

Franciszek PISTELOK, Bogusław WIERA  
Tomasz STUCZYŃSKI, Marcin KOPYTKO

SGS EKO-PROJEKT, Pszczyna

## STUDIUM NAD ZASTOSOWANIEM TESTU ATP DO OPTYMALIZACJI DZIAŁANIA STACJI UZDATNIANIA WODY I SIECI WODOCIĄGOWEJ

### STUDY ON THE USE OF ATP TEST TO OPTIMIZE WATER TREATMENT PLANTS AND WATER SUPPLY

*New generation of rapid and available ATP tests used for real time identification of microbial risk in drinking water and sanitary water are described. Dynamic development of screening methods like a measurement of ATP concentration in water used for special depiction of biomass in water supply and water treatment plants is observed recently. It allows to take up immediate corrective action, as well. This article presents the results of four pilot studies of water supplies and shows the usefulness of the method of ATP in the rapid diagnosis of the microbiological quality of tap water. This study confirms superiority of ATP technique over conventional reference techniques for determining the total number of bacteria in water, which can detect only the heterotrophic bacteria of modest nutritional requirements, which often proves to be insufficient to fully assess the state of the water supply.*

## 1. Wprowadzenie

Test ATP jest coraz częściej wykorzystywany do oceny zanieczyszczenia mikrobiologicznego wody [2,7,12]. Może on stanowić znaczące uzupełnienie prowadzonych analiz fizykochemicznych i mikrobiologicznych, pozwala na uzyskanie szybkich informacji na temat zanieczyszczenia mikrobiologicznego wody [14,15]. Wskazuje się na celowość wykorzystania tego testu zarówno w bieżącej eksploatacji wodociągu, jak i w sytuacjach awaryjnych, klęsk żywiołowych, a nawet ataków terrorystycznych.

Adenozynotrójfosforan (ATP) to związek występujący w każdej komórce. Całkowita (total ATP – tATP) zawartość tego związku w wodzie (a także w ściekach) jest sumą ATP występującego w żywych komórkach (cATP) oraz ATP rozpuszczonego w wodzie (dATP) pochodzącego z komórek, które uległy z różnych powodów rozkładowi. Możliwość takiego rozróżnienia jest ważna, bowiem pozwala na wykorzystanie tego testu do różnych celów. W przypadku wody przeznaczonej do spożycia wykorzystywane jest oznaczenie cATP. W działaniach związanych z oczyszczaniem ścieków wykonanie analiz cATP i dATP pozwala między innymi na określenie toksycznego oddziaływania ścieków przemysłowych czy też na określanie kondycji mikroorganizmów zasiedlających urządzenia oczyszczające [2].

Opracowane w ostatnich latach metoda oznaczenia ATP charakteryzuje się prostotą, łatwością w wykonywaniu oznaczenia oraz możliwością przeprowadzenia testu w miejscu pobrania próbki. Może ją wykonać praktycznie każdy posiadający podstawowe przygotowanie w zakresie oznaczeń fizykochemicznych. W dostępnym obecnie teście II generacji uzyskiwane są wartości liczbowe, zaś porównanie wyników z opracowanymi przez producentów normami pozwala na szybką ocenę jakości wody dostarczanej konsumentom.

Przeprowadzone w ostatnim czasie badania wykazały, że może on być z powodzeniem wykorzystany w praktyce wodociągowej do analizy procesów zachodzących na stacjach uzdatniania wody w cyklu filtracyjnym w trakcie filtracji i płukania filtrów oraz do typowania odcinków sieci do remontu i wymiany. Jest to ważne zważywszy na fakt, że o zanieczyszczeniu mikrobiologicznym decyduje jakość wody uzdatnionej oraz stan sieci wodociągowej [1,3,4,16].

## 2. Sposób wykonywania badań

### 2.1. Pobór próbek

W opracowaniu przedstawiono wyniki analiz cATP w wodzie w obrębie stacji uzdatniania oraz w wodzie dostarczanej odbiorcom. Na stacjach uzdatniania oznaczano wodę surową, wodę po poszczególnych procesach uzdatniania oraz wodę uzdatnioną wprowadzoną do sieci. W przypadku sieci wodociągowej wodę pobierano z punktów charakterystycznych sieci – zbiorniki, hydrofory oraz, co było najczęstsze, z punktów czerpalnych u odbiorców wody. W prezentowanym artykule jedynie w przypadku wodociągu w Bezedach podano dane odnoszące się do konkretnych punktów, w pozostałych przypadkach zrezygnowano z przedstawienia danych dla zachowania procedur poufności obowiązujących w laboratorium SGS. W części analizowanych wodociągów próbki były pobierane kilkakrotnie, co umożliwiło prześledzenie zachodzących zmian jakości wody.

Próbki wody do oznaczeń cATP pobierano do sterylnych butelek o pojemności 500 ml zawierających tiosiarczan sodu (w celu neutralizacji zawartego w wodzie chloru). Do osobnych pojemników pobierano wodę do konwencjonalnych oznaczeń mikrobiologicznych.

## 2.2. Pomiar komórkowego ATP (cATP)

Badania ATP przeprowadzono w terenie do 3 godzin od pobrania próbki wykorzystując gotowy zestaw QGA (Quench Gone Aqueous). Z butelki pobierano próbkę wody

o objętości 50 ml i filtrowano przez filtr strzykawkowy o średnicy porów 0,7µm, na którym zatrzymywane były żywe mikroorganizmy. Filtr z zatrzymanymi mikroorganizmami przemywano 1ml roztworu UltraLyse (zawierającym lizynę), w celu uwolnienia zawartości komórek, w tym ATP wewnątrzkomórkowego (cATP). Uzyskaną zawiesinę rozcieńczano dziesięciokrotnie przy użyciu roztworu UltraLute.

Pomiar cATP rozpoczynano od wyznaczenia aktywności używanej luminazy (kompleks lucyferyna-lucyferaza); aktywność ta bezpośrednio wpływa na późniejszy odczyt bioluminescencji, a więc na wynik. Pomiar aktywności luminazy polegał na zakropleniu próbki do luminometru dwoma kroplami luminazy oraz dwoma kroplami odczynnika kontrolnego UltraCheck. Zbadana na luminometrze mieszanina powinna dać wynik luminescencji >5000 RLU (Relative Light Unit), świadczący o prawidłowej kondycji luminazy. Znana wartość aktywności luminazy pozwala na przeliczenie wyniku z jednostek RLU na ilość ATP w mililitrze próbki.

