

EGY MAGYARORSZÁGI ERŐMŰ VÍZELŐKÉSZÍTŐ ÜZEMÉNEK MIKROBIOLÓGIAI VIZSGÁLATA

Kéki Zsuzsa

Környezettudományi Doktori Iskola
Környezetbiológia Program

Témavezető: Majorosné Dr. Tóth Erika
ELTE Mikrobiológiai Tanszék

BEVEZETÉS

- Vízelőkészítő és víztisztító rendszerekben nagytisztaságú vizek - szerves és szervetlen molekulák csak nyomokban - oligotróf környezet
- Korróziós jelenségek
- Oligotróf szervezetek - biofilm képződés
- A biofilm egy határfelületen kialakuló, élő és elpusztult sejtek biopolimerjeiből, ásványi anyagokból és/vagy fémionokból álló, komplex mátrixba ágyazódott mikrobiális közösség
- Korábbi tenyésztéses és tenyésztéstől független vizsgálatok: vízköröket ellátó póttápvíz, csőrendszerek - biofilmek, vegyszerek, ioncserélő gyanták
- Korábbi vizsgálatok eredményei alapján: a vízben megjelenő mikrobák nagy része a nyersvízből, a vezetékek már meglévő biofilmjeiről, illetve a gyanta felszínéről származik

BEVEZETÉS

A KEVERTÁGYAS IONCSERÉLŐ GYANTA UTÁNI
CSŐSZAKASZON ÁRAMLÓ VÍZ PARAMÉTEREI

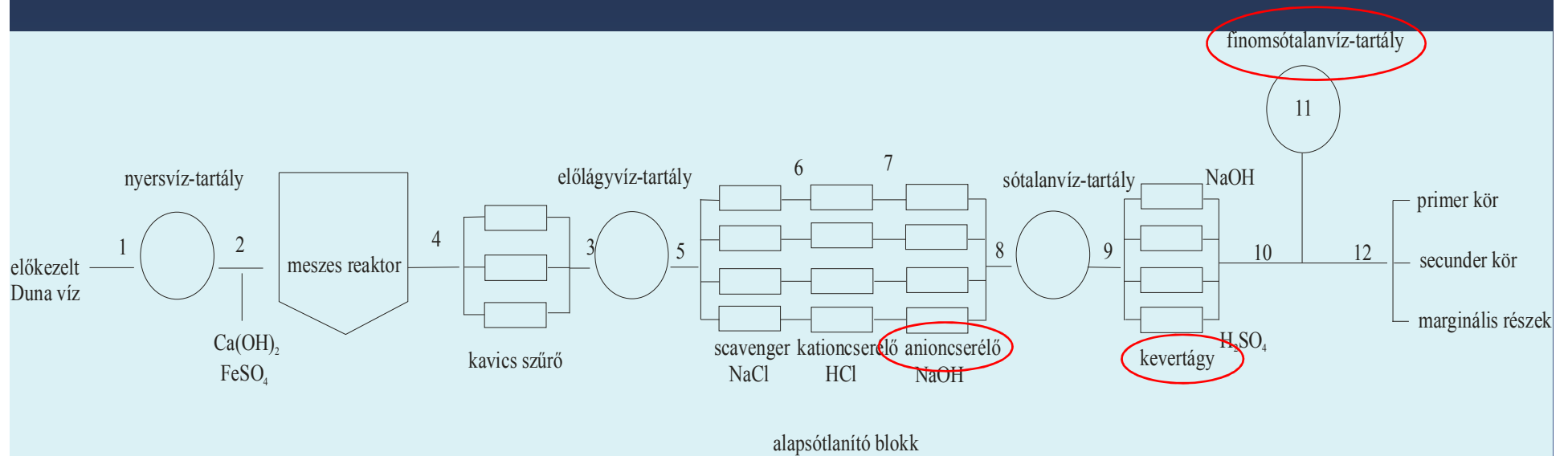
Összes keménység	0	mval/kg
Vastartalom	$(1-4) \times 10^{-3}$	mg/kg
Nátrium tartalom	0	mg/kg
Kálium tartalom	0	mg/kg
KMnO ₄ fogyasztás	0,2-6	mg/kg
Lebegő anyag tartalom	0	mg/kg
Nitrát tartalom	0	mg/kg
Szulfát tartalom	0	mg/kg
Klorid tartalom	$(1-3) \times 10^{-3}$	mg/kg
Szilikát tartalom	$(1-8) \times 10^{-3}$	mg/kg
Vezetőképesség	0,04-0,08	μS/cm

MUNKÁM CÉLJA

- „Kritikus pontok” és mintavételi gyakoriság meghatározása
- A vízelőkészítő üzem - mikrobafertőzöttség szempontjából - „kritikus pontjairól” származó vízminőség csíraszám, sejtszám meghatározása, valamint mikrobaközösségeinek összehasonlítása denaturáló grádiens gélelektroforézissel (DGGE)
- Biocidtesztek az üzem csőrendszerének biofilmjeiből származó baktériumtörzsekkel
- Hatékony módszer kidolgozása a vízelőkészítő üzem vízrendszerének mikrobamentesítésére: laboratóriumi modellrendszer felállítása, ioncserélő gyanták kezelése biociddal
- Az erőmű vízelőkészítő üzemének csőrendszeréből származó biofilmminták és ioncserélő gyanták felszínének pásztázó elektronmikroszkópos (SEM) vizsgálata
- oligotróf baktériumok tenyésztésére alkalmas speciális táptalajok kidolgozása

