

BIOFILM AKO FAKTOR KVALITY PITNEJ VODY A BIODEGRADÁCIE VODOVODNÝCH A KANALIZAČNÝCH POTRUBÍ

Ing. Zuzana Bratská¹⁾, RNDr. Nadežda Številová, Ph.D.²⁾

¹⁾ Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Košiciach

²⁾ Stavebná fakulta-Technická univerzita v Košiciach

Stavebná fakulta TU v Košiciach požiadala tunajší RÚVZ o spoluprácu pri plnení projektu, ktorý sa zaoberá vplyvom biofilmu na kvalitu vody v rozvodných potrubíach. Spolupráca bude spočívať najmä v posudzovaní laboratórnych nálezov vo vzorkách pitnej vody z hľadiska hygienických aspektov.

Projekt je rozpracovaný na roky 2008-2010. Na jeho riešenie sa budú podieľať odborníci z Ústavu budov a prostredia, ktorí sú pedagogickými pracovníkmi Katedry materiálového a environmentálneho inžinierstva a Katedry teórie a techniky prostredia budov.

Na úvod je treba konštatovať, že pôsobenie mikroorganizmov žijúcich voľne v planktonickej forme, alebo zachytených na povrchoch sa všeobecne považuje za málo preskúmané (Hoppe, 1984, Left, 1994). Medzi najmenej preskúmané patria spoločenstvá mikroorganizmov na tuhých povrchoch vo forme súvislých povlakov označovaných ako biofilm. Definujeme ho ako mikrobiálne spoločenstvo imobilných buniek uchytených na tuhom povrchu, často vo vodnom prostredí. Sú známe aj spoločenstvá mikroorganizmov žijúce vo fázovom rozhraní, tuhá látka- plyn, kvapalina- plyn, kvapalina – kvapalina (Augustín, Mogoňová, 1999).

Väčšina poznatkov o biofilmoch bola získaná najmä použitím modelových systémov.

Biofilm je tvorený najčastejšie viacerými druhmi mikroorganizmov a pre mikroorganizmus prináša možnosť zvýšenej koncentrácie živín z tuhého povrchu, ktorý sa udržiava v určitej lokalite aj v prúdiacom kvapalnom prostredí a z vytvorenia mikroprostredia, napr. anaeróbných podmienok v okolitom aerobnom prostredí. Biofilmy sa vyznačujú veľkou variabilitou v závislosti od prostredia. Hustota mikroorganizmov v biofilme sa pohybuje od málo osídlených spoločenstiev napr. oligotrofných baktérií vo vodovodných rozvodoch, v rozmeroch niekoľko kolónií tvoriacich jednotiek až po niekoľko centimetrov hrubé vrstvy v biologických čistiarniach odpadových vôd a na mokrých povrchoch chladiacich veží.

S prítomnosťou biofilmu v potrubíach vodovodnej siete úzko súvisí problém kvality pitnej vody. Rozvoj biofilmu na vnútornej strane potrubí a vodovodných armatúr umožňuje prežívanie a rast baktérií rodu *Legionella*, z ktorých k najzávažnejším patrí *Legionella pneumophila*. Táto spôsobuje rôzne formy závažných až smrteľných ochorení ako sú legionelóza alebo tzv. Pontiacka horúčka. Hostiteľmi legionel v rozvodoch pitnej vody sú najmä améby, ktoré sa vyznačujú veľmi dobrou tepelnou a chemickou odolnosťou, čím sa znižujú možnosti účinnej redukcie prítomnosti legionely. Osídlenie rozvodov studenej vody ako aj teplej vody je pomerne vysoká v prípade teplej vody sa pohybuje v rozmedzí 35-75% (Pospíchal, 2006, Vranayová, 2005). *Legionella* sa vyskytuje vo všetkých typoch potrubných materiálov (Sweden,

2004), aj keď niektoré štúdie poukazujú na menšie koncentrácie legionely v pitnej vode, prepravovanej v medených potrubíach, vplyvom biocídnych účinkov medi. Eliminácia legionely z rozvodov pitnej vody je veľmi obtiažna a doposiaľ tento problém nebol uspokojivo vyriešený(Šašek, 2001).

Činnosť mikroorganizmov zohráva významnú úlohu aj v spektre degradačných procesov ako sú napr. korózia kovov, biodegradácia betónu. Dôsledkom vytvárania biofilmu je aj upchávanie potrubí a filtrov, alebo znižovanie účinnosti výmenníkov tepla (Characklis, 1990).

