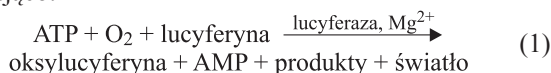


Franciszek Pistelok, Alina Ficek, Tomasz Stuczyński, Bogusław Wiera

## Wykorzystanie testu ATP do oceny jakości wody przeznaczonej do spożycia na przykładzie małych wodociągów

W 2004 r. Światowa Organizacja Zdrowia przedstawiła wytyczne dotyczące opracowania i wprowadzania w życie tzw. planów bezpieczeństwa wody (WSP – water safety plans). Plany te oparte są na ocenie i zarządzaniu ryzykiem na całej długości łańcucha zaopatrzenia w wodę. Jednym z ich celów jest zastąpienie tradycyjnego monitorowania jakości wody podejściem procesowym, opartym na analizie ryzyka stosowanej w ramach codziennych procedur zarządzania. Stosowane w praktyce zakładów wodociągowych konwencjonalne analizy fizyczno-chemiczne i mikrobiologiczne wody są czasochłonne, a uzyskane w ten sposób wyniki są mało przydatne w bieżących działaniach operacyjnych. Prowadzone od niedawna badania wskazują na możliwość wykorzystania metod biochemicznych, do których zalicza się oznaczanie obecności adenozyntroójfosforanu (ATP) w wodzie, do szybkiej identyfikacji zagrożenia mikrobiologicznego wody przeznaczonej do spożycia [1, 2]. Metoda z wykorzystaniem ATP oparta jest na zjawisku bioluminescencji, a jej mechanizm można opisać następująco:



W wyniku utleniania lucyferyny z udziałem lucyferazy, w obecności ATP jako wskaźnika, dochodzi do emisji światła. Intensywność impulsów świetlnych (w jednostkach RLU – relative light units) jest proporcjonalna do ilości ATP w próbce [3–5]. W praktyce wodociągowej właściwe jest oznaczanie wewnątrzkomórkowego ATP (cellular ATP – cATP), co pozwala na określenie całkowitej zawartości żywych mikroorganizmów w wodzie, w tym bakterii heterotroficznych, autotroficznych, grzybów, glonów, pierwotniaków czy bakterii aktywnych określanych jako „żywe lecz nie dające się hodować” (VBNC – viable but nonculturable) [6–9].

Biorąc pod uwagę konieczność zapewnienia odpowiedniej jakości wody, szczególnie w wodociągach dostarczających wodę w ilości mniejszej niż 1000 m<sup>3</sup>/d, w pracy skoncentrowano się na wykorzystaniu testu ATP na obszarach wiejskich zaopatrywanych przez małe zakłady wodociągowe, najczęściej zasilane z ujęć podziemnych, charakteryzujące się obecnością bakterii autotroficznych. Ponadto w wodach tych odnotowuje się zwiększone ilości

azotu amonowego oraz związków żelaza i manganu, a w niektórych ujęciach stwierdza się także dużą zawartość pozostałych mineralnych form azotu – azotanów(III) i azotanów(V) – związków szkodliwych, wywołujących methemoglobinemię u niemowląt.

Ważnym czynnikiem wpływającym na bezpieczeństwo wody dostarczanej ludności na obszarach wiejskich jest techniczny stan sieci wodociągowej [10], przy czym wpływ tego czynnika jest zdecydowanie większy niż w miastach, co z kolei wynika z długości sieci i niewielkiego zapotrzebowania na wodę. W takiej sytuacji powstają korzystne warunki do rozwoju biofilmu w przewodach wodociągowych, co może prowadzić do wtórnego zanieczyszczenia wody [11, 12]. Dodatkowo w wielu miejscowościach zjawisku temu sprzyja stosunkowo wysoki wiek przewodów. Często zdarza się, że część sieci powstała w połowie ubiegłego wieku i do niej włączane są nowe przewody wodociągowe [13].

### Cel i zakres badań

Celem badań było określenie zawartości cATP w wodzie ujmowanej, oczyszczanej oraz dostarczanej mieszkańcom [14–16] przez trzy wybrane małe wodociągi oraz porównanie danych o jakości mikrobiologicznej wody z wynikami otrzymanymi w analizach z zastosowaniem metod posiewowych.

### Przedmiot i metody badań

Do badań wytypowano trzy systemy wodociągowe w północnej i zachodniej części Polski (tereny po dawnych PGR), zasilane z ujęć wód podziemnych. Wodociąg I to wodociąg wiejski o wydajności 80 m<sup>3</sup>/d i całkowitej długości przewodów równej 4,2 km, obsługujący dwie wsie o łącznej liczbie mieszkańców około 600. Ujmowana woda jest poddawana napowietrzaniu i filtracji (złoża piaskowe). Wodociąg II obsługuje 31 miejscowości (około 3000 mieszkańców) i dostarcza wodę w ilości 277 m<sup>3</sup>/d. Całkowita długość sieci (bez przyłączy) wynosi 77,2 km. Stacja została zmodernizowana w latach 2008–2009 i obecnie proces oczyszczania wody polega na napowietrzaniu, a następnie dwustopniowej filtracji (I<sup>o</sup> złoża piaskowe z dodatkami prażonego dolomitu – oddzielanie, II<sup>o</sup> złoża katalityczne G1 – odmanganianie). Wodociąg III, o wydajności 287 m<sup>3</sup>/d i całkowitej długości sieci 56,4 km, obsługuje około 3600 mieszkańców. Podobnie jak w przypadku wodociągu II, zastosowano w nim dwustopniową filtrację wody po uprzednim jej napowietrzeniu.

