

Sławomir Biłozor, Krystyna Danielak

Ocena podatności związków organicznych w wodzie na biodegradację

Brak skłonności do wtórnego rozwoju mikroorganizmów jest cechą oznaczającą stabilność biologiczną wody. Osiągnięcie takiego stanu jest jednym z najważniejszych celów procesów uzdatniania, szczególnie w przypadku wodociągów ujmujących wody powierzchniowe i dysponujących rozległą siecią dystrybucyjną.

Przyczyną braku stabilności biologicznej wody jest obecność w niej substratów podatnych na biodegradację, które w reakcjach katalizowanych mikrobiologicznie są donorami elektronów i/lub źródłem energii [1]. Ilościowe oznaczenie większości z tych substratów (azotu amonowego i azotynowego, żelaza (II) i manganu (II), dwusiarczków, siarkowodoru, tiosiarczanów) nie nastręcza poważniejszych trudności, natomiast ilościowa ocena najważniejszego z nich – podatnych na biodegradację związków organicznych – jest najtrudniejsza [2]. Opracowano szereg metod i ich modyfikacji, w których sztucznie indukowany wtórny rozwój mikroorganizmów w badanej wodzie jest miarą zawartości w niej podatnego na biodegradację węgla organicznego. O celowości prac nad tym zagadnieniem świadczy fakt, że mimo braku jednoznacznej ilościowej interpretacji, wyniki tych oznaczeń są włączane – jako oznaczenia rutynowe – do zespołu parametrów charakteryzujących efektywność stosowanych procesów uzdatniania wody [3–7].

W artykule dokonano przeglądu oraz krytycznej oceny najczęściej stosowanych metod ilościowego oznaczania przyswajalnego węgla organicznego – PWO (*assimilable organic carbon* – AOC) oraz biodegradowalnego rozpuszczonego węgla organicznego – BRWO (*biodegradable dissolved organic carbon* – BDOC).

Oznaczanie PWO metodą van der Kooija

Metoda ta [8] oparta jest na zjawisku limitowania wzrostu bakterii heterotroficznych przez stężenie związków organicznych, które wykorzystywane są jako substrat pokarmowy. Wiele podatnych na biodegradację związków organicznych pochodzenia naturalnego (aminokwasy, peptydy, kwasy tłuszczowe itp.) występuje w wodzie do picia w ekstremalnie niskich stężeniach. Stąd autorzy omawianej metody wybrali jako organizm testowy gatunek bakterii powszechnie występujący w środowisku wodnym, cechujący się zdolnością do pobierania różnorodnych źródeł węgla i energii oraz do wzrostu w ubogim siedlisku w obecności śladowych ilości substancji pokarmowych. Gatunek *Pseudomonas fluorescens*, wyizolowany z wody do picia i oznakowany jako szczep P17,

zastosowano jako pierwszy z proponowanych przez autorów mikroorganizmów wskaźnikowych.

Zawiesina tych bakterii, sporządzana przez splukanie 24-godzinnych kultur prowadzonych na skosach agarowych za pomocą 50 cm³ autoklawowanej wody wodociągowej z lub bez dodatku octanu sodu, służy jako *inoculum* dla kultur wstępnych. Hodowle wstępnie namnożone, przechowywane w temperaturze 6 °C, stanowią materiał do zaszczepiania próbek wody badanej na zawartość węgla organicznego, łatwo asymilowanego przez mikroflorę. Warunek, jakim jest dokładne usunięcie związków organicznych ze szkła stosowanego w badaniach, spełniony jest przez specjalny sposób przygotowania (mycie chromianką, płukanie gorącą wodą, ogrzewanie w temp. 250+300 °C przez noc). Próbkę wody o objętości 600 cm³ (pobrane z sieci lub różnych etapów procesu uzdatniania) pozbawia się występujących w nich żywych bakterii przez podgrzewanie w kolbach o pojemności 1 dm³ w temperaturze 60 °C przez 30 minut lub 2 godziny. Po ostudzeniu wodę zaszczepia się testowym gatunkiem bakterii tak, aby początkowa liczba komórek (N₀) wynosiła 50+500 w 1 dm³. Inkubację tak przygotowanych kultur prowadzi się w temperaturze 15 ± 1 °C, aż do osiągnięcia maksymalnej liczby komórek (N_{max}). Wzrost bakterii *Pseudomonas fluorescens* P17 kontroluje się codziennie, metodą płytkową, przy zastosowaniu techniki powierzchniowego rozsiwu 0,05 cm³ kultury na pożywcę agarowej. Płytki inkubowane są przez 40+48 godzin w temperaturze 25 °C, po czym liczy się wyrosłe kolonie.