Nežiaduce zmeny vlastností materiálov spôsobené vplyvom mikroorganizmov sú v odbornej literatúre označované ako mikrobiálna korózia (Heitz al., 1996). Genéza biodegradácie má tri etapy: infekcia- vytvorenie stáleho kontaktu medzi mikroorganizmom a materiálom: inkubácia – fáza od infekcie až po dobu, kedy sú symptómy biodegradácie zjavné, alebo už aj začínajú predstavovať technicky významné poškodenie materiálu: manifestácia – symptómy biodegradácie sú jasne zjavné a znamenajú technicky významné poškodenie materiálu(Wasserbauer, 2000).

Zdrojom výskytu mikroorganizmov v danom prostredí je najčastejšie pôda, voda alebo aj samotné materiály. Typickým príkladom je biokorózia potrubí v kanalizačných sieťach. Podľa analýz uskutočnených v SRN (Kaempfer, 1999), kde je kanalizačná sieť tvorená z cca 46% betónom je cca 40% škôd na dlhých a zle vetraných úsekoch kanalizačných sietí, pripisovaných práve korozívnemu účinku vplyvom mikroorganizmov. Podobne aj na Slovensku patrí zatiaľ betón k najčastejšie používaným materiálom kanalizačných potrubí a ich kvalita a životnosť do značnej miery súvisí práve s biokoróziou.

Biokoróziu betónových potrubí spôsobujú najmä tzv. sírne baktérie rodov *Acidithiobacillus*, *Leptospirillum*, a síran redukujúce baktérie z rodov *Desulfotomaculum*, *Desulfotomaculum*, ktoré sú súčasťou biologického kolobehu síry aj jej zlúčenín. Tieto baktérie sa v uvedenom cykle zúčastňujú disimiláčnej časti a bakteriálne spoločenstvo sa nazýva sulfuretum. Sírne baktérie oxidujú sulfán vyprodukovaný síran redukujúcimi baktériami na kyselinu sírovú. V dôsledku toho potom prebehne síranová korózia cementového kameňa, postupne však môže dôjsť k rozpínaniu betónu, vzniku trhlín a prasklín, strate pevnosti a k celkovému rozpadu betónu (Luptáková a kol, 2002).

Biokoróziu betónu spôsobujú aj nitrifikačné baktérie rodov *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrobacter*. Ďalším typom baktérií podieľajúcich sa na biokorózii betónov sú heterotrofné baktérie produkujúce organické kyseliny, ktoré pôsobia na betón alebo jeho zložky ako lúhovacie činidlá (Gaylarde et al., 2003). Prevencia biodegradácie stavebných materiálov je v súčasnej technickej praxi založená na ochrane ich povrchu rezistentnými materiálmi, ako sú epoxidové alebo polyesterové živice. Vedľa týchto štandardných mechanických riešení problémov biokorózie existujú aj riešenia chemické a biochemické, ktoré sú v súčasnosti predmetom štúdia a vývoja.

Na základe štúdia mechanizmu vzniku a tvorby biofilmu v potrubných systémoch vodovodných a kanalizačných potrubí si projekt kladie za cieľ objasniť špecifické chemické a fyzikálne podmienky vzniku biofilmu vo väzbe na rôznych typoch použitých materiálov, ako aj stanoviť možnosti riadenia týchto faktorov za účelom zabezpečenia kvality pitnej vody a minimalizácie degradácie kanalizačných potrubí.

Spracovávanie informácií o uvedenej problematike z dostupných literárnych zdrojov z odbornej domácej a zahraničnej literatúry je uskutočňované štúdiom a odborných

konzultáciami, získané informácie budú aktualizované v priebehu celého riešenia projektu.

Izolácia, kultivácia a identifikácia mikroorganizmov, vyskytujúcich sa v reálnych podmienkach vodovodných a kanalizačných sietí. Zhodnotenie druhového zastúpenie jednotlivých mikroorganizmov ako aj majoritných a minoritných druhov mikroorganizmov na vybraných materiáloch v závislosti od podmienok prostredia.

