymi właściwościami dla odbiorców wody [47,61,93]. Potwierdziły to badania wykonane przez B.Kowalską, D.Kowalskiego i M.Kwietniewskiego dotyczące wymywania z rurociągów z polichloroku winylu związków cynoorganicznych wykorzystywanych, jako stabilizatory przy produkcji rur [61].

Armond wraz z Arbelem i Greenem wykazali większą podatność polichloroku winylu ($> 10^7$ jtk/cm²) na powstawanie obrostów mikrobiologicznych na jego powierzchni w stosunku do szkła i metalu/żelazo galwanizowane ($< 10^6$ jtk/cm²) [7].

Polietylen pomimo liniowej budowy i przeważającej ilości wiązań nasyconych zawiera cząsteczki o różnym stopniu rozgałęzienia, jak również zawierające podwójne wiązania pomiędzy atomami węgla, co czyni go bardziej podatnym na biodegradację. Jednakże wykazuje on właściwości hydrofobowe, co jednocześnie znacznie obniża jego podatność na obrosty mikrobiologiczne. Jednakże nie eliminuje całkowicie powstawania na jego powierzchni błon biologicznych. Traczewska i współpracownicy wykazała podatność polietylenu na obrosty mikrobiologiczne oraz ich negatywny wpływ na jakość mikrobiologiczną wody. W odpływach z układu badawczego zawierającego próbki rurociągu wykonanych z PE ilość bakterii psychrofilnych wzrastała do 328 jtk/cm^3 w stosunku do ich liczebności w wodzie zasilającej [139].

Podobnie jak polichlorek winylu polietylen ulega fotooksydacji przez co zwiększa się jego wrażliwość na rozkład mikrobiologiczny [93,159]. Uszkodzenia materiału w postaci pęknięć, rys jak również zwiększenie jego kruchości tłumaczone są również wynikiem obecności tlenu w środowisku zastosowania, gdyż materiał ten łatwo ulega procesom „starzenia materiału” w warunkach dużego natlenienia [124].

Kolejnym polimerem stosowanym do przesyłu wody jest **polipropylen**, jednak jego udział w sieciach wodociągowych jest znacznie mniejszy od PCV i PE. Jest to materiał o dużej podatności na fotooksydację pod wpływem promieniowania o długości światła $< 400 \text{ nm}$, dlatego też w procesie jego wytwarzania stosowane są stabilizatory ograniczające wpływ promieni UV. Podczas naświetlania tworzą się grupy nadtlennkowe i wolne rodniki, a następnie dochodzi do rozszczepiania łańcucha i tworzenia grup hydroksylowych i karbonylowych. Ostatecznie polipropylen staje się łatwiejszym źródłem węgla dla mikroorganizmów, które zaczynają się intensywnie rozwijać na jego powierzchni i prowadzą do dalszego rozkładu.

Przeprowadzone przez Instytut Włókiennictwa w Łodzi badania wykazały wzrost osadzania się bakterii na taśmach wykonanych z polipropylenu. Jednocześnie zaobserwowano że wraz ze wzrostem ich szorstkości i nierównomierności powierzchni wzrasta ilość zasiedlających go bakterii [53].

Polimerem o procentowym udziale w sieciach wodociągowych zbliżonym do polipropylenu jest **poli-1-buten**. Tworzywo to po raz pierwszy zostało otrzymane w 1961 roku, a na skalę przemysłową zaczęto je produkować trzy lata później. Właściwościami technicznymi przypomina polietylen, stosowany jest głównie do przesyłu gorącej wody (do 95°C) [124].

Polibutylen jest najmłodszym materiałem a jego obecność na rynku jest stosunkowo krótka w porównaniu do pozostałych polimerów wykorzystywanych do dystrybucji wody do picia. Podczas gdy polichlorek winylu czy polietylen był wykorzystywany już w latach 30-40. w skali przemysłowej, polibutylen pojawił się dopiero trzydzieści lat później. Skutkiem tego jest pozostanie wielu niewyjaśnionych kwestii dotyczących zarówno jego struktury jak i zmian zachodzących w jego budowie w wyniku eksploatacji. Podczas gdy, rurociągi wykonane z PCV, PE czy PP w wielu systemach dystrybucji są eksploatowane nawet kilkadziesiąt lat, co pozwoliło na ocenę zmian samego materiału jak i jego wpływu na jakość przesyłanej wody. Nie spotkano się również z badaniami dotyczącymi wpływu rurociągu wykonanego z polibutylenem na zmiany jakości fizyczno-chemiczne i mikrobiologiczne przesyłanej wody. Stwierdzono

jednak możliwość powstawania na powierzchniach rurociągów wykonanych z polibutyleny błony biologicznej w wielkości $9,7 \cdot 10^4$ jtk/cm² dla ogólnej liczby bakterii psychrofilnych oraz $15 \cdot 10^4$ jtk/cm² dla ogólnej liczby grzybów w warunkach laboratoryjnych przy układzie badawczym zasilanym wodą wodociągową [138].

4. Zmiany jakości wody w systemie dystrybucji

Jakość wody wprowadzanej do sieci wodociągowej ma istotne znaczenie dla zmian jej parametrów podczas przesyłu do odbiorcy. Brak stabilności chemicznej wody stanowi bezpośrednią przyczynę jej zanieczyszczenia między innymi wytrącania osadów CaCO₃. Zalegające w rurociągach osady przyczyniają się do powstawania korozji podosadowej, jak również zwiększają szorstkość podłoża ułatwiając w ten sposób obrastanie przez mikroorganizmy obecne w wodzie. Woda charakteryzująca się agresywnością korozyjną przyczynia się do intensyfikacji procesów elektrochemicznych metali oraz korozji chemicznej betonu.

Natomiast brak stabilności biologicznej wody wprowadzanej do rurociągów sprzyja rozwojowi mikroorganizmów, które z czasem obrastają powierzchnie rur tworząc dojrzały biofilm. Powstała błona biologiczna jest bezpośrednią przyczyną wtórnego skażenia mikrobiologicznego wody oraz pogorszenia właściwości fizyczno-chemicznych wody w wyniku zmian składu wywołanych działalnością metaboliczną drobnoustrojów [127].

Czynniki odpowiadające za zmiany parametrów jakościowych wody wodociągowej podczas jej przesyłu dzielimy na: strukturalne, eksploatacyjne i jakościowe. Z czynników strukturalnych istotne znaczenie mają:

- rodzaj materiału, z jakiego wykonany jest rurociąg (z uwagi na procesy korozyjne),
- średnica przewodu (zużycie środka dezynfekcyjnego w warstwie przyściennej zależy od powierzchni ściany oraz pojemności przewodu wodociągowego).

Do czynników eksploatacyjnych wpływających, na jakość wody podczas przesyłu, należą:

- prędkość przepływu wody (z uwagi na stagnację wody),
- ciśnienie,
- struktura sieci.

Wśród czynników jakościowych odgrywających największą rolę w procesie wtórnego zanieczyszczenia wody wyróżniamy:

- brak stabilności chemicznej wody,
- brak stabilności biologicznej wody [60,91].

Wielkość tych zmian zależy od czasu przetrzymania wody w systemie dystrybucji, wynikającego ze zbyt małego dobowego rozbioru w stosunku do wielkości sieci (długości i średnice przewodów). W ostatnich latach zapotrzebowanie na wodę w gospodarstwach domowych zmalało nawet do 35 %, podczas gdy w latach wcześniejszych w wielu systemach dystrybucji stanowiło od 50-79 % przesyłanej wody [14].

4.1. Czynniki strukturalne

Najistotniejszym czynnikiem strukturalnym jest rodzaj materiału, z którego wykonany jest rurociąg, gdyż w zależności od tego z różną intensywnością przebiegają zarówno procesy adhezyjne drobnoustrojów do ich powierzchni jak i korozyjne. Oba procesy są niezwykle istotne, gdyż wpływają bardzo niekorzystnie na jakość wody (uwalnianie do wody produktów metabolicznych mikroorganizmów oraz reakcji elektrochemicznych). W przypadku korozji, wywołane nią zmiany w strukturze fizycznej powierzchni rurociągów umożliwiają szybsze zasiedlanie ich przez drobnoustroje i tworzenie przez nie błon biologicznych stanowiących zagrożenie dla zdrowia odbiorców wody oraz pogorszenia jej parametrów jakościowych. Również parametry techniczne rurociągu takie jak jego średnica nie pozostają bez wpływu na jakość wody, co wynika między innymi ze zużycia środków chemicznych stosowanych do dezynfekcji przez co zmniejsza się jej skuteczność.

Badania dotyczące wpływu rodzaju materiału rurociągu na efektywność procesu dezynfekcji prowadzono w Finlandii pod kierownictwem M.J.Lehtola. Do badań wykorzystano nowe rurociągi miedziane i polietylenowe, wstępnie umieszczone na okres 6 miesięcy w systemie dystrybucji wody w celu powstania na ich powierzchni błony biologicznej. Układ badawczy, w którym określano wpływ dezynfekcji na biofilmy powstałe na różnych powierzchniach, zasilano wodą powierzchniową uzdatnioną w procesie koagulacji, sedymentacji/flotacji oraz pośpiesznej filtracji na złożu piaskowym. Natężenie przepływu wynosiło $121 \text{ cm}^3/\text{min}$ w przypadku PE i $118 \text{ cm}^3/\text{min}$ w przypadku miedzi. Obserwacje prowadzono przez 60 dni, wykorzystując dezynfekcję promieniami UV i chlorem. Stwierdzono zależność efektu dezynfekcji od rodzaju materiału rurociągu. W przypadku polietylenu chlorowanie w wodzie przesyłanej rurociągami miedzianymi znacznie zmniejszyło ilość bakterii zarówno w wodzie jak i biofilnie, natomiast zanotowano jedynie nieznaczne obniżenie liczebności drobnoustrojów. Wyszło to tezę, że bakterie zasiedlające rurociąg miedziany charakteryzuje zwiększona oporność na toksyczne działanie chloru. Przeprowadzone badania stężenia chloru pozostałego w odpływach z obu rurociągów wskazały na konieczność zwiększania dawki chloru dla sieci wykonanych z rur miedzianych [67].

W przypadku rur wykonanych z polietylenu istotne jest pogorszenie ich parametrów technicznych w wyniku kontaktu z chlorem. Przeprowadzone z wykorzystaniem chromatografii oraz DSC badania wykazały znaczną degradację tego materiału prowadzącą do daleko idących uszkodzeń powierzchni, a nawet krystalicznej struktury polimeru [39]. W procesie tym szkodliwe substancje chemiczne są uwalniane z rurociągów do wody, a następnie wraz z nią spożywane przez odbiorców. Wraz z czasem eksploatacji rurociągów zwiększa się zużycie dezynfektanta wywołane jego reakcją chemiczną nie tylko z materiałem z którego wykonany jest rurociąg ale również z wytrąconymi na powierzchni osadami oraz powstałą błoną biologiczną. Przeprowadzone przez Al-Jassera badania wykazały wzrost zużycia na poziomie 15-18 % po 18 latach eksploatacji w porównaniu do nowych rurociągów dla stali i żeliwa. W

przypadku rur z tworzyw sztucznych wraz z zwiększającym się czasem eksploatacji rozkład dezynfektantów przy ściakach rur był mniejszy [3].

Z kolei polichlorek winylu, zmienia swoje właściwości pod wpływem światła słonecznego [159]. Ponieważ rurociągi często magazynowane są w sposób pozwalający na ich znaczne nasłonecznianie, Al.-Malack i Sheikheldin przeprowadzili badania, w których eksponowano rury na promienie słoneczne, a następnie tłoczono przez nie wodę redestylowaną o temperaturze 35⁰C przez okres 30 dni. Stwierdzono wyflukiwanie monomerów chlorku winylu w ilości 2,5 µg/dm³ co zgodnie z U.S. Environmental Protection Agency znacznie przekracza dopuszczalne normy w wodzie przeznaczonej do spożycia przez ludzi [5].

Bakterie wykazują zróżnicowane właściwości adhezyjne w zależności od rodzaju podłoża. Ten sam rodzaj bakterii będzie z różną intensywnością zasiedlał poszczególne materiały w zależności od ich właściwości fizycznych. Drobnoustroje wytwarzają pozakomórkowe polimery (EPS) zwiększające ich zdolności adhezyjne. Ilość EPS zależy od rodzaju czy gatunku mikroorganizmu, ale również od fazy wzrostu, w jakiej się znajduje oraz panujących warunków środowiskowych. Większość bakterii ma ujemnie naładowaną powierzchnię, dodatkowo ich struktury powierzchniowe często zwiększają ich hydrofobowość, przez co w znacznie wyższym stopniu zasiedlają materiały o właściwościach hydrofilowych [20]. Rasmussen i Ostgaard prowadzili obserwacje wzrostu bakterii *Pseudomonas* sp. na różnych podłożach i zaobserwowali zróżnicowaną adhezję bakterii w zależności od ich ładunków. [108]. Również badania Vanhaecka i współpracowników prowadzone na dwóch rodzajach stali z wykorzystaniem piętnastu różnych szczepów bakterii *Pseudomonas aeruginosa* wykazały istotny wpływ na procesy osadzania bakterii w zależności od hydrofobowości podłoża [142].

Hallam, West, Forster i Simms przeprowadzili również badania dotyczące intensywności obrastania przez mikroorganizmy polichlorku winylu, polietylenu, cementu oraz szkła. Badania prowadzono w warunkach laboratoryjnych, wykorzystując do badań reaktor zawierający próbki badanych materiałów i porównywano je z otrzymanymi z próbek wody pobranych z sieci wodociągowej. Wykazano, że organizmy najchętniej zasiedlały polichlorek winylu następnie polietylen, cement a w najmniejszym stopniu szkło [36].

W roku 2005 Taylor i współ. przeprowadzili badania dotyczące uwalniania jonów metali z rurociągów wykorzystywanych do dystrybucji wody do picia w zależności od rodzaju przesyłanej wody, a w szczególności od temperatury, pH, zasadowości oraz ilości chloru. Wykazali, że niska zasadowość wody podziemnej i powierzchniowej wpływa na uwalnianie jonów żelazowych z rurociągów do wody, podczas gdy jony miedzi najintensywniej są uwalniane przy wyższej zasadowości, a jony ołowiu przy wysokim stężeniu chloru [132].

Lu, Kiéné i Lévi wykonali w 1998 badania, w których wykazali, że w rurociągach wykonanych z polimerów syntetycznych zużycie chloru w ciągu 2 godzin wynosiło 0,22 mg/dm³ w ilościach: 55 % na zgromadzone w rurach osady, 25 % na utlenienie związków zawartych w wodzie, 16 % na biomasę oraz 4 % na materiał. Natomiast w przypadku żeliwa szarego ta ilość wynosiła 0,50 mg/dm³ z czego 57 %

zużyto na materiał, 25 % na zgromadzone osady, 11 % to utlenienie związków w wodzie oraz jedynie 7 % na biomasę. Zastosowane w badaniach rurociągi miały średnicę 250 mm [74].

W przypadku zmian, jakości mikrobiologicznej wód istotne znaczenie ma stężenie pozostałego dezynfektanta, którego rozkład jest największy przy ściankach rurociągów i w dużym stopniu zależy od rodzaju i wieku materiału, ale także od średnicy rury.

N. Hallam i współpracownicy badali wpływ rodzaju materiału rur na szybkość zużywania chloru w systemie dystrybucji wody zakładając, że wolny chlor reaguje nie tylko ze związkami chemicznymi zawartymi w wodzie, ale również z powierzchnią rurociągów, a dokładniej pokrywającymi je substancjami chemicznymi. Badania prowadzono w wybranych punktach pomiarowych zlokalizowanych na sieci wodociągowej zasilanej oczyszczoną wodą powierzchniową. Rurociągi wykonane były z PCV (rok podłączenia 1973, 1979, 1991), PE (1985) oraz stali (1959, 1960) i żelbetonu (oczyszczane w 1991). Jednocześnie prowadzono badania na nowych rurociągach z tych samych rodzajów materiałów w warunkach laboratoryjnych. Wykazano, że w przypadku nowych rurociągów wykonanych z tworzyw sztucznych jak również stali i żelaza zapotrzebowanie na chlor było znikome. Natomiast w przypadku badań prowadzonych na sieci wodociągowej, rury wykonane z PCV oraz PE wykazywały mniejsze zapotrzebowanie na chlor niż stalowe. Największe różnice obserwowano w przypadku małych średnic, gdzie dla rurociągów stalowych wykazano znaczny wzrost zużycia chloru. Dla rurociągów żelbetonowych zużycie chloru było znacznie mniejsze w stosunku do rurociągów stalowych, co potwierdziło dane literaturowe, że cement zmniejsza dostęp chloru do żelaza zawartego w materiale, który w tych warunkach trudniej wchodzi w reakcje z chlorem. Wykazano również, że rurociągi stalowe charakteryzują się największą zmiennością w zużyciu chloru [37].

Zwiększone zużycie związków chloru prowadzi do zmniejszenia stężenia dezynfektanta w wodzie wodociągowej, co przyczynia się do wtórnego skażenia mikrobiologicznego wody, mającego istotny wpływ, na jakość dostarczanego odbiorcą produktu.

4.2. Czynniki eksploatacyjne

Jakość wody wprowadzanej do sieci wodociągowej może ulegać w drodze do odbiorcy znacznemu pogorszeniu spowodowanego między innymi panującymi w sieci warunkami hydraulicznymi. Rozległość sieci i niskie ciśnienia w rurociągach w połączeniu z niewielkim zapotrzebowaniem sprzyja stagnacji wody, przez co wydłużony zostaje czas jej pozostawania w systemie dystrybucji sięgający nawet do kilku dni. Przetrzymanie wody w sieci prowadzi do wzrostu temperatury będącej główną przyczyną intensywności rozmnażania bakterii, a zawartość organicznych i nieorganicznych związków biogenych pozwala na utrzymanie ich zwiększonej liczebności przez dłuższy okres czasu [35,64,90].

Zhang przeprowadził badania dotyczące stabilności biologicznej wody w systemie dystrybucji wykazując, że AOC nie jest jedynym czynnikiem

odpowiedzialnym za wzrost liczebności drobnoustrojów w wodzie podczas jej przesyłu. Wydłużony czas przetrzymania wody w systemie prowadzący do zmniejszenia stężenia dezynfektanta co stymuluje przyrost liczby bakterii. Aby zapobiec temu zjawisku pozostały chlor związany należy utrzymywać na poziomie około 2 mg/dm³. Równie dużym problemem jest wzrost temperatury powyżej 15⁰C w dalszych odcinkach sieci powodując intensywny wzrost liczebności bakterii [155]. Również M-C. Besner i in. wykazał wpływ temperatury na brak stabilności biologicznej wody wodociągowej. Największą liczebność bakterii heterotroficznych obserwowano przy temperaturze wody 17-22⁰C. Bakterie z grupy *coli* obserwowano w wodzie o temperaturze 20-25⁰C, podczas gdy w niższych temperaturach (do 10⁰C) nie stwierdzono ich obecności, pomimo znacznej liczebności bakterii heterotroficznych [11].

W roku 1995 Alain Kerneis wraz z współpracownikami przeprowadził badania dotyczące zmian jakości biologicznej wody w zależności od czasu jej przetrzymania w sieci wodociągowej zaopatrującej w wodę ludność trzynastotysięcznego miasta położonego w południowo-wschodniej Francji. Była to woda powierzchniowa uzdatniana w procesie koagulacji, sedymentacji, dezynfekcji, filtracji na filtrach piaskowych i ponownej dezynfekcji. Wydajność zakładu to 2500 m³/d. Wodę analizowano w 16 punktach pomiarowych zlokalizowanych na sieci poprzez pomiar stężenia dezynfektanta, ogólnej liczby bakterii heterotroficznych, stężenia rozpuszczonego i biodegradowalnego rozpuszczonego węgla organicznego oraz rozpuszczonego tlenu. Stwierdzono, że czas przetrzymania może być wyjaśnieniem braku wyraźnych korelacji pomiędzy małą liczebnością bakterii heterotroficznych pomimo wysokiego stężenia BDOC. Wykazano, że istotny wpływ na rozwój mikroorganizmów ma temperatura wody. Pomiar stężenie BDOC może być jedynie uzupełnieniem w badaniu stabilności biologicznej wody wodociągowej w obecności innych parametrów, gdyż wykazano, że jego ilość w wodzie może być niewielka przy niewielkiej liczebności bakterii, a mimo to woda jest niestabilna. Było to wynikiem obecnego w sieci biofilmu, który zmniejszał stężenie BDOC, zużywając związki organiczne w swoich procesach metabolicznych. Również tlenu rozpuszczonego nie należy traktować, jako czynnika istotnie wpływającego na przyrost bakterii, ponieważ wykazano, że pomimo jego wysokiego stężenia w wodzie ilość bakterii była nieznaczna. Do oceny stabilności biologicznej wody należy brać pod uwagę nie tylko węgiel organiczny, ale przede wszystkim substancje biogenne takie jak fosfor i azot [50].

Również rozległość sieci pozostaje w związku ze zmianami jakości mikrobiologicznej wody. Na przykładzie dwóch stacji ujmujących wodę podziemną, uzdatniana w procesie natleniania oraz filtracji grawitacyjnej i dezynfekowanej lampami UV i podchlorynem sodu, wykazano, że w miarę wydłużania odległości od zakładu uzdatniania liczba bakterii psychrofilnych zwiększyła się ponad czterokrotnie [89].

4.3. Czynniki jakościowe

Zachodzące w wodzie podczas transportu procesy chemiczne i biochemiczne, uzależnione są między innymi, od jakości wprowadzanej wody, a jej skład chemiczny

oraz liczebność i bioróżnorodność drobnoustrojów wpływają na ich intensywność. Czas przetrzymania wody w sieci również wpływa niekorzystnie na jej parametry jakościowe, wzrost temperatury w wyniku stagnacji prowadzi do intensyfikacji wielu niepożądanych procesów [91].

W przypadku wód o wyższym stopniu mineralizacji, łatwiej dochodzi do reakcji chemicznych z wytrącaniem się osadów na powierzchniach wewnętrznych rurociągów, co przyspiesza procesy korozyjne [58]. Zmiany chropowatości wywołane w jej wyniku przyspieszają proces tworzenia obrostów mikrobiologicznych intensyfikując zjawisko adhezji drobnoustrojów do podłoża. Powstałe na rurociągach osady stanowią źródło substancji odżywczych zwiększając liczebność mikroorganizmów [128].

Vincent Gauthier w roku 1998 przeprowadził wraz z współpracownikami badania dotyczące ilości związków organicznych zdeponowanych w osadach powstających na ściankach rur w dużych systemach dystrybucji wody, związanym z tym wzrostem ilości mikroorganizmów oraz zużyciem dezynfektanta. Na wybranych odcinkach sieci usuwano mechanicznie zalegające w rurociągu osady (o grubości 2-3 mm), następnie na hydrancie zamontowano nylonową siatkę o prześwicie 100 μ m, w celu oddzielenia większych frakcji osadów, i przy natężeniu przepływu 60 m³/h pobierano przez 3 minuty przesącz, w którym oznaczano ilość materii organicznej w obu frakcjach (< 100 μ m oraz > 100 μ m), ilość bakterii w wodzie nad osadami oraz w przesączu, jak również ilość pozostałego chloru wolnego.

Badania wykazały, że w materii organicznej obecne były frakcje zawierające azot, wskazując tym samym na obecność żywej biomasy, w której udział biomasy bakterii wahał się w zakresie 1-12%. W prowadzonych badaniach 1% węgla organicznego odpowiadał 1,2 \times 10⁸ jtk. Wykazano również, że wraz ze wzrostem ilości materii organicznej zdeponowanej w osadach, a zwłaszcza w przypadku wzrostu udziału frakcji organicznej zawierającej azot, zwiększało się zużycie chloru. [30]

Na rozwój błon biologicznych będących główną przyczyną wtórnego skażenia mikrobiologicznego wody wpływa przede wszystkim ilość łatwo przyswajalnych związków organicznych [60,145]. Dostępność tych związków stymuluje przyrost liczby bakterii heterotroficznych, wśród których mogą być obecne również formy warunkowo patogenne i patogenne [88]. Według van der Kooji aby ograniczyć rozwój bakterii heterotroficznych w systemach dystrybucji, stężenie AOC w wodzie nie powinno być wyższe niż 10 μ g C/dm³ [141].

W kilku systemach dystrybucji wody zasilanych wodą z ujęć powierzchniowych i podziemnych w północnych Chinach oznaczano zmiany stężenia przyswajalnego węgla organicznego podczas jej oczyszczania i przesyłu. Stwierdzono, że jedynie 4% badanych próbek wody zawierało mniej niż 100 μ g/dm³ AOC, a w około połowie aż ponad 200 μ g/dm³, oczyszczone wody podziemne zawierały AOC w zakresie 92-482 μ g/dm³. Na zmiany stężenia AOC w sieci wpływały przede wszystkim dwa czynniki, ilość ogólnej materii organicznej, która w wyniku utleniania w reakcji z chlorem wykorzystywanym do dezynfekcji tworzy nowe związki łatwiej przyswajalne oraz liczebność mikroorganizmów zużywających w procesach metabolicznych węgiel organiczny. Stwierdzono również, że zmiany AOC w sieci zależały od pory roku. W przypadku wody powierzchniowej w okresie zimowym, obserwowano wzrost

stężenia przyswajalnego węgla organicznego w wodzie w sieci w stosunku do wody wprowadzanej. W pozostałych porach roku ilość węgla przyswajalnego w wodzie w sieci wodociągowej była niższa niż w wodzie uzdatnionej. W przypadku wody podziemnej pora roku nie miała wpływu na ten parametr, ponieważ stężenie AOC w wodzie wodociągowej było w całym okresie niższe w wodzie uzdatnionej [73].

Nie tylko ilość przyswajalnego węgla organicznego w wodzie wodociągowej ma istotny wpływ na zwiększenie liczebności drobnoustrojów, ale również obecność nieorganicznych substancji biogenych, takich jak związki azotu czy fosforu oraz stężenia innych pierwiastków (potasu, siarki, wapnia czy magnezu).

W Tokyo w roku 1995 przeprowadzono badania wpływu ilości rozpuszczonego węgla organicznego oraz nieorganicznych substancji pokarmowych obecnych w wodzie wodociągowej i ich wpływu na rozwój mikroorganizmów w sieci. Wykazano, że w połowie przeprowadzonych analiz, czynnikiem limitującym wzrost były substancje nieorganiczne takie jak fosfor [113].

Związki organiczne obecne w wodzie wodociągowej reagują ze związkami stosowanymi do jej dezynfekcji (tj. ditlenek chloru, chloraminy, chlor) prowadzą do powstawania związków chemicznych o różnej przyswajalności dla bakterii zmniejszając tym samym stężenie dezynfektanta, co w konsekwencji prowadzi do braku stabilności mikrobiologicznej wody.

Świetlik, Dąbrowska, Raczyk-Stanisławiak, Sikorska i Nawrocki przeprowadzili badania reaktywności naturalnej materii organicznej obecnej w wodach wodociągowych z ditlenkiem chloru wykorzystywanym do ich dezynfekcji. Wyodrębniono sześć frakcji naturalnej i utlenionej materii organicznej. W wodzie poddanej analizie znaczną część stanowiły frakcje hydrofobowe, które w wyniku reakcji z ditlenkiem chloru zmieniały swój charakter, przez co udział tych frakcji ostatecznie malał. Dowiedziono, że ClO_2 powoduje przede wszystkim rozpad cząstek o największych ciężarach cząsteczkowych oraz z dużym udziałem grup aromatycznych, powodując wzrost stężenia związków o niskich masach cząsteczkowych takich jak aldehydy czy kwasy karboksylowe, łatwiej dostępnych dla mikroorganizmów [130].

Zgodnie z przeprowadzonymi przez francuskich badaczy Lu, Kiéné i Lévi badaniami, pH wody ma istotny wpływ na szybkość rozkładu chloru w rurociągach, głównie z uwagi na formę występowania chloru. Stosunek HOCl/OCl^- jest kontrolowany przez odczyn wody, natomiast HOCl jest znacznie wydajniejszy, jako środek dezynfekcyjny niż OCl^- [74].

5. Biofilm w sieci wodociągowej

Zjawiskiem występującym w systemach dystrybucji wody są obrosty mikrobiologiczne, powstające w wyniku dostawania się wraz z wodą do sieci wodociągowej mikroorganizmów, których obecność jest konsekwencją niedoskonałości procesów oczyszczania [105,138]. Woda zawierająca zarówno organiczne jak i nieorganiczne substancje biogenne, często występujące w formach łatwo przyswajalnych dla drobnoustrojów, stanowi środowisko o sprzyjających warunkach do ich rozmnażania, co prowadzi do zwiększenia ich liczebności [66,90]. Dodatkowo

w sieci wodociągowej intensyfikacji tych procesów mogą sprzyjać panujące w niej warunki hydrauliczne. Wysoka koncentracja bakterii w stagnującej wodzie przyczynia się do ich osiadania na ściankach rurociągów. Początkowo powierzchnia rury zostaje pokryta pojedynczymi komórkami jednak z czasem zaczynają się one rozmnażać i tworzyć kolonie, z których powstaje dojrzała forma biofilmu [147]. Jego obecność nie pozostaje bez znaczenia na jakość fizyczno-chemiczną, organoleptyczną oraz mikrobiologiczną wody dostarczanej odbiorcom. Problemy związane z powstającą na wewnętrznych powierzchniach rurociągów do dystrybucji wody do picia oraz na elementach armatury błoną biologiczną przyczyniły się do zwiększenia prowadzonych badań naukowych przyczyniających się do lepszego poznania tego zjawiska [105].

5.1. Mechanizm powstawania i budowa błony biologicznej

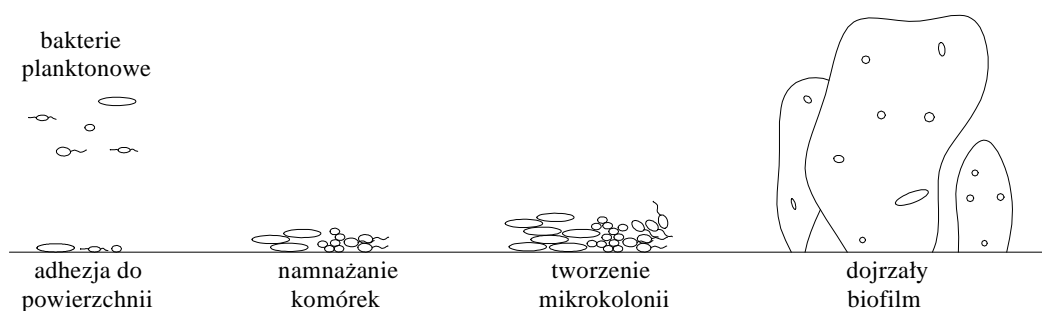
Biofilm definiowany jest, jako mieszanina bakterii, grzybów i glonów tworzących wielokomórkową strukturę otoczoną warstwą substancji organicznych i nieorganicznych produkowanych przez tworzące go drobnoustroje, wykazujące adhezję do powierzchni biotycznych i abiotycznych [20]. Komórki te przylegają do siebie nawzajem oraz do powierzchni stałych i często są dodatkowo otoczone śluzami [136,147].

Błona biologiczna to skomplikowana struktura powstająca w kilku etapach. Początkowo bakterie swobodnie pływają w wodzie jednak z czasem mogą osiadać na powierzchni rurociągów. Kiedy pływająca komórka planktonowa osiadając na powierzchni i przylączy się do niej w sposób nieodwracalny następuje rozpoczęcie procesu powstawania obrostu mikrobiologicznego, co wiąże się z przejściem komórek w osiadłą fazę wzrostu [136]. Osiadanie to może spowodować np. przypadkowe zmniejszenie odległości pomiędzy komórką bakteryjną a ścianką rurociągu (nurt wody) lub warunki hydrauliczne panujące w sieci, gdzie w wyniku stagnacji wody bakterie samoistnie „opadają” na jego dno. Dodatkowo ich ilość zwiększa się w wyniku licznych procesów zachodzących w sieci wodociągowej między innymi stagnacji wody, która odgrywa tu istotną rolę. Zwiększająca się wówczas temperatura i ułatwiony dostęp do substancji odżywczych zawartych w wodzie intensyfikuje procesy rozmnażania komórek bakteryjnych. Znaczna liczebność drobnoustrojów w wodzie również przyczynia się do ich szybszego osadzania na powierzchniach rur. Komórki bakteryjne mogą łączyć się wówczas w większe aglomeraty, co ułatwia zasiedlanie podłoża. Opisana faza początkowa zachodzi przy odległości 150 nm pomiędzy bakterią a podłożem. W tym przypadku największą rolę w procesach adhezyjnych odgrywają oddziaływania fizyczne: siły van der Waalsa, siły hydrodynamiczne, dyfuzja, grawitacja, elektrostatyczny ładunek powierzchni, ruchy Browna oraz ruchliwość samych bakterii. Bakterie w drodze ewolucji wytworzyły rzęski oraz wici pozwalające się im poruszać, a ich różne ilości i rozmieszczenie na powierzchni komórki różnicuje je pod względem zdolności przemieszczania [38]. Jest to cecha przynależna do gatunku czy rodzaju np. komórki *Escherichia coli* mają całą powierzchnie pokrytą rzęskami a w jednym z biegunów dodatkowo znajdują się wici, natomiast bakterie z rodzaju *Legionella* mają tylko pojedynczą wić na jednym z biegunów komórki, co znacznie

ogranicza jej zdolności ruchowe [63,114]. Komórka bakteryjna jest jednak na tyle mała, że pomimo tych właściwości nie jest w stanie przeciwstawić się ruchowi wody w systemie dystrybucji i jest z nią unoszona, jedynie w chwili, gdy znajdzie się w dostatecznie niewielkiej odległości od podłoża wytworzone mechanizmy poruszania pomagają przy zbliżeniu się na mniejszą odległość [26].

Osadzanie bakterii na podłożu zachodzi w dwóch fazach podstawowej i zasadniczej. W początkowej fazie mikroorganizmy nie są trwale związane z podłożem przez, co stosunkowo łatwo jest je z niego usunąć. Część drobnoustrojów jest odrywana od podłoża nawet w wyniku zwiększenia natężenia przepływu [20,21,42].

Przy odległości około 3 nm od podłoża zaczyna się faza zasadnicza, w której główną rolę odgrywają siły chemiczne: wiązania wodorowe, tworzenie par i kompleksów jonowych, wiązania kowalencyjne oraz egzopolimery produkowane przez bakterie. Jest to faza nieodwracalna, w której usunięcie mikroorganizmów z podłoża wymaga skomplikowanych zabiegów chemicznych (obumieranie komórek bakteryjnych) lub przez mechaniczne usuwanie ich z powierzchni.



Rysunek 2. Schemat powstawania błony biologicznej

W sprzyjających warunkach mikroorganizmy przytwierdzone do podłoża zaczynają się rozmnażać tworząc mikrokolonie. Proces ten polega zarówno na statycznym podziale komórek w danym miejscu, jak również na migracji pojedynczych komórek po powierzchni, w wyniku czego powstają większe skupiska. Pierwsze mikrokolonie to warstwa 3-5 komórek, często rozproszonych na jednolitej warstwie mikroorganizmów przyległych do podłoża [21,26,65,136]. Z przepływającej w rurociągu wody do komórek bakteryjnych w błonie mogą również przytwierdzać się inne organizmy tworząc na ich powierzchni nowe mikrokolonie. W efekcie tych procesów powstaje dojrzały biofilm [20,26,119]. Obecnie uważa się, że w dojrzałym biofilmie następuje różnicowanie się osiadłych populacji komórek bakteryjnych poprzez syntezy nowych białek, które są odmienne od tych, które w podobnych warunkach wzrostowych syntetyzują komórki planktonowe. Podczas tworzenia dojrzałej struktury błony biologicznej istotne znaczenie mają również procesy zachodzące na poziomie molekularnym. Wiele gatunków bakterii Gram-ujemnych posiada zdolność odczuwania swojej gęstości w danym otoczeniu, wynikiem czego jest regulacja procesów metabolicznych. Komórki w dojrzałym biofilmie wykazują również zdolność komunikowania się poprzez produkcję autoinduktorów (feromonów), związków o niskich masach cząsteczkowych, które swobodnie dyfundują do środowiska, a następnie poprzez dyfuzję bierną przedostają się do cytoplazmy sąsiednich komórek.

Komórki podatne na działanie danego induktora, tego samego lub innego gatunku, reagują poprzez zmianę swoich procesów metabolicznych [119,136].

W procesie tworzenia obrostu istotne znaczenie odgrywiają pozakomórkowe polimery (EPS) stanowiące mieszaninę polisacharydów, kwasów nukleinowych i białek. EPS pokrywają całą powierzchnię komórki bakteryjnej ułatwiając w ten sposób jej przytwierdzenie do podłoża. Substancje te stanowią również materiał zapasowy i w trudnych warunkach bakterie zużywają zawarte w nich substancje organiczne w procesach metabolicznych. Pozakomórkowe biopolimery stanowią również ochronę błony biologicznej uniemożliwiając bezpośredni dostęp środka dezynfekcyjnego do komórek bakteryjnych [7,23,38,46,119].

Błona biologiczna to skomplikowana struktura heterogeniczna charakteryzująca się dużą liczbą zmian strukturalnych. Komórki bakteryjne układają się w błonie w sposób dość przypadkowy, dlatego pomiędzy koloniami powstają kanały, którymi przepływa woda (stanowiąca około 60 % całkowitej objętości błony biologicznej) wraz, z którą do głębszych warstw transportowane są substancje odżywcze z jednoczesnym odprowadzeniem produktów przemiany materii [23,133,136]. Okabe wraz z współpracownikami badali ich strukturę i stwierdzili, że wewnątrz biofilmu średnica takich kanałów sięga nawet do 200 μm (makropory), podczas gdy na powierzchni nie przekraczają one 10 μm (mikropory), przyczyniając się tym samym do zróżnicowanej porowatości błony biologicznej z zależności od warstwy, która waha się w zakresie 30-90% [87]. Przeprowadzone przez Horna i Morgenrotha badania wykazały wpływ gęstości na szybkość transportu substancji odżywczych i tlenu w strukturze błony biologicznej [42].

Zgodnie z danymi literaturowymi morfologia błony biologicznej w warunkach laboratoryjnych jest w znacznym stopniu uzależniona od dostępności do substancji odżywczych. W przypadku ilości limitujących przyrost biofilmu jest bardziej heterogeniczny, struktura homogeniczna występuje przy stałej i odpowiednio wysokiej koncentracji pokarmu i tlenu. Jednak w przypadku warunków panujących w sieci wodociągowej istotną rolę odgrywiają warunki hydrauliczne, które kształtują powierzchnię błony, zwłaszcza przy dużych zmianach natężenia przepływu. Dlatego kształt błony zależy w dużej mierze od równowagi pomiędzy przyrostem a ubytkiem [38,42,133].

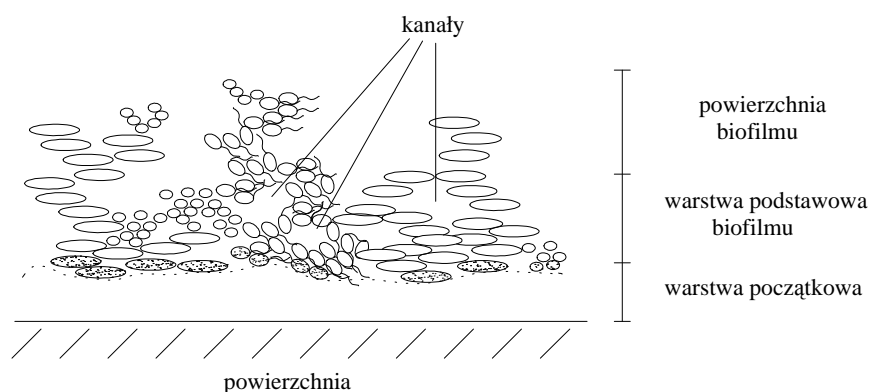
Również stężenie środka dezynfekcyjnego wpływa na kształtowanie błony biologicznej. Codony wraz z współ. w 2002 roku przebadał szybkość powstawania błony biologicznej bakterii *Pseudomonas aeruginosa* na szkle i wykazał, że przy stężeniu wolnego chloru 0,5 mg/dm^3 nie obserwowano formowania biofilmu nawet po okresie miesiąca. Nawet dodanie octanu sodu w celu zwiększenia ilości węgla, jako substancji biogennej, nie zwiększyło szybkości obrastania powierzchni. Natomiast przy neutralizacji chloru tiosiarczanem sodu formowanie początkowych faz biofilmu obserwowano już przed upływem jednej doby, a jego wielkość po okresie dwóch tygodni wynosiła 10^6 jtk/ cm^2 [17].

Dojrzały obrost biologiczny zbudowany jest z trzech warstw (Rys. nr 3). Najbliżej podłoża znajduje się warstwa podstawowa, czyli materiał biologiczny osiadły na podłożu w pierwszej fazie tworzenia błony, a jej grubość wynosi około 5 μm [19].

Komórki ściśle przylegają do siebie a przestrzenie pomiędzy nimi są bardzo niewielkie, jest to warstwa najbardziej zagęszczona komórkami bakteryjnymi oraz produkowanymi przez nie pozakomórkowymi polimerami. Konsekwencją tego jest często korozja mikrobiologiczna, gdyż drobnoustroje wykorzystują związki zawarte w podłożu, jako substancje odżywcze. W takich przypadkach wiele bakterii zaczyna zwiększać wytwarzanie pozakomórkowych polimerów ułatwiających wymywanie z podłoża jego składników zwłaszcza, gdy jest nim polimer syntetyczny [31,104]. Początkowo w biofilmie występują różne rodzaje i gatunki drobnoustrojów, gdyż na powierzchni rurociągów mogą osadzać się wszystkie zawarte w wodzie organizmy, jednak z czasem pogarszające się warunki bytowania poprzez ograniczenia wynikające z tworzenia się dalszych warstw, różnicują mikroflorę, gdyż nie wszystkie organizmy mają zdolność przetrwania w nowo zaistniałych warunkach środowiskowych. Głównymi czynnikami limitującymi jest dostępność tlenu i substancji odżywczych, co w dużym stopniu jest związane z możliwościami mikroorganizmów do wytwarzania odpowiednich biosurfaktantów umożliwiających wykorzystywanie składników podłoża. Często przy „starszych” błonach biologicznych w warstwie najbliższej podłoża największy udział procentowy mają organizmy beztlenowe [26,31,38,147].

W przypadku rurociągów metalowych obecność biofilmu intensyfikuje również procesy korozji elektrochemicznej, czego skutkiem są trwałe uszkodzenia rurociągów i stale pogarszająca się jakość wody [117].

Objętościowo największą część biofilmu stanowi warstwa podstawowa, która jest znacznie luźniejsza od pierwszej. Organizmy nie przylegają już do siebie tak ściśle, a produkowane przez nie polimery pozakomórkowe są częściowo wypłukiwane przez przepływającą kanałami wodę tak, więc nie tworzą tak zwartych warstw w koło komórek. Efektem tego jest łatwiejszy dostęp do mikroflory nie tylko substancji biogennych, ale również środka dezynfekcyjnego powodującego odwracalne lub trwałe uszkodzenia błony biologicznej. Kanały, którymi przepływa woda wraz z substancjami odżywczymi i tlenem, stanowią 30% w przypadku głębszych warstw błony oraz aż 90% dla powierzchni biofilmu [87].

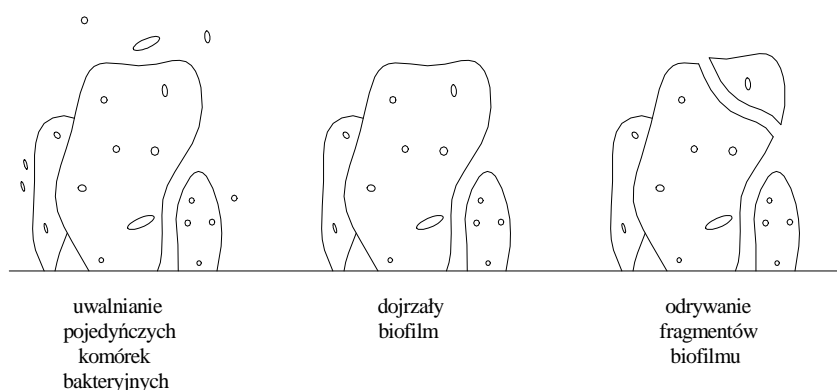


Rysunek 3. Przekrój przez dojrzały biofilm

Bioróżnorodność tej warstwy jest bardzo duża, czemu sprzyja dostępność tlenu i pokarmu. Przeprowadzone przez Bishopa i współpracowników badania wykazały przenikalność dolnych warstw błony biologicznej na poziomie 20-50 %, natomiast

górnym 50-80 %, co jest uzależnione między innymi od gęstości czy porowatości danej warstwy [12].

Warstwą najbardziej narażoną na uszkodzenia zarówno mechaniczne (w wyniku zmian natężenia przepływu) jak i przez środki dezynfekcyjne obecne w wodzie wodociągowej, jest powierzchnia biofilmu. W zależności od wielkości dobowego zróżnicowania poboru wody zmiany są różnej wielkości, co wpływa na ukształtowanie powierzchni błony. W przypadku niewielkich zmian natężenia przepływu z błony biologicznej mikroorganizmy są wypłukiwane w postaci pojedynczych lub większych skupisk bakterii. Jeśli jednak zmiany są duże może dochodzić do odrywania całych fragmentów błony i przenoszenia ich na dalsze odcinki sieci wodociągowej (Rys. nr 4).



Rysunek 4. Sposoby uwalniania z błony biologicznej drobnoustrojów

Wielkość ubytków błony biologicznej zależy od jej gęstości, a więc nie tylko od ilości zdeponowanych komórek, ale również ilości pozakomórkowych polimerów [133].

5.2. Wpływ błony biologicznej na jakość wody wodociągowej oraz system dystrybucji

Woda wodociągowa stanowi źródło mikroorganizmów wywołujących głównie choroby układu pokarmowego oraz oddechowego przy zakażeniu drogą inhalacyjną. W przypadku dostania się drobnoustrojów do organizmu przez uszkodzone błony śluzowe może dojść nawet do infekcji wieloogniskowych. Większość organizmów obecnych w wodzie zalicza się do oportunistycznych, czyli niewywołujących objawów chorobowych w organizmach z prawidłowo funkcjonującym układem immunologicznym, a jedynie u osobników z obniżoną odpornością, w szczególności z zespołem upośledzenia wchłaniania pokarmu, chorobami nowotworowymi czy autoimmunologicznymi [34,120]. Organizmy względnie patogenne osiadając w błonach biologicznych w sprzyjających warunkach rozmnażają się, a ich liczebność w wodzie w wyniku wypłukiwania znacznie wzrasta zwiększając ryzyko zachorowań.

Wśród czynników chorobotwórczych przenoszonych drogą wodną wyróżniamy:

- domena *Bacteria* (*Eubacteria*)

Salmonella sp., *Shigella* sp., *Vibrio* sp., patogenne szczepy *Escherichia coli*, *Campylobacter* sp., *Helicobacter* sp., *Yersinia* sp., *Listeria* sp., *Legionella* sp., *Aeromonas* sp.,

inne bakterie heterotroficzne w tym pigmentowe: *Pseudomonas* sp., *Mycobacterium* sp., *Corynebacterium* sp., *Xanthomonas* sp., *Flavobacterium* sp., *Serratia* sp., *Enterobacter* sp., *Micrococcus* sp., *Nocardia* sp.,

- domena *Archaea*:

Cyanobacteria-cyjanobakterie (sinice),

- grzyby mikroskopowe:

Sporocybe sp., *Penicillium* sp., *Acremonium* sp., *Paecilomyces* sp., *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Alternaria* sp., *Cladosporium* sp.,

- wirusy:

RNA wirusy – *Picornaviride*., *Reoviridae*, *Astroviridae*, *Caliciviridae*,

DNA wirusy- *Adenoviridae*, *enterowirusy*,

- pierwotniaki (Protista):

Acanthamoeba spp., *Balantidium coli*, *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora* spp.,

Entamoeba histolytica, *Gardia intestinalis*, *Isoospora belli*, mikrosporydia,

Naegleria fowleri, *Toxoplasma gondii* [33,34,115,120].

Bakterie wskaźnikowe stanowią podstawę jakości mikrobiologicznej wody w 90% nie przeżywają w systemie dystrybucji nie dłużej niż tydzień czasu. Wynika to z panujących w tym środowisku niesprzyjających warunków, jednak w strukturze błony biologicznej ich przeżywalność może się znacznie wydłużyć. Osiedlając w biofilmie z czasem ich liczebność w wodzie wzrasta, pomimo braku ich rozmnażania się w tym środowisku, poprzez ich nagromadzenie w błonie a następnie wypłukiwanie np. pod wpływem zmian warunków hydraulicznych [19,65].

Mikroorganizmy obecne w wodzie w postaci osiadłej, czyli błony biologicznej, powodują biodegradację i uwalnianie do wody produktów korozji materiałów, z jakich wykonane są rurociągi, często przyczyniając się do pogorszenia smaku i zapachu wody, zwłaszcza w przypadku rurociągów metalowych [19]. Organizmami uciążliwymi obecnymi w wodzie odpowiadającymi za pogorszenie smaku i zapachu są cyjanobakterie (*Anabaena*, *Oscillatoria*, *Phormidium*) oraz glony, promieniowce i grzyby mikroskopowe [34].

Dużym problemem jest obecność w wodzie bakterii z rodzaju *Legionella*. Bakterie te są przyczyną choroby o nazwie legionelloza, która występuje w dwóch formach. Pierwsza to ciężkie zapalenie płuc zwane „choroba legionistów”, która może prowadzić do śmierci oraz druga łagodniejsza nazywana gorączka Pontiac, której objawy są podobne do przeziębienia (ból głowy, gorączka, ból mięśni) i zwykle mijają po 2-5 dniach. Wiele przypadków legionellozy obserwowano w szpitalach oraz hotelach, gdzie w systemach ciepłej wody łatwo tworzą się błony biologiczne. Ich obecność była wykrywana w wodzie w temperaturze do około 45°C, natomiast powyżej 60°C ich ilość była poniżej granicy wykrywalności [19,41]. Bakterie te mogą namnażać się w ciele pełzaków (*Protista*) znacznie zwiększając swoją liczebność w

biofilmie. Ten sposób rozmnaża dodatkowo chroni je przez niekorzystnym wpływem środowiska [9,26,57].

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

1. Cel i zakres pracy

Na podstawie badań wstępnych sformułowano założenie, że jeżeli na polimerach syntetycznych stosowanych w systemach dystrybucji wody rozwija się błona biologiczna, to jej efektem są: obniżenie jakości mikrobiologicznej wody, pogorszenie jej parametrów fizyczno-chemicznych oraz zmiany korozyjne badanych materiałów, będące wynikiem procesów metabolicznych drobnoustrojów wchodzących w skład biofilmu.

Stąd celem pracy było określenie podatności na obrosty mikrobiologiczne materiałów syntetycznych wykorzystywanych do dystrybucji wody do picia, w zależności od czynników fizycznych podłoża oraz jakości fizyczno-chemicznej i mikrobiologicznej przesyłanej wody. W przeprowadzonych badaniach kontrolowano wpływ obecności biofilmu na wybrane parametry jakościowe wody (fizyczno-chemiczne, mikrobiologiczne). Określano zmiany powstałe na powierzchni materiałów polimerowych w wyniku działalności metabolicznej drobnoustrojów obecnych w błonie biologicznej.

Na realizację badań złożyły się następujące cele jednostkowe:

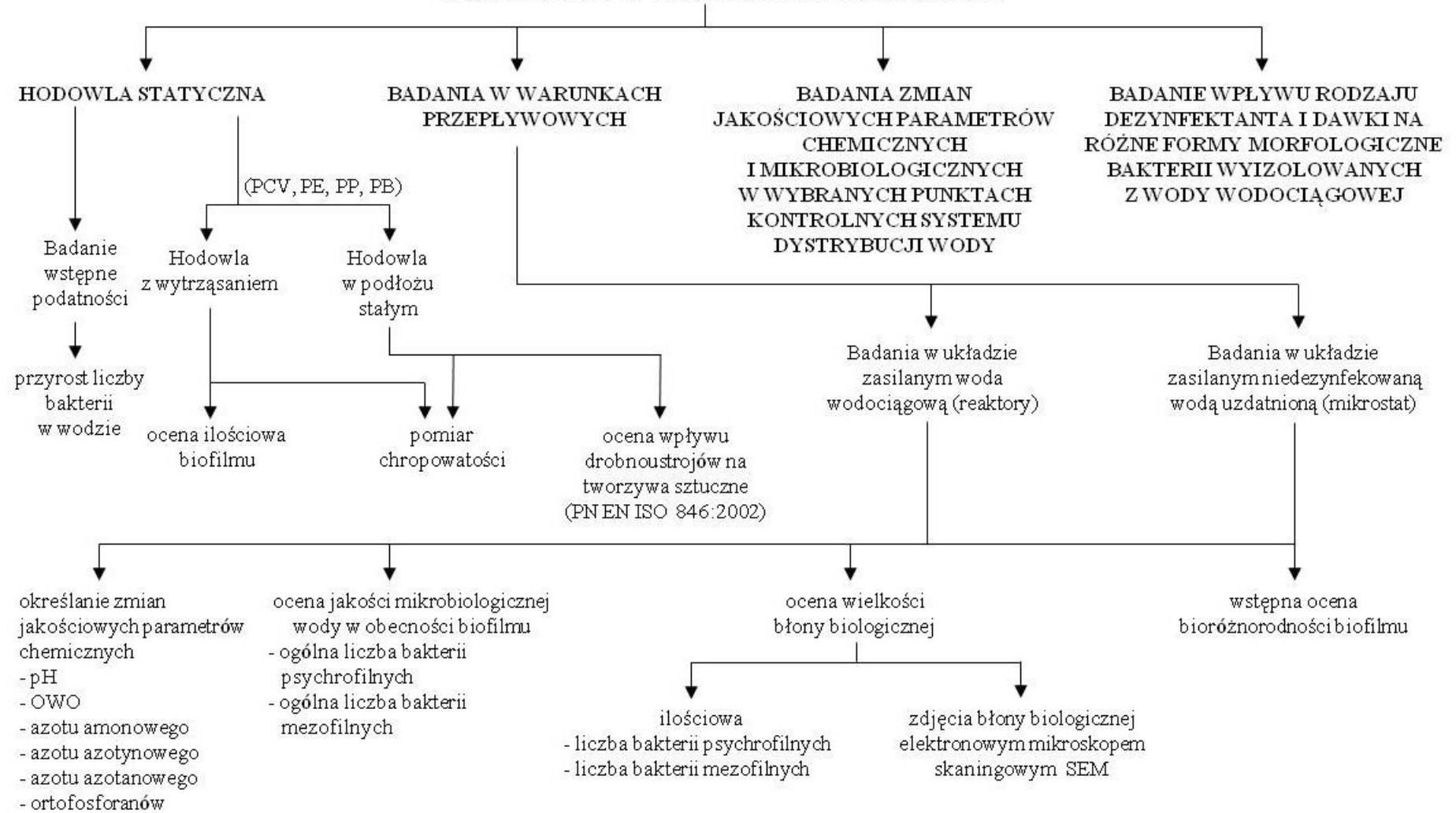
- ocena potencjalnych możliwości rozwoju drobnoustrojów tworzących biofilm na powierzchni wybranych polimerów stosowanych do budowy sieci wodociągowej,
- ocena wpływu obecności błony biologicznej, na jakość mikrobiologiczną i fizyczno-chemiczną wody wodociągowej,
- wykazanie podatności badanych polimerów syntetycznych na korozję mikrobiologiczną,
- ocena wrażliwości bakterii wyizolowanych z wody wodociągowej na stosowane chemiczne środki dezynfekcyjne,
- wykazanie zmian wybranych parametrów jakościowych wody w sieci wodociągowej.

Badania prowadzono również w warunkach rzeczywistych we wrocławskim systemie dystrybucji wody, w wybranych punktach sieci. W tym celu pobierano próbki wody i określano zmiany jakości jej parametrów w zależności od odległości od stacji uzdatniania, wieku rurociągu oraz materiału, z jakiego został wykonany.

Dla realizacji celów badania prowadzono w trzech wariantach tj. hodowli statycznej, w układach przepływowych oraz sieci wodociągowej.

Kompleksowe ujęcie czynników wpływających na powstawanie błony biologicznej na materiałach polimerowych wykorzystywanych do dystrybucji oraz wpływ ich obecności, na jakość przesyłanej wody pozwoliło na sklasyfikowanie ich pod względem podatności na obrosty mikrobiologiczne i wynikające z tego zagrożenia dla odbiorców. Natomiast wykonane badania zmian powierzchni materiałów dały podstawę do wstępnego określenia wielkości mikrobiologicznej korozji materiałów syntetycznych, co ma istotne znaczenie w przypadku dłuższej eksploatacji rurociągów.

RODZAJE WYKONANYCH BADAŃ



Rysunek 5. Schemat wykonanych badań

2. Materiały i metody

2.1. Rodzaje materiałów syntetycznych/polimerów wykorzystywanych w badaniach

W badaniach wykorzystano cztery materiały syntetyczne polichlorek winylu (PCV), polietylen (PE), polipropylen (PP) i polibutylen (PB). Tworzywa te stosowane są do dystrybucji wody do picia. Materiały wykorzystane w badaniach dostarczone zostały przez dwie firmę InstalPlast Sp. z o.o. (PCV, PE) oraz Wavin Sp. z o.o. (PCV,PE,PP,PB).

2.2. Pożywki i roztwory wykorzystywane w analizach mikrobiologicznych

Drobnoustroje charakteryzuje zróżnicowane zapotrzebowanie na substancje nieorganiczne i organiczne. Na ich rozwój nie bez znaczenia pozostaje odczyn podłoża czy jego zasolenie. Dlatego zastosowano szereg podłoży mikrobiologicznych zarówno do analizy ilościowej drobnoustrojów tworzących błony biologiczne na badanych materiałach, jak również do wstępnej oceny bioróżnorodności biofilmu oraz izolacji drobnoustrojów z wody wodociągowej.

Agar odżywczy/wzbogacony:

pepton – 4 g

NaCl – 3,5 g

ekstrakt mięsny – 3 g

enzymatyczny hydrolizat kazeiny – 5,4 g

ekstrakt drożdżowy – 1,7 g

agar do zetalania – 14 g

woda destylowana – 1000 cm³

Podłoże R2A:

pepton – 0,75 g

ekstrakt drożdżowy – 0,5 g

trypton – 0,25 g

skrobia – 0,5 g

C₆H₁₂O₆ – 0,5g

K₂HPO₄ - 0,3 g

pirogonian sodu – 0,3 g

MgSO₄·7H₂O - 0,024 g

agar do zetalania – 15 g

Bulion odżywczy/wzbogacony:

pepton – 4 g

pepton K – 5,4 g

NaCl – 3,5 g

ekstrakt mięsny – 0,4 g

ekstrat drożdżowy – 1,7 g

woda destylowana – 1000 cm³

Podłoże z solami mineralnymi (mineralne):

KH_2PO_4 – 0,7 g

K_2HPO_4 - 0,7 g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ - 0,7 g

NH_4NO_3 – 1 g

NaCl – 0,005 g

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ -0,002 g

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,002 g

$\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001 g

agar do zestawienia – 20 g

woda destylowana – 1000 cm³

doprowadzono do pH 7,0 w temperaturze 20⁰C roztworem NaOH o stężeniu 0,01 mol/dm³

Podłoże Sabouraud'a:

pepton – 10 g

glukoza – 40 g

agar do zestawienia – 20 g

Podłoże Chapek-Doxa:

NaNO_3 – 2 g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5 g

K_2HPO_4 – 1 g

KCl – 0,5 g

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01 g

sacharoza – 30 g

agar do zestawienia – 25 g

woda destylowana (wolna od amoniaku) – 1000 cm³

Podłoże Endo:

pepton – 10 g

laktoza – 10 g

K_2HPO_4 – 3,5 g

Na_2SO_4 – 2,5 g

fuksyna – 0,5 g

agar do zestawienia – 15 g

woda destylowana – 1000 cm³

Podłoże Kinga B:

pepton - 20 g

K_2HPO_4 – 1,5 g

MgSO_4 - 1,5 g

glicerol (gliceryna) – 10 cm³

agar do zestawienia – 15 g

woda destylowana – 1000 cm³

Podłoże Vogel-Bonnera:

glukoza – 50 cm³

sole do podłoża Vogel-Bonnera (ciepła H_2O_D – 670 cm^3 ; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 10 g; kwas cytrynowy – 100 g; K_2HPO_4 bezw. – 500 g; $\text{NaH}_2\text{N}_2\text{H}_4\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 175 g) – 20 cm^3
agar do zestawienia – 15 g

Podłoże Chapmana:

wyciąg mięsny – 3 g

pepton – 10 g

NaCl – 75 g

mannitol – 10 g

czerwień fenolowa 0,2 % roztworu w 50 % alkoholu etylowym – $1,25 \text{ cm}^3$

agar do zestawienia – 20 g

woda destylowana – 1000 cm^3

Podłoże Salmonella-Shigella (SS):

wyciąg mięsny – 3 g

pepton proteose (Difco) – 10 g

NaCl – 5 g

tiosiarczan sodowy – 8,5 g

dezoksychofan sodu – 8,5 g

cytrynian sodowy – 8,5 g

laktoza – 10 g

cytrynian żelazowy – 1 g

roztwór wodny 1 % czerwieni obojętnej – $2,5 \text{ cm}^3$

0,05 % roztwór wodny zieleni brylantowej – $0,7 \text{ cm}^3$

agar do zestawienia – 20 g

woda destylowana – 1000 cm^3

Podłoże MacConkeya:

pepton – 20 g

dezoksychofan sodowy – 1,5 g

NaCl – 5 g

laktoza – 10 g

roztwór wodny 1 % czerwieni obojętnej – 3 cm^3

roztwór wodny 0,1 % fioletu krystalicznego – 1 cm^3

agar do zestawienia – 17 g

woda destylowana – 1000 cm^3

Podłoże Slanetza i Bartleya:

pepton kazeinowy – 15 g

pepton sojowy – 5 g

ekstrakt drożdżowy – 5 g

D-glukoza – 2 g

K_2HPO_4 – 4 g

azydek sodu – 0,4 g

chlerek 2,3,5-trifenylo-tetrazoliowy – 0,1 g

agar do zestawienia – 10 g

woda destylowana – 1000 cm^3

W przypadku konieczności stosowania rozcieńczeń próbek wykorzystywano roztwór fizjologiczny.

Podłoże Wahl'a:

cytrynian sodu – 3 g

(NH₄)₂SO₄ – 1 g

KH₂PO₄ – 1 g

woda destylowana – 1000 ml

doprowadzono do pH 7,4 w temperaturze 20⁰C roztworem NaOH o stężeniu 0,01 mol/dm³

Bufor fosforanowy:

KH₂PO₄ - 9,1 g/dm³ (roztwór A)

Na₂HPO₄ - 11,9 g/dm³ (roztwór B)

zmieszano 600 ml roztworu A i 400 ml roztworu B, doprowadzono pH do 7,0 w temperaturze 20⁰C dodając roztwór NaOH.

Roztwór fizjologiczny:

chlorek sodu – 8,5 g

woda destylowana – 1000 cm³

Wszystkie podłoża oraz odczynniki sterylizowano w autoklawie w temperaturze 120⁰C ± 1⁰C przez 20 min. Jedynie podłoże Slanetza i Bartleya sterylizowano poprzez zagotowanie na koszu grzejnym. Glukoza dodawana do podłoża minimalnego była sterylizowana osobno w autoklawie w temperaturze 110⁰C przez 20 min., a następnie sterylnie dodawana do jałowego podłoża minimalnego.

2.3. Drobnoustroje wykorzystywane w badaniach

W zależności od rodzaju przeprowadzanych badań wykorzystywano różne materiały biologiczne. Wielkości zmian w materiałach polimerowych w wyniku korozji mikrobiologicznej badano z wykorzystaniem zarówno mieszaniny drobnoustrojów wodnych izolowanych z wody wodociągowej, jak również muzealnego szczepu *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388. Do oceny wpływu drobnoustrojów na syntetyczne materiały polimerowe zgodnie z normą PN EN ISO 846-2002 zastosowano muzealny szczep *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388 z kolekcji firmy GCM Standard. Natomiast do badania wpływu rodzaju oraz dawki środka dezynfekcyjnego zastosowano trzy różne formy morfologiczne bakterii wyizolowanych z wody wodociągowej, jak również mieszaniną kulturę bakterii wodnych.

2.3.1. Inokulum drobnoustrojów wody wodociągowej wykorzystanych w badaniach zmian tekstury powierzchni.

W celu pozyskania materiału mikrobiologicznego objętość 3 dm³ wody wodociągowej przefiltrowywano przez filtr celulozowy o wielkości porów 0,2 μm, następnie filtr ten umieszczono w 50 cm³ roztworu fizjologicznego i przy użyciu ultradźwięków mikroorganizmy uwolniono do roztworu. Następnie przeniesiono

sterylnie 10 cm³ zawiesiny mikroorganizmów do 200 cm³ podłoża minimalnego z dodatkiem glukozy w ilości 5 g/dm³ i inkubowano w temperaturze 22⁰C przez 72 h. Do tak przygotowanej hodowli drobnoustrojów wprowadzono sterylne próbki badanych materiałów polimerowych (PCV, PE, PP, PB).

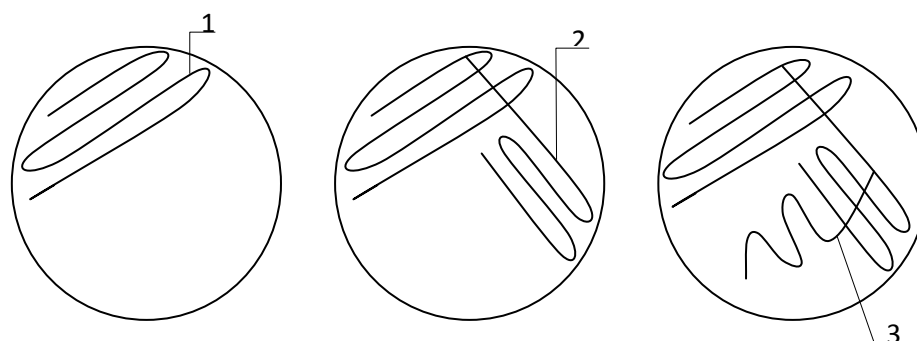
2.3.2. Szczep bakterii *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388 zastosowany do określenia zmian tekstury powierzchni oraz oceny wpływu działalności drobnoustrojów na tworzywa sztuczne

Muzealny szczep *P. aeruginosa* ATCC 13388 zakupiono w firmie GCM Standard. Bakterie zostały dostarczone w postaci zliofilizowanej. Zgodnie z wymaganiami dostawcy materiału biologicznego bakterie ożywiano postępując według podanej procedury.

Po otwarciu „fiolki” wprowadzono 0,5 cm³ bulionu wzbogaconego pobranego z próbki zawierającej 5 cm³ podłoża. Delikatnie wymieszano, a następnie sterylne przeniesiono całą zawartość fiolki do próbki z bulionem wzbogaconym. Dokładnie wymieszano i za pomocą ezy wykonano posiewy na skosy i płytki z agarem wzbogaconym. Inkubację prowadzono w temperaturze 37 ± 2⁰C przez 24h.

2.3.3. Izolacja bakterii do oceny ich wrażliwości na środki dezynfekcyjne

W celu wyizolowania z wody wodociągowej różnych form morfologicznych bakterii pobrano sterylne z punktu czerpalnego zlokalizowanego na wrocławskiej sieci dystrybucji 10 cm³ wody i wprowadzono ją do 100 cm³ sterylnego bulionu wzbogaconego. Po 24h inkubacji w temperaturze 28⁰C wykonano posiewy izolacyjne (Rys. 5), które również inkubowano przez 24h w temperaturze 28⁰C. Uzyskując w ten sposób pojedyncze kolonie, izolowano, namnażano i wykonano barwienie metoda Grama, aby określić formę morfologiczną bakterii.

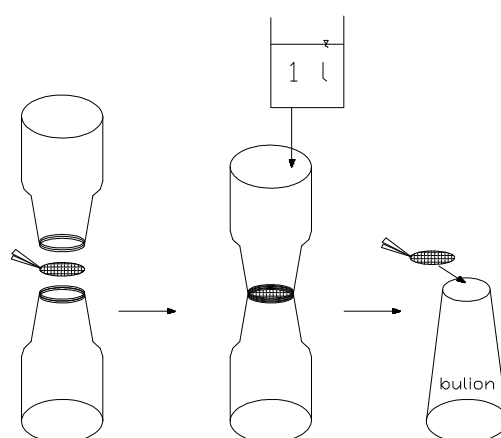


Rysunek 6. Schemat postępowania w posiewie izolacyjnym.

Z przeprowadzonej izolacji uzyskano jedynie formy gram-dodatnich laseczek. W celu izolacji pozostałych form morfologicznych, przez zestaw filtracyjny zawierający sterylny filtr celulozowy o wielkości porów 0,2 μm, przefiltrowano 1 dm³ wody wodociągowej pobranej z punktu czerpalnego wody zimnej wrocławskiej sieci

wodociągowej (Rys. 6). Następnie filtr celulozowy umieszczono w 100 cm³ sterylnego bulionu wzbogaconego i inkubowano w temperaturze 28⁰C przez 24h z wytrząsaniem. Po tym czasie z bulionu wykonano posiewy izolacyjne i barwienie metodą Grama bakterii pobranych z pojedynczych kolonii. Do badań wybrano trzy formy morfologiczne bakterii tj. szczep nr 1 (gram-dodatnie laseczki), nr 2 (gram-ujemne pałeczki) i nr 3 (gram-dodatnie ziarniaki). W wyborze szczepów kierowano się intensywnością wzrostu szczepów w warunkach hodowli laboratoryjnej.

Aby zachować bioróżnorodność mieszanej kultury bakterii zgodną z warunkami panującymi w sieci wodociągowej, materiał badawczy uzyskano poprzez przefiltrowanie 2 dm³ wody przez filtr celulozowy o wielkości porów 0,2 μm. Następnie umieszczono go wraz z bakteriami w sterylnej wodzie uzdatnionej i przy pomocy ultradźwięków uwolniono drobnoustroje do roztworu.



Rysunek 7. Izolacja bakterii z roztworów wodnych poprzez filtrację

2.4. Metody mikrobiologiczne

W zależności od celu badania stosowano zróżnicowane metody mikrobiologiczne.

2.4.1. Określanie ogólnej liczby bakterii psychrofilnych i mezofilnych

Do wyznaczenia ogólnej liczby bakterii zastosowano metodę płytkową Kocha z wykorzystaniem posiewu wgłębnego zgodnie z procedurą zalecaną w normie badania jakości wody [102,110]. W przypadku oznaczenia ogólnej liczby bakterii psychrofilnych inkubacja trwała 72h w temperaturze 20 ± 2⁰C, natomiast dla bakterii mezofilnych 48h w temperaturze 37 ± 2⁰C. Po zakończeniu inkubacji zliczano ilość wyrosłych na podłożach kolonii, a wynik podawano w jednostce jtk/cm³.

W badaniach zastosowano dwa podłoża mikrobiologiczne:

- agar wzbogacony – ogólnie stosowana pożywka dla mniej wymagających drobnoustrojów,
- podłoże R2A - podłoże o niskiej wartości odżywczej do bakteriologicznej oceny wody do picia, które pozwala bakteriom uszkodzonym/zestresowanym chlorem,

na ponowne uzyskanie aktywności biologicznej bez tłumienia przez mikroorganizmy szybciej rosnące [80].

2.4.2. Analiza ilościowa i jakościowa biofilmów powstałych na materiałach syntetycznych

Po zakończeniu badań, których celem była ocena wpływu materiałów syntetycznych na jakość mikrobiologiczną i fizyczno-chemiczną wody, płytki z obrostem biologicznym poddano analizie mikrobiologicznej oraz ocenie biokorozji (analiza zdjęć SEM). W tym celu płytki umieszczano w sterylnych kolbach Erlenmajera zawierających 100 cm³ sterylnego roztworu fizjologicznego i poddawano działaniu ultradźwięków przez 20 min. W zawieszynie drobnoustrojów uwolnionych z powierzchni badanych materiałów oznaczano ogólną liczbę bakterii psychrofilnych, mezofilnych oraz grzybów i pleśni. Badania te pozwoliły na określenie ilościowo mikroflory zasiedlającej powierzchnie badanych tworzyw sztucznych, przypadającej na 1cm² powierzchni. Wykonywano również posiewy na wybranych podłożach selektywnych w celu sprawdzenia różnorodności form bakterii w biofilmie, w tym również patogennych stanowiących zagrożenie dla odbiorców wody.

Podłoża wykorzystane w badaniach:

- Agar odżywczy/wzbogacony
- Podłoże R2A
- Podłoże Sabouraud'a
- Podłoże Chapek-Doxa
- Podłoże Endo
- Podłoże Kinga B
- Podłoże Vogel-Bonnera
- Podłoże Chapmana
- Podłoże Salmonella-Shigella (SS)
- Podłoże Mac Conkeya
- Podłoże Slanetza i Bartleya

Po tym procesie próbki materiałów polimerowych przenoszono do sterylnych pojemników i poddawano dalszym analizom, w celu określenia zmian powstałych na ich powierzchni w wyniku biokorozji, z wykorzystaniem urządzenia Taylor Hobson w przypadku pomiaru chropowatości powierzchni lub wykonywano zdjęcia skaningowym mikroskopem elektronowym SEM.

2.4.3. Identyfikacji bakterii i bakteriofagów występujących w błonach biologicznych

Identyfikację przeprowadzono jednorazowo. W badaniach wykorzystano sześć zawieszin bakterii tworzących biofilm uzyskanych w wyniku uwolnienia powierzchni materiałów polimerowych umieszczonych w wodzie wodociągowej. Dwie z nich pochodziły z polichloru winylu i polietylenu badanych w mikrostacie, cztery pozostałe

z polichlorku winylu, polietylenu, polipropylenu oraz polibutyleny z reaktorów. Z poszczególnych zawiesin drobnoustrojów założono hodowle na podłożu płynnym (10 ml odpowiedniej zawiesiny wprowadzono do 50 cm³ bulionu odżywczego). Inkubację prowadzono w temperaturze $28 \pm 2^{\circ}\text{C}$ przez okres 5 dób. Następnie wykonano z każdej z hodowli płynnej (bulionowej) posiewy redukcyjne uzyskując jednorodne hodowle.

Identyfikację wyizolowanych szczepów przeprowadzono przy pomocy aparatu PHOENIX (niefermentujące gram-ujemne pałeczki) oraz ATB (pałeczki z rodzaju *Enterobacteriaceae* i bakterie gram-dodatnie).

W badaniu obecności bakteriofagów wykorzystano metodę łyśinkową.

Metoda łyśinkowa:

Na płytkę Petriego z podłożem Wahl'a lub podłożem fagowym nanoszono 24 godziną hodowlę szczepu bakteryjnego [146]. Nadmiar płynu odlewano z powierzchni podłoża i płytki Petriego suszono przez dwie godziny w temperaturze $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Po tym czasie na wysuszoną płytkę nanoszono 0,05 cm³ badanej zawiesiny. Próbkę inkubowano w temperaturze $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ przez 18 h lub 72 h w przypadku zbyt słabego wzrostu, aby odczytać wyniki. Odczyt polegał na zliczeniu liczby łyśinek powstałych w obrębie poszczególnej próbki.