ANYAG ÉS MÓDSZER

ELŐZETES MINTAVÉTEL - DECEMBER



SEJTSZÁM MEGHATÁROZÁS - DAPI

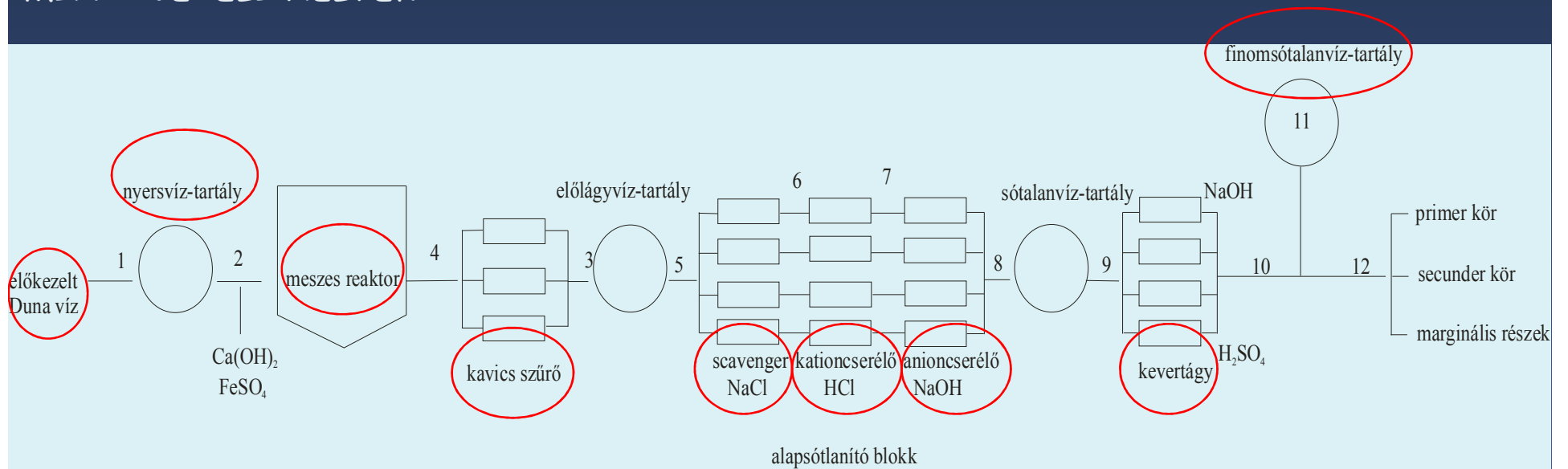
Víz minta - Sejtek fixálása 8%-os paraformaldehiddel - Szűrés $0,25 \mu\text{m}$ -es membránfilterrel - sejtek festése DAPI (diamino-fenilindol - $1 \mu\text{g}/\text{ml}$) - epifluoreszcens mikroszkópia (Nikon80i) - sejtszám meghatározás (Image Pro Plus)

DENATURÁLÓ GRÁDIENS GÉLELEKTROFORÉZIS - DGGE

DNS izolálás (Ultra Water Clean DNA Kit) - 16S rDNS amplifikálása (27f - 1492r) - nested PCR (338F GC kapocs - 519r) - DGGE - Kiértékelés (Foretics)

ANYAG ÉS MÓDSZER

MINTAVÉTELI HELYEK



SEJTSZÁM MÉRÉS - DAPI

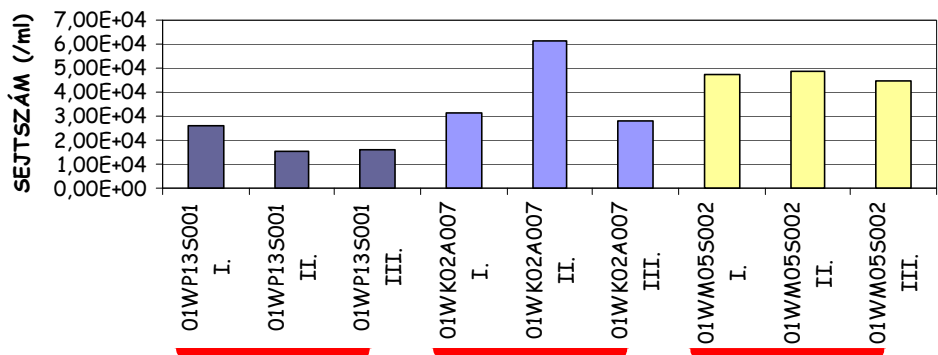
Víz minta - Sejtek fixálás 8%-os paraformaldehiddel - Szűrés 0,25 μm -es membránfilterrel -
 Hígítási sor - Direkt szétvetés - RZA táptalaj - csíraszám
 sejtes festés DAPI (diamino-fenilindol) - 100x-es nagyítással
 sejtszám meghatározás (Image Pro Plus)
 Nyomelem oldat - Vitamin oldat - Baktérium kivonat
 DETAJURALC BRAUNIGS GEARLEKZARFORZALS - DGGE

DNA vizsgálat (Ultra Water Filtration DNA Kit) - 16S rDNA amplifikáció (27F-1492R)-25sted
 PCR (338F GC kapocs - 519n) - DGGE - Kiértékelés (Foretiss)
 0,25 μm -es membránfilterrel - sejtek festése DAPI (diamino-fenilindol
 PÁSZTÁZÓ ELEKTRONMIKROSKOPOS VIZSGALAT - SEM
 Kémiai fixálás (5%-os glutaraldehid) - Előlagyasztás folyékony nitrogénben - Liotízálas -
 Arannyal történő színezés (Image Pro Plus) S-2600N)

