

Hodnotenie biologickej stability vody

Ing.Monika Karácsonyová , Ing.Elena Büchlerová

Výskumný ústav vodného hospodárstva, Bratislava

Za biologicky stabilnú sa považuje voda, ktorá neobsahuje látky, ktoré podporujú rozvoj mikroorganizmov v distribučnom systéme.

Biologicky nestabilná voda je zdrojom biodegradovateľnej organickej hmoty, ktorú využívajú mikroorganizmy pre svoj rast v distribučných systémoch a vodojemoch. Aj minimálna koncentrácia biodegradovateľných organických látok môže spôsobovať bakteriálny rozvoj v sieti.

Výsledky pravidelných kontrolných rozborov podnikov vodární a kanalizácií sústredených v stredisku VODA na VÚVH vykazujú zhoršovanie sa kvality pitnej vody v distribučných systémoch a vo vodojemoch najmä v mikrobiologických ukazovateľoch, ukazovateľoch charakterizujúcich senzorické vlastnosti vody a zisťujú sa nulové koncentrácie aktívneho chlóru [1].

Z toho vyplýva reálny predpoklad, že biologická stabilita vody je nízka a prítomné baktérie majú vhodné podmienky pre opätovné rozmnožovanie sa.

Distribúcia biologicky nestabilnej vody zvyšuje spotrebu dezinfekčného činidla a v prípade použitia chlóru na zdravotné zabezpečenie vody, zvyšuje riziko tvorby vedľajších produktov dezinfekcie – trihalometánov (THM). Biologicky nestabilná voda zhoršuje senzorické vlastnosti vody a spôsobuje koróziu potrubia [2, 3].

Biologická stabilita vody je ovplyvňovaná nasledujúcimi faktormi:

- teplota vody - najdôležitejší parameter kontroly procesov mikrobiologického rastu
- kvalita vody v zdroji - nevhodná je voda s vysokým obsahom nutrientov - predovšetkým uhlíka, dusíka a fosforu, ktoré sú pre heterotrofne baktérie limitujúcimi prvkami rastu
- znižujú ju prenikajúce baktérie, organické látky, zvýšené koncentrácie železa, mangánu a amónnych iónov vo vode odtekajúcej z úpravne vody – dobiehajúce procesy koagulácie, odželezovania a odmangánovania
- vnútorná korózia potrubia
- ukladanie sedimentov v potrubí
- dlhá doba zdržania vody v rozvodoch a vodojemoch
- druh materiálov potrubia – prepravovaná voda by mala spĺňať základné požiadavky pre minimálne chemické a biologické interakcie medzi materiálom a vodou [5]
- spôsob zdravotného zabezpečenia vody
- množstvo dezinfekčného činidla – vysoký obsah organických látok vo vode zvyšuje nároky na spotrebu dezinfekčného činidla, čím sa podporuje tvorba vedľajších produktov dezinfekcie
- hodnota pH - vyšší obsah organických látok zvyšuje hodnotu pH vody, čím sa zvyšuje tvorba vedľajších produktov dezinfekcie najmä pri vyšších teplotách
- technologický postup úpravy vody.

Metód na stanovenie biologickej stability bolo v priebehu posledných 10-tich rokov vyvinutých pomerne veľké množstvo. Ich prehľad bol spracovaný ešte v roku 1990 [3].

Metódy boli rozdelené do dvoch základných skupín:

- biomasové: meranie biomasy je vyjadrené v jednotkách uhlíka [$\mu\text{gC.l}^{-1}$] – ako asimilovateľný organický uhlík (AOC), ktorý je definovaný ako časť biodegradovateľného organického uhlíka, ktorá môže byť využitá na tvorbu buniek a vyjadruje sa ako koncentrácia uhlíka pomocou konverzného faktora alebo kalibrácie

metóda van der Kooija – určenie AOC je založené na meraní maximálneho počtu kolónií vybranej čistej kultúry heterotrofnych baktérií inokulovanej vo vzorkách vody upravených pasterizáciou. Za vzorkovacie kmene boli vybrané kultúra *Pseudomonas fluorescens* kmeň P17 a kultúra *Spirillum* kmeň NOX. Koncentrácia AOC sa vypočíta z pomeru maximálneho počtu kolónií ($N_{\max}$ KTJ.ml⁻¹) použitej kultúry baktérií a koeficientu výťažnosti (KTJ/ μgC) na definovanom zdroji organického uhlíka [4].