Dr inż. F. Pistelok, mgr inż. A. Ficek: Instytut Podstaw Inżynierii Środowiska PAN, ul. Marii Skłodowskiej-Curie 34, 41-819 Zabrze  
franciszek.pistelok@ipis.zabrze.pl, alina.ficek@ipis.zabrze.pl  
Dr hab. inż. T. Stuczyński, mgr B. Wiera: SGS EKO-Projekt spółka z o.o.  
ul. Cieszyńska 52a, 43-200 Pszczyna  
tomasz.stuczynski@sgs.com, boguslaw.wiera@sgs.com

Wodę do analiz pobierano w rejonie stacji wodociągowej (woda z ujęcia, woda oczyszczona) oraz bezpośrednio w punktach czerpalnych sieci. Zakres analiz obejmował:

- wskaźniki fizyczno-chemiczne: pH, barwa, mętność, żelazo, mangan, jon amonowy, azotany(V), azot organiczny,
- wskaźniki bakteriologiczne: ogólna liczba bakterii w temperaturze 22°C po 72 h na podłożu referencyjnym (agar z ekstraktem drożdżowym), ogólna liczba bakterii w temperaturze 36°C po 48 h na podłożu referencyjnym, liczba bakterii grupy coli i *Escherichia coli* (podłoże TTC) i enterokoków kałowych (podłoże Slanetza-Bartleya); w przypadku wodociągu III dodatkowo oznaczono ogólną liczbę bakterii w temperaturze 22°C na podłożu R2A po 7 d (Reasoner's 2A agar dla wymagających szczepów wolno rosnących, które mogą nie wzrastać na agarze z ekstraktem drożdżowym),

- wewnątrzkomórkowy adenozynotrójfosforan (cATP) [1, 13, 14, 17].

Wyniki analiz były porównywane z wymaganiami zawartymi w rozporządzeniu Ministra Zdrowia z 20 kwietnia 2010 r. [18]. Analizę zawartości cATP w badanych próbkach wody wykonano metodą bioluminescencji, zgodnie z instrukcją producenta, wykorzystując gotową procedurę QGA (quench gone aqueous). Wyniki uzyskane w jednostkach RLU przeliczono na zawartość cATP (w pg/cm<sup>3</sup>) według wzoru:

$$[\text{cATP}] = \frac{[\text{RLU}]_{\text{cATP}}}{[\text{RLU}]_{\text{ATP1}}} \frac{10000}{V} \quad (2)$$

w którym:

[RLU]<sub>cATP</sub> – wartość luminescencji proporcjonalna do ATP występującego w żywych komórkach

[RLU]<sub>ATP1</sub> – wartość luminescencji mieszaniny luminazy oraz odczynnika kontrolnego

10000 – współczynnik przeliczeniowy odczynnika kontrolnego

V – objętość próbki, cm<sup>3</sup>

Dokonując oceny jakości wody w oparciu o zawartość wewnątrzkomórkowego ATP (cATP) wykorzystano kryteria podane przez producenta testu (tab. 1).

Tabela 1. Jakość wody w zależności od zawartości cATP [4]  
Table 1. Correlation of tap water quality and cATP content [4]

Zawartość cATP pg/cm <sup>3</sup>	Jakość wody
<0,5	dobra
0,5÷10,0	wątpliwa (celowe podjęcie działań profilaktycznych)
>10,0	zła

## Wyniki badań

### Wodociąg I

Ujmowana woda (przed procesem oczyszczania) charakteryzowała się podwyższoną zawartością azotu amonowego i związków manganu. Woda ta była bezpieczna pod względem bakteriologicznym – nie stwierdzono obecności bakterii grupy coli, *Escherichia coli* oraz enterokoków kałowych, nie stwierdzono także występowania mikroorganizmów podczas inkubacji próbek wody na podłożu referencyjnym. W tych warunkach zawartość cATP w wodzie była stosunkowo wysoka i wyniosła 5,65 pg/cm<sup>3</sup>.

Jakość wody wprowadzanej do sieci odpowiadała obowiązującym przepisom. W procesach oczyszczania wody doszło do zmniejszenia wartości części analizowanych wskaźników fizyczno-chemicznych – mętności, jonu amonowego oraz związków żelaza i manganu. W wodzie nie występowały bakterie *Escherichia coli* i grupy coli oraz enterokoki kałowe. Jednocześnie odnotowano pogorszenie jakości wody pod względem mikrobiologicznym. Ogólna liczba bakterii heterotroficznych inkubowanych na agarze w 22°C przez 72 h wyniosła 279 jtk/cm<sup>3</sup>, zaś w temperaturze 36°C przez 48 h – 124 jtk/cm<sup>3</sup>. Na zanieczyszczenie mikrobiologiczne wody wskazywała także zawartość cATP, która wyniosła 51,36 pg/cm<sup>3</sup>.