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

SEJTSZÁM MEGHATÁROZÁS - DECEMBER

PAKS 2008 DECEMBER SEJTSZÁM

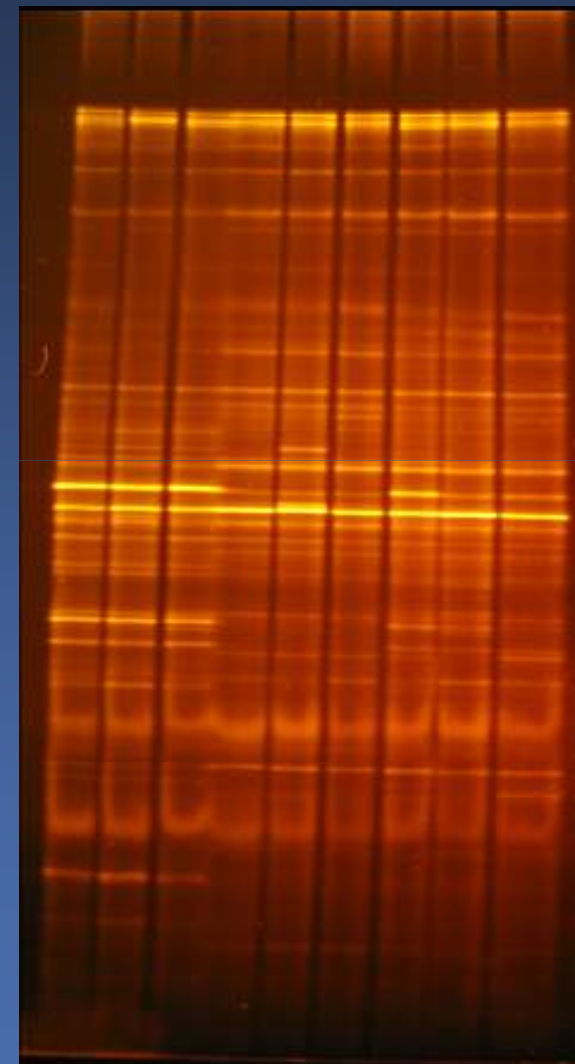
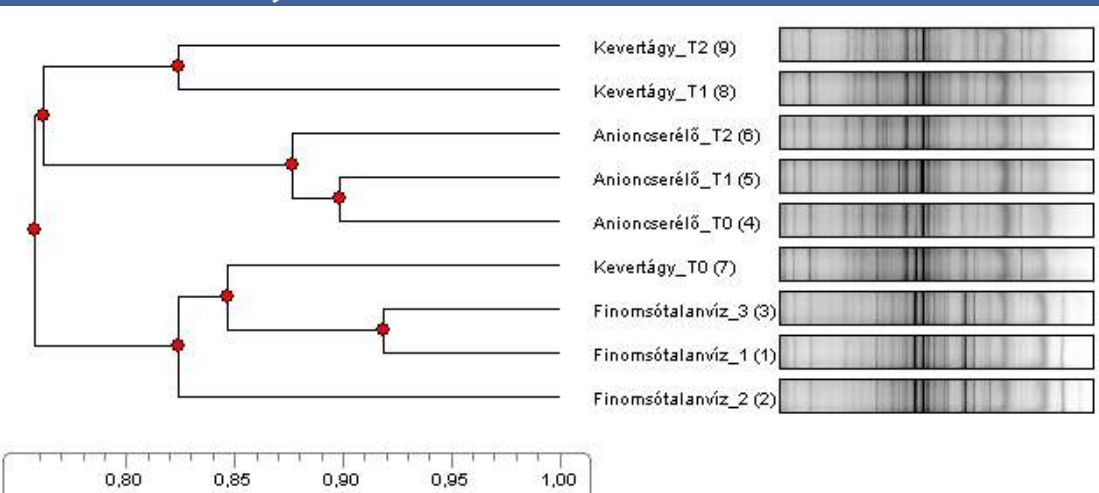


