

Zachovanie kvality vody modelového chladiaceho systému

Maintenance of Water Quality in the Model Cooling System

RNDr. Jana Júdová, PhD.; prof. RNDr. Mariana Pajtášová, PhD.; Bc. Marika Činčurová

Trenčianska univerzita Alexandra Dubčeka v Trenčíne, Fakulta priemyselných technológií v Púchove, I. Krasku 491/30, 020 01 Púchov, Slovenská republika

*Práca sa zaoberá štúdiom vzoriek vody a povrchu materiálov z modelového chladiaceho systému určeného na chladenie výrobkov z polymérnych materiálov. Vo vzorkách vody z rôznych miest chladiaceho systému boli stanovené vybrané parametre, ako teplota, pH, fosforečnany, dusičnany, dusitany, tvrdosť a kyslík, a prostredníctvom kvalitatívnej analýzy MALDI-TOF boli identifikované niektoré mikroorganizmy, rody ako *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus* a iné. Z výsledných zistení vyplýva, že na zníženie množstva mikroorganizmov by bolo potrebné častejšie čistenie linky, kontrola vodného zdroja, či zmena chladiaceho systému na ponorný princíp. Pre zabezpečenie kvalitnej chladiacej vody, bez nežiadúcich mikroorganizmov, rias, je potrebné tiež zredukovanie podmienok na tvorbu biofilmov na komponentoch chladiaceho zariadenia, prípadne fluorescenčné merania.*

Kľúčové slová: mikroorganizmus; analýza vody; chladenie; gumárenstvo; biofilm

*The main aim of this work was to search conditions for the maintenance of water in the model cooling system. According to findings of chemism and microbiology of water samples from cooling device it is possible to suggest potential ways for maintaining the quality of cooling water without undesirable microorganism, algae, as well as for restriction of the conditions supporting formation of biofilms on the cooling components. Numbers of methods were used to achieve these objectives. Firstly, water analysis was performed by using the compact laboratory AQUAMERCK, commonly used for the determination of selected parameters, such as temperature, pH, phosphates, nitrates, nitrites, water hardness and oxygen. According to this analysis, it was found that pH, temperature, water hardness and oxygen are changing by topping up the cooling water, also by the presence of decomposing organic matter from the microorganism in water. High concentration of phosphates, nitrates, abrasive surfaces, planktonic bacteria present in the water resources, appropriate temperature, these are convenient conditions for the formation of biofilms. The qualitative analysis MALDI-TOF then showed occurrence of microorganisms of the genera, such as *Aeromonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*. On the basis of these findings, it is possible to assume several possible ways reducing the amount of microorganisms in the cooling system. It could be frequent cleaning of the line, control of the water resource or change the cooling system to the submersible one. However, reduction in planktonic bacteria does not necessarily indicate a reduction in bacteria at surfaces in a cooling system. In many species, the microbial population in a biofilm coordinates its behaviour by producing diffusible chemical signals, through which the behaviour of individuals in the population is synchronised. Also, the presence of cyanobacteria in water sources is an increasing problem faced by water supply managers. Consequently, nowadays it is also necessary to implement a reliable monitoring and treatment strategy, according to the applicability of in situ fluorescence measurements of organic biomass, such as cyanobacteria.*

Key words: microorganism; water analyses; cooling; rubber industry; biofilms

Chemický priemysel je jedným z najväčších spotrebiteľov vody, pričom až 70 % vody sa spotrebuje na chladenie. Chladiaca voda nesmie spôsobiť zvýšenú koróziu konštrukčných materiálov, vznik nánosov anorganických solí vylučovaných z vody a usadzovanie mechanických a biologických nečistôt, čím dochádza k zhoršeniu prestupu tepla a skráteniu životnosti zariadení. Tvorba a zloženie nánosov závisí od teploty a zloženia vody. Požiadavky na kvalitu chladiacej vody závisia od druhu cirkulačného okruhu. 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. 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 (KTJ), až po niekoľko centimetrov hrubé vrstvy v biologických čistiarňach odpadových vôd a na mokrych povrchoch chladiacich veží. S prítomnosťou biofilmu v potrubíach vodovodnej siete úzko súvisí problém kvality pitnej vody [1]. Medzi baktérie dobre prispôbené na pôdne a vodné prostredia patria napr. rody *Bacillus* a *Pseudo-*