Niewielkie zmiany jakości wody w zakresie badanych wskaźników fizyczno-chemicznych zanotowano w próbkach pobranych z sieci wodociągowej. We wszystkich badanych punktach przepisom odpowiadała zawartość związków żelaza i manganu oraz azotanów(V) i jonu amonowego. W nielicznych próbkach wystąpiły jedynie przekroczenia dopuszczalnej wartości mętności, a dodatkowo odnotowano wzrost zawartości jonu amonowego i manganu oraz intensywności barwy. W żadnej z analizowanych próbek nie stwierdzono występowania bakterii grupy coli, *Escherichia coli* oraz enterokoków kałowych. Ogólna liczba mikroorganizmów inkubowanych na agarze odżywczym z ekstraktem drożdżowym w temperaturze 22°C ciągu 72 h zmieniała się w zakresie 46÷301 jtk/cm<sup>3</sup>, zaś w temperaturze 36°C w ciągu 48 h – w zakresie 3÷84 jtk/cm<sup>3</sup> (tab. 2).

O znacznym zanieczyszczeniu mikrobiologicznym wody świadczy stwierdzona zawartość cATP. Spośród przeanalizowanych 11 próbek wody pobranych z sieci żadna nie odpowiadała kryterium wody o dobrej jakości. Minimalna zawartość cATP w próbkach pobranych z sieci wodociągowej wyniosła 5,88 pg/cm<sup>3</sup>. W czterech punktach wodę uznano za wątpliwą jakości, zaś w siedmiu za wodę o złej jakości (tab. 3). Maksymalna zawartość cATP wyniosła 68,30 pg/cm<sup>3</sup>.

### Wodociąg II

Ujmowana woda cechowała się dużą mętnością i zawartością związków żelaza i manganu. Znaczące było zanieczyszczenie mikrobiologiczne wody, określone przez ogólną liczbę mikroorganizmów wyhodowanych na agarze w temperaturze 22°C w ciągu 72 h. Jednocześnie dość mała była w tym przypadku zawartość cATP – 0,97 pg/cm<sup>3</sup>. Oczyszczanie wody doprowadziło do wyraźnej poprawy jej jakości. Wartości analizowanych wskaźników fizyczno-chemicznych odpowiadały wymaganiom, zanotowano także znaczący spadek ogólnej liczby mikroorganizmów. Wyjątkiem w tym przypadku była zawartość cATP, która wzrosła do 2,80 pg/cm<sup>3</sup>. W wodzie ujmowanej i oczyszczonej nie stwierdzono występowania bakterii grupy coli, *Escherichia coli* oraz enterokoków kałowych (tab. 2).

Próbki wody do analiz były pobierane w 24 punktach sieci wodociągowej. Pomimo znacznej długości sieci, wartości wskaźników fizyczno-chemicznych we wszystkich próbkach odpowiadały wymaganiom. W części z nich odnotowano niewielki wzrost mętności, a także zawartości ogólnego węgla organicznego, jonu amonowego i związków manganu. Analizując zanieczyszczenie mikrobiologiczne należy stwierdzić, że w żadnej z próbek nie stwierdzono występowania bakterii grupy coli, bakterii *Escherichia coli* oraz enterokoków kałowych. W zdecydowanej większości pobranych próbek ogólna liczba mikroorganizmów wyhodowanych na agarze była niewielka. Jedynie w dwóch

Tabela 2. Jakość wody ujmowanej, oczyszczonej oraz w sieci wodociągowej  
Table 2. Intake water, treated water and tap water quality

Wskaźnik, jednostka	Woda ujmowana	Woda oczyszczona	Sieć wodociągowa		
			liczba punktów	minimum	maksimum
Wodociąg I					
pH	7,44	7,13	11	7,2	7,47
Mętność, NTU	0,68	0,41	11	0,3	1,2
Barwa, gPt/m <sup>3</sup>	10	10	11	10	15
Ogólny węgiel organiczny, gC/m <sup>3</sup>	4,4	4,2	11	3,6	4,4
Azot amonowy, gNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /m <sup>3</sup>	1,12	0,22	11	<0,05	0,31
Azotany, gNO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /m <sup>3</sup>	<4,5	<4,5	11	<4,5	<4,5
Żelazo ogólne, gFe/m <sup>3</sup>	0,14	<0,06	11	<0,06	<0,06
Mangan, gMn/m <sup>3</sup>	0,05	0,005	11	<0,004	0,008
Ogólna liczba mikroorganizmów (22°C, 72 h), jtk/cm <sup>3</sup>	0	279	11	46	301
Ogólna liczba mikroorganizmów (36°C, 48 h), jtk/cm <sup>3</sup>	0	124	11	3	84
Bakterie grupy coli, jtk/100 cm <sup>3</sup>	0	0	11	0	0
Bakterie <i>E.coli</i> , jtk/100 cm <sup>3</sup>	0	0	11	0	0
Enterokoki kałowe, jtk/100 cm <sup>3</sup>	0	0	11	0	0
cATP, pg/cm <sup>3</sup>	5,65	51,36	11	5,88	68,30
Wodociąg II					
pH	7,3	7,2	24	7,2	7,4
Mętność, NTU	10,8	0,119	24	0,1	0,4
Barwa, gPt/m <sup>3</sup>	10	10	24	10	10
Ogólny węgiel organiczny, gC/m <sup>3</sup>	4,4	4	24	1,3	5
Azot amonowy, gNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /m <sup>3</sup>	0,45	0,07	24	<0,05	0,15
Azotany, gNO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /m <sup>3</sup>	<4,5	<4,5	24	<4,5	<4,5
Żelazo ogólne, gFe/m <sup>3</sup>	2,11	<0,06	24	<0,06	0,06
Mangan, gMn/m <sup>3</sup>	0,13	0,005	24	<0,004	0,008
Ogólna liczba mikroorganizmów (22°C, 72 h), jtk/cm <sup>3</sup>	>300	4	24	4	>300
Ogólna liczba mikroorganizmów (36°C, 48 h), jtk/cm <sup>3</sup>	136	1	24	1	47
Bakterie grupy coli, jtk/100 cm <sup>3</sup>	0	0	24	0	0
Bakterie <i>E.coli</i> , jtk/100 cm <sup>3</sup>	0	0	24	0	0
Enterokoki kałowe, jtk/100 cm <sup>3</sup>	0	0	24	0	0
cATP, pg/cm <sup>3</sup>	0,97	2,80	24	1,46	4,76
Wodociąg III					
pH	7,3	7	18	6,8	7,3
Mętność, NTU	4,5	0,14	18	<0,1	0,2
Barwa, gPt/m <sup>3</sup>	5	5	18	0	5
Ogólny węgiel organiczny, gC/m <sup>3</sup>	3,2	2,8	18	–	–
Azot amonowy, gNH <sub>4</sub> <sup>+</sup> /m <sup>3</sup>	1,09	<0,05	18	<0,05	0,16
Azotany, gNO <sub>3</sub> <sup>-</sup> /m <sup>3</sup>	<4,5	<4,5	18	<4,5	<4,5
Żelazo ogólne, gFe/m <sup>3</sup>	5,23	<0,06	18	<0,06	<0,06
Mangan, gMn/m <sup>3</sup>	0,26	<0,004	18	<0,004	<0,004
Ogólna liczba mikroorganizmów (22°C, 72 h), jtk/cm <sup>3</sup>	18	30	18	10	84
Ogólna liczba mikroorganizmów (36°C, 48 h), jtk/cm <sup>3</sup>	2	4	18	1	8
Ogólna liczba mikroorganizmów (22°C, 7 d, podłoże R2A), jtk/cm <sup>3</sup>	78	68	18	66	2600
Bakterie grupy coli, jtk/100 cm <sup>3</sup>	0	0	18	0	0
Bakterie <i>E.coli</i> , jtk/100 cm <sup>3</sup>	0	0	18	0	0
Enterokoki kałowe, jtk/100 cm <sup>3</sup>	0	0	18	0	0
cATP, pg/cm <sup>3</sup>	0,40	6,80	18	1,80	7,20