FINOMSÓTALANVÍZ

ANIONCSERÉLŐ

KEVERTÁGYAS IONCSERÉLŐ

DENATURÁLÓ GRÁDIENS GÉLELEKTROFORÉZIS (DGGE - DECEMBER) ALAPJÁN KÉSZÍTETT HASONLÓSÁGI FA

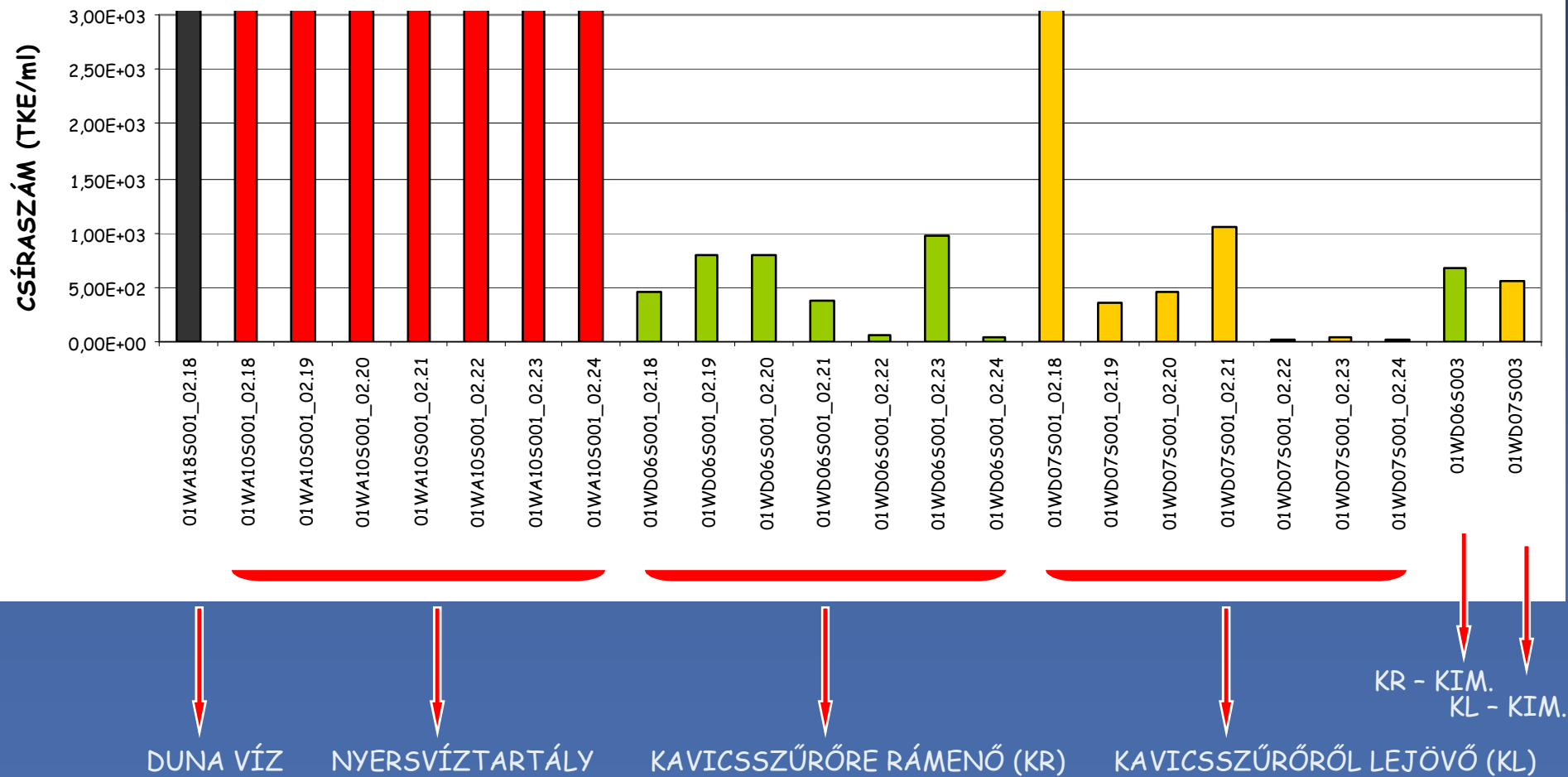


DGGE - gélfotó

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