metóda Kemmyho – je založená na inkubácii filtráciou sterilizovanej vzorky vody zmiešanej s presným množstvom inokula zloženého zo štyroch charakteristických druhov baktérií. Vzorka vody sa inkubuje 6 dní pri 20°C. Koncentrácia AOC sa zisťuje z kalibračnej krivky získanej miešaním štandardného roztoku organických zložiek s octanom a glukózou.

CGR metóda (USEPA) – testovanie reakcie na rast koliformných baktérií. Inokulum jedného alebo viacerých koliformných organizmov sa pridá do vzorky sterilizovanej filtráciou. Odozva na rast koliformných baktérií sa vypočíta z rozdielu logaritmov počtu baktérií na začiatku a na konci 5-dňovej inkubačnej doby.

Wernerova metóda – meria koreláciu medzi zákalom a celkovým počtom bakteriálnych buniek.

Jago-Stansfieldova metóda – meria rozmery ATP ako miery mikrobiálneho rastu namiesto celkového počtu heterotrofnych alebo koliformných baktérií.

Billen-Servaisova metóda – sleduje bakteriálnu biomasu a rýchlosť úmrtnosti, z ktorých počíta celkový priebeh úmrtnosti počas inkubačnej doby. Tento delený rastovým výťažkom dáva odhad BDOC.

- metódy založené na meraní rozpusteného organického uhlíka (DOC): ide o meranie rozdielov počiatočnej a konečnej hodnoty DOC po istej inkubačnej dobe - rozdiel vyjadruje biologicky degradovateľný organický uhlík (BDOC) a je definovaný ako tá časť organického uhlíka vo vode, ktorá môže byť mineralizovaná heterotrofnymi mikroorganizmami [3].

Servaisova metóda - princípom tejto metódy je sterilizácia vzorky vody filtráciou, jej inokulácia autochtónnou bakteriálnou populáciou a meranie úbytku koncentrácie rozpusteného organického uhlíka DOC spôsobeného využitím uhlíka baktériami.

Joret-Léviho metóda – odlišuje sa od Servaisovej metódy použitím biologicky aktívneho piesku ako inokula.

Z publikovaných štúdií možno skonštatovať, že širšie uplatnenie našli metódy merania DOC. Hlavnou nevýhodou metóda stanovenia AOC je použitie a dostupnosť inokula čistých bakteriálnych kmeňov. Zmiešané bakteriálne populácie účinnejšie využívajú zmes prírodných organických molekúl, než čisté bakteriálne kmene. Zmiešané bakteriálne populácie sú ľahšie dostupné v prírodnom prostredí – z riečnej vody alebo z úpravne vody pochádzajúce z filtračného piesku. Baktérie nepotrebujú špecifickú preparáciu, skladovanie alebo dopravu [13].

Okrem týchto metód sa na hodnotenie biologickej stability v novších prácach používa stanovenie priameho počtu životaschopných organizmov tzv. *CTC-metódou*. Prefiltrované baktérie sa fixujú vo formaldehyde a počítajú sa pomocou epifluorescenčného mikroskopu.

Rozšírenejšie je použitie tzv. *AODC-metódy*. Ide o stanovenie celkového priameho počtu baktérií počítaných pomocou epifluorescenčného mikroskopu po zafarbení baktérií akridínovou oranžovou [6].