Tabela 3. Liczba próbek wody w poszczególnych przedziałach zawartości cATP  
Table 3. Number of samples classified according to cATP content

Przedział zawartości cATP pg/cm <sup>3</sup>	Liczba próbek
Wodociąg I	
0,00÷4,99	0
5,00÷9,99	4
10,00÷19,99	2
20,00÷29,99	3
30,00÷39,99	0
40,00÷49,99	0
50,00÷59,99	1
60,00÷69,99	1
Razem	11
Wodociąg II	
1,00÷1,99	5
2,00÷2,99	11
3,00÷3,99	5
4,00÷4,99	3
Razem	24
Wodociąg III	
1,00÷1,99	0
2,00÷2,99	5
3,00÷3,99	4
4,00÷4,99	5
5,00÷5,99	3
6,00÷6,99	0
Razem	18

przypadkach przekroczyła 100 jtk/cm<sup>3</sup>. Były to punkty zlokalizowane w znacznej odległości od stacji oczyszczania wody, w domach, w których jeszcze nie przeprowadzono wymiany instalacji wodociągowej. Zawartość cATP w pobranych próbkach zmieniała się w zakresie od 1,46 pg/cm<sup>3</sup> do 4,76 pg/cm<sup>3</sup> (tab. 2), co kwalifikuje wodę do grupy o wątpliwej jakości.

### Wodociąg III

Woda dostarczana do stacji oczyszczania w przypadku tego ujęcia charakteryzowała się znaczną mętnością oraz zawartością związków żelaza oraz manganu. Przekroczona była także dopuszczalna zawartość jonu amonowego. Wartości wskaźników jakości wody oczyszczonej odpowiadały wymaganiom, przy czym zawartość związków żelaza i manganu była poniżej granicy oznaczalności. W wodzie ujmowanej i oczyszczonej nie wystąpiły bakterie grupy coli, bakterie *Escherichia coli* oraz enterokoki kałowe. Za odpowiadającą wymaganiom można także uznać zawartość ogólnej liczby mikroorganizmów podczas inkubacji na agarze w temperaturze 22°C przez 72 h. Dodatkowo określono także ogólną liczbę mikroorganizmów inkubowanych na agarze w temperaturze 36°C przez 48 h oraz na podłożu R2A (22°C, 7 d). W próbkach pobranych w sieci nie stwierdzono przekroczenia dopuszczalnych wartości wskaźników fizyczno-chemicznych, m.in. mętności, jonu amonowego, żelaza, manganu i azotanów(V). Niska była

także intensywność barwy i zawartość ogólnego węgla organicznego. Nie odnotowano w wodzie obecności bakterii grupy coli, bakterii *Escherichia coli* oraz enterokoków kałowych (tab. 2).