CSÍRASZÁM BECSLÉS

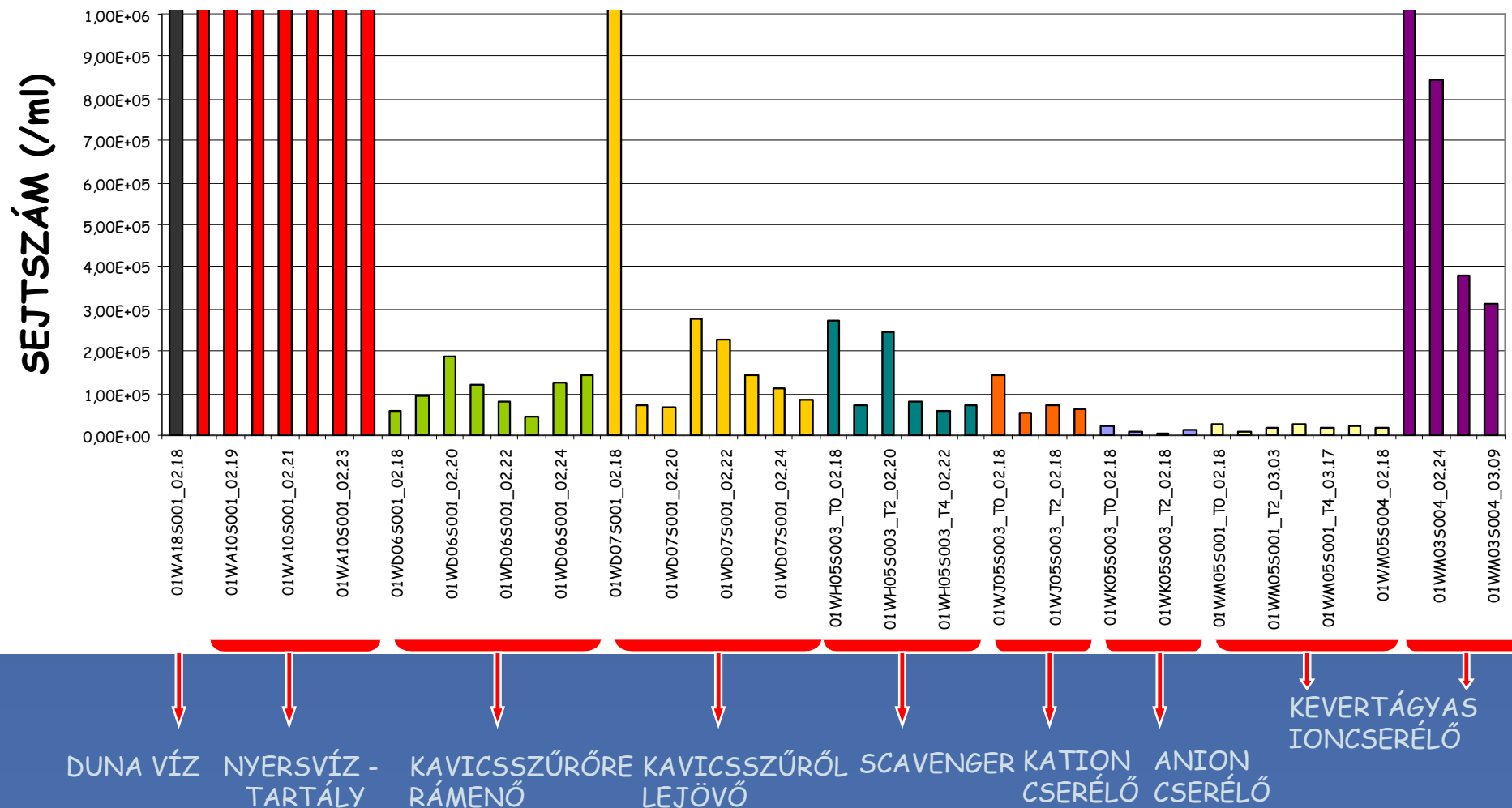
PAKS 2009 FEBRUÁR CSÍRASZÁM



EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

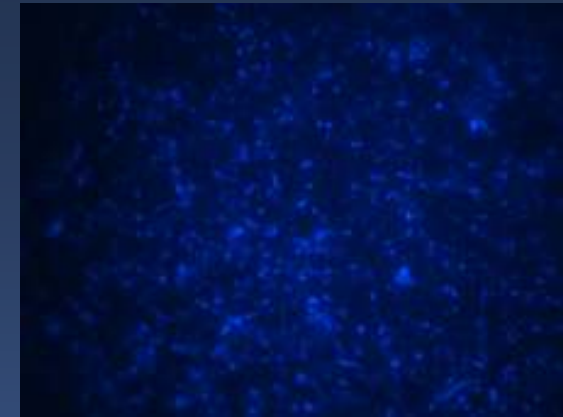
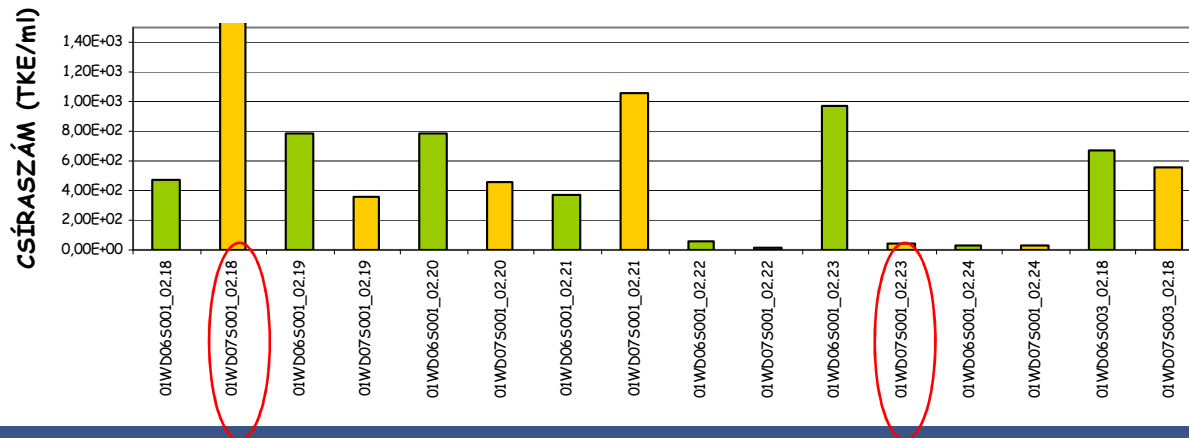
SEJTSZÁM MEGHATÁROZÁS