Používanými hodnotiacimi parametrami biologickej stability a opätovného rastu v sieti sú tiež celkový organický uhlík (TOC), mikrobiologické ukazovatele – fekálne a koliformné baktérie, meranie koncentrácie fosforu ako limitujúceho prvku opätovného bakteriálneho rastu v sieti namiesto organického uhlíka [7].

Sleduje sa aj pomer UV(254)/DOC ako parameter klasifikujúci reaktivitu rozpustených organických látok vo vode a pomery UV(254)/BDOC alebo UV(254)/TOC [8, 9].

Stanovenie biologicky degradovateľného organického uhlíka (BDOC) postupom navrhnutým P. Servaisom [11]:

Vo väčšine vodných prostredí je skutočne mikrobiologicky využiteľná iba malá frakcia organickej hmoty vyjadrená ako rozpustený organický uhlík, pričom zvyšok tvoria odolné organické zvyšky tvorené predovšetkým humínovými látkami. Preto je lepším indikátorom opätovného rastu a aktivity heterotrofných mikroorganizmov vo vode biologicky degradovateľný organický uhlík (BDOC), než rozpustený organický uhlík (DOC). BDOC je časť organického uhlíka vo vode, ktorá môže byť mineralizovaná heterotrofnými organizmami.

Postup stanovenia:

Vzorka vody sa sterilizuje filtráciou cez membránu s veľkosťou pórov 0,2 µm (Pragopor 8).

Membrána musí byť vopred vysterilizovaná v autokláve. Potom musí byť opatrne opláchnutá destilovanou vodou bez obsahu organického uhlíka a následne s vodou vzorky.

Do vysterilizovanej vzorky vody sa pridá 1 ml inokula autochtónnych baktérií na 100 ml vzorky vody. Inokulum sa pripraví filtráciou vody cez membránu s veľkosťou pórov 2,0 µm (Pragopor 2) na elimináciu veľkých častíc a prvkov. Prefiltrované inokulum sa kultivuje 24-48 hodín pri 20°C. Ako inokulum sme používali vodu z rieky Dunaj. Testovali sme aj použitie vody zo studne s infiltrovanou dunajskou vodou, táto sa však ukázala ako nevhodná, pretože bola veľmi slabo bakteriologicky oživená.

V prípade ozonizovanej alebo chlóranej vzorky vody sa do nej pred inokuláciou pridá tiosíran sodný na neutralizáciu prebytku oxidačného činidla.

Inokulované vzorky vody sa inkubujú pri teplote 20°C, v tme počas 15-30 dní.

Na začiatku inkubácie (tesne po pridaní inokula do vzorky) sa odoberie subvzorka na stanovenie DOC [mg.l⁻¹]. Odobraná vzorka sa okyslí roztokom HCl a zafixuje roztokom NaN₃ pre prípad, že nebude ihneď analyzovaná. Naše vzorky boli analyzované striedavo na dvoch rôznych analyzátoroch TOC v NRL pri VÚVH. Obidva prístroje majú rovnakú presnosť stanovenia a sú na začiatku merania vždy kalibrované, teda ich výsledky sú porovnateľné.

Sleduje sa aj bakteriologické oživenie vzorky vody – celkový počet heterotrofných baktérií (HPC) [KTJ/ml].

Koncentrácia DOC sa spravidla stanovovala na 1., 5., 10., 15. a 30. deň od začiatku inkubácie. Hodnota BDOC [mg.l⁻¹] sa vypočítala z rozdielu medzi počiatočnou a konečnou koncentráciou DOC. Výraznejší pokles koncentrácií DOC sa zistil vo väčšine prípadov až od 15. dňa od začiatku inkubácie. Neistota merania sa udáva 0,08 mg.l⁻¹ DOC pre rozsah merania od 0,1 do 100,0, čiže táto metóda bude vhodná pre koncentrácie mg.l⁻¹ DOC.

Súbežne so stanovením DOC sa sledujú počty baktérií.

Všetko použité sklo, všetky nádoby, filtračné systémy sa musia sterilizovať 4 h pri 550⁰C aby sa vyhlo uvoľneniu organického uhlíka.