Na szczególną uwagę zasługuje stwierdzona zawartość cATP w próbkach wody. W wyniku oczyszczania wody zanotowano znaczący wzrost jego ilości – z 0,40 pg/cm<sup>3</sup> do 6,80 pg/cm<sup>3</sup>. W poszczególnych punktach poboru zawartość cATP zmieniała się w granicach 1,80÷7,20 pg/cm<sup>3</sup>, przy czym w większości próbek mieściła się w przedziałach 2,00÷2,99 pg/cm<sup>3</sup> oraz 4,00÷4,99 pg/cm<sup>3</sup> (tab. 3). Kwalifikuje to wodę jako wątpliwej jakości, wymagającą podjęcia działań profilaktycznych. Największą zawartość cATP odnotowano w próbkach pobranych z sieci wodociągowej. We wszystkich próbkach ogólna liczba mikroorganizmów uzyskana metodą posiewu na agarze z ekstraktem drożdżowym była niska. Nieco inne wyniki uzyskano w badaniach wykonanych na podłożu R2A. W tym przypadku zdecydowanie wyższe wartości wystąpiły w rejonie eksploatowanego od lat 30. XX w. zbiornika wyrównawczego oraz w punktach sieci zasilanych z tego zbiornika.

### Dyskusja wyników badań

Porównanie uzyskanych wartości z wymaganiami zawartymi w rozporządzeniu Ministra Zdrowia w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia pozwala zakwalifikować wodę pochodzącą z analizowanych wodociągów jako spełniającą te wymagania [18]. W przypadku punktów poboru zlokalizowanych u odbiorców wody, w żadnej z próbek nie stwierdzono obecności związków żelaza i manganu oraz azotanów(V). Również wartości pozostałych wskaźników – azotu amonowego, przewodności właściwej, barwy, mętności oraz węgla organicznego – spełniały wymagania [18]. Podobna sytuacja miała miejsce w przypadku oznaczeń mikrobiologicznych – w żadnej z próbek nie stwierdzono obecności bakterii grupy coli oraz *Escherichia coli* czy enterokoków kałowych.

Analiza wyników mikrobiologicznych uzyskanych z użyciem testu ATP nie była już tak jednoznaczna. Zgodnie z wytycznymi producenta testu, woda w żadnym z punktów dystrybucji nie miała dobrej jakości i mieściła się w granicach określonych w przypadku wody o wątpliwej jakości (woda wymagająca podjęcia działań korygujących) lub wody o złej jakości.

We wszystkich analizowanych wodociągach odnotowano charakterystyczne zmiany w obrębie stacji oczyszczania wody. W wodzie po procesie odżelaziania i odmanganiania wystąpiło wyraźne zwiększenie zawartości wewnątrzkomórkowego ATP. Wpływ na to zjawisko wywierał prawdopodobnie sposób eksploatacji filtrów. Cykl pracy filtrów w przypadku wszystkich analizowanych stacji odbywał się automatycznie. Po cyklu filtracji wynoszącym około 48 h następowało płukanie złoża sprężonym powietrzem i wodą. W wyniku tego procesu następuje oderwanie błony biologicznej od powierzchni materiału filtracyjnego i odprowadzenie na zewnątrz filtru wraz z wodą popłuczną. Ponieważ część materiału biologicznego pozostałego w złożu mogłaby przedostać się do filtratu, dlatego stosuje się spust tzw. pierwszego filtratu do kanalizacji. W przypadku części stacji oczyszczania wody ten zabieg nie jest prowadzony w ogóle lub prowadzony jest bez należytej staranności. Niewłaściwy sposób płukania złożów filtracyjnych i postępowania z pierwszym filtratem może być przyczyną zanieczyszczenia wody mikroorganizmami zasiedlającymi złożo

filtracyjne. Mikroorganizmy te mogą także przedostawać się do wody w trakcie filtracji [19]. Są to głównie bakterie autotroficzne – bakterie nityfikacyjne, żelaziste i manganowe. O obecności bakterii nityfikacyjnych świadczy wyraźny spadek zawartości jonu amonowego zachodzący w procesie filtracji. Zdania co do roli bakterii żelazistych i manganowych w procesie odżelaziania i odmanganiania są podzielone. Coraz częściej wskazuje się jednak na możliwość wpływu przemian biochemicznych na usuwanie tych pierwiastków. Uzyskane wyniki potwierdzają możliwość zachodzenia tych zjawisk.

Stwierdzona w trakcie badań zawartość cATP, a także ogólna liczba bakterii heterotroficznych, zarówno w próbkach wody ujmowanej, jak i oczyszczonej wskazuje na celowość przeprowadzenia dokładnej analizy pracy stacji filtrów. Stosunkowo krótki cykl filtracji może znacząco wpływać na liczbę mikroorganizmów w wodzie tłoczonyj do sieci. Wydłużenie cyklu filtracji zwiększa możliwość adsorpcji zanieczyszczeń, w tym mikroorganizmów, na materiale złoża filtracyjnego. Wydaje się, że korzystniejsze wyniki w tym zakresie można uzyskać ograniczając częstość płukania złoża. Czas cyklu filtracji może być w takim przypadku wyznaczony na podstawie strat hydraulicznych. Należy również rozważyć konieczność prowadzenia spustu pierwszego filtratu do kanalizacji oraz wyznaczyć optymalny czas jego prowadzenia [20].