monas (e.g., *P. aeruginosa*). Z ostatných skupín sú to najmä Enterobacteriaceae, *Flavobacterium*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, *Aeromonas*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* and anaerobic bacteria (e.g., *Clostridium*) [2, 3]. A tieto sú aj často súčasťou biofilmov. Prakticky akýkoľvek povrch ponorený vo vodnom prostredí po určitej dobe pokryjú mikroorganizmy. Vodné prostredie poskytuje rad možností, kde sa môžu uchytiť a vyvíjať. Hrajú dôležitú úlohu tiež v prevádzkach čističiek odpadových vôd rozvodoch pitnej vody alebo chladiacich okruhov elektrární. Na jednej strane tu spôsobujú mnohé problémy, lebo znečisťujú a prípadne korodujú povrchy, a môžu byť zdrojom niektorých infekcií, na druhej strane má metabolická aktivita biofilmov nezastupiteľné miesto v procese riečného samočistenia alebo pri úprave odpadových vôd v konvenčných a alternatívnych čistiarnach alebo v procesoch bioremediácie (využitie mikrobiálneho metabolizmu na odstraňovanie polutantov z vody alebo pôdy). V potrubí rozvinutý biofilm spôsobuje turbulenciu pretekajúcej kvapaliny a obmedzuje priesvit, v priemyselných výmenníkoch tepla tvorí tepelnú izolačnú vrstvu a znižuje ich účinnosť [4].

Redukcia planktónnych (voľne plávajúcich, nezachytených) baktérií nemusí automaticky indikovať redukciu baktérií na stenách chladiacich systémov. Preto je potrebné pravidelne týždenne kontrolovať chladiace systémy, sledovať atypické sfarbenie a konzistenciu na povrchoch a pod. [5].

Taktiež kontrola kvality pitnej vody v distribučných systémoch je nevyhnutná aj z hľadiska možnej prítomnosti širokej škály mikroorganizmov, ako baktérie, prvoky, huby. *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Corynebacterium*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Citrobacter*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Moraxella*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Staphylococcus*, *Mycobacterium*, *Sphingomonas* boli detegované ako jedny z najdominantnejších [6, 7].

Mikrobiálna populácia v biofilmoch si koordinuje dynamiku tvorby biofilmu prostredníctvom difúzných chemických signálov, ktorých koncentrácia vplyva na jednotlivých členov populácií [8].

Monitoring prítomnosti cyanobaktérií, ktoré sú častým členom biofilmov, ako aj planktonických spoločenstiev vo vodných zdrojoch alebo chladiacich systémoch prináša komplexnejšiu informáciu o prítomnej biomase [9].

Metodika

Analýzou vzoriek vody s použitím kompaktného laboratória AQUAMERCK boli stanovené základné fyzikálno-chemické ukazovatele, ako teplota, pH, NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-} , tvrdosť a kyslík. Pre mikrobiologický rozbor vody bola použitá kultivácia na TSA (Trypton Soya Agar) agarových pôdach, 24 hodín pri laboratórnej teplote. Kvalitatívna analýza mikroorganizmov nachádzajúcich sa vo vzorkách bola uskutočnená prostredníctvom hmotnostnej spektrometrie MALDI-

TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization, Time-of-Flight).

Použitím BIOLOG (BIOTECH, a.s.) platní bola zistená fyziologická úroveň spoločenstiev mikroorganizmov CLPP (CLPP–Community Level Physiological Profiles) [10]. Mikroskopicky (VEGA3 TESCAN) bola analyzovaná morfológia prítomných mikroorganizmov.