Pomiar zawartości cATP w próbce wody przebiegał w analogiczny sposób: próbki do luminometru zakraplano dwoma kroplami luminazy, a następnie dodawano 100µl przefiltrowanej i rozcieńczonej próbki i odczytywano w ciągu kilkunastu sekund.

Odczyty bioluminescencji, uzyskiwane w jednostkach RLU, były ostatecznie przeliczane na zawartość cATP wyrażoną w pikogramach/mililitr za pomocą dostarczonego do zestawu arkusza kalkulacyjnego, proporcjonalnie do aktywności użytej luminazy oraz ilości przefiltrowanej próbki.

Przy założeniu, że 1pg ATP odpowiada 1000 komórek bakteryjnych [2, 11], można na podstawie uzyskanego wyniku oszacować liczbę występujących w badanej próbce drobnoustrojów. Należy wyraźnie zaznaczyć, że szacowana na podstawie ilości ATP liczebność drobnoustrojów jest znacznie większa od oznaczanej w klasycznych testach.

Dla oceny uzyskanych wyników cATP wykorzystano kryteria podane przez producenta testu (Tabela 1.).

Lp.	Wskaźnik	Jednostka	Wartość
1	Woda dobrej jakości	pg/ml	0,5
2	Woda wymagająca działań profilaktycznych	pg/ml	0,5 do 10,0
3	Woda złej jakości	pg/ml	powyżej 10,0

Tab. 1. Ocena jakości wody wodociągowej w odniesieniu do wewnątrzkomórkowego ATP (cATP) proponowana przez LuminUltra Technologies Ltd. (Canada).

Tab. 1. Evaluation of the quality of tap water in relation to intracellular ATP (cATP) proposed by LuminUltra Technologies Ltd. (Canada).

### 2.3. Oznaczanie ogólnej liczby mikroorganizmów

Pojemniki do klasycznych oznaczeń bakteriologicznych transportowano do laboratorium, a posiewy wykonywano najpóźniej do 12 godzin od pobrania. W próbkach dostarczonych do laboratorium analizowano ogólną liczbę mikroorganizmów rosnących w warunkach tlenowych wg normy PN-EN ISO 6222:2004. W przypadku spodziewanej znacznej ilości drobnoustrojów, próbki rozcieńczano dziesięcio- i stukrotnie.

Po 1ml próbki lub jej rozcieńczenia przenoszono na dwie szalki Petri'ego, zalewano agarem odżywczym z ekstraktem drożdżowym i inkubowano w temperaturze  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Wyrósłe kolonie zliczano po upływie  $68\pm 4$  godzin. Wyniki uzyskane z pary szalek uśredniano.

W badaniu przedstawionym w przykładzie 4. zastosowano podłoże wzbogacone R2A. Zawiera ono zdecydowanie więcej składników odżywczych od agaru referencyjnego, co umożliwi wzrost mikroorganizmom heterotroficznym o większych wymaganiach odżywczych.

### 2.4. Pozostałe analizy mikrobiologiczne

Oprócz wymienionych poprzednio analiz, we wszystkich próbkach oznaczano pozostałe wskaźniki mikrobiologiczne określone w załączniku nr 1 do rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 29.03.2007 w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (Dz.U. 2007, nr 61, poz. 417): liczba bakterii grupy coli, *Escherichia coli* i enterokoki kałowe.

### 3. Wyniki

#### 3.1. Analiza pracy stacji uzdatniania i wodociągu - przykład 1.

##### 3.1.1. Charakterystyka wodociągu

Analiza tego przypadku odnosi się do wodociągu wiejskiego, z którego korzysta około 250 mieszkańców. Stacja uzdatniania i wodociąg pochodzą z lat siedemdziesiątych XX w. Długość sieci wodociągowej wynosi 2,6 km, zaś dobową ilość dostarczanej wody - około 25,0m<sup>3</sup>/d, co daje 100 l/M\*d.

Wodociąg jest zasilany z ujęcia wód podziemnych. Dostarczana woda poddawana jest uzdatnianiu na stacji wyposażonej w konwencjonalne urządzenia służące do napowietrzania wody i usuwania dwutlenku węgla oraz filtry ciśnieniowe do usuwania żelaza i manganu. Woda nie jest poddawana procesowi dezynfekcji po procesie uzdatniania.

##### 3.1.2. Analiza jakości wody pod względem mikrobiologicznym

Próbki wody pobierano w przypadku tego wodociągu czterokrotnie w dniach 3.03, 14.03., 25.03. i 17.06.2011. W próbkach pobranych w dniu 3.03. stwierdzono wysokie wartości cATP zarówno w wodzie surowej jak i uzdatnionej - wartości cATP wody w zbiorniku wyrównawczym przekraczały 60 pg/ml. Wysokie wartości tego wskaźnika notowano we wszystkich analizowanych punktach poboru. Wahwały się one w granicach 7,6 pg/ml do 68,3 pg/ml. W wodzie uzdatnionej oraz w sieci wysoka była ogólna ilość bakterii uzyskana na agarze odżywczym z ekstraktem drożdżowym po inkubacji w temperaturze 22°C przez 72 h (wahania w granicach 133 – 301 jtk/ml) i w temperaturze 36°C (19 – 124 jtk/ml). Nie stwierdzono występowania enterokoków kałowych, bakterii grupy coli oraz Escherichii coli. Uzyskane wyniki wskazywały na konieczność podjęcia działań pozwalających na poprawę jakości wody dostarczanej klientom.