Fakt występowania znacznej zawartości cATP w wodzie po procesie filtracji wskazuje na konieczność prowadzenia działań profilaktycznych zmierzających do poprawy jakości wody z dużą rozważą i ostrożnością. Niewłaściwie przeprowadzona dezynfekcja studni, złoża filtracyjnego, czy też sieci wodociągowej, może prowadzić do znacznego pogorszenia jakości wody dostarczanej odbiorcom poprzez przedostawanie się martwej biomasy ze złoża filtracyjnego do sieci [21]. Wpływ transportu wody na jej zanieczyszczenie mikrobiologiczne może być różny. Jest on uzależniony od prędkości przepływu wody w sieci. Rozwijający się na ściankach przewodów biofilm może powodować zarówno wtórne zanieczyszczenie wody w sieci, jak i jej oczyszczanie. Zjawisko to dobrze ilustrują zmiany zawartości cATP w wodzie [11]. W większości analizowanych punktów poboru próbek do badań stwierdzono zmniejszenie jego ilości, jednak w części odnotowano wzrost. Największa liczba mikroorganizmów uwalnianych ze złoża filtracyjnego do wody może występować na początku cyklu filtracji, tuż po zakończeniu płukania złoża. Później można się spodziewać spadku tej wartości, a następnie stabilizacji. Nagły wzrost zawartości cATP w końcu tego cyklu może wystąpić w sytuacji awaryjnej. W przypadku wysokich zawartości cATP w wodzie oczyszczonej, jego część może być adsorbowana przez mikroorganizmy biofilmu, co spowoduje zmniejszenie ilości cATP w wodzie. Jednakże część mikroorganizmów będzie się oddzielała od błony biologicznej i znajdzie się w wodzie. Efektem takich przemian mogą być dobowe zmiany zawartości cATP w wodzie. Charakterystyczny jest fakt, że w godzinach nocnych i porannych zwykle następuje wzrost ilości cATP w wodzie, zaś w dzień, przy zwiększonym przepływie, wartość ta maleje [22].

W przeprowadzonych badaniach nie było możliwości wyznaczenia punktów poboru zlokalizowanych na przewodach magistralnych. Przedstawione wyniki odnoszą się więc do wody pobieranej bezpośrednio z punktów czerpalnych zlokalizowanych w mieszkaniach, bądź w pomieszczeniach służbowych w innych lokalach (szkoły, fermy, zakłady produkcyjne). Pobór wody bezpośrednio u odbiorców

nie wyklucza niekorzystnego wpływu instalacji wodociągowych. Ma to szczególne znaczenie zważywszy na fakt, że chociaż zdecydowana większość sieci wodociągowej w analizowanych obiektach została wykonana w ostatnich latach z PVC, to jednak część starszych instalacji jest wykonana z rur ocynkowanych, podatnych na tworzenie biofilmu [23, 24]. Z tego względu uzyskane wartości charakteryzują zanieczyszczenie związane zarówno z siecią, jak i instalacjami wodociągowymi. Dodatkowo celowe byłoby uwzględnienie wpływu na zawartość cATP coraz częściej instalowanych przez mieszkańców lokalnych filtrów do zmniejszania mętności i twardości wody.

W przypadku wodociągu III dokonano porównania wyników testu ATP z badaniami liczebności mikroorganizmów na podstawie hodowli na agarze z ekstraktem drożdżowym i podłożu R2A (tab. 4). We wszystkich analizowanych próbkach wody ogólna liczba bakterii wyhodowana na podłożu referencyjnym była niska i nie przekraczała 84 jtk/cm<sup>3</sup>. Liczebność bakterii wyhodowanych na pożywce R2A, bogatszej w składniki odżywcze, była większa i wahała się w przedziale od 66 jtk/cm<sup>3</sup> do 2800 jtk/cm<sup>3</sup>. Przeprowadzona analiza statystyczna wyników nie wykazała korelacji pomiędzy liczbą bakterii a zawartością cATP ( $R^2=0,015$  w przypadku podłoża referencyjnego i  $R^2=0,019$  w przypadku podłoża R2A;  $n=11$ ). Wydaje się, że przyczyną tego stanu jest fakt, że próbki pobrano ze stosunkowo niewielkich wodociągów zasilanych z ujęć podziemnych. Na podłożach hodowlanych możliwe jest oznaczanie głównie bakterii heterotroficznych, natomiast test ATP pozwala na oznaczenie wszystkich żywych mikroorganizmów, w tym bakterii autotroficznych (nityfikacyjnych, żelazistych, czy manganowych). Stąd przypuszczalnie wynikały odnotowane różnice i tak słaba korelacja w porównaniu do danych literaturowych [22, 25].

Tabela 4. Porównanie wyników testu ATP i liczby bakterii na podstawie metod posiewowych (wodociąg III)

Table 4. Comparison of ATP test results and bacteria numbers determined on the basis of plate count methods (water distribution system III)

Punkt poboru	Zawartość cATP pg/cm <sup>3</sup>	Ogólna liczba bakterii, jtk/cm <sup>3</sup>	
		podłoże ref.	podłoże R2A
Przed zbiornikiem wyrównawczym	3,5	20	66
	5,9	12	120
	5,4	10	107
	4,5	13	92
	2,7	10	90
	3,2	12	134
	5,6	13	201
	7,2	24	1800
	4,8	84	162
	3,1	19	80
Po zbiorniku wyrównawczym	4,1	12	98
	4,3	34	2800
	2,6	10	291
	2,3	16	2200
	3,5	52	2600
	2,5	20	291
	2,6	14	2300
1,8	17	700	

Większą liczbę mikroorganizmów wyhodowanych na podłożu R2A odnotowano w przypadku wody ze zbiornika wyrównawczego ( $2800 \text{ jtk/cm}^3$ ) oraz pobranej w nieruchomościach zasilanych z tego zbiornika ( $291+2600 \text{ jtk/cm}^3$ ). Wydaje się, że przyczyną mogą być zmiany składu flory bakteryjnej związanej z działaniem zbiornika. Retencja wody, długi czas przetrzymania oraz kontakt z powietrzem atmosferycznym mogły sprzyjać rozwojowi bakterii heterotroficznych, przez co zaobserwowano wzrost liczby bakterii wyrosłych na podłożach hodowlanych.