Výsledky

Vzorky vody boli odobrané z troch miest: z vlnášacieho dopravníka (A1), z trysiek (A2) a z nádrže, v ktorej bola koncová voda (A3). Referenčné vzorky Aref.1 a Aref.2 boli odobrané z dvoch rôznych zdrojov vody–privádzanej do chladiaceho systému. Teplota vody pri odbere sa pohybovala v rozmedzí 16,5 až 21 °C. Jej hodnoty záviseli od množstva vody, ktoré bolo zo systému odpustené a následne opäť napustené. Množstvo dusičnanov bolo vo všetkých vzorkách nemenné, a to $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Množstvo fosforečnanov bolo $0,25 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (tab. 1 a 2).

Tab.1 Porovnanie jednotlivých parametrov referenčných vzoriek vôd z dvoch sezónnych odberov, jeseň-Aref.1, jar-Aref.2

Tab.1 Comparison of parameters of the references water samples from two season samplings, autumn-Aref.1, spring-Aref.2

	Aref.1	Aref.2
Teplota (°C)	18	12
pH	7,5	7
NO_3^- ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	10	10
NO_2^- ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	> 0,5	< 0,5
PO_4^{3-} ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	0,25	0,25
Tvrdosť ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	290	200
(°d)	16	11
Kyslík ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	8,4	9,7

Tab.2 Porovnanie jednotlivých parametrov referenčnej vody so vzorkami zo všetkých troch odberných miest

Tab. 2 Comparison of parameters of the references water sample with the samples from all three places of sampling

	Aref.1	Priemerné hodnoty vzoriek zo všetkých meraní		
		A1	A2	A3
Teplota (°C)	18	18,8	18,6	18,5
pH	7,5	6,6	6,8	6,8
NO_3^- ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	10	10	10	10
NO_2^- ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	> 0,5	> 0,5	> 0,5	> 0,5
PO_4^{3-} ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	0,25	0,25	0,25	0,25
Tvrdosť ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	290	280,7	296,8	320
Kyslík ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	8,4	6,3	7,1	6,9

Množstvo dusitanov nachádzajúcich sa vo vode presahovalo hodnotu $0,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Ďalším z hodnotených parametrov bolo pH. Vzorky vody boli vyhodnotené ako značne až veľmi tvrdé. Množstvo rozpusteného kyslíka bolo v rozmedzí 4,6 až $10 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Bežné množstvo

rozpusteného kyslíka vo vode sa pohybuje medzi 6 a 14 mg·l⁻¹ [11]. Fyzikálne faktory, určujúce a ovplyvňujúce rozpúšťanie kyslíka sú teplota, tlak a salinita. Kyslík sa do vody dostáva z ovzdušia fyto-autotrofných organizmov. Z vody je kyslík odčerpávaný živočíchmi a rastlinami pri dýchaní, baktériami pri rozklade (mineralizácii) organickej hmoty, zvýšením teploty a znížením tlaku.

MALDI-TOF analýza

Hmotnostná spektroskopia MADI-TOF priniesla identifikáciu niektorých bakteriálnych kmeňov, získaných kultiváciou 100 µl vodných vzoriek na TSA médiu pri laboratórnej teplote 24 hodín [11]. Boli identifikované kmene ako *Acinetobacter junii*, *Aeromonas hydrophila*, *Lysinibacillus fusiformis*, *Bacillus pumilus*, vyskytujúce sa zvyčajne vo vodných a pôdnych prostrediach a v prostrediach odpadových vôd. Je teda predpoklad, že sa do chladiaceho zariadenia dostali z vodného zdroja a sčasti aj z prostredia prevádzky pri zvýšenej teplote sa tak vytvorili podmienky pre ich množenie (tab. 3a, 3b). Väčšina izolovaných kmeňov patrí medzi spórotvorné, a teda odolné voči nepriaznivým podmienkam, často aj chemikáliám dezinfekčného procesu a pod. Preto je potrebné hľadať účinné spôsoby na zabránenie množenia planktónnych mikroorganizmov ako aj tvorby biofilmov