Miejsce poboru	cATP [pg/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Ogólna liczba w 36±2 °C po 48h [jtk/1ml]	cATP [pg/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Ogólna liczba w 36±2 °C po 48h [jtk/1ml]	cATP [pg/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Ogólna liczba w 36±2 °C po 48h [jtk/1ml]	cATP [p g/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Ogólna liczba w 36±2 °C po 48h [jtk/1ml]
Data		03.03.2011		14.03.2011		25.03.2011		17.06.2011				
Woda surowa	5,65	0	0	14,62	0	2,75	121	0	0,40	22	8	
Zbiornik wody czystej 1	68,57	224	52			68,16	>3000	56	29,06	5,0·10 <sup>3</sup>	21	
Zbiornik wody czystej 2	58,25	233	62	29,73	>300	100			25,83	2,1·10 <sup>3</sup>	4	
Sieć												
Punkt 1	51,36	279	124	37,43	256	36	>3000	54	39,77	9,674	2,7·10 <sup>3</sup>	0
Punkt 2	24,07	178	34				>3000	13	65,35			
Punkt 3	16,35	158	43				>3000	13	41,05			
Punkt 4	7,63	188	44				>3000	28	36,78			
Punkt 5	68,3	301	84	17,94	>300	152	>3000	40	44,75	23,19	1,2·10 <sup>3</sup>	6
Punkt 6	21,93	214	42				>3000	14	77,3	114	9,7·10 <sup>2</sup>	44
Punkt 7	7,58	133	19				>3000	6	60,07			
Punkt 8	9,68	239	34				182	26	8,51			

Tab. 2. Wyniki badań mikrobiologicznych próbek pobranych w stacji uzdatniania i z sieci wodociągowej – przykład 1.

Tab. 2. The results of microbiological testing of samples taken at water treatment plants and water mains - Example 1.

Podejmowane działania, polegające na poprawie sprawności filtra oraz dezynfekcji studni nie przyniosły jednak znaczących zmian. W kolejnej serii badań, z dnia 14.03, pobrano próbki wody surowej oraz wody w najsilniej zanieczyszczonych punktach sieci. Zanotowano niewielki spadek cATP w próbkach wody uzdatnionej oraz wody w sieci, wzrosła natomiast jego zawartość w wodzie surowej. We wszystkich próbkach poza ujęciem odnotowano wzrost ogólnej ilości bakterii rosnących w temp. 22°C oraz w części próbek - w 36°C. We wszystkich analizowanych próbkach nie stwierdzono występowania pozostałych analizowanych wskaźników mikrobiologicznych (enterokoki, grupa coli i *Escherichia coli*).

Próbki pobrane w okresie późniejszym potwierdzają utrzymywanie się, a nawet narastanie problemów uwidaczniających się w poziomie cATP oraz ogólnej ilości bakterii. Szczególnie niekorzystna sytuacja wystąpiła w dniu 25.03., kiedy to nastąpiła znacząca poprawa jakości wody na ujęciu, do pogorszenia jakości doszło natomiast w punktach zlokalizowanych na sieci. Sytuacja w ostatniej serii badań była nieco korzystniejsza.

Analizując wyniki uzyskane na sieci warto zauważyć, że są one dosyć zróżnicowane. Celowe wydaje się w tym przypadku przeanalizowanie problemu związanego z przyczyną tej sytuacji. Wydaje się, że można w przyszłości na tej podstawie wyznaczyć odcinki, które ze względu na konieczność utrzymania dobrej jakości wody należy wymienić.

## **3.2. Analiza pracy stacji uzdatniania wody i wodociągu – przykład 2.**

### **3.2.1. Charakterystyka wodociągu**

Przykład 2 odnosi się do sieci miejskiej. Wodociąg zasila miasto liczące około 24600 mieszkańców, długość sieci wynosi 62,3 km. Dobowo dostarcza on około 2086 m<sup>3</sup> wody. Jednostkowe zużycie wody wynosi więc 84,8 l/M·d.

Sieć zasilana jest z trzech studni, przy czym woda z pierwszych dwóch zasila ją bezpośrednio, bez żadnego uzdatniania. Woda z trzeciej studni jest poddawana procesowi uzdatniania polegającym na napowietrzaniu i odżelazianiu w odżelaziaczu ociekowym, a następnie przechodzi przez filtr pospieszny otwarty. Po tych procesach woda jest magazynowana w zbiornikach retencyjnych. W ostatniej fazie dozowania stosowany jest preparat SeaQuest, który ogranicza rozwój w sieci biofilmu. Woda nie jest poddawana procesowi dezynfekcji.

### **3.2.2. Analiza jakości wody pod względem mikrobiologicznym**

Również w tym przypadku woda była pobierana czterokrotnie – 26.09., 28.09., 01.10. i 27.10.2011. Pod względem ilości cATP jakość wody w analizowanym wodociągu była wyraźnie lepsza niż w przedstawionym poprzednio. W zdecydowanej większości punktów poboru wartości cATP nie przekraczały 10 pg/ml; nie występowała więc sytuacja, w której celowe byłoby podjęcie szybkich działań dla poprawy istniejącej sytuacji. Jedyne w punkcie 5. we wszystkich terminach zanotowano przekroczenie tej wartości. Występowanie takiego zjawiska wiązało się ze stosunkowo niewielkim wykorzystaniem

tego punktu. Również w części pozostałych punktów wartości cATP były stosunkowo wysokie i okresowo przekraczały wartość 7,0 pg/ml (punkty 7, 8, 12).

W analizowanych punktach wystąpiły stosunkowo wysokie wartości ogólnej liczby bakterii przy inkubacji w 22°C; najwyższe przekraczające 100 jtk/ml odnotowano w punkcie 2. Nie występowała korelacja pomiędzy zmierzonymi wartościami cATP a ogólną liczbą bakterii.

Wykonane analizy cATP wskazują na postępującą poprawę jakości wody w sieci w próbkach z kolejnych serii analiz. Wartość średnia dla wszystkich analizowanych punktów spadła znacząco z 4,62 do 3,40 pg/ml. Spadek ten może być efektem ograniczenia biofilmu w wyniku dozowania preparatu SeaQuist, częstszego płukania sieci (konieczność w przypadku stosowania tego preparatu) oraz wahań wartości cATP w wodzie uzdatnionej przed jej wprowadzaniem do sieci.

Podobnie jak w przypadku 1, w wodzie uzdatnionej nie stwierdzono obecności enterokoków, bakterii grupy coli oraz *Escherichii coli*.