Zasada oznaczania stężenia łatwo przyswajalnego węgla organicznego w tej metodzie oparta została na stwierdzonej eksperymentalnie zależności pomiędzy maksymalnym wzrostem (N_{max}), wyrażonym liczbą kolonii szczepu *P. fluorescens* P17, a ilością tej formy węgla w wodzie. Substratem, który zastosowano we wstępnych badaniach był octan sodu. Linio- wa zależność pomiędzy stężeniem tzw. „węgla octanowego” a maksymalną liczebnością bakterii wskaźnikowych jest słuszna dla ilości węgla octanowego w zakresie 5+50 mgC/m³.

Współczynnik przyrostu (Y) szczepu P17 w obecności octanu sodu wynosi 4,1·10⁹ komórek na 1 mg węgla octanowego. Zastosowanie tego współczynnika oraz maksymalnej liczebności komórek (kolonii) bakterii *P. fluorescens* otrzymanej w badanej próbce wody w trakcie hodowli pozwala na obliczenie zawartości w niej łatwo przyswajalnego węgla organicznego w postaci równoważnej ilości węgla octanowego w 1 dm³. Autorzy omawianej metody wyprowadzili później równanie pozwalające na obliczenie stężenia tej formy węgla [9]:

$$\frac{N_{\max} [\text{kom./cm}^3]}{Y [\text{kom./mgC}]} = \text{PWO} [\text{mgC/m}^3] \quad (1)$$

Modyfikacją tej metody jest zastosowanie przez jej twórców, obok szczepu *P. fluorescens* P17, równoległych oznaczeń węgla podatnego na biodegradację przy pomocy bakterii z rodzaju *Spirillum* NOX [9]. Organizm ten cechuje się zdolnością do zużywania innych związków (kwasów: mrówkowego, gliksalowego, szczawiowego), będących typowymi produktami pośrednimi rozpadu wysokocząsteczkowych związków węgla podczas ozonowania wody. Stężenie przyswajalnego węgla organicznego określa się wówczas jako sumę tej formy węgla obliczonej dla *Spirillum* NOX i *P. fluorescens* w wyżej podany sposób.

Testując różne rodzaje wody stwierdzono, że niskie stężenia biologicznie przyswajalnego węgla organicznego znacznie wydłużają okres inkubacji potrzebny do uzyskania maksymalnej liczby ($N_{\max}$) kolonii *P. fluorescens* P17 (np. przy 10 mg C/m^3 do miesiąca) [8]. Uniemożliwia to zastosowanie tej metody do szybkiej oceny podatności wody na wtórny rozwój mikroorganizmów. Nasuwa się również wątpliwość dotycząca procedury przygotowania próbki wody do badań. Ogrzewanie wody do temperatury 60°C przez 30 min nieszkodliwia wegetatywne formy bakterii, nie jest jednak wystarczające do zabicia ich przetrwalników, które zawierają szereg enzymów ciepłopornych, wytrzymujących ogrzewanie do temperatury 100°C . U niektórych gatunków bakterii krótkie ogrzewanie przetrwalników do temperatury około 100°C przyspiesza ich kiełkowanie. Stąd tok postępowania przyjęty w omawianej metodzie budzi obawę o możliwość rozwoju przetrwalników bakterii, zwykle obecnych w wodzie, podczas inkubacji zaszczonej wody. W wypadku dużej liczebności tych form w wodzie może to nie być obojętne dla całokształtu badań, zarówno ze względu na właściwą ocenę wzrostu, jak i utrudnienie odczytu z płytek (rozwój kolonii pełzających, rozlanych). Długi czas hodowli bakterii *Spirillum* NOX (w modyfikacji metody) na płytkach agarowych (do 10 dób w temp. 25°C), dla stwierdzenia zmian zagęszczenia komórek, świadczy o czasochłonności zastosowanych technik analitycznych. Prowadzenie badań opisywaną metodą wiąże się także z koniecznością hodowli w laboratorium czystych szczepów bakterii testowych oraz okresową ich kontrolą pod względem morfologicznym i fizjologicznym, co warunkuje ich przydatność w dalszych badaniach wody.