## Podsumowanie

Przeprowadzone badania nie dały jednoznacznych wyników w kontekście bezpieczeństwa zdrowotnego wody na obszarach wiejskich. Wszystkie analizowane próbki wody pobrane u odbiorców wykazały, że w zakresie badanych wskaźników fizyczno-chemicznych oraz takich wskaźników mikrobiologicznych, jak obecność bakterii *Escherichia coli*, bakterii grupy coli czy enterokoków kałowych, woda spełniała wymagania zawarte w rozporządzeniu Ministra Zdrowia [18].

Uzyskane wyniki badań zawartości cATP w próbkach wody nie pozwalają na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków. Zgodnie z klasyfikacją podaną przez producenta testu ATP, żadna z pobranych próbek wody z sieci nie odpowiadała wymaganiom stawianym wodzie o dobrej jakości, zaś ich część sklasyfikowano jako wodę o złej jakości. Wskazuje to na celowość podjęcia odpowiednich działań naprawczych w układzie oczyszczania wody. Częściowo wnioski takie potwierdzają badania ogólnej liczby mikroorganizmów wykonane metodami posiewowymi, zarówno na pożywce referencyjnej, jak i R2A. Analiza zawartości cATP wykazała, że działania naprawcze powinny być podjęte przede wszystkim w obrębie stacji filtrów i polegać na odpowiednim doborze warunków procesu filtracji, sterowania tym procesem oraz zachowaniu odpowiedniej staranności przy spuszczeniu pierwszego filtratu do kanalizacji. Wydaje się, że te czynniki decydują o tworzeniu biofilmu na ściankach przewodów wodociągowych oraz wtórnym zanieczyszczeniu wody.

Coraz częściej wskazuje się na znaczenie przemian biochemicznych w procesach odżelaziania i odmanganiania wody. Uzyskane podczas badań wyniki – znaczna zawartość cATP oraz stosunkowo mała ogólna liczba mikroorganizmów w wodzie – wskazują na złoża filtracyjne, jako źródło zanieczyszczenia bakteryjnego. Porównanie tych wielkości prowadzi do wniosku, że ze złóż filtracyjnych do sieci mogą być wprowadzane bakterie autotroficzne – nityfikacyjne, żelaziste, manganowe itp. (w przypadku analizy ogólnej liczby mikroorganizmów w wodzie wodociągowej oznacza się głównie bakterie heterotroficzne).

Wyniki przedstawionych badań potwierdzają możliwość i celowość wykonywania analizy wewnątrzkomórkowego ATP w trakcie badań jakości wody przeznaczonej do spożycia. Z jednej strony daje ona informacje na temat zanieczyszczenia mikrobiologicznego wody, z drugiej zaś może być wykorzystana do optymalizacji warunków prowadzenia procesu filtracji. W trakcie analizy cATP możliwe jest oznaczenie wszystkich form mikroorganizmów występujących w wodzie – bakterii heterotroficznych, autotroficznych, grzybów, glonów, pierwotniaków czy też bakterii w stanie VBNC. Należy jednak pamiętać, że jest to test niespecyficzny, tzn. nie jest możliwe zróżnicowanie materiału biologicznego, dlatego powinien on stanowić

uzupełnienie metod klasycznych. Z powodzeniem może być również wykorzystywany na wszystkich etapach monitoringu jakości wody, począwszy od ujęcia aż do punktów czerpalnych, co pozwoli także na analizę stanu sieci wodociągowej.