### 3.3. Analiza pracy stacji uzdatniania i wodociągu w Bezledach

#### 3.3.1. Charakterystyka wodociągu

Bezledy położone są w gminie Bartoszyce w województwie warmińsko-mazurskim. Gminę tę należy zaliczyć do obszarów wiejskich o wysokim zwodociągowaniu. Zgodnie z danymi GUS w roku 2010 z wodociągu korzystało tu około 87 % mieszkańców. Gospodarstwom domowym dostarcza się rocznie około 0,8 dam<sup>3</sup> wody, co daje średnio 2190 m<sup>3</sup>/d. Średnie zużycie wody na 1 mieszkańca wynosi około 71,5 l/d, zaś na odbiorcę wody 81,6 l/d.



Miejsce poboru	cATP [pg/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Ogólna liczba w 36±2 °C po 48h [jtk/1ml]	cATP [pg/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Ogólna liczba w 36±2 °C po 48h [jtk/1ml]	cATP [pg/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Ogólna liczba w 36±2 °C po 48h [jtk/1ml]	cATP [pg/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Ogólna liczba w 36±2 °C po 48h [jtk/1ml]
Data		26.09.2011	28.09.2011		01.10.2011	27.10.2011						
Ujęcie 1	2,3	0	4	4,4	0	0	4,9	0	0	5,9	1	1
Ujęcie 2	2,0	96	218	5,3	6	>300	6,4	4	4	1,6	74	7
Ujęcie 3	7,7	1	4	9,0	2	1	7,6	1	1	25,1	5	0
Woda przed doz. SQ	3,5	10	0	2,3	2	2	5,1	2	0	3,8	12	0
Woda uzdatniona	2,4	5	9	1,9	1	3	4,0	3	1	5,0	7	2
Sieć												
Punkt 1	3,2	16	5	2,6	4	4	3,8	4	2	4,6	13	4
Punkt 2	1,6	104	73	2,5	140	56	3,3	90	54	1,3	215	69
Punkt 3	1,6	18	6	1,3	22	10	6,3	10	6	2,4	65	33
Punkt 4	3,5	5	1	2,5	6	0	2,8	5	0	1,7	4	2
Punkt 5	14,4	4	6	9,2	15	0	10,8	2	0	13,8	6	0
Punkt 6	3,6	12	6	3,7	14	7	6,3	1	2	1,5	8	8
Punkt 7	7,7	9	5	2,0	12	2	4,0	3	0	1,6	10	4
Punkt 8	3,8	8	6	2,3	8	8	2,1	0	4	2,9	6	2
Punkt 9	6,0	6	2	4,0	9	0	5,2	6	6	2,3	2	5
Punkt 10	5,3	4	4	2,0	5	2	4,6	0	1	2,1	4	5
Punkt 11	2,2	25	7	3,3	15	4	1,0	8	1	3,3	16	2
Punkt 12	4,1	168	144	4,8	152	66	8,7	106	56	5,7	>300	>300
Punkt 13	2,9	>300	>300	5,0	9	0	5,2	4	2	1,8	6	5
Punkt 14	4,8	66	20	4,4	92	14	8,2	66	7	2,6	205	18

Tab. 3. Wyniki badań mikrobiologicznych próbek pobranych w stacji uzdatniania i z sieci wodociągowej – przykład 2.

Tab. 3. The results of microbiological testing of samples taken at water treatment plants and water mains - Example 2.

Stacja uzdatniania wody w Bezledach została zmodernizowana w ostatnim dziesięcioleciu. Ujmowana woda podziemna należy do wód stosunkowo twardych, o wysokiej zawartości żelaza i manganu. W obiekcie pracują dwa równoległe ciągi technologiczne.

W trakcie procesu uzdatniania woda poddawana jest procesom napowietrzania, odżelaziania i odmanganiania. Po napowietrzeniu woda poddawana jest dwustopniowej filtracji, najpierw przez złożę piaskowe z dodatkiem prażonego dolomitu, powodującego podwyższenie odczynu wody (odżelaziacz), a następnie przez materiał filtracyjny z wkładką ze złoża katalitycznego G1 (odmanganiaz).

Wodociąg zasilany ze stacji uzdatniania wody w Bezledach obsługuje 31 miejscowości położonych w ich sąsiedztwie. W części z tych miejscowości pozostały jedynie nieliczne gospodarstwa. W ostatnich latach dokonano gruntownej modernizacji i rozbudowy sieci. W trakcie tych prac wyłączono z użytku część istniejących lokalnych stacji uzdatniania i hydroforni. Obecnie cały wodociąg jest zasilany z jednego ujęcia. Nowe ciągi wykonano głównie z PCV.

Całkowita długość sieci rozdzielczej analizowanego wodociągu wynosi 77,2 km, długość przyłączy - około 12 km, zaś ilość podłączonych gospodarstw jest równa 460. Ilość obsługiwanych mieszkańców to ponad 3000 osób. Roczny pobór wody z tego ujęcia wynosi około 160,8 dam<sup>3</sup>/rok (441 m<sup>3</sup>/d), zaś ilość wody dostarczana gospodarstwom jest równa 101,1 dam<sup>3</sup>/rok (277 m<sup>3</sup>/d). Jednostkowe dobowe zużycie wody wynosi około 92,3 l/M·d.

### 3.3.2. Zanieczyszczenie mikrobiologiczne wody

Zanieczyszczenie mikrobiologiczne wody w wodociągu Bezledy było stosunkowo niskie. Dobra była jakość wody ujmowanej - zawartość w niej cATP wyniosła 1,09 i 1,6 pg/ml. Niskie były również wyniki pozostałych wskaźników charakteryzujących ogólną ilość mikroorganizmów - liczba bakterii rosnących w 22 i 36°C wyniosły odpowiednio 4-23 jtk/ml i 1 jtk/ml. Po procesie uzdatniania nastąpił niewielki wzrost cATP (2,8 - 3,6 pg/ml). Jednocześnie nie stwierdzono wzrostu ogólnej ilości bakterii.