Tab. 3a Identifikácia kmeňov pomocou MALDI-TOF analýzy (Bruker Daltonik Biotyper Microflex LT, UMB, Banská Bystrica, ITMS 26210120024), jeseň

Tab. 3a Identification of strains with the use of MALDI-TOF analysis (Bruker Daltonik Biotyper Microflex LT, UMB, Banská Bystrica, ITMS 26210120024), autumn

Analyte ID	Organism (best match)	Score Value
A1-1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2.435
A2-1	<i>Comamonas testosteroni</i>	2.103
AK1-2	<i>Aeromonas veronii</i>	1.913
Aref.2	<i>Bacillus altitudinis</i>	1.969
A2-2	<i>Comamonas testosteroni</i>	2.046
A1-1'	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2.164
A2-2'	<i>Sphingobacterium mizutaii</i>	2.101
AK1-3	<i>Aeromonas eucrenophila</i>	1.967
Aref.2'	<i>Bacillus pumilus</i>	1.753
A2-4	<i>Comamonas testosteroni</i>	2.214

Biolog analýza

Do jamiek BIOLOG platní bolo nanosené 100 µl vzoriek a inkubovali sa za aeróbných podmienok, a to v tme a pri laboratórnej teplote. Po vyhodnotení bola na fyziologickej úrovni spoločenstva (CLPP-Community Level Physiological Profiles) zistená rozdielna schopnosť mikroorganizmov metabolizovať dostupné substráty (rozdielna intenzita sfarbenia). Najvyššiu meta-

bolickú aktivitu vykazovali mikrobiálne spoločenstvá, zastúpené vo vzorkách z častí chladiaceho zariadenia s malým prúdením alebo so stenami, tvoriacimi kryt zariadenia.

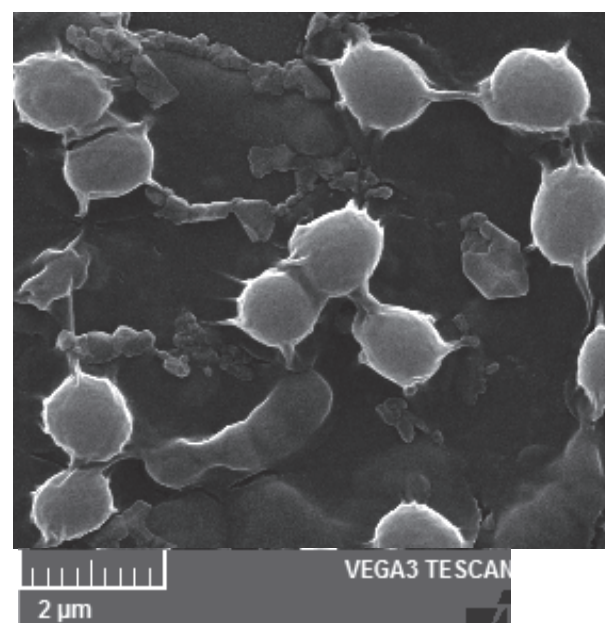
Tab. 3b Identifikácia kmeňov pomocou MALDI-TOF analýzy (Bruker Daltonik Biotyper Microflex LT, UMB, Banská Bystrica, ITMS 26210120024), jar

Tab. 3b Identification of strains with the use of MALDI-TOF analysis (Bruker Daltonik Biotyper Microflex LT, UMB, Banská Bystrica, ITMS 26210120024), springtime