W przypadku stwierdzenia obecności bakteriofagów namnażano je dwoma metodami z wykorzystaniem podłoża agarowego lub podłoża bulionowego do hodowli bakterii.

Hodowla z wykorzystaniem podłoża agarowego:

Otrzymanie lizatu bakteriofagów następowało przez krążek celofanowy, którym całkowicie pokrywano powierzchnię podłoża agarowego, a następnie krążek pokrywano zawiesiną bakterii zainfekowanych badanym fagiem. Tak przygotowaną hodowlę inkubowano przez 18 h w temperaturze $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Po inkubacji z celofanu zmywano lizat bakteriofagowy 0,1 M monoocetowym buforem o pH 7,0. Z otrzymanego lizatu usuwano bakterie w procesie wirowania trwającym 15 min. W płynie nad osadowym otrzymywano 10⁹ wirionów/cm³.

Dla uzyskania większej liczby cząstek bakteriofagowych w lizacie zastosowano drugą metodę płytkową wg Gratia – metoda płytek dwuwarstwowych [1]. W metodzie tej bakterie i badane bakteriofagi wprowadzano do niewielkiej objętości około 2-3 cm³ tzw. miękkiego agaru a następnie wylewano je na płytki agarowe. Po inkubacji trwającej 16-18 h w temperaturze $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ płytkę zmywano 5 cm³ bulionu a warstwę miękkiego bulionu zbierano szklaną bagietką. Po odwirowaniu/mieszaniu przygotowano serię rozcieńczeń, co pozwoliło ustalić tzw. rozcieńczenie krytyczne, czyli najwyższe stężenie wywołujące na podłożu stałym całkowitą lizę komórek gospodarza.

Hodowla z wykorzystaniem podłoża bulionowego:

Hodowlę przygotowaną z 100 cm³ bulionu odżywczego, do którego dodano 10 cm³ 4-godzinnej hodowli gospodarza i 10 cm³ lizatu faga, inkubowano w temperaturze $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ przez 3-4 godziny. W przypadku nie pojawienia się lizy komórek bakteryjnych inkubację wydłużano do 6 godzin. Próbka kontrolna zawierała 10 cm³ zawiesiny szczepu bakteryjnego oraz 100 cm³ bulionu. Po stwierdzeniu lizy komórek hodowle wstawiano na 18 godzin do chłodni. Po tym czasie do hodowli dodawano 5 cm³

chloroformu i ponownie wstawiano hodowlę do chłodni na kolejne 6 godzin. Po zakończeniu chłodzenia zawiesinę odwirowywano przez 15 minut.

Po uzyskaniu bakteriofagów miareczkowano je metodą Adams'a [2]. Zawiesinę bakteriofaga rozcieńczano w postępie logarytmicznym i każde rozcieńczenie nanoszono na pożywkę agarową, na której wcześniej wysiano szczep gospodarza. Inkubację prowadzono w temperaturze 37⁰C przez 5 h. Największe rozcieńczenie dające kompletną lizę przyjmowano, jako miano krytyczne.

Miano bakteriofagów określano poprzez przeliczenie ilości łysinek z rozcieńczeń zawierających nie mniej niż 30 pojedynczych łysinek, z co najmniej 3 powtórzeń.

2.5. Metody oznaczania wybranych parametrów fizyczno-chemicznych wody

Analizy parametrów fizyczno-chemicznych prowadzono w wodach dopływających oraz odpływających z reaktorów/mikrostatu, gdzie miała ona kontakt z badanymi polimerami, jak również w próbkach wody pobieranych w kontrolnych punktach wrocławskiej sieci wodociągowej.

Wykonywane oznaczenia:

- odczyn wody zgodnie z normą PN-C-04540-01:1990 z wykorzystaniem pH-metru CP – 315 firmy Elmetron [94],
- stężenie ogólnego węgla organicznego, wykonane aparatem TOC 500 Shimadzu
- stężenie azotu amonowego zgodnie z normą PN-C-04576-04:1994 [95],
- stężenie azotu azotynowego zgodnie z normą PN-C-04576-06:1973 [96],
- stężenie azotu azotanowego PN-C-04576-08:1982 [97],
- stężenie ortofosforanów zgodnie z normą PN-C-04537-04:1988 [99],
- stężenie chloru pozostałego PN-C-04600-03:1973 [100].

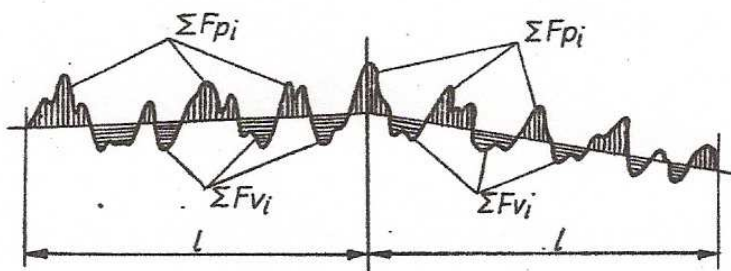
2.6. Pomiar tekstury powierzchni

Tekstura powierzchni została opisana przez szereg parametrów 3D z grupy I, będących ekstrapolacją znormalizowanych parametrów 2D opisujących parametry amplitudy. Wszystkie są definiowane na podstawie porównań wysokości/głębokości od średniej płaszczyzny powierzchni (płaszczyzna odniesienia - Ls) [101].

Do wyznaczenia wartości parametrów chropowatości istotny jest układ odniesienia jak również pola jednostek elementarnych będących jego składowymi.

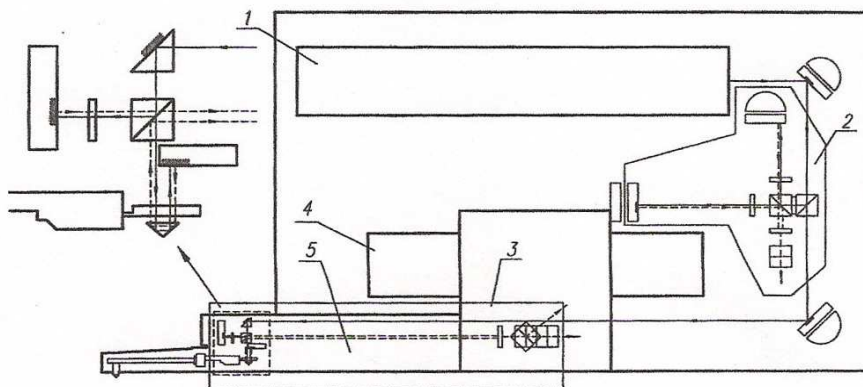
W badaniach zastosowano „płaszczyznę środkową”, która na jednostkach elementarnych posiada kierunek zgodny z profilem nominalnym i dzieli go tak, aby sumy pól zawartych pomiędzy tą linią a profilem po obu stronach były jednakowe. Na precyzję wyznaczenia płaszczyzny odniesienia istotny wpływ ma jej wielkość. Ilość błędów kształtu i falistości powierzchni wzrasta wraz z jej wielkością znacząco wpływając na położenie płaszczyzny odniesienia. W celu zmniejszenia błędu pomiaru powierzchnia była dzielona na jednostki elementarne i dla każdej z nich wyznaczano płaszczyznę odniesienia. Wielkość jednostek elementarnych jest znormalizowana i zależy od wartości wysokościowych parametrów chropowatości. Pomiar wykonywany

był na powierzchniach pomiarowych L będących wielokrotnością powierzchni elementarnych [85,98].

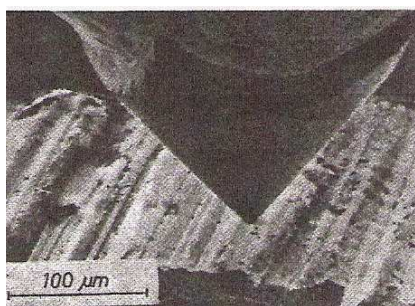


Rysunek 8. Zasada wyznaczania linii środkowej profilu [85]

Pomiaru dokonano metodą profilometrii stykowej klasyfikowanej, jako mechaniczny pomiar linowy wykorzystując przyrząd Form Talysurf – 120 L firmy Taylor Hobson (Rys. 8) z igłą stożkową. Kąt igły wynosił 90^0 tworząc stożek, promień zaokrąglenia wierzchołka $2 \mu\text{m}$, a nacisk igły na badany materiał wynosił $0,7 \text{ mN}$.



Rysunek 9. Mechanizm przesuwu i głowica pomiarowa przyrządu Form Talysurf: 1-laser, 2-interferometr mierzący przemieszczenia głowicy pomiarowej, 3-interferometr mierzący wychylenia końcówki pomiarowej, 4-baza pomiarowa, 5-końcówka pomiarowa [48]



Rysunek 10. Zdjęcie igły obserwowanej przy użyciu mikroskopu [85]

Tabela 2. Charakterystyka parametrów 3D

Nazwa parametru chropowatości	Symbol	Jednostka	Sposób obliczania
średnie arytmetyczne odchylenie od „płaszczyzny średniej”	Sa	μm	średnia arytmetyczna bezwzględnych wartości rzędnych wewnątrz powierzchni elementarnej $\frac{1}{NM} \sum_{x=0}^{N-1} \sum_{y=0}^{M-1} z_{x,y} $
średnie kwadratowe odchylenie profilu od „płaszczyzny średniej”	Sq	μm	średnia kwadratowa wartości rzędnych wewnątrz powierzchni elementarnej $\sqrt{\frac{1}{NM} \sum_{x=0}^{N-1} \sum_{y=0}^{M-1} z_{x,y}^2}$
skośność = współczynnik asymetrii profilu	Ssk	-	iloraz średniej wartości trzeciej potęgi rzędnych i trzeciej potęgi parametru Sq wewnątrz powierzchni elementarnej $\frac{1}{NMS_q^3} \sum_{x=0}^{N-1} \sum_{y=0}^{M-1} z_{x,y}^3$
kurtoza = współczynnik spłaszczenia profilu	Sku	-	iloraz średniej wartości czwartej potęgi rzędnych i trzeciej potęgi parametru Sq wewnątrz powierzchni elementarnej $\frac{1}{NMS_q^4} \sum_{x=0}^{N-1} \sum_{y=0}^{M-1} z_{x,y}^4$
wysokość największego wzniesienia profilu mierzonego od Ls	Sp	μm	średnia z maksymalnych wysokości wzniesień profilu na powierzchni pomiarowej w kolejnych powierzchniach elementarnych $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_{pi}$
głębokość największego wgłębienia profilu mierzonego od Ls	Sv	μm	średnia z maksymalnych głębokości wgłębień profilu na powierzchni pomiarowej na kolejnych powierzchniach elementarnych $\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_{vi}$
wysokość profilu chropowatości według 10 punktów	Sz	μm	średnia odległość pomiędzy 5 najwyższych i 5 najniższymi punktami profilu $\frac{1}{5} \left[\sum_{i=1}^5 S_{pi} + \sum_{i=1}^5 S_{vi} \right]$

Uzyskane wyniki przedstawione zostały również w postaci graficznej, poprzez obraz 3D oraz ilość i parametry wysp powstałych/zanikłych na odpowiedniej wysokości profilu.

2.7. Ocena struktury biofilmu oraz powierzchni badanych polimerów z wykorzystaniem elektronowego mikroskopu skaningowego (SEM)

Przy pomocy zdjęć z mikroskopu możliwe jest poznanie struktury powierzchni materiału, dlatego też mikroskopia elektronowa wykorzystywana jest również w materiałoznawstwie. Zastosowanie skaningowej czy konfokalnej mikroskopii

elektronowej ma na celu przedstawienie struktury przestrzennej biofilmu, gdyż odpowiednie przygotowanie próbki pozwala na obserwację błony bezpośrednio na materiale, na którym powstała, co nie zawsze jest możliwe w przypadku mikroskopów świetlnych.

Zdjęcia wykonywano mikroskopem skaningowym Leo Zeiss 435 Vp (Oberkohen). Materiał badawczy był utrwalany w 2,5 % aldehydzie glutarowym w buforze fosforanowym. Następnie był on odwadniany w temperaturze 5⁰C w szeregu alkoholowym od stężenia 25-100%. Po wysuszeniu, próbki umieszczano na stoliku SEM i napyłano złotem w napyłarce Scancoat 6 firmy Oxford. Wraz z zakończeniem napyłania rozpoczynano obserwację próbki w skaningowym mikroskopie elektronowym i wykonywano zdjęcia.

W celu dokładnej analizy zastosowano zróżnicowane powiększenia. Największe stosowano podczas obserwacji struktur przestrzennych nowych (niezasiedlonych przez drobnoustroje) powierzchni badanych materiałów. Mniejsze dla powstałych na nich błon biologicznych oraz zmian w wyniku ich obecności. Różnice te wynikały także z rodzaju obserwowanego materiału polimerowego oraz wielkości i bioróżnorodności powstałych na danym materiale obrostów mikrobiologicznych. W poniższej tabeli zestawiono zakresy stosowanych powiększeń w zależności od materiału, sposobu prowadzenia badań (laboratoryjny układ badawczy, mikrostac) oraz rodzaju obserwacji (powierzchnia materiału czy błona biologiczna).

Tabela 3. Powiększenia zastosowane w analizach z wykorzystaniem elektronowego mikroskopu skaningowego

laboratoryjny układ badawczy	polichlorek winylu	powierzchnia nowego polimeru	500x – 6000x
		błona biologiczna	2000x - 4000x
		powierzchnia polimeru po usunięciu biofilmu	500x – 2000x
	polietylen	powierzchnia nowego polimeru	500x – 6000x
		błona biologiczna	2000x – 4000x
		powierzchnia polimeru po usunięciu biofilmu	2000x – 3000x
	polipropylen	powierzchnia nowego polimeru	500x – 6000x
		błona biologiczna	2500x – 8000x
		powierzchnia polimeru po usunięciu biofilmu	1800x – 3500x
	polibutylen	powierzchnia nowego polimeru	500x – 6000x
		błona biologiczna	1000x – 4000x
		powierzchnia polimeru po usunięciu biofilmu	1800x
mikrostat	polichlorek winylu	powierzchnia nowego polimeru	500x – 6000x
		błona biologiczna	6000x
		powierzchnia polimeru po usunięciu biofilmu	2000x – 4000x
	polietylen	powierzchnia nowego polimeru	500x – 6000x
		błona biologiczna	2000x – 4000x
		powierzchnia polimeru po usunięciu biofilmu	2170x – 3000x

2.8. Stanowiska badawcze oraz procedury wykonania badań

Badania prowadzono na stanowiskach badawczych zlokalizowanych w laboratoriach Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej, w Zakładzie Uzdatniania Wody MPWiK „Na Grobli” we Wrocławiu oraz na sieci wodociągowej miasta Wrocław.

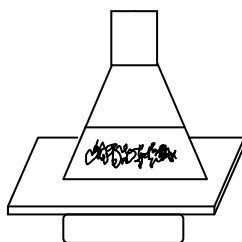
2.8.1. Hodowle statyczne

Badania prowadzono w dwóch kierunkach. Z jednej strony dokonywano oceny wpływu badanych polimerów na jakość mikrobiologiczną wody w aspekcie ich podatności na obrosty mikrobiologiczne. Z drugiej strony celem badań w warunkach hodowli statycznej była ocena podatności badanych polimerów na korozję mikrobiologiczną oraz badania wpływu obecności drobnoustrojów na materiały polimerowe stosowane do przesyłu wody zgodnie z normą PN EN ISO 846:2002 [103].

2.8.1.1. Ocena podatności na obrosty mikrobiologiczne materiałów syntetycznych

W celu wstępnej oceny podatności na obrosty mikrobiologiczne i przyrostu ich biomasy w skrajnych warunkach pokarmowych założono hodowlę statyczną drobnoustrojów. W badaniach wykorzystano wodę wodociągową pobraną z punktu czerpalnego wody zimnej zlokalizowanego na wrocławskiej sieci wodociągowej, która stanowiła źródło mikroorganizmów (kultura mieszana drobnoustrojów obecnych w wodzie wodociągowej) oraz substancji odżywczych (organicznych i nieorganicznych) dla obecnej w niej mikroflory bakteryjnej.

Materiał badawczy stanowiły próbki nowych rurociągów wykonanych z polichlorku winylu oraz polietylenu firmy InstalPlast Sp. z o.o. Próbki materiałów miały wymiary 25×50 mm i grubości 3 mm.



Rysunek 11. Schemat hodowli statycznej drobnoustrojów

Badania prowadzono w sterylnych kolbach stożkowych o pojemności 300 cm³ (Rys. 10). Do każdej z nich odmierzone po 150 cm³ wody wodociągowej i umieszczono próbki polimerów, w jednej polichlorek winylu, w drugiej polietylen. Przed rozpoczęciem badań materiały polimerowe sterylizowano. W celu zapewnienia właściwych warunków tlenowych w hodowli oraz równomiernego rozłożenia substancji odżywczych założone hodowle wytrząsano, na wytrząsarce oscylacyjnej KM2/500 firmy nMctua, w temperaturze pokojowej. Hodowlę prowadzono przez okres 42 dni. Przyrost liczby bakterii psychrofilnych i mezofilnych w wodzie kontrolowano w odstępach siedmiodniowych poprzez posiew wgłębny na podłożu agaru wzbogaconego.

2.8.1.2. Ocena korozji mikrobiologicznej

Oceny podatności na korozję mikrobiologiczną materiałów polimerowych dokonano w dwóch wariantach. Pierwszy z wykorzystaniem hodowanej (namnożonej) mieszaniny kultury bakterii pochodzących z wody wodociągowej. Drugi z muzealnym szczepem *Pseudomonas aeruginosa* (pkt. 2.3.2.).

2.8.1.2.1. Ocena zdolności korozyjnych bakterii wyizolowanych z wody wodociągowej

Do sterylnej kolby stożkowej o pojemności 500 cm³ z 200 cm³ podłoża minimalnego bez glukozy, wprowadzono 10 cm³ inokulum zawierającego 1×10⁴ jtk/cm³ mikroorganizmów. Następnie umieszczono sterylne próbki badanych materiałów: polichloroku winylu, polietylenu, polipropylenu oraz polibutylenu firmy Wavin Sp. z o.o. Polimery wykorzystane do badań stanowiły wycinki z nowych rurociągów o wielkości 25×20 mm i grubości 4 mm.

Hodowlę wytrząsano w temperaturze pokojowej przez okres 40 dni, na wytrząsarce oscylacyjnej z prędkością zapewniającą równomierne natlenienie oraz stężenie substancji odżywczych, w całej objętości hodowli. Po tym czasie próbki materiałów osuszono w temperaturze pokojowej i wykonano pomiary tekstury powierzchni w celu porównania ich z pomiarami wykonanymi przed inkubacją z zawiesiną bakterii.

2.8.1.2.2. Ocena podatności na korozję badanych materiałów na podstawie wzrostu bakterii *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388

W badaniach wykorzystano szczep bakterii *P. aeruginosa* ATCC 13388. Płytki polimerowe wielkości 30×60 mm i grubości około 1 mm (zmodyfikowano grubość płytek poprzez nagrzanie do temperatury topnienia odpowiedniej dla każdego polimeru a następnie sprasowanie) umieszczono na zaszczepionym bakteriami w ilości 5×10⁴ jtk/cm³ zestalonym podłożu mineralnym znajdującym się w szalce Petriego w ilości 20 cm³. Następnie powierzchnie płytek zalano tym samym podłożem z bakteriami w ilości około 10 cm³ tak, aby w całości pokryć powierzchnię danej próbki płytki.

Modyfikacji próbek dokonano w wykorzystaniem prasy LabTech LP-20B, z wcześniejszym rozgrzaniem wycinków nowych rurociągów do temperatury 200⁰C w przypadku PCV oraz 190⁰C dla PE, PP i PB.

Zawiesinę bakterii, podłoże mineralne oraz procedurę zaszczepienia prowadzono na podstawie Polskiej Normy dotyczącej oddziaływania drobnoustrojów na tworzywa sztuczne [103].

Przed poddaniem próbek materiałów tworzyw sztucznych działalności drobnoustrojów oraz po zakończeniu badań wykonano pomiary tekstury powierzchni (chropowatości) na urządzeniu Form Talysurf – 120 L firmy Taylor Hobson.

2.8.1.3. Ocena wpływu oddziaływania drobnoustrojów na tworzywa sztuczne (norma PN EN ISO 846:2002)

Ocenę wpływu drobnoustrojów na tworzywa sztuczne przeprowadzono zgodnie z normą PN EN ISO 846:2002 z wykorzystaniem bakterii *Pseudomonas aeruginosa* [103]. Celem tych badań było określenie wielkości zmian powstałych w strukturze materiału w wyniku działalności mikroorganizmów. Zastosowano test wagowy pozwalający na sprawdzenie ubytku masy materiału będącego efektem wykorzystania przez bakterie tworzywa (lub jego komponentów) w procesach życiowych.

Bakterie *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388 posiano na skosach z agaru odżywczego z dodatkiem mózgu oraz serca firmy Biocorp i inkubowano w temperaturze 30⁰C przez 24h. Po tym okresie skosy zalewano 10 cm³ bulionu odżywczego z dodatkiem mózgu i serca również firmy Biocorp, a następnie bulion wraz z bakteriami przenoszono do sterylnej próbki. Bakterie ponownie inkubowano w temperaturze 30⁰C przez 24h. Po tym czasie przeniesiono 0,1 cm³ bulionu do 10 cm³ buforu fosforanowego i metodą turbidimetryczną przy długości fali 650 nm określono liczebność bakterii w roztworze.

W badaniu stosowano podłoże mineralne, stanowiące jedynie źródło mikroelementów dla bakterii wymuszając w ten sposób wykorzystanie węgla organicznego wchodzącego w skład badanego materiału polimerowego. Bakterie *Pseudomonas aeruginosa* należą do bakterii heterotroficznych i do wzrostu niezbędne są dla nich związki organiczne, gdyż nie posiadają zdolności wytwarzania ich z substancji nieorganicznych [63,114].

W badaniu wykorzystano próbki materiałów o wymiarach 30×30 mm i grubości około 0,5 mm. W tym celu wycinki nowych rurociągów wykonanych z polichlorku winylu, polietylenu, polipropylenu oraz polibutylenu rozgrzano do temperatury 200⁰C w przypadku PCV oraz 190⁰C dla PE, PP i PB i sprasowano do odpowiedniej grubości na prasie LabTech LP-20B.

Z każdego materiału polimerowego utworzono trzy serie, w każdej po 6 próbek.

- partia 0: próbki kontrolne, przechowywane w znormalizowanej temperaturze i wilgotności względnej

- partia I: próbki zaszczerpione mikroorganizmami i inkubowane

- partia S: próbki sterylne, przechowywane w tych samych warunkach, co partia I

Próbki tworzyw sztucznych sterylizowano w mieszaninie etylenu i wody destylowanej w proporcjach wagowych 70:30, a następnie suszono je przez 4h w temperaturze 45⁰C w celu uzyskania stałej masy. Próbki ważono z dokładnością do 0,0001 na wadze Explorer Pro firmy Ohaus.

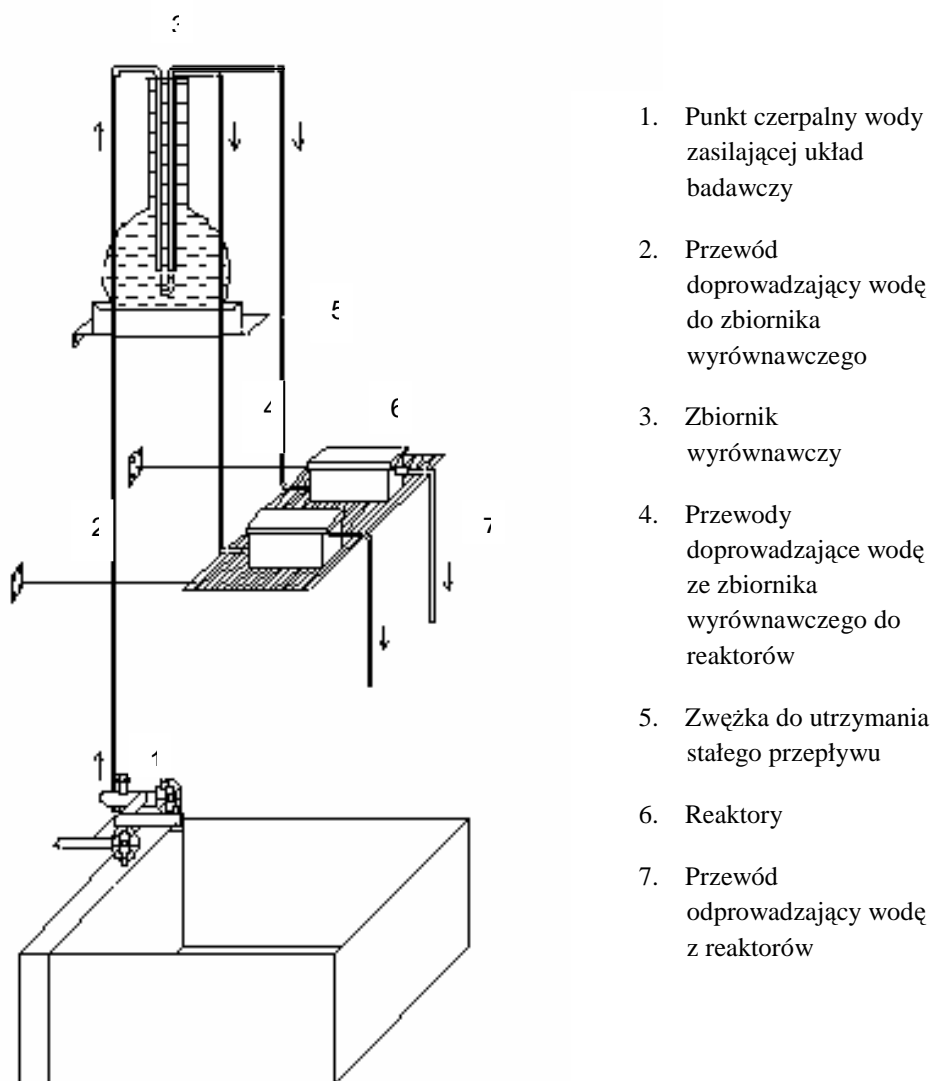
Szalki Petriego napełniano podłożem mineralnym do wysokości około 4-5 mm, następnie na powierzchni podłoża kładziono płytkę polimerową i zalewano je podłożem.

2.8.2. Badania w układach przepływowych

W celu oceny wpływu rozwijającego się biofilmu, na jakość wody skonstruowano dwa stanowiska badawcze. Pierwsze w małej skali umieszczone były w laboratorium Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej. Drugie w skali półtechnicznej zamontowano w Zakładzie MPWiK „Na Grobli” we Wrocławiu.

2.8.2.1. Badania rozwoju biofilmu w układzie badawczym zasilanym wodą wodociągową z punktu czerpalnego

Laboratoryjny układ badawczy zasilany był wodą wodociągową pobieraną z punktu czerpalnego wody zimnej zlokalizowanego na wrocławskiej sieci wodociągowej (Rys 11).

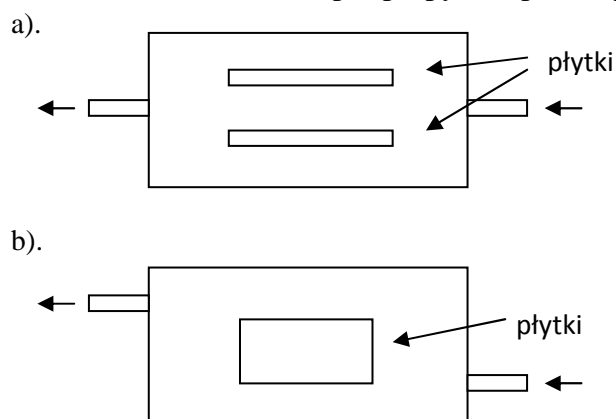


Rysunek 12. Schemat układu badawczego w Instytucie Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej

Woda z punktu czerpalnego doprowadzana była do zbiornika wyrównawczego (szklana kolba o pojemności 5 dm³ osłonięta przed światłem), skąd grawitacyjnie

spływała do reaktorów. Na przewodach zasilających reaktory umieszczono zwięzki utrzymujące stały przepływ z prędkością 0,2 m/s. Pomimo, że w przewodach wodociągowych dla średnic do 300 mm wymagana prędkość przepływu wynosi 0,5-0,8 m/s [28], w przeprowadzonych badaniach prędkość przepływu zmniejszono do 0,2 m/s stymulując procesy stagnacyjne. Zjawisko stagnacji wody często występujące w sieciach wodociągowych, co znacząco wpływa, na jakość przesyłanej wody, gdyż intensyfikuje ono przyrost drobnoustrojów w wodzie i rozwój błony biologicznej na powierzchni rurociągów. Zgodnie z informacją ustną uzyskaną w Zakładzie MPWiK we Wrocławiu na sieci wodociągowej istnieją odcinki, gdzie prędkość przepływu wody nie przekracza 0,1 m/s.

Reaktory o wielkości 40×80×50 mm wykonano ze stali nierdzewnej. W reaktorach umieszczano po dwie próbki z każdego materiału zamocowane równoległe do przepływu wody. Wielkości płytek dobrano tak, aby całkowite powierzchnie każdej z nich wynosiły ok. 26 cm². Wymiary próbek polichloroku winylu i polietylenu wynosiły 25×50×3 mm, natomiast polipropylen i polibutylen o wielkości 35×30×4 mm.



Rysunek 13. Schemat reaktora z góry (a) oraz z boku (b)

Układ pracował od stycznia do czerwca 2007 roku z próbkami polipropylenu i polibutyleny firmy Wavin Sp. z o.o., następnie układ został zdemontowany, oczyszczony i wysterylizowany i od stycznia do czerwca 2008 roku prowadzono badania z polichlorkiem winylu i polietylenem firmy InstalPlast Łask Sp. z o.o.

Próbki wody do badań pobierano do sterylnych szklanych butelek zamykanych korkiem z tworzywa sztucznego w objętości 500 cm³ w punkcie poboru wody oraz po reaktorach zawierających próbki badanych materiałów polimerowych. W próbkach wody pobieranych w odstępach około 3-4 dobowych z dopływów i odpływów reaktorów wykonywano analizy wybranych fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych (pH, OWO, azot amonowy, azot azotynowy, azot azotanowy, ortofosforany) oraz mikrobiologicznych (ogólna liczba bakterii psychrofilnych i mezofilnych na agarowym podłożu wzbogaconym).

Po zakończonych badaniach z każdego badanego materiału jedną z próbek poddawano analizie mikroskopowej z wykorzystaniem elektronowego mikroskopu skaningowego w celu określenia wielkości błony biologicznej, struktury przestrzennej oraz bioróżnorodności. Druga próbka polimeru była oczyszczana metodą ultradźwięków, uwalniając do roztworu fizjologicznego drobnoustroje z powierzchni tworzywa.

Z uzyskanej zawiesiny drobnoustrojów wykonywano analizy ilościowe i jakościowe mikroflory zasiedlającej dany materiał.

Do oceny wpływu drobnoustrojów błony biologicznej na badane tworzywa polimerowe wykorzystano zdjęcia mikroskopowe próbek nowych rurociągów oraz oczyszczonych z biofilmu.

2.8.2.2. Badania rozwoju biofilmu w układzie badawczym zasilanym uzdatnioną niedezynfekowaną wodą wodociągową

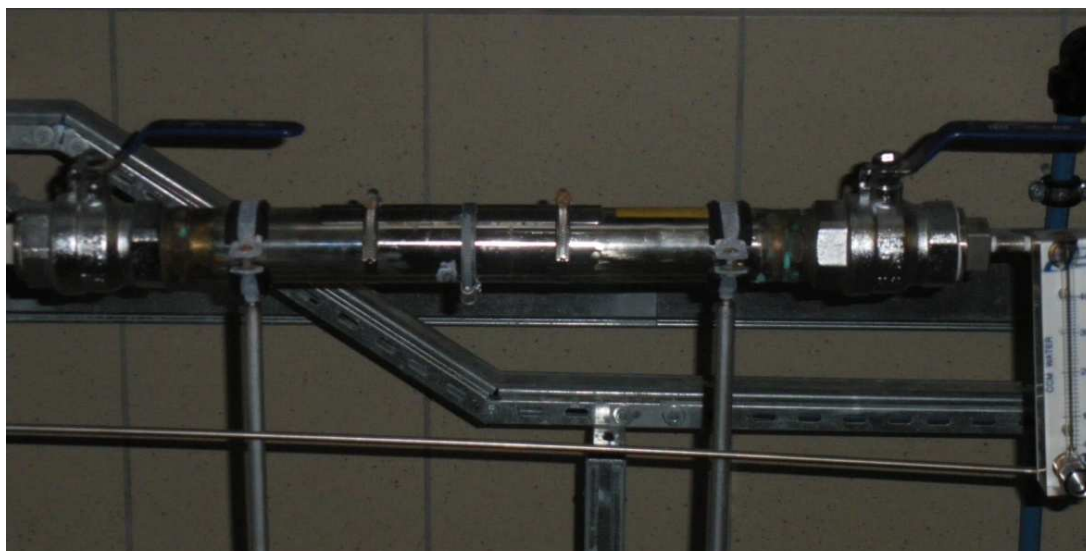
W badaniach prowadzonych na wodzie uzdatnianej, w zakładzie MPWiK przy ul. Na Grobli, przed procesem dezynfekcji wykorzystano specjalnie zaprojektowany w tym celu mikrostat. Urządzenie to miało na celu utrzymanie warunków hydraulicznych zbliżonych do panujących w sieci wodociągowej. Przed mikrostatem zamontowano rotametr CCM Water firmy Parmer, w celu utrzymania stałego przepływu wody, z prędkością 0,2 m/s.

W mikrostatcie umieszczone były kolejno płytki polietylenu oraz polichlorku winylu firmy InstalPlast o wymiarach 25×30 mm oraz grubości 3 mm każda przez okres około 140 dni. Badane materiały ustawione były wzdłuż przepływu wody.

a).

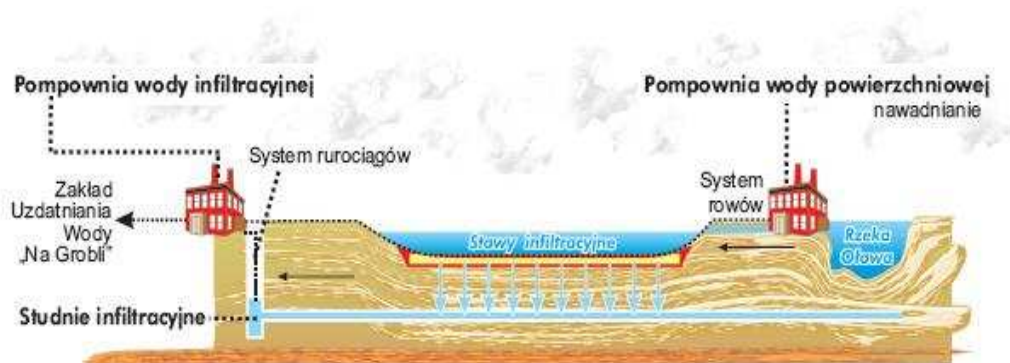


b).

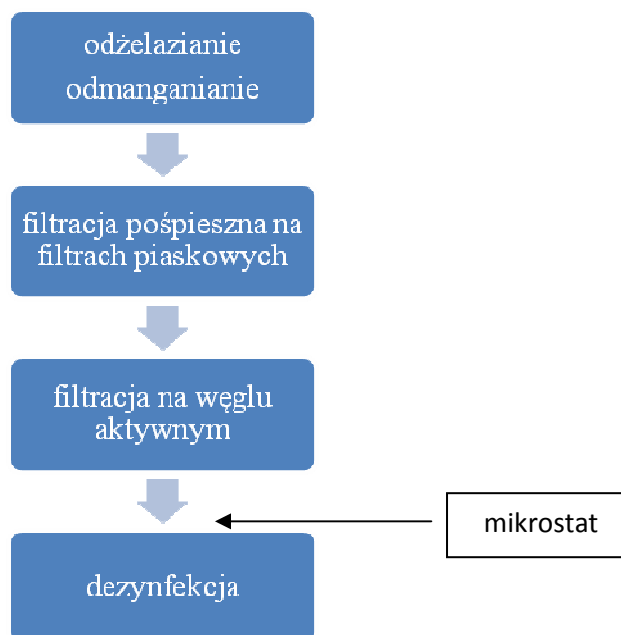


Rysunek 14. Zdjęcie stanowiska badawczego (a) oraz mikrostatu (b)

W zakładzie MPWiK przy ul. Na Grobli we Wrocławiu uzdatniana jest woda infiltracyjna pobierana z rzeki Oławy i wstępnie oczyszczana na terenach wodonośnych. Stanowią one 1026 hektarów łąk i stawów położonych około 6 km od centrum miasta. Woda przebywa w gruncie kilka tygodni, gdzie zachodzą procesy biologiczne, chemiczne i fizyczne poprawiających jej jakość, następnie z rowów infiltracyjnych pobierana jest przez 558 studni poborowych i rurociągami transportowana do zakładu MPWiK „Na Grobli” [81].



Rysunek 15. Schemat systemu infiltracji wody na terenach wodonośnych [81]



Rysunek 16. Schemat układu technologicznego oraz miejsce zainstalowania mikrostatu [81]

Próbki wody do badań w objętości około 900 cm³ pobierano na dopływie i odpływie z mikrostatu, z wykorzystaniem odpowiednich zaworów. Wody pobierano do sterylnych, szklanych, litrowych butelek z korkiem z tworzywa sztucznego. Bezpośrednio po pobraniu, próbki wody były transportowane do laboratorium, gdzie wykonywano odpowiednie analizy. Pobór prób odbywał się sterylnie w odstępach około 3-4 dób. W okresie badań kontrolę jakości wody prowadzono w oparciu o analizy mikrobiologiczne (liczba bakterii inkubowanych w temp. 22 ± 2⁰C oraz 37 ± 2⁰C, podłoża: agar wzbogacony, R2A) i wybrane parametry fizyczno-chemiczne (pH, OWO, azot: amonowy, azotynowy, azotanowy, ortofosforany).

Po zakończeniu badań wykonano zdjęcia błony biologicznej, która rozwinęła się na badanych materiałach elektronowym mikroskopem skaningowym oraz dokonano oceny ilościowej i jakościowej drobnoustrojów biofilmów.

2.8.3. Badanie w warunkach rzeczywistych - sieć wodociągowa

Dla celów porównawczych wykonano badania jakościowe i mikrobiologiczne wody tłocznej do sieci oraz w wybranych punktach kontrolnych, biorąc pod uwagę odległość od zakładu uzdatniania oraz wiek i rodzaj materiału, z którego wykonany był rurociąg.

2.8.3.1. Określenie zmian jakości wody w systemie dystrybucji podczas jej przesyłu

Uzyskane z MPWiK dane dotyczące wrocławskiej sieci wodociągowej wykorzystano przy wyborze punktów czerpalnych do poboru próbek wody. Wybranych zostało osiem punktów poboru, które zweryfikowano na podstawie odległości od zakładu uzdatniania, zróżnicowania materiałów, z jakich wykonane są kolektory i przyłącza oraz wieku rurociągów.

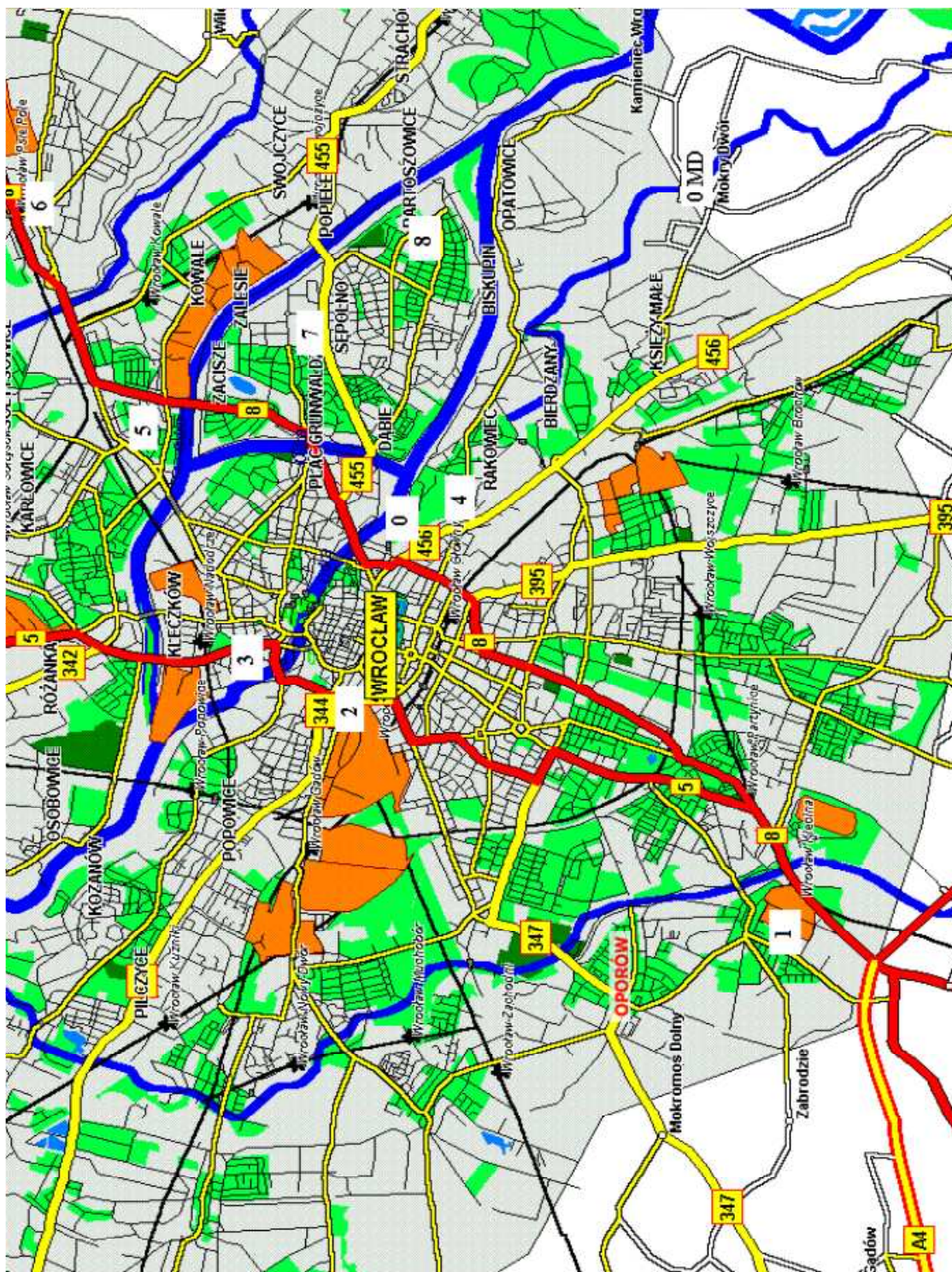
Tabela 4. Punkty poboru wody na wrocławskiej sieci wodociągowej [81]

Lp.	Ulica	Przyłącze (materiał, wiek)	Kolektor (materiał, wiek)
1	Czekoladowa	PEHD, 2001	Stal, 1930
2	Ziemowita	PEHD, 2004	PE, 2003
3	Trzebnicka	Stal, 1992	Żeliwo, 1988
4	Traugutta	Żeliwo, 1976	PEHD, 1996
5	Brüknera	PEHD, 1993	Żeliwo cementowane, 1930/1992 (renowacja)
6	Krzywoustego	PEHD, 1996	Żeliwo, 1930
7	Mickiewicza	PEHD, 2000	Żeliwo, 1928
8	Bacciarellego	PEHD, 1999	Żeliwo, 1974

Wodę pobierano również na wyjściu z ciągu technologicznego oczyszczania, zanim została ona poddana procesowi dezynfekcji. Pobór wykonywano w zakładzie uzdatniania wody we Wrocławiu „Na Grobli”.

W wybranych punktach czerpalnych na wrocławskiej sieci wodociągowej pobierano próbki wody. Pobierano sterylnie około 900 cm³ wody do sterylnych, szklanych butelek z korkiem z tworzywa sztucznego. Następnie ochraniano je przed światłem (z uwagi na obecny w wodzie chlor oraz mikroorganizmy) i transportowano w temperaturze + 4⁰C do laboratorium, w którym wykonywane były badania mikrobiologiczne oraz fizyczno-chemiczne. Próbki wody do badań pobrano siedem razy w okresie od marca do maja 2008.

W wodzie oznaczano: pH, OWO, azot amonowy, azot azotynowy, azot azotanowy, ortofosforany, chlor pozostały, jak również liczbę bakterii psychrofilnych oraz mezofilnych.



Rysunek 17. Lokalizacja zakładu uzdatniania wody przy ul. Na Grobli (0) i Mokry Dwór (0 MD) oraz punktów poboru wody (1-8) na mapie Wrocławia

2.8.3.2. Określenie wrażliwości wyizolowanych z wody wodociągowej różnych form morfologicznych bakterii na chemiczne środki dezynfekcyjne

Badania dotyczące wrażliwości bakterii wody wodociągowej na proces dezynfekcji prowadzono w laboratorium mikrobiologicznym Instytutu Inżynierii Ochrony Środowiska.

W badaniach wykorzystano wyizolowane trzy formy morfologiczne bakterii tj. laseczki, pałeczki, ziarniaki oraz mieszaną kulturę bakterii uzyskaną z filtracji wody wodociągowej na filtrze celulozowym 0,2 μm . Wyizolowane bakterie namnożono na pożywkach mikrobiologicznych poprzez posiew powierzchniowy a następnie wykonywano zmyw z powierzchni płytki do roztworu fizjologicznego. Uzyskanymi zawiesinami zaszczepiano sterylną wodę uzdatnioną w ilości 1 cm^3 , którego celem było określenie wpływu rodzaju i dawki stosowanych do dezynfekcji substancji chemicznych, na poszczególne formy morfologiczne bakterii wodnych. Do określenia liczby bakterii wykonywano rozcieńczenia oraz posiewy powierzchniowe na agarowym podłożu wzbogaconym.

Do dezynfekcji wykorzystano podchloryn sodu oraz ditlenek chloru, gdyż są to substancje najczęściej stosowane w procesie dezynfekcji wody. Badania prowadzono na wodzie uzdatnionej wyprodukowanej w zakładzie MPWiK „Na Grobli”, pobieranej po ostatnim etapie oczyszczania, na filtrach węglowych. Przed przystąpieniem do badań wodę sterylizowano, w celu zabicia drobnoustrojów obecnych w wodzie.

W celu określenia skuteczności procesu dezynfekcji kontrolowano zmiany liczebności bakterii. Przed i po wprowadzeniu do zawiesiny bakterii w wodzie uzdatnionej chemicznego środka dezynfekcyjnego wykonywano posiewy mikrobiologiczne.

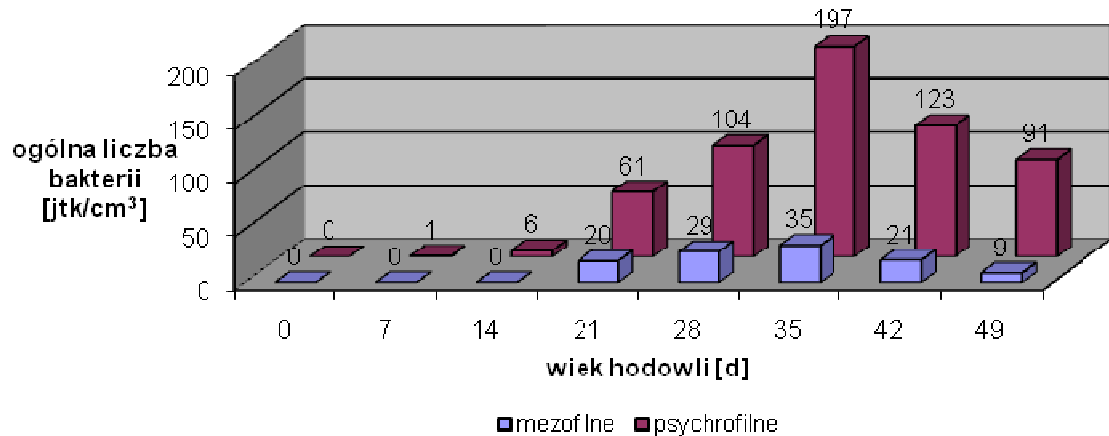
Zastosowane dawki podchlorynu sodu oraz ditlenku chloru dobrane zostały doświadczalnie na podstawie zużycia chloru w ciągu 30 minut. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia stężenie chloru wolnego w wodzie przeznaczonej do picia nie powinno przekraczać 0,3 cm^3/dm^3 [110].

3. Omówienie wyników badań

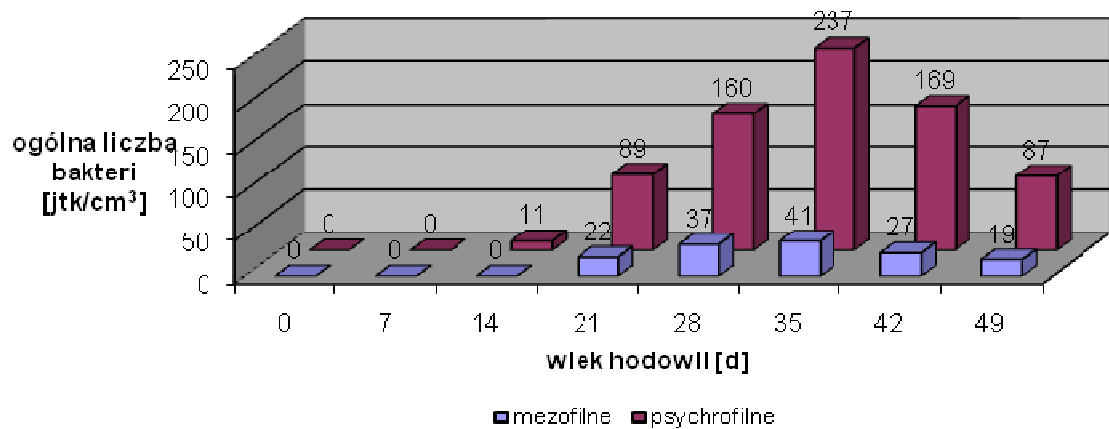
3.1. Rezultaty badań w hodowlach statycznych

3.1.1. Ocena podatności na obrosty mikrobiologiczne materiałów syntetycznych (badania wstępne)

Aby wykazać możliwość wykorzystywania przez bakterie obecne w wodzie wodociągowej badanych tworzyw sztucznych (PCV, PE) jako źródła węgla i energii umieszczono płytki o wymiarach 25 × 50 mm w wodzie pobranej z punktu czerpalnego zlokalizowanego na wrocławskiej sieci wodociągowej. Hodowlę prowadzono w temperaturze pokojowej z mieszaniem przez 49 dni analizując raz w tygodniu przyrost liczby bakterii psychrofilnych i mezofilnych w hodowli.



Rysunek 18. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych i psychrofilnych w hodowli z PCV

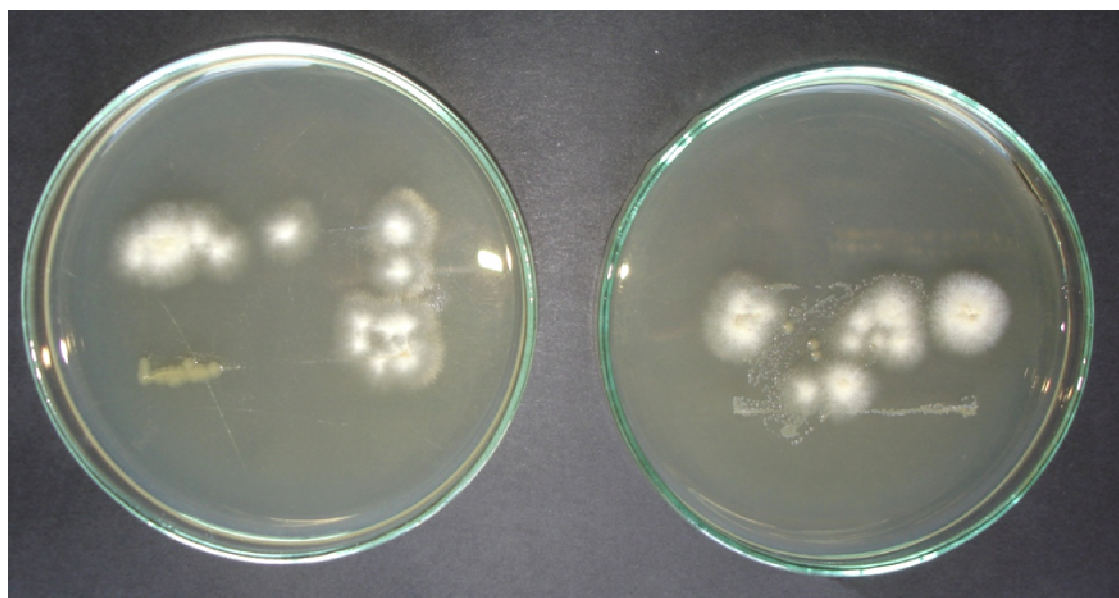


Rysunek 19. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych i psychrofilnych w hodowli z PE

W początkowych dniach hodowli zastosowaną metodą pośrednią nie udało się wykryć obecności drobnoustrojów, co wynikało prawdopodobnie ze zbyt małej ich liczebności oraz zbyt krótkiego okresu adaptacji. W miarę wydłużania się czasu inkubacji zaobserwowano w pierwszej kolejności policzalne ilości bakterii psychrofilnych, które w 14 dobie wynosiły 6 jtk/cm³ dla hodowli z polichlorkiem winylu oraz 11 jtk/cm³ dla hodowli z polietylenem. Bakterie mezofilne wykryto dopiero w 21 dobie a ich ilość nie przekroczyła 22 jtk/cm³ (20 jtk/cm³ - PCV, 22 jtk/cm³ - PE). Od trzeciego tygodnia obserwowano stopniowy przyrost liczby drobnoustrojów w hodowli, co wskazywało na istnienie wystarczających warunków pokarmowych do ich rozwoju. Maksymalna liczebność bakterii wystąpiła po pięciu tygodniach inkubacji (psychrofilnych do 237 jtk/cm³, a mezofilnych do 41 jtk/cm³). Zaobserwowano znaczny przyrost mikroorganizmów psychrofilnych sięgający w przypadku polichlorku winylu 30-krotnego zwiększenia w okresie największego wzrostu (35 doba) w stosunku do 14 doby, kiedy to po raz pierwszy wyznaczono ich obecność oraz 20-krotnej dla polietyleny. Również w przypadku mikroorganizmów mezofilnych obserwowano przyrost, do 35 jtk/cm³ dla hodowli z PCV (co stanowiło 75% przyrost) oraz 41 jtk/cm³ z PE (86% przyrost). W czasie badań w hodowlach z polimerami, trwającego od 14 do 35 doby ilość bakterii psychrofilnych mieściła się w zakresie 6-197 jtk/cm³ (do w przypadku hodowli z polichlorkiem winylu oraz 11-237 jtk/cm³ z polietylenem). Natomiast bakterie

mezofilne to 20-35 jtk/cm³ dla hodowli z polichlorkiem winylu oraz 22-41 jtk/cm³ dla polietylenu, co stanowiło wartości dopuszczalne (< 50 jtk/cm³) [110].

Po 35. dobie inkubacji następowało stopniowe zmniejszanie się liczby drobnoustrojów w hodowlach spowodowanych procesami życiowymi drobnoustrojów. W czterdziestej drugiej dobie liczba psychrofilnych bakterii dla polichlorku winylu wynosiła 123 jtk/cm³, natomiast dla polietylenu 169 jtk/cm³. Stanowiło to spadek o 37,6 % w stosunku do wartości maksymalnej (35 d) w przypadku hodowli z polichlorkiem winylu oraz 28,7 % z polietylenem. Kolejny pomiar wykonany w siódmym tygodniu prowadzenia badań wykazał, dalszy spadek do wartości 91 jtk/cm³ dla PCV (kolejne 16,2 %) oraz 87 dla PE (kolejne 34,6 %). Spadek liczebności zaobserwowano również w przypadku bakterii mezofilnych. W ciągu dwóch ostatnich tygodni badań ilość bakterii mezofilnych spadła z 35 do 9 jtk/cm³ (spadek o 74,3 %) w przypadku hodowli z PCV oraz z 41 do 19 jtk/cm³ (53,7 %) z PE.



Rysunek 20. Zdjęcie odcisków płytek PCV (z lewej) z PE (z prawej)

Przebieg krzywej wzrostu bakterii był charakterystyczny dla rozwoju bakterii w hodowli statycznej [114].

Zaobserwowany rozwój bakterii w wodzie wodociągowej w obecności badanych polimerów syntetycznych wykazał, że w tych warunkach prawdopodobne było ich osiadanie i tworzenie obrostów mikrobiologicznych.

Po zakończeniu badań wykonano odcisk płytek na wzbogaconym podłożu agarowym, na poniższym zdjęciu przedstawiono wyniki uzyskane dla inkubacji w temperaturze 22 ± 2 °C przez 72 h. Jak widać obok koloni bakterii na podłożu wyrosły również kolonie grzybów.

Zaobserwowany przyrost liczby bakterii pozwolił przypuszczać, że z umieszczonych w wodzie wodociągowej płytek tworzyw sztucznych uwalniane były związki stanowiące źródło węgla i energii dla drobnoustrojów. Wykonane odciski i uzyskany wzrost mikroorganizmów wskazywały na fakt tworzenia się na powierzchni płytek obrostów biologicznych.

Ta wstępna ocenę stanowiła podstawę do sformułowania tezy pracy i podjęcia dalszych badań.

3.1.2. Ocena korozji mikrobiologicznej

3.1.2.1. Ocena zdolności korozyjnych bakterii wyizolowanych z wody wodociągowej

Badania oceny korozji pod wpływem działalności metabolicznej drobnoustrojów obecnych w wodzie wodociągowej określono na podstawie zmian chropowatości materiałów.

W celu obserwacji zmian powierzchni badanych materiałów polimerowych umieszczono próbki o wymiarach 25×20 mm i grubości 4 mm w 200 cm³ podłoża minimalnego zaszczeponego 10 cm³ inokulum zawierającego 1×10⁴ jtk/cm³ bakterii (przygotowanie inokulum punkt 2.3.1.). Hodowlę prowadzono przez okres 40 dni w temperaturze pokojowej na wytrząsarce oscylacyjnej. Po zakończeniu ekspozycji na bakterie wyizolowane z wody wodociągowej powstałe na powierzchniach badanych polimerów błony biologiczne usuwano metodą ultradźwięków. Następnie metodami hodowlanymi z wykorzystaniem agaru wzbogaconego określano liczbę bakterii psychrofilnych i mezofilnych osiadłych na powierzchniach poszczególnych materiałów polimerowych. Uzyskane wyniki zestawiono w tabeli nr 5.

Tabela 5. Liczba osiadłych na podłożu bakterii przypadająca na jednostkę powierzchni

	PCV	PE	PP	PB
liczba bakterii psychrofilnych [jkt/cm ²]	28×10 ³	16×10 ⁴	14×10 ⁴	15×10 ⁴
liczba bakterii mezofilnych [jtk/cm ²]	12×10 ³	6×10 ³	4×10 ³	10×10 ³

Materiałem charakteryzującym się najmniejszym stopniem zasiedlenia przez drobnoustroje okazał się polichlorek winylu, na którego 1 cm² osiadło 40×10³, podczas gdy na pozostałych materiałach ich ilości były znacznie większe. Dla pozostałych materiałów, a mianowicie polietylenu, polipropylenu oraz polibutylenu uzyskano podobne wyniki w zakresie 14×10⁴ - 16×10⁴ jtk/cm². Powstałe na polimerach błony biologiczne charakteryzowały się znacznym udziałem bakterii psychrofilnych, jedynie na polichloroku winylu ilości psychro- i mezofilnych bakterii były porównywalne.

Po usunięciu z materiałów syntetycznych (PCV, PE, PP i PB) biofilmu próbki poddano analizie zmian tekstury powierzchni a uzyskane wyniki porównano z wynikami analiz wykonanych przed inkubacją polimerów z inokulum bakterii wodociągowych.

Tabela 6. Parametry chropowatości PCV przed i po ekspozycji na mikroorganizmy

Parametr chropowatości	Jednostka	Nowy rurociąg	Po kontakcie z mikroflorą wodociągową	Wielkość zmian [%]
Sa	μm	1,56	1,62	3,8
Sq	μm	1,91	1,96	2,6
Ssk	-	0,760	0,24	- 68,4
Sku	-	2,89	2,51	- 13,1
Sp	μm	6,48	6,74	4,0
Sv	μm	4,86	5,01	3,1
Sz	μm	11,3	11,8	0,4

Tabela 7. Parametry chropowatości PE przed i po ekspozycji na mikroorganizmy

Parametr chropowatości	Jednostka	Nowy rurociąg	Po kontakcie z mikroflorą wodociągową	Wielkość zmian [%]
Sa	μm	1,34	1,17	- 11,2
Sq	μm	1,65	1,44	- 12,7
Ssk	-	0,14	0,05	- 68,6
Sku	-	2,66	2,69	1,1
Sp	μm	5,68	4,54	- 20,1
Sv	μm	5,06	4,42	- 12,6
Sz	μm	10,7	8,96	- 16,3

Tabela 8. Parametry chropowatości PP przed i po ekspozycji na mikroorganizmy

Parametr chropowatości	Jednostka	Nowy rurociąg	Po kontakcie z mikroflorą wodociągową	Wielkość zmian [%]
Sa	μm	1,15	1,16	0,9
Sq	μm	1,47	1,49	1,4
Ssk	-	0,10	0,05	- 50,0
Sku	-	3,29	3,40	3,3
Sp	μm	5,80	5,12	- 11,7
Sv	μm	6,12	5,16	- 15,7
Sz	μm	11,9	10,3	- 13,4

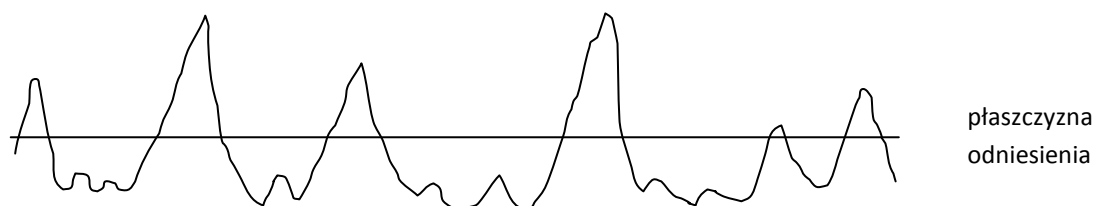
Tabela 9. Parametry chropowatości PB przed i po ekspozycji na mikroorganizmy

Parametr chropowatości	Jednostka	Nowy rurociąg	Po kontakcie z mikroflorą wodociągową	Wielkość zmian [%]
Sa	μm	0,80	0,82	3,4
Sq	μm	1,01	1,02	1,0
Ssk	-	0,33	0,05	- 85,2
Sku	-	3,17	2,94	- 7,3
Sp	μm	3,33	3,76	12,9
Sv	μm	5,10	5,19	1,8
Sz	μm	8,43	8,94	6,0

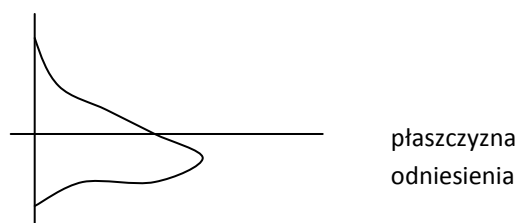
Dodatnie wartości parametru skośności powierzchni (S_{SK}) dowodzą, że wszystkie badane polimery wykazują chropowatość powierzchni charakteryzującą się dużymi wysokościami szczytów oraz znacznie mniejszymi głębokościami wgłębień (Rys. 21). Największą skośność stwierdzono dla polichlorku winylu 0,76, co świadczy o mniejszej symetrii profilu względem płaszczyzny odniesienia, co potwierdzają wartości kurtozy 2,89 ($< 3,0$) opisujące stopień „rozmycia” rozkładu rzędnych profilu względem płaszczyzny średniej (częstotliwość występowania wierzchołków).

Polietylen charakteryzował się mniejszą skośnością (0,14) jednak wartość kurtozy utrzymywała się poniżej 3,0. Najmniejszą asymetrią rzędnych charakteryzował się polipropylen jednak współczynnik spłaszczenia profilu wynosił 3,29 ($> 3,0$). W przypadku polibutylenu skośność wynosiła 0,33 natomiast kurtoza 3,17. Niska wartość asymetrii rzędnych oraz wysoki współczynnik spłaszczenia powoduje, że jest to materiał o największej chropowatości powierzchni.

a).



b).



Rysunek 21. Schemat powierzchni polimerów (a) oraz rozkład rzędnych profilu względem powierzchni odniesienia – skośność (b)

Zmniejszenie skośności świadczy o obniżeniu wysokości szczytów chropowatości powierzchni, a tym samym jej wygładzeniu. Największy ubytek skośności zaobserwowano w przypadku polibutylenu (85,2 %) przy jednoczesnym spadku kurtozy o 7,3 %. Współczynnik asymetrii profilu PCV i PE zmalał ok. 70% przy czym dla polichlorku winylu kurtoza zmalała o 13,1 % podczas gdy w przypadku polietylenu, wzrosła o 1,1 % (wartość ta mieści się w granicy błędu pomiaru). Natomiast S_{SK} polipropylenu zmalało 50,0 %, a S_{KU} wzrosło o 3,3 %. Wzrost wysokości najwyższego szczytu (S_P) i głębokości największego wgłębienia (S_V) zaobserwowano w przypadku polimerów chlorku winylu i butylenu. Dla PCV S_P wzrosło o 0,26 μm (4 %), natomiast S_V o 0,17 μm (3,1 %). W przypadku polibutylenu odnotowano 12,9 % wzrost S_P co stanowiło 0,43 μm , znacznie mniejsze zmiany, poniżej 2 % uzyskano dla S_V (0,09 μm) i jest to wynik mieszczący się w granicy błędu. Zmniejszenie największego szczytu oraz pogłębienie najgłębszej „doliny,, stwierdzono dla polietylenu (S_P mniejsze o 1,14 μm – 20,1 %, S_V mniejsze o 0,64 μm – 12,6 %) i polipropylenu (S_P mniejsze o 0,68 μm – 11,7 %, S_V mniejsze o 0,96 μm – 15,7 %).

Różnice średniego arytmetycznego odchylenia od profilu przed i po ekspozycji materiałów na mikroorganizmy obecne w wodzie wodociągowej i tworzące na powierzchni tworzyw biofilm są nieznaczne 0,01 - 0,17 μm . Zaobserwowano, że dla polichlorku winylu i polibutylenu wartość tego parametru wzrosła, co wiąże się z większym zróżnicowaniem

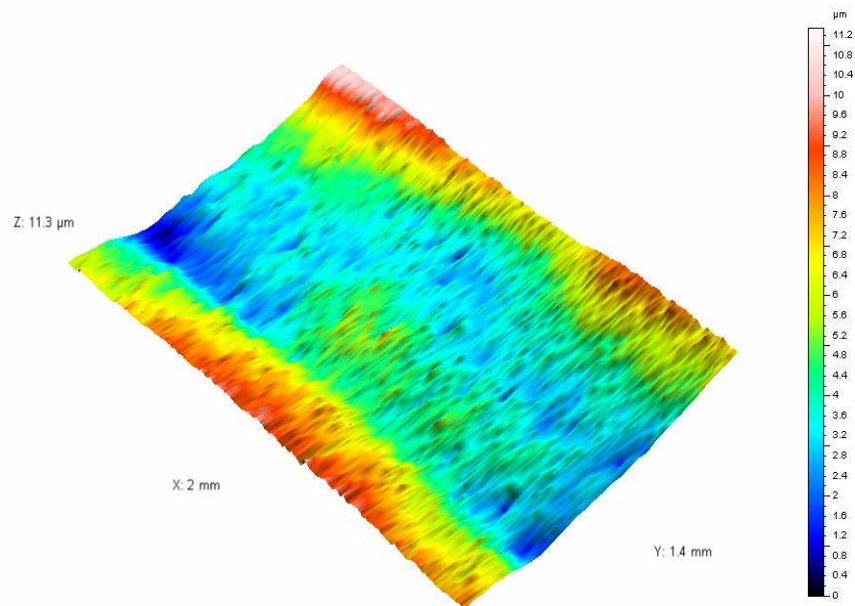
powierzchni poprzez ubytki w materiale w efekcie korozji mikrobiologicznej, zmiany są jednak nieznaczne i mieszczą się w granicy błędu pomiaru. W przypadku polipropylenu nie stwierdzono istotnych zmian. Największą różnicę zaobserwowano dla próbki polietylenu, ponieważ wartość parametru S_a zmalała z $1,34\mu\text{m}$ do $1,17\mu\text{m}$ czyli ponad 11 %, podczas gdy wartości tego parametru dla innych materiałów wzrosły w zakresie 0,9 - 3,8 %. Istotne jest, że w przypadku PE nastąpiło zmniejszenie odchyień od wartości średniej co wiąże się z wygładzeniem powierzchni materiału.

Parametry tekstury powierzchni są uśrednionymi wartościami liczbowymi, w przypadku „chropowatości losowej” na ich wartości istotny wpływ ma wielkość badanej próbki tworzywa.

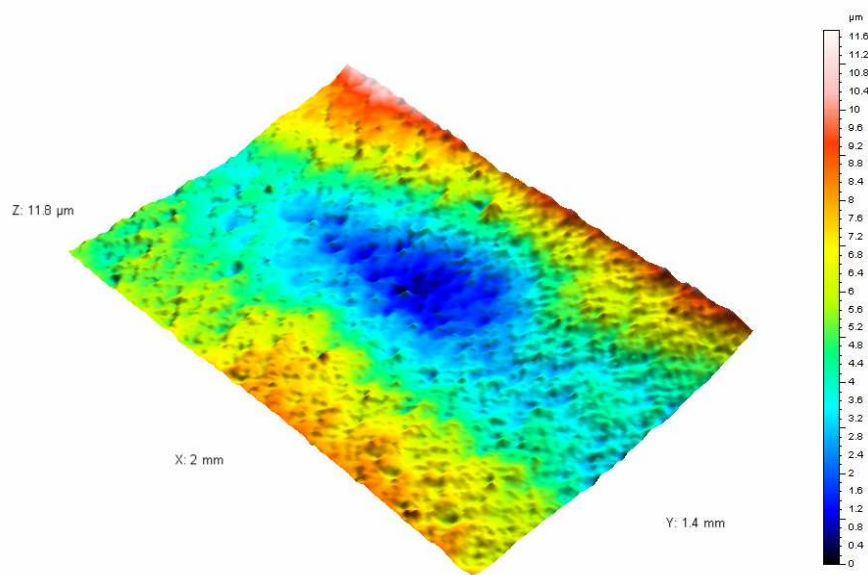
Wykorzystując pomiar 3D graficznie przedstawiono zmiany powstałe na materiałach w wyniku zasiedlania go przez mikroflorę wody wodociągowej (Rys. 22-25).

Chropowatość powierzchni przed i po ekspozycji polimerów na drobnoustroje przedstawiono również poprzez analizy ilości i parametrów objętościowych wysp powstałych/zanikłych. Płaszczyznę przekroju przyjęto na wysokości $0,37\mu\text{m}$ poniżej płaszczyzny odniesienia, co stanowiło 40-45 % ($4-6\mu\text{m}$ liczone od najgłębszej głębiny) wysokości całkowitej. Z uwagi na wielkość komórek bakteryjnych (ok. $0,5\mu\text{m}$) na tym poziomie przekroju spodziewano się największych zmian wynikających z działalności metabolicznej bakterii.

a).

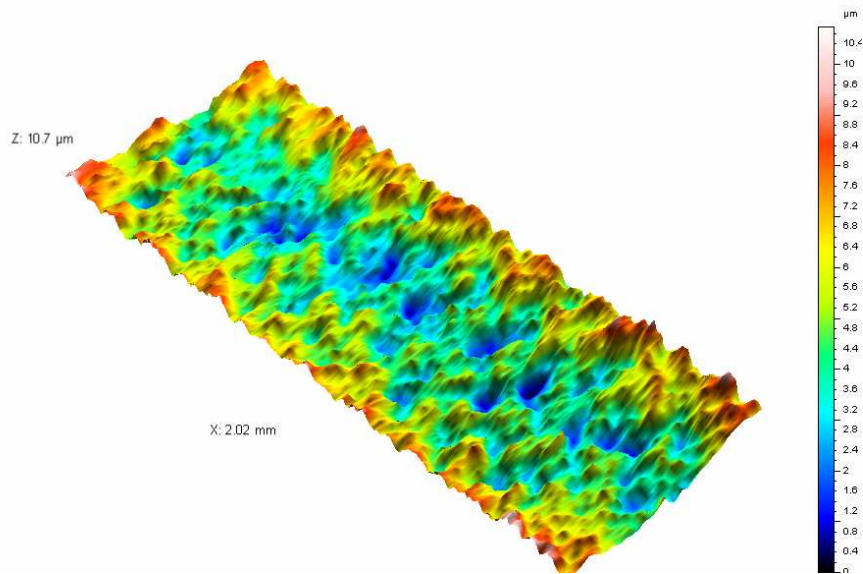


b).

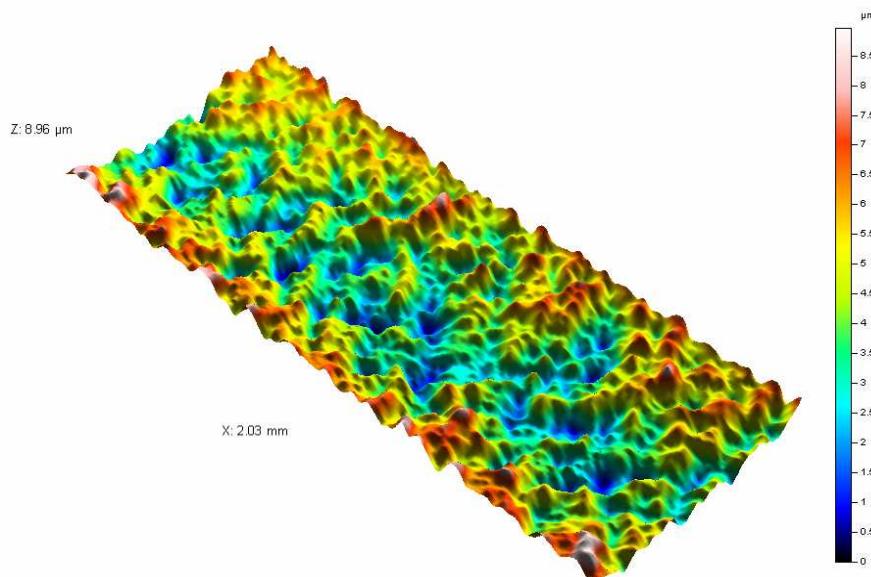


Rysunek 22. Zmiany tekstury powierzchni PCV w obecności błony biologicznej- widok 3D (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)

a).