Zawartość cATP w wodzie pobranej z przyborów czerpalnych wahała się w granicach 1,46 - 4,89 pg/ml. Średnia zawartość cATP w próbkach pobranych w sieci wyniosła 2,71 pg/ml. Jednocześnie przeprowadzona wizja lokalna wykazała, że najwyższe wartości cATP wystąpiły na końcówkach, gdzie częściowo pozostała stara sieć, oraz w miejscach stosowania przez mieszkańców lokalnych filtrów umożliwiających zmiękczenie wody.

Miejsce poboru	cATP [p g/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Ogólna liczba w 36±2 °C po 48h [jtk/1ml]	Enterokoki [jtk/ml]	Grupa coli [jtk/ml]	Escherichia coli [jtk/ml]	cATP [p g/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Grupa coli [jtk/ml]	Escherichia coli [jtk/ml]
Woda surowa	1,099	23	3	0	0	0	1,6	4	0	0
Woda uzdatniona	2,801	4	1	0	0	0	3,6	4	0	0
Ścieć										
Spytajny	2,1	10	2	0	0	0				
Łojdy	1,64	5	3	0	0	0				
Dąbrowa	2,08	12	2	0	0	0				
Kiertyny Małe	1,63	19	2	0	0	0				
Kiertyny Wielkie	1,64	14	3	0	0	0				
Przejsie Gr.	2,123	11	2	0	0	0				
Molwity	1,908	8	2	0	0	0				
Piergozy	2,823	6	2	0	0	0				
Solino	4,751	>300	47	0	0	0				
Giornno	2,801	4	1	0	0	0				
Posłusze	2,663	6	2	0	0	0				
Bąsze	2,416	9	2	0	0	0				
Parkoszewo	3,287	4	1	0	0	0				
Żydowo	2,699	20	8	0	0	0				
Falczewo	3,178	23	6	0	0	0				
Dąbrowa Kolonia	4,876	138	6	0	0	0				
Bezledy (1)	1,458	10	1	0	0	0				
Kisity	3,254	24	2	0	0	0				
Lejdy	2,307	14	2	0	0	0				
Bezledy (2)	2,742	34	4	0	0	0				
Wola	2,296	11	6	0	0	0				
Bezledy (3)	3,406	11	1	0	0	0				
Bezledy (4)	4,331	9	2	0	0	0				
Bezledy (5)	2,742	8	4	0	0	0				

Tab. 4. Wyniki badań mikrobiologicznych prób pobranych w stacji uzdatniania i z sieci wodociągowej – Przykład 3 Bezledy.

Tab. 4. The results of microbiological testing of samples taken at water treatment plants and water mains – Bezledy.

Wartościom cATP powyżej 4,0 pg/ml towarzyszył wzrost ogólnej liczby bakterii. Przy inkubacji w temperaturze 22°C maksymalna wartość tego wskaźnika przekroczyła 300 jtk/ml (punkt Solno), jednak dla zdecydowanej większości analizowanych próbek była ona niższa od 20 jtk/ml. W przypadku inkubacji w temp. 36°C uzyskane wartości były jeszcze niższe; wartość maksymalna wyniosła 47 jtk/ml, zaś w pozostałych próbkach nie przekroczyła ona 10 jtk/ml.

W żadnej z analizowanych próbek nie stwierdzono obecności enterokoków, bakterii grupy coli oraz *Escherichia coli*.

## 3.4. Analiza pracy stacji uzdatniania i sieci wodociągowej – przykład 4.

### 3.4.1. Charakterystyka wodociągu

Analiza obejmuje wodociąg gminny dla około 3700 mieszkańców. Są do niego podłączeni mieszkańcy siedziby gminy i okolicznych wiosek. Łączna długość sieci wodociągowej wynosi 56,4 km, zaś przyłączy 8,3 km. Znaczna część sieci została w ostatnim okresie zmodernizowana. Nowe odcinki sieci zostały wykonane z PCV; część pozostała to wodociągi żeliwne sprzed II wojny światowej. Wodociąg dostarcza około 287 m<sup>3</sup> wody na dobę, co daje średnie jej zużycie na poziomie 77,6 l/M·d.

Wodociąg zasilany jest z 3 studni głębinowych. Przed wprowadzeniem do sieci woda poddawana jest procesom napowietrzania, odżelaziania i odmanganiania. Filtry płukane są wodą i powietrzem.

### 3.4.2. Analiza jakości wody pod względem mikrobiologicznym

W przypadku tego wodociągu zakres analiz mikrobiologicznych został dodatkowo zwiększony o analizę ogólnej liczby bakterii hodowanych na wzbogaconej pożywce R2A przy inkubacji w 22°C przez okres 7 dni; część próbek – dla porównania - dodatkowo inkubowano w temperaturze 30°C. Dało to dodatkowe możliwości oceny wody pod względem mikrobiologicznym.

Zawartość cATP w wodzie surowej ze studni była niska i wyniosła 0,4 pg/ml. Charakterystyczny jest wzrost tej wielkości po odżelazianiu do 9,3 pg/ml; cATP w wodzie odprowadzanej ze zbiornika wyrównawczego wyniosła 6,8 pg/ml.

Miejsce poboru	cATP [p g/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 72h [jtk/1ml]	Ogólna liczba w 36±2 °C po 48h [jtk/1ml]	Enterokoki [jtk/ml]	Grupa coli [jtk/ml]	Escherichia coli [jtk/ml]	Ogólna liczba w 22±2 °C po 7 dniach [jtk/1ml] Podłoże R2A	Ogólna liczba w 30±2 °C po 7 dniach [jtk/1ml] Podłoże R2A
Woda surowa	0,4	18	2	0	0	0	76	68
Odżelaziacz	9,3	2	2	0	0	0	72	61
Zbiornik wyr. wlot	8,6	2	2	0	0	0	68	96
Zbiornik wyr. wylot	6,8	30	4	0	0	0	145	102
Sieć								
Punkt 1	1,8	17	2	0	0	0	700	480
Punkt 2	2,3	16	1	0	0	0	220	150
Punkt 3	3,5	52	2	0	0	0	260	200
Punkt 4	2,5	20	4	0	0	0	291	167
Punkt 5	2,6	14	2	0	0	0	230	230
Punkt 6	4,8	84	2	0	0	0	162	155
Punkt 7	4,1	24	4	0	0	0	101	110
Punkt 8	3,1	19	2	0	0	0	80	58
Punkt 9	7,2	24	2	0	0	0	1800	640
Punkt 10	4,1	12	2	0	0	0	98	70
Punkt 11	5,6	13	5	0	0	0	201	140
Punkt 12	2,6	10	4	0	0	0	291	208
Punkt 13	5,9	12	3	0	0	0	120	90
Punkt 14	5,4	10	3	0	0	0	107	101
Punkt 15	4,5	13	2	0	0	0	92	94
Punkt 16	2,7	10	8	0	0	0	90	92
Punkt 17	3,2	12	4	0	0	0	134	100
Punkt 18	3,5	20	2	0	0	0	66	230
Punkt 19	4,3	34	0	0	0	0	2800	2800

Tab. 5. Wyniki badań mikrobiologicznych prób pobranych w stacji uzdatniania i z sieci wodociągowej – Przykład 4.