Analyte ID	Organism (best match)	Score Value
A3-1	<i>Sphingobacterium multivorum</i>	1.721
A2-3	<i>Acinetobacter junii</i>	2.022
A2-22	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2.253
A2-SP1	<i>Acinetobacter johnsonii</i>	1.915
A3-2	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	2.105
A4-SP1	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	2.207
A2-SG2	<i>Acinetobacter junii</i>	2.055
A4-KV2	<i>Lysinibacillus fusiformis</i>	1.864
A1-SV	<i>Comamonas testosteroni</i>	1.839

Mikroskopická analýza

Z mikroskopickej analýzy (SEM VEGA3 TESCAN) je zrejmé, že vo vzorkách sú zmesné kultúry mikroorganizmov, vytvárajúce predpoklady ku vzniku biofilmov (obr. 1).



Obr. 1 Mikroflóra vzorky A3-2 pod mikroskopom, SEM HV: 20,0 kV, Zorné pole 13,8 µm, SEM MAG: 10,0 kx

Fig. 1 Microflora of the sample A3-2, SEM HV: 20.0 kV, View field 13.8 µm, SEM MAG: 10.0 kx

Vznik, vývoj a stabilizácia biofilmu prebiehajú v niekoľkých následných krokoch: najprv sa na pevný povrch ponorený do vodného prostredia adsorbujú organické molekuly, nasleduje transport mikrobiálnych

buniek k pevnému povrchu, zachytenie mikroorganizmov (v prvej fáze predovšetkým baktérií) na povrchu, replikácia buniek a produkcia extracelulárnej matrice, vývoj biofilmu na pevnom povrchu, odtrhávajúce a disperzia buniek z biofilmu späť do kvapaliny. Po prichytení na vhodnom povrchu sa bunky začínajú deliť, zhluokovať a produkujú primárny biofilm, na ktorý sa môžu prichytávať ďalšie bunky tzv. sekundárneho biofilmu. Drsné povrchy, materiály s poréznu štruktúrou alebo prostredie bohaté na živiny obvykle pozitívne ovplyvňuje utváranie biofilmu. K tomu môže v zásade dochádzať na akomkoľvek rozhraní dvoch fáz, teda na rozhraní pevnej a plynnej, pevnej a kvapalnej (napr. potrubia, katétre a kĺbové implantáty) i kvapalnej a plynnej fázy (napr. povlaky na hladine znečistených stojatých vôd). Iniciálne fázy tvorby biofilmu trvajú pomerne krátko. Molekulárny film sa vytvorí v priebehu minút, a bakteriálne osídlenie v priebehu 24 hodín. Spomalenie rastu je dané obmedzením transportu substrátu do hlbších vrstiev biofilmu a zvýšením vplyvu odumierania a rozkladu buniek v staršom biofilme [4]. Povrchy predmetov sú heterogénne a pri bakteriálnej kolonizácii nastáva priestorová kompetícia o priaznivé mikromiesta (mikrolokalita). Po bakteriálnej kolonizácii nastupuje adhérenca väčších organizmov, ako améb, flagelát, ciliát. Prichytávanie týchto organizmov trvá už dni [4]. Akumulácia mikroorganizmov na povrchu podkladu zvyšuje biodegradačný potenciál mikróbov voči stopovým množstvám organických kontaminantov. Vysvetľuje sa to zlepšením podmienok pre využitie živín na medzifázovom rozhraní kvapalina-tuhá fáza.

Ako teda vyplýva aj zo zistených chemických a mikrobiologických parametrov, na zníženie množstva mikroorganizmov je potrebné častejšie čistenie linky, kontrola vodného zdroja, či zmena chladiaceho systému na ponorný. Pre zabezpečenie kvalitnej chladiacej vody, bez nežiadúcich mikroorganizmov, rias, je potrebné tiež zredukovať podmienok na tvorbu biofilmov na komponentoch chladiaceho zariadenia, prípadne fluorescenčné merania organickej biomasy, ako napr. cyano-baktérií.