PAKS 2009 FEBRUÁR SEJTSZÁM



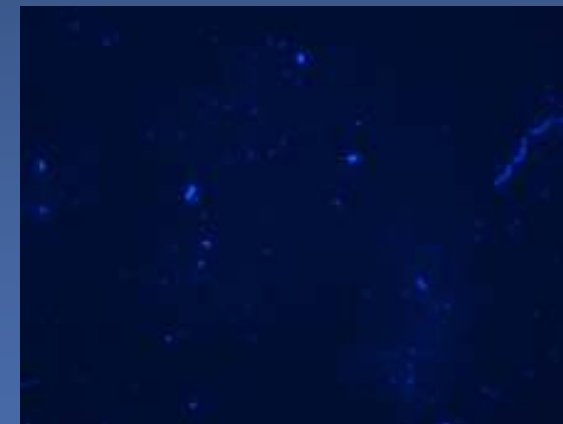
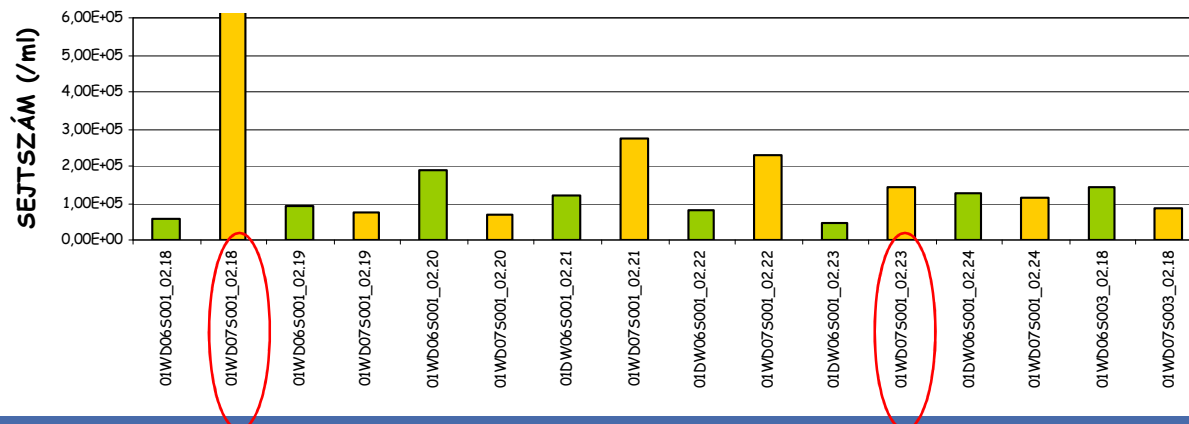
EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

PAKS 2009 FEBRUÁR KAVICSSZŰRŐ_CSÍRASZÁM



01WD07S001_02.18.
Kavicszűrőről lejövő víz - DAPI
festés - epifluoreszcens
mikroszkópos kép

PAKS 2009 FEBRUÁR KAVICSSZŰRŐ_SEJTSZÁM

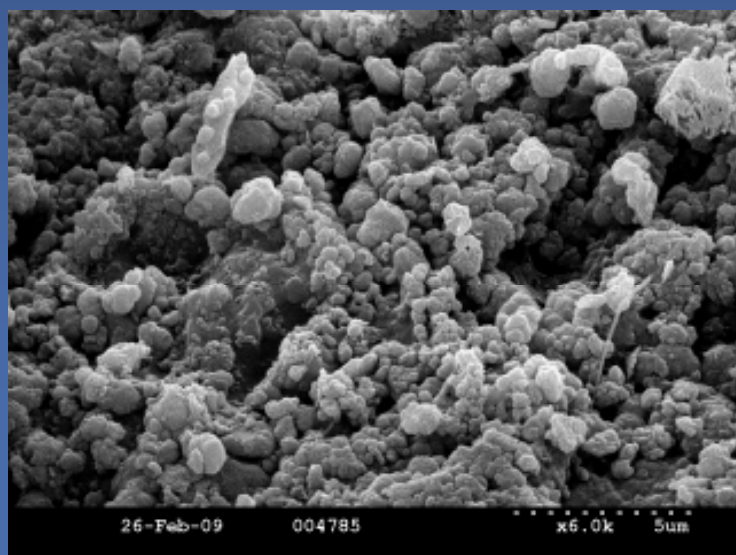
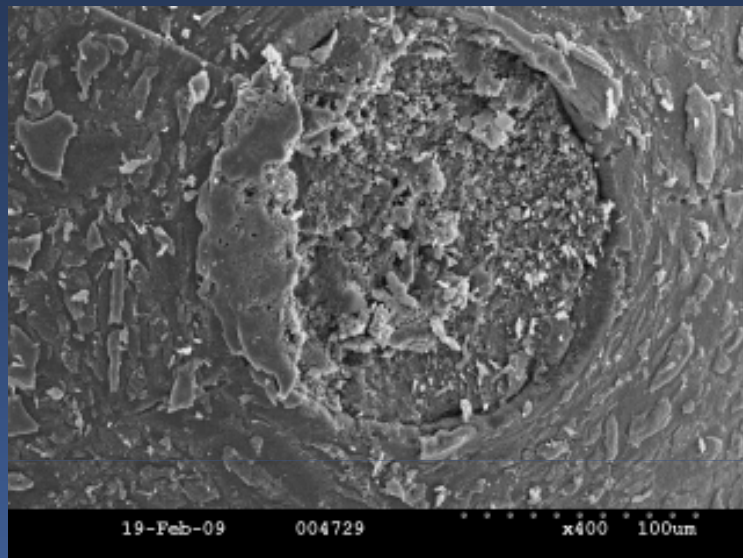


01WD07S001_02.23.
Kavicszűrőről lejövő víz - DAPI
festés - epifluoreszcens
mikroszkópos kép