Tab. 5. The results of microbiological testing of samples taken at water treatment plants and water mains - Example 4.

Niższe wartości cATP uzyskano w punktach poboru zlokalizowanych na sieci wodociągowej. Wartości te wahały się w granicach 1,8 – 5,9 pg/ml, zaś wartość średnia dla całej analizowanej sieci wyniosła 3,8 pg/ml.

Ogólna ilość bakterii inkubowanych na podłożu referencyjnym w temp. 22°C wahała się od 10 do 87 jtk/ml, zaś w 36°C nie przekraczała 10. Zdecydowanie wyższe wyniki uzyskano dla podłoża wzbogaconego R2A. Wartość uzyskana dla wody surowej wyniosła 76 i 68 jtk/ml, Odnotować należy znaczący wzrost tego wskaźnika po procesie uzdatniania, gdy ogólna ilość drobnoustrojów wyniosła odpowiednio 145 i 102 jtk/ml.

Odnotować należy znaczące różnice wyników analiz ogólnej ilości bakterii wyhodowanych na podłożu R2A w poszczególnych punktach sieci. Dla inkubacji w 22°C najwyższa uzyskana wartość wyniosła 2800 jtk/ml i wystąpiła w rejonie zbiornika wyrównawczego; pozostałe wartości zawierały się w granicach 66-1800 jtk/ml. W przypadku inkubacji w 30°C wartość maksymalna była identyczna, mniejszy jednak był zakres wahań w pozostałych punktach – 92 – 640 jtk/ml.

W żadnej z analizowanych próbek nie wystąpiły bakterie grupy coli, enterokoki kałowe i *Escherichia coli*.

## 4. Dyskusja

Wykonane analizy mikrobiologiczne wody wykazały, że większość próbek spełnia wymagania zawarte w rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dnia 29.03.2007 w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (Dz.U. 2007, nr 61, poz. 417) [9, 10]. W wodzie w żadnym z analizowanych punktów nie wystąpiło przekroczenie zawartości enterokoków, bakterii grupy coli i *Escherichia coli*. Wątpliwości w stosunku do wymagań z cyt. rozporządzenia pod tym względem wzbudza jedynie ogólna ilość bakterii w temperaturze 22°C. Wartości te w wielu próbkach były podwyższone. Taka sytuacja wystąpiła między innymi we wszystkich punktach analizowanym w przykładzie 1, w punktach 2, 12, 13, 14 w przykładzie 2 oraz w punktach Solno i Dąbrowa w wodociągu w Bezedach (przykład 3).

Przyjmując kryteria podane przez producenta testu ATP [2] w żadnej z analizowanych próbek nie uzyskano wyniku kwalifikującego wodę jako dobrej jakości, zaś część z nich można zaliczyć do kategorii wód, w których koniecznie powinno podjąć się szybkie działania zmierzające do poprawy istniejącej sytuacji (zdecydowana większość punktów poboru w przykładzie 1 oraz próbka pobrana w punkcie 5 w przykładzie 2). Dodatkowo, uzyskane wartości cATP są zdecydowanie gorsze od porównywalnych uzyskiwanych w innych państwach, gdzie metodę oznaczania ATP zaczęto stosować wcześniej w stosunkowo znacznym zakresie [6, 12].

Odpowiedź na pytanie, dlaczego tak się dzieje, jest skomplikowana. Wydaje się, że można tu wymienić trzy główne powody: problemy z eksploatacją ujęcia i stacji uzdatniania wody, biofilm rozwijający się w sieci wodociągowej oraz niechęć do stosowania dezynfekcji wody wprowadzanej do sieci. Warto przyrzeć się tym trzem zagadnieniom i w tym kontekście przeanalizować uzyskane wyniki.

Eksploatacja ujęcia i stacji uzdatniania jest jednym z podstawowych czynników wpływających na jakość wody w sieci. W analizowanych przykładach zachodzą dwa czynniki.

Z jednej strony jest to znaczne zanieczyszczenie wody ujmowanej. Taka sytuacja ma miejsce między innymi w przypadku 2, gdzie cATP wody poddawanej uzdatnianiu było stosunkowo wysokie i wahało się w granicach 7,6 – 25,1 pg/ml, zaś stosowane urządzenia uzdatniające pozwoliły na wyraźne ograniczenie jego zawartości do 2,4 – 5,0 pg/ml. Wartość ta jest jednak wciąż wyższa od norm zalecanych przez producenta testu dla wody dobrej jakości.

Zgoła odmiennie sytuacja przedstawia się w przypadku trzech pozostałych wodociągów, gdzie w wyniku uzdatniania doszło do wyraźnego wzrostu cATP w wodzie. W mniejszym stopniu dotknęło to wodociągu w Bezledach, zdecydowanie najsilniej wodociągu przedstawionego w przykładzie 1. Ten przypadek wymaga jak się wydaje szczegółowej analizy.

Uzyskane w pierwszej serii poborów wyniki wskazywały na złą jakość wody pod względem mikrobiologicznym. Wysokie były nie tylko wartości cATP, ale również ogólna liczba bakterii w 22°C i 36°C. Podjęto działania polegające na wyczyszczeniu i dezynfekcji ujęcia oraz wyposażenia stacji uzdatniania. Te działania doprowadziły do wyraźnego obniżenia wartości cATP wody ujmowanej, nie przełożyło się to jednak na poprawę jakości wody dostarczanej mieszkańcom. Wartość cATP oraz ogólna ilość bakterii w 22 i 36°C wyraźnie wzrosły.