Postup prác v rámci plnenia projektu:

- Štúdium vzniku a tvorby biofilmu v laboratórnych podmienkach – štúdium podmienok kolonizácie povrchu materiálov mikroorganizmami v závislosti od druhu materiálu.
- Sledovanie vplyvu podmienok prostredia (teplota, vlhkosť, pH, chemické zloženie, klimatické podmienky, prítomnosť vody a jej kvality, použitie aditív a pod.) na aktívnu činnosť mikroorganizmov .
- Sledovanie dynamiky rozvoja a rozsahu mikrobiálnej kontaminácie v planktónnej fáze v podmienkach simulujúcich málo používané vetvy vodovodných rozvodov , vo väzbe na kvality pitnej vody.
- Štúdium vplyvu vyizolovaných majoritných druhov mikroorganizmov na biodeteriáciu betónových materiálov, pričom sa budú hodnotiť zmeny fyzikálnych a chemických vlastností betónových vzoriek.
- Kvalitatívne a kvantitatívne stanovenie metabolitov, ktorými vybrané druhy mikroorganizmov pôsobia deštruktívne na povrch a maticu materiálu.
- Štúdium inhibičných faktorov rastu a aktívnej činnosti identifikovaných mikroorganizmov.
- Štúdium vplyvu bakteriocídnych aditív na rezistenciu betónu voči biokorózii.
- Stanovenie najvhodnejšieho materiálu pre inštaláciu vodovodných rozvodov.
- Simulácia procesov prebiehajúcich v distribučných rozvodoch pitnej vody.
- Vývoj metodík pre diagnostiku stavu biodeteriácie, t.j. v ktorom štádiu bola biodegradácia identifikovaná.

Pre dosiahnutie cieľov projektu budú využité všetky dostupné klasické a moderné metódy, vhodné pre štúdium tvorby biofilmu, kvality a kvantity mikrobiálnej kontaminácie použitých materiálov a pitnej vody a diagnostiky biodeteriácie.

V experimentálnych prácach budú preto použité tieto nasledujúce postupy:

- Izolácie, identifikácie, kultivácie a hodnotenia jednotlivých druhov mikrobiálnych kultúr(napr. príprava kvapalných a tuhých živných médií, platňová metóda izolácie, metóda desiatkového riedenia, farbenie baktérií podľa Grama, farbenie spór, príprava natívnych alebo fixovaných preparátov mikroorganizmov, optická a elektrónová mikroskopia, Becton – Dickinson mikrobiologický identifikačný systém pre druhovú identifikáciu bakteriálnych kultúr, anaeróbna a aeróbna kultivácie a pod.).
- Fyzikálnych metód merania pH, oxidačno – redukčného potenciálu, difúzie vodnej pary, stanovenia, úbytku hmotnosti, pevnosti a pórovitosti betónových materiálov, zmeny štruktúry a kvality povrchu a pod.

Zvolená metodológia je progresívna v tom, že okrem laboratórnych experimentov bude prebiehať štúdium vzniku a tvorby biofilmu aj v reálnych podmienkach v systémoch vodovodných a kanalizačných sietí.

V rámci riešenia projektu sa plánuje vydanie 1 vedeckej monografie a vytvorenie spolupráce medzi akademickým a podnikateľským sektorom – spoločná výskumná

platforma zameraná na možnosti predĺženia životnosti kanalizačných potrubí medzi Stavebnou fakultou TU v Košiciach a podnikom Východoslovenské vodárne a kanalizácie.

Rozširovanie výsledkov projektu sa bude uskutočňovať už od prvej etapy projektu prostredníctvom týchto nepretržitých aktivít:

- krátke (multi- mediálne) konferencie organizované na univerzite
- krátke semináre a workshopy na regionálnej úrovni
- zorganizovanie konferencie s medzinárodnou účasťou – pozvaní odborníci z iných krajín za účelom nadviazania ďalšej spolupráce na medzinárodnej úrovni
- prednášky v rámci odborných skupín slovenskej chemickej spoločnosti a slovenskej spoločnosti pre techniku prostredia
- články v odborných a vedeckých časopisoch a zborníkoch
- vydanie vedeckej monografie
- informačné stretnutia s predstaviteľmi podnikateľskej sféry

Výsledky riešenia projektu budú využiteľné pre prax v oblasti vodovodných a kanalizačných systémov:

- návrh opatrení na minimalizáciu tvorby biofilmu vo vodovodných a kanalizačných potrubíach,
- návrh optimálneho materiálu pre rozvody pitnej vody z hľadiska zabezpečenia jej kvality a optimálnych podmienok prevádzky vodovodných sietí
- návrh metodiky diagnostiky stavu biodegradácie kanalizačných potrubí.