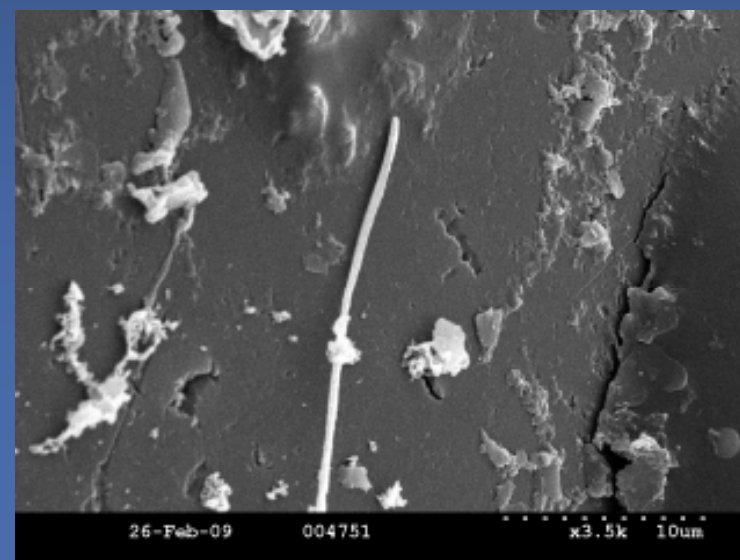
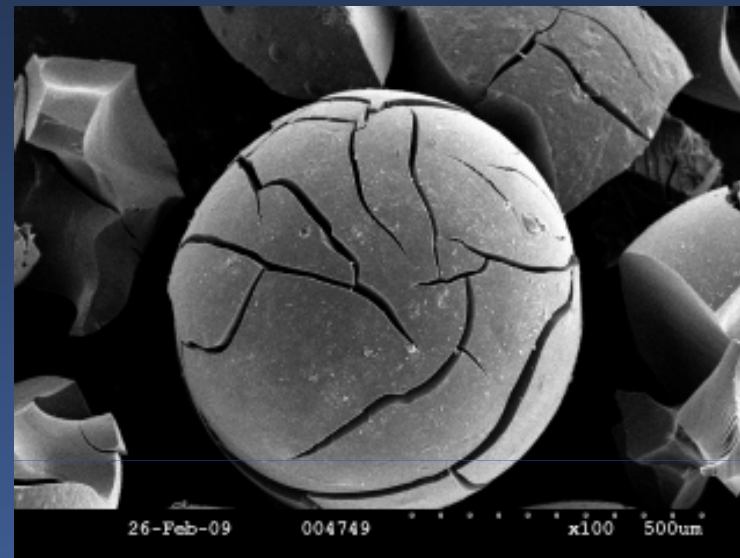
EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