Przedstawione dane potwierdzają coraz częściej prezentowane poglądy, że w procesach uzdatniania wody zachodzących na filtrach przeznaczonych do odżelaziania i odmanganiania znaczącą rolę odgrywa błona biologiczna [1, 5]. Z tego względu konieczne jest przestrzeganie odpowiednich zasad prowadzenia dezynfekcji urządzeń na ujęciu (dezynfekcja wody przed filtracją). Stosowanie bardzo wysokich dawek związków dezynfekujących powoduje ograniczenie zawartości cATP na ujęciu, jednak oddziałuje jednocześnie niekorzystnie na błonę biologiczną zasiedlającą złożę [13]. W efekcie dochodzi do obumarcia mikroorganizmów zasiedlających złożę, a ich martwe pozostałości, przedostając się do sieci, służą za pożywkę dla bytujących tam mikroorganizmów, co prowadzi do wtórnego zanieczyszczenia wody. Z tego względu prowadząc dezynfekcję wody na ujęciu konieczne jest stosowanie takich dawek chloru, aby nie wpływały one na zjawiska zachodzące w procesie filtracji [13]. Zalecane jest także spuszczenie wody z wysoką zawartością środka dezynfekującego do kanalizacji przed filtrami. W innym przypadku należy się liczyć z długotrwałymi, trwającymi tygodnie, perturbacjami w pracy filtrów.

Drugim czynnikiem dotyczącym stacji uzdatniania jest przestrzeganie odpowiednich zasad prowadzenia procesu filtracji oraz płukania filtrów. Dla uzyskania odpowiednich rezultatów odżelaziania i odmanganiania celowe jest wydłużanie procesu filtracji. Najlepsze wyniki w zakresie usuwania tych związków uzyskiwane są bowiem w końcowej fazie cyklu. Ważne jest więc w tych warunkach przestrzeganie zasady, że o wyłączeniu filtru z eksploatacji decyduje wysokość strat hydraulicznych [1, 13].

Do procesu filtracji odnosi się również sprawa zapewnienia spustu pierwszego filtratu do kanalizacji. Wyniki pracy Albratsena wskazują na konieczność przestrzegania prawie 40 min. czasu spuszczenia wody po filtracji poza sieć. W tym okresie dochodzi do ustabilizowania pracy złoża oraz do odprowadzenia błony biologicznej, która w wyniku płukania oderwała się od niego. Wydaje się, że szczególnie wyraźnie zjawisko to będzie zachodziło w przypadku prowadzenia płukania przy użyciu wody i powietrza. Nieprzestrzeganie tych zasad prowadzi do wzrostu cATP w wodzie przefiltrowanej i utrzymywanie się podwyższonej jego zawartości w wodzie w sieci wodociągowej.

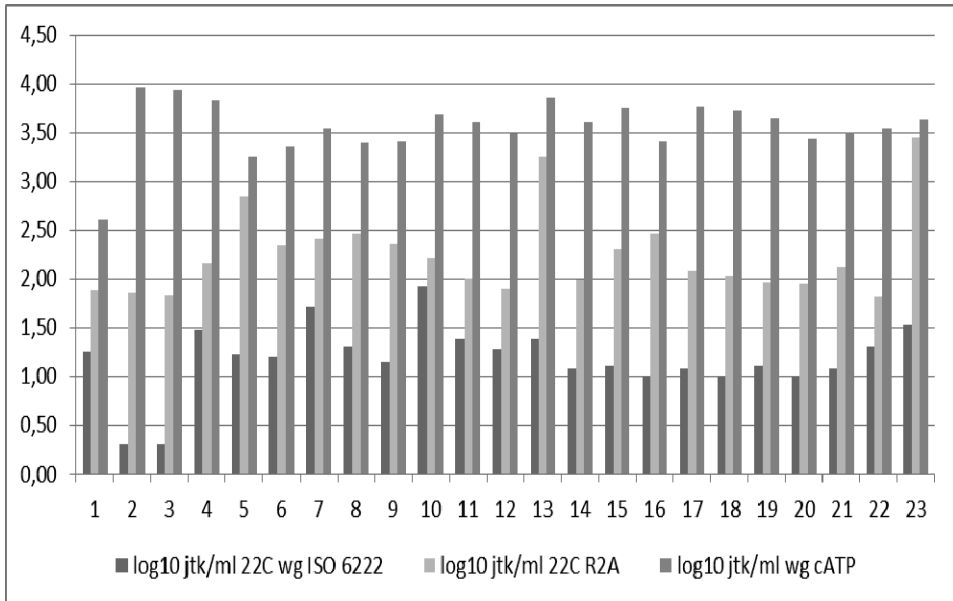
Wprowadzone do sieci zanieczyszczenia mogą stanowić substrat dla rozwoju biofilmu w sieci. Należy jednocześnie zauważyć, że stosunkowo dobre rezultaty dla ograniczenia stężenia cATP daje dezynfekcja wody przy użyciu związków chloru. Dezynfekcja wody wzbudza szereg zastrzeżeń, nie jest również mile widziana przez konsumentów. Wydaje się jednak, że należy rozważyć możliwość jej prowadzenia w różnych układach – dezynfekcja na stacji uzdatniania, dezynfekcja lokalna dla fragmentów sieci itp.

W doświadczeniach francuskich wodę pobieraną bezpośrednio z sieci wodociągowej określano jako wodę do picia (drinking water), zaś wodę na terenie nieruchomości jako wodę sanitarną – (sanitary water) [2]. Analizując uzyskane wartości z prezentowanych wodociągów wydaje się, że takie rozróżnienie jest celowe. Najczęściej bowiem wysokie wartości cATP występują na końcówkach sieci, w punktach czerpalnych rzadko wykorzystywanych. Wydaje się, że rozróżnienie na punkty sieciowe i punkty zlokalizowane na końcówkach u konsumentów powinno wystąpić również w programie monitoringu sieci wodociągowej prowadzonym zgodnie z rozporządzeniem Ministra Zdrowia z dnia 29.03.2007 w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (Dz.U. 2007, nr 61, poz. 417) [9, 10]. O jakości wody w punktach czerpalnych w przypadku niewielkich wodociągów decydują czynniki niezależne od przedsiębiorstwa dostarczającego wodę: stan instalacji wewnętrznych, zastosowanie różnego typu filtrów lokalnych, które wpływają nie tylko na wodę w posesji ich właściciela, ale także sąsiadów.