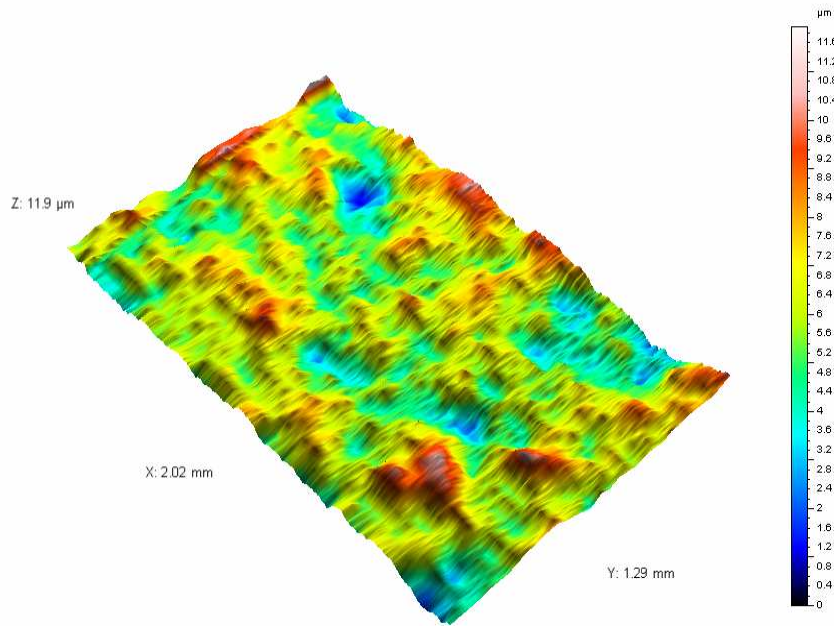


b).

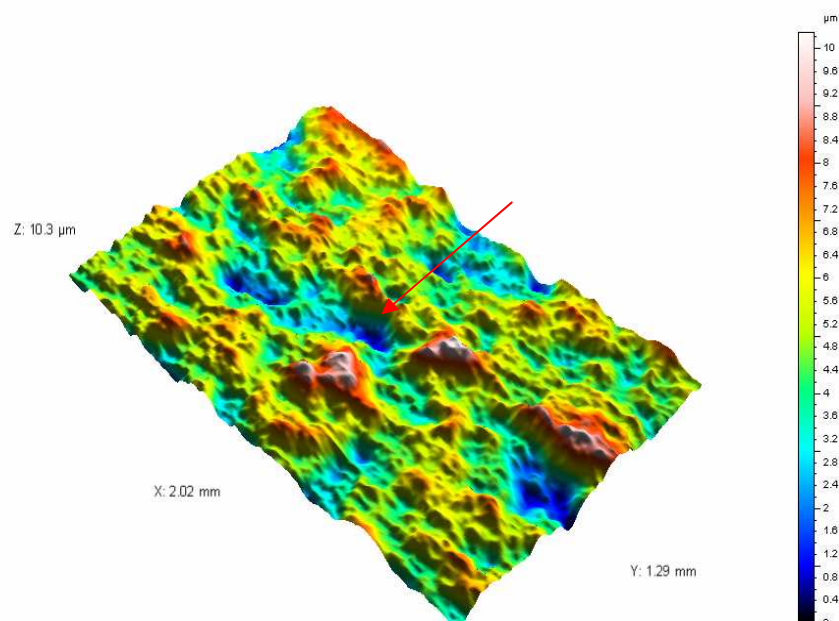


Rysunek 23. Zmiany tekstury powierzchni PE w obecności błony biologicznej – widok 3D (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)

a).

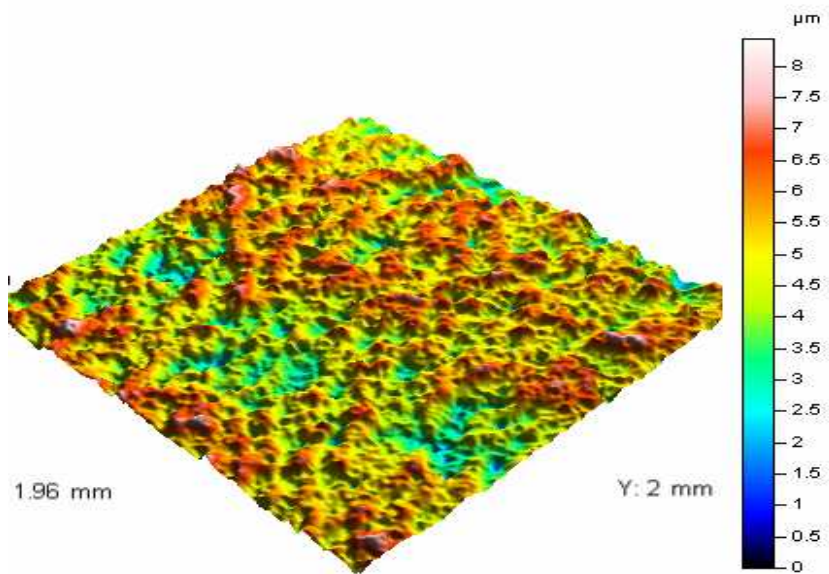


b).

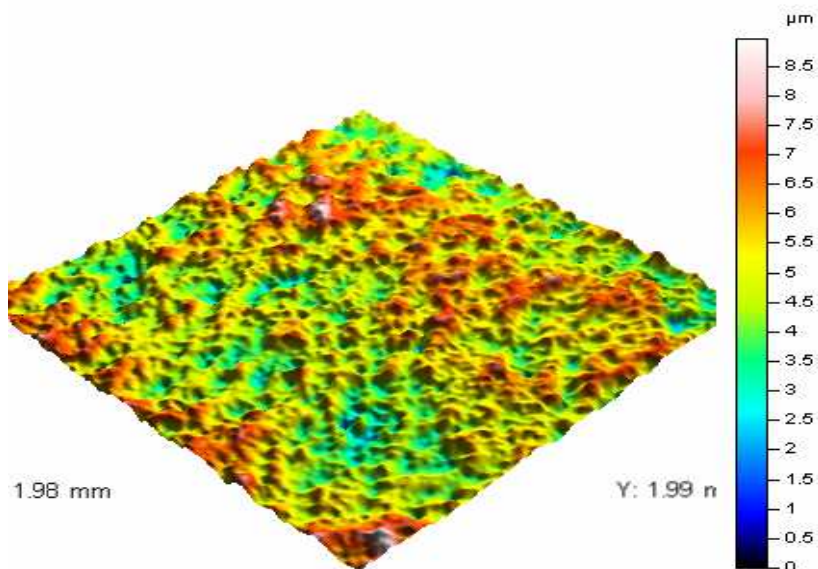


Rysunek 24. Zmiany tekstury powierzchni PP w obecności błony biologicznej – widok 3D (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)

a).

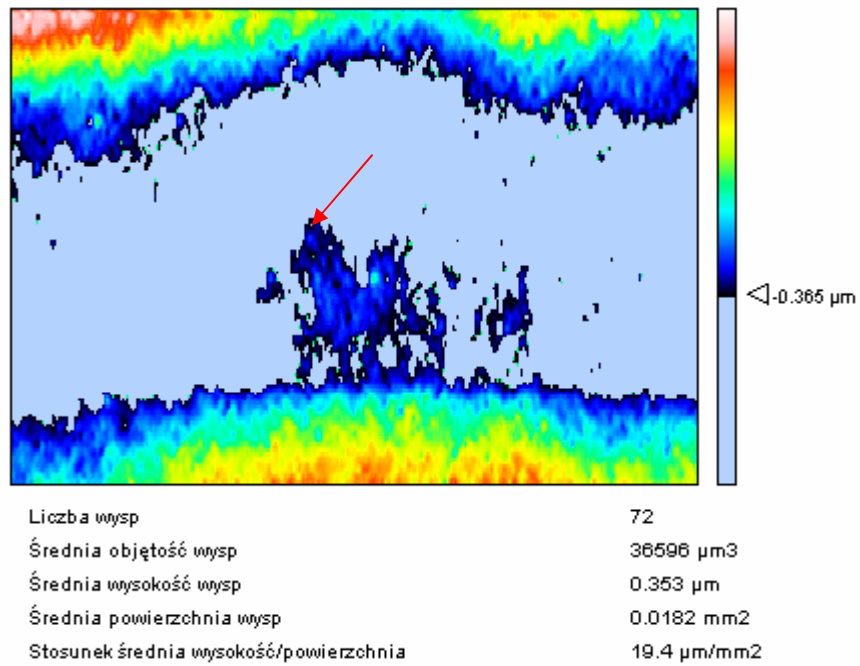


b).

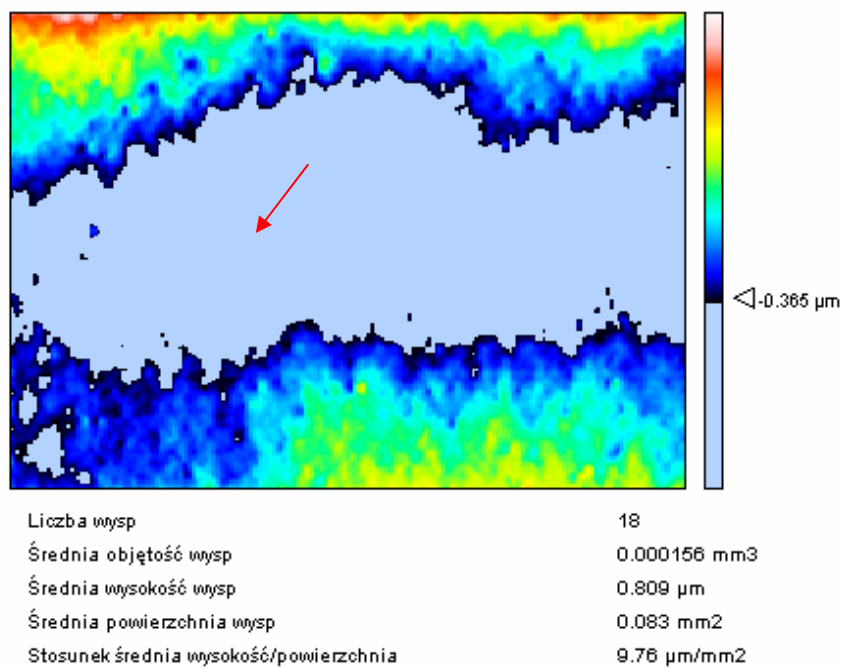


Rysunek 25. Zmiany tekstury powierzchni PB w obecności błony biologicznej – widok 3D (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)

a).

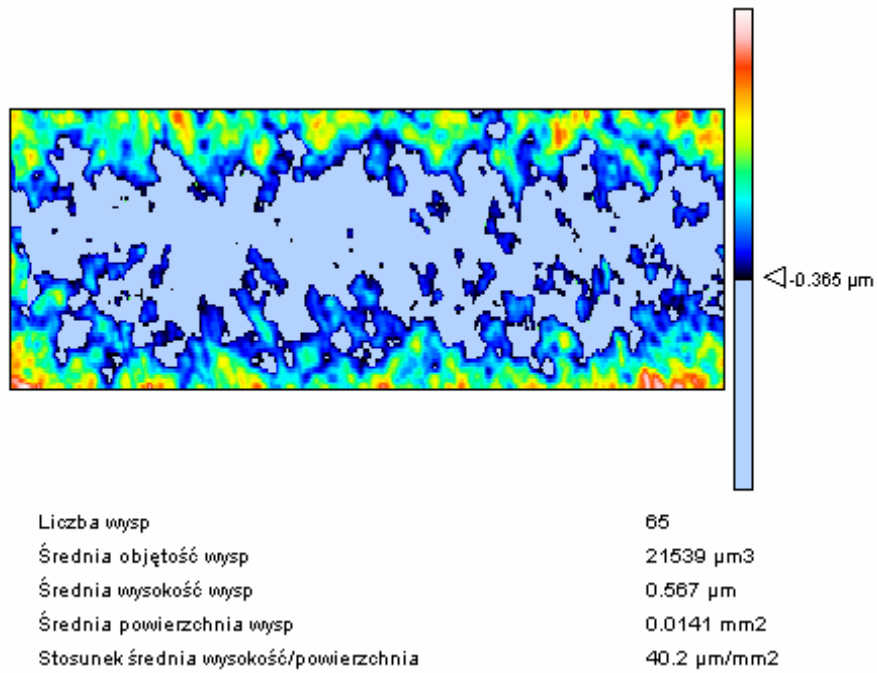


b).

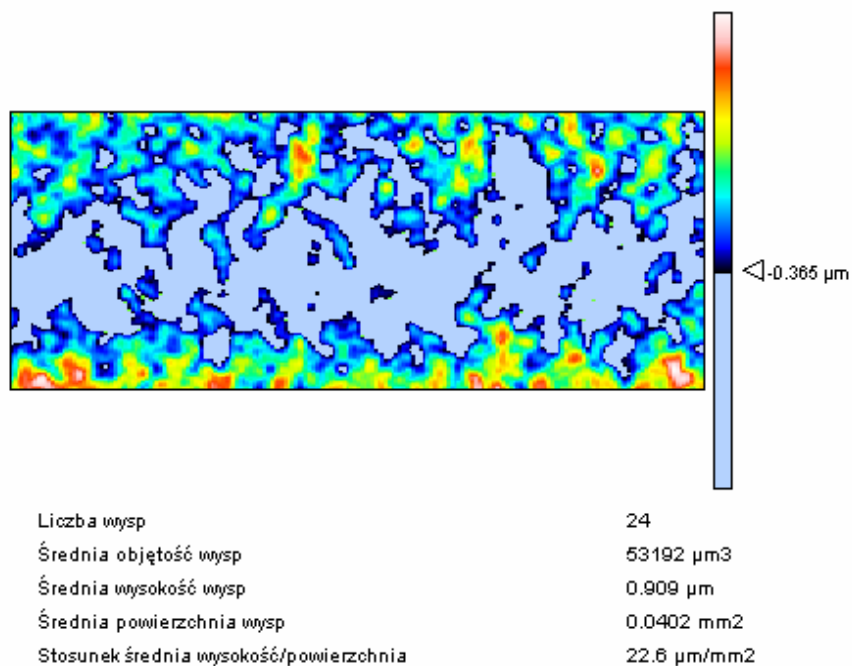


Rysunek 26. Zmiany ilości i objętości wysp na powierzchni PCV w obecności błony biologicznej (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu błony)

a).

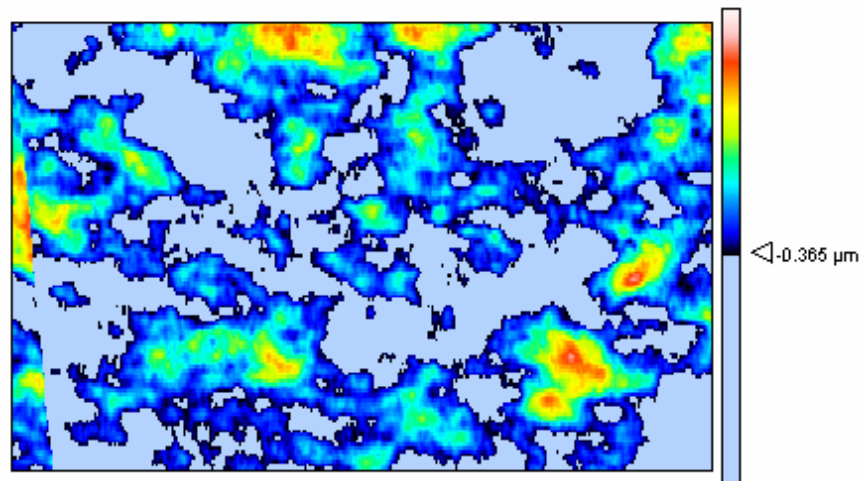


b).



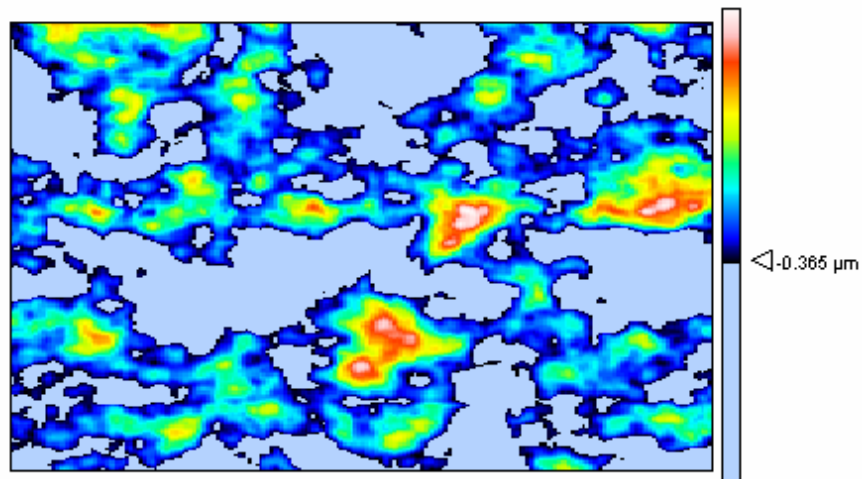
Rysunek 27. Zmiany ilości i objętości wysp na powierzchni PE w obecności błony biologicznej (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)

a).



Liczba wysp	53
Średnia objętość wysp	38296 μm^3
Średnia wysokość wysp	0.496 μm
Średnia powierzchnia wysp	0.0296 mm^2
Stosunek średnia wysokość/powierzchnia	16.7 $\mu\text{m}/\text{mm}^2$

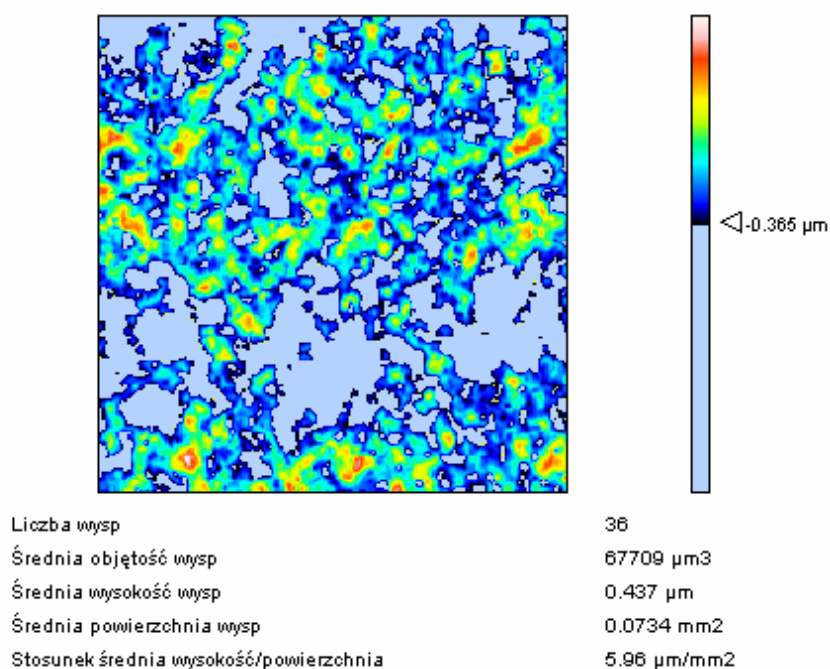
b).



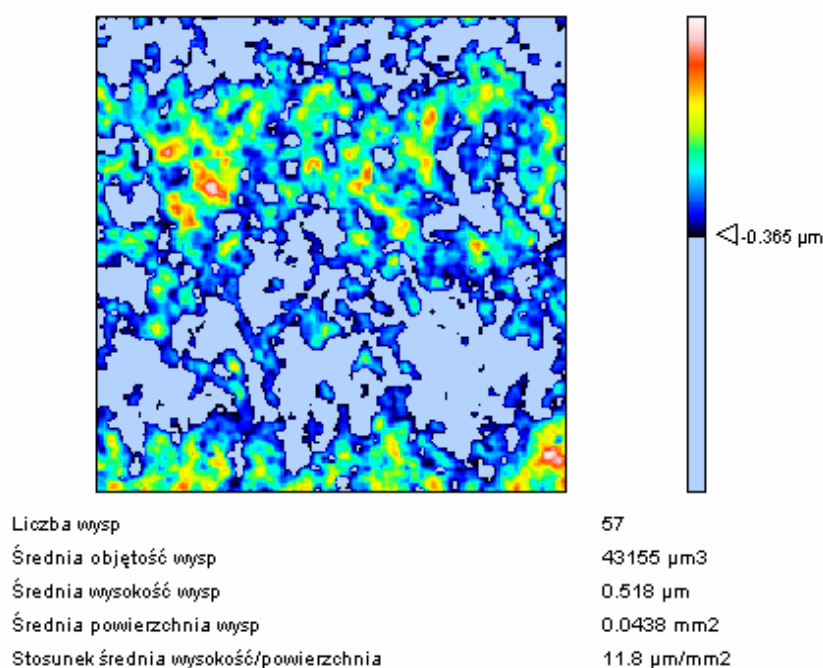
Liczba wysp	29
Średnia objętość wysp	70844 μm^3
Średnia wysokość wysp	0.59 μm
Średnia powierzchnia wysp	0.0549 mm^2
Stosunek średnia wysokość/powierzchnia	10.8 $\mu\text{m}/\text{mm}^2$

Rysunek 28. Zmiany ilości i objętości wysp na powierzchni PP w obecności błony biologicznej (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)

a).



b).



Rysunek 29. Zmiany ilości i objętości wysp na powierzchni PB w obecności błony biologicznej (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)

Znaczne zmiany w teksturze powierzchni obserwowano w przypadku polichlorku winylu. Na rysunku nr 22 widoczny jest powstały po miesięcznym oddziaływaniu mikroorganizmów na powierzchnię płytki „wżer” wielkości około 1mm

× 0,5 mm. Zmiany powstałe na powierzchni polichlorku winylu potwierdziły pomiary ilości i objętości wysp powstałych/zanikłych po inkubacji z bakteriami. Przed rozpoczęciem badań ilość wysp na fragmencie przebadanej powierzchni wynosiła 72., ich średnia wysokość 0,353 μm a powierzchnia 0,02 mm^2 . Stosunek średniej wysokości do średniej powierzchni wynosił 19,4. Po zakończeniu inkubacji i usunięciu z powierzchni błony biologicznej wykonane pomiary wykazały: ilość wysp 18., średnia wysokość 0,809 μm a powierzchnia 0,083 mm^2 . Zmniejszenie liczby wysp z jednoczesnym zwiększeniem ich wysokości i powierzchni wynika ze zmiany struktury powierzchni. Powstały biofilm spowodował pogłębienie obecnych na powierzchni materiału nierówności-dolin. Zmniejszenie ilości wysp mogło być spowodowane połączeniem się kilku wysp w jedną, w wyniku działalności metabolicznej drobnoustrojów tworzących na powierzchni polimerów błony biologiczne.

Kolejnym materiałem był polietylen. Na rysunku przedstawiającym widok 3D powierzchni materiału nie zaobserwowano istotnych zmian. Jednak analiza wysp wykazała, że ilość wysp po inkubacji w stosunku do ilości sprzed rozpoczęcia badań, podobnie jak w przypadku polichlorku winylu była mniejsza, z 65. pozostały 24. Ich średnia wysokość również wzrosła z 0,567 μm do 0,909 μm tj. około dwukrotnie, podobnie jak w przypadku polichlorku winylu. Średnia powierzchnia wysp przez badaniem wynosiła 0,0141 mm^2 a po 0,0402 mm^2 . W wyniku działalności mikroorganizmów powierzchnia polimeru została spłaszczona, pojedyncze wyspy połączyły się w większe, a dodatkowe doliny pomiędzy nimi zostały pogłębione. Zmiany te dowodzą korozji mikrobiologicznej.

Innym podatnym na wpływ mikroorganizmów okazał się polipropylen, gdyż podobnie jak w przypadku PCV i PE zmniejszyła się ilość wysp, jednak ich wysokość oraz powierzchnia nie zmieniła się tak znacznie, bowiem wysokość wzrosła jedynie o 0,1 μm a powierzchnia o 0,0253 mm^2 .

W przypadku polibutyleny widok 3D ujawnił 57. wysp podczas gdy wartość początkowa wynosiła 36. Wysokość zwiększyła się nieistotnie, bo o jedyne 0,081 μm . Natomiast powierzchnia w przeciwieństwie do pozostałych polimerów zmniejszyła się, początkowa wartość to 0,0734 mm^2 końcowa 0,0438 mm^2 . Zwiększył się natomiast stosunek średniej wysokości do powierzchni z 5,96 do 11,8. Wynikiem tych zmian było większa liczebności i wyostrenie krawędzie wysp, w konsekwencji prowadzące do znacznego zwiększenie chropowatości powierzchni.

Obserwowany wzrost drobnoustrojów i zmiany chropowatości powierzchni badanych materiałów polimerowych pozwalają twierdzić, że wbrew ogólnie przyjętym sądom charakteryzuje je podatność na korozję mikrobiologiczną. Skutki działalności bakterii wykazywały istotne różnice w zależności od rodzaju, a więc składu chemicznego polimerów, i wynikających z niego podatności na degradację.

3.1.2.2. Badania prowadzone w hodowli statycznej na podłożu stałym z wykorzystaniem szczepu *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388

Ocenę wpływu działalności mikroorganizmów na materiały polimerowe stosowane w dystrybucji wody do picia przeprowadzono również na podstawie zmian w teksturze powierzchni (chropowatości) materiałów w wyniku obecności jednego szczepu bakterii.

W tym celu wykonano pomiary tekstury powierzchni badanych próbek polimerów (PCV, PE, PP i PB) o wymiarach 30×60 mm i grubości 1 mm poczym umieszczono je w stałym podłożu mineralnym (skład w punkcie 2.2.) zaszczepionym inokulum bakterii *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388 w takiej ilości, że w podłożu ich liczebność wynosiła 5×10^4 jtk/ cm³. Na zestalonym podłożu mineralnym znajdującym się w szalce Petriego w ilości 20 cm³ układano próbki, a następnie zalewano je tym samym podłożem z bakteriami o objętości około 10 cm³ tak, aby w całości pokryć powierzchnię danej płytki.

Zawiesinę bakterii, podłoże mineralne oraz procedurę zaszczepienia przeprowadzono zgodnie z Polską Normą dotyczącą oddziaływania drobnoustrojów na tworzywa sztuczne [103].

Próbki badanych polimerów w podłożu mineralnym zaszczepionym *P.aeruginosa* i inkubowano w temperaturze $29 \pm 1^{\circ}\text{C}$ przed okres pięciu tygodni.

Po zakończeniu inkubacji nie zaobserwowano wzrostu drobnoustrojów na powierzchni próbek płytek polimerowych umieszczonych w zaszczepionym inokulum bakteryjnym podłożu mineralnym. Najprawdopodobniej wykorzystany w procesie badawczym szczep bakterii nie dysponował odpowiednim wyposażeniem enzymatycznym pozwalającym na wykorzystanie badanych materiałów polimerowych, jako źródło węgla i energii. Mimo to wykonano pomiary tekstury powierzchni i porównano je z początkowymi (przed inkubacją).

Tabela 10. Parametry chropowatości PCV przed i po ekspozycji na bakterie

Parametr chropowatości	Jednostka	Nowy rurociąg (płytką)	Po kontakcie z <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Wielkość zmian [%]
Sa	µm	0,98	1,00	2,04
Sq	µm	1,39	1,42	2,16
Ssk	-	2,18	2,15	- 1,38
Sku	-	17,9	17,3	- 3,34
Sp	µm	16,6	16,9	1,81
Sv	µm	3,55	3,58	0,85
Sz	µm	20,1	20,4	1,49

Tabela 11. Parametry chropowatości PE przed i po ekspozycji na bakterie

Parametr chropowatości	Jednostka	Nowy rurociąg (płytką)	Po kontakcie z <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Wielkość zmian [%]
Sa	µm	1,50	1,55	3,33

Sq	μm	1,97	2,05	4,06
Ssk	-	0,93	0,97	4,03
Sku	-	4,01	4,03	0,50
Sp	μm	9,91	10,1	1,01
Sv	μm	4,3	4,28	- 0,47
Sz	μm	14,2	14,4	1,41

Tabela 12. Parametry chropowatości PP przed i po ekspozycji na bakterie

Parametr chropowatości	Jednostka	Nowy rurociąg (płytki)	Po kontakcie z <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Wielkość zmian [%]
Sa	μm	1,74	1,77	1,72
Sq	μm	2,26	2,34	3,54
Ssk	-	- 0,34	- 0,35	2,94
Sku	-	3,81	3,76	- 1,31
Sp	μm	9,77	9,75	- 0,20
Sv	μm	10,0	9,47	- 5,30
Sz	μm	19,8	18,5	- 3,54

Tabela 13. Parametry chropowatości PB przed i po ekspozycji na bakterie

Parametr chropowatości	Jednostka	Nowy rurociąg (płytki)	Po kontakcie z <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Wielkość zmian [%]
Sa	μm	1,05	1,09	3,81
Sq	μm	1,34	1,37	2,24
Ssk	-	0,41	0,41	0
Sku	-	3,53	3,37	- 4,53
Sp	μm	6,68	6,56	- 1,80
Sv	μm	3,97	3,98	0,25
Sz	μm	10,7	10,5	- 1 87

Niewielkie zmiany w wartościach badanych parametrów pomiaru tekstury powierzchni ($< 5,3\%$), mogły wynikać zarówno z błędów pomiaru metody jak również z nieznacznych zmian w chropowatości powierzchni wynikających z wpływu substancji chemicznych zawartych w podłożu na badany materiał.

3.1.3. Ocena wpływu działalności drobnoustrojów na tworzywa sztuczne (Norma PN EN ISO 846:2002)

Badania oceny wpływu mikroorganizmów na materiały syntetyczne prowadzono zgodnie z normą PN EN ISO 846:2002 [103]. Materiał biologiczny wykorzystany do badań to bakteria *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 13388. Zastosowano test zmiany masy próbek materiałów oraz ocenę wizualną zmian powierzchni.

Przygotowane z każdego badanego tworzywa próbki zważono z dokładnością do 0,0001 g, a następnie podzielono na trzy partie.

W tabelkach przedstawiono masy płytek polimerów wykorzystanych w badaniach.

Tabela 14. Masy próbek PCV przed inkubacją [g]

Nr próbki	Partia I	Partia S	Partia 0
1	0,8132	0,7715	0,7918
2	0,8297	0,7801	0,7543
3	0,8428	0,8192	0,7288

4	0,8400	0,7873	0,7619
5	0,8332	0,8057	0,7291
6	0,7248	0,7629	0,7916

Tabela 15. Masy próbek PE przed inkubacją [g]

Nr próbki	Partia I	Partia S	Patria 0
1	0,4780	0,4863	0,5378
2	0,4851	0,4667	0,5021
3	0,4816	0,4626	0,4663
4	0,4799	0,4785	0,4900
5	0,5096	0,4659	0,5115
6	0,5798	0,4575	0,5286

Tabela 16. Masy próbek PP przed inkubacją [g]

Nr próbki	Partia I	Partia S	Patria 0
1	0,4429	0,4298	0,4271
2	0,4206	0,4644	0,4256
3	0,4345	0,4142	0,4618
4	0,4215	0,4081	0,4369
5	0,4594	0,4799	0,4251
6	0,4354	0,4598	0,4594

Tabela 17. Masy próbek PB przed inkubacją [g]

Nr próbki	Partia I	Partia S	Patria 0
1	0,4837	0,4934	0,4644
2	0,4296	0,4379	0,4531
3	0,4392	0,4305	0,4407
4	0,4368	0,4804	0,4344
5	0,4182	0,4215	0,4112
6	0,4384	0,4410	0,4702

Do oceny zmian masy wynikłych z wykorzystania komponentów zastosowanych przy produkcji rurociągów z badanych tworzyw w procesach życiowych bakterii zasiedlających, wpływu substancji chemicznych zawartych w pożywce oraz czynników środowiskowych na polimery, po zakończeniu okresu inkubacji ponownie je ważono. Przed przystąpieniem do ważenia zgodnie z procedurą zawartą w normie oczyszczano i wysuszono próbki. Uzyskane wyniki przedstawiono w tabelach.

Tabela 18. Masy próbek PCV po inkubacji [g]

Nr próbki	Partia I	Partia S	Patria 0
1	0,8130	0,7716	0,7918
2	0,8296	0,7803	0,7542
3	0,8427	0,8189	0,7289
4	0,8400	0,7874	0,7618
5	0,8330	0,8059	0,7293
6	0,7248	0,7628	0,7914

Tabela 19. Masy próbek PE po inkubacji [g]

Nr próbki	Partia I	Partia S	Patria 0
1	0,4779	0,4864	0,5379
2	0,4849	0,4667	0,5020
3	0,4813	0,4625	0,4660

4	0,4799	0,4786	0,4897
5	0,5093	0,4653	0,5115
6	0,5799	0,4574	0,5287

Tabela 20. Masy próbek PP po inkubacji [g]

Nr próbki	Partia I	Partia S	Partia 0
1	0,4429	0,4297	0,4272
2	0,4205	0,4644	0,4250
3	0,4348	0,4142	0,4618
4	0,4214	0,4082	0,4371
5	0,4593	0,4801	0,4252
6	0,4350	0,4598	0,4593

Tabela 21. Masy próbek PB po inkubacji [g]

Nr próbki	Partia I	Partia S	Partia 0
1	0,4838	0,4934	0,4646
2	0,4296	0,4391	0,4529
3	0,4393	0,4305	0,4409
4	0,4368	0,4804	0,4342
5	0,4181	0,4215	0,4111
6	0,4384	0,4412	0,4703

Próbki materiałów inkubowano przez okres siedmiu tygodni. Substancje chemiczne zawarte w zastosowanym podłożu mogą reagować z komponentami tworzyw sztucznych i poprzez zmianę ich właściwości wpływać na wyniki testu. Aby uwzględnić wynikający z tego błąd pomiaru przygotowano dodatkowe partie próbek. Partia 0 przechowywana była w „warunkach pokojowych” (temperatura powietrza zmienna w zakresie od 22-35⁰C), próbki materiałów nie umieszczono w pożywce, przez cały okres testu przechowywano je w szklanym naczyniu. W przypadku serii S próbki polimerów inkubowano w takich samych warunkach (podłoże mikrobiologiczne, temperatura i wilgotność powietrza) jak serię I, w której dodatkowo zaszczepiono podłoże mikrobiologiczne zawiesiną bakterii *P.aeruginosa*. Po zakończeniu badań nie stwierdzono zmian masy próbek polichloru winylu, polietylenu, polipropylenu oraz polibutylenu. Na podstawie oceny wizualnej poprzez porównanie próbek inkubowanych w podłożu (partia S) oraz w podłożu zaszczepionym bakteriami (partia I) do próbek przechowywanych w „warunkach pokojowych” (partia 0) stwierdzono brak widocznych zmian w ich wyglądzie.

Zgodnie z normą test można zakończyć już po upływie czterech tygodni w przypadku szybkiego pojawienia się wzrostu bakterii, w przypadku ich braku lub zbyt małych koloni inkubację należy wydłużyć do sześciu tygodni. W przedstawionych badaniach okres inkubacji wynosił siedem tygodni i po tym czasie nie stwierdzono obecności kolonii bakterii *P.aeruginosa*. Sugerować to może, iż szczep bakterii zastosowany w teście nie posiada odpowiedniego wyposażenia enzymatycznego dla wykorzystania badanych polimerów, jako jedyne źródła węgla i energii. Dlatego też nie jest odpowiednim organizmem testowym do oceny materiałów polimerowych stosowanych do konstrukcji sieci wodociągowych.

3.2. Rezultaty badań w układach przepływowych

3.2.1. Ocena wpływu wybranych polimerów na jakość wody w układach zasilanych wodą wodociągową

Badania w celu określenia podatności materiałów polimerowych na zasiedlanie przez drobnoustroje obecne w wodzie wodociągowej i ich wpływ na jej jakość prowadzono w warunkach laboratoryjnych z wykorzystaniem układu badawczego zasilanego wodą wodociągową przy prędkości przepływu 0,2 m/s. Obserwacje prowadzono przez 154 dni w przypadku polichlorku winylu i polietylenu oraz 160 polipropylenu i polibutyleny w temperaturze pokojowej. W wodzie dopływającej i odpływającej dwa razy w tygodniu układu analizowano liczbę bakterii psychrofilnych oraz mezofilnych, zmiany pH oraz stężenia OWO, azotu amonowego, azotu azotynowego i azotu azotanowego i ortofosforanów.

3.2.1.1. Badania mikrobiologiczne

W prowadzonych badaniach kontrolowano zmiany liczby bakterii psychrofilnych i mezofilnych w wodzie wodociągowej pozostającej w kontakcie z próbkami PCV, PE, PP i PB w celu porównania jej jakości mikrobiologicznej z wodą wodociągową zasilającą układy badawcze.

Celem badań było wykazanie zmian jakości sanitarnej wody powodowanych uwalnianiem się bakterii z tworzących się na powierzchniach badanych materiałów technicznych obrostów biologicznych. Kontrolowano liczebność bakterii heterotroficznych zarówno psychrofilnych jak i mezofilnych w wodzie zasilającej układ i w odpływie z reaktorów. Bakterie psychrofilne należą do mikroflory autochtonicznej wody i ich obecność nie stanowi bezpośredniego zagrożenia zdrowia dla odbiorców, a jedynie prowadzi do pogorszenia jej jakości. Organizmy psychrofilne w sprzyjających warunkach przechodzą w wodzie swój naturalny cykl życiowy. Natomiast obecność bakterii mezofilnych zwłaszcza w zwiększonej liczebności, z uwagi na to, iż są to organizmy, wśród których mogą być obecne formy warunkowo patogenne i patogenne stanowi poważny problem. Bakterie te w większości są pochodzenia allochtonicznego a ich obecność pośrednio świadczy o zanieczyszczeniu wody mikroflorą glebową i jelitową, co zwiększa ryzyko epidemiologiczne [92].

Badania prowadzono w dwóch terminach. Pierwszy dla dwóch równoległych serii w obecności polichlorku winylu i polietylenu, trwających po 154 dni, drugi termin dla trzeciej i czwartej przez okres 160 dni dla polipropylenu i polibutyleny. W obu terminach stwierdzono bardzo dobrą pod względem mikrobiologicznym jakość wody wodociągowej zasilającej układy.

Liczebność bakterii psychrofilnych w wodzie wodociągowej zasilającej układ z polichlorkiem winylu i polietylenem wahały się od 1 jtk/cm³ w 56, 68, 77 i 144 dobie pracy układu do 4 jtk/cm³, 2 jtk/cm³ oraz 3 jtk/cm³ w 95, 123 i 131 dobie, jednak są to wartości w granicy błędów pomiarowej. W pozostałych próbkach wody, pośrednią metodą mikrobiologiczną, nie wykryto ich obecności (Rys. 30). Bakterie

mezofilne na podłożu odżywczym odnotowano jedynie w 14 i 123 dobie w ilości 1 jtk/cm³ a w 144 dobie ich liczebność wynosiła 32 jtk/cm³ (Rys. 31).

W drugim terminie badań dotyczącym wpływu polipropylenu i polibutylenu na jakość mikrobiologiczną wody wodociągowej, stwierdzono obecność bakterii psychrofilnych w około 35 % próbek w zakresie 1-10 jtk/cm³ (Rys. 32). Większe zmiany wykazano dla bakterii mezofilnych, które wykryto w około 46 % próbkach a ich liczba wynosiła od 1 jtk/cm³ do 81 jtk/cm³, z czego w 19 % eksperymentu wartości przekraczały dopuszczalną ilość dla wody przeznaczonej do spożycia. W 7 dobie ich liczba wzrosła do 81 jtk/cm³ i była to maksymalna wartość stwierdzona w wodzie wodociągowej w całym okresie prowadzenia badań. W kolejnych dniach od 10 do 104 doby ich ilość nie przekroczyła 5 jtk/cm³. W końcowym okresie prowadzenia badań zaobserwowano wahania liczebności bakterii mezofilnych w wodzie wodociągowej od 2 do 61 jtk/cm³ (Rys. 33).

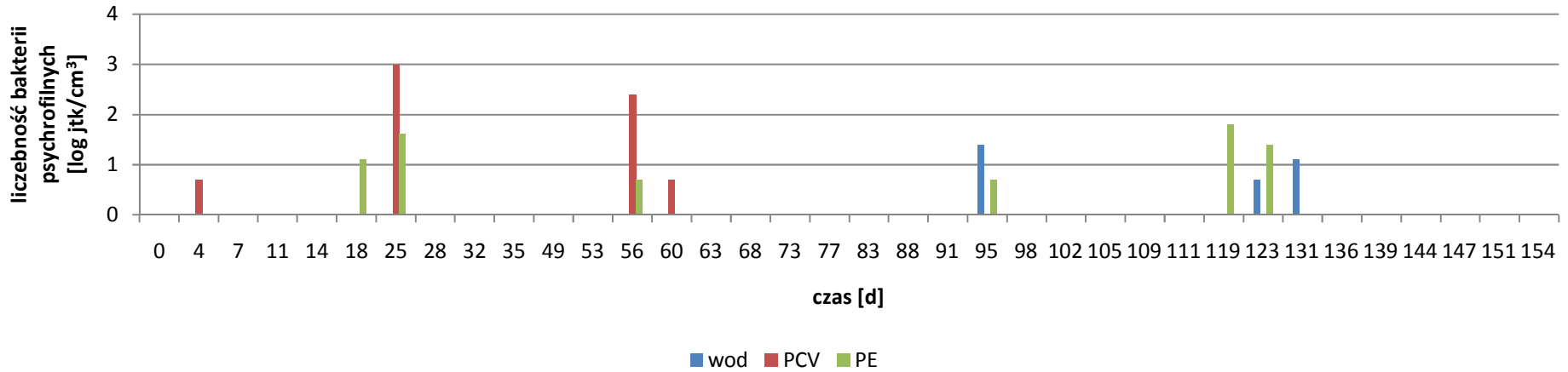
PCV Obserwowane wzrosty liczby bakterii psychrofilnych stanowiących mikroflorę autochtoniczną w odpływach z reaktorów zawierających polichlorek winylu nie przekraczały 20 jtk/cm³. Ich obecność stwierdzano jedynie w 25 i 56 dobie w ilości odpowiednio 20 i 11 jtk/cm³. W około 19 % badanych próbek wody z reaktora ich liczba wynosiła 1-2 jtk/cm³, co mieści się w granicy błędu metody, w pozostałych nie stwierdzano obecności bakterii psychrofilnych stosowaną metodą (Rys. 30).

Natomiast w przypadku bakterii mezofilnych ich liczba dochodziła nawet do 606 jtk/cm³, podczas gdy wartości dopuszczalne to 50 jtk/cm³. Ich obecność stwierdzono w 50 % próbek. W okresie od 11 doby, kiedy to po raz pierwszy wykryto ich obecność, do 28 doby ich ilość w odpływie z reaktora przyjmowała wartości w zakresie 2-236 jtk/cm³. W 56 i 60 d były to już odpowiednio 606 i 81 jtk/cm³, w okresie 68 - 77 doby wahały się od 196 - 500 jtk/cm³. Od 88 doby do końca prowadzenia badań (154 doba) obecność bakterii w odpływie dla podłoża odżywczego wzbogaconego wahała się od 2-141 jtk/cm³. W około 25 % wykonanych analiz mikrobiologicznych wody odpływającej z reaktora zawierającego próbki rurociągu wykonanego z polichlorku winylu przekroczona została dopuszczalna liczebność drobnoustrojów mezofilnych i zmiany ich liczebności wykazywały pewną regularność. W początkowym okresie obserwowano nagłe wzrosty liczebności bakterii mezofilnych w odpływach z reaktorów przy jednoczesnej wysokiej jakości mikrobiologicznej (0-1 jtk/cm³) wody wodociągowej, co wskazywało na uwalnianie się bakterii z tworzącej się błony biologicznej. Do 25 doby praktycznie nie obserwowano obecności bakterii w wodzie z reaktora (0-5 jtk/cm³) natomiast w 25 dobie ich liczba wzrosła do 96 jtk/cm³ a już przy kolejnym poborze (28 doba) do 236 jtk/cm³. Przez następne 28 dni nie stwierdzono obecności drobnoustrojów w wodzie i ponownie ich liczba gwałtownie wzrosła w 56 dobie, aż do 610 jtk/cm³, co stanowiło maksymalną licznosc bakterii w wodzie z reaktorów zawierających PCV. Po upływie 8 dni w wodzie z reaktora zawierającego próbki polichlorku winylu liczebność bakterii w wodzie wynosiła 500, 250 i 196 jtk/cm³ w kolejno wykonanych analizach (68, 73 i 77 doba). Sugerować to może, że w początkowym okresie tworzenia obrostu mikrobiologicznego ilość wypłukiwanych z błony drobnoustrojów jest niewielka i trudna do określenia przy zastosowaniu pośredniej metody pomiarowej. Częstszym zjawiskiem jest odrywanie całych

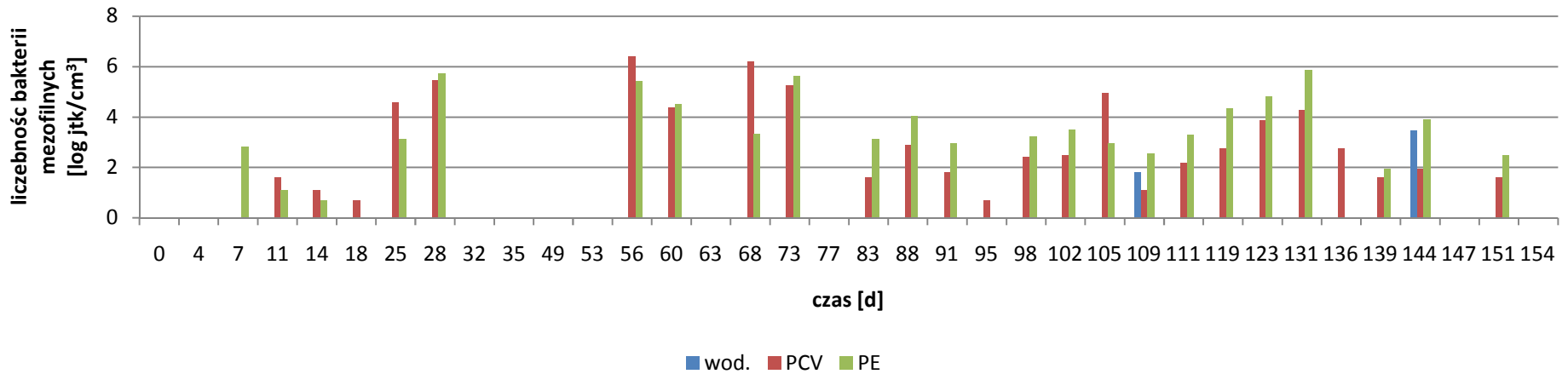
fragmentów błony czego wynikiem są gwałtowne wzrosty liczebności drobnoustrojów w wodzie do wartości znacznie przekraczających dopuszczalne (1,5 – 12 krotne przekroczenie). „Zrywy” te następowały w kilkudniowych odstępach (8-28 dni), podczas których najprawdopodobniej dochodziło do dalszego narastania błony biologicznej. Obserwowane wahania mogą dowodzić rozwijającej się (nieodjrzałej) błony biologicznej. Po 77 dobie pracy układu nie obserwowano już tak gwałtownych wzrostów, jednak liczebność bakterii w wodzie z odpływów z reaktorów utrzymywała się na wysokim poziomie do końca prowadzenia badań (do 154 doby), pomimo dobrej jakości mikrobiologicznej wody wodociągowej zasilającej układ. W okresie od 77 doby obecność drobnoustrojów stwierdzono w ponad 50 % próbek wody. Przyczyną mogło być uformowanie dojrzałego biofilmu, z którego regularnie były uwalniane do wody drobnoustroje.

PE Kontrola ilości bakterii psychrofilnych w wodzie mającej kontakt z polietylenem wykazała niewielkie zmiany w ich liczebności w odpływie w stosunku do dopływu, nie przekraczając 6 jtk/cm^3 . Natomiast w przypadku bakterii mezofilnych ich liczba uzyskiwała wartości nawet do 352 jtk/cm^3 .

Nieznacznie zwiększoną liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie z reaktora z polietylenem w stosunku do wody zasilającej zaobserwowano w 4, 18, 25, 56, 60, 91, 98, 119 i 123 dobie w zakresie $1 - 6 \text{ jtk/cm}^3$. Przez pozostały okres badań na agarze wzbogaconym nie zaobserwowano wzrostu drobnoustrojów psychrofilnych. Przeprowadzone badania wykazały natomiast znaczne wahania w liczebności bakterii mezofilnych w odpływie z reaktora zawierającego próbkę rurociągu wykonanego z polietylenu. Pierwszy wzrost liczebności drobnoustrojów do wartości 17 jtk/cm^3 w wodzie z odpływu w stosunku do wody zasilającej odnotowano w 7 dobie. Od 11 do 18 doby liczba bakterii w wodzie wynosiła $1-3 \text{ jtk/cm}^3$ i w 25 dobie wzrosła do 23 jtk/cm^3 , a w 28 już do 312 jtk/cm^3 . Przez kolejne 28 dni pracy układu nie obserwowano drobnoustrojów w wodzie odpływającej z reaktora zawierającego polietylen, po czym ponownie nastąpił wzrost ich liczebności w zakresie od 28 do 276 jtk/cm^3 (5,5 krotne przekroczenie wartości dopuszczalnych). Od 88 do 131 doby pracy układu badawczego liczebność bakterii w wodzie z reaktora utrzymywała się na wysokim poziomie ($13-352 \text{ jtk/cm}^3$), dopuszczalne wartości zostały przekroczone w 36 % wykonanych analiz. W ostatnich dniach badań (136 – 154 d) przyrost bakterii w wodzie z reaktora w stosunku do wody wodociągowej nie przekroczył 17 jtk/cm^3 . Drobnoustroje obserwowano w wodzie z reaktora zawierającego PE w ponad 60 % próbek wody. Podobnie jak w przypadku PCV wahania liczebności bakterii wskazywały na formowanie się biofilmu i jego wczesną niestabilną fazę rozwoju.



Rysunek 30. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie prowadzenia badań – agar wzbożony



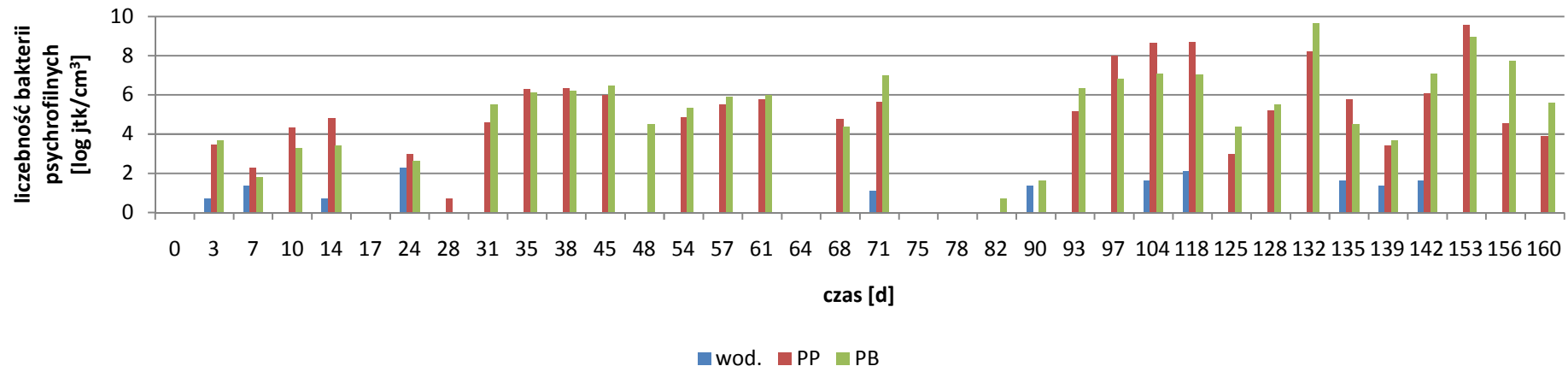
Rysunek 31. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie prowadzenia badań – agar wzbożony

W kolejnym terminie badanymi materiałami były polipropylen oraz polibutylen. W przypadku tych materiałów obserwowano znacznie większe liczebności bakterii w wodach odpływających z reaktorów zawierających badany polimer często przekraczające dopuszczalne wartości. Mogło to być wynikiem ich większej podatności na powstawanie na ich powierzchni obrostu, ale również większej liczby bakterii wprowadzanych do reaktorów niż w przypadku badań prowadzonych dla polichlorku winylu i polietylenu.

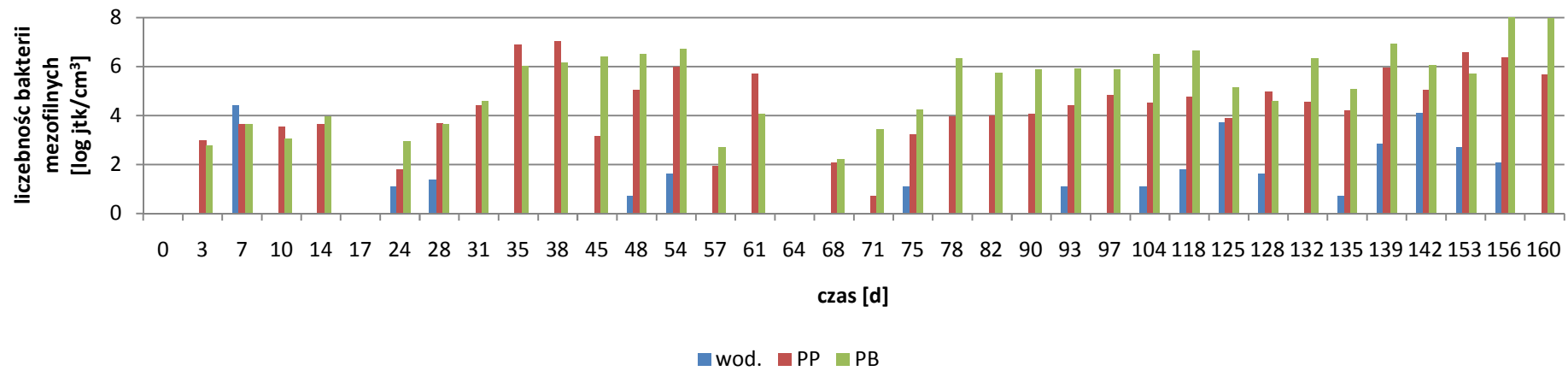
PP Badania zmian jakości mikrobiologicznej wody mającej kontakt z polipropylenem prowadzono przez okres 160 dni. Liczebność bakterii psychrofilnych wzrosła w stosunku do wody wodociągowej zasilającej układ badawczy już w 3 dobie do wartości 31 jtk/cm³, podczas gdy w wodzie wodociągowej ich liczba wynosiła jedynie 2 jtk/cm³. Zwiększona ilość bakterii w wodzie z reaktora utrzymywała się do 14 doby, kiedy to uzyskała wartość 121 jtk/cm³ przy jednocześnie wysokiej jakości mikrobiologicznej wody wodociągowej (0 – 4 jtk/cm³). Następnie przez 11 dni przyrost bakterii w wodzie z reaktora nie przekroczył 10 jtk/cm³. Stan ten nie utrzymał się jednak długo, gdyż już w 31 dobie liczba bakterii psychrofilnych w odpływie wynosiła 100 jtk/cm³ a w kolejnych dobach pracy układu uzyskała wynik 590 jtk/cm³ (38 d). W 48 dobie nie zaobserwowano obecności bakterii psychrofilnych, ale już w 54 ponownie nastąpił wzrost ich liczebności do 127 jtk/cm³ i dodatkowo wzrósł do 325 jtk/cm³ w 61 dobie. W 64 dobie ponownie nie obserwowano wzrostu drobnoustrojów na agarze przy inkubacji 20 ± 2⁰C, a przy kolejnym poborze próbek wody ich liczba wzrosła do 120 jtk/cm³ i do 71 doby utrzymała się na wysokim poziomie 290 jtk/cm³. Od 71 do 90 doby w wodzie mającej kontakt z polipropylenem nie odnotowano obecności bakterii psychrofilnych, a po tym okresie od 93 doby do końca prowadzenia badań liczebność bakterii w wodzie wahała się w zakresie 20 – 14200 jtk/cm³. Jakość mikrobiologiczna wody wodociągowej, w miarę wydłużania jej kontaktu z polipropylenem, ulegała znacznemu pogorszeniu. W około 50 % wykonanych analiz została przekroczona dopuszczalna liczebność bakterii psychrofilnych w wodzie przeznaczonej do spożycia przez ludzi, z czego w aż 14 % ponad trzydziestokrotnie. Również pod względem ilości bakterii mezofilnych jakość wody poddanej ekspozycji na działanie PP ulegała pogorszeniu. Brak obecności bakterii mezofilnych (0 jtk/cm³) obserwowano jedynie w 0, 17 i 64 dobie pracy układu, w 71 dobie liczba bakterii w wodzie z reaktora wynosiła 2 jtk/cm³. W pozostałym okresie badań ich liczebność wahała się w zakresie 6 – 1120 jtk/cm³ (38 d), z czego w ponad 58 % próbek ich ilość przekraczała dopuszczalne wartości 50 jtk/cm³. Obecność bakterii mezofilnych w wodzie z reaktora z polipropylenem stwierdzono w ponad 80 % próbek. Podobnie jak w przypadku polichlorku winylu i polietylenu również tu obserwowano w początkowych dniach pracy układu brak stabilności błony biologicznej i następujące do nich okresy braku bakterii mezofilnych w stosunku do wody wodociągowej zasilającej układ z reaktorem. Jednak w przypadku badań z PP obserwowano znacznie krótsze okresy ponownego narastania błony biologicznej, maksymalnie 11 dni, podczas gdy w przypadku polichlorku winylu i polietylenu wynosiły one nawet do 28 dób (Rys. 33).

PB Ostatnim badanym materialem polimerowym stosowanym przy produkcji rurociągów do dystrybucji wody do picia był polibutylen. W próbkach wody pobieranych z odpływu reaktora zawierającego ten polimer stwierdzono największy przyrost bakterii w stosunku do wody zasilającej, utrzymujący się w przedziale 0 - 15800 jtk/cm³ w przypadku bakterii psychrofilnych oraz 0 – 2970 jtk/cm³ mezofilnych. Dodatkowo aż w 56 % wykonanych analiz dla bakterii psychrofilnych na agarze wzbogaconym jakość mikrobiologiczna wody nie spełniała wymagań zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia z 2007 r. jeszcze mniej zadawalające wyniki uzyskano dla bakterii mezofilnych, których liczebność nie mieściła się w normach w 70 % próbek wody (Rys. 31) [110]. Podobnie jak w przypadku badań z polipropylenem również w tym przypadku obserwowano znacznie zwiększoną liczebność bakterii psychrofilnych i mezofilnych w próbkach wody z reaktora w stosunku do wody wodociągowej zasilającej układ badawczy (Rys. 33). Bakterii psychrofilnych nie stwierdzono w 0, 17, 28, 64, 75 i 78 dobie, co stanowiło około 17 % próbek, w ilości poniżej 5 jtk/cm³ w kolejnych 5 %. Zwiększoną liczbę bakterii psychrofilnych w wodzie z reaktora zaobserwowano już w 3 dobie, ich liczba wynosiła 40 jtk/cm³, natomiast w wodzie wodociągowej jedynie 2 jtk/cm³. W kolejnych jedenastu dobach ich liczba była mniejsza i nie przekroczyła 30 jtk/cm³. Nieznaczny wzrost liczby bakterii w wodzie do 14 jtk/cm³ obserwowano w 24 dobie należy jednak zwrócić uwagę, iż w tym czasie w wodzie wodociągowej zanotowano bakterie psychrofilne w ilości 10 jtk/cm³ tak więc wzrost liczebności bakterii wynosił zaledwie 4 jtk/cm³ i jest to w granicy błędu metody. Od 31 do 45 doby odnotowano ciągły wzrost ilości drobnoustrojów w wodzie od 246 jtk/cm³ (w 31 d) do 650 jtk/cm³ (w 45 d). W 48 dobie stwierdzono spadek liczby bakterii w wodzie z reaktora zawierającego PB do 92 jtk/cm³ (w poprzedniej próbce 650 jtk/cm³), jednak już w kolejnych dobach pracy układu ich liczba wzrosła do 204 jtk/cm³ w 54 d, 366 jtk/cm³ w 57 d i 410 jtk/cm³ w 61 d, co stanowiło przekroczenie dopuszczalnych wartości od 2 - 4 razy. W okresie od 64 do 90 doby nie stwierdzono obecności bakterii poza 68 d – 80 jtk/cm³ oraz w 71 d – 1120 jtk/cm³ (powyżej 11-krotne przekroczenie). Od 93 doby ilość bakterii psychrofilnych wahała się w zakresie od 40 do 15800 jtk/cm³, z czego jedynie w trzech próbkach osiągnęła wartości dopuszczalne. Była to 125, 135 i 139 doba, w których wartości wynosiły odpowiednio 80, 90 i 40 jtk/cm³. Dopuszczalna liczba bakterii psychrofilnych w wodzie do picia wynosi 100 jtk/cm³, wartość ta nie została przekroczona jedynie w 18 próbkach wody (50 %). Niepokojące było to, iż w 28 % próbek wartość dopuszczalna przekroczona została pięciokrotnie, z czego w 20 % ich liczba wynosiła powyżej 1000 jtk/cm³. Również w przypadku bakterii mezofilnych obserwowano znaczne pogorszenie jakości mikrobiologicznej wody poddanej ekspozycji na polibutylen w stosunku do wody wodociągowej. Brak ich obecności stwierdzono jedynie w 8 % próbek, w 0, 24 i 68 dobie. W okresie od 0 do 14 doby ich ilość wzrosła w stosunku do wody wodociągowej aż do 53 jtk/cm³, jednak w tym okresie obserwowano wahania a nie regularny wzrost. Inaczej przedstawiała się sytuacja w kolejnym okresie od 24 do 54 d, w ciągu tych 30 dni obserwowano regularny wzrost od 19 jtk/cm³ do 810 jtk/cm³. W 57 i 61 dobie ich liczba zmalała do 15 i 58 jtk/cm³, a 0 jtk/cm³ uzyskano w 64 d. Jednak już od 71 doby ponownie nastąpiło wzrastanie liczebności bakterii mezofilnych w wodzie z reaktora

z PB w zakresie od 9 do 560 jtk/cm³ (78 d). Przez kolejne 19 dni liczba bakterii mezofilnych utrzymywała się na stałych poziomie około 330 jtk/cm³, po czym w 104 i 118 ich liczba wzrosła do 670 i 770 jtk/cm³. W ciągu ostatnich trzydziestu pięciu dni pracy układu badawczego (125 – 160 doba) liczba bakterii mezofilnych w odpływie z reaktora wykazywała znaczne wahania w zakresie 98 – 2970 jtk/cm³. Liczebność bakterii mezofilnych w wodzie do picia nie powinna przekraczać 50 jtk/cm³, w około 70 % próbek normy te nie zostały spełnione. W osiemnastu próbkach (50 %) ich liczba ponad pięciokrotnie przekracza dopuszczalne wartości. Największe wartości odnotowano w 156 i 160 dobie odpowiednio 2970 jtk/cm³ i 2880 jtk/cm³, wzrosty te były jednak poprzedzone zwiększoną liczebnością bakterii mezofilnych w wodzie wodociągowej zasilającej układ. W okresie od 139 do 153 liczba bakterii mezofilnych w wodzie wodociągowej wahała się w zakresie 15 – 61 jtk/cm³ i były to największe wartości w całym okresie prowadzenia badań zarówno dla pierwszej jak i drugiej serii. Wprowadzenie tak dużej ilości bakterii do układu mogło się przyczynić do zmian stosunków ilościowych w bioróżnorodności organizmów zasiedlających biofilm. Pomimo, że bakterie mezofilne są obce dla środowiska wody wodociągowej i ich zdecydowana większość nie przechodzi w nim swojego cyklu życiowego mogą one osiadać w błonie biologicznej i będąc chronione przez pozostałe organizmy obrostu znacznie wydłużyć swoją przeżywalność w danym środowisku [26,65,92].



Rysunek 32. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony



Rysunek 33. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony

Wykonane badania wykazały duże przekroczenia wartości normatywnych jakości mikrobiologicznej wody w przypadku bakterii mezofilnych, co stanowi duże zagrożenie dla odbiorców wody z powodu prawdopodobieństwa występowania wśród nich bakterii chorobotwórczych. Ich obecność w błonie biologicznej stanowi również duże zagrożenie dla materiału, z jakiego wykonany jest rurociąg, gdyż wśród nich mogą licznie występować bakterie o bogatym wyposażeniu enzymatycznym, czym charakteryzują się np. bakterie glebowe. Może się to przyczynić do intensyfikacji procesów korozji mikrobiologicznej a w efekcie do pogorszenia jakości wody dostarczanej odbiorcom.

3.2.1.2. Wybrane parametry fizyczno-chemiczne

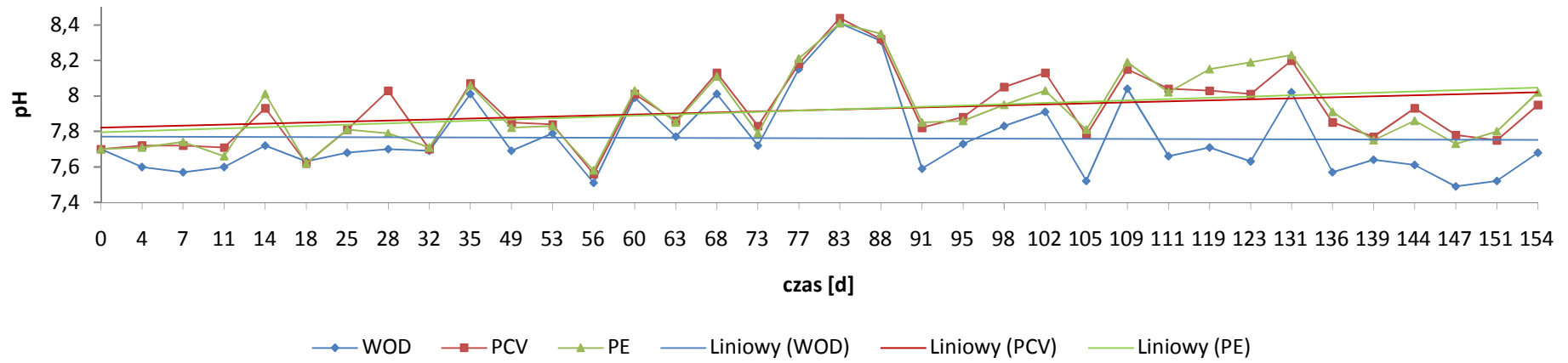
W okresie badań, dwukrotnie w tygodniu pobierano do analizy próbki wody i określano zmiany pH oraz stężenia: OWO, azotu amonowego, azotu azotynowego, azotu azotanowego i ortofosforanów.

Zakres wahań odczynu wody wodociągowej zasilającej reaktory mieścił się w granicy pH 7,49 – 8,41, co mieści się w dopuszczalnym zakresie 6,5-9,5. Prowadzony pomiar pH wykazał, że przez cały okres badań odczyn wody odpływającej z reaktorów był wyższy w stosunku do odczynu wody zasilającej dla wszystkich badanych polimerów.

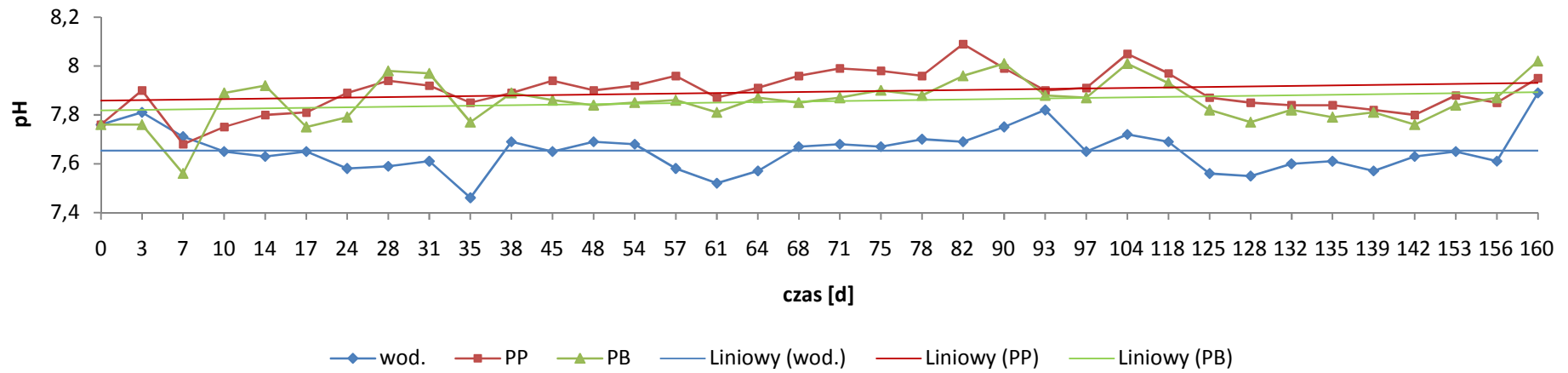
Maksymalną wartość przyrostu pH dla PCV zaobserwowano w 111 dobie i wynosiło ono 8,04 i 123 dobie 8,01, podczas gdy odczyn wody wodociągowej wynosił odpowiednio 7,66 i 7,63. Natomiast w przypadku PE najwyższy wzrost odczynu wody w stosunku do wody wodociągowej zaobserwowano w 123 dobie, kiedy to nastąpił wzrost z 7,63 na 8,19.

W badaniach prowadzonych dla polipropylenu i polibutyleny przy pH wody wodociągowej w zakresie 7,46 – 7,89, w wodzie odprowadzanej z reaktora zawierającego polipropylene odczyn wahał się w granicach 7,68 – 8,09, natomiast dla reaktora z polibutylenem 7,56 – 8,02. Stanowiło to przyrost wartości odczynu od 0,06 do 0,4 wody z reaktorów zawierających PP i PB w stosunku do wody dopływającej.

W siódmej dobie dla obu reaktorów zaobserwowano spadek wartości pH wody zarówno wodociągowej jak i odpływających z reaktorów, były to jednak nieznaczne zmiany, których wartości mieściły się w granicach błędu metody. W przypadku obu badanych polimerów syntetycznych zaobserwowano istotny ich wpływ na odczyn wody. Za wzrost odczynu wody mogą być odpowiedzialne stabilizatory, plastyfikatory, antystatki i inne substancje wykorzystywane przy produkcji rurociągów z tworzyw sztucznych wypłukiwane lub uwalniane w wyniku biokorozji [93].



Rysunek 34. Zmiany pH wody wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie prowadzenia badań



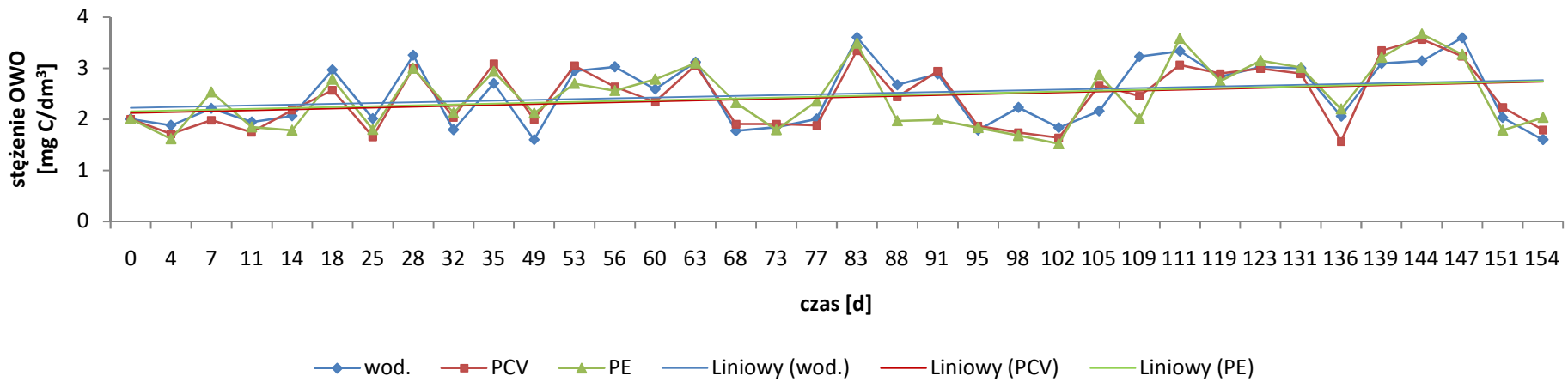
Rysunek 35. Zmiany pH wody wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie prowadzenia badań

W celu określenia wpływu obecności „biogenów” zawartych w wodzie na wzrost mikroorganizmów, kontrolowano stężenie ogólnego węgla organicznego oraz nieorganiczne połączenia azotu (amoniowego, azotynowego, azotanowego) i fosforu (ortofosforany) w wodzie dopływającej oraz odpływającej z reaktorów z polimerami.

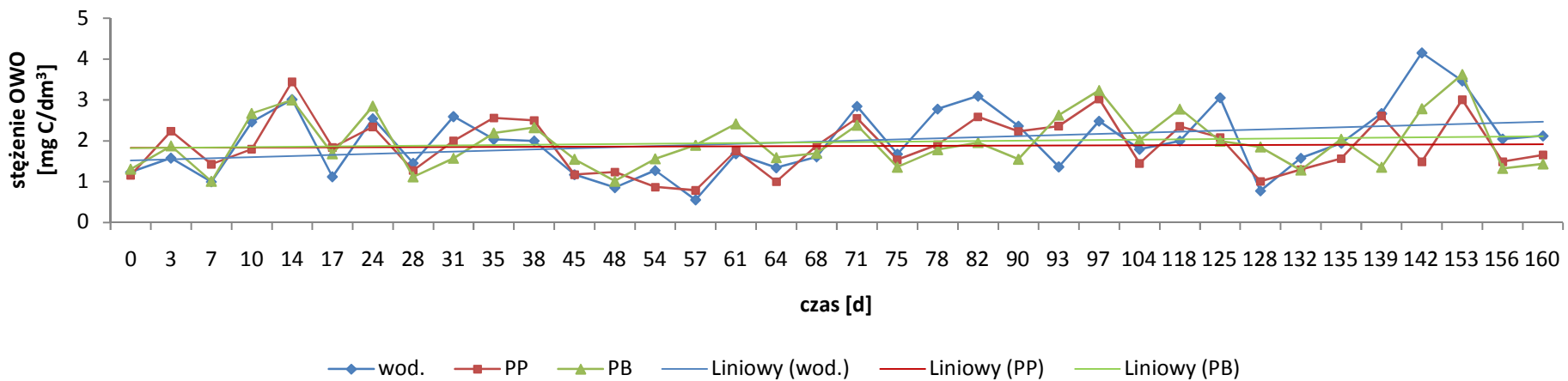
Woda wodociągowa zasilająca reaktory zawierające próbki badanych materiałów polimerowych nie wykazywała zwiększonej ponad normatywne ilości węgla organicznego. Dla badań prowadzonych z polichlorkiem winylu i polietylenem mieściła się w ilościach 1,598 – 3,601 mg C/dm³ co dało średnią wartość 2,494 mg C/dm³, a w przypadku badań z polipropylenem i polibutylenem 0,550 – 4,150 mg C/dm³ dając średnią wartość 1,987 mg C/dm³.

Stężenie ogólnego węgla organicznego dla wód kontaktujących się z PCV i PE osiągały bardzo zbliżone wartości, dla polichlorku winylu mieściły się one w zakresie 1,562 – 3,562 mg C/dm³, a dla polietylenu 1,521 – 3,667 mg C/dm³. W przypadku reaktora z polimerem chlorku winylu ogólny węgiel organiczny wzrósł w próbkach wody z odpływu w stosunku do wody wodociągowej w 42 % próbek, a dla polietylenu w 44 % (Rys. 36). W drugiej serii badań wartości OWO mieściły się w zakresach 0,784 – 3,442 mg C/dm³ w przypadku próbek mających kontakt z polipropylenem oraz 1,007 – 3,620 mg C/dm³ dla polibutyleny. Podobnie jak dla pierwszej serii woda odpływająca z reaktora zawierającego polipropylen zawierała w około 40 % próbek zwiększone ilości OWO niż w wodzie wodociągowej. W przypadku polibutyleny ich ilość wzrosła do 58 % (Rys. 37).