Oznaczanie PWO metodą Wernera

Metoda oceny potencjalnych możliwości wtórnego rozwoju mikroorganizmów w sieci wodociągowej, opracowana przez autorów pracy [10], oparta jest na określeniu zawartości w wodzie związków organicznych podatnych na biodegradację na podstawie szybkości wzrostu bakterii wodnych w hodowlach laboratoryjnych. Parametrami charakteryzującymi przyrost biomasy mikroorganizmów podczas testu są zmętnienie i ogólna liczba komórek oznaczana techniką mikroskopową.

Znaleziona liniowa zależność pomiędzy wzrostem mętności a przyrostem liczby komórek bakterii pozwoliła na zastosowanie pomiaru zmętnienia jako odpowiednika liczebności bakterii. Oznaczenie liczebności bakterii pod mikroskopem wykonywano jedynie na początku i pod koniec testu, natomiast pomiary mętności prowadzono z dużą częstotliwością (co 30 min w ciągu 60 h), co umożliwiło zautomatyzowanie tej czynności.

Nie tylko sposób oceny przyrostu zagęszczenia bakterii, ale i sama procedura przygotowania próbki wody i zaszczonej bakteriynego różnią się w sposób zasadniczy od stosowanej w metodzie van der Kooija. Próbką badanej wody jest wstępnie sterylizowana metodą filtracji przez filtr membranowy o porowatości $0,45 \mu\text{m}$ lub $0,2 \mu\text{m}$ (Nucleopore). Zatrzymana na filtrze naturalna mikroflora stanowi zaszczonek sporządzony przez splukanie bakterii z powierzchni filtru jałowym $0,9\%$ roztworem NaCl. Pozbawioną mikroorganizmów próbkę wody (275 cm^3) łączy się z jałowym roztworem soli w kuwecie turbidymetru o pojemności 300 cm^3 . Następnie dodaje się zaszczonek w ilości warunkującej uzyskanie początkowej, ogólnej liczby komórek $10^4 + 5 \cdot 10^4/\text{cm}^3$ (mętność $0,03 \text{ g/m}^3$). Zaszczonek próbek inkubuje się w temperaturze około 20°C przez 60 godzin.

Obserwowany wzrost populacji bakterii charakteryzuje się obecnością kolejnych faz wzrostowych, typowych dla hodowli płynnej (faza zastoju, faza logarytmicznego wzrostu, faza równowagi). Miarą szybkości przyrostu biomasy bakteryjnej (μ) jest nachylenie krzywej wzrostu w fazie logarytmicznej, zależne od rodzaju i stężenia substratu organicznego w wodzie. Niskie stężenia związków pokarmowych powodują zmniejszenie szybkości wzrostu (przedłuża się wiek generacji) oraz wydłużenie fazy logarytmicznego wzrostu. Szybkość przyrostu biomasy oblicza się z zależności [11]:

$$\mu = \frac{\ln \text{zmętn.}_2 - \ln \text{zmętn.}_1}{t_2 - t_1} \quad (2)$$

Wody, dla których szybkość wzrostu bakterii oznaczona metodą Wernera [10] była niska (np. $<0,15 \text{ h}^{-1}$), miały mniejszą predyspozycję do wtórnego namnażania się mikroorganizmów w sieci wodociągowej.