## LITERATURA

1. R. DEININGER, J. LEE: Rapid detection of bacteria in drinking water. In: A. OMELCHENKO, A.A. PIVOVAROV, W.J. SWINDALL: *Modern Tools and Methods of Water Treatment for Improving Living Standards*, Springer, Netherlands 2005, pp. 71–78.
2. A. EATON, L. CLESCERI, E. RICE, A. GREENBERG: *Standard methods for the examination of water and wastewater*. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington 2005.
3. H. SCHLEGEL: *Mikrobiologia ogólna*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2003.
4. LuminUltra Technologies Ltd. Test Kit Product: QGA (Quench Gone Aqueous), Canada.
5. S.M. STEINBERG, E.J. POZIOMEK, W.H. ENGELMANN: A review of environmental applications of bioluminescence measurements. *Chemosphere* 1995, Vol. 30, No. 11, pp. 2155–2197.
6. F. PISTELOK, B. WIERA, T. STUCZYŃSKI: Identyfikacja zagrożeń dla bezpieczeństwa zdrowotnego wody podczas zdarzeń wyjątkowych. *Instal* 2012, nr 3, ss. 44–49, 54.
7. F. PISTELOK, B. WIERA, T. STUCZYŃSKI, M. KOPYTKO: Studium nad zastosowaniem testu ATP do optymalizacji działania stacji uzdatniania wody i sieci wodociągowej. *Mat. konf. „Woda Człowiek Środowisko”*, Politechnika Poznańska, Licheń 2012, ss. 139–154.
8. D. KRĘGIEL: Problemy w mikrobiologicznej analizie wody – bakterie żywe, lecz niedające się hodować. *Przemysł Spożywczy* 2005, vol. 59, nr 6, ss. 32–35, 41.
9. J.D. OLIVER: The viable but nonculturable state in bacteria. *The Journal of Microbiology* 2005, Vol. 43, pp. 93–100.
10. R. DEININGER, J. LEE, R. CLARK: Rapid detection of bacteria in drinking water and water contamination case studies. *Frontiers of Earth Science* 2011, Vol. 5, No. 4, pp. 378–389.
11. J. BAŃK, W. DĄBROWSKI: Wpływ materiałów kontaktujących się z wodą wodociągową na rozwój mikroorganizmów w systemie zaopatrzenia w wodę. *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 2012, nr 10, ss. 411–412.
12. B. KOLWZAN: Analiza zjawiska biofilmu – warunki jego powstawania i funkcjonowania (Analysis of biofilms – their formation and functioning). *Ochrona Środowiska* 2011, vol. 33, nr 4, ss. 3–14.
13. *Distribution System Indicators of Drinking Water Quality*. U.S. EPA, Washington DC, 2006.
14. K. OCHROMOWICZ, E.J. HOEKSTRA: ATP as an indicator of microbiological activity in tap water. European Commission Directorate – General Joint Research Centre, 2005.
15. L. FARRIS, M.Y. HABTESELASSIE, L. PERRY, S.Y. CHEN, R. TURCO, B. REUHS, B. APPEGATE: Luminescence techniques for the detection of bacterial pathogens. In: M. ZOUROB *et al.* [Eds.]: *Principles of Bacterial Detection: Biosensors, Recognition Receptors and Microsystems*, Springer Publishing, New York 2008, pp. 213–230.
16. F. HAMMES, F. GOLDSCHMIDT, M. VITAL, Y. WANG, T. EGLI: Measurement and interpretation of microbial adenosine tri-phosphate (ATP) in aquatic environments. *Water Research* 2010, Vol. 44, No. 13, pp. 3915–3923.
17. R. DEININGER, J. LEE: Rapid determination of bacteria in drinking water using an ATP assay. *Field Analytical Chemistry Technology* 2001, Vol. 5, No. 4, pp. 185–189.
18. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z 20 kwietnia 2010 r. zmieniające rozporządzenie w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. *Dz. U.* nr 72, poz. 466.

19. J.L. YOUNG, R.A. DEININGER: Rapid quantification of viable bacteria in water using an ATP assay. *American Laboratory* 2001, Vol. 33, No. 21, pp. 24–26.
20. H.J. ALBRECHTSEN, G. SCHNIPPER, O. HENRIQUES, C.B. CORFIZEN, O.K. VANG: Application of measurement of ATP for process and quality control in drinking water. Proc. 'Nordisk Drikkevandskonference', Copenhagen 2010.
21. E. DELAHAYE, B. WELTE, Y. LEVI, G. LEBLON, A. MONTIEL: An ATP-based method for monitoring the microbiological drinking water quality in a distribution network. *Water Research* 2003, Vol. 37, No. 15, pp. 3689–3696.
22. E. SIEBEL, Y. WANG, T. EGLI, F. HAMMES: Correlations between total cell concentration, total adenosine tri-phosphate concentration and heterotrophic plate counts during microbial monitoring of drinking water. *Drinking Water Engineering and Science Discussions* 2008, No. 1, pp. 71–86.
23. J. YU, D. KIM, T. LEE: Microbial diversity in biofilms on water distribution pipes of different materials. *Water Science and Technology* 2010, Vol. 61, No. 1, pp. 163–171.
24. A. ROŻEJ, D. KOWALSKI, B. KOWALSKA: Wpływ stagnacji na jakość mikrobiologiczną wody w instalacji pilotażowej wykonanej z tworzyw sztucznych (PVC, PE-HD, PEX). *Gaz, Woda i Technika Sanitarna* 2012, nr 9, ss. 375–379.
25. G. SHAMA, D. MALIK: The uses and abuses of rapid bioluminescence-based ATP assays. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 2013, Vol. 216, No. 2, pp. 115–125.

**Pistelok, F., Ficek, A., Stuczynski, T., Wiera, B. ATP Test in Quality Assessment of Drinking Water in the Example of Small Water Supply Systems. *Ochrona Srodowiska* 2014, Vol. 36, No. 2, pp. 29–35.**

**Abstract:** Cellular ATP (cATP) content allows estimation of total number of microorganisms present in water. The information thus obtained enables determination of influence of water treatment processes and biofilm growing on the pipe walls on microbial contamination of pipeline water. Three small water supply systems located in North-Western Poland (efficiency ranging from 80 to 500 m<sup>3</sup>/d) were selected for research. Physicochemical and microbiological water quality indicator values, the latter obtained with culture methods, complied with current

standards. However, results of cATP content determination in water samples did not lead to such unambiguous conclusions. According to water purity classification by the ATP test manufacturer, none of the water samples from the three water supply systems tested complied with 'good' water quality standards; part of the samples was classified as poor quality water. cATP content analysis demonstrated that filtration process in the water stations tested should be verified and special care should be taken at primary filtrate discharge to sewage system. Most likely, these are decisive factors contributing to the biofilm formation on the pipe walls and secondary water contamination.

**Keywords:** Water safety plans, adenosine triphosphate, biofilm, water treatment, microorganisms.