Analizy OWO w wodach dopływających i odpływających wykazały tendencję spadkową dla wody mającej kontakt z polipropylenem i polibutylenem, podczas gdy w wodzie wodociągowej zasilającej reaktory odnotowano spadek, jednak są to bardzo niewielkie zmiany, mieszczące się w granicy błędów. W przypadku badań z udziałem polichlorku winylu i polietylenu stwierdzono wzrost stężenia węgla organicznego w wodzie, zmiany te w dużym stopniu pokrywały się z wartościami dla wody wodociągowej. Stąd należy przypuszczać, że drobnoustroje uwalniane z wiązek organicznych i przy stosowanej metodzie oznaczeń nie udało się uchwycić istotnych różnic.



Rysunek 36. Zmiany stężenia OWO w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie



Rysunek 37. Zmiany stężenia OWO w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie

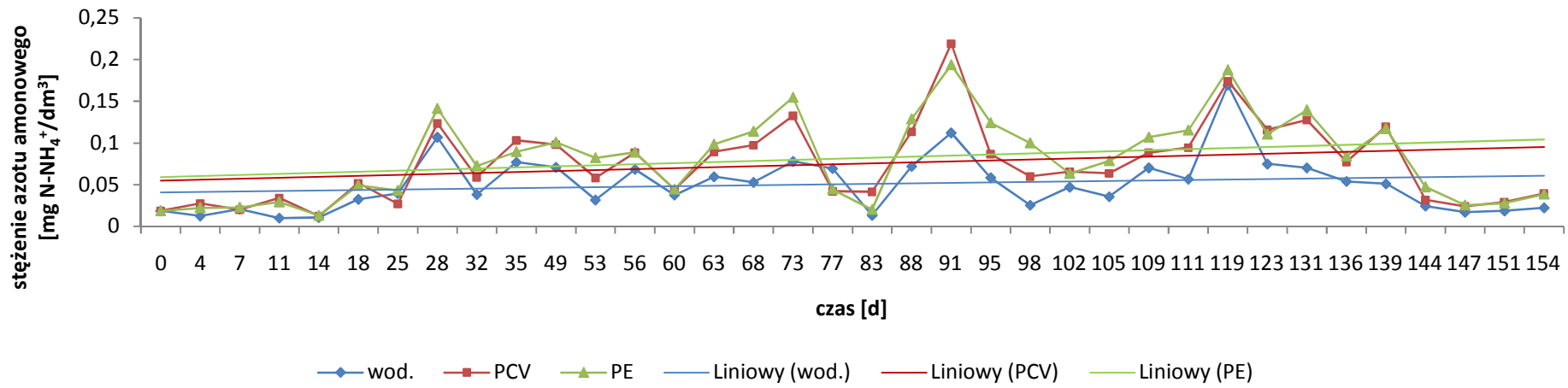
Kontrolowano również zmiany stężenia form azotu: amonowego, azotynowego i azotanowego. W przypadku wszystkich badanych nieorganicznych form azotu nie zaobserwowano wzrostu ponad wartości normatywne. Azot amonowy nie przekroczył $0,5 \text{ mg NH}_4^+/\text{dm}^3$, azot azotynowy $0,2 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{dm}^3$ ($0,5 \text{ mg NO}_2^-/\text{dm}^3$) oraz azot azotanowy $11,3 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{dm}^3$ ($50 \text{ mg NO}_3^-/\text{dm}^3$).

Azot amonowy w wodzie zasilającej reaktory z polichlorkiem winylu i polietylenem nie przekraczał $0,17 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{dm}^3$, podczas gdy z reaktora z PCV dochodził do $0,22 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{dm}^3$ a z PE $0,19 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{dm}^3$ (Rys. 38).

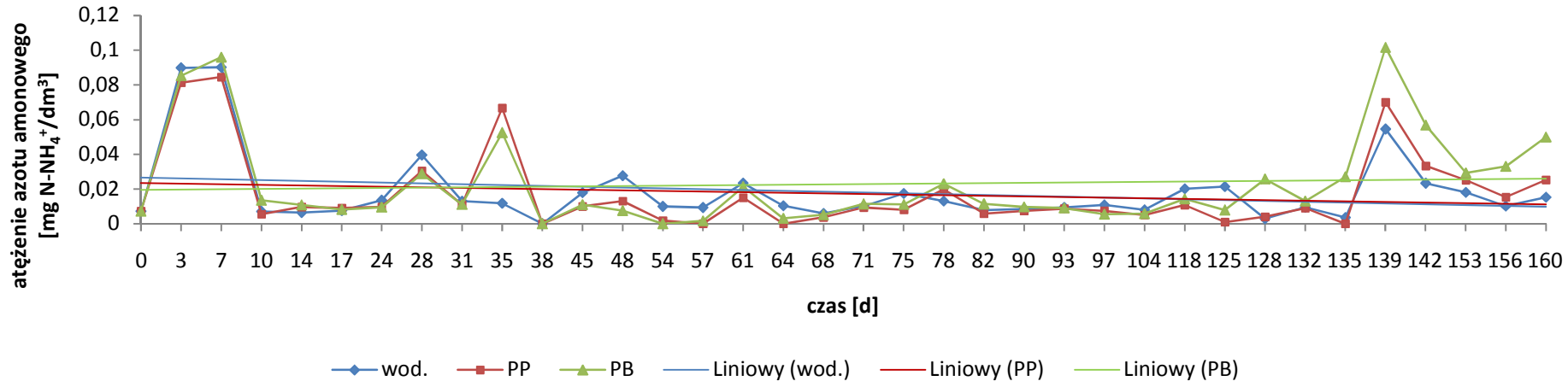
W przypadku polimerów propylenu w około 69% i butylenu w 49% próbek ilość azotu amonowego była mniejsza niż w wodzie zasilającej układ badawczy. Dla próbek wody z odpływu reaktora zawierającego polipropylen zakres stężenia azotu amonowego wynosił $0 - 0,09 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{dm}^3$ a średnie stężenie dla całego okresu badawczego $0,02 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{dm}^3$. Dla polibutylenu nie przekroczył $0,10 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{dm}^3$, przy średniej wartości $0,02 \text{ mg N-NH}_4^+/\text{dm}^3$. Okresowo obserwowano wzrosty azotu w odpływie w stosunku do dopływu, jednak przez większą część pracy układu, bo aż w około 73% wykonanych analiz wykazano ubytek azotu dla reaktora z PP oraz 47% dla PB (Rys. 39).

W przypadku azotu azotynowego dla reaktorów zawierających polichlorek winylu i polietylen przez 80% badań nie stwierdzono obecności tych związków. Dla reaktorów, w których badano polipropylen i polibutylen obserwowane były bardzo duże wahania jednak były to bardzo małe wartości w mieszczące się w granicach błędu metody pomiarowej.

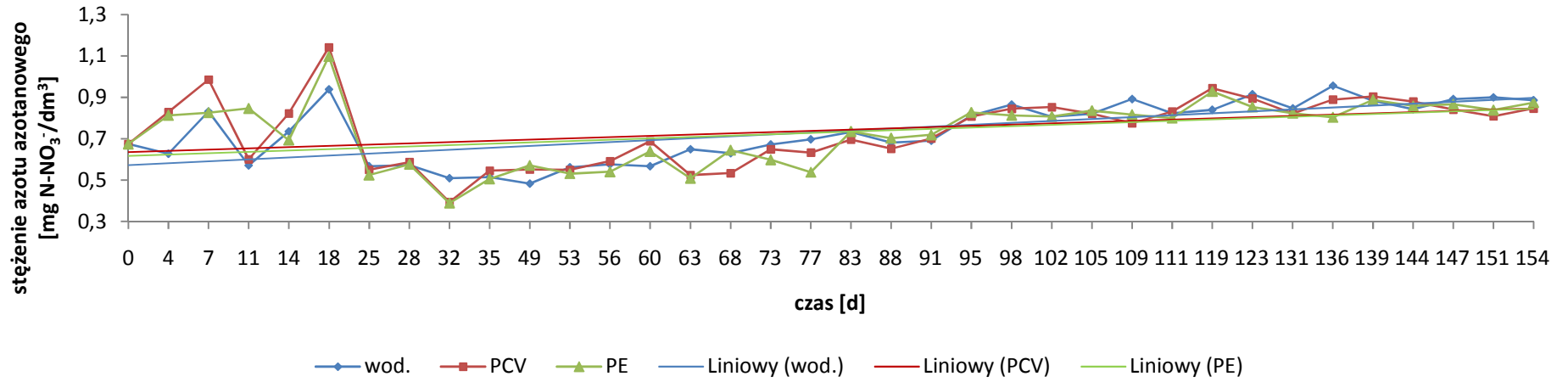
Największe zmiany stężenia wykryto w przypadku azotu azotanowego. Z reaktorów z PCV i PE do 25 doby jego ilość była większa w odpływie niż dopływie. Przez kolejne dni badań sytuacja ulegała ciągłym zmianom, kiedy to przez krótkie okresy (2-3 analizy próbek) stężenie azotu azotanowego w wodzie wodociągowej było większe niż w wodzie z reaktorów poczym następowała zmiana i stężenie było mniejsze niż z reaktora. Minimalna i maksymalna ilość azotu azotanowego w wodzie wodociągowej dla badań z PCV i PE wynosiła $0,48$ i $0,96 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{dm}^3$ a dla badań PP i PB $0,32$ i $1,32 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{dm}^3$. Woda z reaktora z PCV zawierała azot azotanowy w zakresie od $0,39$ do $1,14 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{dm}^3$, dla reaktora z PE $0,39-1,10 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{dm}^3$, dla PP $0,21-1,30 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{dm}^3$ i dla PB $0,25-1,83 \text{ mg N-NO}_3^-/\text{dm}^3$ (Rys. 39, 40).



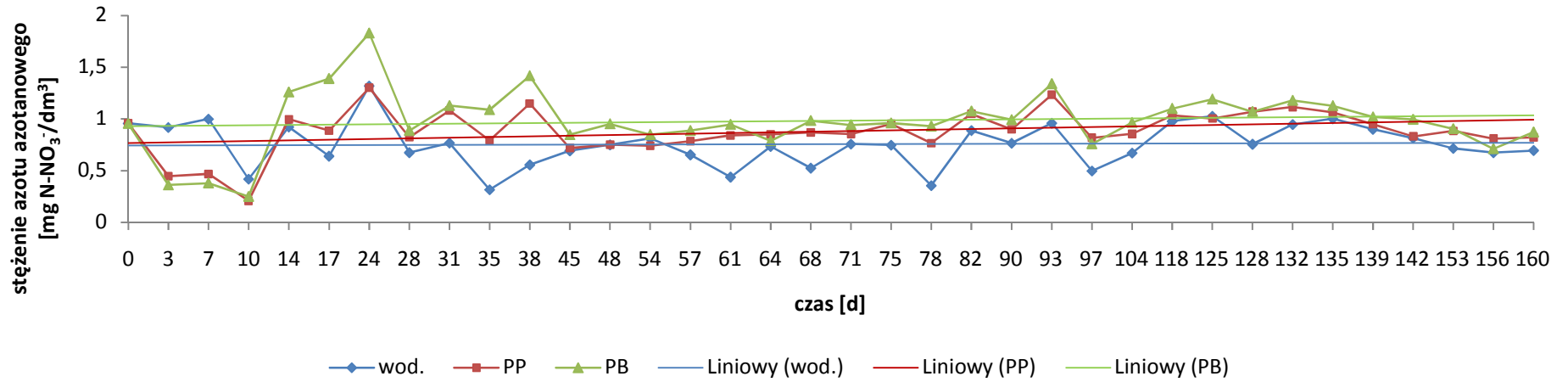
Rysunek 38. Zmiany stężenia azotu amonowego w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie



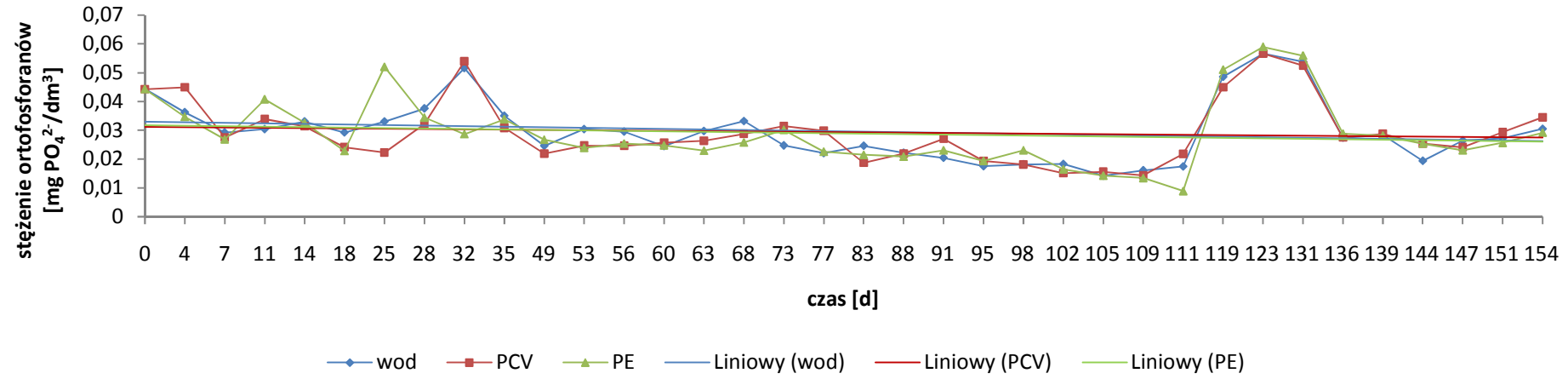
Rysunek 39. Zmiany stężenia azotu amonowego w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie



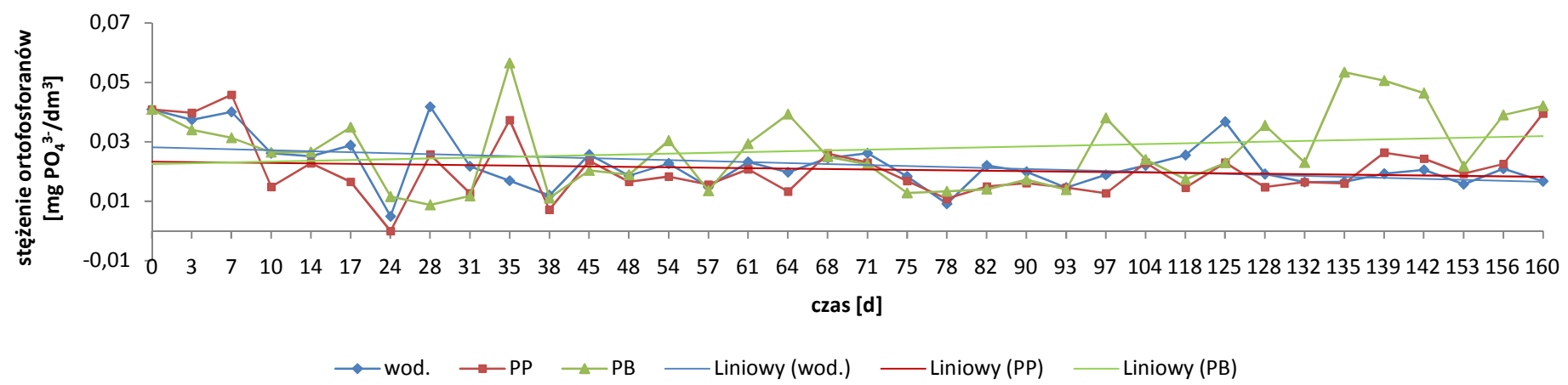
Rysunek 40. Zmiany stężenia azotu azotanowego w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie



Rysunek 41. Zmiany stężenia azotu azotanowego w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie



Rysunek 42. Zmiany stężenia ortofosforanów w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie



Rysunek 43. Zmiany stężenia ortofosforanów w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie

Fosfor nieorganiczny przyswajany jest ze środowiska w formie ortofosforanów. Prowadzone badania wykazały śladowe ilości ortofosforanów w wodzie wodociągowej, ich stężenia wahały się od 0,01 – 0,26 mg $\text{PO}_4^{-3}/\text{dm}^3$.

W przypadku próbek rurociągów wykonanych z PCV, PE i PP obserwowano tendencję spadkową (linia trendu) stężenia ortofosforanów w wodzie odpływającej z reaktorów, z wyjątkiem PB, gdzie obserwowano wzrost. Należy jednak pamiętać, że były to bardzo nieznaczne wahania mieszczące się w granicy błędu zastosowanej metody. Stężenie fosforanów w wodach odpływających z reaktorów uzyskiwało wartości z zakresu 0,01 – 0,15 mg $\text{PO}_4^{-3}/\text{dm}^3$ (Rys. 42, 43).

W przeprowadzonych badaniach zaobserwowano tendencję wzrostową odczynu wody odpływającej z reaktorów zarówno w pierwszej jak i w drugiej serii. Ponieważ zwiększony odczyn wody mógłby spowodowany wypłukiwaniem się z materiałów polimerowych komponentów, można przypuszczać że w miarę wydłużania czasu eksploatacji rurociągu może to ulec zmianie.

W przypadku stężenia OWO w próbkach z reaktorów w pierwszej serii (PCV, PE) nie stwierdzono znaczących zmian w stosunku do wody wodociągowej. Jednak już w drugiej serii ilość węgla organicznego w próbkach wody wykazywała tendencję spadkową, co było wyraźnie widoczne zwłaszcza po 60 dobie. W pierwszych dniach pracy układu ilość OWO w próbkach z reaktorów była nieco wyższa niż w wodzie wodociągowej. Jednak od 60 doby do końca pracy układu stwierdzono zmniejszającą się ilość ogólnego węgla organicznego w próbkach z reaktorów podczas gdy w wodzie wodociągowej ta ilość wzrastała. Powodem tego mogły być procesy zachodzące podczas tworzenia obrostu. W początkowym stadium węgiel organiczny nie był w pełni przyswajany oraz sama błona biologiczna mogła być źródłem węgla organicznego dla drobnoustrojów. Jednak z czasem zapotrzebowanie na źródła węgla i energii wzrastało, z uwagi na przyrost liczby bakterii tworzących biofilm stąd przyswajalność węgla z wody wodociągowej znacznie wzrosła.

W przypadku stężenia azotu amonowego i azotanowego zauważono tendencję wzrostową, jednak bardzo dyskretną. Najprawdopodobniej czas prowadzenia badań nie był wystarczający do uformowania na tyle dojrzałej formy biofilmu, aby mógł on znacząco oddziaływać na jakość wody.

3.2.2. Ocena wpływu wybranych polimerów na jakość wody w układach zasilanych wodą uzdatnioną nie dezynfekowaną (mikrostat)

Badania prowadzono w celu określenia podatności materiałów polimerowych, stosowanych do produkcji rurociągów, na zasiedlanie ich przez drobnoustroje obecne w wodzie uzdatnionej przed poddaniem jej procesowi dezynfekcji i wprowadzeniem do systemu dystrybucji. Kontrolowano również wpływ potencjalnie wytworzonej błony biologicznej na jakość mikrobiologiczną wody. Po zakończeniu eksperymentu obecność obrostów biologicznych potwierdzono na drodze analizy zdjęć z mikroskopu elektronowego. Doświadczenie prowadzono z wykorzystaniem mikrostatu umieszczonego w ciągu technologicznym wrocławskiego zakładu uzdatniania wody przy ulicy Na Grobli. Układ badawczy zasilany był wodą uzdatnioną w procesach: odżelaziania i odmanganiania, filtracji na filtrach piaskowych, ozonowania i filtracji przez złoża węgla aktywowanego przy prędkości przepływu 0,2 m/s. Materiały eksponowano przez 140 dni w przypadku polichloru winylu i 141 dla polietylenu. W wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu analizowano, dwa razy w tygodniu liczbę bakterii psychrofilnych oraz mezofilnych, zmiany pH i stężeń OWO, azotu amonowego, azotu azotynowego i azotu azotanowego i ortofosforanów.

3.2.2.1. Badania mikrobiologiczne

Przeprowadzone badania miały na celu sprawdzenie podatności polichloru winylu i polietylenu, jako materiałów najbardziej rozpowszechnionych w stosowaniu do dystrybucji wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, na osadzanie się na ich powierzchniach drobnoustrojów, które mogą być obecne w wodzie wprowadzanej do systemu dystrybucji w wyniku niedoskonałości procesu dezynfekcji. Proces dezynfekcji, jako niezapewniający sterylności wody, a jedynie obniżenie liczebności form wegetatywnych drobnoustrojów jedynie obniża stopień wtórnego zanieczyszczenia a nie eliminuje go całkowicie.

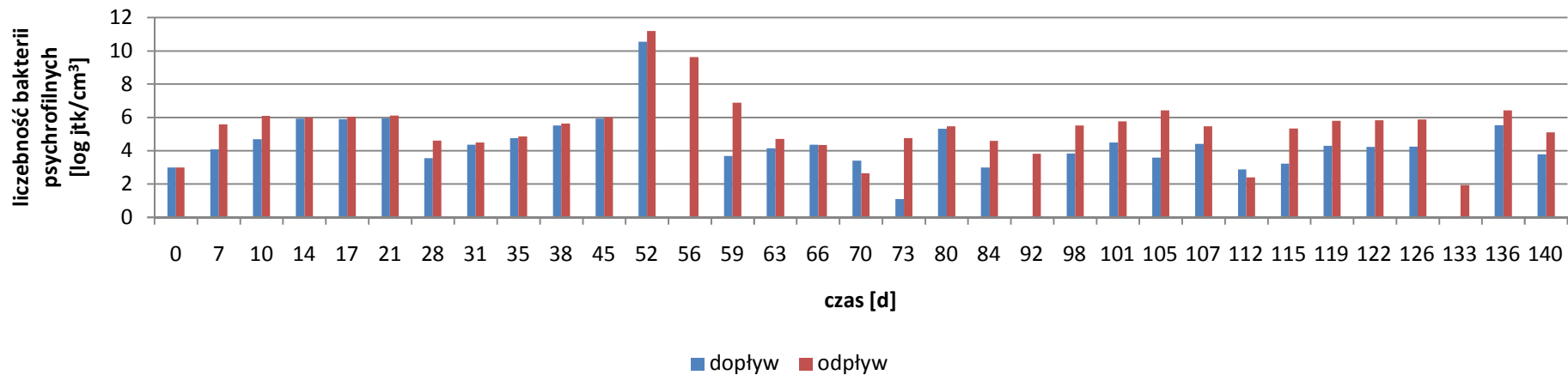
Do kontroli ilościowej bakterii zastosowano dwa podłoża, agar odżywczy jako standardowe podłoże wykorzystywane do sprawdzania jakości mikrobiologicznej wody przeznaczonej do spożycia przed ludźmi oraz dodatkowo podłoże R2A przeznaczone przede wszystkim dla bakterii uszkodzonych w wyniku kontaktu ze związkami chemicznymi, gdyż jego bogaty skład zapewnia detoksykację uszkodzonych komórek i ich pełny powrót do funkcji życiowych.

Woda zasilająca układ pomimo iż nie była poddana procesowi dezynfekcji charakteryzowała się dobrą jakością mikrobiologiczną w obu seriach (PCV, PE), co z jednej strony może świadczyć o dobrej jakości wody pobieranej, a z drugiej strony wysokiej skuteczności stosowanych zabiegów technologicznych składających się na proces jej uzdatniania. W badaniach podatności na obrosty biologiczne PCV porównując jej parametry do wymagań wody dostarczanej odbiorcom mieściła się ona w wartościach normowanych w przypadku 70 % próbek. Ilość bakterii psychrofilnych

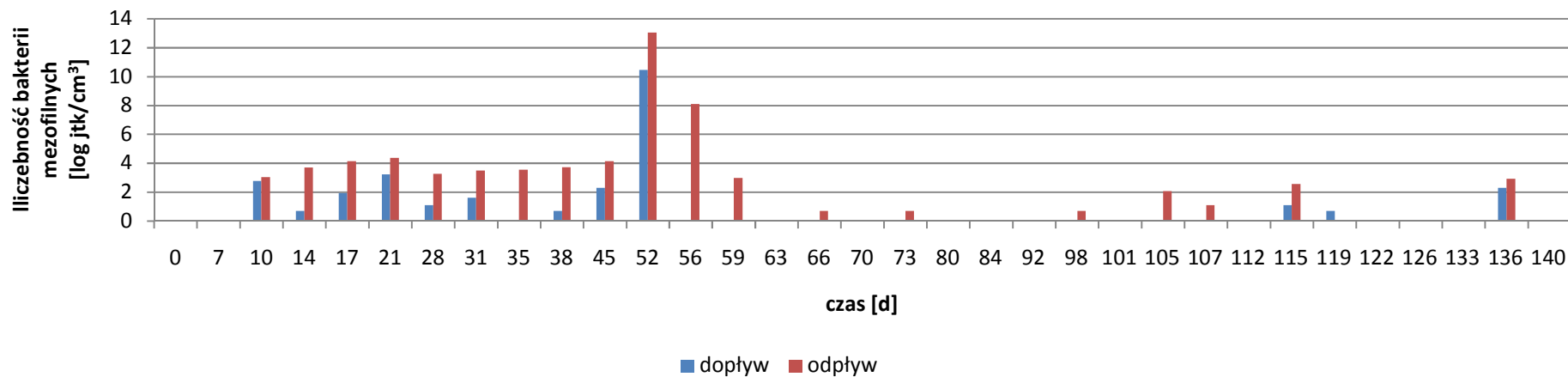
powyżej dopuszczalnych norm (100 jtk/cm^3) stwierdzono jedynie w 10,14,17,21, 35,38,45, 80 i 136 dobie w zakresie wartości $109 - 381 \text{ jtk/cm}^3$. Obecność bakterii mezofilnych w wodzie zasilającej mikrostat zawierający PCV w przedziale $1 - 5 \text{ jtk/cm}^3$ zaobserwowano w 14, 28, 31,38, 56, 66, 80, 98, 107, 115, 119 i 122 dobie, a w ilości powyżej 5 jtk/cm^3 stwierdzono jedynie w 10, 17, 21, 45 i 136 dobie pracy układu badawczego. Jedynie w 52 dobie stwierdzono jednorazowy gwałtowny wzrost liczby bakterii wskazujący na incydent awaryjny kiedy to liczebność drobnoustrojów psychrofilnych wzrosła do 38500 jtk/cm^3 , zaś mezofilnych do 34900 jtk/cm^3 .

Rezultaty analiz mikrobiologicznych wody odpływającej z mikrostatu wykazały stopniowy przyrost bakterii w odpływie, a zatem tworzenia się obrostów biologicznych.

PCV W przypadku bakterii psychrofilnych w wodzie odpływającej z reaktora zawierającego PCV ich liczebność wahała się w granicach $7 - 620 \text{ jtk/cm}^3$. W 52 dobie ich liczba gwałtownie wzrosła do 72800 jtk/cm^3 przy jednoczesnym przekroczeniu liczby 38000 jtk/cm^3 w wodzie dopływającej do mikrostatu. Wynikiem tego było utrzymanie się zwiększonej liczebności bakterii psychrofilnych w próbkach wody odpływającej z reaktorów w kolejnych dobach pracy układu w 56 dobie było to 15000 jtk/cm^3 , a w 59 dobie 980 jtk/cm^3 . Już po siedmiu dobach liczba bakterii w odpływie była pięciokrotnie większa niż w dopływie do układu badawczego i wynosiła odpowiednio 59 i 266 jtk/cm^3 . Przez kolejne dni pomiarów od 10 do 21 doby ich liczebność utrzymywała się na podobnym poziomie około 425 jtk/cm^3 ($403 - 450 \text{ jtk/cm}^3$). W 28 i 31 dobie ich liczebność nie przekroczyła dopuszczalnej wartości dla wody do picia ale już od 35 ponownie wzrastała. Od 35 doby liczebność bakterii wzrastała od 129 jtk/cm^3 do 412 jtk/cm^3 . W okresie od 52 do 59 doby obserwowano znaczny wzrost ich liczby, co było spowodowane zwiększeniem liczebności drobnoustrojów w wodzie zasilającej układ. Od 63 do 70 doby stwierdzono zmniejszanie się liczby bakterii w wodzie od 111 jtk/cm^3 do 14 jtk/cm^3 , po tym okresie przez kolejne dziesięć dni ich liczba zwiększała się i uzyskała wartość 237 w 80 dobie pracy układu. Do zakończenia badań obserwowano okresowo 1-3 dniowe spadki liczebności bakterii psychrofilnych, po których następowały wzrosty ich liczby. Liczebność bakterii od 84 doby do końca badań wahała się w zakresie od 7 jtk/cm^3 (133 d) do 620 jtk/cm^3 (105 i 136 d). Przyrost drobnoustrojów w wodzie odpływającej z mikrostatu w stosunku do wody dopływającej wynosił od 6 do 580 jtk/cm^3 (Rys. 44).



Rysunek 44. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PCV w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony



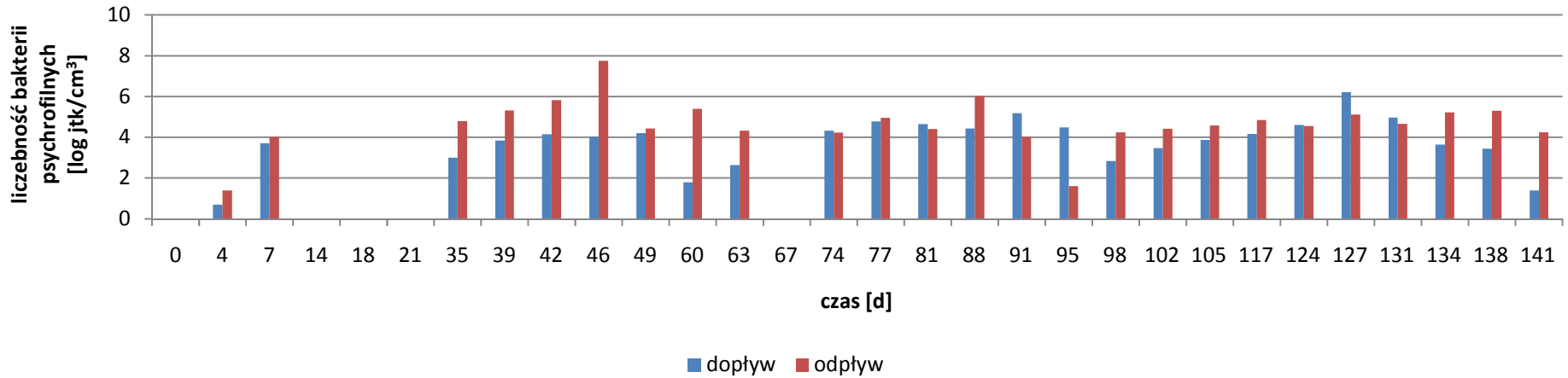
Rysunek 45. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PCV w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony

Największe wahania ilości bakterii mezofilnych w wodzie odpływającej z mikrostatu z polichlorkiem winylu obserwowano w początkowym okresie badań (0 – 45 doby). Do 10 doby, kiedy to ich ilość wyniosła 21 jtk/cm^3 , nie stwierdzono ich obecności. Od 10 do 21 doby ich ilość wzrastała odpowiednio 21, 41, 62 i 79 jtk/cm^3 , przy kolejnym pomiarze stwierdzono zmieszenie ich liczby do 26 jtk/cm^3 , ale już dla kolejnych próbek wody ich liczba ponownie wzrastała do 63 jtk/cm^3 w 45 dobie. Doba 52 to nagły wzrost bakterii mezofilnych w wodzie dopływającej do mikrostatu (34900 jtk/cm^3), dlatego też ich liczba w wodzie odpływającej również znacznie wzrosła, bo aż do 467000 jtk/cm^3 , wysoka liczebność w ilości 3300 jtk/cm^3 utrzymała się do 56 doby. Od 59 doby bakterie mezofilne stwierdzono jedynie w 59 (20 jtk/cm^3), 105 (8 jtk/cm^3), 115 (13 jtk/cm^3) i 136 (19 jtk/cm^3) dobie, w pozostałych próbkach ich liczba nie przekroczyła 3 jtk/cm^3 (granica błędu metody 5 jtk/cm^3). Obecność drobnoustrojów mezofilnych stwierdzono w około 40 % próbek wody z reaktora zawierającego polichlorkiem winylu (Rys. 45).

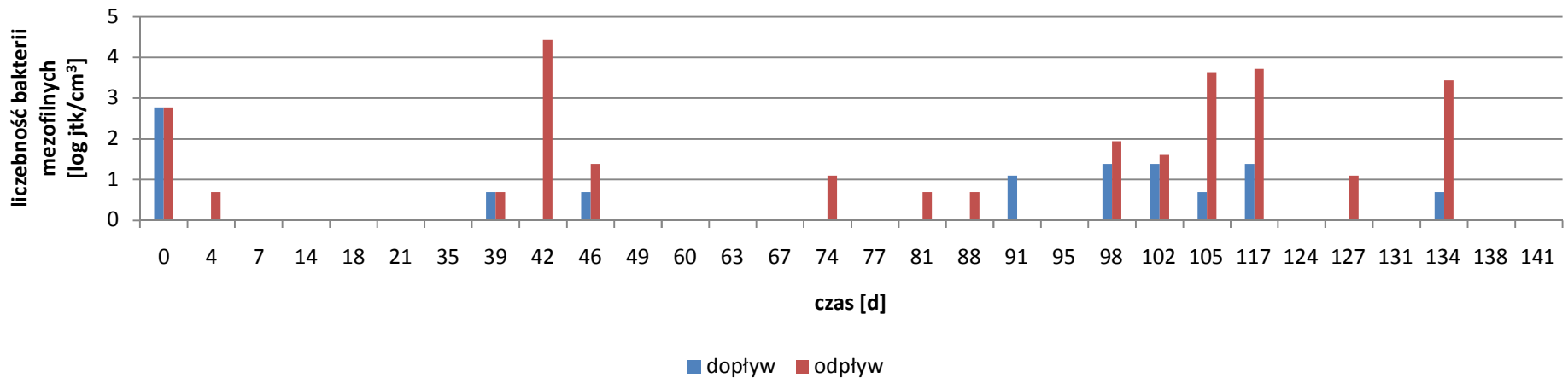
PE W drugiej serii badania poddano polietylen. Liczba bakterii psychrofilnych w dopływie wahała się w zakresie od 0 do 498 jtk/cm^3 i w 83 % ich liczba nie przekroczyła 100 jtk/cm^3 , a w 20 % próbek ich liczebność określono poniżej 5 jtk/cm^3 . Bakterie mezofilne obserwowano jedynie w dobie uruchomienia układu w ilości 16 jtk/cm^3 w pozostałe dni nie stwierdzano ich obecności poza 39, 46, 91, 95, 102, 105, 117 i 134 dobą jednak ich ilość była poniżej 5 jtk/cm^3 , co mieści się w granicy błędu metody.

Liczba bakterii psychrofilnych dla badań z PE w odpływie mieściła się w zakresie 4 – 2320 jtk/cm^3 . Brak drobnoustrojów (0 jtk/cm^3) w próbkach stwierdzono jedynie w 0, 14, 18, 21 i 67 dobie. Pierwszy wzrost drobnoustrojów psychrofilnych w próbkach wody odnotowano w 4 (4 jtk/cm^3) i 7 (55 jtk/cm^3) dobie. Przez kolejne doby (do 21d) nie stwierdzono ich obecności i dopiero w 35 ich ilość wzrosła do 120 jtk/cm^3 . W kolejnych próbkach wody obserwowano zwiększającą się liczbę bakterii: 203 jtk/cm^3 (39 d), 340 jtk/cm^3 (42 d) i 2320 jtk/cm^3 (46 d). Od 49 doby liczebność bakterii psychrofilnych ulegała znacznym wahaniom, w wyniku czego nie udało się określić okresów wzrostu oraz spadku ich ilości w wodzie. Przyjmując wartości dopuszczalne ilości bakterii psychrofilnych w wodzie do picia w badanych próbkach nie spełniały one wymagania w około 40 % (Rys. 46).

Bakterie mezofilne (Rys. 47) w ilości powyżej 5 jtk/cm^3 zaobserwowano jedynie w 23 % próbek wody, były to: 0 (16 jtk/cm^3), 42 (84 jtk/cm^3 - maksymalna wartość), 98 (7 jtk/cm^3), 105 (38 jtk/cm^3), 117 (41 jtk/cm^3) i 134 (31 jtk/cm^3) doba pracy układu. W pozostałych przypadkach nie stwierdzono ich obecności lub w ilości poniżej 5 jtk/cm^3 (33 % próbek).



Rysunek 46. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PE w czasie prowadzenia badań – agar wzbożony

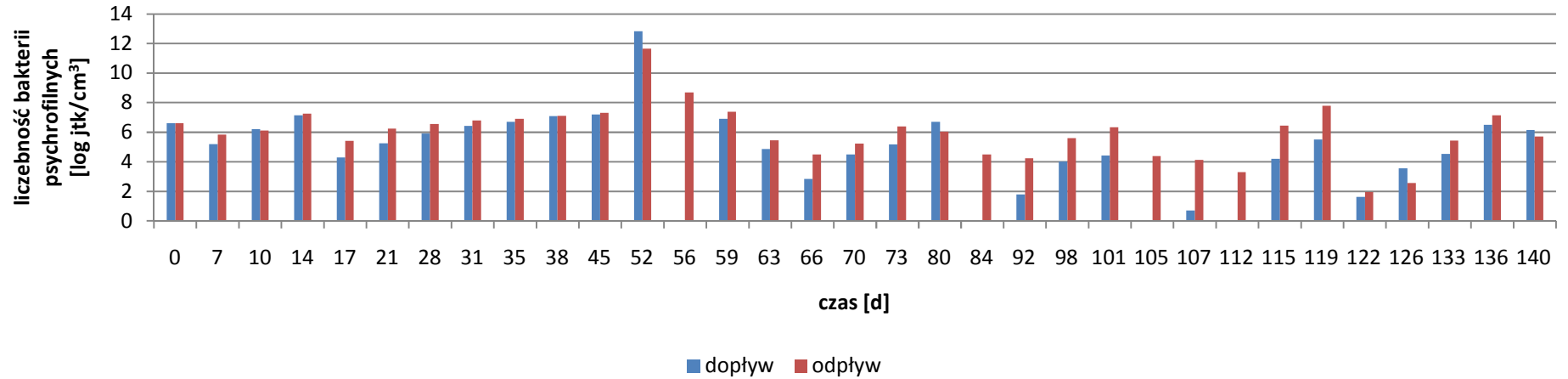


Rysunek 47. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PE w czasie prowadzenia badań – agar wzbożony

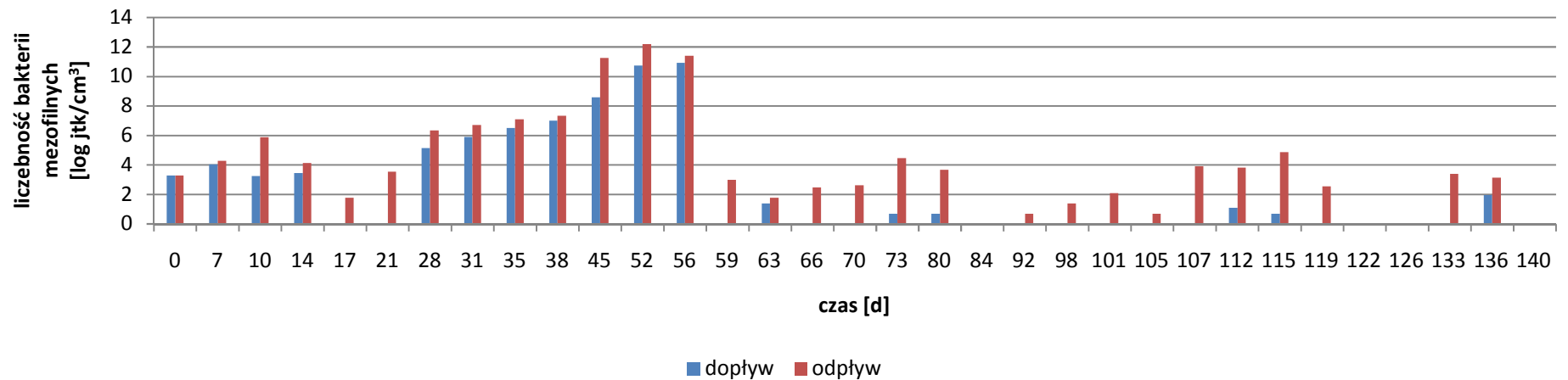
Drugim podłożem mikrobiologicznym wykorzystanym w badaniach była pożywka R2A. Wyniki uzyskane dla tego podłoża wykazywały największe liczebności bakterii zarówno psychrofilnych jak i mezofilnych w wodzie dla obu serii (PCV, PE), w porównaniu do wyników uzyskanych dla agaru odżywczego.

PCV Ilość bakterii psychrofilnych (Rys 48) dopływających do mikrostatu z próbkami PCV wahała się w zakresie 0 – 1340 jtk/cm³ oraz jednorazowo w 52 dobie wzrosło do 378000 jtk/cm³. Brak drobnoustrojów w wodzie stwierdzono jedynie w 56, 84, 105 i 112 dobie (0 jtk/cm³). Porównując jakość mikrobiologiczną wody uzdatnionej nie poddanej procesowi dezynfekcji do wymagań wody przeznaczonej do picia spełniała ona wymagane normy w 46 % próbek, niestety w pozostałych dochodziło do znacznych przekroczeń sięgających nawet 1300 % (trzynasto krotna wartość ilości dopuszczalnej). Bakterie mezofilne wystąpiły w pierwszych dobach (0 -21 d) pracy układu w ilościach 0 – 57 jtk/cm³, jednak już w kolejnych znacznie wzrosła ich liczebność sięgając nawet 5370 jtk/cm³ w 45 dobie. W dwóch próbkach liczebność bakterii wyniosła 46400 jtk/cm³ (52 d) i 55700 jtk/cm³ (56 d) jednak był to pojedynczy incydent. Od 59 doby ilość bakterii mezofilnych nie przekroczyła 4 jtk/cm³ poza 136 d, w której wyniosła 7 jtk/cm³ (Rys 49).

Woda odpływająca z mikrostatu zawierającego próbki PCV zawierała znaczne ilości bakterii psychrofilnych. Ich liczebność wahała się w zakresie 7 – 2450 jtk/cm³ oraz w 52 dobie wystąpił wzrost do 115000 jtk/cm³ spowodowany znaczą ilością bakterii w wodzie dopływającej (378000 jtk/cm³) oraz ich wysoka ilość w kolejnym pomiarze na poziomie 6000 jtk/cm³ w 56 dobie. Obserwowano okresy wzrostu ilości bakterii w wodzie w kolejnych próbkach poddawanych analizie. Już w pierwszych dobach pracy układu zanotowano wzrost od 347 jtk/cm³ (7 d), poprzez 446 jtk/cm³ (10 d) do 1410 jtk/cm³ (14 d). Ponowny wzrost zaobserwowano w kolejnych dobach, od 17 do 45 doby ilość bakterii w wodzie wzrastała od 225 jtk/cm³ do 1480 jtk/cm³. W 52 dobie nastąpił gwałtowny wzrost do 115000 jtk/cm³ spowodowany wysoką liczebnością bakterii w wodzie dopływającej, który utrzymał się w kolejnej dobie jednak naniemiał na mniejszym poziomie 6000 jtk/cm³. W kolejnych dobach pracy układu okresy wzrostu liczebności nie były już tak wyraźne i trwały nie dłużej niż 14 dni. Istotne było, iż po 115 dobie wzrosty te charakteryzowały się bardzo dużymi wahaniami, gdyż wzrost następował np. z 230 jtk/cm³ (133 d) do 1270 jtk/cm³ (136 d) już w kolejnej próbce. W przypadku bakterii mezofilnych ich liczebność w początkowym okresie prowadzenia badań była bardzo wysoka, co było spowodowane ich znaczną liczebnością w wodzie zasilającej mikrostat. Przez pierwsze 21 dni ich liczba wahała się od 6 do 357 jtk/cm³, jednak od 28 doby ich liczba systematycznie wzrastała od 570 jtk/cm³ do 197000 jtk/cm³ w 52 dobie. Wysoka liczebność bakterii psychrofilnych utrzymała się jeszcze w 56 dobie w ilości 90000 jtk/cm³. Od 59 doby ich liczba w wodzie odpływającej z reaktora znacznie zmalała i utrzymała się na poziomie nie przekraczającym 130 jtk/cm³ (115 d). W ostatnich 84 dobach pracy układu badawczego ich brak (0 jtk/cm³) stwierdzono w 20 % próbek, a w 70 % ich liczba mieściła się w dopuszczalnych wartościach dla wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi.



Rysunek 48. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PCV w czasie prowadzenia badań – podłoże R2A

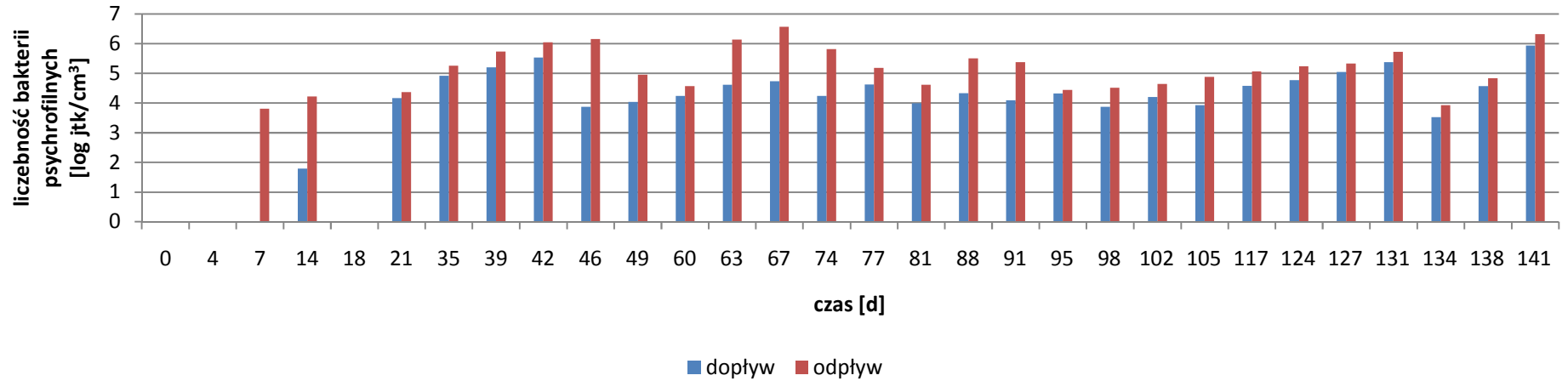


Rysunek 49. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PCV w czasie prowadzenia badań – podłoże R2A

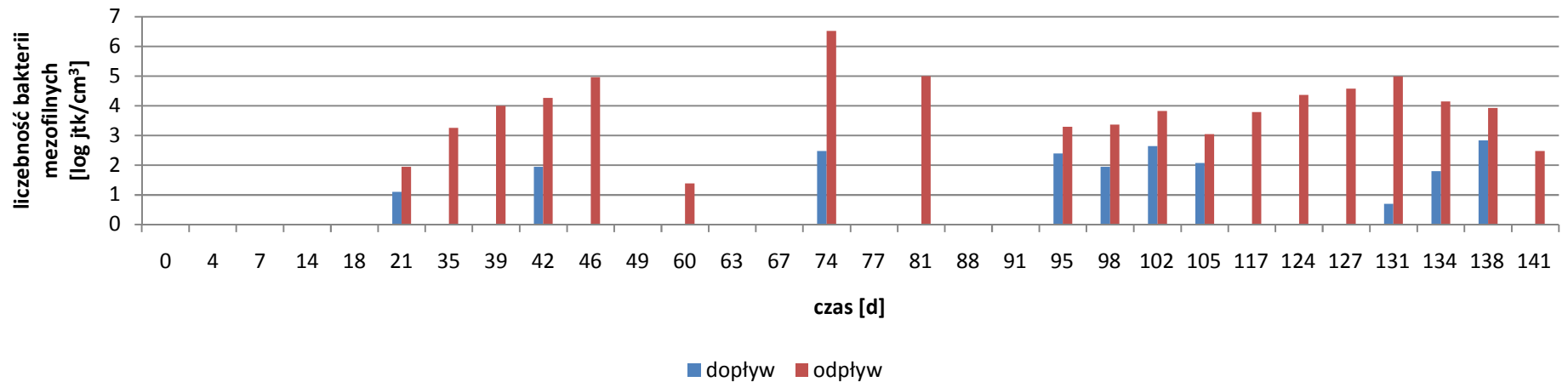
PE Woda zasilająca mikrostat podczas badań z próbką PE również zawierała znaczne ilości bakterii psychrofilnych. Brak ich obecności stwierdzono jedynie w pierwszych osiemnastu dobach pracy układu (0 – 6 jtk/cm³ tylko w 14 dobie). Od 21 do zakończenia badań ich liczebność przyjmowała wartości od 34 – 380 jtk/cm³. Zaobserwowano okresy, w których widoczny był wyraźny wzrost liczby drobnoustrojów w kolejnych próbkach wody. Pierwszy okres od 21 do 42 doby, liczba drobnoustrojów w kolejnych próbkach wody wynosiła 64, 137, 183 i 253 jtk/cm³. Drugi od 46 do 67 doby dla wartości 48, 57, 69, 101 i 114 jtk/cm³. Trzeci okres trwał od 105 (51 jtk/cm³) do 131 (216 jtk/cm³) doby. Ostatnie trzy próbki (134, 138 i 141 doba) również wykazywały regularny wzrost liczebności od 34 do 380 jtk/cm³. Największe wahania w liczbie bakterii psychrofilnych w wodzie zasilającej mikrostan z próbkami polietylenu wykazały analizy przeprowadzone dla próbek wody z okresu od 74 do 102 doby. Porównując jakość mikrobiologiczną wody po procesie uzdatniania z wymaganiami wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi, spełniała ona normy w 73% próbek. W przypadku bakterii mezofilnych ich brak stwierdzono w 60 % próbek wody zasilającej (0 jtk/cm³). W ilości 1 – 3 jtk/cm³ stwierdzono w 0, 21, 39 i 131 dobie, natomiast powyżej 5 jtk/cm³ obserwowano w 8 próbkach (27 %) w zakresie 6 – 17 jtk/cm³. Woda zasilająca układ badawczy dla polietylenu charakteryzowała się bardzo dobrą jakością mikrobiologiczną pod względem obecności bakterii mezofilnych (Rys. 51).

W drugiej serii badań ocenie podatności na powstawanie błony biologicznej i jej wpływu na jakość wody poddawano próbki rurociągów polietylenowych. W 10 % próbek nie stwierdzono obecności bakterii psychrofilnych, a w 30 % ich ilość mieściła się w wartościach dopuszczalnych dla wody do picia. Pozostałe 60 % to próbki, w których liczebność bakterii psychrofilnych była powyżej norm dla wody wodociągowej, ponieważ przyjmowała wartości od 104 jtk/cm³ do 710 jtk/cm³. W czasie badań zaobserwowano dwa okresy, w których stwierdzono systematyczne wzrosty drobnoustrojów psychrofilnych w kolejnych próbkach. Pierwszy odnotowano w początkowej fazie badań, od 21 do 46 doby stwierdzono wzrost ich ilości od 79 jtk/cm³ do 472 jtk/cm³. Drugi od 95 do 131 doby przy liczebności od 85 jtk/cm³ do 306 jtk/cm³. W pozostałych dobach nie zaobserwowano podobnych zależności.

Bakterie mezofilne obecne w wodzie odpływającej z mikrostatu wahały się w zakresie 0 – 680 jtk/cm³. W 33 % próbek nie stwierdzono ich obecności, w 7 % ich liczebność była na granicy błędu metody (1 jtk/cm³ – 0 d, 4 jtk/cm³ – 60 d). Od 35 do 49 doby ich liczebność w wodzie wzrastała odpowiednio 26, 55, 71 i 143 jtk/cm³ w kolejnych próbkach. Następnie nie stwierdzono ich obecności do 91 doby, poza 74 kiedy to ich ilość wynosiła 680 jtk/cm³ i 81 dobą 148 jtk/cm³. Od 95 do 102 ich liczba utrzymała się na poziomie 27 – 46 jtk/cm³, a od 105 do 131 doby wzrastała w przedziale 21 – 147 jtk/cm³.



Rysunek 50. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PE w czasie prowadzenia badań – podłoże R2A



Rysunek 51. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PE w czasie prowadzenia badań – podłoże R2A

W badaniach obserwowano okresowe wzrosty ilości bakterii psychrofilnych i mezofilnych w próbkach wody odpływającej z mikrostatu zarówno dla polimeru chlorku winylu jak i etylenu. Zjawisko to mogło być spowodowane odrywaniem się całych fragmentów obrostu powstałego na powierzchni badanego polimeru.

Woda zasilająca układ badawczy nie była poddawana procesowi dezynfekcji, wynikiem tego mogło być szybsze powstawanie dojrzałego obrostu, co dowodzi utrzymywanie się znacznej liczebności drobnoustrojów w wodzie odpływającej z reaktorów w znacznej ilości próbek.

Zastosowanie dwóch podłoży o różnym składzie wykazało znaczącą przewagę w wodzie „wodociągowej” mikroorganizmów o wyższych wymaganiach wzrostowych. Dowodzą tego większe liczebności drobnoustrojów na podłożu R2A niż agarze odżywczym dla tych samych próbek wody. W przypadku bakterii psychrofilnych w 61 % próbek wody z dopływu i 76 % próbek z odpływu ilość koloni bakterii wyrosłych na podłożu R2A była większa niż na agarze odżywczym w pierwszej serii badań (badania z PCV). Przyrost ten wahał się w zakresie 100 – 9100 % . Przykładem może być 59 doba, kiedy to na agarze odżywczym uzyskano wynik 40 jtk/cm³ a na podłożu R2A 1000 jtk/cm³ w dopływie, natomiast w odpływie odpowiednio 980 jtk/cm³ oraz 1610 jtk/cm³. Jeszcze większe różnice uzyskano dla bakterii mezofilnych w początkowym okresie badań (0-56 doby), w około 85 % próbek na podłożu R2A wyrosło znacznie więcej koloni bakterii niż na agarze odżywczym zarówno dla dopływu jak i odpływu z mikrostatu. Podczas gdy na agarze ilości bakterii nie przekraczała 100 jtk/cm³ (poza 52 i 56 dobą, kiedy nastąpił znaczny wzrost, najprawdopodobniej spowodowany awarią) dla tych samych próbek na podłożu R2A ich liczba osiągała wartości nawet do około 70000 jtk/cm³.

Podobne wyniki uzyskano dla drugiej serii badań (z PE). Dla bakterii psychrofilnych w dopływie większe liczebności na podłożu R2A obserwowano w 60 % próbek, a dla odpływu w 70 % . Największą różnicę zaobserwowano w 141 dobie, kiedy w dopływie na agarze odżywczym ilość bakterii psychrofilnych wynosiła 4 jtk/cm³, a na R2A aż 380 jtk/cm³, a dla odpływu odpowiednio 70 jtk/cm³ i 557 jtk/cm³. Bakterie mezofilne nie zostały wykryte w 67 % próbek wody zasilającej mikrostat, jednak na podłożu R2A w 25 % z nich uzyskano pozytywny wynik obecności drobnoustrojów. W przypadku odpływu wyższe wartości liczebności mikroorganizmów w przypadku zastosowania podłoża R2A uzyskano w 57 % próbek. Przykładem może być 74 doba, w dopływie na agarze nie stwierdzono obecności bakterii natomiast na R2A 12 jtk/cm³, natomiast dla odpływu na agarze ich liczba wynosiła 3 jtk/cm³ a na podłożu R2A 682 jtk/cm³.

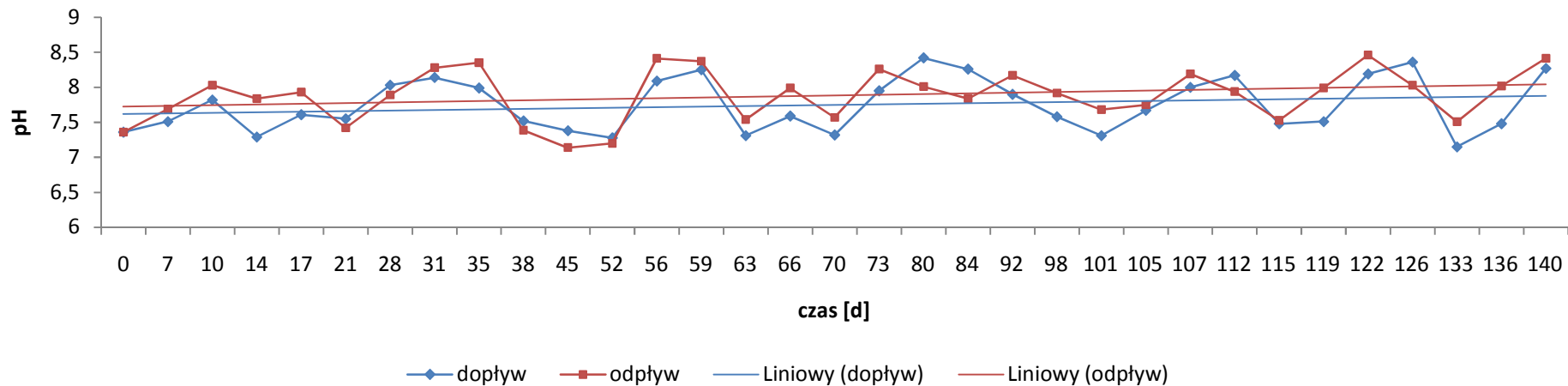
Bogate w składniki odżywcze podłoże R2A może sugerować obecność drobnoustrojów o większych wymaganiach wzrostowych, które w środowisku błony biologicznej mogą stanowić dodatkowe zagrożenie.

3.2.2.2. Wybrane parametry fizyczno-chemiczne

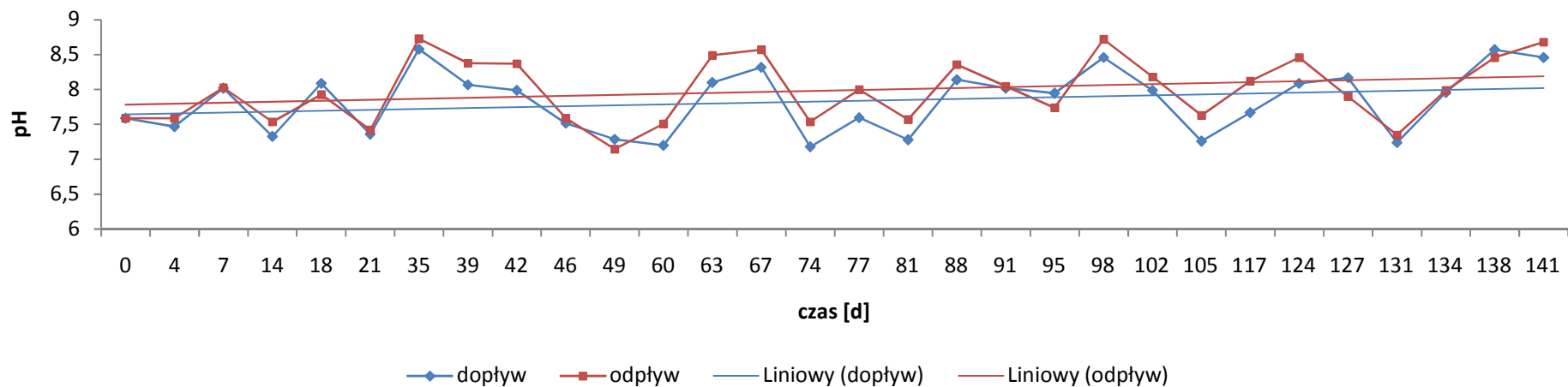
Równocześnie z analizami mikrobiologicznymi w okresie badawczym trwającym 140 dni dla mikrostatu zawierającego próbki PCV i 141 dni dla PE badano zmiany pH oraz stężeń: OWO, azotu amonowego, azotu azotynowego, azotu azotanowego oraz ortofosforanów.

Zakres wahań odczynu wody uzdatnionej zasilającej mikrostat mieścił się w granicy pH 7,15 – 8,58 dla obu serii. Prowadzony pomiar pH wykazał, że dla pierwszej serii odczyn wody w odpływie był wyższy niż w dopływie w około 70 % próbek, a w drugiej nawet 80 %. Dla pierwszej serii maksymalny przyrost wartości o 0,55 stwierdzono w 14 dobie (Rys. 52), natomiast dla drugiej o wartości 0,45 w 117 dobie (Rys. 53).

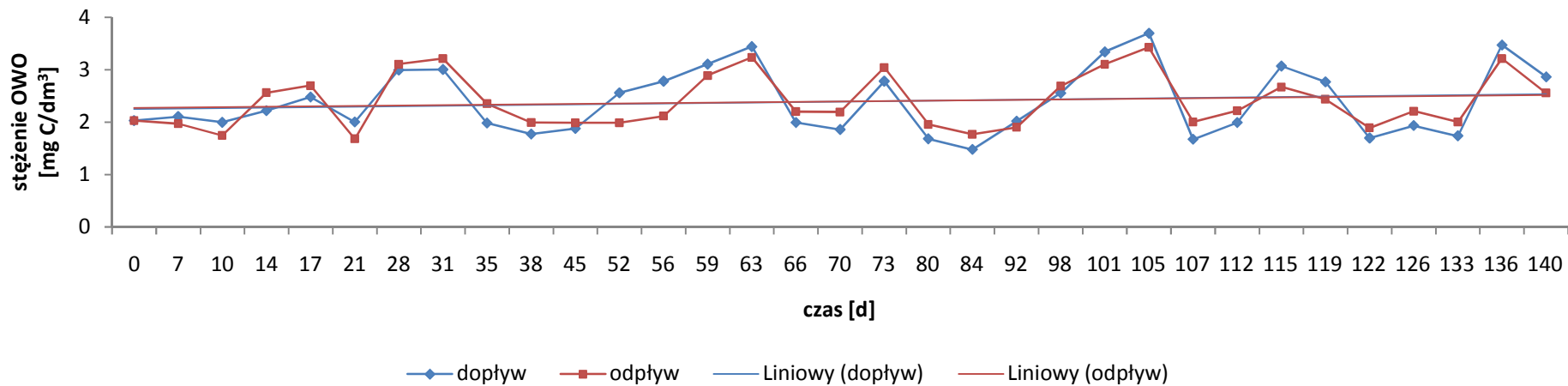
W celu sprawdzenia wpływu obecności błony biologicznej powstającej na powierzchni polimerów wykorzystywanych do dystrybucji wody do picia na zawartość związków organicznych w wodzie, kontrolowano stężenia ogólnego węgla organicznego w próbkach wody w kontakcie z PCV i PE. W wodzie uzdatnionej zasilającej mikrostat ilość węgla organicznego wahała się w zakresie 1,479 – 3,695 mg C/dm³ w pierwszej serii (Rys. 54) oraz 1,369 – 3,469 mg C/dm³ w drugiej (Rys. 55). Zwiększona ilość związków organicznych w wodzie po kontakcie z polimerami w porównaniu z wartością początkową zaobserwowano w około 55 % próbek w pierwszej serii oraz 53 % w drugiej.



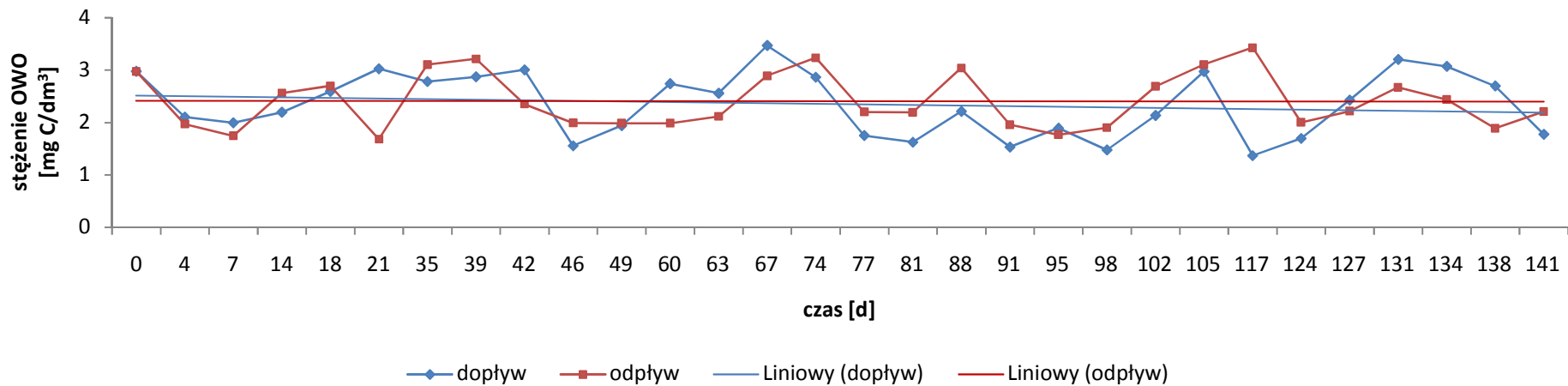
Rysunek 52. Zmiany pH wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PCV w czasie prowadzenia badań



Rysunek 53. Zmiany pH wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PE w czasie prowadzenia badań



Rysunek 54. Zmiany stężenia OWO wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PCV w czasie prowadzenia badań

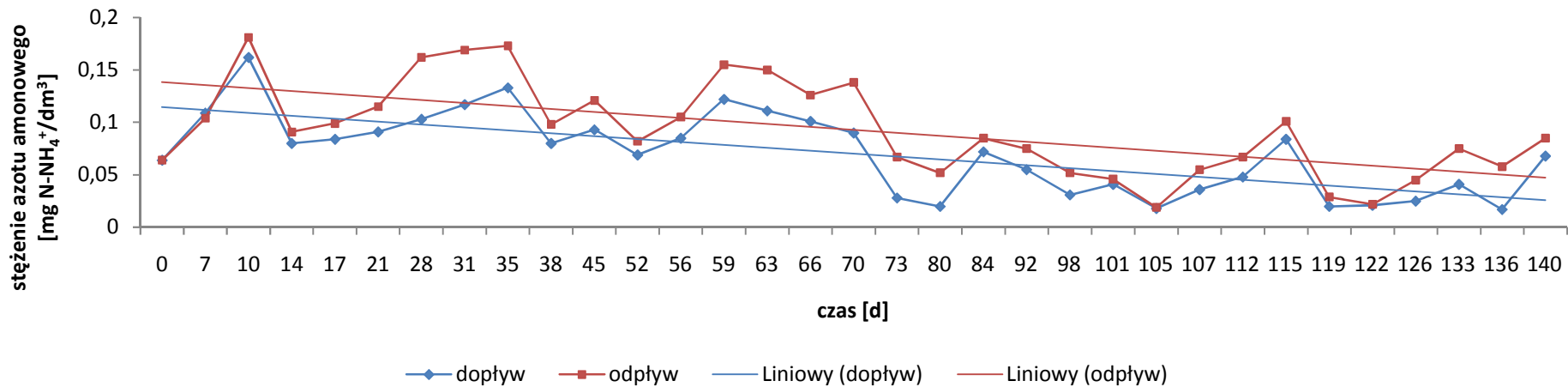


Rysunek 55. Zmiany stężenie OWO wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PE w czasie prowadzenia badań

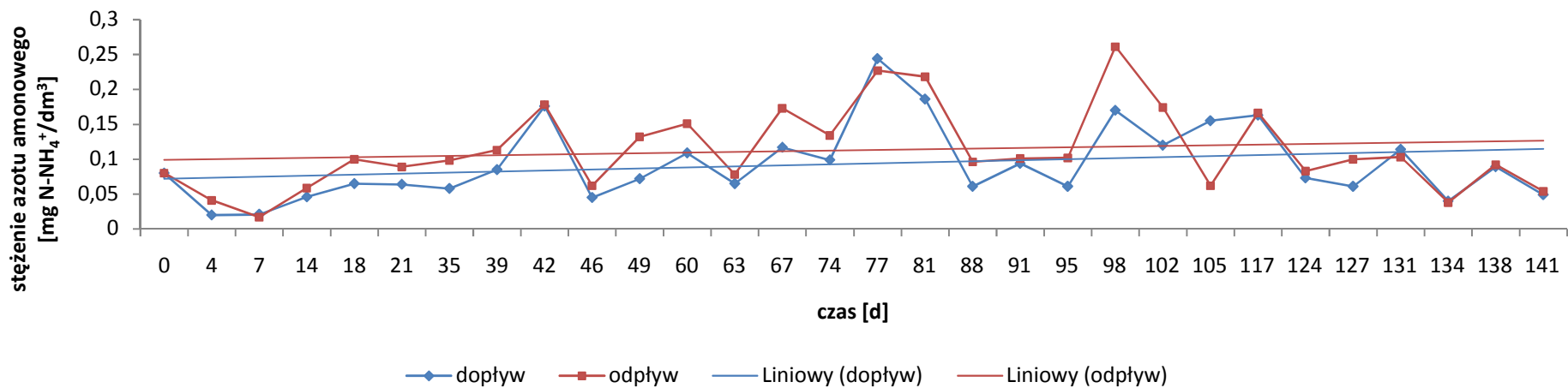
Kontrolowano stężenia nieorganicznych biogennych substancji (azot, fosfor). Azot amonowy występował w niewielkich ilościach zarówno w pierwszej jak i drugiej serii. Stężenia w wodzie uzdatnionej zasilającej mikrostat oraz w wodzie odpływającej z niego przyjmowały zbliżone wartości, a nieznaczne różnice mogły wynikać z błędów pomiarowych metody. Dla pierwszej serii ilości azotu amonowego wahała się w zakresie 0,02 – 0,16 mg N-NH₄⁺/dm³ w wodzie uzdatnionej oraz 0,02 – 0,18 mg N-NH₄⁺/dm³ w wodzie po kontakcie z polichlorkiem winylu (Rys. 56). W drugiej, ilości azotu amonowego w dopływie nie przekroczyły 0,24 mg N-NH₄⁺/dm³, a w odpływie 0,26 mg N-NH₄⁺/dm³ (Rys. 57). Azotu azotynowego nie stwierdzono w próbkach wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu ani w przypadku badań z polichlorkiem winylu ani polietylenem. W przypadku azotu azotanowego jego ilość w wodzie dopływającej do układu wynosiła od 0,38 do 1,09 mg N-NO₃⁻/dm³ dla serii pierwszej (Rys. 58) oraz od 0,46 do 0,91 mg N-NO₃⁻/dm³ dla drugiej (Rys. 59). Podczas całego okresu badawczego z polichlorkiem winylu i polietylenem nie stwierdzono znaczących zmian w stężeniu azotu azotanowego w dopływie i odpływie z mikrostatu, co może świadczyć o niewielkim wpływie błony biologicznej na ten parametr jakościowy zwłaszcza w początkowym etapie tworzenia obrostu mikrobiologicznego.

W zakresie nieorganicznych substancji biogennych obserwowano zmiany ilości ortofosforanów w próbkach wody z przed i po mikrostatie. Zarówno w dopływie jak i odpływie z mikrostatu zawierającego PCV ich ilości były śladowe i mieszczące się w granicy błędów metody (0,01 – 0,04 mg PO₄⁻³/dm³), nieco większe ilości stwierdzono w okresie badawczym dla polietylenu, a mianowicie 0,01 – 0,1 mg PO₄⁻³/dm³ (Rys. 61).

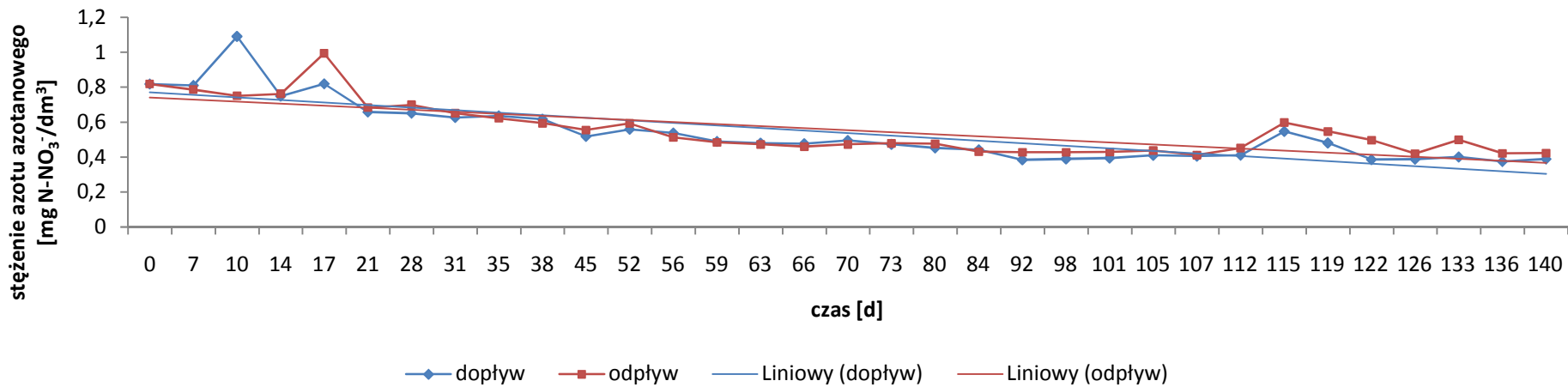
Woda zasilająca układ badawczy z mikrostatem charakteryzowała się wysoką jakością fizyczno-chemiczną. Niewielkie zmiany pomiędzy dopływem i odpływem dla badanych parametrów mogły być wynikiem zbyt małego przyrostu drobnoustrojów w błonie biologicznej przez co nie dochodziło do skażenia wody w wyniku ich działalności metabolicznej.