Pod'akovanie

Autori ďakujú Slovenskej grantovej agentúre za finančnú podporu projektu KEGA 006TnUAD-4/2014 a projektu „Centrum pre testovanie kvality a diagnostiku materiálov“, ITMS kód 26210120046 Operačného programu Výskum a vývoj financovaný z Európskeho fondu regionálneho rozvoja.

Literatúra

- [1] BRATSKÁ Z., ŠTEVULOVÁ, N. *Biofilm ako faktor kvality pitnej vody a biodegradácie vodovodných a kanalizačných potrubí*. Košice: Stavebná fakulta TU v Košiciach, 2006.
- [2] TORANZO, A. E. et al. Association of *Aeromonas sobria* with mortalities of adult gizzard shad, *Dorosoma cepedianum* Lesueur. *J. Fish Dis.*, (1989) 12, 439–448.
- [3] SOUSA, J. A. Estudo epidemiológico em duas truticulturas do norte de Portugal e caracterização dos agentes bacterianos e virais de maior impacto em aquacultura. (PhD Thesis) Porto: Universidade do Porto, Portugal, 1969.
- [4] JÚDOVÁ, J., RULÍK, M., HOLÁ, V. *Mikrobiálna ekológia*, Banská Bystrica: Belianum, 2013, ISBN 978-805-570-2728.
- [5] WIATR, CH.L., Buckman Laboratories, Detection and Eradication of a Non-Legionella Pathogen in a Cooling Water System. CWT (Certified Water Technologist).
- [6] BERRY, D., C. XI, AND L. RASKIN. Microbial ecology of drinking water distribution systems. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2006, 17, 297–302.
- [7] BLOCK, J. C., et al. Biodiversity in drinking water distribution systems: a brief review, In SUTCLIFFE, D. (ed.), *The microbiological quality of water*. London: Royal Society for Public Health Hygiene, 1997, pp. 63–71.
- [8] STOODLEY, P. Flow disrupts communication. *News & views*, 2016.
- [9] ZAMYADI, A. Emerging toxic cyanobacterial issues in freshwater sources: Influence of climate change. In BOTANA, L.M. (Ed.) *Seafood and Freshwater Toxins: Pharmacology, Physiology, and Detection*, 3rd ed. Taylor & Francis, 2014, ch. 5.
- [10] FRAC, M., OSZUST, K., LIPIEC, J. Community Level Physiological Profiles (CLPP), Characterization and Microbial Activity of Soil Amended with Dairy Sewage Sludge. In *Sensors*. 2012. Sensors (Basel). 2012; 12 (3): 3253–68. doi: 10.3390/s120303253.
- [11] ČINČUROVÁ, M. *Štúdium kvality chladiacej vody na vybranej linke v gumárenskom priemysle*. (Bakalárska práca) Púchov: FPT TnUAD, 2016.

Německý ocelářský průmysl ušetří milionové náklady

www.saarbruckerzeitung.de

13.08.2016

Německý ocelářský průmysl dostává pomoc od politiků. Ministr průmyslu a současně předseda německé SPD Sigmar Gabriel se nyní prezentuje jako ochránce zaměstnanců oceláren. Snaží se prosadit, aby koncerny jako ThyssenKrupp nebo Salzgitter platily méně na ekologických daních a poplatcích, budou-li vyrábět z vysokopecního plynu elektrický proud. Jedná se ovšem o určité privilegium a mnohý z občanů, kteří trpí pod vysokými cenami elektřiny, by jistě také rád dostal slevu či rabat. Obsahově však opatření dává smysl. Krizí poškozené koncerny by totiž těžko zvládly nová finanční zatížení v milionové výši. Ve hře jsou desítky tisíc pracovních míst a nebezpečí, že ocelářský průmysl jednoho dne z Evropy zmizí, je velké. Větší ochrany klimatu by tím dosaženo nebylo.