Omówiona metoda, przy precyzyjnym wykonaniu oznaczeń, pozwala uzyskać wynik w stosunkowo krótkim czasie, co niewątpliwie stanowi jej zaletę. Można jednak spodziewać się pewnych zakłóceń filtracji membranowej, a tym samym trudności w uzyskaniu odpowiedniego zaszczonek w wypadku badania wód o znacznej mętności i zawartości zawiesin. Pożądane byłoby więc zalecenie stosowania prefiltracji przez filtry membranowe o większej porowatości (np. $2\text{--}12 \mu\text{m}$) w takich okolicznościach. Technika wykonania całego badania nie wydaje się być bardzo skomplikowana, lecz wymagane zaangażowanie znacznej ilości sprzętu może stanowić utrudnienie przy jej wdrażaniu w krajowych laboratoriach terenowych.

Oznaczanie BRWO metodą Servaisa

Autorzy omawianej metody [12] posłużyli się dwiema technikami do określenia stężenia związków organicznych podatnych na rozkład mikrobiologiczny. Przygotowanie próbki wody jest w obu wypadkach podobne. Pobraną wodę sterylizuje się drogą filtracji przez filtr membranowy z octanu celulozy o porowatości $0,2 \mu\text{m}$. Zaszczonek są autochtoniczne bakterie występujące w badanej próbce wody. Przed pobraniem *inoculum* próbkę wody oczyszcza się z dużych cząstek zawiesin i pierwotniaków za pomocą filtracji przez sącze $2 \mu\text{m}$. Zaszczonek w ilości zazwyczaj $2\text{--}5 \text{ cm}^3$ dodaje się do $200\text{--}300 \text{ cm}^3$ wyjałowionej próbki wody. Inkubację prowadzi się przez $10\text{--}30$ dób w ciemności w temperaturze $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$.

Pomiar ilości węgla organicznego podatnego na biodegradację, w pierwszej z zaproponowanych przez Servaisa procedur [12], opiera się na określeniu przyrostu biomasy metodą mikroskopii epifluorescencyjnej z zastosowaniem barwienia

komórek oranżem akrydynowym. Liczebność bakterii oraz wielkość komórek oznacza się codziennie. Początkowo pomiary tych dokonywano za pomocą kalibrowanej siatki [12], później zastosowano mikrofotografię [13]. Biomasa bakteryjną określa się poprzez przeliczenie objętości komórek na ilość węgla przy użyciu współczynnika podanego przez Watsona: $1,2 \cdot 10^{-13} \text{ gC}/\mu\text{m}^3$.

Drugą techniką pomiaru, zalecaną przy niskich stężeniach węgla organicznego, jest włączanie metylowanej ^3H -tymidyny poprzez komórki bakterii, po wprowadzeniu do 100 cm^3 kultury $20 \mu\text{Ci}$ tego związku i inkubację w ciemności. Po okresie 10+20 godzin cała tymidyna jest pobierana przez kulturę bakterii i wbudowywana w makrocząsteczki komórkowe (głównie DNA). Radioaktywność bakteryjnego DNA mierzy się co kilkanaście godzin przez kilka dób. Zaobserwowaną szybkość zaniku ładowanego DNA przyjmuje się jako odpowiednik obumierania komórek bakterii. Spadek ten przebiega zgodnie z kinetyką reakcji pierwszego rzędu i charakteryzowany jest przez swoistą szybkość zamierania bakterii (K), wyrażoną w h^{-1} . Obumieranie jest równoważne produkcji biomasy bakteryjnej, limitowanej przez substrat pokarmowy, jakim jest węgiel organiczny podatny biodegradację.

Oceniając przydatność obu opisanych wyżej metod należy zwrócić uwagę na zastosowanie jakościowo zróżnicowanego naturalnego zaszczezu. Pozwala to uniknąć procedury sporządzania *inoculum* jako monokultury organizmu testowego, jak również konieczności adaptacji bakterii do biodegradowalnego węgla organicznego występującego w wodzie. Z drugiej strony mogą pojawić się trudności w uzyskaniu powtarzalności składu jakościowego zaszczezu, co może rzutować na wyniki badań.