Overenie výpovednej hodnoty postupu stanovenia:

Použila sa voda zo studne v areáli VÚVH, v ktorej nebol stanovený žiadny obsah BDOC v predchádzajúcom experimente. Do tejto vody boli nadávkované tri rôzne koncentrácie octanu sodného – ľahko biodegradovateľného zdroja organického uhlíka pre prítomné heterotrofne baktérie vo vode. Boli zvolené nasledujúce koncentrácie octanového uhlíka: 0,5 mg.l⁻¹, 1,0 mg.l⁻¹, 2,0 mg.l⁻¹ a ako kontrola /K/ bola sledovaná vzorka vody bez prídavku organického uhlíka. V tabuľke č.1 sú namerané hodnoty rozpusteného organického uhlíka (DOC) v mg.l⁻¹ a celkového počtu heterotrofných baktérií (KTJ) ako KTJ.ml⁻¹:

Tab. č.1:

deň	TOC /K/	TOC /0,5/	TOC /1,0/	TOC /2,0/	KTJ /K/	KTJ /0,5/	KTJ /1,0/	KTJ /2,0/
0	2,26	2,72	2,99	4,22	1	1	1	1
3	2,16	2,20	2,44	1,99	259	19400	36900	785000
9	2,26	2,16	2,11	2,31	269	227	236	152
21	2,48	2,29	2,28	2,91	41	82	144	151
30	2,23	2,30	2,15	2,27	58	153	161	155
BDOC	0,03	0,42	0,84	1,95				

Namerané hodnoty BDOC na 30. deň od začiatku inkubácie v závislosti od prídavku organického uhlíka sú zobrazené na grafe č.1. Táto lineárna závislosť vykazuje vysokú hodnotu koeficientu spoľahlivosti (R = 0,996). Dosiahnuté hodnoty BDOC sú takmer totožné s dávkovanými koncentraciami organického uhlíka.

Sledovanie hodnôt BDOC na diaľkovode Stakčín – Starina:

Na diaľkovode boli sledované štyri odberné miesta – odtok z ÚV Stakčín, vodojem Humenné, vodojem Prešov a rozdeľovací objekt Košice. Odber vzoriek bol vykonaný dvakrát, v novembri 1998 a v apríli 1999. Namerané hodnoty DOC [mg.l⁻¹] a KTJ.ml⁻¹ spolu s hodnotami BDOC sú znázornené v tabuľkách č.2 a č.3 a grafoch č.2 a č.3.

Tab. č.2: odber vzoriek v XI/1998.

deň	DOC /St/	DOC /Hu/	DOC /Pr/	DOC /Ko/	KTJ /St/	KTJ /Hu/	KTJ /Pr/	KTJ /Ko/
0	2,98	3,10	2,77	2,63	58	68	2	56
1	2,63	2,55	2,42	2,45	309	880	324	616
30	3,15	2,62	2,49	2,55	96	180	121	169
BDOC	-	0,48	0,28	0,08				

Tab. č.3: odber vzoriek v IV/1999.

deň	DOC /St/	DOC /Hu/	DOC /Pr/	DOC /Ko/	KTJ /St/	KTJ /Hu/	KTJ /Pr/	KTJ /Ko/
0	3,15	2,98	2,88	2,72	120	27	195	168
14	2,38	2,71	2,12	2,55	21	243	232	219
28	2,15	2,10	2,16	2,17	33	1000	19	15
BDOC	1,00	0,88	0,72	0,55				

V obidvoch sériách stanovení môžeme pozorovať pokles hodnôt BDOC po trase diaľkovodu (graf č.4), čo potvrdzuje predpoklad, že DOC je mineralizovaný heterotrofnymi baktériami. Vyššie hodnoty BDOC v druhom odbere môžeme pripísať vyššiemu organickému znečisteniu vo vodárenskej nádrži v jarnom období.