Výsledky z jednotlivých etáp projektu budú priebežne zapracované v rámci aktualizácie do súvisiacich predmetov výučby (Technické zariadenia budov, Stavebné hmoty, Vodárenstvo a stokovanie, Environmentálne inžinierstvo stavieb, stavby s environmentálnym určením a Tvorba budov a prostredia). Získané poznatky z riešenia projektu budú prezentované aj študentom končiacich ročníkov v rámci diplomových seminárov za účelom obohatenia si poznatkov.

Výsledky projektu budú popularizované aj medzi prevádzkovateľov vodovodných a kanalizačných sietí a zainteresovaných pracovníkov v oblasti tepelného hospodárstva a vodární a kanalizácií vo forme letákov a brožúr, resp. metodickej príručky.

Výstupom projektu bude zhodnotenie reálneho stavu existencie biofilmu na vnútorných povrchoch potrubí a s tým súvisiaceho výskytu mikroorganizmov v pitnej vode a zistenie výskytu jednotlivých druhov mikroorganizmov v biofilme, získanie originálnych poznatkov o mechanizme a podmienkach vzniku biofilmu v závislosti od typu použitého materiálu ako aj degradačných účinkov mikroorganizmov.

Bude vypracovaný návrh opatrení na minimalizáciu resp. reguláciu tvorby biofilmu v kanalizačných potrubíach a návrh najvhodnejšieho materiálu pre vodovodné potrubia z hľadiska obmedzenia výskytu mikroorganizmov v pitnej vode.

Použitá literatúra

AUGUSTÍN, J., MOGOŇOVÁ, E.: Vplyv vodných nádrží na mikrobiologickú čistotu vodného toku. Zborník prednášok: nové poznatky v mikrobiológii vody VII, čas. spol. mikrobiol., Poprad, 19.9.1999, 76-82.

DIERKS, M., SAND, W., BOCK, E.: Microbial corrosion of concrete. *Experienta* 47, 1991, 514- 516.

HEITZ, E., Fleming H. C., SAND W.: *Microbially Influenced Corrosion of Materials*, Springer – Verlag, Berlin Heidelberg 1996.

GAYLARDE C., DINAS SILVA M., WARSCHIEDT Th.: Microbial Impact on building materials: an overview, *Materials & Structures*, 36, 2003, p. 342-352.

HOPPE, H. G: Attachment of bacteria : advantage or disadvantage for survival in the aquatic environment. In Marshall K.C: (Ed.): *Mibial adhesion and aggreition*. Springer, Berlin 1984, p. 283-301.

CHARACKLIS, W.G., MARSHALL K. C.: 1990, Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach. In: *Biofilms* (Characklis W. G. and Marshall K. C., Eds), Wiley – Interscience, New York, 1990, pp 3-16

KAEMPFER, W. M. BERNDT: Estimation of service life of concrete pipes in sewer networks, *Durability of Building Materials and Components* 8, Ottawa, 1999.

LAWRENCE, J. R ., SWERHONE, G.D.W., NEU, T. R. : A simple rotating annular reactor for replicated biofilm studies. *J. Microbiol. Methods* 42, 2000, 215-224.

Le CHEVALLIER, M. W., BABCOCK, T.M., LEE R. G. : Examinationa and characterrization of distribution system biofilms. *Appl. Environ. Micriobiol.* 53, 1987, 2714-2724.

LEFT, L.: Stream bacterial ecology : a neglected field? *ASM News* 60, 1994. 135-138.

LITTLE, B., WAGNER, P., MANSFIELD, F.: Microbiologically influenced corrsion of metals and alloys. *Int. Mater. Revs.* 36, 1991b, 253- 272.

Luptáková, A. (2006): Biokoóia tavebných materiálov. In: *Acta Montanistica Slovaca. Roc. 11, mimoriadne číslo 2.* ISSN 1335-1788.s. 339-344.

YU- SEN E. LIN et al.: Individuall and combined effects of cooper and iron ionson inactivation of *Legionella* Pergamon, No. 8, 1996.

VRANAYOVÁ, Z., BRATSKÁ, Z., TKÁČOVÁ, E.. Measures for prevention of *Legionella* Growth for Installations Inside Building Conveying Water for Human Consumption. In: *Proc. of 10th Scientific conference Rzeszow- Lwiw- Košice State of Atr, Trends of Development and Challenges in Civil Engineering*, Košice, vol. 1, 2005, p. 82. ISBN: 80-8073-325-2.

WASSERBAUER R.: *Biologické znehodnocení staveb*, ABF- ARCH, 2000