Biorąc pod uwagę aspekt metodologiczny wydaje się, że zarówno pierwsza jak i druga procedura jest dość skomplikowana. Ponadto, dla wykonania oznaczenia konieczne jest zapewnienie odpowiednich warunków, wynikających ze specyfiki tych metod (ciemny pokój dla epifluorescencji, pracownia izotopowa). Z pewnością także aspekt ekonomiczny przy wdrażaniu do praktyki będzie miał tu większe znaczenie niż w przypadku pozostałych metod.

Oznaczanie BRWO metodą Joreta

Wspólną cechą opisanych poprzednio metod oznaczania przyswajalnego węgla organicznego w wodzie jest obserwacja wzrostu kolonii bakterii po dokonaniu posiewu na określonym podłożu. Stosowanie ich wymaga odpowiedniego specjalistycznego laboratorium mikrobiologicznego, co stanowi pewne ograniczenie stosowalności wspomnianych metod.

W praktyce usuwanie przyswajalnego węgla organicznego odbywa się dzięki aktywności mikroorganizmów immobilizowanych na fazie stałej – najczęściej w złożu filtrów powolnych lub wypełnionych granulowanym węglem aktywnym, a także filtrów pospiesznych [14]. Do tego zjawiska nawiązuje metoda oznaczania podatnego na biodegradację węgla organicznego. Metoda ta, opisana po raz pierwszy przez Joretę [14], opiera się na obserwacji ubytku rozpuszczonego węgla organicznego – RWO (*dissolved organic carbon* – DOC) w badanej wodzie poddanej na początku testu sterylizacji, a następnie inokulowanej florą bakteryjną charakterystyczną dla danej wody.

Jako *inoculum* służy piasek aktywny biologicznie (*biologically active sand* – BAS). W praktyce jest to piasek pobrany ze złoża filtracyjnego danej stacji uzdatniania wody.

Do pobierania próbek wody i jej inkubacji stosuje się szkło, z którego przez wyprażanie w temperaturze 400°C usuwa się związki organiczne. Piasek aktywny biologicznie pobrany z filtrów (stacja uzdatniania nie może stosować wstępnego chlorowania wody) przemywa się wielokrotnie wodą wodociągową, a następnie wodą destylowaną do momentu, kiedy w wodzie po przemyciu nie stwierdzi się obecności wykrywalnych ilości rozpuszczonego węgla organicznego. Tak przygotowany piasek dodaje się do próbki wody, w której poprzednio oznaczono zawartość rozpuszczonego węgla organicznego, oznacza się ponownie jego stężenie w badanej wodzie po dodaniu piasku aktywnego biologicznie i rozpoczyna się jej inkubację w stałej temperaturze (najczęściej 20°C), z jednoczesnym napowietrzaniem z określoną intensywnością.

W odstępach jednodniowych oznacza się w próbce wody zawartość rozpuszczonego węgla organicznego, aż do ustalenia się wartości minimalnej. Często z góry zakłada się czas trwania testu na 5 dób i oznacza się zawartość rozpuszczonego węgla organicznego na początku i po pięciu dobach. Próbkę wody przed wykonaniem oznaczenia rozpuszczonego węgla organicznego sączy się przez trzykrotnie przemyty wodą destylowaną sączek membranowy z polifluorku winylu (membrany z octanu celulozy wymagają zwiększenia wielokrotności przemywania). Wynik uzyskuje się przez odjęcie zawartości rozpuszczonego węgla organicznego na końcu testu od jego zawartości na początku:

$$\text{BRWO} = \text{RWO}_{t=0} - \text{RWO}_{\text{min}(t=n)} \quad (3)$$

Jak stwierdzają sami autorzy, test – z metodologicznego punktu widzenia – jest prosty, a *de facto* stanowi symulację zjawisk zachodzących na powierzchni rur wodociagowych [14]. Można jednak oczekiwać trudności w uzyskiwaniu powtarzalnych wyników wynikających z dwóch przyczyn:

- opanowania powtarzalności procedury przygotowania piasku i aparatury szklanej,
- uzyskiwania powtarzalności oznaczeń rozpuszczonego węgla organicznego.