Priebehy celkových počtov heterotrofných baktérií boli rovnaké vo všetkých uskutočnených experimentoch. Maximálne počty kolónií tvoriacich jednotiek boli namerané na 3.-5. deň inkubácie vzorky. Potom nasleduje ich výrazný pokles na nulovú, prípadne nízku ustálenú hodnotu.

Hodnoty BDOC zistené najmä vo vzorkách z jarného odberu sú vyššie ako je Servaisom považovaná hodnota pre biologicky stabilnú vodu – do 0,15 mg.l⁻¹ [10, 12]. Túto hodnotu preberá od Servaisa vo svojich štúdiách väčšina autorov. Popri meraní obsahu BDOC sa na diaľkovode Starina-Košice vyhodnocovali aj nárastové testy s 2 a 6 mesačnou dobou expozície, ktoré však nepotvrdili tendenciu vody podporovať pomnožovanie baktérií. Zistilo sa minimálne bakteriologické aj biologické oživenie. Tieto zistenia sú v súlade s dlhodobým sledovaním mikrobiologickej kvality vody dopravovanej v diaľkovode Starina-Košice. Preto možno predpokladať, že hodnota BDOC "bezpečná" z hľadiska bakteriálneho rastu v sieti bude individuálna pre konkrétny distribučný systém. Takisto z meraní v práci Prévosta sú hodnoty BDOC 0,1-0,5 mg.l⁻¹ pri odtoku z úpravne vody dostatočne nízke na zabránenie pred opätovným rastom v distribučnej sieti [6].

Stanovenie BDOC metódou Servaisa bude využité pri hodnotení zmien biologickej stability vody v distribučnom sieti a tiež v jednotlivých stupňoch úpravy vody v pripravovanom VTP Zmeny kvality vody pri doprave, kde budú navrhnuté aj opatrenia na dosiahnutie biologicky stabilnej vody.

Literatúra:

- [1] Büchlerová, E. – Zajícová, H.: Správa o stave mikrobiálnej kontaminácie pitnej vody za roky 1995 – 1998.
- [2] Pitter, P.: Hydrochemie. Praha, SNTL, 1981
- [3] Huck, P. M.: Measurement of biodegradable organic matter and bacterial growth potential in drinking water. Journal AWWA, 7, 78-86, 1990
- [4] van der Kooij, D. – et al.: Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water. Journal AWWA, 10, 540-545, 1982
- [5] Graveland, A.: Particle and micro-organism removal in conventional and advanced treatment technology. Wat. Sci. Tech., 37, 10, 125-134, 1998
- [6] Prévost, M. - et al.: Suspended bacterial biomass and activity in full-scale drinking water distribution systems: impact of water treatment. Wat. Res., 32, 5, 1393-1406, 1998

- [7] Sathasivan, A. – et al.: Application of new bacterial regrowth potential method for water distribution system - a clear evidence of phosphorus limitation. *Wat. Res.*, 33, 1, 137-144, 1999
- [8] Schmidt, W. – et al.: Classification of algogenic organic matter concerning its contribution to the bacterial regrowth potential and by-products formation. *Wat. Sci. Tech.*, 37, 10, 91-96, 1998
- [9] Hamsová, K. – Hejzlar, J.: Biologicky rozložitelné organické látky ve vodárenské nádrži Římov. *Zborník prednášok VODA Tábor*, 71-76, 1999
- [10] Gauthier, V. – et al.: Organic matter as loose deposits in a drinking water distribution system. *Wat. Res.*, 33, 4, 1014-1026, 1999
- [11] Servais, P. – et al.: Simple method for determination of biodegradable dissolved organic carbon in water. *Appl. Env. Micr.*, 10, 2732-2734, 1989
- [12] Servais, P. – et al.: Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters. *Wat. Res.*, 21, 4, 445-450, 1987
- [13] Block, C. J. – et al.: Indigenous bacterial inokula for measuring the biodegradable dissolved organic carbon in waters. *Wat. Res.*, 26, 4, 481-486, 1992