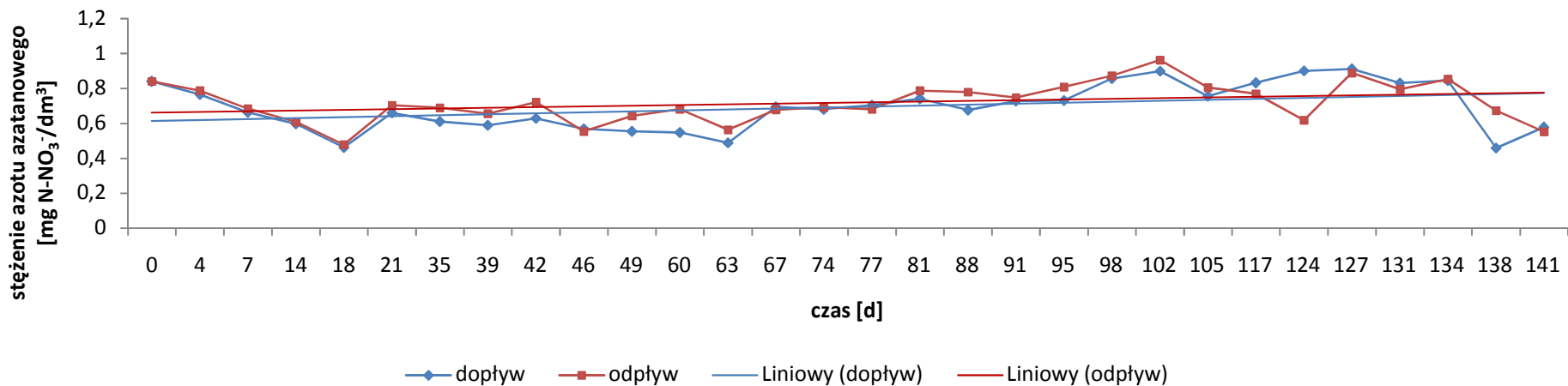
Rysunek 56. Zmiany stężenia azotu amonowego wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PCV w czasie prowadzenia badań



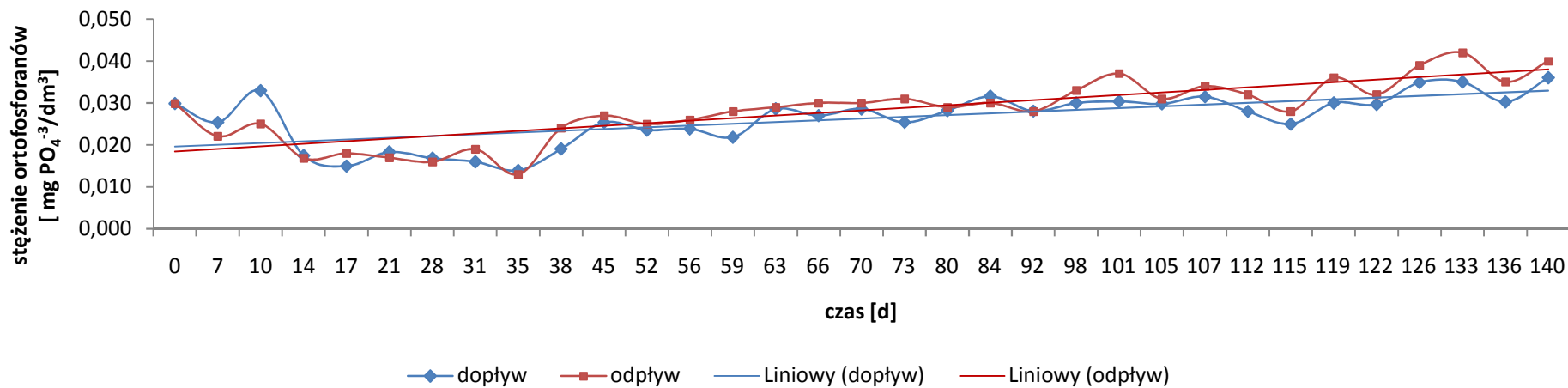
Rysunek 57. Zmiany stężenie azotu amonowego wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PE w czasie prowadzenia badań



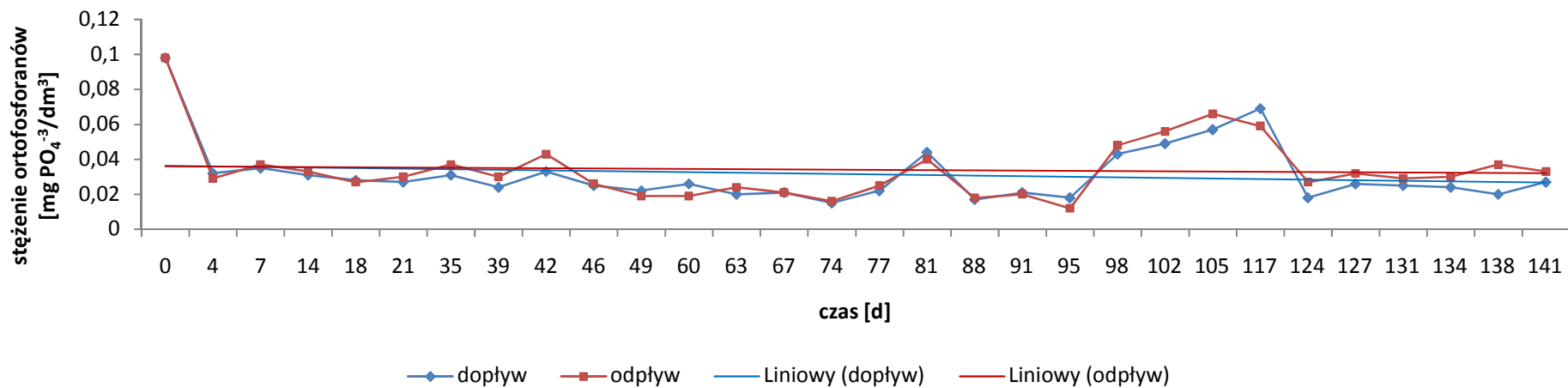
Rysunek 58. Zmiany stężenia azotu azotanowego wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PCV w czasie prowadzenia badań



Rysunek 59. Zmiany stężenie azotu azotanowego wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PE w czasie prowadzenia badań



Rysunek 60. Zmiany stężenia ortofosforanów wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PCV w czasie prowadzenia badań



Rysunek 61. Zmiany stężenie ortofosforanów wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PE w czasie prowadzenia badań

3.3. Wyniki analiz ilościowych oraz wstępnej bioróżnorodności błon biologicznych powstałych na próbkach materiałów syntetycznych

Po zakończeniu badań w układach przepływowych z powstałych na powierzchniach polimerów błon biologicznych uwalniano do roztworu fizjologicznego drobnoustroje je tworzące. Z uzyskanej zawiesiny wykonywano posiewy na agarze odżywczym i R2A w celu porównania wielkości błony biologicznej poprzez określenie ilości drobnoustrojów przypadających na 1 cm² powierzchni badanych materiałów. Wykonywano również posiewy zawiesiny na wybrane podłoża mikrobiologiczne dla wstępnej identyfikacji organizmów je tworzących.

W tabeli nr 22 przedstawiono wyniki liczebności bakterii tworzących błony biologiczne (jtk/cm²) powstałych na poszczególnych materiałach w układzie badawczym zasilanym wodą wodociągową (układ laboratoryjny), a w tabeli nr 23 dla mikrostatu.

Tabela 22. Wielkość błony biologicznej powstałej na PCV, PE, PP i PB w badaniach prowadzonych w układzie laboratoryjnym

Rodzaj próbki polimeru	Ilość bakterii psychrofilnych [jtk/cm ²]		Ilość bakterii mezofilnych [jtk/cm ²]	
	agar odżywczy	R2A	agar odżywczy	R2A
PCV	35×10 ²	50×10 ²	80	40
PE	93×10 ²	97×10 ²	22×10 ²	14×10 ²
PP	149×10 ⁴	167×10 ⁴	12×10 ²	23×10 ²
PB	486×10 ³	538×10 ³	80×10	17×10 ²

Tabela 23. Wielkość błony biologicznej powstałej na PCV i PE w badaniach prowadzonych w układzie z mikrostatem

Rodzaj próbki polimeru	Ilość bakterii psychrofilnych [jtk/cm ²]		Ilość bakterii mezofilnych [jtk/cm ²]	
	agar odżywczy	R2A	agar odżywczy	R2A
PCV	196	867	44	44
PE	16×10 ⁴	12×10 ³	67×10 ²	31×10 ²

Na podstawie uzyskanych wyników analiz stwierdzono najmniejszą podatność na obrosty mikrobiologiczne polichloru winylu. Zarówno w układzie badawczym w reaktorach jak i w mikrostatcie ilość bakterii osiadłych na założonej jednostce powierzchni (1cm²) była najmniejsza w stosunku do pozostałych badanych polimerów. Największą ilość bakterii psychrofilnych przypadającą na 1 cm² powierzchni zaobserwowano dla polipropylenu (149×10⁴ jtk/cm² dla agaru, 167×10⁴ jtk/cm² dla R2A). Porównując liczebność bakterii mezofilnych nie zaobserwowano istotnych różnic, ich liczba wahała się w zakresie 800 – 2300 jtk/cm² w układzie z reaktorami.

W przypadku badań prowadzonych w mikrostatcie z wykorzystaniem polietylenu ilość bakterii na 1 cm² powierzchni była znacznie większa (16×10⁴ – agar, 12×10³ – R2A) niż dla badań przeprowadzonych w laboratoryjnym układzie badawczym (93×10² – agar,

97×10^2 – R2A), co potwierdza wpływ jakości wody na szybkość powstawania błony biologicznej.

W przeprowadzonych analizach nie stwierdzono istotnych różnic w ilości wyrosłych koloni na zastosowanych podłożach, agarze odżywczym i podłożu R2A.

W badaniach zastosowano dwa podłoża do określenia ogólnej ilości grzybów i pleśni – Sabouraud’a oraz Chapek-Doxa. W poniższych tabelach zestawiono uzyskane wyniki.

Tabela 24. Ilości grzybów w biofilmach powstałych na PCV, PE, PP i PB w badaniach prowadzonych w układzie laboratoryjnym

Rodzaj próbki polimeru	Podłoże Sabouraud’a [jtk/cm ²]	Podłoże Chapek-Doxa [jtk/cm ²]
PCV	61	59
PE	1040	667
PP	105×10^3	219×10^3
PB	67×10^3	48×10^3

Tabela 25. Ilości grzybów w biofilmach powstałych na PCV i PE w badaniach prowadzonych w układzie z mikrostatem

Rodzaj próbki polimeru	Podłoże Sabouraud’a [jtk/cm ²]	Podłoże Chapek-Doxa [jtk/cm ²]
PCV	64×10^2	30×10^3
PE	65×10^3	126×10^3

Najmniejszą ilość grzybów w błonie biologicznej zaobserwowano dla polichlorku winylu a największą dla polipropylenu w przypadku badań przeprowadzonych na obu podłożach. Istotne było, iż w przypadku badań prowadzonych w mikrostatcie ilość grzybów na PCV była większa niż bakterii, a dla PE porównywalna.

W przeprowadzonych analizach na podłożach Endo, Chapmana, Salmonella-Shigella (SS), Mac Conkeya i Slanetza i Bartleya nie zaobserwowano wzrostu koloni dla żadnego z badanych materiałów (PCV, PE, PP i PB) w obu układach badawczych. Nie można jednak jednoznacznie stwierdzić braku ich obecności w powstałych na polimerach błonach, z uwagi na zbyt krótki okres badawczy.

Z wybranych podłoży wybiórczych wyniki pozytywne (wzrost koloni bakterii) obserwowano dla podłoża Kinga B przy inkubacji w 37 ± 2 °C oraz Vogel-Bonnera, w przypadku PE, PP i PB. Ilość wyrosłych koloni na podłożu Kinga B wynosiła 286 jtk/cm² dla PP, dla PB 1024 jtk/cm², a dla PE w mikrostatcie 44 jtk/cm². Dowodzi to występowania bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. Ich obecność w wodzie wodociągowej jest szczególnie niepożądana, gdyż wśród nich występują liczne gatunki klasyfikowane, jako zanieczyszczenia żywności. Ponieważ woda wykorzystywana jest do przygotowywania posiłków w gospodarstwach domowych, ale również w ciągach

technologicznych zakładów produkujących żywność, często dochodzi do psucia się produktów żywnościowych. Dodatkowo wśród pałeczek z rodzaju *Pseudomonas* licznie występują gatunki chorobotwórcze dla człowieka. Obecność plazmidu R, odpowiedzialnego za odporność na antybiotyki, szeroko rozpowszechnionego wśród bakterii tego rodzaju znacznie utrudnia leczenie [51]. Istotne jest, iż liczniej występowały one w błonach biologicznych powstających w układzie laboratoryjnym a nie w mikroście, dowodzi to ich zwiększonego rozwoju w warunkach sieci wodociągowej.

Natomiast na podłożu Vogel-Bonnera 107 jtk/cm² dla PE w reaktorze, 280 jtk/cm² dla PP oraz 95 jtk/cm² dla PB.

3.4. Wyniki identyfikacji bakterii i bakteriofagów występujących w błonie biologicznej

Wyniki przeprowadzonych analiz dla błon biologicznych pod kątem identyfikacji bakteriofagów powstałych w układzie w warunkach laboratoryjnych (zasilany wodą wodociągową) zamieszczono w tabeli nr 26, a w tabeli nr 27 z mikrostatu.

Tabela 26. Wyniki badań bakteriologicznych i obecności bakteriofagów (układ laboratoryjny – woda wodociągowa)

Rodzaj polimeru (podłoża biofilmu)	Wyizolowane szczepy bakteryjne	Obecność bakteriofagów					
		I	II	III	IV	V	VI
PCV	Laseczki saprofityczne	-	-	-	-	-	-
	<i>Micrococcus</i> sp.	+/-	-	-	-	-	-
	Pałeczki G(-)	-	-	-	-	-	+/-
	Ziarniaki G(-)	+/-	+/-	-	-	-	+/-
	Grzyby	nb	nb	nb	nb	nb	nb
PE	Laseczki saprofityczne	-	-	-	-	-	-
	<i>Micrococcus</i> sp.	-	-	-	-	-	-
	Pałeczki G(-)	+/-	-	-	-	-	-
	Grzyby	nb	nb	nb	nb	nb	nb
PP	<i>Micrococcus</i> sp.	-	-	-	-	-	-
PB	Laseczki saprofityczne	-	-	-	-	-	-
	Grzyby	nb	nb	nb	nb	nb	nb

uwaga:

- → nie zaobserwowano łysinek

+/- → od 1 do 10 pojedynczych łysinek

nb → nie badano

W przypadku biofilmów powstałych na PCV, PE, PP i PB w okresie około pięciu miesięcy największe zróżnicowanie drobnoustrojów zaobserwowano na polichloroku winylu i polietylenie. Dla tych materiałów stwierdzono również obecność bakteriofagów, jednak w niewielkich ilościach. Błona biologiczna powstała na PCV zawierała ziarniaki gram-dodatnie, w których stwierdzono obecność bakteriofagów (w trzech próbkach z sześciu), jednak w bardzo małych ilościach, gdyż ilość powstałych w teście łysinek nie przekroczyła dziesięciu. Bakteriofagi wykryto również w pojedynczych próbkach dla *Micrococcus* sp. oraz gram-ujemnych pałeczek.

W izolowanych z błony biologicznej powstałej na PE bakterii bakteriofagi zaobserwowano w jednym przypadku, pałeczki gram-ujemne, w jednej próbce (ilość łysinek poniżej 10). Dla błon powstałych na PP i PB udało się wyizolować jedynie *Micrococcus* sp. (dla PP) oraz laseczki saprofityczne (dla PB) jednak nie stwierdzono w tych próbkach obecności bakteriofagów.

Tabela 27. Wyniki badań bakteriologicznych i obecności bakteriofagów (mikrostat)

Rodzaj podłoża biofilmu	Wyzolowane szczepy bakteryjne	Obecność bakteriofagów					
		I	II	III	IV	V	VI
PCV	Laseczki saprofityczne	-	-	-	-	-	-
	<i>Micrococcus</i> sp.	-	+/-	-	-	-	-
PE	Ziarenkowce G(+)	-	-	-	-	-	-
	<i>Micrococcus</i> sp.	-	-	-	-	-	-

uwaga:

- → nie zaobserwowano łysinek

+/- → od 1 do 10 pojedynczych łysinek

nb → nie badano

Badania prowadzone z wykorzystaniem mikrostatu trwały krócej (o miesiąc) od badań prowadzonych na układzie badawczym zlokalizowanym w laboratorium PWr. i zasilanym wodą wodociągową. Powstały na PCV i PE biofilm wykazał się znacznie mniejszą bioróżnorodnością. Bakteriofagi *Micrococcus* sp. zaobserwowano dla jednej próbki wyizolowane z obrostu powstałego na PCV.

Istotne jest, iż dla badań prowadzonych w układzie zasilanym wodą wodociągową w trzech z czterech (co stanowi 75 %) badanych biofilmów stwierdzono obecność grzybów. Ich obecności nie wykryto w błonach biologicznych powstałych na tych samych materiałach jednak w innych warunkach prowadzenia procesu badawczego, a mianowicie w mikrostatcie.

Również w znacznej ilości przebadanych błon biologicznych (83 %) udało się wyizolować bakterie z gatunku *Micrococcus* sp., ich brak stwierdzono jedynie w obroście powstałym na PB.

Próby izolacji bakteriofagów umożliwiły namnożenie jedynie fagów wywołujących lizę pałeczek G(-) wyizolowanych z błony powstałej na PCV w układzie laboratoryjnym, jednak nie zdołano doprowadzić do zadawalającego miana lizatu fagowego, przez co nie możliwe było określenie redukcji ilości bakterii izolowanych z próbek biofilmów.

3.5. Analiza SEM podatności na obrosty mikrobiologiczne i biokorozję badanych polimerów

Jedną z metod obserwacji błon biologicznych oraz określania jej wielkości czy bioróżnorodności jest analiza mikroskopowa, zwłaszcza elektronowa mikroskopia skaningowa, która znacznie ułatwia lokalizację drobnoustrojów w błonie biologicznej. Istotne jest, że poza jednorazowym przygotowaniem materiału

badawczego do analizy w mikroskopie elektronowym metodyka nie wymaga dodatkowych procedur przygotowawczych [4]. Analizie poddano próbki pochodzące zarówno z układu laboratoryjnego jak i umieszczone w mikroście.

Wykorzystane w badaniach polimery z uwagi na różnice w składzie chemicznym (samego polimeru oraz komponentów), jak również w technologii wytwarzania różnią się teksturą powierzchni [93], co nie pozostaje bez znaczenia w procesie tworzenia błony biologicznej [68]. Wykonanie zdjęć mikroskopem SEM pozwoliło na ocenę wielkości tych różnic. Zróżnicowanie fizyczne podłoża wiąże się z bioróżnorodnością biofilmu a tym samym zmienną strukturą przestrzenną samego obrostu mikrobiologicznego. W celu określenia wielkości oraz wstępnej bioróżnorodności biofilmu wykonano zdjęcia powstałej na polimerach błony biologicznej.

Zgodnie z danymi literaturowymi drobnoustroje wytwarzają pozakomórkowe polimery (EPS), które zwiększają ich adhezję do powierzchni stałych [20,21]. Substancję wytwarzane przez drobnoustroje mogą reagować z komponentami polimerów powodując ich wymywanie z podłoża. Wykonano, więc również zdjęcia powierzchni materiałów po usunięciu z nich błon biologicznych w celu zaobserwowania powstałych zmian.

Szybkość osadzania bakterii oraz możliwości tworzenia obrostu jest zależna między innymi od struktury fizycznej podłoża. Na podstawie danych literaturowych o zależnościach chropowatości powierzchni i szybkości osiadania mikroorganizmów przeprowadzono analizę porównawczą badanych polimerów wykonując zdjęcia powierzchni próbek nowych rurociągów [68].

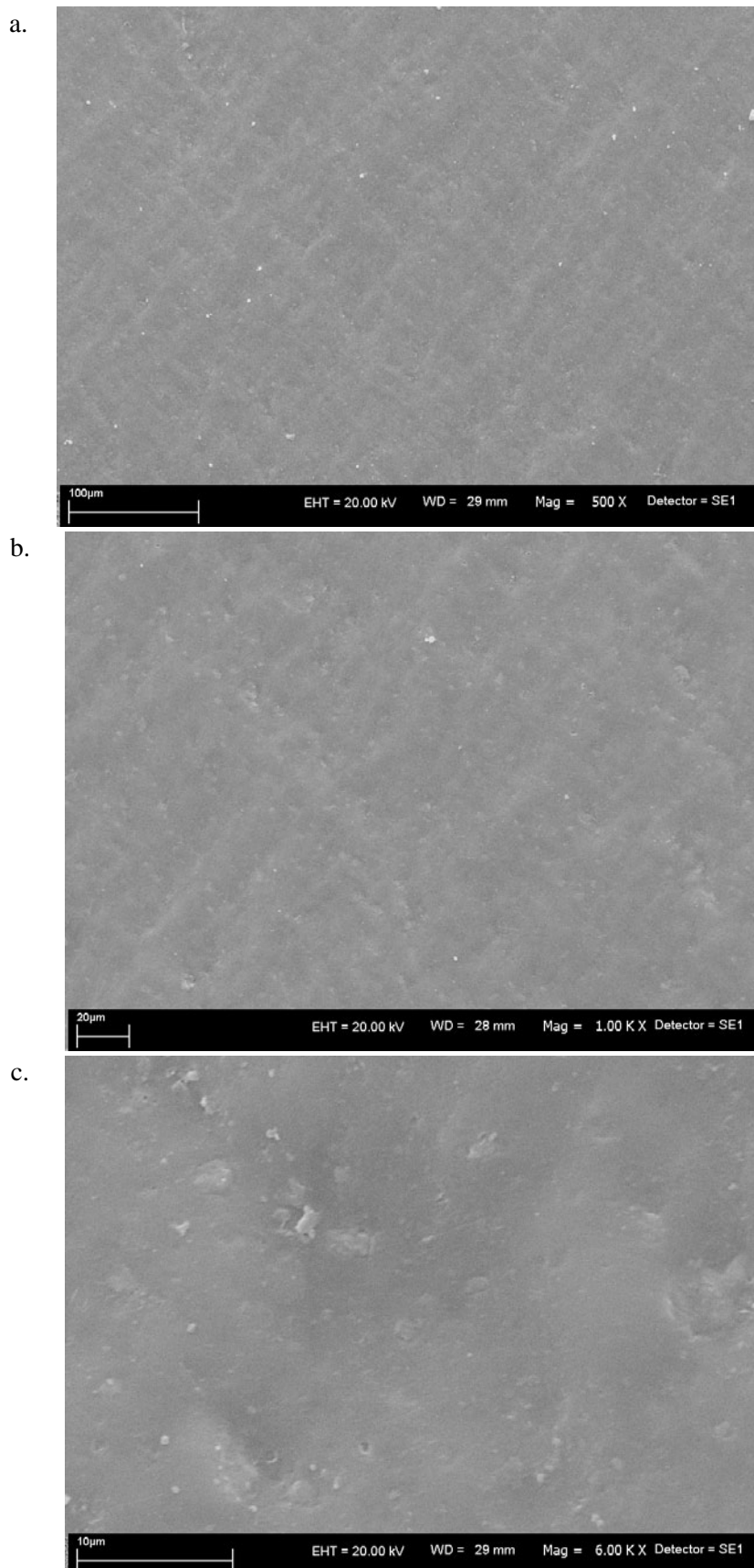
Najbardziej regularną strukturą charakteryzuje się polichlorek winylu, którego powierzchnia przypomina „kratownicę”, na której widoczne są „włókna materiału” ułożone w ukośne pasy podobnie jak włókna materiałów naturalnych (Rys. 61a,b). Pomiedzy nimi zauważalne są niewielkie nierówności różnej głębokości i kształtu. Przy większym powiększeniu (Rys. 61c) zauważalne są grudkowate nierówności o wielkości 0,5-3,0 μm , zarówno w postaci wypukleń jak i wklęsłości jednak są one bardzo nieliczne i najprawdopodobniej w niewielkim stopniu wpływają na szybkość osadzania drobnoustrojów.

Inaczej przedstawia się powierzchnia polietylenu, która przy mniejszym powiększeniu (Rys 62a,b) wydaje się być znacznie gładsza od polichloroku winylu, dopiero przy powiększeniu 6000x można dostrzec liczne pofałdowania przypominające nacieki. Ich bardzo nierównomierne rozłożenie znacznie zwiększa chropowatość. Widoczne są również miejsca gdzie osadzanie bakterii może być intensywniejsze z uwagi na kształt powstałych „nacieków” (Rys 62c, czerwona strzałka).

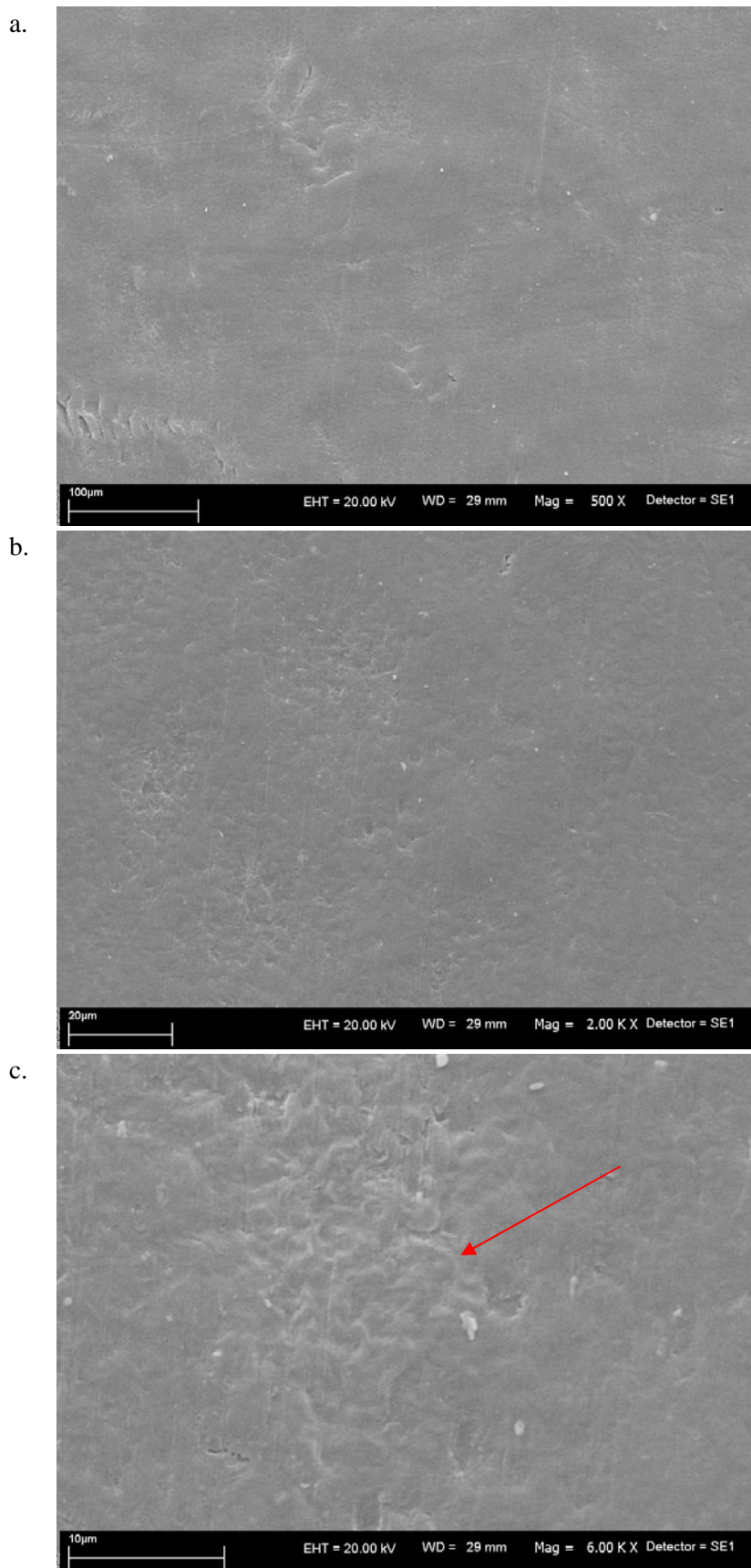
Materiałem o największej chropowatości wydaje się być polipropylen, który w swej strukturze wykazuje podobieństwo do „pilnika”, gdyż na dość gładkiej powierzchni znajdują się liczne drobinki/kryształki o różnych wielkościach (0,4-3,5 μm) i kształtach, rozmieszczone w sposób bardzo nieregularny. Kryształki te stanowią 70-80 % powierzchni tworzywa, co znacznie zwiększa jej chropowatość (Rys. 63).

Ostatnim wykorzystanym w badaniach materiałem był polibutylen, którego powierzchnia to wielokątne struktury (wielkości 30-80 μm) połączone w jedną całość, pomiędzy którymi znajdują się znaczne wgłębienia. Podobnie jak w przypadku polipropylenu na powierzchni PB obserwowane są kryształki zwiększające szorstkość

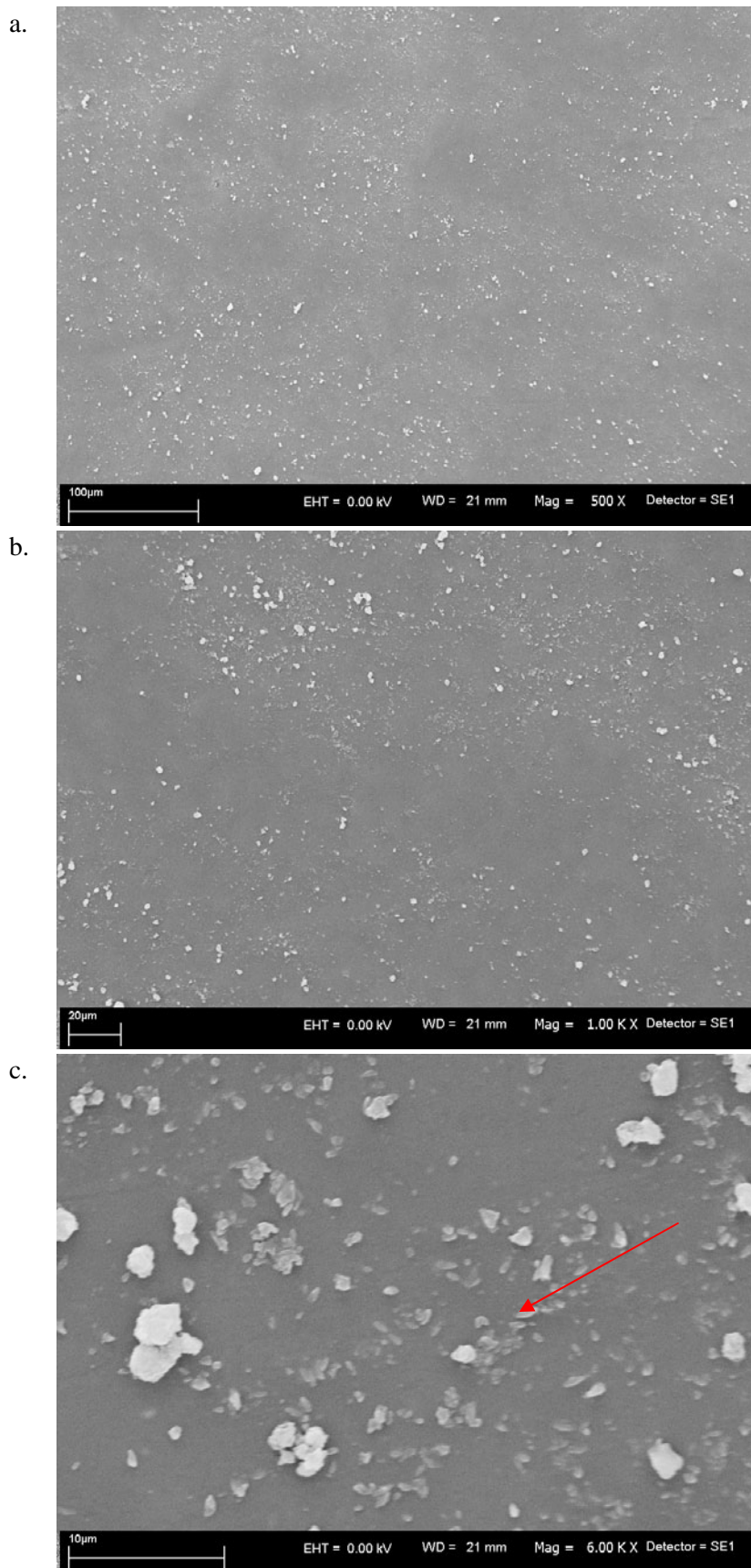
jednak ich ilość jest znacznie mniejsza. Przy dużym powiększeniu (Rys 64c) w zagłębieniach powstałych pomiędzy wielokątami widoczne są liczne uszkodzenia materiału w postaci mikropęknięć, najprawdopodobniej wynikających z technologii produkcji. Ich wielkość oraz lokalizacja może ułatwić bakteriom osadzanie się w tych miejscach, dodatkowo są one tam osłonięte bocznymi powierzchniami, dzięki czemu może nie dochodzić do ich wypłukiwania przy dużych zmianach natężenia przepływu.



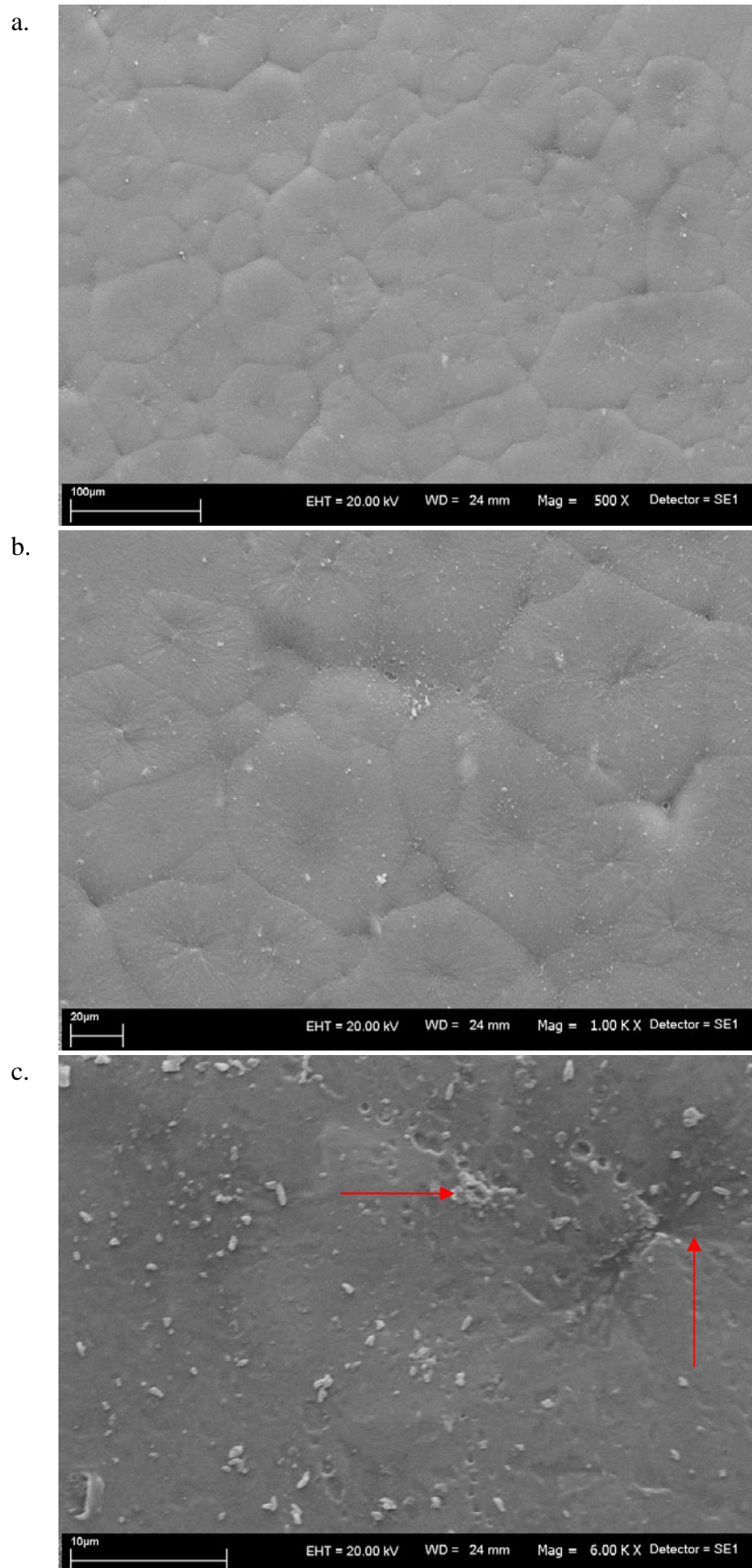
Rysunek 62. Zdjęcia struktury powierzchni PCV (powiększenia: a - 500x, b - 1000x, c - 6000x)



Rysunek 63. Zdjęcia struktury powierzchni PE (powiększenia: a - 500x, b - 2000x, c - 6000x)



Rysunek 64. Zdjęcia struktury powierzchni PP (powiększenia: a - 500x, b - 1000x, c - 6000x)



Rysunek 65. Zdjęcia struktury powierzchni PB (powiększenia: a - 500x, b - 1000x, c - 6000x)

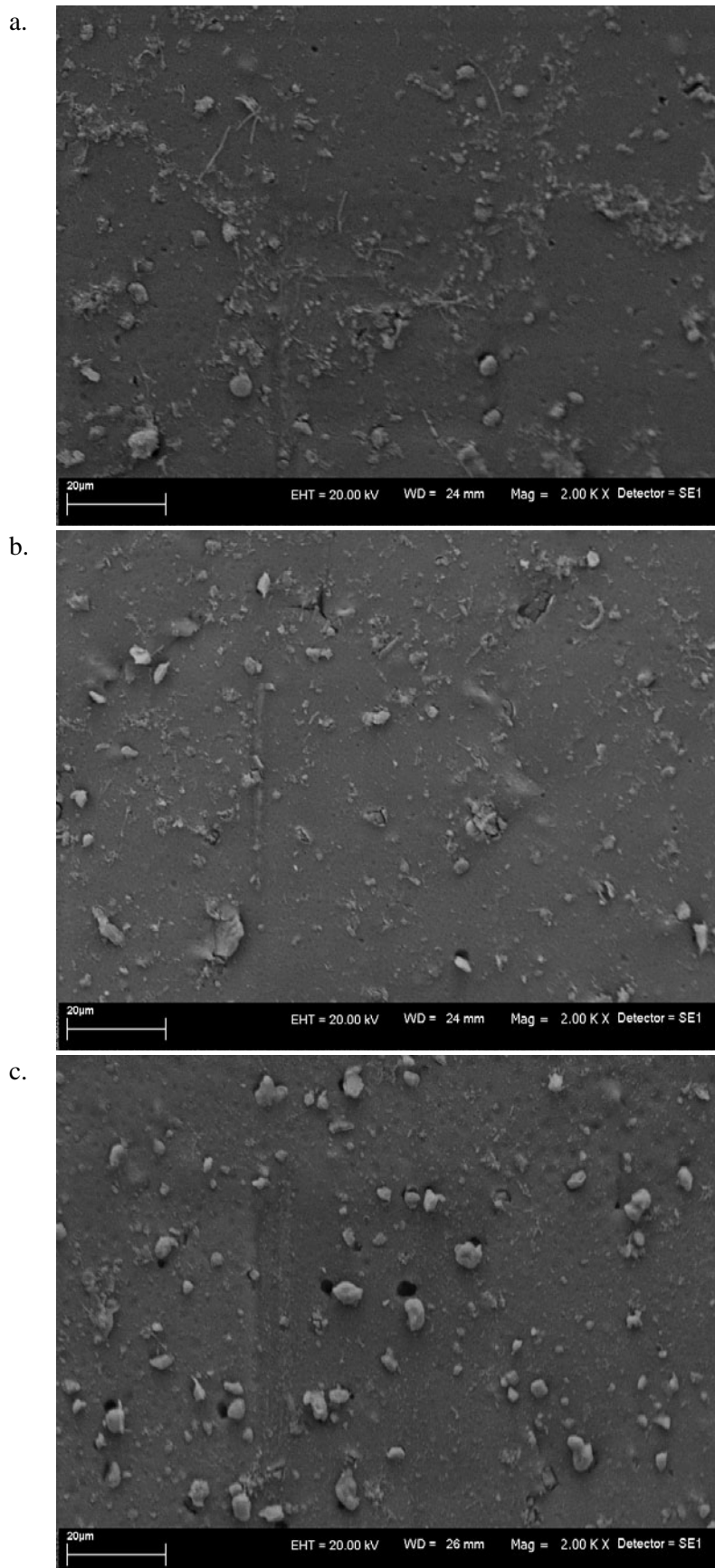
Na rysunkach nr 66 - 69 przedstawiono obrost biologiczny powstały na materiałach polimerowych w badaniach prowadzonych w reaktorach zasilanych wodą wodociągową. Zdjęcia obrostów wykonano przy różnych powiększeniach mikroskopu w zakresie od 1500x do 8000x. Większe powiększenie pozwoliło na dokładniejszą analizę morfologiczną biofilmu (różnorodność form morfologicznych, obecność grzybów), natomiast mniejsze lepiej uwidaczniało strukturę przestrzenną błony biologicznej.

Jak można zauważyć na powierzchni polichlorku winylu osadzały się drobnoustroje, ale w niewielkich ilościach. Obok komórek bakterii depozycji ulegały również osady nieorganiczne. W niewielkich ilościach obserwowane są również grzyby. Na powierzchni pozostałych trzech polimerów stwierdzono obecność różnych form drobnoustrojów. Obok bakterii występowały również grzyby.

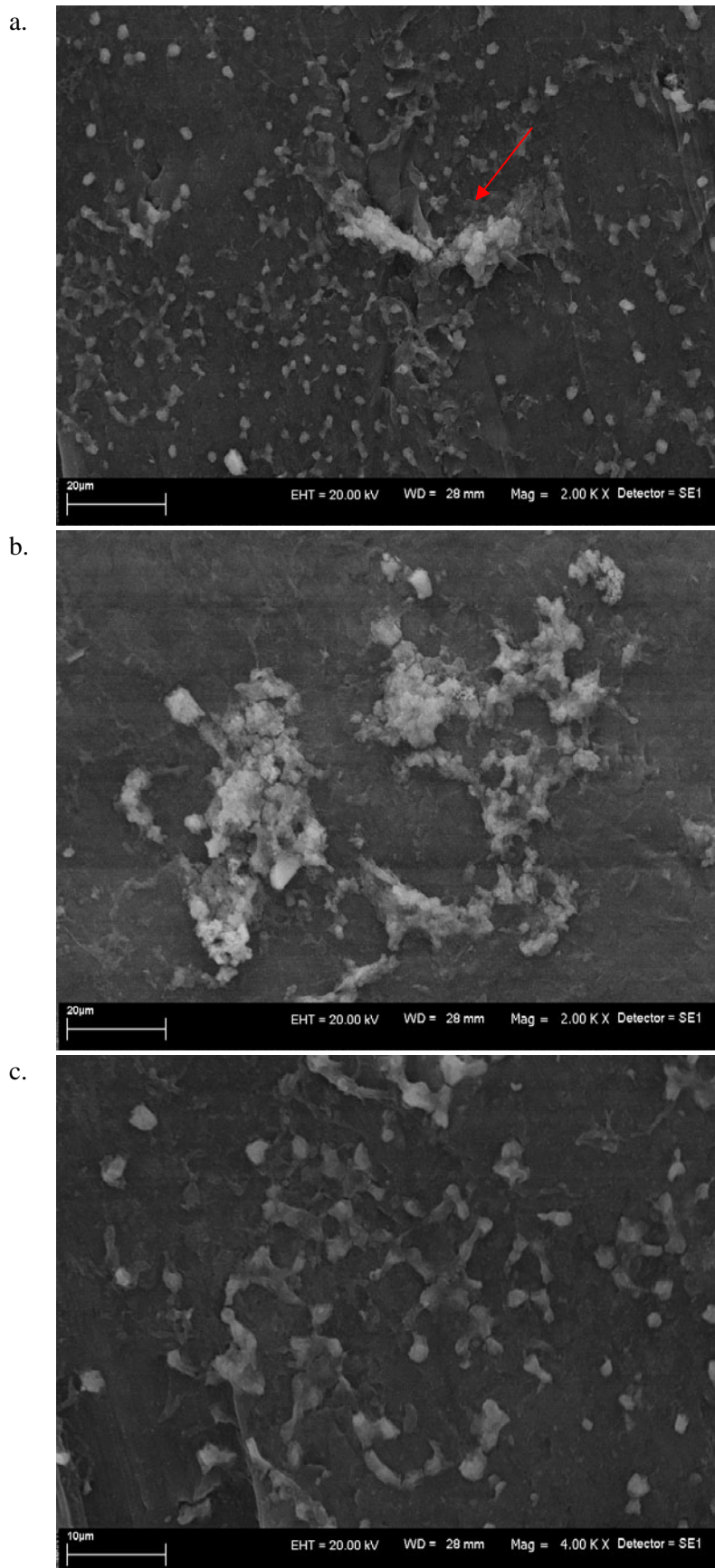
W przypadku polietylenu widoczne jest dość równomierne rozłożenie błony na powierzchni jedynie w miejscach „nacieków” obserwowanych na nowych rurociągach obserwowane są większe ilości drobnoustrojów.

Szczególą podatność na tworzenie się biofilmu charakteryzowały się polipropylen i polibutylen. Ponadto obrosty powstałe na polipropylenie i polibutylenie wykazywały większe zróżnicowanie morfologiczne bakterii. Na zdjęciach widoczne są dość liczne bakterie nieobserwowanych morfologii na polichlorku winylu i polietylenie. Wydaje się też zauważać większą bioróżnorodność wśród grzybów wchodzących w skład obrostu. W przypadku polibutyleny należy zwrócić szczególną uwagę na liczebność drobnoustrojów tworzących błonę biologiczną.

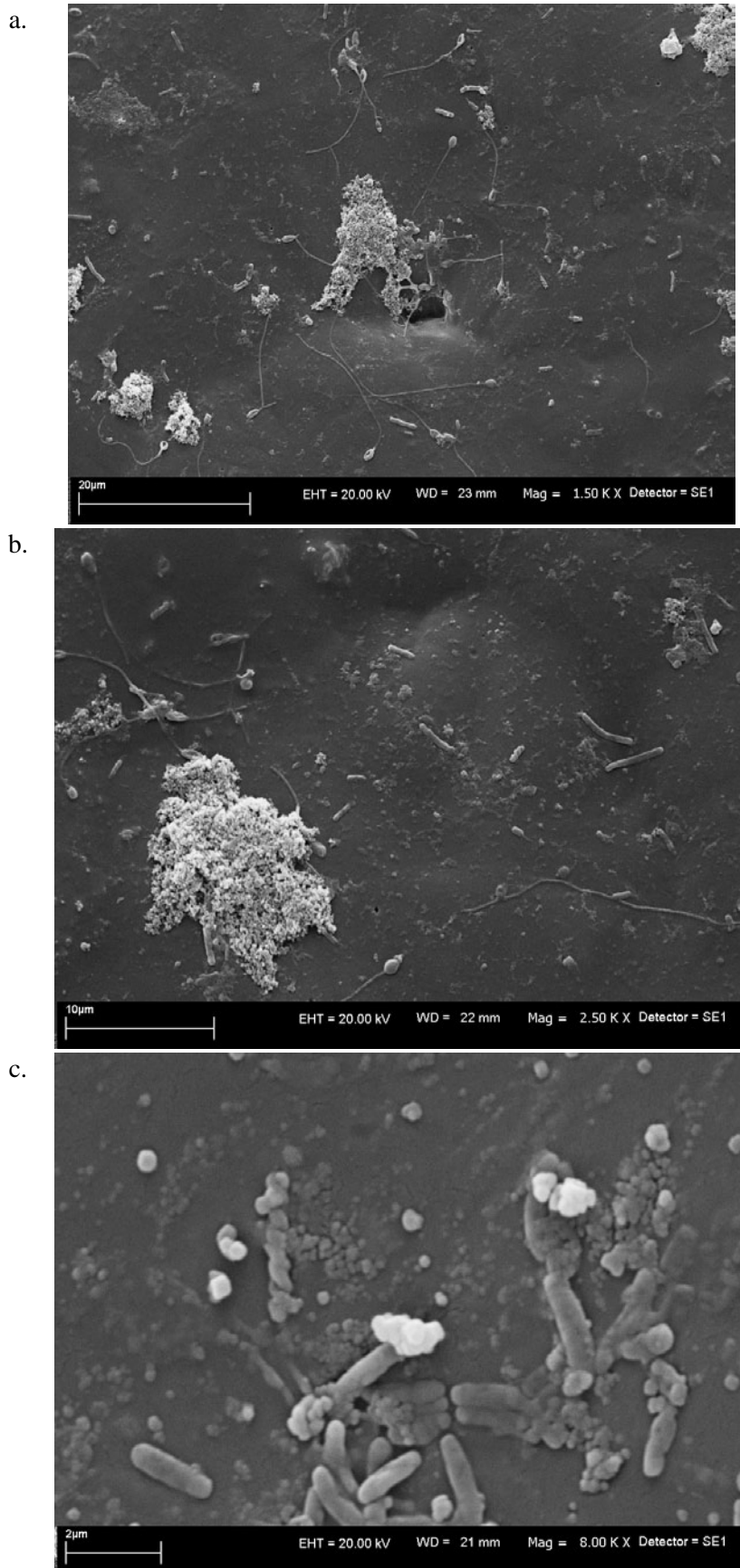
Należy podkreślić, że drobnoustroje tworzące obrost biologiczny pochodziły z dezynfekowanej wody wodociągowej, co pozwala sądzić o ich oporności na działanie dezynfektantów, stąd głównie te formy odpowiedzialne są za brak stabilności mikrobiologicznej wody i mogą sugerować istnienie poważnych problemów z ich usunięciem z układów dystrybucji wody.



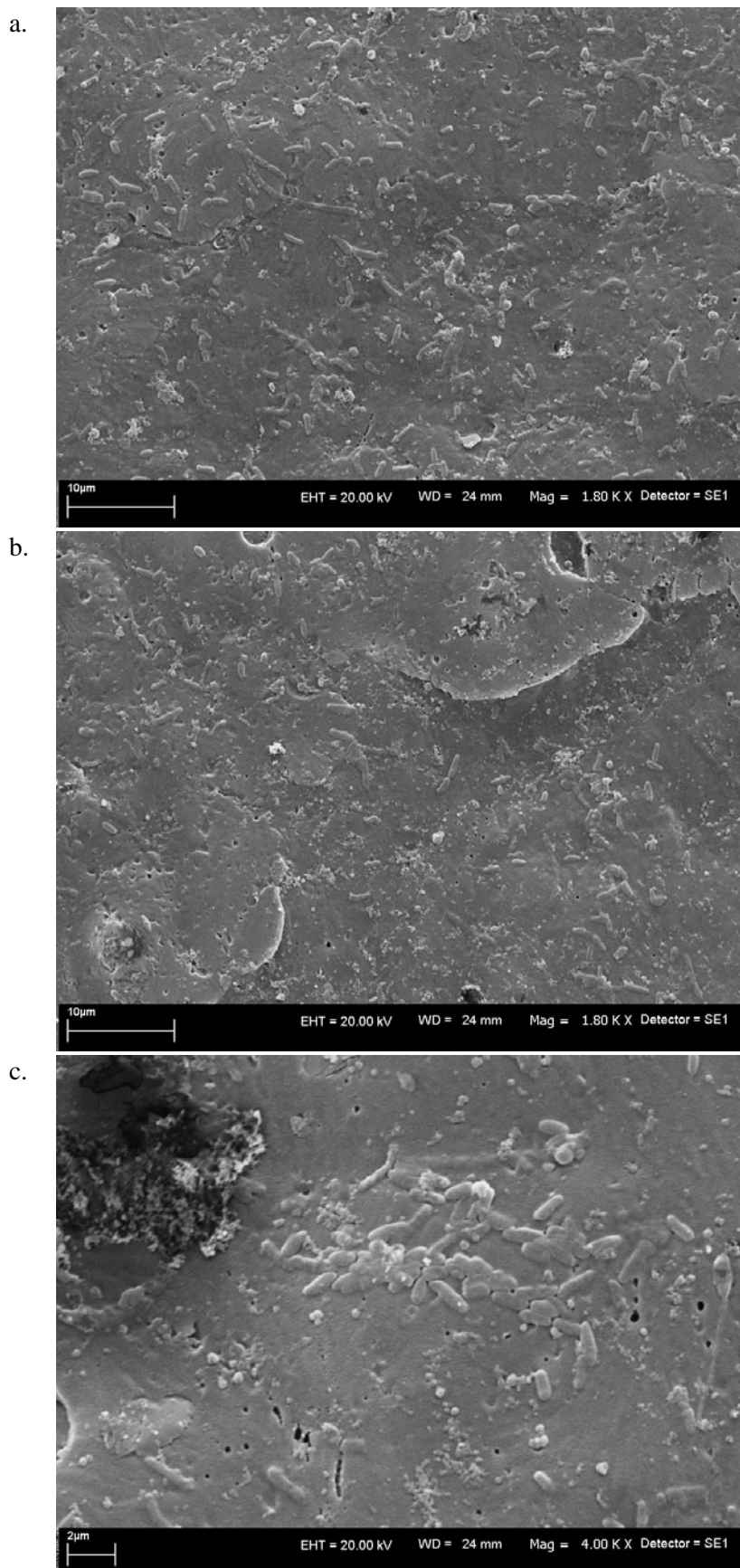
Rysunek 66. Zdjęcia struktury błony biologicznej na powierzchni PCV w badaniach w reaktorze (powiększenia: a, b, c - 2000x)



Rysunek 67. Zdjęcia struktury błony biologicznej na powierzchni PE w badaniach w reaktorze (powiększenia: a, b - 2000x, c - 4000x)



Rysunek 68. Zdjęcia struktury błony biologicznej na powierzchni PP w badaniach w reaktorze (powiększenia: a – 1500x, b - 2500x, c - 8000x)



Rysunek 69. Zdjęcia struktury błony biologicznej na powierzchni PB w badaniach w reaktorze (powiększenia: a, b - 2000x, c - 4000x)

W wyniku procesów metabolicznych prowadzonych przez drobnoustroje powstają liczne substancje chemiczne [63,114], mogące reagować z komponentami rurociągów polimerowych, prowadząc do powstawania nowych substancji, których obecność przyczynia się do pogorszenia jakości wody [93]. Dodatkowo związki te reagują z zawartymi w wodzie substancjami chemicznymi w relacjach antagonistycznych lub synergistycznych, co również nie pozostaje bez znaczenia dla jej właściwości.

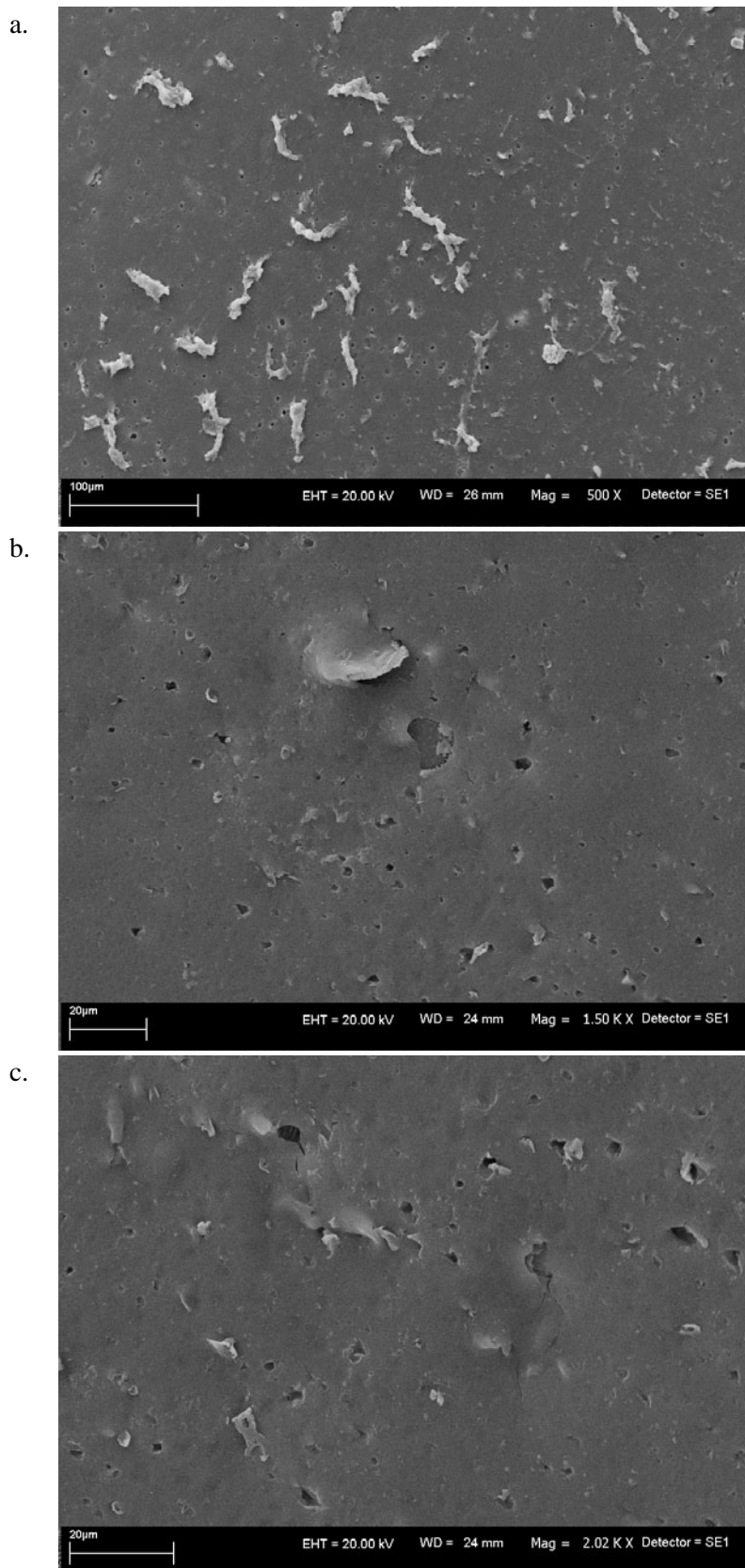
Wiele mikroorganizmów wykazuje zdolność do produkcji egzopolimerów (EPS) zwiększających adhezję komórek do powierzchni lub polepszających rozpuszczalności zawartych w niej substancji odżywczych. Należą do nich przede wszystkim wielocukry, które jednocześnie stanowią często źródło magazynowania substancji odżywczych, co jest niezwykle przydatne w okresach utrudnionego dostępu do pokarmu.

Wszystko to wpływa niekorzystnie na materiał polimerowy, z jakiego wykonany jest rurociąg powodując jego uszkodzenie. W przeprowadzonych badaniach wykazano zmiany powstałe na powierzchni wewnętrznej rurociągów w obecności błony biologicznej.

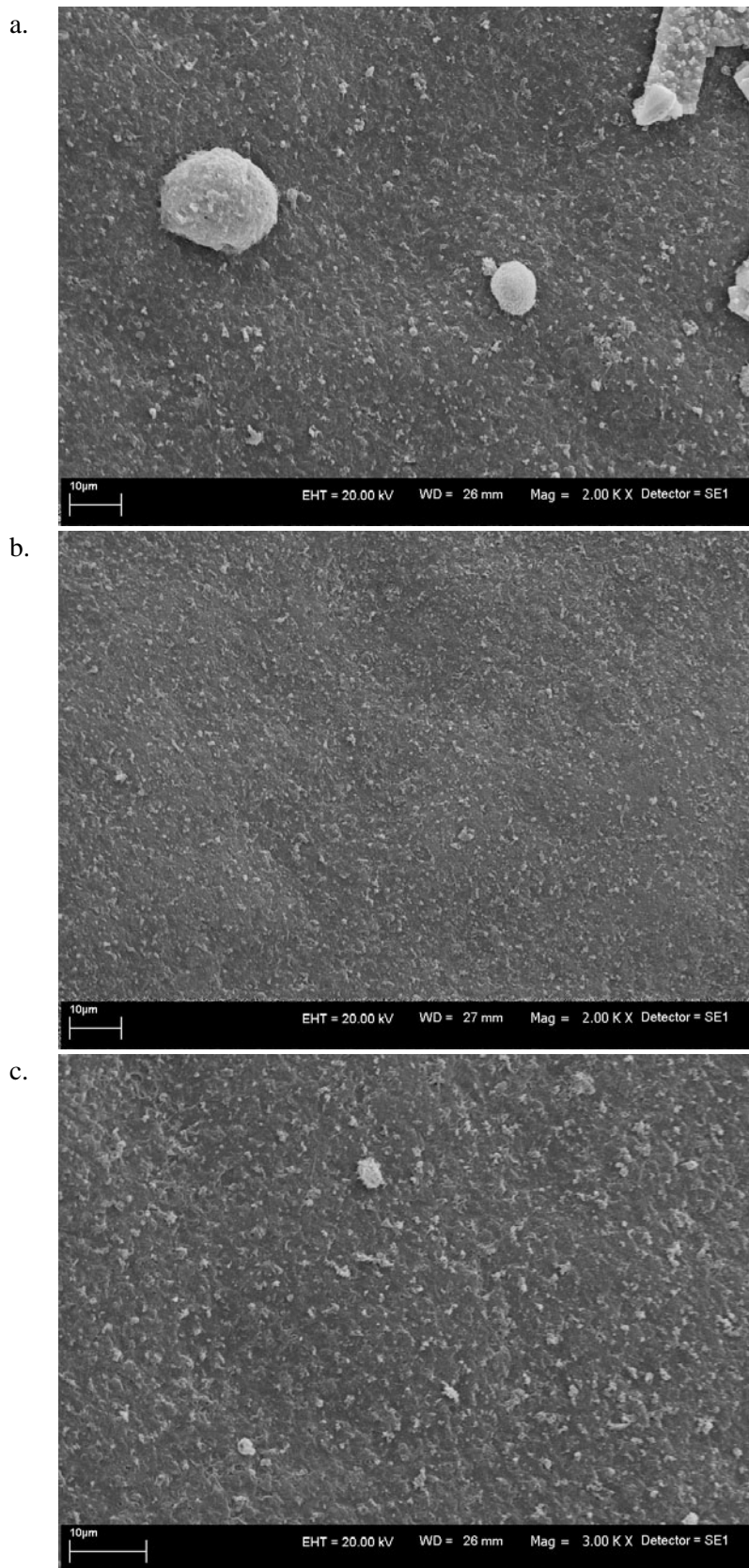
Na powierzchni polichlorku winylu obserwowane są liczne, ale bardzo niewielkie „wżery”. Należy również podkreślić, że utracona została struktura powierzchni, nie są już widoczne „pasy włókien”.

Również na polietylenie obserwowano zmiany po okresie eksploatacji w obecności błony biologicznej. Przy większym powiększeniu widać zmiany na całej powierzchni całkowicie zmieniających ich strukturę powodują ją bardziej szorstką.

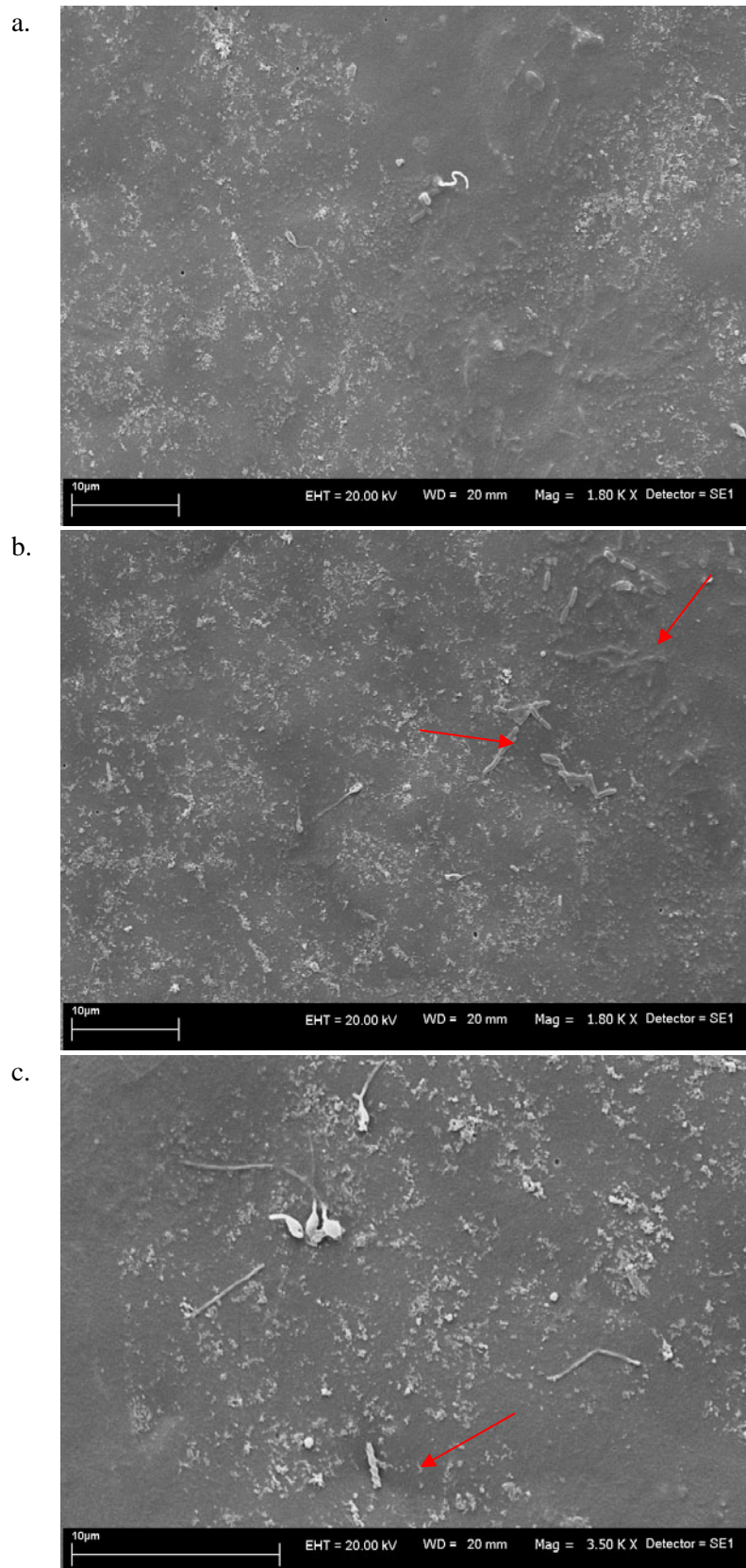
Największe uszkodzenia powstały na powierzchni polipropylenu i polibutyleny, liczne wżery oraz osady nieorganiczne pozostałe na powierzchni dowodzą zmian ich struktury w wyniku metabolizmu drobnoustrojów z obrotu. Na obu materiałach przy większych powiększeniach 1800-3500x widać liczne zgrupowania drobnoustrojów, których zwiążanie, najprawdopodobniej za pomocą substancji pozakomórkowych wydzielanych przez bakterie (EPS), z podłożem jest na tyle silne, że nie udało się ich usunąć metodą ultradźwięków.



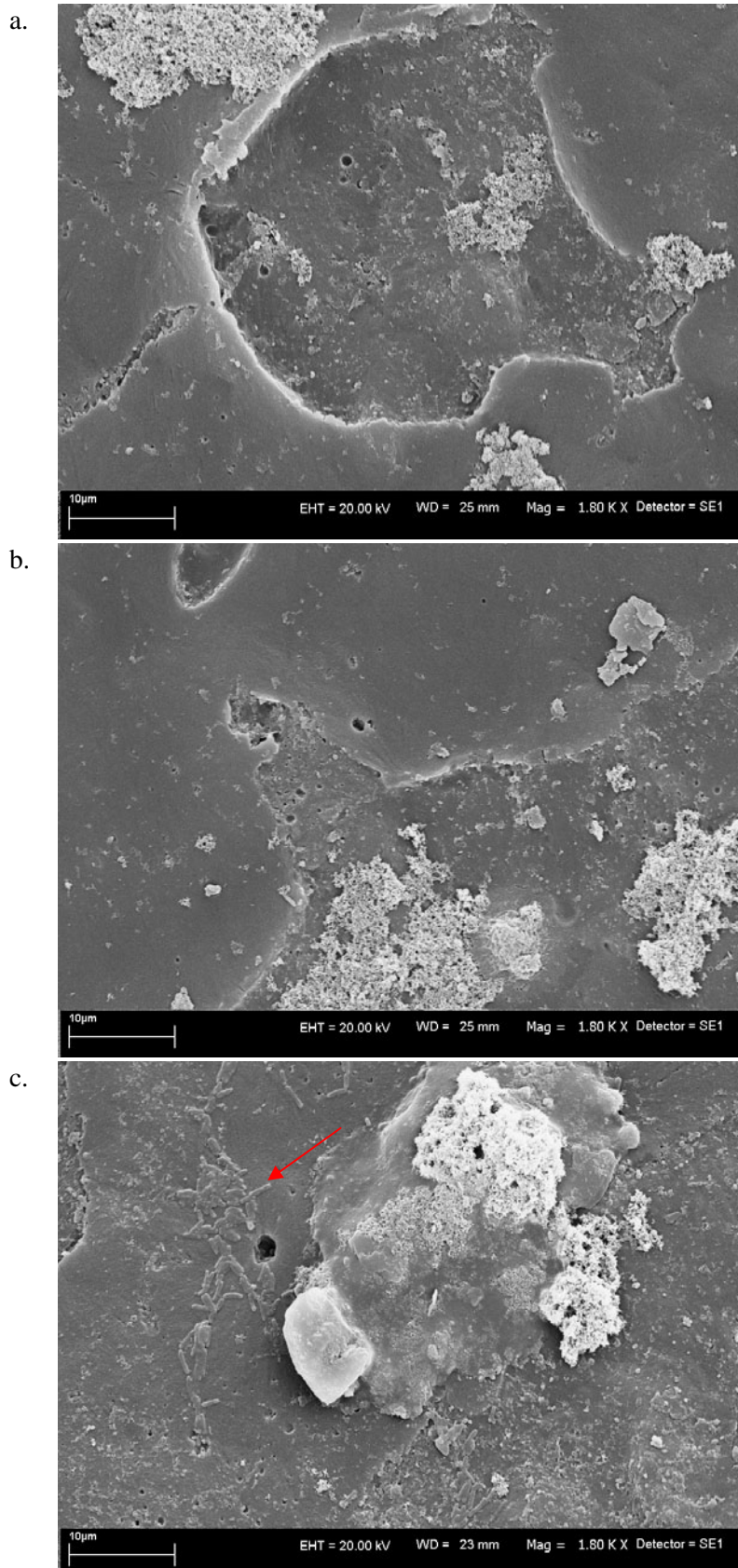
Rysunek 70. Zdjęcia powierzchni PCV po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w reaktorze struktury (powiększenia: a – 500x, b - 1500x, c - 2000x)



Rysunek 71. Zdjęcia powierzchni PE po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w reaktorze (powiększenia: a, b - 2000x, c - 3000x)



Rysunek 72. Zdjęcia powierzchni PP po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w reaktorze (powiększenia: a, b - 1800x, c - 3500x)

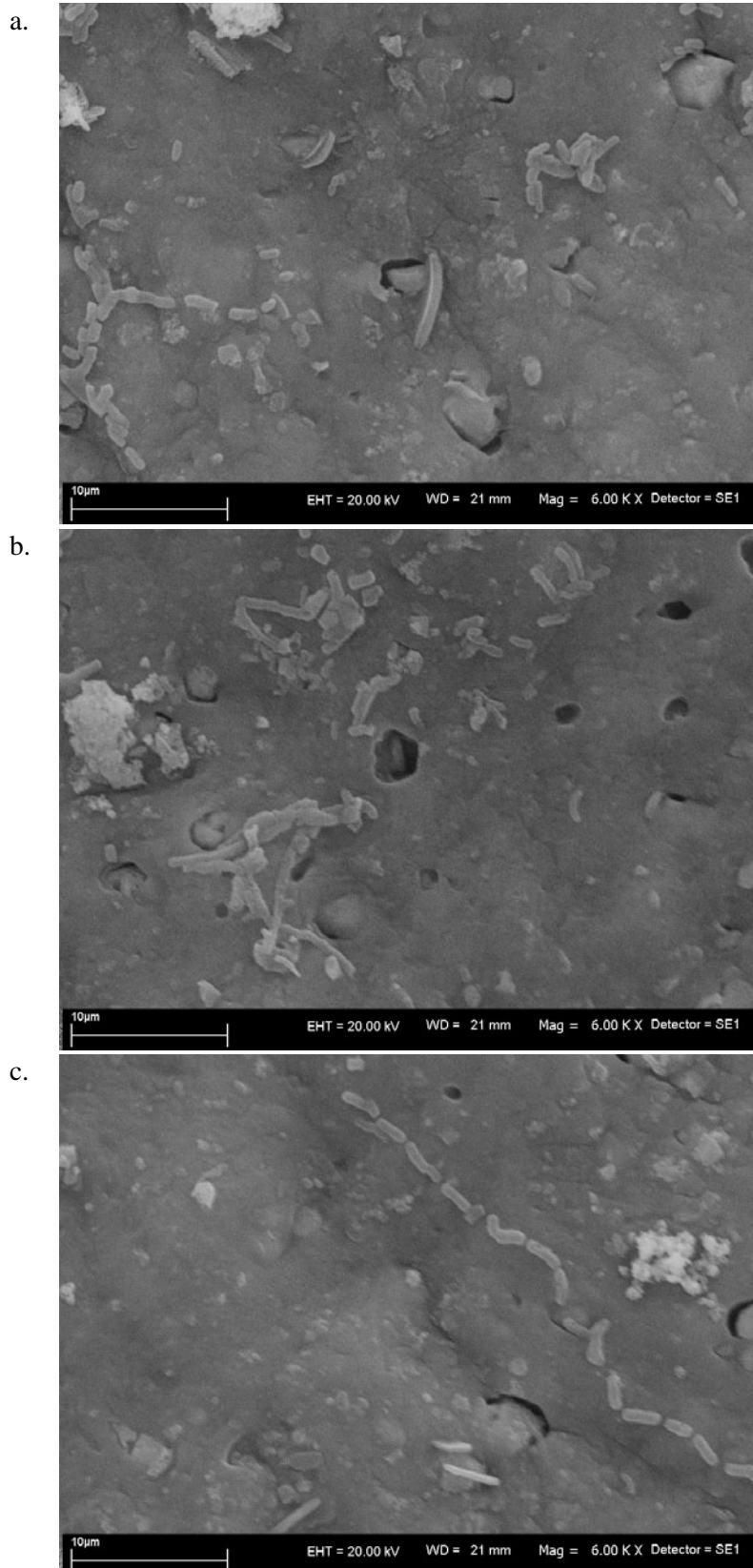


Rysunek 73. Zdjęcia powierzchni PB po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w reaktorze (powiększenia: a, b, c - 1800x)

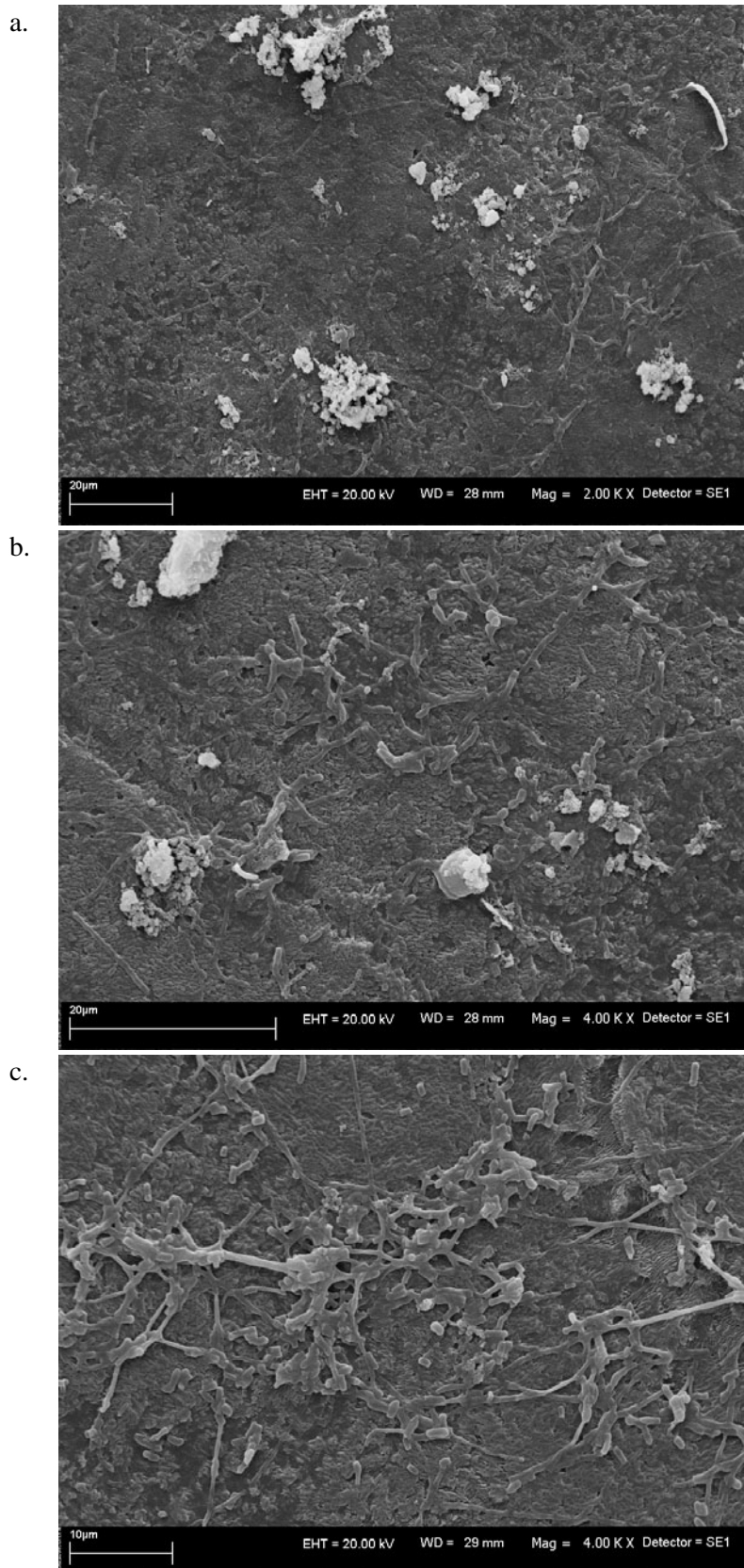
Badania prowadzono również w mikroście zasilanym wodą uzdatnioną niepoddaną procesowi dezynfekcji. Mikrostat zainstalowany był w ciągu technologicznym uzdatniania wody w zakładzie MPWiK we Wrocławiu. Wykorzystano do badań polichlorek winylu oraz polietylen, gdyż są to polimery o znacznym udziale procentowym w sieciach wodociągowych [64,157].