Wdrożenie metodyki oznaczania węgla organicznego podatnego na biodegradację opisywaną metodą wykazało możliwość oznaczania tej formy węgla organicznego na poziomie czułości metody oznaczania ogólnego węgla organicznego, tj. $0,1 \text{ gC}/\text{m}^3$. Czasy inkubacji mieszczą się zazwyczaj w przedziale 4+6 dób i są wyznaczone eksperymentalnie na początku cyklu badań pilotujących [4,6]. Jednocześnie w różnych publikacjach stwierdza się, że samo oznaczenie węgla organicznego podatnego na biodegradację nie zawsze wystarczająco precyzyjnie określa podatność wody na wtórny rozwój mikroorganizmów w sieci wodociągowej. W związku z tym w badaniach pilotujących stosuje się oznaczenia podatnego na biodegradację węgla organicznego metodą Joreta z jednoczesnym zastosowaniem metod alternatywnych, np. oznaczania bakterii heterotroficznych hodowanych przez 2 i 7 dób na agarze odżywczym i agarze odżywczym wzbogaconym w temperaturach odpowiednio 35°C i $20+28^\circ\text{C}$ [4]. Alternatywą uzupełniającą oznaczenie biodegradowalnego węgla organicznego było oznaczenie przyswajalnego węgla organicznego metodą Wernera [6].

Podsumowanie

Zespoły prowadzące badania pilotujące, mające na celu wybór optymalnej technologii uzdatniania wody, dysponują obecnie szeregiem metod i ich modyfikacji pozwalających na śledzenie zawartości węgla organicznego podatnego na biodegradację w wodzie po poszczególnych procesach jednostkowych, a także w wodzie uzdatnionej. Otrzymywane wyniki wyrażane są najczęściej w mgC/m^3 , a w jednym przypadku wprost za pomocą szybkości wzrostu bakterii. Do wyniku dochodzi się różnymi drogami. W metodzie van der Kooija zawartość przyswajalnego węgla organicznego oblicza się w oparciu o współczynnik przyrostu określonego szczepu bakterii na $1 \mu\text{g}$ tej formy węgla, w metodzie Servaisa z liczebności bakterii w oparciu o współczynnik podany przez Watsona, a w metodzie Joreta zawartość biodegradowalnego węgla organicznego oblicza się w oparciu o oznaczenie ubytku rozpuszczonego węgla organicznego (ta ostatnia metoda jest też najmniej czuła).

Poszczególni autorzy są na ogół dość wstrzemięźliwi w interpretacji uzyskiwanych wyników. Częściej dokonuje się porównania zmian rozpuszczonego węgla organicznego lub biodegradowalnego węgla organicznego w przekroju procesu uzdatniania niż wyrokuje o podatności lub braku podatności wody na wtórny rozwój mikroorganizmów.

Omównione wyżej metody wymagają posiadania dobrze wyposażonego laboratorium bakteriologicznego, lub też – w wypadku metody Joreta – czułego aparatu do oznaczania rozpuszczonego węgla organicznego. Wybór metody oznaczania podatności wody na wtórny rozwój mikroorganizmów zależeć więc będzie najczęściej od wyposażenia laboratorium, w którym będą wykonywane oznaczenia. Do badań rutynowych najbardziej przydatna może okazać się metoda Joreta oznaczania węgla organicznego podatnego na biodegradację, uzupełniona np. oznaczaniem wtórnego rozwoju bakterii heterotroficznych hodowanych na specjalnych pożywkach agarowych.