Zwiększenie zakresu analiz o badania na podłożu wzbogaconym R2A pozwalają na wyciągnięcie szeregu dodatkowych wniosków [3, 8, 11]. Z zestawienia przedstawionego w Tabeli 5. wynika, że ogólna ilość bakterii oznaczana na klasycznym podłożu w temperaturze 22°C lub 36°C jest znacznie niższa od wyznaczonej na podstawie wartości cATP. Bardziej zbliżone wyniki uzyskano w przypadku wykorzystania wzbogaconego w składniki odżywcze podłoża R2A. Pokazuje to, że im bogatsze podłoże stosowane do izolacji, tym bardziej uzyskane wyniki zbliżają się do hipotetycznych wartości wynikających z ilości wykrytego cATP. Tak więc, wysokie potencjalne ilości mikroorganizmów obliczone na podstawie cATP, są prawdopodobne, co potwierdzają także doświadczenia z użyciem cytometru przepływowego [3, 8, 11].

Zlogarytmowane wartości liczby drobnoustrojów uzyskane z przeliczenia cATP oraz wyhodowane na agarach R2A i wg ISO 6222 przedstawia Tabeli 6. Widać wyraźnie, że zastosowanie bogatszego podłoża wpływa na ilość wykrytych mikroorganizmów.





Tab. 6. *Stosunek liczby mikroorganizmów wykrytych na podstawie testu ATP, na agarze wg ISO 6222 oraz agarze R2A. W celu lepszej wizualizacji, wyniki przedstawiono w postaci log<sub>10</sub>.*

Tab. 6. *The ratio of micro-organisms detected on the basis of the ATP test, agar by ISO 6222 and R2A agar. In order to better visualize the results are presented as log<sub>10</sub>.*

Należy zauważyć, że oba typy podłoża – agar wg ISO 6222 oraz R2A – są wykorzystywane do oznaczania bakterii heterotroficznych, zaś w błonie biologicznej rozwijającej się na złożu odżelaziacza dominować będą bakterie autotroficzne – nityfikacyjne, manganowe i żelaziste, stąd niskie często wyniki wzrostu na agarach w stosunku do cATP (relacje zawarte w Tabeli 6) [5].

Wysokie relacje agaru R2A do cATP uzyskano jednak dla części wyników w przykładzie wodociągu 4. Wystąpiły one w zbiorniku wyrównawczym oraz na ciągu zasilanym z tego zbiornika. Wydaje się, że retencja wody w warunkach tlenowych może być przyczyną przewagi w wodzie tlenowych bakterii heterotroficznych. Zbiornik ten został wybudowany w latach trzydziestych XX wieku i przez szereg lat nie był modernizowany.

Wartości uzyskane na sieci wskazują na zróżnicowane zanieczyszczenie mikrobiologiczne wody wodociągowej. W punktach, gdzie występują wartości cATP znacząco odbiegające powinny być przeprowadzone dodatkowe analizy mikrobiologiczne. W przypadku potwierdzenia się takiej sytuacji należy dążyć do wytypowania tych odcinków do częstego płukania bądź do wymiany w ramach remontów.

## Bibliografia

- [1] Albrechtsen, H.J. *et al.* Application of measurement of ATP for process and quality control in drinking water. *Nordisk Drikkevandskonference, Copenhagen, June 7-9, 2010*
- [2] Aqua-tools. Monitoring of microbial contamination using ATP-metry technology. Script
- [3] Deininger, R.A., Lee, J. Rapid determination of bacteria in drinking water using an ATP assay. *Field Analytical Chemistry and Technology*, 2001, 5 (4), 185-189
- [4] Delahaye, E. *et al.* An ATP-based method for monitoring the microbiological drinking water quality an distribution network. *Water research*, 2003, 37, 3689-3696
- [5] Kowal, A.L., Świdarska-Bróz, M. *Oczyszczanie wody. Podstawy teoretyczne i technologiczne, procesy i urządzenia.* PWN, Warszawa, 2009
- [6] Ochromowicz, K., Hoestra, E.J. ATP as an indicator of microbiological activity in tap water. *European Commission Directorate – General Joint Research Centre*, 2005
- [7] Odom, R., Rotert, K. System indicators of drinking water quality. Environmental Protection Agency, 2006
- [8] Oliver, J.D. The Viable But Nonculturable State in Bacteria. *The Journal of Microbiology*, February 2005, 93-100
- [9] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29.03.2007 w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Dz.U. 2007.61.417
- [10] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 20.03.2010 zmieniające rozporządzenie w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Dz.U. 2010.72.466
- [11] Siebel, E., Wang, Y., Egli, T., Hammes, F. Correlation between total cell concentration, total adenosine tri-phosphate concentration and heterotrophic plate counts during microbial of drinking water. *Drinking Water Engineering and Science*, 2008, 1, 1-6
- [12] Tworko, M., Markucińska, A., Węgrzynek, A. Zastosowanie bioluminescencyjnego pomiaru ATP do oceny poziomu higieny w gospodarstwach domowych. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2007, 5 (55), 392-399
- [13] Weber, Ł. Metody naturalnego wypracowania złóż filtracyjnych do usuwania manganu w kontekście badań pilotowych i technicznych. *Technologia Wody*, 5/2010
- [14] Wiera, B., Pistelok, F., Stuczyński T., Piotelon, J-B. Suivi de la qualité biologique de l'eau dans réseaux de distribution: Études de 4 communes en Pologne. Script, 2011
- [15] Young, J.L., Deininger, R.A. Rapid quantification of viable bacteria in water using an ATP assay. *American Laboratory News*, 2001, vol. 33, issue 21, 24-26
- [16] Yu, J., Kim, D., Lee, T. Microbial diversity in biofilms on water distribution pipes of different materials. *Water Science and Technology*, 2010, 61.1, 163-171