Analiza zdjęć wykonanych SEM obrostów powstałych na polichloroku winylu w badaniach prowadzonych w reaktorze i w mikroście wykazała zróżnicowanie struktury i różnorodności organizmów. Zaobserwowano to również w przypadku polietylenu. Dowodzi to dużego wpływu składu mikrobiologicznego i fizyczno-chemicznego wody na biofilm, gdyż w badaniach wykorzystano te same materiały PCV i PE, które badano w reaktorze zasilanym wodą wodociągową, czyli zawierającą środek dezynfekcyjny nieobecny w wodzie zasilającej mikrostat. Obrosty biologiczne z wody oczyszczonej nie dezynfekowanej są znacznie obfitsze

W przypadku awarii systemu uzdatniania lub sieci wodociągowej możliwe jest zasiedlenie powierzchni rurociągów w analogicznej formie. Produkowane przez drobnoustroje polimery zewnątrz komórkowe utrudniają penetrację środków dezynfekcyjnych zapewniając tym samym trwałość biofilmu i dalszy jego rozwój.



Rysunek 74. Zdjęcia błony biologicznej powstałej na powierzchni PCV w badaniach prowadzonych w mikrostacie (powiększenie: a, b, c - 6000x)

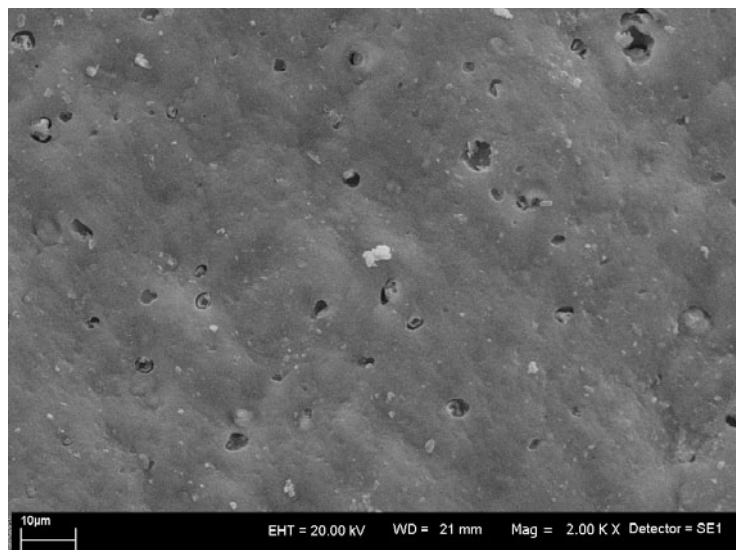


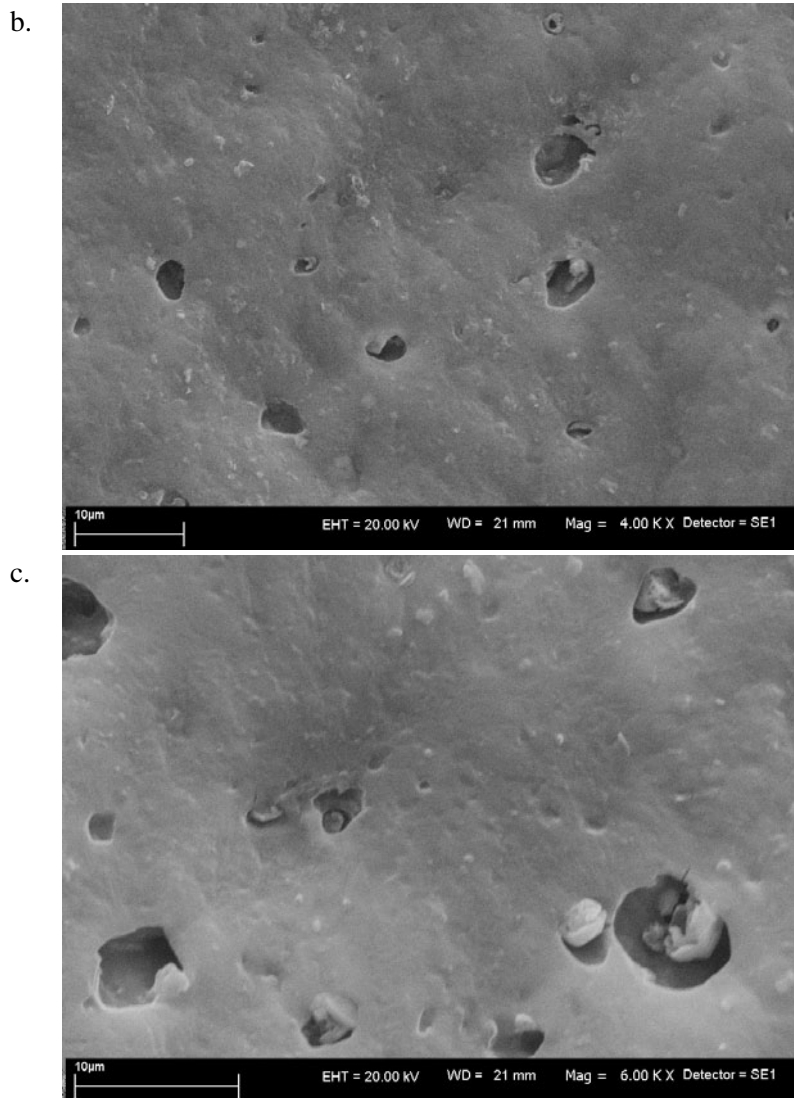
Rysunek 75. Zdjęcia błony biologicznej powstałej na powierzchni PE w badaniach prowadzonych w mikroście (powiększenie: a - 2000x, b,c - powiększenie 4000x)

Po wykonaniu zdjęć, powstałej na materiałach błony biologicznej usunięto ją na myjce ultradźwiękowej i wykonano zdjęcia powierzchni badanych materiałów

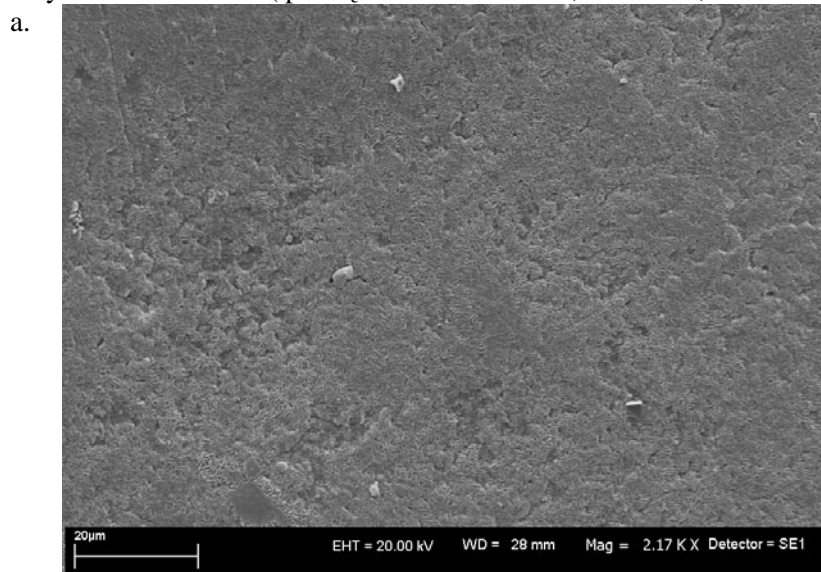
polimerowych. Analiza mikroskopowa pozwoliła na obserwację powstałych w wyniku metabolizmu drobnoustrojów obrostu zmian materiału podłoża. Rysunki nr 76 i 77 przedstawiają powierzchnię polichlorku winylu oraz polietylenu po zmywie.

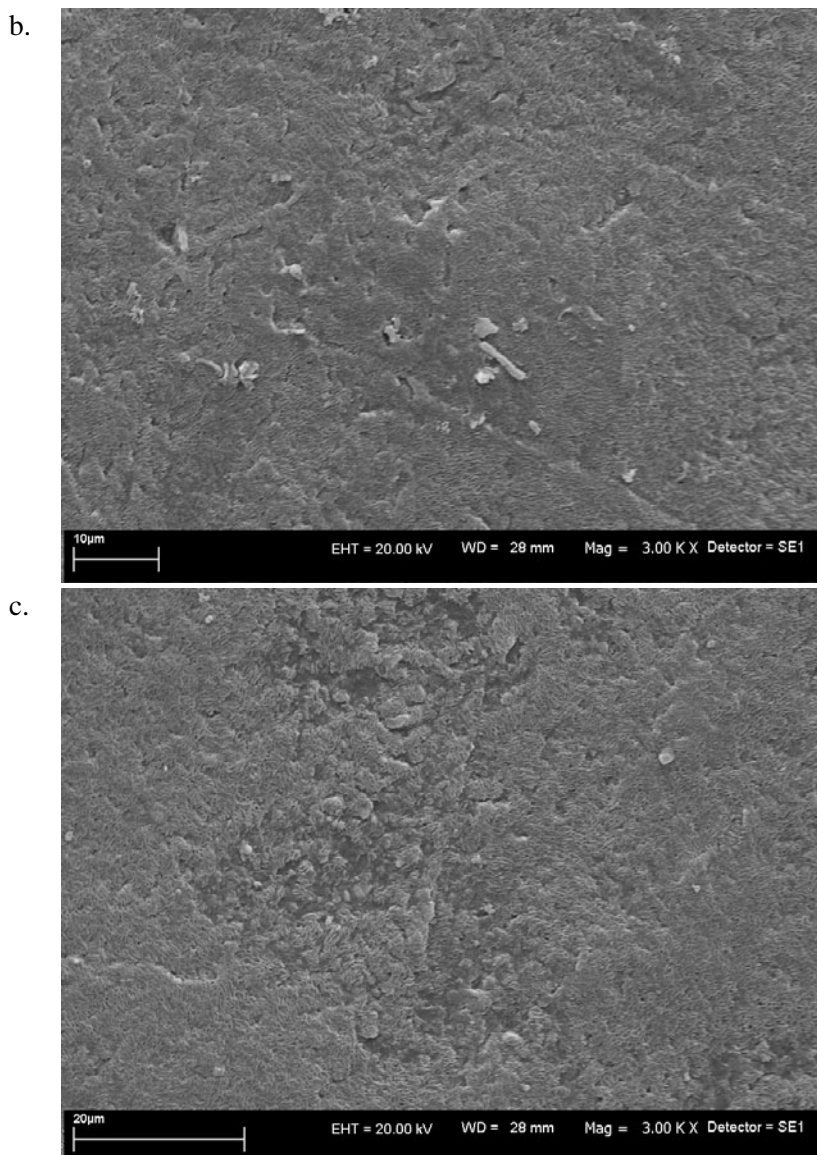
a.





Rysunek 76. Zdjęcia powierzchni PCV po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w mikroście (powiększenie: a - 2000x, b - 4000x, c - 6000x)





Rysunek 77. Zdjęcia powierzchni PE po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w mikroście (powiększenie: a - 2170x, b,c - 3000x)

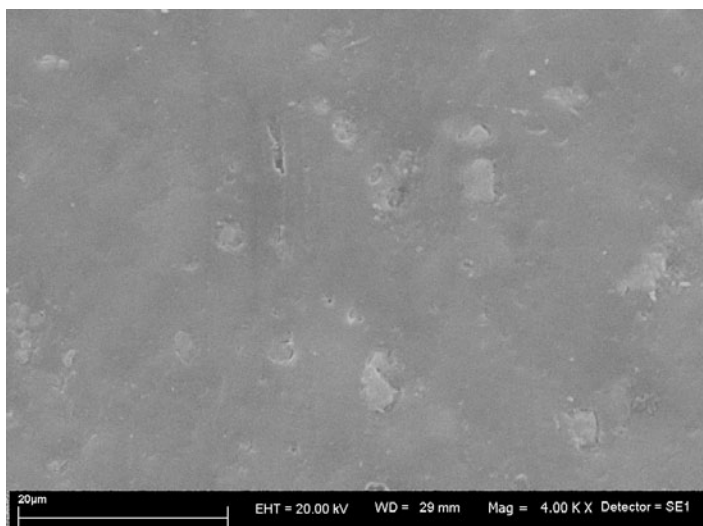
Analiza mikroskopowa wykazała zmiany powierzchni materiałów. Charakter tych zmian jest podobny jak w przypadku polichlorku winyli i polietylenu w badaniach prowadzonych w reaktorze jednak ich skala jest większa. Zdjęcia uwidaczniają znacznie liczniejsze i większe powierzchniowo i objętościowo wżery, natomiast ilość osadów nieorganicznych pozostałych na powierzchni jest znacznie mniej w porównaniu z PCV i PE z reaktora, może to być wynikiem składu fizyczno-chemicznego wody. W przypadku badań na reaktorze osady mogły pochodzić bezpośrednio z sieci wodociągowej i jedynie osadzać się na powierzchni badanych.

Porównując biofilmy powstałe na czterech badanych polimerach syntetycznych w warunkach przepływowego układu laboratoryjnego stwierdzono największe i najbardziej zróżnicowane na polipropylenie i polibutylenie. Ich struktura była bardziej zróżnicowana przestrzennie niż błona powstała na polichlorku winylu czy polietylenie. Widoczne były wyraźne skupiska różnych form morfologicznych bakterii oraz ich wielowarstwowość, podczas gdy w przypadku PCV i PE biofilm wydawał się być mniej

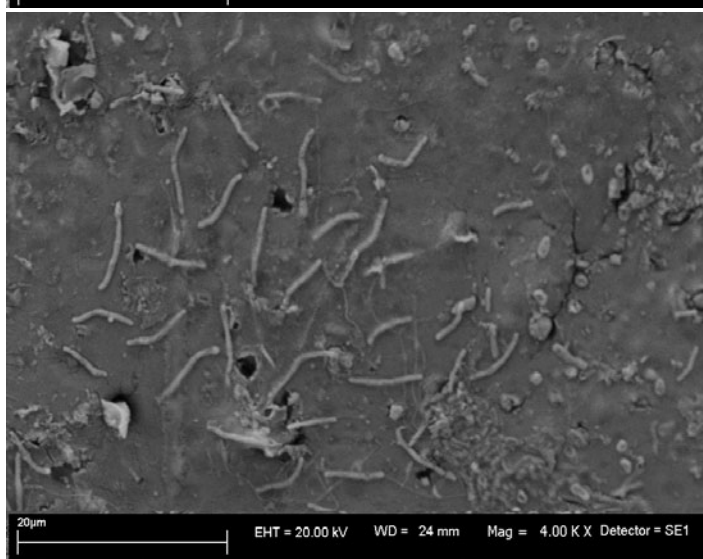
„zagęszczony”. O ich wielkości i dojrzałości świadczy również fakt, że zastosowana do ich usunięcia metoda ultradźwięków okazała się nie wystarczająca, przez co na powierzchni pozostały nie tylko pojedyncze komórki ale również niewielkie ich skupiska. Uszkodzenia powierzchni polipropylenu oraz polibutylenu w wyniku obecności mikroorganizmów były znacznie większe niż polichlorku winylu oraz polietylenu.

W przypadku porównania błon biologicznych powstałych na PCV i PE w warunkach przepływowych z wykorzystaniem mikrostatu, stwierdzono większą bioróżnorodność biofilmu obecnego na polietylenie. Sama błona okazała się znacznie obfitsza niż na polichlorku winylu i wykazywała największe zróżnicowanie przestrzenne ze wszystkich obserwowanych w prowadzonych badaniach obrostach mikrobiologicznych. Wyniki uzyskane na podstawie analizy zdjęć znajduje w pełni potwierdzenie w pomiarach zmian chropowatości powierzchni próbek badanych materiałów w wyniku aktywności mikroorganizmów wodnych.

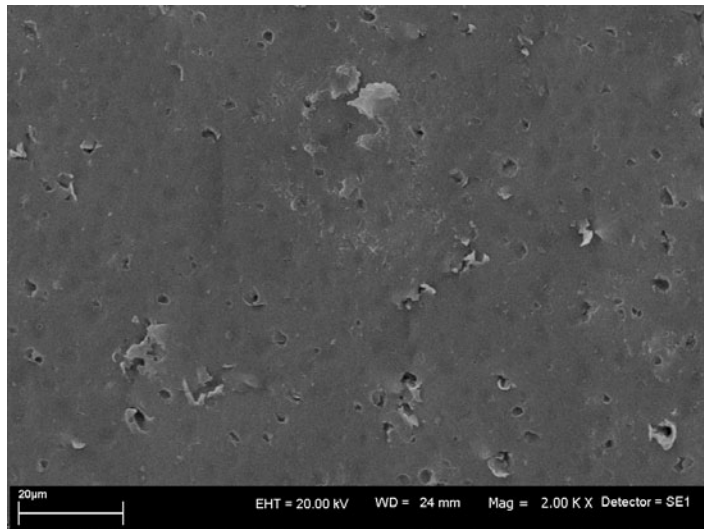
a.



b.

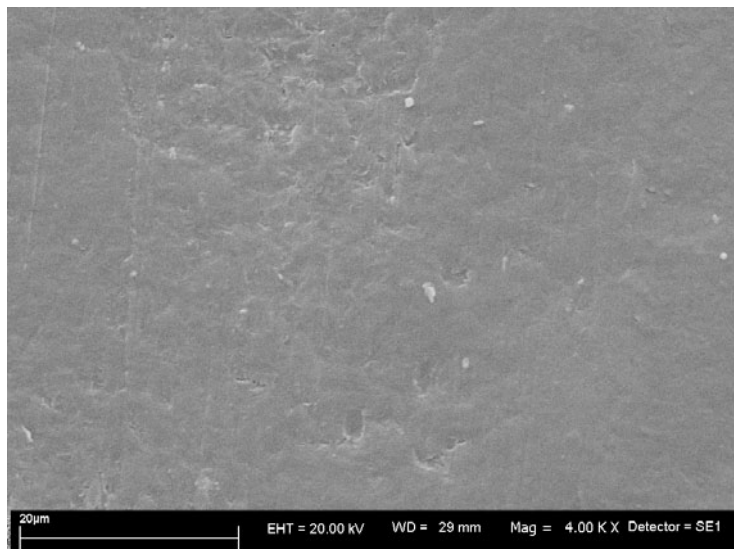


c.

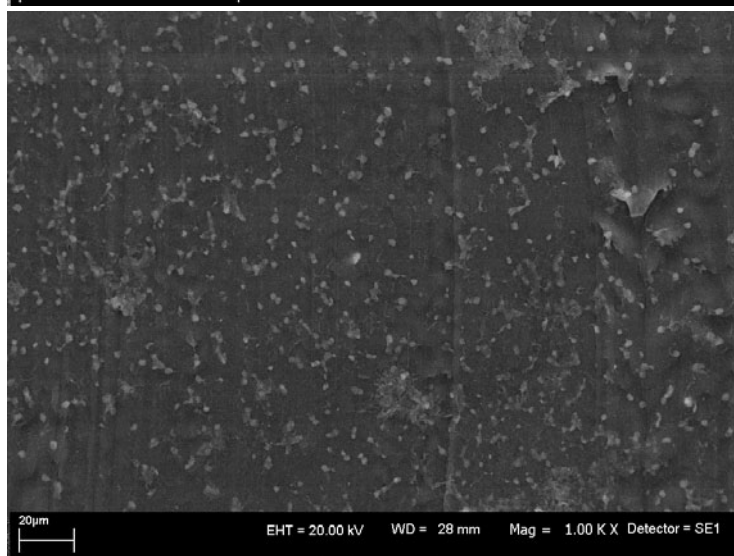


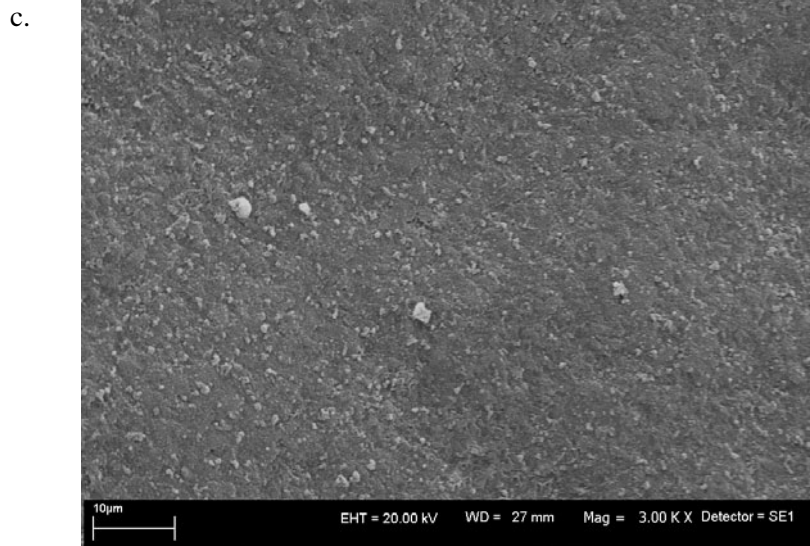
Rysunek 78. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PCV (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach układu laboratoryjnego (b) oraz jego powierzchni po jej usunięciu (c)

a.

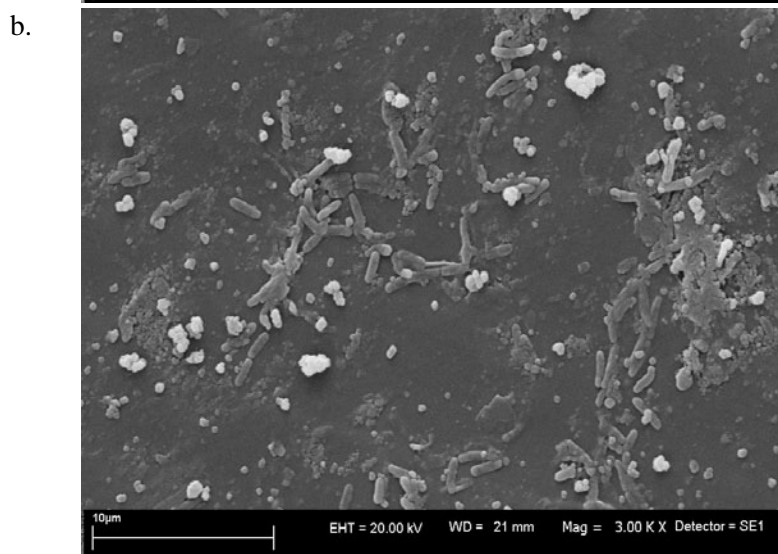
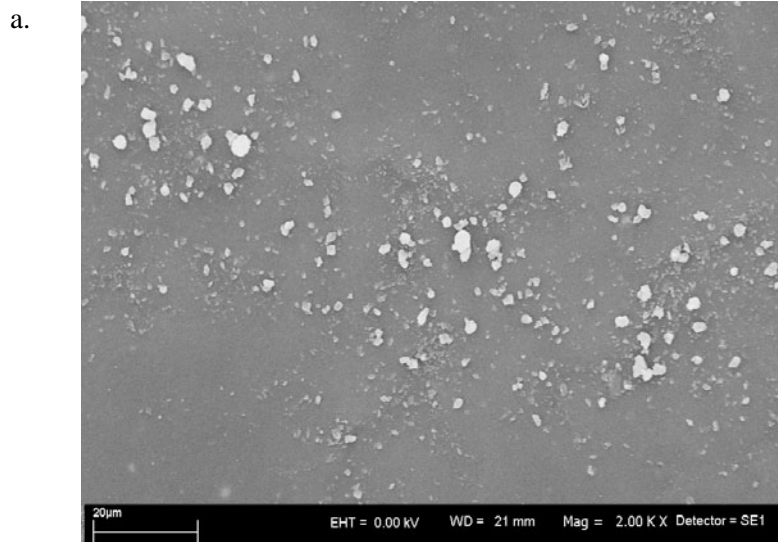


b.

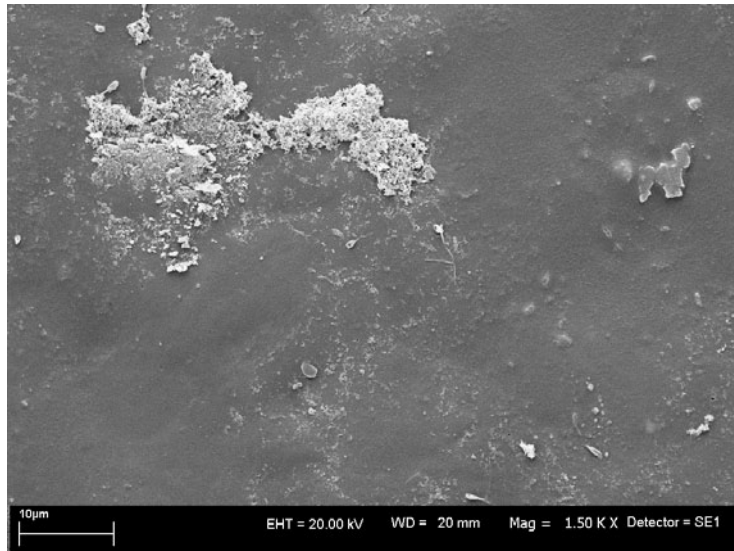




Rysunek 79. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PE (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach układu laboratoryjnego (b) oraz jego powierzchni po jej usunięciu (c)

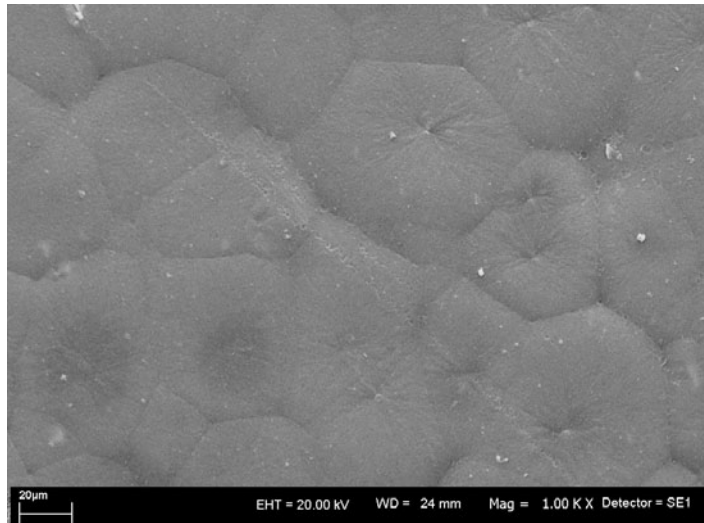


c.

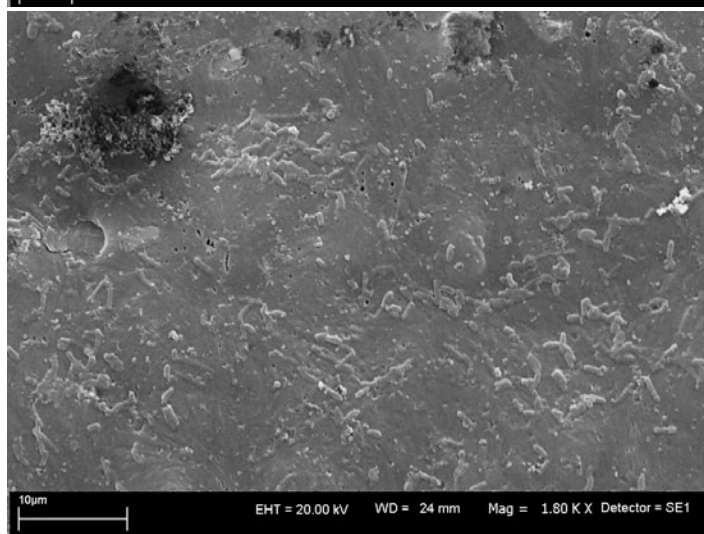


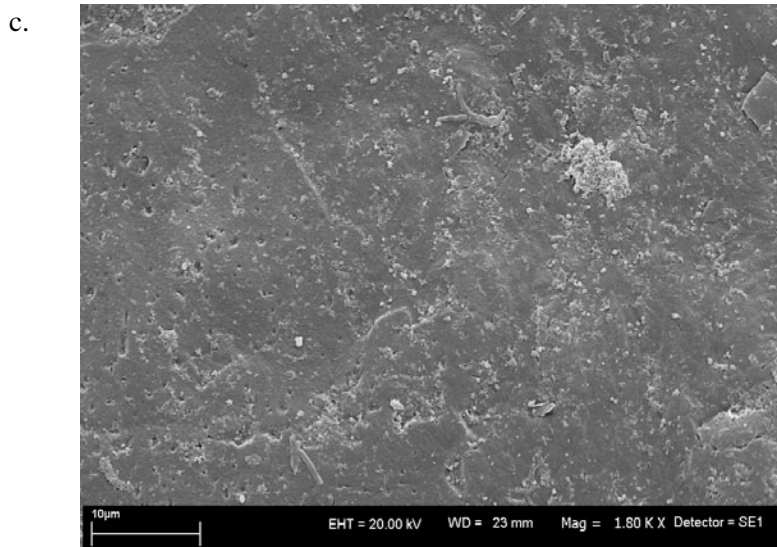
Rysunek 80. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PP (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach układu laboratoryjnego (b) oraz jego powierzchni po jej usunięciu (c)

a.

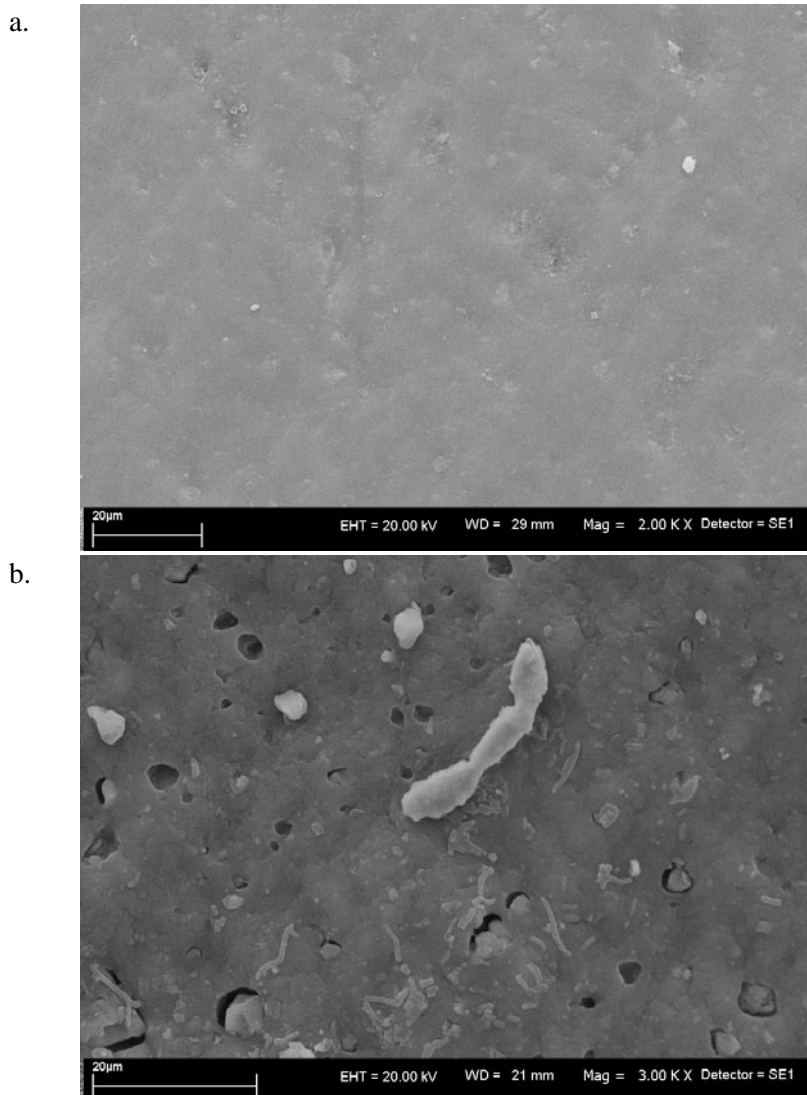


b.

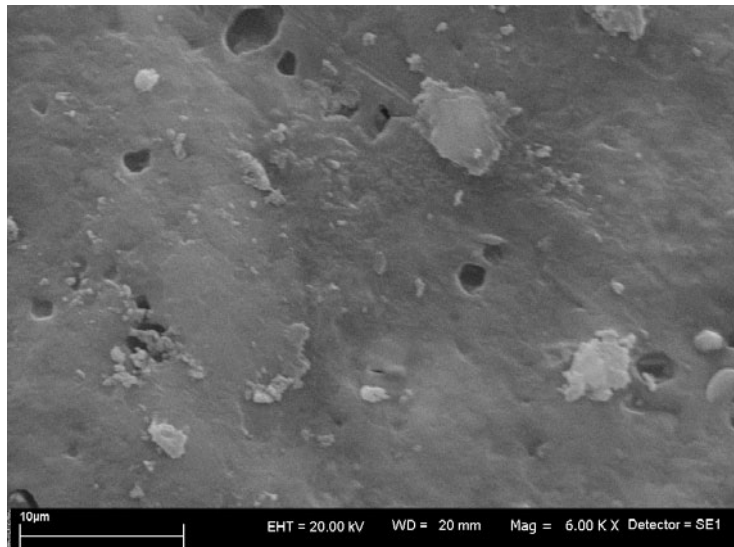




Rysunek 81. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PB (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach układu laboratoryjnego (b) oraz jego powierzchni po jej usunięciu (c)

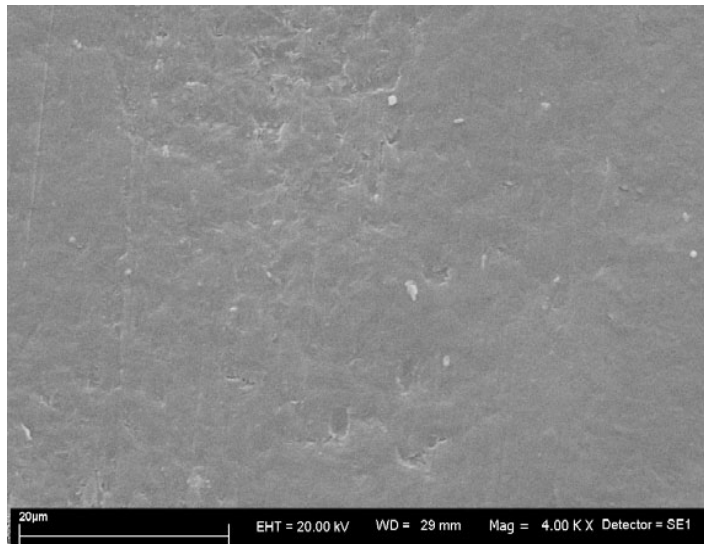


c.

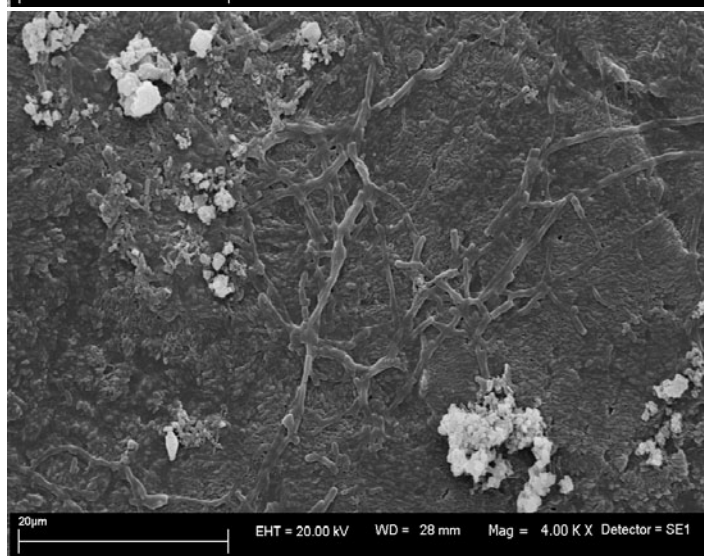


Rysunek 82. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PCV (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach mikrostatu (b) oraz jego powierzchni po jej usunięciu (c)

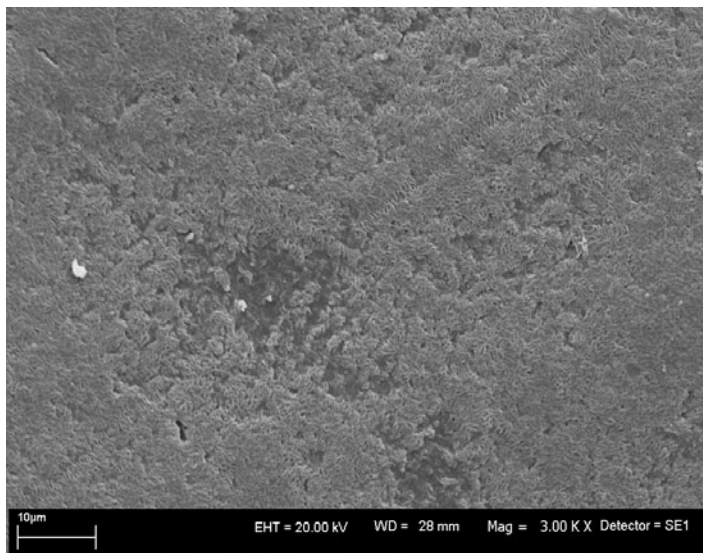
a.



b.



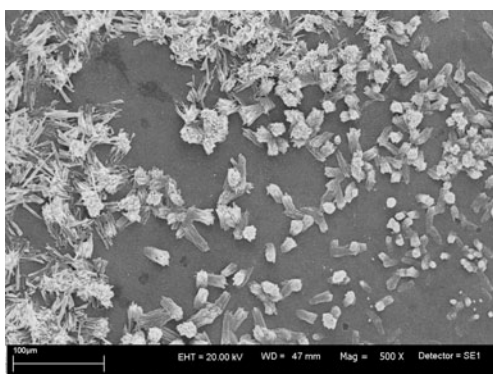
c.



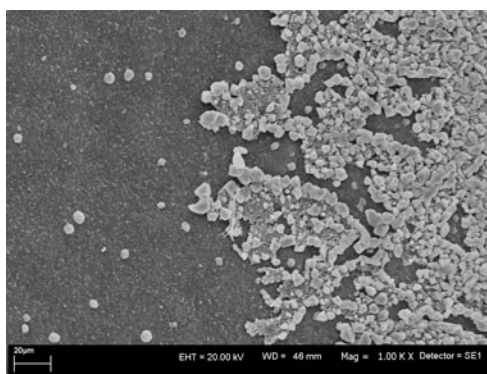
Rysunek 83. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PE (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach mikrostatu (b) jego powierzchni po jej usunięciu (c)

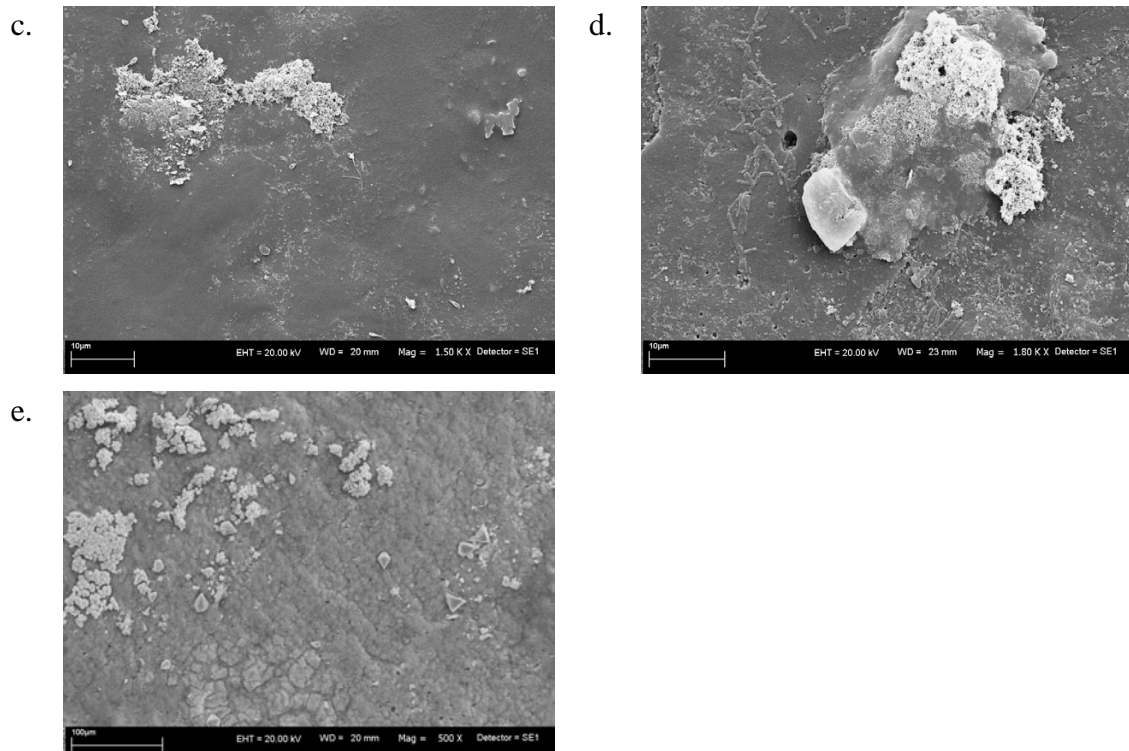
Na wykonanych elektronowym mikroskopem skaningowym zdjęciach obserwowano powstające osady nieorganiczne. Ponieważ woda zasilająca układ laboratoryjny pochodziła bezpośrednio z sieci osady te pochodziły najprawdopodobniej ze związków uwalnianych z wewnętrznych powierzchni rur, które przy małym założonym przepływie wytrącały się na próbkach badanych materiałów polimerowych. Wynikiem tego może być zwiększenie chropowatości powierzchni. Podobnie jak w przypadku rurociągów żeliwnych czy stalowych osady te mogą stanowić podłoże do powstawania obrostów mikrobiologicznych intensyfikując adhezję drobnoustrojów do podłoża.

a.



b.





Rysunek 84. Nieorganiczne osady powstałe na powierzchniach rurociągów polimerowych w wyniku ich eksploatacji. Polietylen a (500x) i b (1000x), polipropylen c (1500x), polibutylen d (1500x). Polichlorek winylu z mikrostatu e (2000x)

3.6. Wyniki badań zmian jakościowych parametrów mikrobiologicznych i fizyczno-chemicznych w wybranych punktach kontrolnych systemu dystrybucji wody

Badania zmian parametrów mikrobiologicznych i fizyczno-chemicznych wody w trakcie jej przesyłu systemem dystrybucji wody prowadzono przez okres trzech miesięcy od marca do maja 2008 r., dokonując siedmiu poborów próbek wody w wybranych punktach czerpalnych. Uzyskane wyniki porównano z wodą wprowadzaną do sieci. Ponieważ wrocławska sieć wodociągowa zasilana jest z dwóch zakładów uzdatniania wody, w których daty wykonania analiz mikrobiologicznych i fizyczno-chemicznych nie pokrywały się ze sobą, jako punkt odniesienia przyjęto zakresy wartości wybranych parametrów z dwóch zakładów oczyszczania wody dla danego okresu. Istotne jest, że w jednym ujmowana jest woda infiltracyjna (Zakład Na Grobli), w drugim woda powierzchniowa (Zakład na Mokrym Dworze), co wpłynęło na duże zróżnicowanie jakości wody w przypadku niektórych parametrów. Charakterystykę wody zasilającej sieć wodociągową przedstawiono w tabelach nr 28 i 29.

Pod względem mikrobiologicznym badane wody charakteryzowały się bardzo dobrą jakością, gdyż zarówno w przypadku bakterii psychrofilnych jak i mezofilnych w badanym okresie ich ilość oscylowała pomiędzy 0 a maksymalnie 5 jtk/cm³ (bakterie psychrofilne 29.04.08). Odczyn wody wahał się w zakresie od 7,6 do 7,8 dla obu stacji uzdatniania. Stężenie zawartości azotynów w wodzie z ZUW Na Grobli były niższe niż 0,02 mg/dm³, natomiast w ZUW na Mokrym Dworze nie przekraczały wartości 0,003mg/dm³, podczas gdy wartość dopuszczalna dla wody wprowadzanej do sieci zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia wynosi 0,1 mg/dm³ [110]. Natomiast ilość azotanów wahała się w granicach od 0,04 do 16,1 mg/dm³, przy czym większe wartości stwierdzono w wodzie z Mokrego Dworu gdzie ujmowana jest woda powierzchniowa. Wymagany stosunek azotanów i azotynów (azotany/50 + azotyny/3 ≤1) był spełniony dla wszystkich analizowanych próbek wody. Stężenie ortofosforanów w wodzie z ZUW na Mokrym Dworze nie było oznaczane natomiast w wodzie z Na Grobli ich zawartość nie przekraczała 0,02 mg PO₄³⁻/dm³. Chlor wolny i związany (łącznie) dla obu wód wprowadzanych do sieci wodociągowej mieścił się w granicach 0,37-0,53 mg Cl/dm³ dla ZUW Na Grobli i 0,49-0,69 mg Cl/dm³ dla Mokrego Dworu. Zróżnicowane ilości chloru wynikały zapewne z rodzaju ujmowanej wody surowej.

Tabela 28. Parametry jakościowe wody czystej PII ZUW Na Grobli [81]

Parametr	Wartości dopuszczalne	Data wykonania analiz						
		04.03.08	11.03.08	25.03.08	01.04.08	15.04.08	29.04.08	06.05.08
pH [-]	6,5 – 8,5	7,6	7,7	7,6	7,7	7,6	7,8	7,7
ortofosforany [mg PO ₄ ⁻³ /dm ³]	-	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02	< 0,02
azot azotynowy [mg N-NO ₂ ⁻ /dm ³]	0,15	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006	< 0,006
azot azotanowy [mg N-NO ₃ ⁻ /dm ³]	11,30	0,7	0,72	0,01	0,72	0,69	0,64	0,62
OWO [mg C/dm ³]	5	-	3,1	2,95	2,53	2,71	2,44	2,96
chlor pozostały użyteczny [mg Cl/dm ³]	0,30	0,47	0,43	0,50	0,44	0,37	0,48	0,53
ogólna liczba mikroorganizmów w temp. 22 ± 2⁰C po 72h [jtk/cm ³]	100	0	1	0	1	1	5	0
ogólna liczba mikroorganizmów w temp. 36 ± 2⁰C po 48h [jtk/cm ³]	50	0	1	0	0	0	3	0

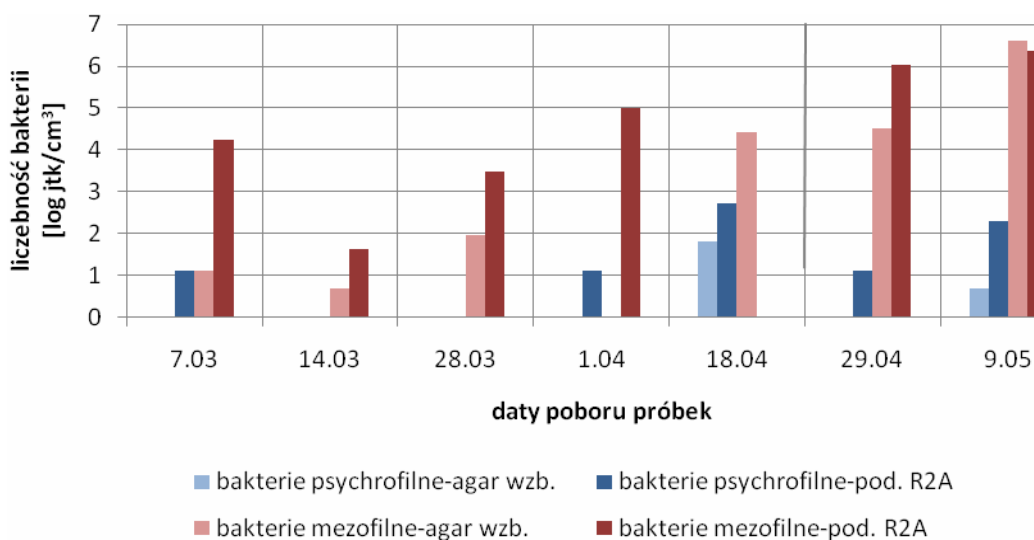
Tabela 29. Parametry jakościowe wody czystej PII ZUW Mokry Dwór [81]

Parametr	Wartości dopuszczalne	Data wykonania analiz						
		03.03.08	10.03.08	31.03.08	07.04.08	14.04.08	28.04.08	05.05.08
pH [-]	6,5 – 8,5	7,8	7,7	7,8	7,7	7,7	7,7	7,7
ortofosforany [mg PO ₄ ⁻³ /dm ³]	-	-	-	-	-	-	-	-
azot azotynowy [mg N-NO ₂ ⁻ /dm ³]	0,15	< 0,0009	< 0,0009	< 0,0009	< 0,0009	< 0,0009	< 0,0009	< 0,0009
azot azotanowy [mg N-NO ₃ ⁻ /dm ³]	11,30	2,35	3,41	1,96	1,34	1,37	3,64	2,12
OWO [mg C/dm ³]	5	3,11	3,28	3,13	3,23	3,27	3,58	2,34
chlor pozostały użyteczny [mg Cl/dm ³]	0,30	0,52	0,52	0,49	0,64	0,60	0,69	0,67
ogólna liczba mikroorganizmów w temp. 22 ± 2⁰C po 72h [jtk/cm ³]	100	0	1	1	1	1	0	0
ogólna liczba mikroorganizmów w temp. 36 ± 2⁰C po 48h [jtk/cm ³]	50	0	0	0	1	0	0	0

Pomimo bardzo dobrej jakości wody opuszczającej zakłady uzdatniania na wybranych punktach czerpalnych stwierdzono znaczne ilości drobnoustrojów. Wyniki przeprowadzonych w kolejnych terminach analiz mikrobiologicznych i fizyczno-chemicznych dla ośmiu wybranych punktów przedstawiono na poniższych wykresach (Rysunki nr 84 - 107).

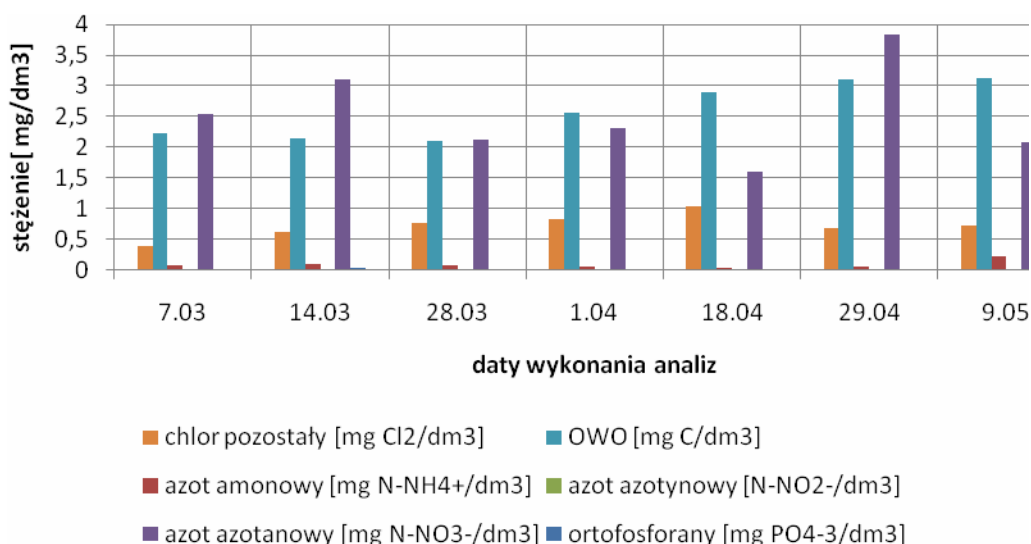
Badania prowadzono na dwóch podłożach, to jest na agarze odżywczym wykorzystywanym do oceny jakości wody zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Ministra Zdrowia, oraz na podłożu R2A, które zawiera związki detoksykujące umożliwiające powrót do właściwego metabolizmu bakteriom uszkodzonym przez substancje chemiczne stosowane do dezynfekcji wody [80,110].

Pierwszy punkt poboru wody znajdował się przy ulicy Czekoladowej mieszczącej się na południowo-zachodnich obrzeżach miasta, w końcowym odcinku wrocławskiej sieci dystrybucji. Kolektor wykonany ze stali eksploatowany jest od 1930 roku, natomiast przyłącze wymieniono w 2001 na materiał polietylen High Density (PEHD).



Rysunek 85. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 1 (ul. Czekoladowa, kolektor- stal 1930)

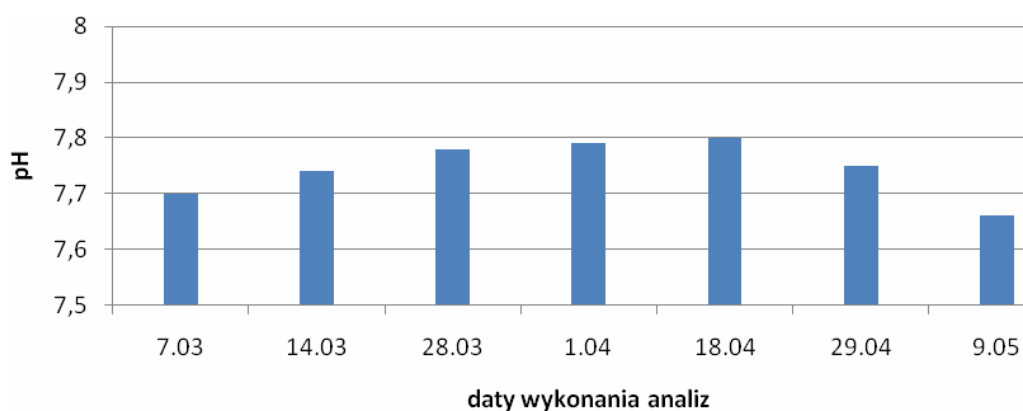
Istotne było, że w wodzie pobieranej z tego punktu czerpalnego obserwowano znaczne ilości bakterii mezofilnych, których obecność jest szczególnie niepożądana w wodzie do picia z uwagi na możliwość zagrożenia epidemiologicznego przy jednocześnie niskich ilościach bakterii psychrofilnych. Duże przekroczenia zaobserwowano w trzech kolejnych terminach od 18 kwietnia do 9 maja, kiedy to ich ilość osiągnęła wartości odpowiednio 84, 90 oraz 751 jtk/cm³. W pozostałych przypadkach woda mieściła się w wymaganych normach jakościowych zarówno dla podłoża odżywczego w czterech z siedmiu wykonanych poborów (7.03, 14.03, 28.03, 1.04), gdzie ich liczba mieściła się w przedziale 0 – 7 jtk/cm³. W przypadku zastosowania podłoża R2A w wodzie stwierdzono wyższą liczebność bakterii mezofilnych, które w terminach 7.03, 1 i 29. 05 i 9.05 wykraczały poza wartości normatywne i wahały się w zakres 69 – 583 jtk/cm³.



Rysunek 86. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 1 (ul. Czekoladowa, kolektor-stal 1930)

Największą liczebność bakterii psychrofilnych i mezofilnych dla pierwszego punktu poboru uzyskano 9 maja (bakterie psychrofilne: A – 2 jtk/cm³, R2A – 10 jtk/cm³, bakterie mezofilne: A - 751 jtk/cm³, R2A – 583 jtk/cm³) oraz 18 kwietnia (bakterie psychrofilne: A – 6 jtk/cm³, R2A – 15 jtk/cm³, bakterie mezofilne: A – 84 jtk/cm³, R2A - 1 jtk/cm³) jednocześnie obserwując w wodzie znaczne stężenie OWO w granicach 2,89-3,13 mg C/dm³. Mniejsza ilość bakterii w wodzie pobranej 18 kwietnia mogła być wynikiem większego stężenia chloru pozostałego (1,03 mg Cl₂/dm³) w stosunku do wody z 9 maja (0,73 mg Cl₂/dm³).

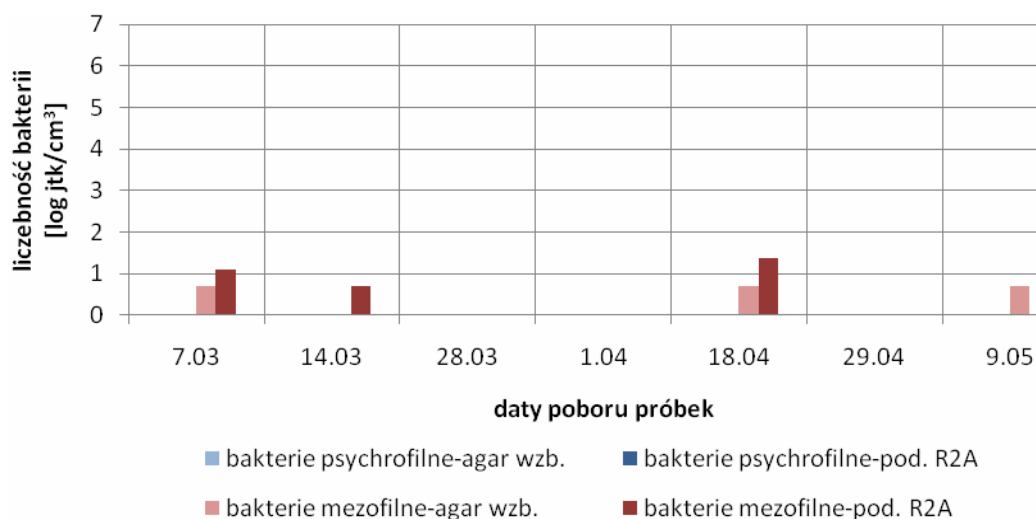
Przy zwiększonej ilości azotu azotanowego wzrastała ilość bakterii mezofilnych, wyniki takie uzyskano 29 kwietnia, kiedy to stężenie azotu azotanowego wynosiło 3,83 mg N-NO₃⁻/dm³ i stanowiło 50% więcej od wartości średniej tego parametru dla wszystkich poborów. Ilość obecnych w wodzie bakterii mezofilnych osiągnęła wówczas wartość 90 jtk/cm³ na agarze wzbogaconym i 410 jtk/cm³ na podłożu R2A. Pomimo wysokiego stężenia OWO w wodzie (3,10 mg C/dm³) ilość bakterii psychrofilnych była 10-krotnie mniejsza niż mezofilnych (1 jtk/cm³ na agarze i 3 jtk/cm³ na R2A).



Rysunek 87. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 1 (ul. Czekoladowa, kolektor- stal 1930)

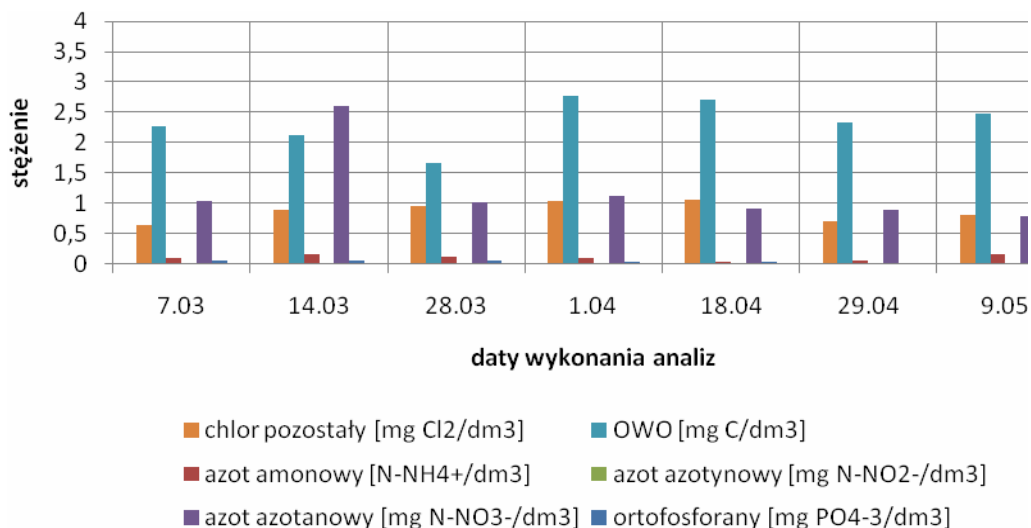
Najniższy odczyn wody 7,66 zaobserwowano 9 maja, najwyższy wynoszący 7,80 18 kwietnia. Odczyn wody zależy od wielu czynników takich jak: rodzaj rurociągu (korozja elektrochemiczna i mikrobiologiczna) [128], obecność metabolitów produkowane przez drobnoustroje (kwasy organiczne i nieorganiczne) obniżające odczyn wody [63,114].

Kolejny punkt poboru wody do badań zlokalizowany był przy ulicy Ziemowita mieszczącej się w centrum miasta, gdzie zarówno kolektor (PE, 2003) jak i przyłącze (PEHD, 2004) było wymieniane pięć lat przed wykonywaniem badań tak, więc czas eksploatacji był najkrótszy w porównaniu do pozostałych siedmiu punktów pomiarowych. Woda pobierana z tego punktu czerpalnego charakteryzowała się bardzo dobrą jakością mikrobiologiczną podczas całego okresu badań. W przypadku bakterii psychrofilnych nie przekroczyła 1 jtk/cm³ (zarówno na podłożu odżywczym jak i R2A), a mezofilnych 2 jtk/cm³ na podłożu odżywczym i 4 jtk/cm³ na podłożu R2A i są to wartości w granicy błędów pomiarowej.



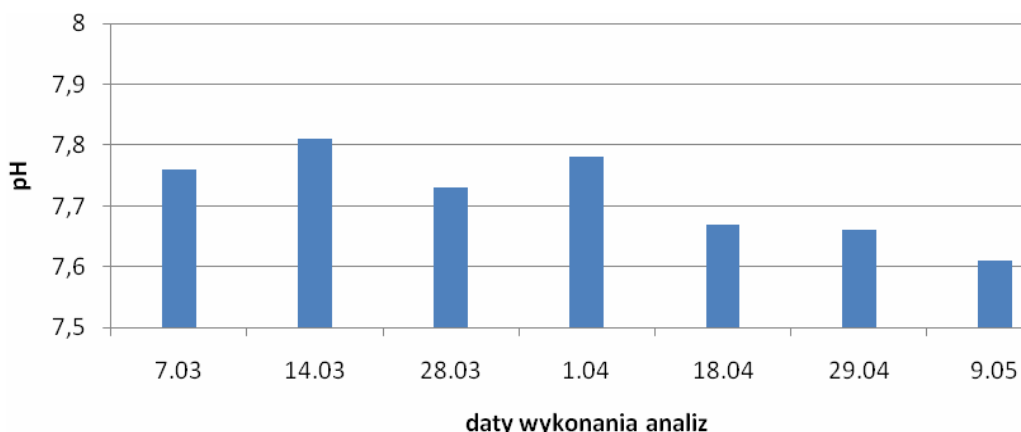
Rysunek 88. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 2 (ul. Ziemowita, kolektor- PE 2003)

Istotne było, iż podobne wyniki, co do jakości mikrobiologicznej wody uzyskano 14 marca i 9 maja, gdzie liczebność bakterii mezofilnych (w przypadku obu podłoży) wynosiła poniżej 2 jtk/cm³ pomimo różnic w składzie chemicznym wody. Ilość chloru pozostałego wynosiła odpowiednio 0,89 i 0,82 mg Cl/dm³. Czternastego marca stężenie azotu azotanowego wynosiło aż 2,60 mg N-NO₃⁻/dm³ a OWO na poziomie 2,13 mg C/dm³. Dziewiątego maja stężenie azotu azotanowego wynosiło natomiast < 1mg N-NO₃⁻/dm³ a OWO 2,49 mg C/dm³.



Rysunek 89. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 2 (ul. Ziemowita, kolektor-PE 2003)

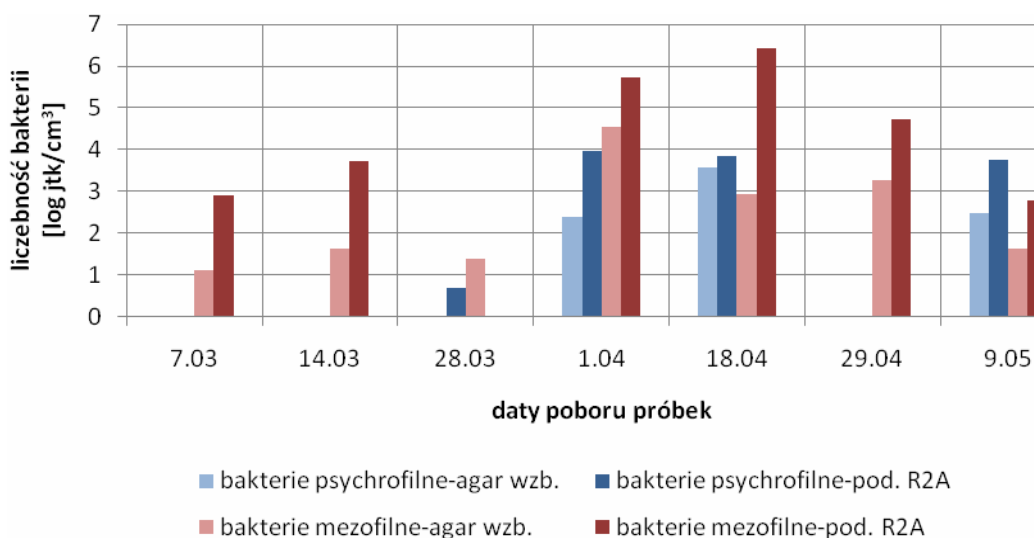
Takie rozbieżności w składzie chemicznym wody przy jednoczesnej podobnej liczebności drobnoustrojów dowodzą wpływu na jakość mikrobiologiczną wody wodociągowej nie tylko ilości biogenów, ale również innych czynników np. warunków hydraulicznych rodzaju materiału i czasu eksploatacji.



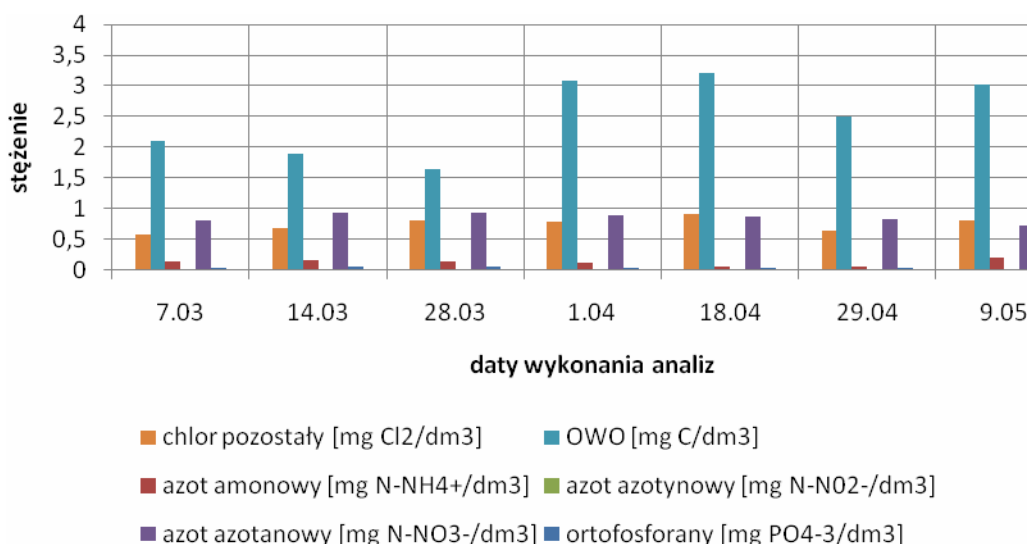
Rysunek 90. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 2 (ul. Ziemowita, kolektor- PE 2003)

Stosunkowo młody wiek rurociągów (< 5 lat) mógł się przyczynić do dużych wahań odczynu wody, gdyż wciąż mogły się z nich okresowo wypłukiwać komponenty wykorzystywane przy ich produkcji powodujące wzrost odczynu wody.

Trzeci punkt poboru wody do badań znajdował się przy ulicy Trzebnickiej, który podobnie jak poprzedni zlokalizowany był w centralnej części miasta, jednak różniący się bardzo wiekiem i rodzajem materiału rurociągów doprowadzających wodę (kolektor – żeliwo 1988, przyłącze – stal 1992).



Rysunek 91. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 3 (ul. Trzebnicka, kolektor- żeliwo 1988)

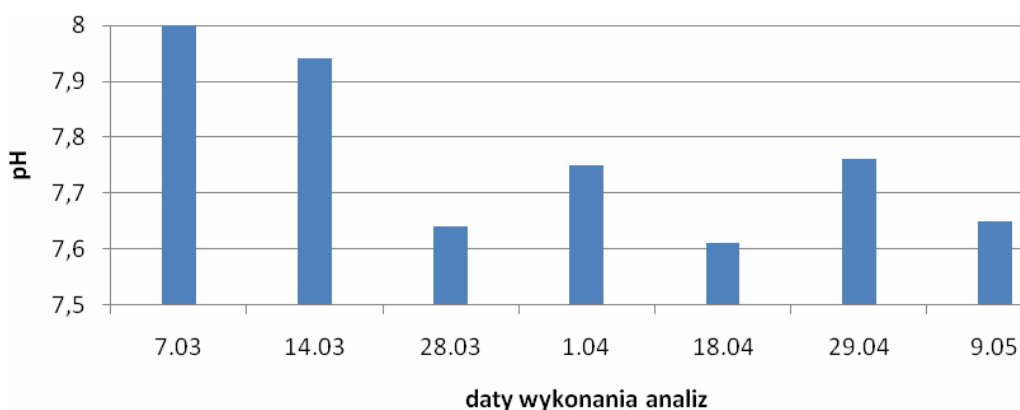


Rysunek 92. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 3 (ul. Trzebnicka, kolektor-żeliwo 1988)

Podobnie jak w przypadku wody pobieranej na ul. Czekoladowej w próbkach wody dominowały bakterie mezofilne. Woda nie spełniała wymaganej jakości mikrobiologicznej pod względem ilości bakterii mezofilnych 1 kwietnia, kiedy to na podłożu odżywczym ilość wyrosłych koloni dochodziła do 94 jtk/cm³ (przekroczenie około 90 %), a na podłożu R2A nawet 307 jtk/cm³. Natomiast 18 i 29 kwietnia bakterie mezofilne wyrosły na agarze w ilości odpowiednio 19 i 26 jtk/cm³, podczas gdy na podłożu R2A przekroczyły dopuszczalne ilości osiągając wartości 614 i 111 jtk/cm³. Również stężenie OWO w tych próbkach wody było stosunkowo wysokie w porównaniu do pozostałych i wahało się w zakresie 3,03-3,22 mg C/dm³. Pomimo wysokiego stężenia środka dezynfekcyjnego w ilości 0,78-0,90 mg Cl₂/dm³ chloru pozostałego jakość mikrobiologiczna wody nie spełniała wymagań jakościowych. Natomiast przez cały okres prowadzenia badań nie stwierdzono przekroczenia

dopuszczalnej liczby bakterii psychrofilnych, na agarze wystąpiły one w ilości 0 – 36 jtk/cm³, a na podłożu R2A 0 - 55 jtk/cm³

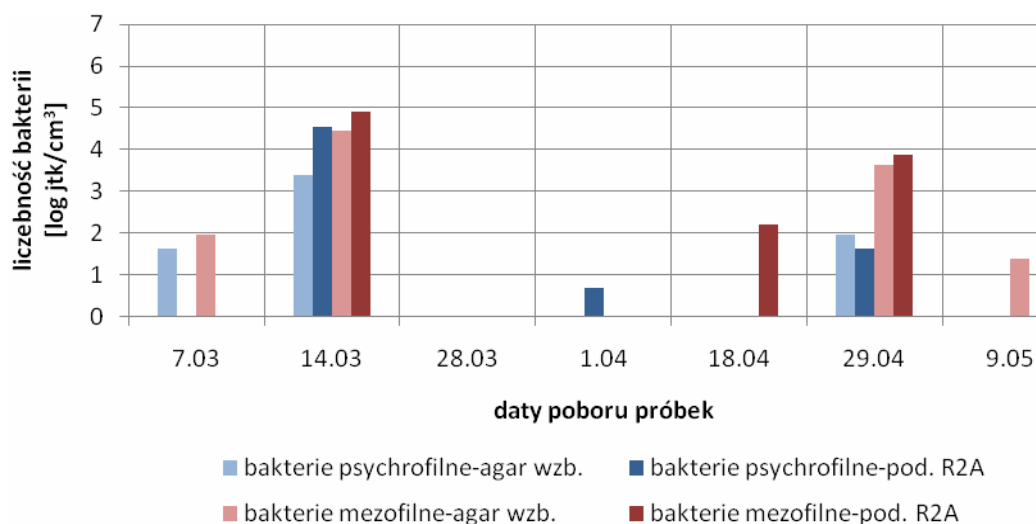
Ilość biogennych substancji nieorganicznych (formy azotu i fosforu) utrzymywała się na podobnym poziomie podczas całego okresu prowadzenia badań. Azot amonowy był poniżej 0,20 mg N-NH₄⁺/dm³, azot azotynowy nie był obecny a azot azotanowy w zakresie 0,73-0,93 N-NO₃⁻/dm³ i nie przekraczały dopuszczalnych wartości zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia [110]. Ortofosforany nie przekroczyły 0,05 mg PO₄⁻³/dm³, co mieści się w granicy błędu metody.