LITERATURA

1. B. E. RITTMANN, P. M. HUCK: Biological treatment of public water supplies. Crit. Rev. in Envir. Control, 1989, Vol. 19, No. 2, pp. 119–189.
2. S. BIŁOZOR, J. NAWROCKI: Stabilność biologiczna wody do picia. Mat. konf. „Zaopatrzenie w wodę miast i wsi”, PZITS, Poznań, 1996, ss. 99–106.
3. P. A. HACKER, C. PASZKO-KOLVA, M. H. STEWART, R. L. WOLFE, E. G. MEANS III: Production and removal of assimilable organic carbon under pilot-plant conditions through the use of ozone and PEROXONE. Ozone Sci. & Engineering, 1994, Vol. 16, No. 3, pp. 197–212.
4. L. ALBIDRESS, J. HORWEDEL, G. HILL, J. BORCHARDT, D. PRICE: Effects of ozone on biodegradable dissolved organic carbon and heterotrophic plate counts in distribution system. Ozone Sci. & Engineering, 1995, Vol. 17, No. 3, pp. 283–296.
5. M. PREVOST, P. NIQUETTE, R.G. MACLEAN, D. THIBAUT, P. LAFRANCE, R. DESJARDINS: Removal of various biodegradable organic compounds by first stage and second stage filtration. Proc. of the 12th World Congress of the IOA, Lille 1995, pp. 531–546.
6. B. WRICKE, W. SCHMIDT, H. HEISER, H. PETZHOLD: Investigations on DOC removal by ozonation with subsequent biofiltration. Proc. of the International Conference of the IOA, Berlin 1997, pp. IV.1.1–IV.1.23.
7. O. GRIFFINI, M. BAO, K. BARBIERI, D. BURRINI, D. SANTANNI, F. PATNATANI: Pilot plant evaluation for the removal of ozonation by-products and production of biologically-stable water. Proc. of the International Conference of the IOA, Berlin 1997, pp. IV.5.1–IV.5.17.
8. D. van der KOOIJ, A. VISSER, W. A. M. HIJNEN: Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water. Journal AWWA, 1982, Vol. 74, No. 10, pp. 540–545.
9. D. van der KOOIJ, W. A. M. HIJNEN, J. C. KRUTHOF: The effects of ozonation, biological filtration and distribution on the concentration of easily assimilable organic carbon (AOC) in drinking water. Ozone Sci. & Engineering, 1989, Vol. 11, pp. 297–311.
10. P. WERNER, B. HAMBSCH: Investigations on the growth of bacteria in drinking water. Wat. Supply, 1986, Vol. 4, pp. 227–232.
11. W. KUNICKI-GOLDFINGER: Życie bakterii. PWN, Warszawa 1986.
12. P. SERVAIS, G. BILLEN, M.-C. HASCOËT: Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters. Water Res., 1987, Vol. 21, No. 4, pp. 445–450.
13. P. SERVAIS, G. BILLEN, P. BOUILLLOT: Biological colonization of granular activated carbon filters in drinking-water treatment. Journal of Environ. Engineering, 1994, Vol. 120, No. 4, pp. 888–899.
14. J. C. JORET, Y. LEVI, T. DUPIN, M. GILBERT: Rapid method for estimating bioeliminable organic carbon in water. Proc. AWWA Annual Conf., Orlando, FL, 1988, pp. 1715–1725.

Evaluating the Biodegradability of Organic Matter in Water

Biological stability of drinking water is an essential criterion of treatment efficiency, especially when the water to be treated contains large amounts of organic matter. While standardized analytical methods are available for the quantitative determination of many different unstable species (ammonia, nitrite, bisulfide ion, hydrogen bisulfide, thiosulfate, Fe(II) and Mn(II)), no such technique has been developed so far for the measurement of biodegradable organic matter. The paper includes a critical account of four analytical techniques which are in use now and enable evaluation of biodegradable organic matter. Thus, there is the van der Kooij method, which allows determination of easily assimilable organic carbon (AOC) by measuring the growth of the Pseudomonas fluorescens P17 strain. The method

proposed by Werner and Hambsch consists in measuring the turbidity produced by the regrowth of microorganisms which utilize biodegradable organic matter. Servais and co-workers developed an analytical technique providing measurements of bacterial growth either by epifluorescence or by incorporation of ^3H -thymidine. Joret and co-workers suggested a method in which biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) is estimated by daily measurements of dissolved organic carbon (DOC) in incubated water samples. According to the authors of the paper, the Joret method seems to be best suited for routine determinations, especially when supplemented by measuring the rate of heterotrophic bacteria regrowth.