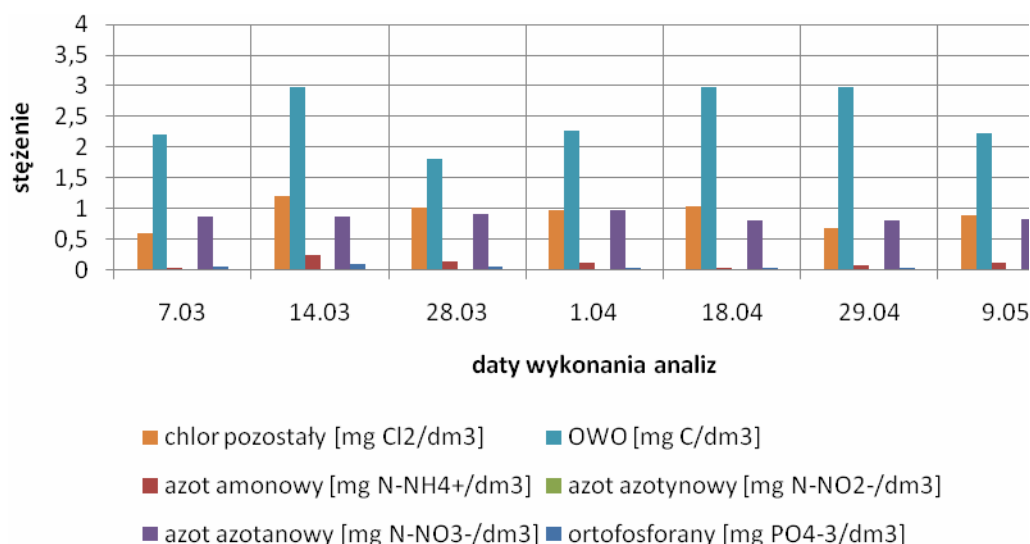
Rysunek 93. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 3 (ul. Trzebnicka, kolektor- żeliwo 1988)

Najniższy odczyn wody zaobserwowano 18 kwietnia, kiedy bakterie wystąpiły najliczniej w całym okresie badań. Potwierdza to dane literaturowe o produkowaniu przez drobnoustroje obecne w błonach biologicznych powstałych na rurociągach metabolitów obniżających pH wody.

Punkt czwarty znajdujący się przy ulicy Traugutta był zlokalizowany w miejscu najbliższym położonym zarówno ZUW przy ulicy Na Grobli jak i „Mokrego Dworu”. Pomimo długiego okresu eksploatacji przyłącza (żeliwo 1976) w całym okresie prowadzenia badań stwierdzono zadowalającą jakość wody. Ilość bakterii psychrofilnych na agarze wzbogaconym wahała się w zakresie 0 – 7 jtk/cm³, a na podłożu R2A 0 – 5 jtk/cm³, natomiast bakterie mezofilne na agarze wystąpiły w ilości 0 – 38 jtk/cm³, a na R2A 0 - 48 jtk/cm³. Jedynie 14 kwietnia zaobserwowano pogorszenie jakości wody (pomimo wysokiego stężenia chloru pozostałego przekraczającego 1 mg Cl₂/dm³), ilość bakterii psychrofilnych wynosiła na agarze 30 jtk/cm³, a na R2A 93 jtk/cm³, natomiast bakterie mezofilne odpowiednio 86 jtk/cm³ i 134 jtk/cm³. Był to jednak pojedynczy incydent, który mógł być spowodowany oderwaniem fragmentu błony biologicznej powstałej na powierzchni rurociągu przyłącza, gdyż jego czas eksploatacji przekraczał 30 lat.



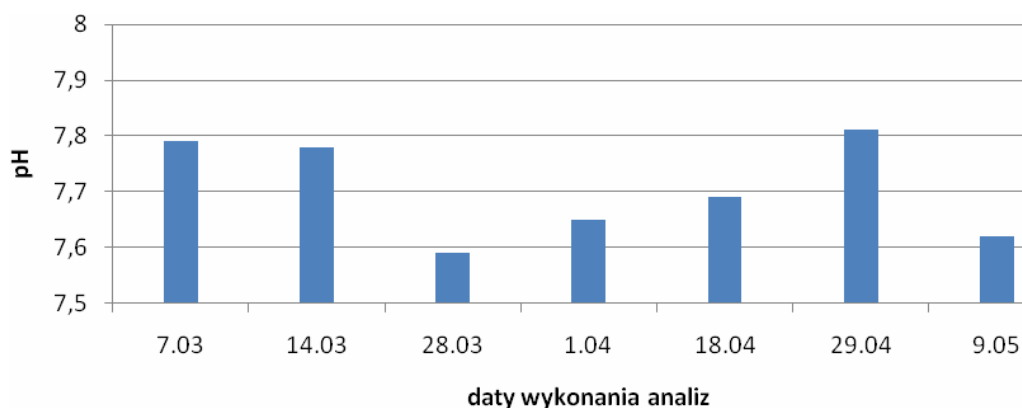
Rysunek 94. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 4 (ul. Traugutta, kolektor- PEHD 1996)



Rysunek 95. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 4 (ul. Traugutta, kolektor- PEHD 1996)

W przypadku wszystkich pobranych próbek wykazano większą liczebność bakterii mezofilnych (pomimo wysokiego stężenia chloru), w stosunku do bakterii psychrofilnych ponadto mogą też w tej grupie występować bakterie chorobotwórcze i oportunistyczne.

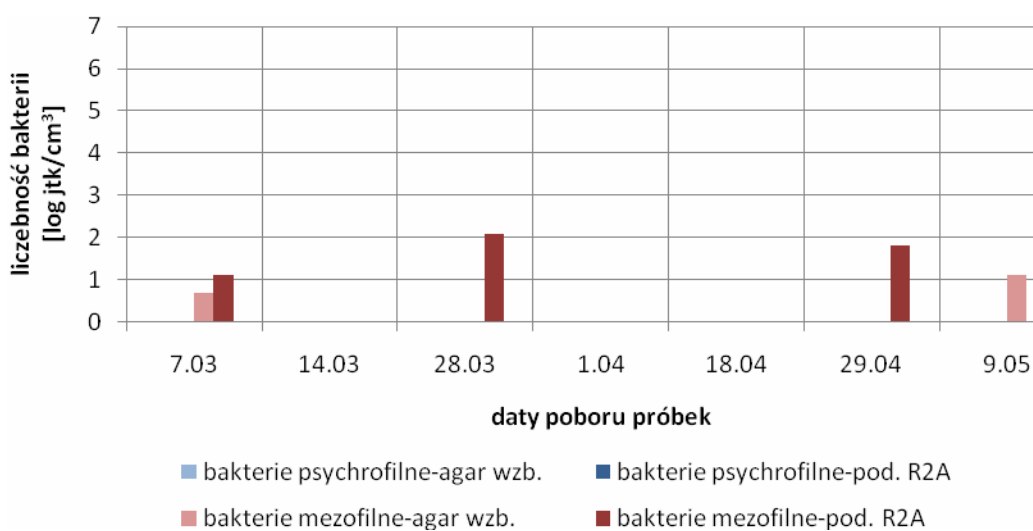
W badaniach prowadzonych dla punktu czerpalnego zlokalizowanego przy ulicy Traugutta nie stwierdzono zależności pomiędzy jakością mikrobiologiczną a składem chemicznym wody. Ilość ogólnego węgla organicznego wahała się w zakresie 1,815 – 2,987 mg C/dm³, azotu amonowego 0,04 – 0,24 mg N-NH₄⁺/dm³, azotu azotanowego 0,87 – 0,96 mg N-NO₃⁻/dm³ a ortofosforanów 0,01 – 1,00 mg PO₄³⁻/dm³. Stężenie środków dezynfekcyjnych było na wysokim poziomie, gdyż w całym okresie przekraczało 0,5 mg Cl₂/dm³.



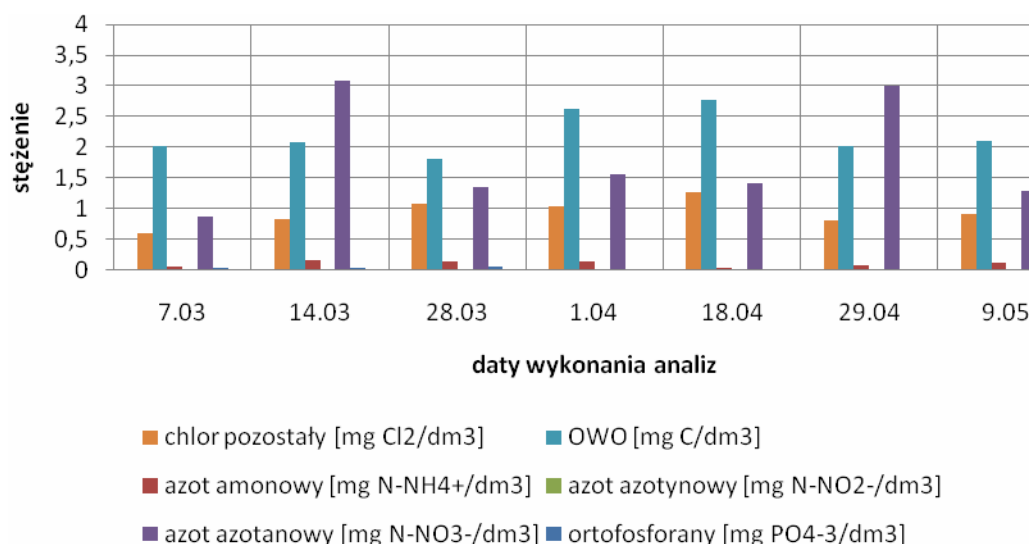
Rysunek 96. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 4 (ul. Traugutta, kolektor - PEHD 1996)

W przypadku punktu poborowego przy ulicy Traugutta duże wahania odczynu wody mogły być spowodowane połączeniem kolektora wykonanego z PEHD (1996 r.) z przyłączem z żeliwa (1976 r.). Zróżnicowany materiał i wiek rurociągów to różne procesy fizyczne i chemiczne wynikające np. z innych rodzajów osadów powstałych na ich ściankach wewnętrznych oraz zróżnicowania mikroorganizmów obecnych w błonach biologicznych.

Ulica Brücknera, przy której mieścił się piąty punkt czerpalny poboru wody do badań, znajdował się w południowo-wschodniej części miasta poza strefą centrum. Pomimo dużej odległości od zakładów uzdatniania wody oraz znacznego wieku rurociągów (kolektor – żeliwo cementowane 1930, przyłącze - PEHD 1993), woda w tym miejscu charakteryzowała się wysoką jakością mikrobiologiczną. Przez cały okres prowadzenia badań nie stwierdzono obecności bakterii psychrofilnych, a jedynie niewielkie ilości bakterii mezofilnych mieszczące się w granicy błędu metody jedynie 28.03 i 29.04 stwierdzono na podłożu R2A ilość koloni bakterii odpowiednio 8 i 6 jtk/cm³.

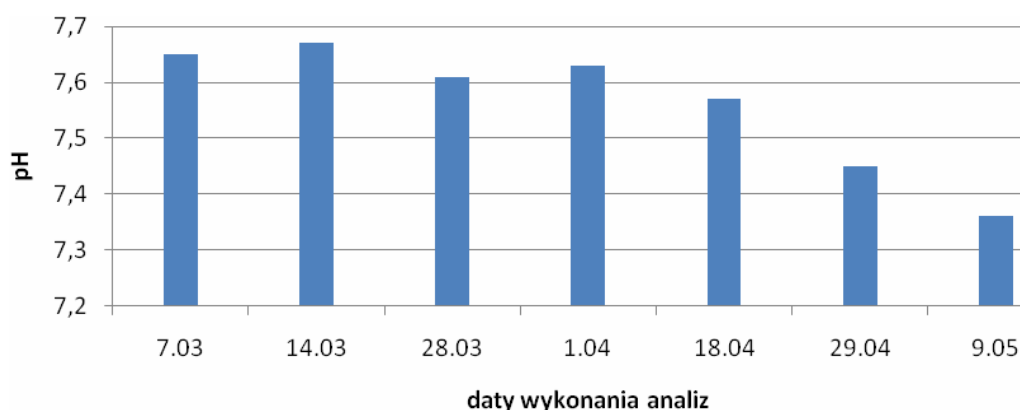


Rysunek 97. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 5 (ul. Brücknera, kolektor-żeliwo cementowane 1930)



Rysunek 98. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 5 (ul. Brücknera, kolektor-żeliwo cementowane 1930)

W wodzie z punktu nr 5 stężenie chloru pozostałego stwierdzono w całym okresie badań wysokie i wynosiło od 0,60 do 1,28 mg Cl₂/dm³. Daje to zapewne bezpośrednią przyczyną znacznie mniejszej liczebności drobnoustrojów w wodzie w stosunku do pozostałych punktów poborowych. Ilość ogólnego węgla organicznego również była na niższym poziomie i wynosiła 1,81-2,09 mg C/dm³ co najprawdopodobniej znacznie ograniczyło rozwój mikroorganizmów. Nieorganiczne związki biogenne azotu i fosforu utrzymywały się na poziomach: azot amonowy 0,04-0,16 mg N-NH₄⁺/dm³, azot azotanowy 0,88-3,08 mg N-NO₃⁻/dm³, ortofosforany < 0,04 mg PO₄⁻³/dm³ (wartość w granicy błędu metody), i przyjmował on największe wartości w porównaniu do próbek wody z pozostałych punktów kontrolnych. Nie stwierdzono obecności azotu azotynowego.

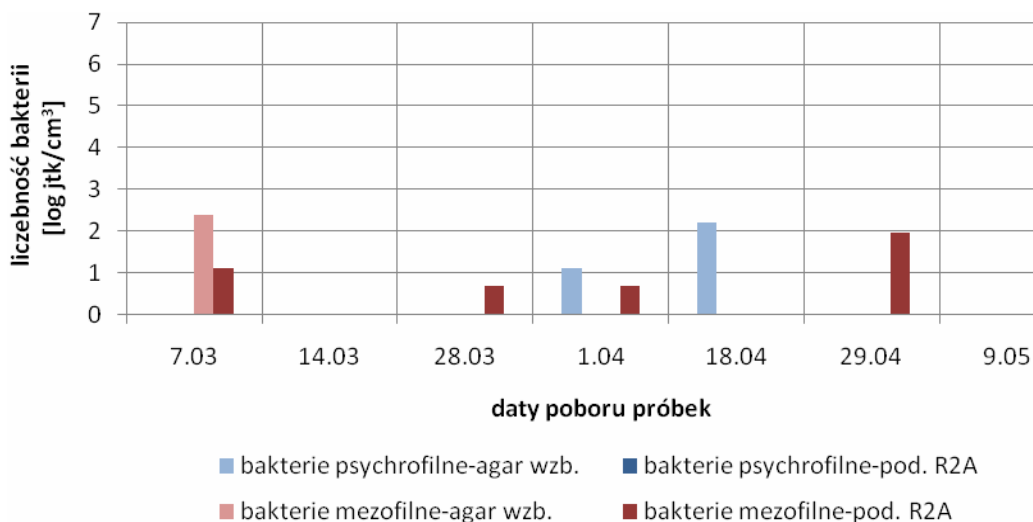


Rysunek 99. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 5 (ul. Brücknera, kolektor-żeliwo cementowane 1930)

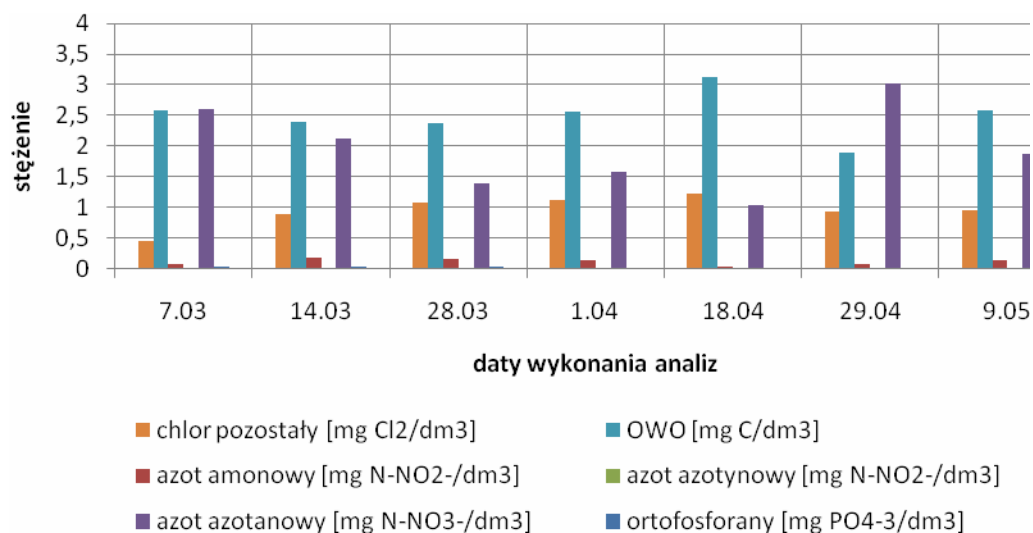
Odczyn wody przyjmował wartości w przedziale od 7,36 do 7,67. Najniższe pH odnotowano 9 maja, najwyższe 14 marca.

Kolejnym miejscem poboru wody do badań z wrocławskiej sieci wodociągowej była przychodnia mieszcząca się przy ulicy Krzywoustego. Podobnie jak punkt pierwszy, znajdujący się przy ulicy Czekoladowej, był on również znacznie oddalony

od obu zakładów uzdatniania. Nie był to jednak końcowy odcinek sieci jak miało to miejsce na ulicy Czekoladowej.



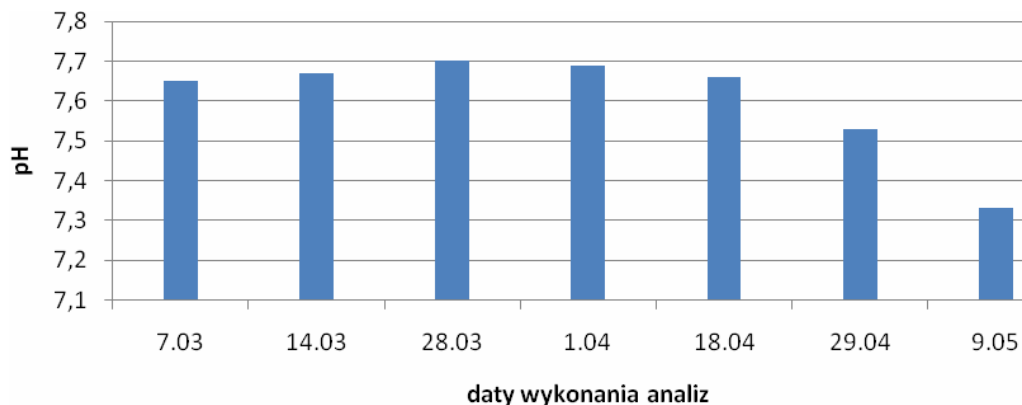
Rysunek 100. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 6 (ul. Krzywoustego, kolektor-żeliwo 1930)



Rysunek 101. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 6 (ul. Krzywoustego, kolektor-żeliwo 1930)

Największą liczebność bakterii psychrofilnych zaobserwowano 18 kwietnia, kiedy to ich ilość wynosiła 9 jtk/cm³ na agarze odżywczym (na R2A nie stwierdzono obecności kolonii bakterii), a mezofilnych 7 marca w ilości 11 jtk/cm³ na agarze i 3 jtk/cm³ na R2A. Ilość pozostałego chloru utrzymywała się na wysokim poziomie i wynosiła 1,22 mg Cl₂/dm³ co z pewnością przyczyniło się do utrzymania wysokiej jakości mikrobiologicznej wody.

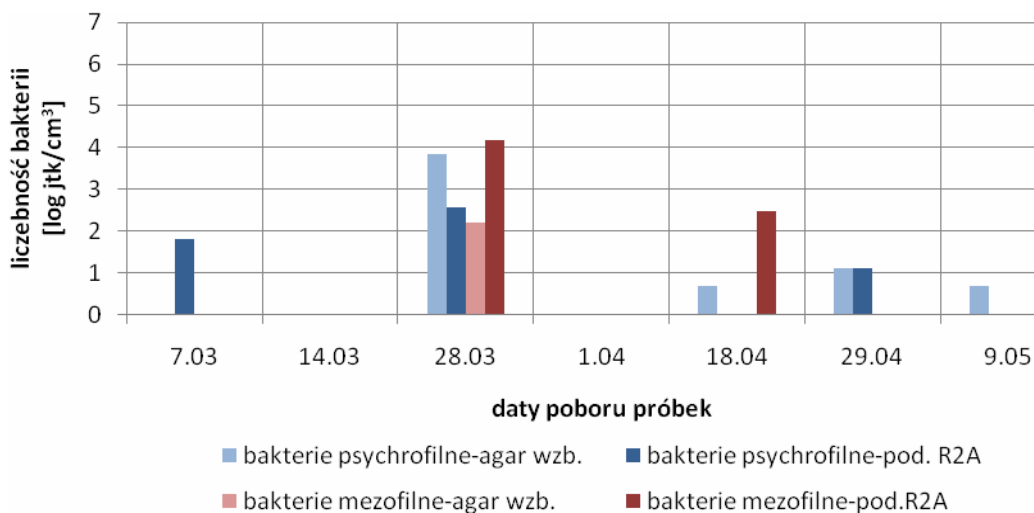
Przez cały okres prowadzenia badań, azot amonowy utrzymywał się < 0,18 mg N-NH₄⁺/dm³, azotu azotynowego nie stwierdzono a azot azotanowy mieścił się w zakresie 1,03-3,02 mg N-NO₃⁻/dm³. Ortofosforanów w wodzie było < 0,04 mg PO₄⁻³/dm³ i była to wartość mieszcząca się w granicy błędu.



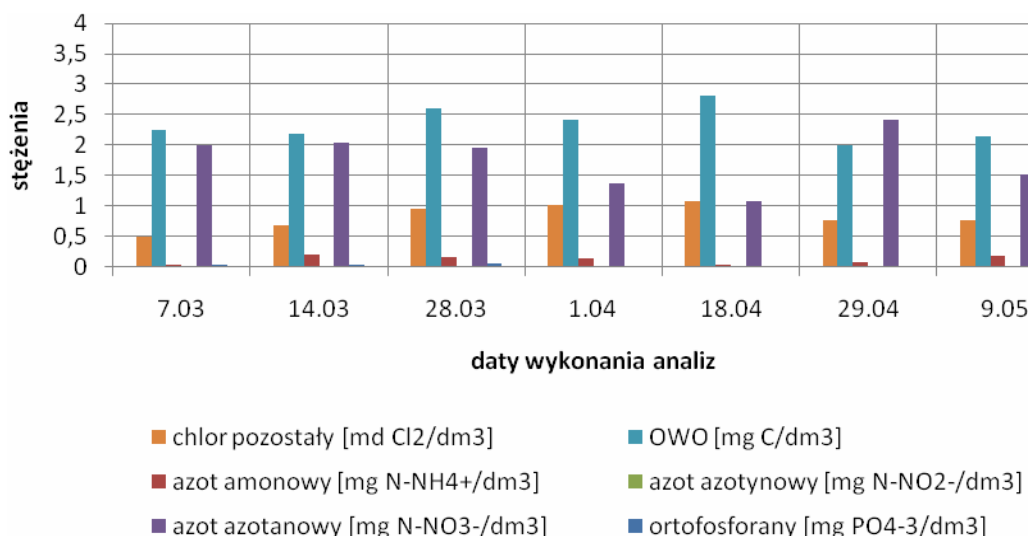
Rysunek 102. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 6 (ul. Krzywoustego, kolektor-żeliwo 1930)

W przypadku próbek wody z punktu poborowego nr 6 pH przyjmowało wartości 7,36-7,70 i mieściło się w wartościach normowanych dla wody przeznaczonej do picia.

Przy ulicy Mickiewicza znajdował się punkt poboru wody oznaczony, jako numer siedem. W tym przypadku połączone zostały rurociągi wykonane z PEHD w roku 2000 (przyłącze) oraz z żeliwa z 1928 roku (kolektor).



Rysunek 103. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 7 (ul. Mickiewicza, kolektor-żeliwo 1928)

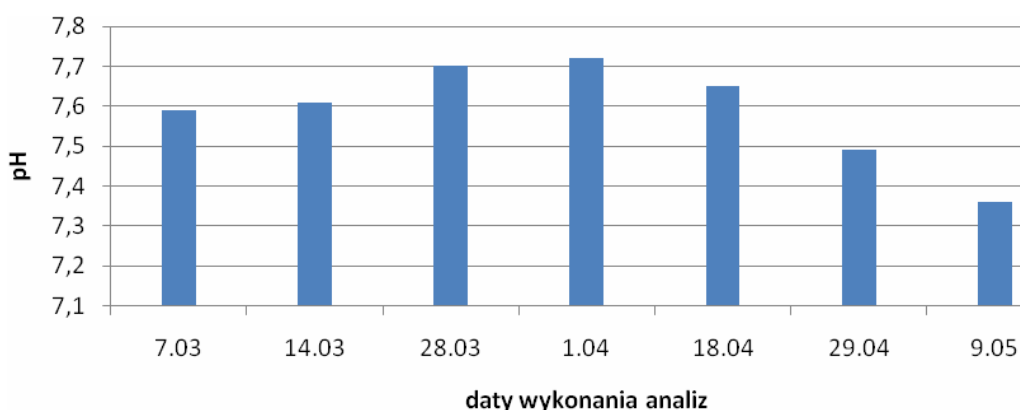


Rysunek 104. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 7 (ul. Mickiewicza, kolektor-żeliwo 1928)

Największe ilości bakterii uzyskano w próbce wody z 28 marca. Ilość bakterii psychrofilnych na agarze wzbogaconym osiągnęła wartość 46 jtk/cm³, a na R2A aż 13 jtk/cm³, mezofilnych odpowiednio 9 i 66 jtk/cm³, co oznacza że na podłożu R2A ich liczba przekroczyła wartość dopuszczalną podczas gdy na agarze zmieściła się w normie. Nieco mniejsze ilości otrzymano 18 kwietnia, bakterie psychrofilne w ilości 2 jtk/cm³ (agar odżywczy) i 12 jtk/cm³ mezofilnych (agar odżywczy). Jednak stężenie węgla organicznego w próbce z marca było mniejsze o 0,21 mg C/dm³ w stosunku do kwietnia przy jednoczesnym większym o 0,88 mg N-NO₃⁻/dm³ stężeniu azotu azotanowego.

Nie stwierdzono obecności drobnoustrojów w próbkach wody z 14 marca i 1 kwietnia, natomiast z 7 marca, 29 kwietnia i 9 maja obserwowano jedynie bakterie psychrofilne w ilości nie większej niż 3 jtk/cm³ na agarze oraz 6 jtk/cm³ na R2A.

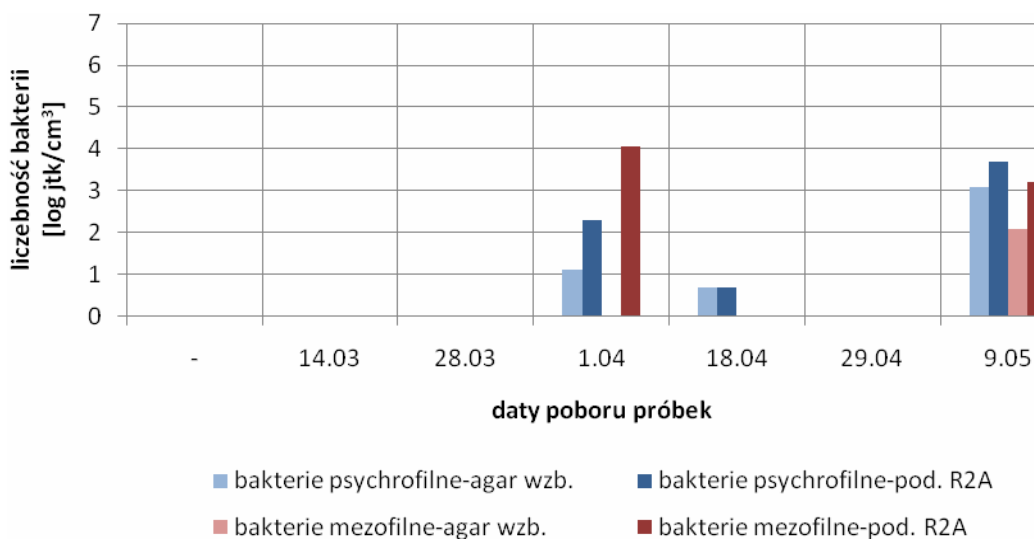
Ilość chloru pozostałego dla całego okresu badań wynosiła 0,50-1,08 mg Cl⁻/dm³, ilość azotu azotanowego utrzymywała się na podobnym poziomie około 2 mg N-NO₃⁻/dm³ w około 60% próbek. Azot amonowy wahał się w granicach 0,03-0,19 mg N-NH₄⁺/dm³.



Rysunek 105. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 7 (ul. Mickiewicza, kolektor-żeliwo 1928)

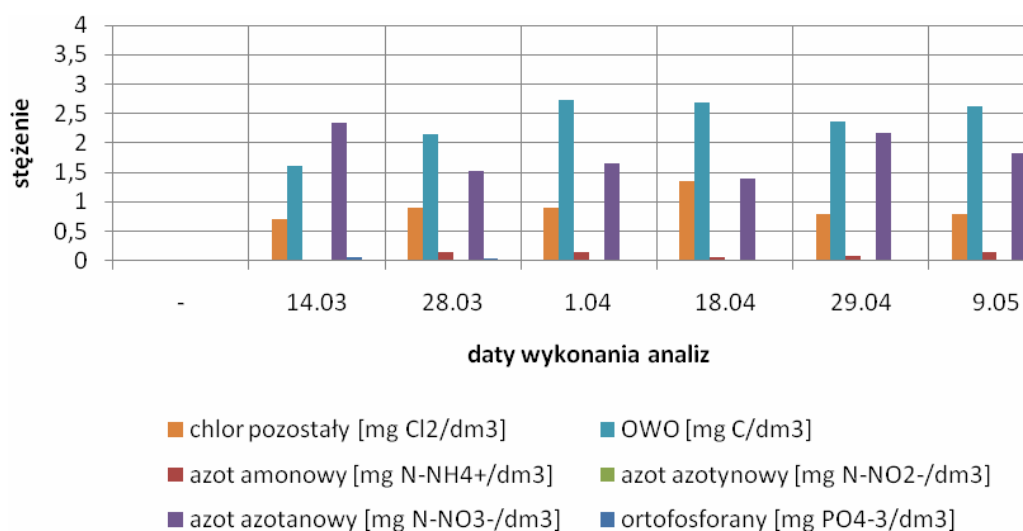
Podobnie jak dla punktu poboru wody przy ulicy Brücknera (nr 5) również obserwowano wahania odczynu wody niezwiązane z liczbą obecnych w niej bakterii.

Najwyższe pH odnotowano 1 kwietnia jednak w wodzie nie wykryto obecności mikroorganizmów.



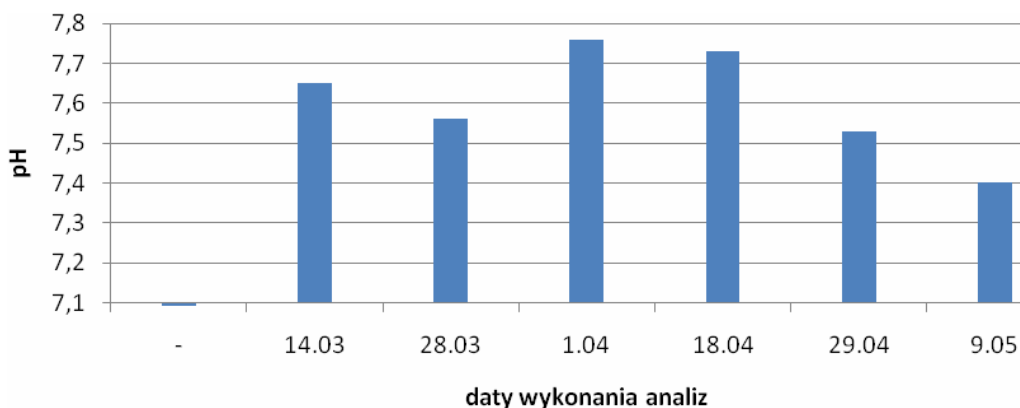
Rysunek 106. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 8 (ul. Bacciarellego, kolektor-żeliwo 1974)

Ostatni punkt poboru wody do mikrobiologicznych i fizyczno-chemicznych analiz jakościowych znajdował się na wschodnim obrzeżu miasta przy ulicy Bacciarellego. W dniu 7 marca nie została pobrana woda do badań w tym miejscu, co wynikało z braku możliwości dostępu do punktu poboru. Najliczniej bakterie występowały w wodach pobranych 1 kwietnia (psychrofilne: A – 3 jtk/cm³, R2A – 10 jtk/cm³, mezofilne: A – 0 jtk/cm³, R2A – 57 jtk/cm³) oraz 9 maja (psychrofilne: A – 22 jtk/cm³, R2A – 40 jtk/cm³, mezofilne: A – 8 jtk/cm³, R2A – 25 jtk/cm³). Osiemnastego kwietnia stwierdzono obecność jedynie bakterii psychrofilnych w ilości 2 jtk/cm³ zarówno na agarze odżywczym jak i podłożu R2A. W pozostałych terminach nie stwierdzono obecności mikroorganizmów w próbkach wody.



Rysunek 107. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 8 (ul. Bacciarellego, kolektor-żeliwo 1974)

Nie wykryto drobnoustrojów w próbkach wody z 14 marca oraz 29 kwietnia pomimo stężenia OWO 2,68 mg C/dm³ i 2,63 mg C/dm³ oraz azotu azotanowego 1,40 mg N-NO₃⁻/dm³ i 1,83 mg N-NO₃⁻/dm³. Chlor pozostały utrzymywał się na poziomie 0,71-1,35 mg Cl₂/dm³.



Rysunek 108. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 8 (ul. Bacciarrellego, kolektor-żeliwo 1974)

Wysoki odczyn wody wykryto 1 i 18 kwietnia, kiedy to wykryto obecność drobnoustrojów oraz 14 marca, kiedy w wodzie nie określono obecności bakterii. Podobnie jak w punkcie poboru przy ulicach Brücknera, Krzywoustego i Mickiewicza tak i w tym przypadku zauważalne są duże wahania pH wynikające najprawdopodobniej z różnic pomiędzy procesami zachodzącymi w połączonych rurociągach wykonanych z różnych materiałów i dużej różnicy ich wieku.

Analiza zmian jakości mikrobiologicznej wody we wszystkich punktach poboru oraz dla wszystkich przeprowadzonych analiz fizyczno-chemicznych wskazuje na istnienie zależności pomiędzy składem chemicznym wody a liczebnością bakterii zwłaszcza w odniesieniu do stężenia chloru i OWO. W próbkach wody z przekroczeniami liczebności bakterii obserwowano większe stężenie OWO, któremu w przypadku punktu nr 1 towarzyszyła zwiększona ilość azotu azotanowego.

Zgodnie z danymi literaturowymi na rozwój mikroorganizmów prowadzący do wtórnego zanieczyszczenia wody w sieci wodociągowej istotny wpływ ma nie tylko ilość węgla organicznego, ale również ilość związków fosforu i azotu, zwłaszcza w formach łatwo przyswajalnych [83].

Jakość mikrobiologiczna wody pobieranej w punktach czerpalnych zlokalizowanych na sieci wodociągowej pomimo wysokiej jakości wody wprowadzanej do systemu w wielu przypadkach ulegała wtórnemu zanieczyszczeniu mikrobiologicznemu przy jednoczesnym zachowaniu wymaganych parametrów fizyczno-chemicznych. Przykładem mogą być analizy próbek wody z dnia 18 kwietnia. Zgodnie z danymi uzyskanymi z wrocławskiego MPWiK analizy wody wprowadzanej do sieci z dnia 14 i 15 kwietnia w dwóch zakładach uzdatniania („Na Grobli” i „Mokrym Dworze”) ilość bakterii psychrofilnych wynosiła 1 jtk/cm³, a mezofilnych 0 jtk/cm³. Jednak w przypadku pierwszego punktu (ul. Czekoladowa) ilość bakterii psychrofilnych

wzrosła do 6 jtk/cm³ na agarze i 15 jtk/cm³ na R2A, ilość bakterii mezofilnych na agarze wynosiła 84 jtk/cm³ i była to wartość przekraczająca dopuszczalną w wodzie przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Istotne wzrosty liczby bakterii zaobserwowano również dla wody pobranej z punktu nr 3 zlokalizowanego przy ulicy Trzebnickiej. Ilość bakterii psychrofilnych wzrosła do 36 i 47 jtk/cm³ dla agaru i R2A, natomiast liczebność bakterii mezofilnych do 19 (agar odżywczy) i 614 (podłoże R2A) jtk/cm³. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia ogólną liczbę bakterii psychrofilnych i mezofilnych określa się poprzez mikrobiologiczne metody hodowlane na agarze wzbogaconym, które jest podłożem uniwersalnym. W przeprowadzonych badaniach dodatkowo zastosowano podłoże R2A, które stosuje się do hodowli bakterii uszkodzonych przez środki dezynfekcyjne obecne w wodzie wodociągowej, gdyż w swoim składzie zawierają substancje detoksykujące. Różnice liczebności bakterii na podłożach AO i R2A wskazują na przydatność podłoża R2A do kontroli jakości mikrobiologicznej wody, gdyż wyrasta na nim szersze spektrum bakterii.

W poniższej tabeli zestawiono zakresy zmian liczebności drobnoustrojów psychrofilnych i mezofilnych w wodzie w badanych punktach czerpalnych dla zastosowanych podłoży mikrobiologicznych.

Tabela 30. Zmiany liczebności drobnoustrojów w wodzie dla wybranych punktów poboru wody na sieci wodociągowej

Numer punktu poborowego wody	agar odżywczy/wzbogacony [jtk/cm ³]				R2A [jtk/cm ³]			
	22 ± 2 ^o C, 72h		36 ± 2 ^o C, 48h		22 ± 2 ^o C, 72h		36 ± 2 ^o C, 48h	
	średnia	max	średnia	max	średnia	max	średnia	max
1	1	6 (18.04)	134	751 (9.05)	5	15 (18.04)	178	583 (9.05)
2	0	1 (14.03, 9.05)	1	2 (7.03, 18.04, 9.05)	0	1 (18.04)	2	4 (18.04)
3	9	36 (18.04)	22	94 (1.04)	20	52 (1.04)	158	614 (18.04)
4	6	30 (14.03)	19	86 (14.03)	14	93 (14.03)	28	134 (14.03)
5	0	1 (18.04)	1	3 (9.05)	0	1 (29.04, 9.05)	3	8 (28.03)
6	2	9 (18.04)	2	11 (7.03)	0	-	2	7 (29.04)
7	8	46 (28.03)	1	9 (28.03)	3	13 (28.03)	11	66 (28.03)
8	4	22 (9.05)	1	8 (9.05)	7	40 (9.05)	12	57 (1.04)

Osiemnastego kwietnia wykryto obecność drobnoustrojów w około 38 % próbek wody. Na podstawie informacji uzyskanych od Zakładu MPWiK we Wrocławiu stwierdzono najmniejszą ilość chloru w wodzie z zakładu „Na Grobli” oraz na średnim poziomie, w porównaniu do pozostałych próbek, w wodzie z zakładu „Mokry Dwór”.

W przeprowadzonych analizach fizyczno-chemicznych stwierdzono przekroczenia wartości dopuszczalnych jedynie dla stężenia chloru w wodzie, pozostałe analizowane parametry mieściły się w dopuszczalnych zakresach wartości. Uzyskane wyniki dla wszystkich punktów poborowych zestawiono w tabeli nr 31.

Najlepszą jakość wody (mikrobiologiczną i fizyczno-chemiczną) zaobserwowano dla punktu nr 2 przy ulicy Ziemowita, gdzie rurociągi były najmłodsze (przyłącze-2004, kolektor-2003). Dowodzi to wpływu wieku rurociągu na jakość wody.

Największe wahania, co do składu chemicznego wody oraz jej odczynu stwierdzono dla połączeń rurociągów wykonanych z różnych materiałów (PEHD/żeliwo) zwłaszcza przy dużych różnicach w ich wieku (punkt 6 i 7). Wówczas również obserwowano zwiększone liczebności bakterii.

W przypadku połączenia stali (1992 r.) i żeliwa (1988 r.) zaobserwowano zwiększone ilości bakterii mezofilnych.

Tabela 31. Zmiany parametrów fizyczno-chemicznych próbek wody z punktów czerpalnych zlokalizowanych na wrocławskiej sieci wodociągowej

Parametr	Wartości dopuszczalne	Punkty poboru wody							
		1	2	3	4	5	6	7	8
chlor pozostały użyteczny [mg Cl/dm ³]	0,30	0,39	0,64	0,57	0,60	0,60	0,46	0,50	0,71
		1,03	1,06	0,90	1,03	1,28	1,12	1,08	1,35
OWO [mg C/dm ³]	5	2,10	1,67	1,63	1,82	1,81	2,00	2,01	2,15
		3,10	2,78	3,08	2,99	2,63	3,29	2,71	2,76
azot amonowy [mg N-NH ₄ ⁺ /dm ³]	0,5	0,03	0,05	0,05	0,04	0,03	0,03	0,03	0,02
		0,22	0,16	0,20	0,24	0,16	0,18	0,19	0,15
azot azotynowy [mg N-NO ₂ ⁻ /dm ³]	0,15	0	0	0	0	0	0	0	0
azot azotanowy [mg N-NO ₃ ⁻ /dm ³]	11,30	1,60	0,89	0,73	0,80	0,88	1,03	1,37	1,40
		3,83	2,60	0,93	0,96	3,07	2,60	2,41	2,17
pH [-]	6,5 – 8,5	7,67	7,61	7,61	7,59	7,36	7,36	7,36	7,40
		7,80	7,81	8,01	7,81	7,67	7,70	7,72	7,76
ortofosforany [mg PO ₄ ⁻³ /dm ³]	-	0,02	0,01	0	0,01	0	0	0	0
		0,04	0,05	0,05	0,10	0,04	0,04	0,05	0,07

3.7. Wyniki badań wpływu rodzaju dezynfektanta i dawki na różne formy morfologiczne bakterii wyizolowanych z wody wodociągowej

Bakterie wykazują zróżnicowaną oporność na proces dezynfekcji. Wynika to z różnej budowy ściany komórkowej, czego konsekwencją jest różna przepuszczalność dla substancji chemicznych. Największą oporność wykazują formy przetrwalne – spory, z form wegetatywnych mycobakterie i ziarniaki. Wśród bakterii przetrwalnikujących również obserwuje się różne poziomy oporności, przykładem są *Bacillus subtilis* i *Clostridium difficile*, gdzie wyższą oporność wykazują spory *Bacillus subtilis*. Najwyższą wrażliwość na proces dezynfekcji charakteryzują się bakterie gram ujemne, jednak należące do nich *Pseudomonas aeruginosa*, *Providencia* spp. oraz *Proteus* spp. wykazują niewielką wrażliwość na substancje chemiczne stosowane do dezynfekcji wody [112].

Z wody wodociągowej po izolacji i ocenie dynamiki wzrostu wybrano szczepy bakterii należące do różnych grup morfologicznych. Były to laski G+ (1), pałeczki G- (2) i ziarniaki G+/- (3).

Charakterystykę bakterii przedstawiono w tabeli 32.

Tabela 32. Charakterystyka bakterii izolowanych z wody wodociągowej i wykorzystanych w badaniach

Oznakowanie kolonii	kształt	brzeg	kolor	rozmiar	grubość
1	okrągły	poszarpany	beżowy	2 - 6 mm	płaska
2	okrągły	gładki	blado czerwony	2 - 4 mm	płaska
3	okrągły	gładki	żółty	1 - 5 mm	nie znacznie wypukła

Dawka środka dezynfekcyjnego zależy od składu chemicznego wody i dobierana była doświadczalnie [45,84], na podstawie ilości pozostałego chloru w próbce wody po upływie 30 minut od dawkowania. Zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Zdrowia dotyczącym jakości wody do picia, ilość chloru w wodzie spożywanej przez ludzi nie może być wyższe niż 0,3 mg Cl₂/dm³, a jednocześnie musi być na tyle wysoka, aby zapewnić skuteczność procesu dezynfekcji [110].

W badaniach zastosowano trzy dawki chloru, a proces dezynfekcji prowadzono podchlorynem sodu oraz ditlenkiem chloru.

Wyniki przeprowadzonych doświadczeń zestawiono w tabelach.

DEZYNFEKCJA PODCHLORYNEM SODU

Tabela 33. Zestawienie liczby jtk/cm³ laseczek G(+) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki
Wyjściowa liczba koloni: 4300 jtk/cm³

czas kontaktu [h]	liczebność bakterii [jtk/cm ³] w zależności od dawki / ubytek liczby bakterii [%]		
	0,2 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,3 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,4 [mg Cl ₂ /dm ³]
1	3920	2980	2260
6	2370	1820	1140
24	580	490	210

Tabela 34. Zestawienie liczby jtk/cm³ pałeczek G(-) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki
Wyjściowa liczba koloni: 1350 jtk/cm³

czas kontaktu [h]	liczebność bakterii [jtk/cm ³] w zależności od dawki / ubytek liczby bakterii [%]		
	0,2 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,3 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,4 [mg Cl ₂ /dm ³]
1	680	1070	980
6	420	440	250
24	110	90	110

Tabela 35. Zestawienie liczby jtk/cm³ ziarniaków G(+/-) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki
Wyjściowa liczba koloni: 860 jtk/cm³

czas kontaktu [h]	liczebność bakterii [jtk/cm ³] w zależności od dawki / ubytek liczby bakterii [%]		
	0,2 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,3 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,4 [mg Cl ₂ /dm ³]
1	430	490	250
6	150	90	130
24	0	0	0

DEZYNFEKCJA DITLENKIEM CHLORU

Tabela 36. Zestawienie liczby jtk/cm³ laseczek G(+) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki
Wyjściowa liczba koloni: 4120 jtk/cm³

czas kontaktu [h]	liczebność bakterii [jtk/cm ³] w zależności od dawki / ubytek liczby bakterii [%]		
	0,2 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,3 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,4 [mg Cl ₂ /dm ³]
1	3950	3040	1890
6	850	870	710
24	230	380	140

Tabela 37. Zestawienie liczby jtk/cm³ pałeczek G(-) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki

Wyjściowa liczba koloni: 2190 jtk/cm³

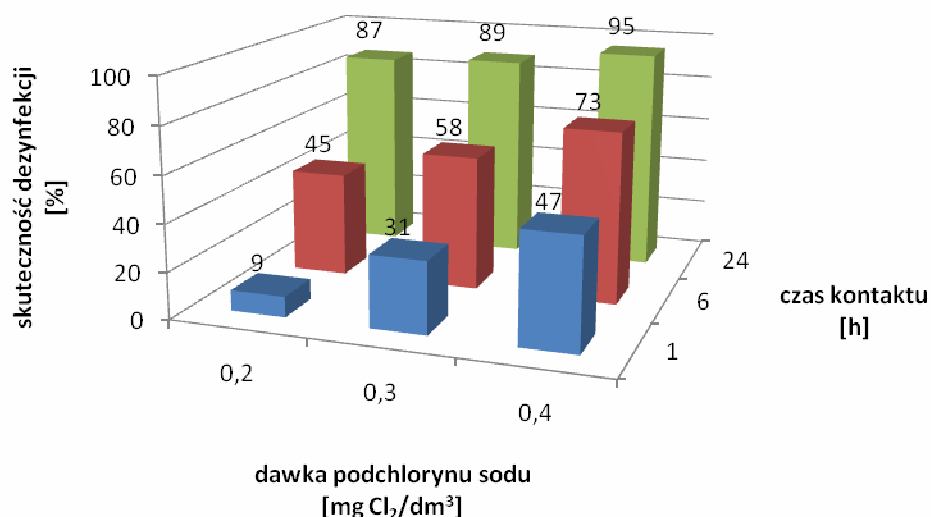
czas kontaktu [h]	liczebność bakterii [jtk/cm ³] w zależności od dawki / ubytek liczby bakterii [%]		
	0,2 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,3 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,4 [mg Cl ₂ /dm ³]
1	1860	1440	1690
6	280	590	190
24	140	240	40

Tabela 38. Zestawienie liczby jtk/cm³ ziarniaki G(+/-) po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki

Wyjściowa liczba koloni: 410 jtk/cm³

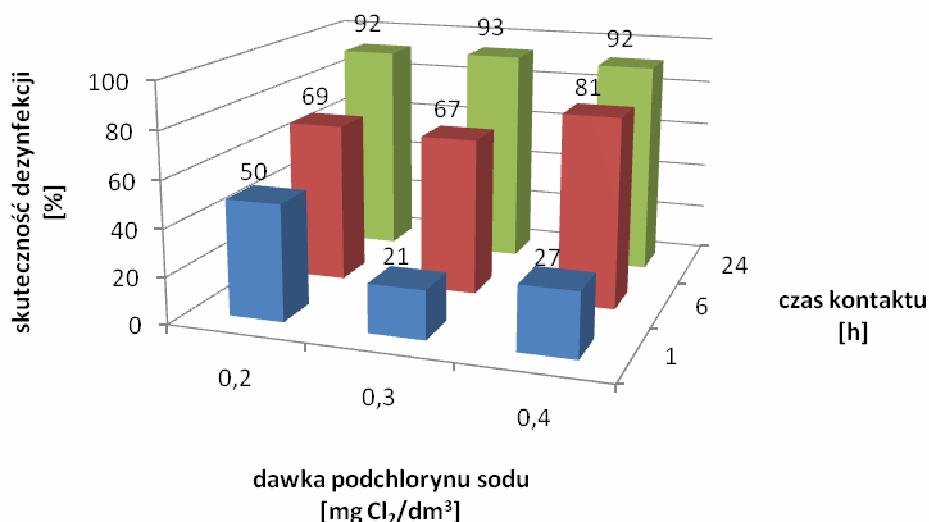
czas kontaktu [h]	liczebność bakterii [jtk/cm ³] w zależności od dawki / ubytek liczby bakterii [%]		
	0,2 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,3 [mg Cl ₂ /dm ³]	0,4 [mg Cl ₂ /dm ³]
1	40	100	50
6	0	30	40
24	0	0	0

W badaniach zostały wykorzystane różne liczebności poszczególnych form morfologicznych bakterii w próbkach. Wynikało to ze zróżnicowanej szybkości namnażania poszczególnych szczepów bakterii. W celu porównania uzyskanych wyników zostały one przedstawione w postaci skuteczności procesu dezynfekcji, wyliczonej na podstawie ubytku liczby bakterii w wodzie w procentach.



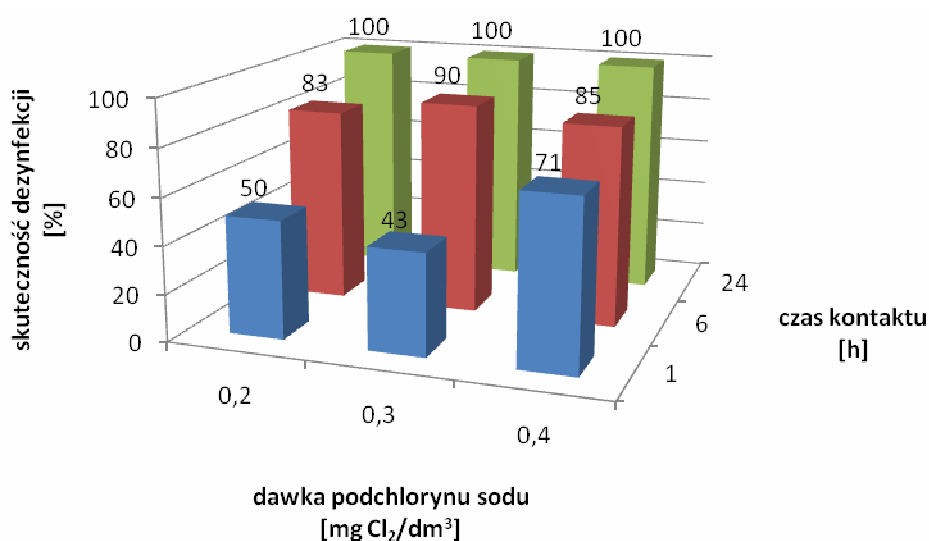
Rysunek 109. Skuteczność dezynfekcji podchlorynem sodu w przypadku laseczek

Laseczki okazały się najbardziej odporne na proces dezynfekcji. Nawet przy 24 godzinnym kontakcie z dezynfektantem nie uzyskano 100 % skuteczności procesu. Przy dawce chloru 0,2 mg Cl₂/dm³ w ciągu pierwszej godziny ubytek bakterii był bardzo nieznaczny, a dla dawek 0,3 i 0,4 mg Cl₂/dm³ nie przekroczył 50 %. Skuteczność procesu dezynfekcji przy największej zastosowanej dawce w pierwszej godzinie była większa niż dla najmniejszej po 6 godzinach kontaktu bakterii z dezynfektantem.



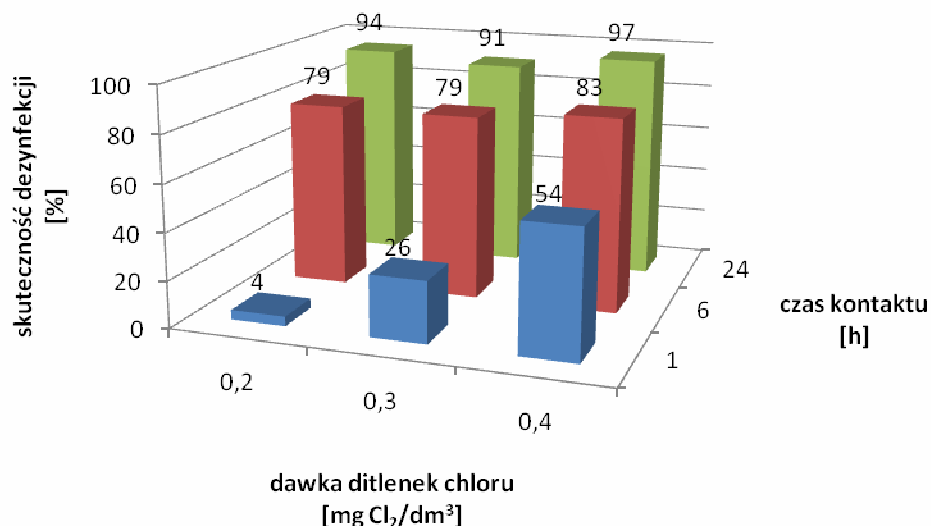
Rysunek 110. Skuteczność dezynfekcji podchlorynem sodu w przypadku pałeczek

W przypadku pałeczek > 50 % skuteczność procesu uzyskano dla wszystkich zastosowanych dawek już po 6 godzinach od wprowadzenia podchlorynu sodu do zawiesiny bakterii. Po 24 godzinach skuteczność wzrosła do ponad 90 %.



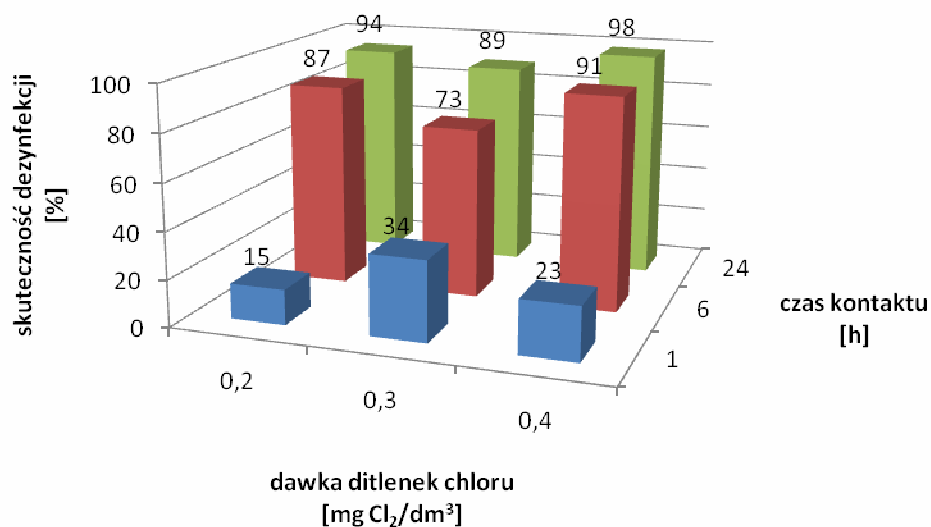
Rysunek 111. Skuteczność dezynfekcji podchlorynem sodu w przypadku ziarniaków

Największą skuteczność procesu dezynfekcji przy zastosowaniu podchlorynu sodu zaobserwowano dla ziarniaków. Po 6 godzinach kontaktu osiągnięto 83 - 90 % ubytek bakterii w zawiesinie, po 24 dla każdej zastosowanej dawki skuteczność wyniosła 100 %. Już w pierwszej godzinie kontaktu ziarniaków z podchlorynem sodu procent ubytku komórek bakteryjnych był porównywalny z wynikami uzyskanymi po 6 godzinach w przypadku pozostałych form morfologicznych (laseczek, pałeczek).



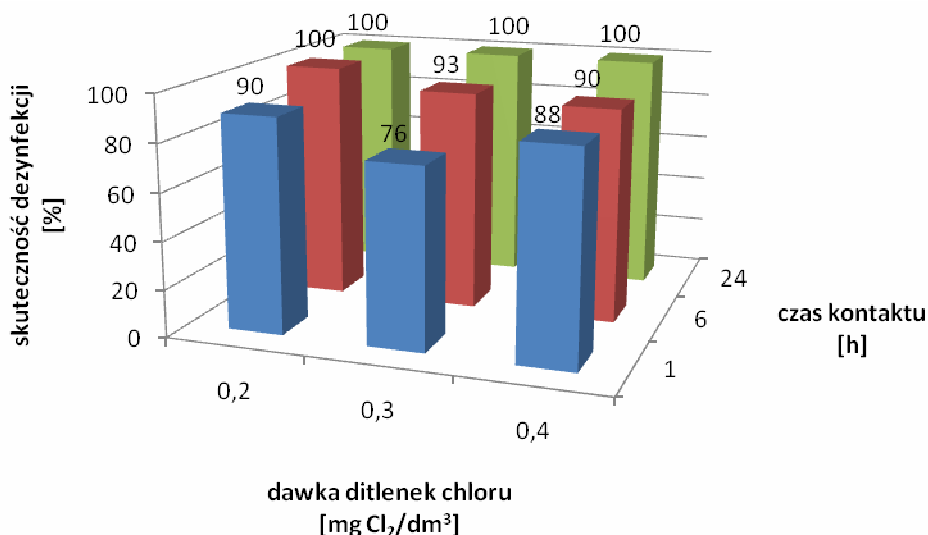
Rysunek 112. Skuteczność dezynfekcji ditlenkiem chloru w przypadku laseczek

Podobnie jak w badaniach przeprowadzonych z podchlorynem sodu najslabiej zaszedł proces dezynfekcji w przypadku laseczek dla ditlenku chloru. Dla dawek 0,2 i 0,3 $\text{mg Cl}_2/\text{dm}^3$ przez pierwszą godzinę skuteczność była niewielka, ale już dla dawki 0,4 $\text{mg Cl}_2/\text{dm}^3$ uzyskano powyżej 50 %. Wydłużenie czasu kontaktu do 6 i 24 godzin wykazało zbliżoną skuteczność środka dezynfekcyjnego dla poszczególnych dawek.



Rysunek 113. Skuteczność dezynfekcji ditlenkiem chloru w przypadku pałeczek

W przypadku pałeczek uzyskane wyniki dla ditlenku chloru były zbliżone do skuteczności procesu podchlorynem sodu. Jedynie po 6 godzinach kontaktu ditlenek chloru okazał skuteczniejszy w eliminacji komórek bakteryjnych (73 - 91 %). Największe różnice w skuteczności zauważono pomiędzy 1 i 6 godziną.



Rysunek 114. Skuteczność dezynfekcji ditlenkiem chloru w przypadku ziarniaków

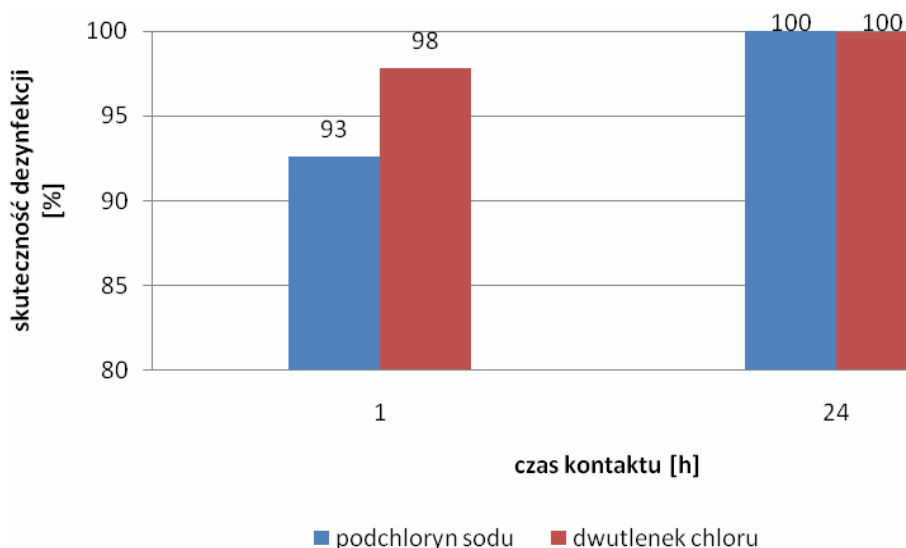
Ziarniaki podobnie jak w przypadku dezynfekcją podchlorynem sodu również dla dwutlenku chloru wykazały się najmniejszą odpornością na środki utleniające. Po pierwszej godzinie ubytek liczby bakterii w wodzie wynosił > 75 %, nawet dla najmniejszej zastosowanej dawki, a po 6 godzinach > 90 %.

W wyniku przeprowadzonych badań wykazano najmniejszą oporność na proces dezynfekcji ziarniaków a największą laseczek. Również dwutlenek chloru okazał się lepszym środkiem dezynfekcyjnym niż podchloryn sodu.

Należy pamiętać, że badania prowadzono na czystych zawiesinach bakterii nietworzących aglomeracji i występujących najprawdopodobniej w postaci pojedynczych komórek bakteryjnych lub niewielkich aglomeracji zawieszonych w medium (sterylna woda uzdatniona).

Woda wykorzystana w badaniach to woda oczyszczona pobrana przed procesem dezynfekcji i po filtracji na węglach aktywnych tak, więc zawierająca w niewielkim stopniu związki organiczne. W związku z tym skuteczność chlorowych dezynfektantów była znacznie większa gdyż nie reagowały one z materią organiczną w wyniku, czego powstają chloryny niewykazujące bakteriobójczego działania [137].

Badania wpływu rodzaju dezynfektanta przeprowadzono również na mieszaninie bakterii wyizolowanych z wody wodociągowej. Mikroorganizmy nie namnażano na podłożach mikrobiologicznych, gdyż wówczas zmieniłyby się relacje pomiędzy poszczególnymi rodzajami. Aby zachować bioróżnorodność zgodną z warunkami panującymi w sieci wodociągowej przefiltrowano 2 dm³ wody przez filtr celulozowy 0,2 μm a następnie umieszczono go wraz z bakteriami w sterylnej wodzie uzdatnionej, gdyż w wyniku mieszania zostały uwolnione do roztworu. W badaniach zastosowano dawkę 0,3 mg Cl₂/dm³, ponieważ umożliwia zachowanie dopuszczalnej wartości chloru w wodzie do picia dla ludzi.



Rysunek 115. Skuteczność dezynfekcji podchlorynem sodu i ditlenkiem chloru na mieszaninie bakterii wodociągowych

Przeprowadzone analizy wykazały ponad 90 % skuteczność procesu już po pierwszej godzinie kontaktu bakterii z podchlorynem sodu oraz ditlenkiem chloru. Po upływie 24 h dla obu środków chemicznych uzyskano 100 % skuteczności.

W sieciach wodociągowych mamy do czynienia z mieszaniną, której relacje jakościowo/ilościowe są uzależnione od składu chemicznego wody oraz rodzaju wody ujmowanej materiału, z jakiego został wykonany rurociąg, jego wiek i istnienie obrostu biologicznego charakteryzujący się bardzo skomplikowanymi reakcjami, a co za tym idzie jej jakości mikrobiologicznej. W takich warunkach bakterie mogą się nawzajem ochraniać. Szczególnym przypadkiem jest występowanie w systemach dystrybucji obrostów mikrobiologicznych, w których dostęp do głębszych jego warstw jest znacznie utrudniony dla środka dezynfekcyjnego w wyniku, czego skuteczność procesu jest znacznie obniżona. Chemiczne środki stosowane do dezynfekcji to utleniacze, które w pierwszej kolejności będą reagowały na drodze chemicznej z substancją organiczną zawartą w wodzie. W błonach biologicznych ilość materii organicznej jest znacznie większa gdyż obecne w niej drobnoustroje produkują duże ilości egzopolimerów pozakomórkowych np. do stabilizacji struktury przestrzennej biofilmu.

4. Dyskusja

W pracy analizowano wpływ wybranych materiałów polimerowych takich jak PCV, PE, PP i PB, z jakich wykonywane są rurociągi stosowane do dystrybucji wody do picia, na powstawanie na ich powierzchniach obrostów mikrobiologicznych oraz ich wpływu na jakość wody i stan techniczny rurociągów (korozja mikrobiologiczna polimerów). Badania prowadzono w warunkach statycznych, przepływowych oraz rzeczywistych wykorzystując wrocławską sieć wodociągową. Sprawdzone również wpływ rodzaju i dawki dezynfektanta na występujące w wodzie wodociągowej podstawowe formy morfologiczne bakterii.

Obecność biofilmu w sieci wodociągowej jest wysoce niepożądanym zjawiskiem między innymi z uwagi na intensyfikację procesów korozyjnych w wyniku reakcji metabolicznych prowadzonych przez drobnoustroje je tworzące (korozja mikrobiologiczna). Na intensywność tych zjawisk wpływają między innymi zdeponowane w rurociągach osady, które mogą stanowić doskonałe podłoże do rozwoju błony biologicznej. Biofilmy powstające na powierzchniach wewnętrznych rurociągów mogą stanowić, nawet 1 – 12 % zdeponowanej w osadach materii organicznej. W badaniach Gautiera i współpracowników 1% tej materii odpowiadał $1,2 \times 10^8$ jtk [30]. Rozwój błony biologicznej nie pozostaje bez wpływu na powierzchnię, na której się rozwija. Badania wpływu oddziaływania drobnoustrojów na polimery syntetyczne poprzez pomiar zmian tekstury powierzchni prowadzono dla dwóch materiałów biologicznych, a mianowicie mieszanej kultury bakterii wyizolowanych z wody wodociągowej oraz muzealnego szczepu *Pseudomonas aeruginosa*. Zmiany w strukturze powierzchni materiałów polimerowych, w wyniku osadzania się na nich drobnoustrojów stwierdzono jedynie dla badań mikroflory wyizolowanej z wody wodociągowej. Mieszana kultura drobnoustrojów zapewnia większą różnorodność enzymatyczną niż w przypadku jednego szczepu, co mogło znacznie ułatwić wykorzystywanie komponentów rurociągów przez bakterie, jako źródło węgla i energii, może również dochodzić do zjawiska kometabolizmu. Z uwagi na różnorodność organizmów w mieszaninie bakterii istnieje większe prawdopodobieństwo wystąpienia enzymów adaptacyjnych przy krótszym czasie ekspozycji drobnoustrojów na badane materiały [33,63,114]. W przypadku badań z wykorzystaniem pojedynczego szczepu bakterii nie stwierdzono ich wzrostu na materiałach polimerowych, co może dowodzić jedynie braku odpowiednich enzymów i zbyt krótkiego okresu kontaktu bakteria/materiał na wytworzenie enzymów adaptacyjnych jeśli nawet istniałyby możliwości genetyczne przez zaproponowany w normie szczep [103]. Stwierdzono, że tekstura powierzchni początkowo wykazywała tendencję wysokich szczytów i niewielkich wgłębień jednak po okresie eksploatacji i usunięciu z powierzchni obrostu nastąpiło znaczne „wygładzenie” powierzchni poprzez zmniejszenie wysokości szczytów. Dowodzi tego zmniejszenie skośności w granicach 50 (PP) – 85 (PB) %. Również zdjęcia wykonane techniką SEM wykryły korozyjne uszkodzenia badanych materiałów. Znajduje to potwierdzenie w badaniach Liu i współpracowników, którzy przy zastosowaniu mikroskopii skaningowej również zaobserwowali wzrost mikroorganizmów na powierzchniach rurociągów uzależniony od chropowatości powierzchni [73].

Zgodnie z danymi literaturowymi początkowa warstwa błony biologicznej może powstawać w ciągu trzech tygodni. Zacheus i współpracownicy uzyskali na powierzchni PCV biofilm wielkości $7,7 \times 10^5$ jtk/cm² po trzech tygodniach [153]. W pracy wykonano badania liczebności bakterii psychrofilnych i mezofilnych w próbkach wody pobieranych z dopływów i odpływów z układów badawczych (laboratoryjny, mikrostat) dla poszczególnych polimerów, na podstawie porównania zmiany wykazano obecność obrostu mikrobiologicznego już w pierwszym tygodniu badań. Wahania liczebności w odpływie w początkowych dniach prowadzenia badań wynikało najprawdopodobniej z braku stabilności struktury obrostu będące rezultatem

zróżnicowanych zdolności adhezyjnych do powierzchni. W miarę wydłużania czasu prowadzenia badań nie obserwowano znaczących wzrostów liczby bakterii w wodach odpływających z reaktorów przy jednoczesnym ciągłym utrzymywaniu się zwiększonej liczebności. Potwierdza to badanie Ohashi i wsp., którzy wykazali, że struktura błony biologicznej, a więc również jej wytrzymałość na uszkodzenia związana jest między innymi z ilością pozakomórkowych polimerów oraz „gęstością biofilmu”, która wzrasta wraz z wiekiem obrostu [86]. Potwierdziły to również badania przeprowadzone przez Wäsche, Horn i Hempel, w których istotne wahania liczebności bakterii obserwowano w początkowych etapach badań (zbyt krótki okres narastania) i z czasem nie obserwowano już tak gwałtownych wzrostów liczebności drobnoustrojów w wodzie. Mogło to być wynikiem „zagęszczenia” biofilmu, przez co jego struktura stawała się na tyle stabilna, że nie dochodziło już do tak intensywnego uwalniania z błony biologicznej do wody drobnoustrojów [149]. Podczas gdy w przeprowadzonych badaniach wielkość błony biologicznej po 160 dniach wynosiła dla układu zasilanego wodą wodociągową 35×10^2 jtk/cm² dla PCV, 93×10^2 jtk/cm² dla PE, 149×10^4 jtk/cm² dla PP i 486×10^3 jtk/cm² dla PB, a w badaniach prowadzonych w mikrostatie po okresie 140 dni 196 jtk/cm² dla PCV i 16×10^4 jtk/cm² dla PE w przypadku bakterii psychrofilnych wyrosłych na podłożu odżywczym. Dla bakterii mezofilnych wartości te wynosiły odpowiednio 80 jtk/cm² (PCV), 22×10^2 jtk/cm² (PE), 12×10^2 jtk/cm² (PP), 80×10 jtk/cm² (PB), 44 jtk/cm² (PCV mikrostat) oraz 67×10^2 jtk/cm² (PE mikrostat). Uzależnione było od rodzaju podłoża (materiał, z jakiego wykonany jest rurociąg) oraz liczebnością i rodzajem bakterii obecnych w wodzie, z którą mają kontakt tworzywa [20,127]. Liczebność bakterii w wodzie zasilającej układ badawczy Zacheus i współpracowników utrzymywała się na poziomie $10^5 - 10^6$ jtk/cm³, gdyż była to woda preparowana, a w przedstawionej pracy układy zasilane były wodą wodociągową oraz uzdatnioną (bez dezynfekcji), w których liczebność bakterii, poza incydentalnymi wzrostami, nie przekraczała wartości normowanych (100 jtk/cm³ dla bakterii psychrofilnych, 50 jtk/cm³ dla bakterii mezofilnych) dla układu laboratoryjnego, natomiast dla mikrostatu okresowo wzrastała do wartości 4×10^2 jtk/cm² [153].

Wahania i znaczny wzrost liczebności drobnoustrojów w wodzie odpływającej z reaktorów z próbkami wszystkich badanych tworzyw sztucznych wskazywały na ich podatność na obrosty biologiczne. Przyrost bakterii dowodził dostępności substratów pokarmowych, a więc i zdolności bakterii wodnych do wykorzystywania składników badanych materiałów, jako źródła węgla i energii. Największe przyrosty ilości drobnoustrojów w wodzie odpływającej obserwowano w przypadku reaktora zawierającego próbki polibutylenu, co może dowodzić jego największej podatności na obrosty biologiczne i podatności na biodegradację. Znaczne przyrosty stwierdzono zarówno dla bakterii psychrofilnych (do 15840 jtk/cm³), będących mikroflorą autochtoniczną, jak również bakterii mezofilnych (do 2970 jtk/cm³) należących do organizmów allochtonicznych. Podobne wyniki uzyskano dla reaktora zawierającego polipropylen (psychrofilne ≤ 14240 jtk/cm³, mezofilne ≤ 1120 jtk/cm³). Najmniejsze przyrosty stwierdzono dla polichlorku winylu oraz polietylenu. W przypadku PCV dla bakterii psychrofilnych wzrost liczebności w stosunku do wody wodociągowej stwierdzono jedynie w czterech próbkach przez cały okres trwania badań w ilości

poniżej 20 jtk/cm^3 , a dla PE poniżej 6 jtk/cm^3 . Bakterie mezofilne występowały znacznie liczniej, co stanowi duże zagrożenia dla odbiorców wody, gdyż wśród nich obecne mogą być formy warunkowo patogenne lub patogenne. Ich ilości dla próbek wody z reaktora zawierającego PCV wynosiły do 606 jtk/cm^3 , a dla PE do 352 jtk/cm^3 , podczas gdy dla wody do picia nie powinny one przekraczać ilości 50 jtk/cm^3 [110].

Polimery chlorku winylu i etylenu wykazały mniejszą podatność na powstawanie na ich powierzchni błony biologicznej. Dowodem tego był mniejszy przyrost liczby bakterii psychrofilnych i mezofilnych w odpływie w stosunku do wody zasilającej niż dla reaktorów zawierających polipropylen czy polibutylen. Potwierdziły to również badania pomiaru ilości mikroorganizmów przypadających na jednostkę powierzchni. W przypadku **PCV** w układzie laboratoryjnym ilość bakterii psychrofilnych wynosiła $35 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (AO) i $50 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (R2A), mezofilnych 80 jtk/cm^2 (AO) i 40 jtk/cm^2 (R2A), a grzybów 61 jtk/cm^2 (Sab.) i 59 jtk/cm^2 (Chap.-Dox.). Dla pozostałych materiałów w układzie przepływowym zasilanym wodą wodociągową odpowiednio **PE**: psychrofilne $93 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (AO) i $97 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (R2A), mezofilnych $22 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (AO) i $14 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (R2A), a grzybów 1040 jtk/cm^2 (Sab.) i 667 jtk/cm^2 (Chap.-Dox.); **PP** psychrofilne $149 \times 10^4 \text{ jtk/cm}^2$ (AO) i $167 \times 10^4 \text{ jtk/cm}^2$ (R2A), mezofilnych $12 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (AO) i $23 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (R2A), a grzybów $105 \times 10^3 \text{ jtk/cm}^2$ (Sab.) i $219 \times 10^3 \text{ jtk/cm}^2$ (Chap.-Dox.); **PB** psychrofilne $486 \times 10^3 \text{ jtk/cm}^2$ (AO) i $538 \times 10^3 \text{ jtk/cm}^2$ (R2A), mezofilnych $80 \times 10 \text{ jtk/cm}^2$ (AO) i $17 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (R2A), a grzybów $67 \times 10^3 \text{ jtk/cm}^2$ (Sab.) i $48 \times 10^3 \text{ jtk/cm}^2$ (Chap.-Dox.). Badania przeprowadzone w mikrostacie zasilanym wodą uzdatnioną niepoddaną procesowi dezynfekcji wykazały, że zasiedlenie polimerów bakteriami było nieznacznie mniejsze niż dla tych samych materiałów (PCV, PE) w układzie laboratoryjnym. Dla polichlorku winylu wynosiło 196 (AO) i 867 (R2A) jtk/cm^2 , mezofilnych 44 jtk/cm^2 dla obu podłoży mikrobiologicznych, a ilość grzybów $64 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (Sab.) i $30 \times 10^3 \text{ jtk/cm}^2$ (Chap.-Dox.), a dla polietylenu ilość psychrofilii $16 \times 10^4 \text{ jtk/cm}^2$ (AO) i $12 \times 10^3 \text{ jtk/cm}^2$ (R2A), mezofilnych $67 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (AO) i $31 \times 10^2 \text{ jtk/cm}^2$ (R2A), a ilość grzybów $65 \times 10^3 \text{ jtk/cm}^2$ (Sab.) i $123 \times 10^3 \text{ jtk/cm}^2$ (Chap.-Dox.).

Wpływ rodzaju podłoża na powstawanie obrostu, określane jako jego podatność, wykazał w swoich badaniach Armon, Arbel i Green, którzy badali biofilm powstały na PCV, szkłe i metalu (galwanizowane żelazo) i stwierdzili znaczny wzrost drobnoustrojów na polichlorku winylu ($> 10^7 \text{ jtk/cm}^2$), podczas gdy na pozostałych materiałach był on mniejszy ($10^3 - 10^6 \text{ jtk/cm}^2$) [7]. Również Hallam i współpracownicy stwierdzili znaczny wpływ rodzaju podłoża na rozwój błony biologicznej. Przebadano cztery materiały i uszeregowano ich podatność: szkło < cement < MDPE < PCV [36]. Jednak van der Kooij i wsp. twierdzą, iż rodzaj podłoża nie ma istotnego znaczenia na wzrost biofilmu, czynnikiem stymulującym rozwój drobnoustrojów jest przede wszystkim dostępność do łatwo przyswajalnych substancji odżywczych [141]. Również Zacheus i współpracownicy prowadząc badania nad formowaniem się błony biologicznej na PCV, PE i stali stwierdzili niewielkie różnice w wielkości biofilmu na badanych materiałach [153]. Badania prowadzone w ramach przedstawionej pracy pozwalają na uszeregowanie materiałów polimerowych w zależności od podatności na powstawanie na ich powierzchniach obrostów mikrobiologicznych w następującej kolejności

polibutylen > polipropylen > polietylen > polichlorek winylu.

W warunkach naturalnych w środowisku wodnym dominują bakterie Gram-ujemne, które między innymi wydzielają do środowiska znacznie mniejsze ilości enzymów pozakomórkowych niż bakterie Gram-dodatnie, co wynika z różnic w budowie ich osłon komórkowych i lokalizacji ektoenzymów. Podczas izolacji różnych form morfologicznych bakterii stwierdzono zdecydowaną dominację Gram-dodatnich form cylindrycznych. Bakterie Gram-dodatnie są typowymi mikroorganizmami allochtonicznymi dostającymi się do środowiska wodnego np. z gleby. Mała przepuszczalność błony komórkowej powoduje wydzielanie przez nie do środowiska znacznych ilości enzymów pozakomórkowych mających na celu przeprowadzanie reakcji rozkładu wielkocząsteczkowych związków do małowcząsteczkowych mogących swobodnie przedostawać się przez błonę do komórki bakteryjnej [29].

W przeprowadzanych badaniach zaobserwowano dominację bakterii mezofilnych w tworzących się na polimerach obrostach, pomimo wykrywania ich niewielkich ilości w wodzie wodociągowej. Mogły one przedostawać się do sieci wodociągowej z gleby, w wyniku uszkodzeń rurociągów (nieszczelności, mikropęknięcia, awarie na sieci). Zapewne były to bakterie mezofilne o bogatym wyposażeniu enzymatycznym, przez co znacznie ułatwiona była penetracja tworzywa w celu adaptacji substancji odżywczych skutkująca ich intensywnym rozwojem [64,92,114].

Na podstawie uzyskanych wyników wielkości przyrostów drobnoustrojów w wodzie z reaktorów można wstępnie oszacować szybkość narastania/formowania błony biologicznej na poszczególnych materiałach. Największą stabilnością charakteryzował się obrost powstały na polibutylenie, gdyż najrzadziej obserwowano „zrywy”, a w przypadku bakterii mezofilnych od 70 doby ich liczebność w wodzie utrzymywała się na podobnym poziomie. Największe wahania w ilości bakterii w odpływie stwierdzono w przypadku reaktora zawierającego próbki PCV, co może pośrednio świadczyć o braku stabilności powstałego na powierzchni polichloroku winylu biofilmu. Wpływ na to miała najprawdopodobniej struktury powierzchni, które znacznie się od siebie różniły (Rys. nr 62-65). Polibutylen charakteryzował się większą chropowatością ($S_{SK} = 0,33$, $S_{ku} = 3,17$) niż polichlorek winylu ($S_{SK} = 0,76$, $S_{ku} = 2,89$), intensyfikując adhezję bakterii do podłoża, jednocześnie ochraniając je przez czynnikami środowiskowymi.

W przypadku stężenia OWO, które mieściło się w zakresie od 0,78 do 3,67 mg C/dm³, stwierdzono duże wahania zmian stężenia w dopływie i odpływie przez cały okres badań. Zgodnie z literaturą wzrost liczebności drobnoustrojów w wodzie wodociągowej związany jest ze wzrostem stężenia OWO. W przeprowadzonych badaniach nie we wszystkich przypadkach wzrostowi liczebności bakterii psychrofilnych i mezofilnych w wodzie towarzyszył wzrost stężenia ogólnego węgla organicznego. Jego obecność w wodzie do picia jest wynikiem niedoskonałości procesów technologicznych jej oczyszczania oraz uwalniania się go np. z martwych komórek bakteryjnych. W przeprowadzonych badaniach zmniejszenie stężenia tego parametru mogło być wynikiem wykorzystywania węgla organicznego w procesach

życiowych drobnoustrojów wchodzących w skład błon biologicznych. Dlatego przy zwiększonej liczebności bakterii w wodzie stężenie OWO mogło być mniejsze, zwłaszcza w początkowych fazach tworzenia, kiedy to następują intensywne podziały komórkowe [73,152].

Obserwowane zmiany stężenia azotu amonowego wahały się w różnych granicach w zależności od rodzaju badanego materiału, co mogło być wynikiem zróżnicowania organizmów obrastających dany polimer. Nie stwierdzono powiązania pomiędzy stężeniem azotu amonowego a zmianami liczebności bakterii w odpływach z reaktorów.

Ilość azotu azotanowego w wodzie dopływającej i odpływającej kształtowała się na poziomie $< 0,01 \text{ mg N-NO}_2^-/\text{dm}^3$, wartości te były bardzo małe, co wskazuje na brak wpływu tego parametru na powstawanie obrostów.

Azotu azotanowego w próbkach wody z reaktora w 90% wykonanych analizach było więcej niż w wodzie dopływającej. Niskie stężenie azotu amonowego oraz wyższe azotu azotanowego mogło świadczyć o obecności w powstałych na polimerach obrostach biologicznych bakterii nityfikacyjnych dostających się do systemu dystrybucji wody wraz z ujmowaną wodą. Porównując cztery badane materiały najbardziej stabilny wzrost azotanów w wodzie odpływającej w stosunku do wody dopływającej obserwowano dla polipropylenu i polibutylenu. W przypadku polichloru winylu oraz polietylenu następowały okresowe wahania, podczas których ilość azotu azotanowego w odpływie była mniejsza niż w dopływie.

Analiza porównawcza zmian liczebności bakterii psychrofilnych oraz mezofilnych wykazała, że przy zwiększonej liczbie bakterii psychrofilnych wyrosłych na wzbogaconym podłożu agarowym zmniejsza się stężenie ortofosforanów w wodzie lub utrzymuje się na podobnym poziomie jak w wodzie zasilającej, zwłaszcza przy wzroście powyżej $60 \text{ jtk}/\text{cm}^3$. W przypadku obecności większej liczby bakterii mezofilnych stężenie ortofosforanów w odpływie jest nieznacznie większe niż w dopływie. Szczególnie widoczne było to w przypadku polichloru winylu np. w 25 dobie przy obecności bakterii psychrofilnych stężenie ortofosforanów w wodzie zasilającej wynosiło $0,03 \text{ mg PO}_4^{3-}/\text{dm}^3$ podczas gdy już w odpływie było $0,02 \text{ mg PO}_4^{3-}/\text{dm}^3$ oraz w 73 dobie, kiedy to nie stwierdzono obecności bakterii psychrofilnych natomiast była zwiększona liczba bakterii mezofilnych, a stężenie fosforu wynosiło odpowiednio $0,03 \text{ mg PO}_4^{3-}/\text{dm}^3$. Nieorganiczne związki fosforu stymulują rozwój mikroorganizmów w sieci wodociągowej, czego dowiodły badania przeprowadzone przez Sathasivana i Ohgaki [113].

W analizie jakościowej powstałych na badanych materiałach obrostach mikrobiologicznych stwierdzono obecność grzybów, a ich liczebność była zbliżona do ilości bakterii. Najniższe wartości obserwowano dla polichloru winylu (61 i $59 \text{ jtk}/\text{cm}^2$ w przypadku podłoża Sabouraud'a i Chapek-Doxa) oraz polietylenu (1040 i $667 \text{ jtk}/\text{cm}^2$ dla podłoża Sabouraud'a i Chapek-Doxa) w badaniach prowadzonych w układzie laboratoryjnym. Największy udział grzybów w błonie stwierdzono dla polipropylenu, gdzie ich ilość dla podłoża Sabouraud'a wynosiła $105 \times 10^3 \text{ jtk}/\text{cm}^2$, a Chapek-Doxa $219 \times 10^3 \text{ jtk}/\text{cm}^2$, podczas gdy ilości bakterii psychrofilnych wynosiła $149 \times 10^4 \text{ jtk}/\text{cm}^2$, a mezofilnych $12 \times 10^3 \text{ jtk}/\text{cm}^2$ (dla podłoża wzbogaconego). Szereg

podatności materiałów syntetycznych z uwagi na ich podatność na zasiedlanie przez grzyby mikroskopowe

polipropylen > polibutylen > polietylen > polichlorek winylu.

Wyniki te zostały również potwierdzone zdjęciami wykonanymi przez elektronowy mikroskop skaningowy (Rys. nr. 66 – 69, 74-75) oraz w wstępnej identyfikacji (rozdział 3.4.), gdzie podczas izolacji materiału biologicznego stwierdzono ich obecność. Grzyby stanowią duże zagrożenie dla materiałów polimerowych, ich wzrost w postaci grzybni (plechy) powoduje, że pokrywają one znaczne powierzchnie jednocześnie cały czas wydzielając na nie produkty metaboliczne. W wodzie mogą występować grzyby z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium*, które dysponując możliwościami wytwarzania enzymów prowadzących do rozkładu związków organicznych. Ich obecność jest szczególnie niepożądana w wodzie do picia gdyż wykorzystywana w gospodarstwie domowym woda zawierająca przetrwalniki tych grzybów, może stanowić pośrednią przyczynę psucia się żywności [114]. W wodzie wodociągowej obecność grzybów z rodzaju *Aspergillus* i *Penicillium* zaobserwował zespół badawczy Hapcioglu, natomiast Brinkmana dodatkowo z rodzaju *Candida*. Wśród grzybów mikroskopowych wchodzących w skład błony biologicznej mogą również znajdować się gatunki wytwarzające toksyny wpływające niekorzystnie na zdrowie odbiorców wody [33].

Powstałe na powierzchniach badanych materiałów polimerowych błony biologiczne w zależności od rodzaju podłoża wykazały zróżnicowanie gatunkowe. Wśród nich możliwe było występowanie organizmów warunkowo patogennych i patogennych dla ludzi i zwierząt. Jedną z metod skutecznego usuwania błony biologicznej z powierzchni wewnętrznych rurociągów systemu dystrybucji wody mogło okazać się wykorzystywanie do eliminacji komórek bakteryjnych bakteriofagów. Dotychczasowe badania wykazały jej skuteczność na poziomie 80 % dla pojedynczych szczepów jest to jednak mało poznana metoda wymagająca dalszych badań [119]. W celu sprawdzenia ich obecności w komórkach bakterii tworzących biofilmy na powierzchniach rurociągów, wykorzystano błony biologiczne powstałe podczas badań w laboratoryjnym układzie zasilanym wodą wodociągową oraz w mikrostacie zasilanym uzdatnioną wodą niedezynfekowaną. Wyniki potwierdziły obecność bakteriofagów jednak niemożliwość uzyskania odpowiedniego miana lizatu do przeprowadzenia badań ich wpływu na drobnoustroje biofilmu sugeruje, iż w warunkach naturalnych bakteriofagi nie wpływają znacząco na kształtowanie (hamowanie) rozwoju błony biologicznej.

W badaniach zastosowano analizę mikroskopową z wykorzystaniem elektronowego mikroskopu skaningowego. Wykonywano zdjęcia powstałej błony biologicznej. W przypadku analizy zdjęć błon biologicznych powstałych na badanych materiałach polimerowych stwierdzono uszkodzenia komórek bakteryjnych, polegających w głównej mierze na zmianach kształtu (deformacje), co najprawdopodobniej mogło być spowodowane obecnością chemicznych utleniaczy stosowanych do dezynfekcji wody. Dیتlenek chloru oddziałując z biomolekułami bakterii prowadzi do zakłócenia czynności fizjologicznych komórek, ale również uszkadza zewnętrzne błony biologiczne [77]. Wynikiem tego była utrudniona analiza struktury przestrzennej powstałych błon jak również wstępna identyfikacja form

morfologicznych. W badaniach przeprowadzonych przez Chu i Lu, nie stwierdzono zmian kształtu bakterii w błonie biologicznej jednak układ badawczy zasilany był wodą pozbawiona chloru [16].

Po zakończeniu badań w warunkach laboratoryjnych dokonano oceny zmian parametrów jakościowych wody wodociągowej ze szczególnym uwzględnieniem rodzaju i wieku rurociągów oraz odległości od zakładu uzdatniania. Badania przeprowadzono na wrocławskim systemie dystrybucji wody. Prowadzone badania wykazały znaczne ilości bakterii mezofilnych dochodzące nawet do liczby 751 jtk/cm^3 (punkt poboru nr 1 przy ulicy Czekoladowej). Ich liczebność wzrastała dla próbek wody, w których obserwowano zmniejszenie stężenia środka dezynfekcyjnego. Wzrost liczebności drobnoustrojów w wodzie wodociągowej spowodowany jest również czasem przetrzymania, dlatego w końcowych odcinkach sieci często dochodzi do stagnacji wody i wzrostu temperatury, co intensyfikuje rozwój drobnoustrojów [50]. Obecność bakterii mezofilnych w wodzie do picia stanowi duże zagrożenia dla odbiorców wody, gdyż wśród nich obecne mogą być bakterie z rodzaju *Legionella*. Przeprowadzone przez Lye, Fout, Crout, Danielson, Trio i Paszko-Kolva badania wykazały ich obecność w około 50 – 60 % próbek badanych wód podziemnych i powierzchniowych ujmowanych na potrzeby wody do picia [76], które w znacznym stopniu mogą przedostawać się do systemu dystrybucji wody, gdyż stosowane zabiegi technologiczne nie gwarantują całkowitej eliminacji mikroorganizmów z wody [52]. Zmniejszanie się ilości środka dezynfekcyjnego w wodzie może być również wynikiem zużycia go w procesach utleniania materii organicznej zawartej w wodzie, której ilość może wzrastać w miarę oddalania się od stacji uzdatniania np. w wyniku obecności błony biologicznej. Procesy utleniania prowadzą często do powstawania łatwo przyswajalnych dla mikroorganizmów form substancji organicznych stymulując ich dalszy przyrost w odleglejszych odcinkach sieci.

Analiza jakości wody w wybranych punktach czerpalnych sieci wodociągowej wykazała, że przy zachowaniu wysokiego stężenia środka dezynfekcyjnego zostaje utrzymana wysoka jakość mikrobiologiczna wody nawet w przypadku rurociągów o znacznym okresie eksploatacji sięgającym ponad 30. lat. Taka sytuacja miała miejsce dla punktu nr 4 zlokalizowanego na ulicy Traugutta, gdzie przyłącze wykonane z żeliwa eksploatowane było przez 32 lata (od 1976 roku) a kolektor został wymieniony w 1996 na rurociąg z PEHD. Pomimo długiego czasu eksploatacji rurociągów średnia liczba bakterii psychrofilnych z przeprowadzonych analiz wynosiła 6 jtk/cm^3 dla agaru odżywczego oraz 14 jtk/cm^3 dla podłoża R2A, natomiast średnia liczebność bakterii mezofilnych odpowiednio 19 i 28 jtk/cm^3 . Nasuwa się więc pytanie czy należy stosować wyższe dawki chemicznych dezynfektantów w celu zapewnienia wysokiej jakości mikrobiologicznej wody i braku zagrożenia epidemiologicznego przy jednoczesnym powstawaniu znacznych ilości substancji mutagennych i rakotwórczych spożywanych wraz z wodą przez ludzi, czy jednak utrzymywać w sieci niższe stężenie dezynfektantów a tym samym produktów ich reakcji z materią organiczną zawartą w wodzie. Alternatywnym rozwiązaniem wydaje się być ujmowanie wód o najwyższej jakości mikrobiologicznej i fizyczno-chemicznej oraz skuteczne procesy uzdatniania zapewniające stężenie substancji biogennych na niskim poziomie (stabilność

biologiczna wody) oraz brak w nich drobnoustrojów a tym samym nie wprowadzanie ich do sieci gdzie następuje ich rozwój.

Przeprowadzone przez Wąsowskiego i Grabińską-Łoniewską badania dotyczące wtórnego zanieczyszczenia sieci wodociągowej na przykładzie fragmentu warszawskiej sieci wodociągowej wykazały występowanie zjawisk korozji oraz powstawania biofilmów wpływających na pogorszenie jakości wody głównie w przypadku instalacji wykonanych z tradycyjnych materiałów takich jak np. stal ocynkowana. W przypadku 12 letniej eksploatacji rurociągu ilość bakterii psychrofilnych wzrastała nawet do 300 jtk/cm³.

Codony, Morato, Ribas i Mas stwierdzili powstawanie obrostu mikrobiologicznego na powierzchniach rurociągów w gęstości 1×10^7 jtk/cm² w przeciągu 15 dób, przy neutralizacji tiosiarczanem sodu chemicznych środków dezynfekcyjnych [17]. Warunki znacznego obniżenia chloru w wodzie mogą zaistnieć głównie w końcowych odcinkach sieci wodociągowej zwłaszcza przy dużej zawartości związków organicznych w wodzie mogących reagować ze związkami chloru w reakcjach utleniania [77,107,130].

Przeprowadzone przez Lu, Kiene i Levi badania wykazały zużycie chloru w ilości nawet do 0,2 mg/dm³ dla rur z tworzyw sztucznych i 0,5 mg/dm³ dla żeliwnych na utleniania miedzy innymi zdeponowanych w rurociągach osadów [74].

5. Wnioski

Przeprowadzone badania pozwoliły na ocenę podatności materiałów polimerowych stosowanych do dystrybucji wody do picia na powstawanie na ich powierzchni obrostów mikrobiologicznych. Wpływu obecności błony biologicznej na jakość wody wodociągowej oraz tworzywa sztuczne wykorzystywane do jej przesyłu. Wstępnie zidentyfikowano drobnoustroje występujące w błonach rurociągów systemu dystrybucji wody. Zbadano również skuteczność chemicznej dezynfekcji wody.

1. Komponenty rurociągów polimerowych takich jak PCV, PE, PP i PB wykorzystywanych do dystrybucji wody do picia mogą stanowić źródło substancji pokarmowych dla bakterii występujących w systemach dystrybucji, na co wskazały przyrosty liczby bakterii w hodowlach statycznych (bakterie psychrofilne: 197 jtk/cm³ – PCV, 237 jtk/cm³ – PE) oraz zmiany tekstury powierzchni w obecności błony biologicznej spowodowane ubytkami w polimerach w wyniku działalności drobnoustrojów obecnych w obroście (obniżenie skośności powierzchni S_{SK} w granicach 50 – 85 % w stosunku do wartości parametru nowego rurociągu).
2. W wyniku aktywności metabolicznej drobnoustrojów wchodzących w skład biofilmów obserwowano zjawisko korozyjne mikrobiologicznej, czego dowodem są wyniki pomiarów chropowatości powierzchni materiałów (Rys. nr 22-25) oraz analiza mikroskopowa SEM (Rys nr 70-73, 76-77) powierzchni tworzyw na których widoczne są uszkodzenia powierzchni/ubytki.

3. Tworzywa polimerowe tj. PCV, PE, PP oraz PB są podatne na obrosty mikrobiologiczne, co wykazano poprzez analizy ogólnej liczby bakterii psychrofilnych (przyrost do 15840 jtk/cm³) i mezofilnych (do 2970 jtk/cm³) w próbkach wody dopływającej i odpływającej z układów badawczych (laboratoryjny, mikrostat), określenie ilościowe bakterii z nich uwolnionych osiągających wartości do 486 jtk/cm² dla AO i 538 jtk/cm² dla R2A w przypadku bakterii psychrofilnych i 800 jtk/cm² (agar) oraz 1700 jtk/cm² (R2A), jak również zdjęcia błony biologicznej wykonanych elektronowym mikroskopem skaningowym (Rys. nr 66-69).

Szereg podatności materiałów syntetycznych z uwagi na ich podatność obrosty mikrobiologiczne

polibutylen > polipropylen > polietylen > polichlorek winylu.

4. Przeprowadzone badania wykazały znaczne udziały w błonach biologicznych bakterii mezofiolnych nie będących mikroflorą autochtoniczną wody wodociągowej a ich zwiększona liczebność stanowi zagrożenie dla zdrowia odbiorców, gdyż mogą one pośrednio świadczyć o jej skażeniu.
5. Analiza porównawcza dwóch zastosowanych w badaniach podłoży mikrobiologicznych, a mianowicie podłoża odżywczego stosowanego do badania ogólnej liczby bakterii zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia oraz podłoża R2A wykazała znaczne różnice wykrywalności oraz liczebności bakterii w próbkach. Podłoże R2A, którego skład oparty jest na wysoko energetycznych i detoksykujących związkach pozwala na uzyskanie przez organizmy poddane „stresowi” spowodowanym obecnością dużych stężeń związków utleniających/dezynfekujących pełnej aktywności metabolicznej. Znaczne różnice obserwowano w ponad 50 % próbek, w których ilości koloni wyrosłych na agarze odżywczym były znacznie mniejsze niż na podłożu R2A. Przykładowo w 59 dobie pracy mikrostatu z próbkami PCV na agarze stwierdzono liczebność 40 jtk/cm³ a na R2A 1000 jtk/cm³. Stąd w ocenie mikrobiologicznej wody są to wyniki bardziej wiarygodne.
6. W początkowych dniach pracy układów przepływowych obserwowane były krótkotrwałe ale znaczne zwiększenie liczebności bakterii w wodzie odpływającej z układów pomimo dobrej jakości mikrobiologicznej wody dopływającej, najprawdopodobniej były to okresowe „zrywy” fragmentów błony, wynikające z braku stabilności nie w pełni uformowanego biofilmu (zbyt krótki czas jego narastania).
7. W wodzie wyptywającej z reaktora zawierającego płytki z PE zaobserwowano ok. 60% wzrost stężenia azotu amonowego w stosunku do wody wodociągowej, natomiast w wodzie na odpływie reaktora z PCW wzrost był nieco mniejszy i wynosił ok. 50%; w przypadku PP i PB zaobserwowano ubytek azotu amonowego 10 - 40 %.
8. W całym okresie badań nie zaobserwowano przekroczeń dopuszczalnych wartości badanych parametrów fizyczno-chemicznych w wyniku obecności biofilmu.

9. W powstałych na powierzchniach polimerów obrostach mikrobiologicznych stwierdzono znaczny udział grzybów. Największe w przypadku polipropylenu gdzie ich liczba wynosiła 105×10^3 jtk/cm² (Sab.) oraz 219×10^3 jtk/cm² (Chap.-Dox.) i polibutyleniu 67×10^3 jtk/cm² (Sab.) i 48×10^3 jtk/cm² (Chap.-Dox.) podczas gdy liczebnością ogólnej liczby bakterii psychrofilnych wynosiła odpowiednio 149×10^4 jtk/cm² i 486×10^3 jtk/cm² a mezofilnych 12×10^2 jtk/cm² i 80×10 jtk/cm², jest to duży problem gdyż grzyby mikroskopowo wpływają nie tylko niekorzystnie na stan techniczny rurociągów poprzez produkowane przez siebie enzymy pozakomórkowe intensyfikujące procesy korozji, ale również są źródłem zanieczyszczeń chemicznych (mikotoksyny) nie pozostających obojętnymi za zdrowie ludzi i zwierząt.
10. Zaobserwowano także zmiany liczebności grzybów na tworzywach sztucznych w zależności od jakości mikrobiologicznej wody na której działanie były eksponowane. Ilość grzybów na polichloroku winylu w badaniach w reaktorze wynosiła jedynie 61 jtk/cm² podczas, gdy w mikroście już 64×10^2 jtk/cm², podobną sytuację zaobserwowano dla polietylenu. W reaktorze na powierzchni tworzywa uzyskano liczebność 1040 jtk/cm² a w mikroście już 65×10^3 jtk/cm² (porównanie wykonano dla podłoża Sabouraud'a).
11. Analiza mikroskopowa z wykorzystaniem mikroskopii elektronowej w przypadku bakterii poddanych procesom dezynfekcji jest niewystarczająca do oceny bioróżnorodności błony z uwagi na możliwość uszkodzeń bakterii w wyniku obecności środka dezynfekcyjnego.
12. W przypadku sieci wodociągowej największe przekroczenia liczebności bakterii obserwowano dla wód pobranych z punktów czepalnych zlokalizowanych na ul. Czekoladowej (bakterie mezofilne: 0 – 751 jtk/cm³ na AO, 1 – 583 jtk/cm³ na R2A) oraz Trzebnickiej (bakterie mezofilne: 3 – 94 jtk/cm³ na AO i 0 – 614 jtk/cm³ na R2A), pomimo stosunkowo krótkiego czasu eksploatacji rurociągów, może to być wynikiem zbyt dużego obniżenia stężenia dezynfektanta oraz stagnacji wody na tych odcinkach.
13. W wyniku analiz mikrobiologicznych wody w wybranych punktach sieci wodociągowej wykazano znaczne wahania liczebności bakterii powyżej wartości normatywnych co pozwala wnioskować o istnieniu dojrzałych biofilmów, mogących stanowić potencjalne zagrożenie zdrowia dla odbiorców wody.
14. Zanik chloru pozostałego w systemie dystrybucji może skutkować powstawaniem obrostów mikrobiologicznych, na których wielkość wpływa między innymi rodzaj zastosowanych materiałów technicznych oraz ich czasu eksploatacji (wiek nawet powyżej 50 lat).
15. Pomimo zastosowania (w warunkach laboratoryjnych) normatywnych dawek dezynfektantów nie uzyskano 100% skuteczności procesu dla wszystkich wykorzystanych w badaniach form morfologicznych, co wskazuje na występowanie w obrostach biologicznych bakterii opornych na dezynfektanty chlorowe.

16. Najbardziej wrażliwe na działanie podchlorynu sodu są ziarniaki (skuteczność usuwania 100 % po 24h dla dawki 0,4 mg Cl_2/dm^3), nieznacznie mniej laseczki (skuteczność usuwania 95 % po 24h dla dawki 0,4 mg Cl_2/dm^3), a najmniejszą bakteriobójczą skuteczność zaobserwowano wobec pałeczek (skuteczność usuwania 92 % po 24h dla dawki 0,4 mg Cl_2/dm^3). W przypadku dwutlenku chloru bardzo wysoką wrażliwością cechowały się ziarniaki (skuteczność usuwania 100 % po 24h dla dawki 0,4 mg Cl_2/dm^3), mniejsza pałeczki (skuteczność usuwania 98 % po 24h dla dawki 0,4 mg Cl_2/dm^3), a najbardziej odporne są laseczki (skuteczność usuwania 97 % po 24h dla dawki 0,4 mg Cl_2/dm^3).
17. Stosowanie materiałów polimerowych do dystrybucji wody nie zabezpiecza sieci przed wtórnym zanieczyszczeniem mikrobiologicznym i procesami korozyjnymi.

SKRÓTY

PCV – polichlorek winylu

PE – polietylen

PEHD – polietylen wysokiej gęstości

PP – polipropylen

PB – poli-1-butylen

EPS – pozakomórkowe biopolimery (extracellular polymeric substances)

BP – bakterie psychrofilne

BM – bakterie mezofilne

A – podłoże agar odżywczy/ wzbogacony

Sab. – podłoże Sabouraud'a

Chap.-Dox. – podłoże Chapek-Doxa

PWr. – Politechnika Wroclawska

OWO – ogólny węgiel organiczny

MPWiK – Miejskie Przedsiębiorstwo Wodociągów i Kanalizacji we Wrocławiu

AOC – przyswajalny węgiel organiczny

BDOC – biodegradowalny rozpuszczony węgiel organiczny

PIŚMIENNICTWO

- [1] Ackermann H.W., DuBow M.S.: „Viruses of Prokaryotes.” CRC Press, Boca Raton, 1987
- [2] Adams M.H.: „Bacteriophages.” Interscience Publishers Inc., New York-London, 1959
- [3] Al-Jasser A.O.: „Chlorine decay in drinking-water transmission and distribution systems: Pipe service age affect.” *Water Research* 41, 387-396, 2007
- [4] Alleman J.E., Veil J.A., Canaday J.T.: „Scanning electron microscope evaluation of rotating biological contactor biofilm.” *Water Research* Vol. 16, 543-550, 1982
- [5] Al-Malack M.H., Sheikheldin S.Y.: „Effect of solar radiation on the migration of vinyl chloride monomer from unplasticized PVC pipes.” *Water Research* Vol. 35, No. 14, 3283-3290, 2001
- [6] Apolinarski M.: „Badanie procesu usuwania zanieczyszczeń organicznych z wody podziemnej przeznaczonej do picia na drodze koagulacji.” XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód” 433-445, Poznań 2004
- [7] Armon R., Arbel T., Green M.: „A qualitative and quantitative study of biofilm disinfection on Glass, metal and PVC surfaces by chlorine, bromine and bromochloro-5,5 dimethylhydantoin (BCDMH).” *Water Research* Vol. 38, No. 12, 175-179, 1998
- [8] Balcerzak W.: „Wpływ procesu eutrofizacji na kształtowanie jakości wody.” XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód” 245-255, Poznań 2004
- [9] Bąk J.: „Kontaminacja wody wodociągowej ze szczególnym uwzględnieniem zanieczyszczenia bakteriami z rodzaju *Legionella*.” Materiały Konferencyjne „Aktualne zagrożenia w uzdatnianiu i dystrybucji wody.” Vol. 1, 195-202, Gliwice 2009
- [10] Bentham R.H.: „Routine sampling and the control of *Legionella* spp. in cooling tower water systems.” *Current Microbiology* Vol. 41, 271-275, 2000
- [11] Besner M-C., Gauthier V., Barbeau B., Millette R., Chapleau R., Prévost M.: „Understanding distribution systems water quality.” *Journal AWWA*, 93, 7, 101-114, July 2001
- [12] Bishop P.L., Zhang T.C., Fu Y.-C.: „Effects of biofilm structure, microbial distributions and mass transport on biodegradation processes.” *Water Research* Vol. 31, No. 1, 143-152, 1995
- [13] Bose P., Reckhow D.A.: „The effect of ozonation on natural organic matter removal by alum coagulation.” *Water Research* 41, 1516-1524, 2007
- [14] Budziło B.: „Badanie wodociągów wybranych miast południowej Polski.” Materiały Konferencyjne „Aktualne zagrożenia w uzdatnianiu i dystrybucji wody.” Vol 1, 311-320, Gliwice 2009
- [15] Choi Y., Cho M., Lee Y., Choi J., Yoon J.: „Inactivation of *Bacillus subtilis* spores during ozonation in water treatment plant: Influence of pre-treatment and

- consequences for positioning of the ozonation step.” *Chemosphere*, 69, 675-681, 2007
- [16] Chu C., Lu C.: „Effects of axalic acid on the regrowth of heterotrophic bacteria in the distributed drinking water.” *Chemosphere* 57, 531-539, 2004
- [17] Codony F., Morato J., Ribas F., Mas J.: „Effect of chlorine, biodegradable dissolved organic carbon and suspended bacteria on biofilm development in drinking water systems.” *Journal Basic Microbiol.*, 42,5, 311-319, 2002
- [18] Corti A., Muniyasamy S., Vitali M., Imam S.H., Chiellini E.: „Oxidation and biodegradation of polyethylene films containing prooxidant additives: Synergistic effects of sunlight exposure, thermal aging and fungal biodegradation.” *Polymer Degradation and Stability* Vol. 95, issue 6, 1106-1114, June 2010
- [19] Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P.: „Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections.” *Science* 284, 1318-1322, 1999
- [20] Czaczyk K., Wojciechowska K.: „Tworzenie biofilmów bakteryjnych-istota zjawiska i mechanizmy oddziaływania.” *Biotechnologia* 3, 62, 180-192, 2003
- [21] Czaczyk K.: „Czynniki warunkujące tworzenie się biofilmów na powierzchniach abiotycznych.” V Konferencja Naukowa „Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych.” 20-30, Łódź 2009
- [22] Davies J.-M., Mazumder A.: „Health and environmental police issues in Canada: the role of watershed management in sustaining clean drinking water quality at surface sources.” *Journal of Environmental Management* 68, 273-286, 2003
- [23] Drenkard E.: „Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms.” *Microbes and Infection* 5, 1213-1219, 2003
- [24] Escobar I.C., Hong S., Randall A.A.: „Removal of assimilable organic carbon and biodegradable dissolved organic carbon by reverse osmosis and nanofiltration membranes” *Journal of Membrane Science*, 175, 1-17, 2000
- [25] Escobar I.C., Randall A.A.: „Case study: Ozonation and distribution system biostability.” *Journal AWWA* 93, 10, 77-89, October 2001
- [26] Evans L.V.: „Biofilms: Recent advances in their study and control.” Harwood Academic Publishers 2000
- [27] Fricker E.J., Fricker C.R.: „Detection of *Legionella* spp. Using a commercially available polymerase chain reaction test.” *Water Science Technology* Vol. 31, No. 5-6, 407-408, 1995
- [28] Gabryszewski T.: „Wodociągi” Arkady, Warszawa 1983
- [29] Gajewski A.J.: „Znaczenie ektoenzymów produkowanych przez mikroorganizmy w procesach przekształceń i degradacji biopolimerów organicznych w ekosystemach wodnych.” *Postępy. Mikrobiologii* XXXIII, 4, 513-539, 1994
- [30] Gauthier V., Gérard B., Portal J.-M., Block J.-C., Gatel D.: „Organic matter as loose deposits in a drinking water distribution system.” *Water Research* Vol. 33, No. 4, 1014-1026, 1999
- [31] Geesey G.G.: „Bacterial behavior AT surface.” *Current Opinion in Microbiology* 4, 296-300, 2001

- [32] Grabińska-Łoniewska A., Perchuć M., Żubrowska-Sudoł M.: „Substancje humusowe w środowisku – budowa, właściwości fizyczno-chemiczne, znaczenie ekologiczne oraz biotransformacja.” *Postępy Mikrobiologii*, 41, 3, 299-334, 2002
- [33] Grabińska-Łoniewska A.: „Występowanie grzybów mikroskopowych w systemach dystrybucji wody pitnej i związane z tym zagrożenia zdrowia.” *Gaz, Woda i Technika Sanitarna*, lipiec-sierpień 2006
- [34] Grabińska-Łoniewska A., Siński E.: „Mikroorganizmy chorobotwórcze i potencjalnie chorobotwórcze w ekosystemach wodnych i sieciach wodociągowych.” Wydawnictwo Seidel-Przywecki Sp. z o.o., Warszawa 2010
- [35] Grayman W., Rossman L.A., Deininger R.A., Smith C.D., Arnold C.N., Smith J.F.: „Mixing and aging of water in distribution system storage facilities.” *Journal AWWA*, 96, 9, 70-80, September 2004
- [36] Hallam N.B., West J.R., Forster C.F., Simms J.: „The potential for biofilm growth in water distribution systems.” *Water Research* Vol. 35, No. 17, 4063-4071, 2001
- [37] Hallam N.B., West J.R., Forste C.F., Powell j.C., Spencer I.: „The decay of chlorine associated with the pipe wall in water distribution systems.” *Water Research* Vol. 36, 3479-3488, 2002
- [38] Hall-Stoodley L., Stoodley P.: „Developmental regulation of microbial biofilms.” *Current Opinion in Biotechnology* 13, 228-233, 2002
- [39] Hassinen J., Lundbäck M., Ifwarson M., Gedde U.W.: „Deterioration of polyethylene pipes expose to chlorinated water.” *Polymer Degradation and Stability*, 84, 261-267, 2004
- [40] Heidrich Z., Jędrzejkiewicz J.: „Analiza zużycia wody w miastach polskich w latach 1995-2005.” *Ochrona Środowiska* 29, Nr 4, 29-34, 2007
- [41] Hoebe C., Kool J.L.: „Control of *Legionella* in drinking-water systems.” *The Lancet* Vol. 355, July 17, 2093-2094, 2000
- [42] Horn H., Morgenroth E.: „Transport of oxygen, sodium chlorine, and sodium nitrate in biofilms.” *Chemical Engineering Science* 61, 1347-1356, 2006
- [43] Hunter P.R., Waite M., Ronchi E.: „Drinking water and infectious disease.” CRC Press LLC, Boca Raton, 2003
- [44] Ikada E.: „Electron microscope observation of biodegradation of polimers.” *Jurnal of Environmental Polimer Degradation* Vol. 7, No. 4, 197-201, 1999
- [45] Jachimko B., Symonowicz C.: „Zastosowanie dwutlenku chloru w technologii uzdatniania wody dla Zielonej Góry.” *Ochrona Środowiska* 25, Nr 4, 2003
- [46] Jahn A., Nielsen P.H.: „Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from biofilms Rusing a cation exchange resin.” *Water Science Technology* Vol. 32, No. 8, 157-164, 1995
- [47] Janson L.-E. tłumaczenie Borowski J.: „Rury z tworzyw sztucznych do zaopatrzenia w wodę i odprowadzania ścieków.” *Polskie Stowarzyszenie Producentów Rur i Kształtek z Tworzyw Sztucznych*, Toruń 2010
- [48] Jakubiec W., Malinowski J.: „Metrologia wielkości geometrycznych.” Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2004

- [49] Karanis P., Schoenen D., Seitz H.M.: „Distribution and removal of *Giardia* and *Cryptosporidium* in water supplies in Germany.” *Water Research* Vol. 37, No. 2, 9-18, 1998
- [50] Kerneis A., Nakache F., Deguin A., Feinberg M.: „The effects of water residence time on the biological quality in a distribution network.” *Water Research* Vol. 29, No. 7, 1719-1727, 1995
- [51] Kędzi W.B.: „Pałeczki *Pseudomonas*: właściwości, zakażenia, profilaktyka.” Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Cieszyn 1982
- [52] Kiedrzyńska L.: „Zasiedlanie granulowanych węgli aktywnych przez mikroorganizmy w procesie uzdatniania wody.” *Ochrona Środowiska* 26, Nr 1, 2004
- [53] Kiwała M.: „Wizualna ocena tworzenia biofilmu bakteryjnego na powierzchni polipropylenowych nośników złoża biologicznego.” V Konferencja Naukowa „Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych.” 55, Łódź 2009
- [54] Klaus-Dieter A.: „Pollution and Environmental Protection. Chemical Aspects and Related Considerations” Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań 2005
- [55] Kłos M., Zimoch I.: „Wykorzystanie analizy jakości wody do oceny pracy sieci wodociągowej.” *Ochrona Środowiska* 27, Nr 4, 27-30, 2005
- [56] Kłos-Trębaczewicz H., Osuch-Pajdzińska E.: „Charakterystyka sektora komunalnych wodociągów i kanalizacji w miastach polskich.” *Ochrona Środowiska* 29, Nr 4, 57-60, 2007
- [57] Kool J.L., Carpenter J.C., Fields B.S.: „Effect of monochloramine disinfection of municipal drinking water on risk of nosocomial Legionnaires’ disease.” *The Lancet* Vol. 353, January 23, 272-277, 1999
- [58] Kowal A.L., Świdorska-Bróz M.: „Oczyszczanie wody.” Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2000
- [59] Kowal A.L.: „Bezpieczeństwo sanitarne wody w wodociągach publicznych.” *Ochrona Środowiska* 4(83), 3-4, 2001
- [60] Kowal A.L.: „Przyczyny i zapobieganie zmianom jakości wody w systemach wodociągowych.” *Ochrona Środowiska* 25, Nr 4, 2003
- [61] Kowalska B., Kowalski D., Kwietniewski M.: „Wymywanie związków organicznych w sieciach wodociągowych wykonanych z PCV.” Materiały Konferencyjne „Aktualne zagadnienia w uzdatnianiu i dystrybucji wody.” Vol 1, 243-253, Gliwice 2009
- [62] Kowalski T.: „Wykorzystanie i oczyszczanie wód zanieczyszczonych” Oficyna Wydawnicza Politechniki Wrocławskiej, Wrocław 2007
- [63] Kunicki-Goldfinger W.J.H.: „Życie bakterii.” Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2008
- [64] Kuś K., Ścieranka G.: „Wpływ materiału i parametrów eksploatacyjnych sieci wodociągowej na jakość wody na przykładzie Chorzowsko-Świętochłowieckiego Przedsiębiorstwa Wodociągów i Kanalizacji w Chorzowie.” *Ochrona Środowiska* 27, Nr 4, 31-33, 2005
- [65] Lappin-Scott H.M., Costerton J.W.: „Microbial biofilms.” Cambridge University Press 2003

- [66] LeChevallier M.W., Schulz W., Lee R.G.: „Bacterial nutrients in drinking water.” *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 57, No. 3, 857-862, March 1991
- [67] Lehtola M.J., Miettinen I.T., Lampola T., Hirvonen A., Vartiainen T., Martikainen P.J.: „Pipeline materials modify the effectiveness of disinfectants in drinking water distribution systems.” *Water Research* 39, 1962-1971, 2005
- [68] Lewandowski Z.: „Notes on biofilm porosity.” *Water Research* Vol. 34, No. 9, 2620-2624, 2000
- [69] Lewis Al., Keevil C.W.: „The viability of antimicrobial copper as a hygienic material for HVAC system components.” A white paper for Copper Development Association Inc. and International Copper Association, Ltd., 2004
- [70] Li S., Ni L., Sun C., Wang L.: „Influence of organic matter on orthophosphate corrosion inhibition for copper pipe in soft water.” *Corrosion Science* 46, 137-145, 2004
- [71] Lipiak D., Kniotek W., Suchański W.: „Wykorzystywanie dwutlenku chloru do dezynfekcji i stabilizacji mikrobiologicznej wody na przykładzie sieci wodociągowej w Nowym Targu.” *Ochrona Środowiska* 25, Nr 3, 2003
- [72] Lipiak D.: „Usuwanie i zapobieganie skażeniom bakteriologicznym z wykorzystaniem dwutlenku chloru na podstawie wybranych przykładów.” XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód” 689-701, Poznań 2004
- [73] Liu W., Wu H., Wang Z., Ong S.L., Hu J.Y., Ng W.J.: „Investigation of assimilable organic carbon (AOC) and bacterial regrowth in drinking water distribution system.” *Water Research* 36, 891-898, 2002
- [74] Lu W., Kiéne L., Lévi Y.: „Chlorine demand and of biofilms in water distribution systems.” *Water Research* Vol. 33, No. 3, 827-835, 1999
- [75] Lukasik J., Cheng Y.-F., Lu F., Tamplin M., Farrah R.: „Removal of microorganisms from water by columns containing sand coated with ferric and aluminium hydroxides.” *Water Research* Vol. 33, No. 3, 769-777, 1999
- [76] Lye D., Fout G.S., Crout S.R., Danielson R., Thio C.L., Paszko-Kolva C.M.: „Survey of ground, surface and potable waters for the presence of *Legionella* species by enviroamp[®] PCR *Legionella* Kit, culture, and immunofluorescent staining.” *Wat. Res.* Vol. 31, No. 2, 287-293, 1997
- [77] Maćkiewicz J., Dziubek A.M., Czarniecka J.: „Zapotrzebowanie na dwutlenek chloru w uzdatnianiu wód infiltracyjnych.” *Ochrona Środowiska* 25, Nr 1, 2003
- [78] Maker J.M.: „A preliminary analysis of failures in gray cast iron water pipes.” *Engineering Failure Analysis*, 7, 43-53, 2000
- [79] Massol-Deya A.A., Whallon J., Hickey R.F., Tiedje J.M.: „Channel structures in aerobic biofilms of fixed-film reactors treating contaminated groundwater.” *Applied and Environmental Microbiology* Vol. 61, No. 2, 769-777, February 1995
- [80] Materiały promocyjne firmy POCH i Fluka, Gliwice 2008
- [81] Materiały uzyskane z wrocławskiego MPWiK oraz www.mpwik.wroc.pl

- [82] Matuszewska R., Krogulska B.: „Występowanie bakterii z rodzaju *Legionella* w instalacjach wodnych wykonanych z różnego materiału.” III Konferencja Naukowa „Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych.” Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 2003
- [83] Miettinen I., Vartiainen T., Martikainen P.J.: „Determination of assimilable organic carbon in humus-rich drinking waters.” *Water Research* Vol. 33, No. 10, 2277-2282, 1999
- [84] Mossakowska A.: „Dezynfekcja wody dwutlenkiem chloru-doświadczenia Zakładu Wodociągu Praskiego.” *Ochrona Środowiska* 4(75), 49051, 1999
- [85] Nowicki B.: „Struktura geometryczna. Chropowatość i falistość powierzchni.” Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1991
- [86] Ohashi A., Koyama T., Syutsubo K., Harada H.: „A novel method for evaluation of biofilm ten sile strength resisting erosion.” *Water Research* Vol. 39, No. 7, 261-268, 1999
- [87] Okabe S., Kuroda H., Watanabe Y.: „Significance of biofilm strukture on transport of inert particulates into biofilms.” *Water Research* Vol 38, NO. 8-9, 163-170, 1998
- [88] Olańczuk-Neyman K., Sokołowska A.: „Bakterie i wirusy w wodzie wodociągowej.” *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, t.7, nr 3-4, 259-276, 2004
- [89] Olańczuk-Neyman K., Sokołowska A., Bray R., Skucha M.: „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, Poznań 2004
- [90] Ollos P.J., Huck P.M., Slawson R.M.: „Factors affecting biofilm accumulation in model distribution systems.” *Journal AWWA* 95, 1, 87-97, January 2003
- [91] Olsińska U., Skibińska K.: „Modelowanie zmian jakości wody w systemie dystrybucji.” *Ochrona Środowiska* 29, Nr 2, 2007
- [92] Paluch J.: „Mikrobiologia wód” Państwowe Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1973
- [93] Pielichowski J., Puszyński A.: „Technologia tworzyw sztucznych.” Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1998
- [94] PN-C-04540-01:1990 „Woda i ścieki - Badania pH, kwasowości i zasadowości - Oznaczanie pH wód i ścieków o przewodności elektrolitycznej właściwej 10 mikrosimensów/cm i powyżej metodą elektrometryczną.”
- [95] PN-C-04576-4:1994 „Woda i ścieki. Badania zawartości związków azotu. Oznaczanie azotu amonowego w wodzie metodą bezpośredniej nessleryzacji.”
- [96] PN-C-04576-06:1973 „Woda i ścieki. Badania zawartości związków azotu. Oznaczanie azotu azotynowego metodą kolorymetryczną z kwasem sulfanilowym i 1-naftyloaminą.”
- [97] PN-C-04576-08:1982 „Woda i ścieki. Badania zawartości związków azotu. Oznaczanie azotu azotanowego metodą kolorymetryczną z salicylanem sodowym.”
- [98] PN-M-04252:1987 „Struktura geometryczna powierzchni. Chropowatość powierzchni. Wartości liczbowe parametrów.”

- [99] PN-C-04537-04:1988 „Woda i ścieki. Badania zawartości związków fosforu. Oznaczanie rozpuszczonych ortofosforanów kolorymetryczną metodą molibdenianową z kwasem askorbinowym jako reduktorem.”
- [100] PN-C-04600-03:1973 „Woda i ścieki. Badania zawartości chloru i jego związków oraz zapotrzebowania chloru. Oznaczanie pozostałego użytecznego chloru metodą miareczkową jodometryczną.”
- [101] PN-EN ISO 4287:1998 „Specyfikacje geometrii wyrobów – Struktura geometryczna powierzchni: metoda profilowa – Terminy, definicje i parametry struktury geometrycznej powierzchni.”
- [102] PN-ISO 8199:2001 „Jakość wody. Ogólne wytyczne oznaczania liczby bakterii metodą hodowli.”
- [103] PN-EN ISO 846:2002 „Tworzywa sztuczne – Ocena działania mikroorganizmów.”
- [104] Pohlen E., Marxsen J., Kirsten K.: „Pioneering bacterial and algal communities and potential extracellular enzyme activities of stream biofilms.” FEMS Microbiology Ecology Vol. 71, issue 3, 364-373, March 2010
- [105] Prévost M., Rompré A., Coallier J., Servais P., Laurent P., Clément B., Lafrance P.: „Suspended bacterial biomass and activity in full-scale drinking water distribution systems: impact of water treatment.” Water Research Vol. 32, No. 5, 1393-1406, 1998
- [106] Qin J.-J., Oo M.H., Kekre K.A., Knops F., Miller P.: „Impact of coagulation pH on enhanced removal of natural organic matter In treatment of reservoir water.” Separation Purification Technology 49, 295-298, 2006
- [107] Raczyk-Stanisławiak U., Dąbrowska A., Świetlik J., Nawrocki J.: „Dezynfekcja wody dwutlenkiem chloru i chlorem a stabilność biologiczna wody wodociągowej.” XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód” 755-766, Poznań 2004
- [108] Rasmussen K., Østgaard K.: „Adhesion of the marine bacterium *Pseudomonas* sp. NCIMB 2021 to different hydrogel surface.” Water Research 37, 519-524, 2003
- [109] Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 14 lutego 2004 r. w sprawie klasyfikacji dla prezentowania stanu wód powierzchniowych i podziemnych, sposobu prowadzenia monitoringu oraz sposobu interpretacji i prezentacji stanu tych wód. (Dz.U. nr 32, poz. 284)
- [110] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. (Dz.U. 07.61.417)
- [111] Rushing J.C., Edwards M.: „The role of temperature gradients In residential copper pipe corrosion.” Corrosion Science 46, 1883-1894, 2004
- [112] Russell A.D.: „Bacterial resistance to disinfectants: present knowledge and future problems.” Journal of Hospital Infection 43, 57-68, 1999
- [113] Sathansivan A., Ohgaki S.: „Application of new bacterial regrowth potential method for water distribution system – a clear evidence of phosphorus limitation.” Water Research Vol. 33, No. 1, 137-144, 1999
- [114] Schlegel H.: „Mikrobiologia ogólna.” Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2005

- [115] Schoenen D.: „Role of disinfection in suppressing the spread of pathogens with drinking water: possibilities and limitations.” *Water Research*, 36, 3874-3888, 2002
- [116] Shen Y.-H., Chung T.-H.: „Removal of dissolved organic carbon by coagulation and adsorption from polluted source water in southern Taiwan.” *Environmental International* Vol. 24, No. 4, 497-503, 1998
- [117] Sheng S., Ting Y.-P., Pehkonen S.O.: „The influence of sulphate-reducing bacteria biofilm on the corrosion of stainless steel AISI 316.” *Corrosion Science* 49, 2159-2176, 2007
- [118] Siemiński M.: „Środowiskowe zagrożenia zdrowia. Inne wyzwania.” Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2007
- [119] Simões M., Simões L.C., Vieira M.J.: „A review of current and emergent biofilm control strategies.” *Food Science and Technology* Vol. 43, issue 4, 573-583, May 2010
- [120] Squier C., Yu V.L., Stout J.E.: „Waterborne nosocomial infections.” *Current Infectious Disease Reports* 2, 490-496, 2000
- [121] Suchański W.: „Clarifos® - technologia zapewnienia jakości wody w trakcie przesyłu ze stacji uzdatniania do klienta.” XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód” 705-716, Poznań 2004
- [122] Szaflik W.: „Problemy korozji w instalacjach i układach przygotowania ciepłej wody.” *Instal* Nr 4, 22-25, 2009
- [123] Szuster-Janiaczyk A.: „Jakość wody w sieci wodociągowej i możliwości jej poprawy w wyniku zastosowania polifosforanowych inhibitorów korozji.” XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód” 803-817, Poznań 2004
- [124] Szlezynger W.: „Tworzywa sztuczne.” Wydawnictwo Oświatowe FOSZE, Rzeszów 1998
- [125] Świdarska-Bróż M.: „Niepożądane zmiany jakości wody podczas jej oczyszczania i dystrybucji.” *Inżynieria i Ochrona Środowiska*, Tom 4, Nr 3-4, 283-300, 2001
- [126] Świdarska-Bróż M.: „Skutki braku stabilności biologicznej wody wodociągowej.” *Ochrona Środowiska*, 25, 4, 7-12, 2003
- [127] Świdarska-Bróż M.: „Wtórne zanieczyszczenie wody w systemie jej dystrybucji.” III Konferencja Naukowa „Mikrozanieczyszczenia w środowisku człowieka” ,13-22, Częstochowa 2003
- [128] Świdarska-Bróż M., Wolska M.: „Korozyjność wody wodociągowej a zjawiska zachodzące w systemie jej dystrybucji.” *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 1, 2003
- [129] Świdarska-Bróż M., Wolska M.: „Ocena wtórnego zanieczyszczenia niestabilnej chemicznie wody w systemie dystrybucji wody.” *Ochrona Środowiska* 27, Nr 4, 35-38, 2005
- [130] Świetlik J., Dąbrowska A., Raczyk-Stanisławiak U., Sikorska E., Nawrocki J.: „Badanie reaktywności naturalnej materii organicznej z dwutlenkiem chloru.”

- XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód” 791-802, Poznań 2004
- [131] Świetlik J., Raczyk-Stanisławiak U., Nawrocki J.: „Wpływ procesów utleniania i biodegradacji na zmianę substancji organicznych naturalnie występujących w wodzie.” *Ochrona Środowiska* 27, Nr 3, 26-32, 2005
- [132] Taylor J., Tang Z., Xiao W., Hong S.: „Monitoring of distribution water qualities under various Skurce water blending.” *Environmental Monitoring and Assessment*, 117, 59-71, 2006
- [133] Telgmann U., Horn H., Morgenroth E.: „Influence of growth history on sloughing and erosion from biofilms.” *Water Research* 38, 3671-3684, 2004
- [134] Terkiewicz P., Kuberski S., Żakowska Z.: „Wpływ degradacji radiacyjnej PVC na podatność na korozję biologiczną.” III Konferencja Naukowa „Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych.” Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 2003
- [135] Timms S., Slade J.S., Fricker C.R.: „Removal of *Cryptosporidium* by slow sand filtration.” *Water Science Technology* Vol. 31, No. 5-6, 81-84, 1995
- [136] Trafny E.A.: „Powstawanie biofilmu *Pseudomonas aeruginosa* i jego znaczenie w patogenezie zakażeń przewlekłych.” *Postępy Mikrobiologii* 39, 55-71, 2000
- [137] Traczewska T.M., Kołwzan B., Dziubek A.M.: „Ocena skuteczności dezynfekcji wód powierzchniowych.” *Ochrona Środowiska* 4(67),47-49, 1997
- [138] Traczewska T.M., Sitarska M.: „Development of biofilm on synthetic polymers used in water distribution.” *Environmental Protection Engineering* Vol. 35, No. 1, 151-159, 2009
- [139] Traczewska T.M., Sitarska M., Trusz-Zdybek A.: „Formation of biofilm in tap water supply networks.” *Environmental Engineering III*, Taylor & Francis Ltd, 533-538, 2010
- [140] Tu S.-T., Zhang H., Zhou W.-W.: „Corrosion failures of high temperature heat pipes.” *Engineering Failure Analysis* 6, 363-370, 1999
- [141] van der Kooij D., van Lieverloo J.H.M., Schellart J., Hiemstra P.: „Maintaining quality without a disinfectant residua.” *Journal AWWA* 91, 1, 55-64, 1999
- [142] Vanhaecke E., Remon J.-P., Moors M., Raes F., De Rudder D., van Peteghem A.: „Kinetics of *Pseudomonas aeruginosa* adhesion to 304 and 316-L stainless steel: Role of cell surface hydrophobicity.” *Applied and Environmental Microbiology* 56(3), 788-795, March 1990
- [143] Volk C., Bell K., Ibrahim E., Verges D., Amy G., LeChevallier M.: „Impact of enhanced and optimized coagulation on removal of organic matter and its biodegradable fraction in drinking water.” *Water Research* Vol. 34, No. 12, 3247-3257, 2000
- [144] Volk C., Dundore E., Schiermann J., LeChevallier M.: „Practical evaluation of iron corrosion control in a drinking water distribution system.” *Water Research* Vol. 34, No. 6, 1967-1974, 2000
- [145] Volk C.J., LeChevallier M.W.: „Assessing biodegradable organic mater.” *Journal AWWA*, Vol. 92, issue 5, 64-76, May 2000

- [146] Wahl R.: „Dissociation du *B.megatherium*. Role de la composition du milieu. Action du bactériophage sur les variantes.” Ann. inst. Pasteur 72, 473-477, 1946
- [147] Walker J., Surman S., Jass J.: „Industrial biofouling. Detection, Prevention and Control.” John Wiley & Sons, Chichester 2000
- [148] Wąsowski J., Grabinska-Łoniewska A.: „Wtórne zanieczyszczenie wody w warszawskiej sieci wodociągowej.” Ochrona Środowiska, 3(58), 59-62, 1995
- [149] Wäsche S., Horn H., Hempel D.C.: „Influence of growth conditions on biofilm development and mass transfer at the bulk/biofilm interface.” Water Research 36, 4775-4784, 2002
- [150] Wilmański K., Kuziara D.: „Modernizacja technologii oczyszczania wody z rzeki górskiej na przykładzie wodociągu w Wadowicach.” Ochrona Środowiska 29, Nr 3, 41-44, 2007
- [151] Wolborska A., Zarzycki R., Cyran J., Grabowska H., Wybór M.: „Ocena biologicznej aktywności filtrów węglowych w uzdatnianiu wód powierzchniowych na przykładzie wodociągu „Sulejów-Łódź” Ochrona Środowiska 25, Nr 4, 2003
- [152] Xia S., Li X., Zhang Q., Xu B., Li G.: „Ultrafiltration of surface water with coagulation pretreatment by streaking current control.” Desalination 204, 351-358, 2007
- [153] Zacheus O.M., Iivanainen E.K., Nissinen T.K., Lehtola M.J., Martikainen P.J.: „Bacterial biofilm formation on polivinyl chloride, polyethylene and stainless steel expose to ozonated water.” Water Research Vol. 34, No. 1, 63-70, 2000
- [154] Zarzycki R., Imbierowicz M., Stelmachowski M.: „Wprowadzenie do inżynierii ochrony środowiska.” Tom 1 „Ochrona środowiska naturalnego” Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 2007
- [155] Zhang M., Semmens M.J., Schuler D., Hozalski R.M.: „Biostability and microbiological quality In a chloraminated distribution system.” Journal AWWA, 94, 9, 112-122, September 2002
- [156] Zimoch I., Żaba T.: „Metody oceny niezawodności funkcjonowania systemu dystrybucji wody.” XVIII Krajowa, VI Międzynarodowa Konferencja Naukowo-Techniczna „Zaopatrzenie w wodę, jakość i ochrona wód” 791-802, Poznań 2004
- [157] Zimoch I., Jamer M., Binda B.: „Eksploatacja systemu dystrybucji wody we Wrocławiu w aspekcie awaryjności sieci wodociągowej.” Ochrona Środowiska 27, Nr 3, 65-68, 2005
- [158] Zyska B.: „Mikrobiologiczny rozkład i korozja materiałów technicznych.” Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 2000
- [159] Zyska B., Żakowska Z.: „Mikrobiologia materiałów.” Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź 2005
- [160] Żubrowska-Sudoł M., Sudoł M., Perchuć M., Grabińska-Łoniewska A.: „Sorpccja i biodegradacja kwasów humusowych w złożach węglowych.” Gaz, Woda i Technika Sanitarna 5, 2000

SPIS TABEL

1. Skuteczność [%] wybranych procesów uzdatniania na usuwanie z wody związków biogenych i bakterii (domieszek) [58]
2. Charakterystyka parametrów 3D
3. Powiększenia zastosowane w analizach z wykorzystaniem elektronowego mikroskopu skaningowego
4. Punkty poboru wody na wrocławskiej sieci wodociągowej [81]
5. Liczba osiadłych na podłożu bakterii przypadająca na jednostkę powierzchni
6. Parametry chropowatości PCV przed i po ekspozycji na mikroorganizmy
7. Parametry chropowatości PE przed i po ekspozycji na mikroorganizmy
8. Parametry chropowatości PP przed i po ekspozycji na mikroorganizmy
9. Parametry chropowatości PB przed i po ekspozycji na mikroorganizmy
10. Parametry chropowatości PCV przed i po ekspozycji na bakterie
11. Parametry chropowatości PE przed i po ekspozycji na bakterie
12. Parametry chropowatości PP przed i po ekspozycji na bakterie
13. Parametry chropowatości PB przed i po ekspozycji na bakterie
14. Masy próbek PCV przed inkubacją [g]
15. Masy próbek PE przed inkubacją [g]
16. Masy próbek PP przed inkubacją [g]
17. Masy próbek PB przed inkubacją [g]
18. Masy próbek PCV po inkubacji [g]
19. Masy próbek PE po inkubacji [g]
20. Masy próbek PP po inkubacji [g]
21. Masy próbek PB po inkubacji [g]
22. Wielkość błony biologicznej powstałej na PCV, PE, PP i PB w badaniach prowadzonych w układzie laboratoryjnym
23. Wielkość błony biologicznej powstałej na PCV i PE w badaniach prowadzonych w układzie z mikrostanem
24. Ilości grzybów w biofilmach powstałych na PCV, PE, PP i PB w badaniach prowadzonych w układzie laboratoryjnym
25. Ilości grzybów w biofilmach powstałych na PCV i PE w badaniach prowadzonych w układzie z mikrostatem
26. Wyniki badań bakteriologicznych i obecności bakteriofagów (układ laboratoryjny – woda wodociągowa)
27. Wyniki badań bakteriologicznych i obecności bakteriofagów
28. Parametry jakościowe wody czystej PII ZUW Na Grobli [81]
29. Parametry jakościowe wody czystej PII ZUW Mokry Dwór [81]
30. Zmiany liczebności drobnoustrojów w wodzie dla wybranych punktów poboru wody na sieci wodociągowej
31. Zmiany parametrów fizyczno-chemicznych próbek wody z punktów czerpalnych zlokalizowanych na wrocławskiej sieci wodociągowej
32. Charakterystyka bakterii izolowanych z wody wodociągowej i wykorzystanych w badaniach

33. Zestawienie liczby jtk/cm³ laseczek G(+) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki
34. Zestawienie liczby jtk/cm³ pałeczek G(-) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki
35. Zestawienie liczby jtk/cm³ ziarniaków G(+/-) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki
36. Zestawienie liczby jtk/cm³ laseczek G(+) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki
37. Zestawienie liczby jtk/cm³ pałeczek G(-) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki
38. Zestawienie liczby jtk/cm³ ziarniaki G(+/-) oraz ich procentowy ubytek po procesie dezynfekcji w zależności od czasu kontaktu z dezynfektantem oraz jego dawki

SPIS RYSUNKÓW

1. Procentowy udział rurociągów wykonanych z różnych materiałów na przykładzie Wrocławia (a) i Chorzowa (b) [64,156]
2. Schemat powstawania błony biologicznej
3. Przekrój przez dojrzały biofilm
4. Sposoby uwalniania z błony biologicznej drobnoustrojów
5. Schemat wykonanych badań
6. Schemat postępowania w posiewie izolacyjnym
7. Izolacja bakterii z roztworów wodnych poprzez filtrację
8. Zasada wyznaczania linii środkowej profilu [85]
9. Mechanizm przesuwu i głowica pomiarowa przyrządu Form Talysurf: 1- laser, 2-interferometr mierzący przemieszczenia głowicy pomiarowej, 3-interferometr mierzący wychylenia końcówki pomiarowej, 4-baza pomiarowa, 5-końcówka pomiarowa [48]
10. Zdjęcie igły obserwowanej przy użyciu mikroskopu [85]
11. Schemat hodowli statycznej drobnoustrojów
12. Schemat układu badawczego w Instytucie Inżynierii Ochrony Środowiska Politechniki Wrocławskiej
13. Schemat reaktora z góry (a) oraz z boku (b)
14. Zdjęcie stanowiska badawczego oraz mikrostatu
15. Schemat systemu infiltracji wody na terenach wodonośnych [81]
16. Schemat układu technologicznego oraz miejsce zainstalowania mikrostatu
17. Lokalizacja zakładu uzdatniania wody przy ul. Na Grobli (0) i Mokry Dwór (0 MD) oraz punktów poboru wody (1-8) na mapie Wrocławia
18. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych i psychrofilnych w hodowli z PCV
19. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych i psychrofilnych w hodowli z PE
20. Zdjęcie odcisków płytek PCV (z lewej) z PE (z prawej)
21. Schemat powierzchni polimerów (a) oraz rozkład rzędnych profilu względem powierzchni odniesienia – skośność (b)
22. Zmiany tekstury powierzchni PCV w obecności błony biologicznej- widok 3D (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)
23. Zmiany tekstury powierzchni PE w obecności błony biologicznej – widok 3D (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)
24. Zmiany tekstury powierzchni PP w obecności błony biologicznej – widok 3D (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)
25. Zmiany tekstury powierzchni PB w obecności błony biologicznej – widok 3D (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)
26. Zmiany ilości i objętości wysp na powierzchni PCV w obecności błony biologicznej (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)
27. Zmiany ilości i objętości wysp na powierzchni PE w obecności błony biologicznej (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)
28. Zmiany ilości i objętości wysp na powierzchni PP w obecności błony biologicznej (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)

29. Zmiany ilości i objętości wysp na powierzchni PB w obecności błony biologicznej (a – nowy rurociąg, b – po usunięciu obrostu)
30. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony
31. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony
32. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony
33. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony
34. Zmiany pH wody wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie prowadzenia badań
35. Zmiany pH wody wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie prowadzenia badań
36. Zmiany stężenia OWO w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie
37. Zmiany stężenia OWO w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie
38. Zmiany stężenia azotu amonowego w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie
39. Zmiany stężenia azotu amonowego w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie
40. Zmiany stężenia azotu azotanowego w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie
41. Zmiany stężenia azotu azotanowego w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie
42. Zmiany stężenia ortofosforanów w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PCV i PE w czasie
43. Zmiany stężenia ortofosforanów w wodzie wodociągowej oraz odpływającej z reaktorów zawierających PP i PB w czasie
44. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PCV w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony
45. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PCV w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony
46. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PE w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony
47. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PE w czasie prowadzenia badań – agar wzbogacony
48. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PCV w czasie prowadzenia badań – podłoże R2A

49. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PCV w czasie prowadzenia badań – podłoże R2A
50. Zmiany liczebności bakterii psychrofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PE w czasie prowadzenia badań – podłoże R2A
51. Zmiany liczebności bakterii mezofilnych w wodzie dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierających PE w czasie prowadzenia badań – podłoże R2A
52. Zmiany pH wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PCV w czasie prowadzenia badań
53. Zmiany pH wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PE w czasie prowadzenia badań
54. Zmiany stężenia OWO wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PCV w czasie prowadzenia badań
55. Zmiany stężenie OWO wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PE w czasie prowadzenia badań
56. Zmiany stężenia azotu amonowego wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PCV w czasie prowadzenia badań
57. Zmiany stężenie azotu amonowego wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PE w czasie prowadzenia badań
58. Zmiany stężenia azotu azotanowego wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PCV w czasie prowadzenia badań
59. Zmiany stężenie azotu azotanowego wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PE w czasie prowadzenia badań
60. Zmiany stężenia ortofosforanów wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PCV w czasie prowadzenia badań
61. Zmiany stężenie ortofosforanów wody dopływającej i odpływającej z mikrostatu zawierającego próbki PE w czasie prowadzenia badań
62. Zdjęcia struktury powierzchni PCV (powiększenia: a - 500x, b - 1000x, c - 6000x)
63. Zdjęcia struktury powierzchni PE (powiększenia: a - 500x, b - 2000x, c - 6000x)
64. Zdjęcia struktury powierzchni PP (powiększenia: a - 500x, b - 1000x, c - 6000x)
65. Zdjęcia struktury powierzchni PB (powiększenia: a - 500x, b - 1000x, c - 6000x)
66. Zdjęcia struktury błony biologicznej na powierzchni PCV w badaniach w reaktorze (powiększenia: a, b, c - 2000x)
67. Zdjęcia struktury błony biologicznej na powierzchni PE w badaniach w reaktorze (powiększenia: a, b - 2000x, c - 4000x)
68. Zdjęcia struktury błony biologicznej na powierzchni PP w badaniach w reaktorze (powiększenia: a – 1500x, b - 2500x, c - 8000x)
69. Zdjęcia struktury błony biologicznej na powierzchni PB w badaniach w reaktorze (powiększenia: a, b - 2000x, c - 4000x)
70. Zdjęcia powierzchni PCV po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w reaktorze struktury (powiększenia: a – 500x, b - 1500x, c - 2000x)
71. Zdjęcia powierzchni PE po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w reaktorze (powiększenia: a, b - 2000x, c - 3000x)

72. Zdjęcia powierzchni PP po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w reaktorze (powiększenia: a, b - 1800x, c - 3500x)
73. Zdjęcia powierzchni PB po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w reaktorze (powiększenia: a, b, c - 1800x)
74. Zdjęcia błony biologicznej powstałej na powierzchni PCV w badaniach prowadzonych w mikroście (powiększenie: a, b, c - 6000x)
75. Zdjęcia błony biologicznej powstałej na powierzchni PE w badaniach prowadzonych w mikroście (powiększenie: a - 2000x, b,c - powiększenie 4000x)
76. Zdjęcia powierzchni PCV po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w mikroście (powiększenie: a - 2000x, b - 4000x, c - 6000x)
77. Zdjęcia powierzchni PE po usunięciu błony biologicznej powstałej w badaniach prowadzonych w mikroście (powiększenie: a - 2170x, b,c - 3000x)
78. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PCV (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach układu laboratoryjnego (b) oraz jego powierzchni po jej usunięciu (c)
79. zestawienie nowej próbki wykonanej z PE (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach układu laboratoryjnego (b) oraz jego powierzchni po jej usunięciu (c)
80. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PP (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach układu laboratoryjnego (b) oraz jego powierzchni po jej usunięciu (c)
81. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PB (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach układu laboratoryjnego (b) oraz jego powierzchni po jej usunięciu (c)
82. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PCV (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach mikrostatu (b) oraz jego powierzchni po jej usunięciu (c)
83. Zestawienie nowej próbki wykonanej z PE (a), powstałej na jego powierzchni błony biologicznej w warunkach mikrostatu (b) jego powierzchni po jej usunięciu (c)
84. Nieorganiczne osady powstałe na powierzchniach rurociągów polimerowych w wyniku ich eksploatacji. Polietylen a (500x) i b (1000x), polipropylen c (1500x), polibutylen d (1500x). Polichlorek winylu z mikrostatu e (2000x)
85. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 1 (ul. Czekoladowa, kolektor- stal 1930)
86. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 1 (ul. Czekoladowa, kolektor-stal 1930)
87. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 1 (ul. Czekoladowa, kolektor- stal 1930)
88. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 2 (ul. Ziemowita, kolektor- PE 2003)
89. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 2 (ul. Ziemowita, kolektor-PE 2003)
90. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 2 (ul. Ziemowita, kolektor- PE 2003)

91. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 3 (ul. Trzebnicka, kolektor- żeliwo 1988)
92. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 3 (ul. Trzebnicka, kolektor-żeliwo 1988)
93. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 3 (ul. Trzebnicka, kolektor- żeliwo 1988)
94. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 4 (ul. Traugutta, kolektor- PEHD 1996)
95. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 4 (ul. Traugutta, kolektor- PEHD 1996)
96. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 4 (ul. Traugutta, kolektor - PEHD 1996)
97. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 5 (ul. Brüknera, kolektor-żeliwo cementowane 1930)
98. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 5 (ul. Brüknera, kolektor-żeliwo cementowane 1930)
99. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 5 (ul. Brüknera, kolektor-żeliwo cementowane 1930)
100. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 6 (ul. Krzywoustego, kolektor-żeliwo 1930)
101. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 6 (ul. Krzywoustego, kolektor-żeliwo 1930)
102. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 6 (ul. Krzywoustego, kolektor-żeliwo 1930)
103. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 7 (ul. Mickiewicza, kolektor-żeliwo 1928)
104. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 7 (ul. Mickiewicza, kolektor-żeliwo 1928)
105. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 7 (ul. Mickiewicza, kolektor-żeliwo 1928)
106. Liczebność drobnoustrojów w wodzie pobranej z punktu nr 8 (ul. Bacciarrellego, kolektor-żeliwo 1974)
107. Zmiany fizyczno-chemicznych parametrów jakościowych wody pobranej z punktu nr 8 (ul. Bacciarrellego, kolektor-żeliwo 1974)
108. Zmiany pH wody pobranej z punktu nr 8 (ul. Bacciarrellego, kolektor-żeliwo 1974)
109. Skuteczność dezynfekcji podchlorynem sodu w przypadku laseczek
110. Skuteczność dezynfekcji podchlorynem sodu w przypadku pałeczek
111. Skuteczność dezynfekcji podchlorynem sodu w przypadku ziarniaków
112. Skuteczność dezynfekcji dwutlenkiem chloru w przypadku laseczek
113. Skuteczność dezynfekcji dwutlenkiem chloru w przypadku pałeczek
114. Skuteczność dezynfekcji dwutlenkiem chloru w przypadku ziarniaków
115. Skuteczność dezynfekcji podchlorynem sodu i dwutlenkiem chloru na mieszaninie bakterii wodociągowych