PÁSZTÁZÓ ELEKTRONMIKROSKÓPOS VIZSGÁLATOK - SEM

SCAVENGER GYANTA

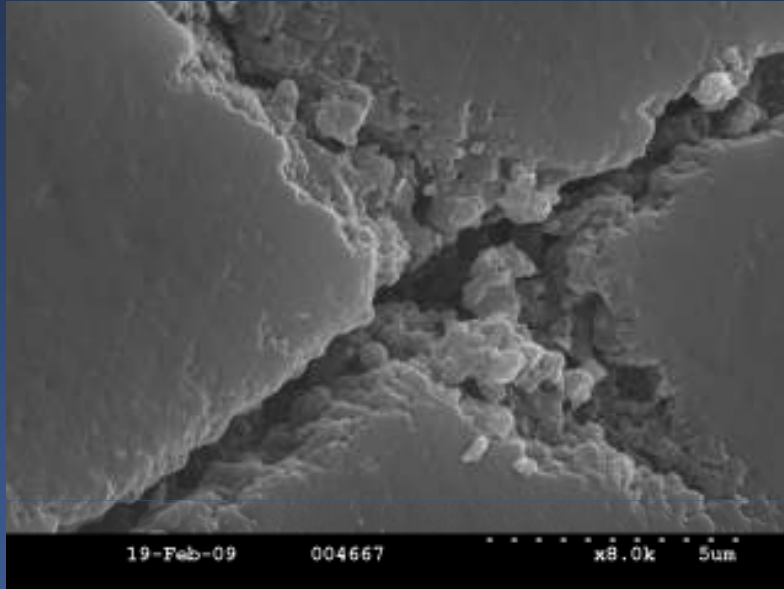


KATIONCSERÉLŐ GYANTA

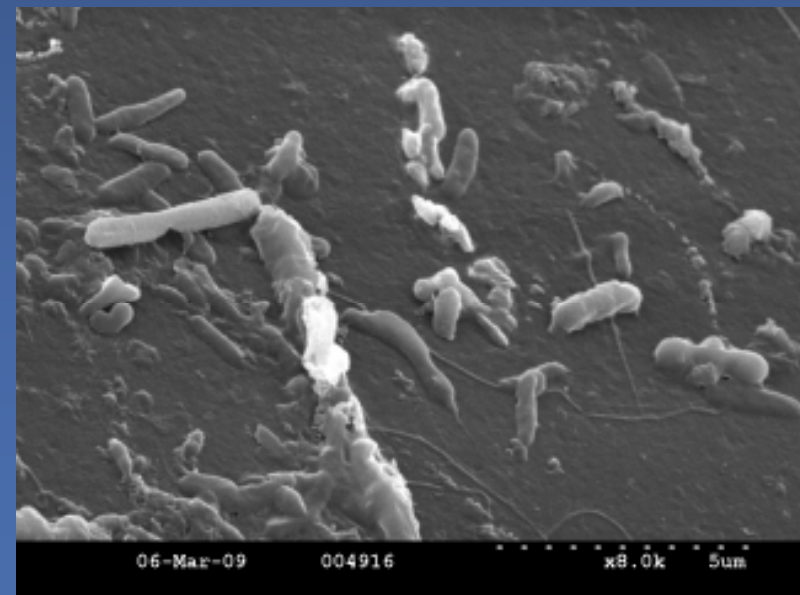
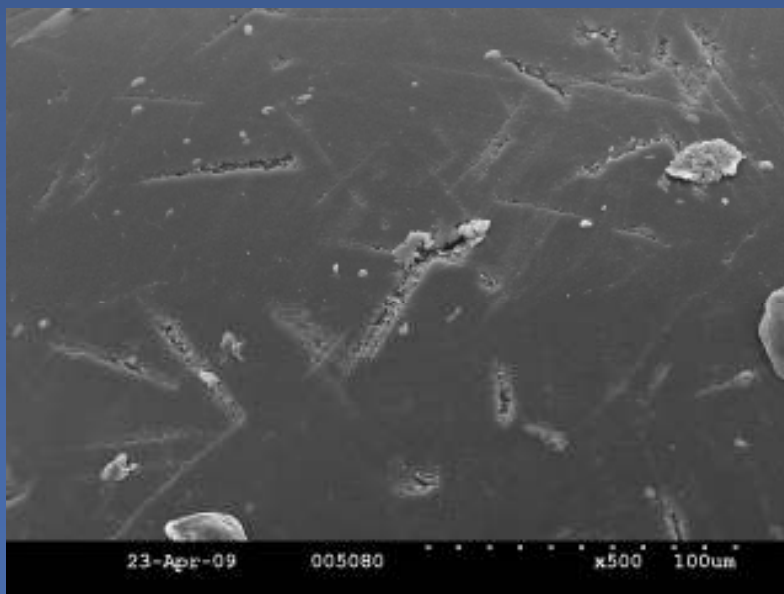
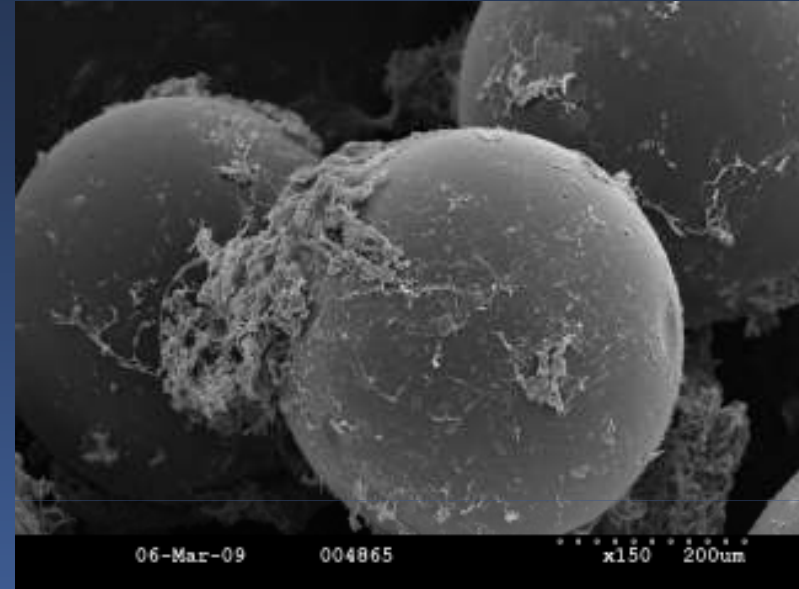


EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

ANIONCSERÉLŐ GYANTA

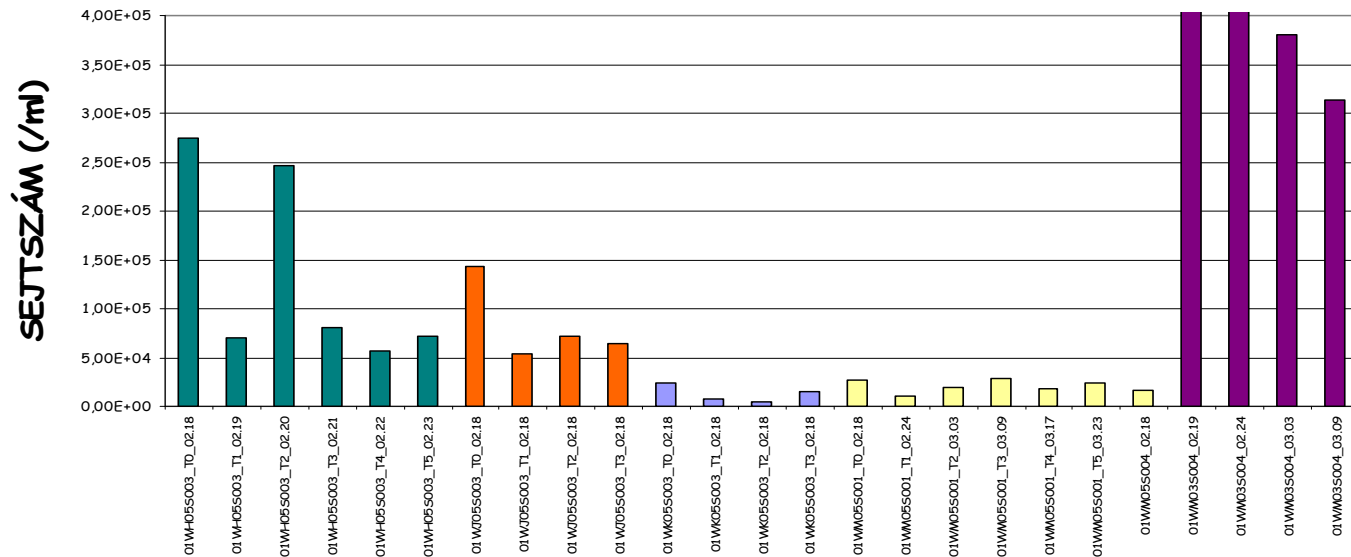


KEVERTÁGYAS IONCSERÉLŐ GYANTA



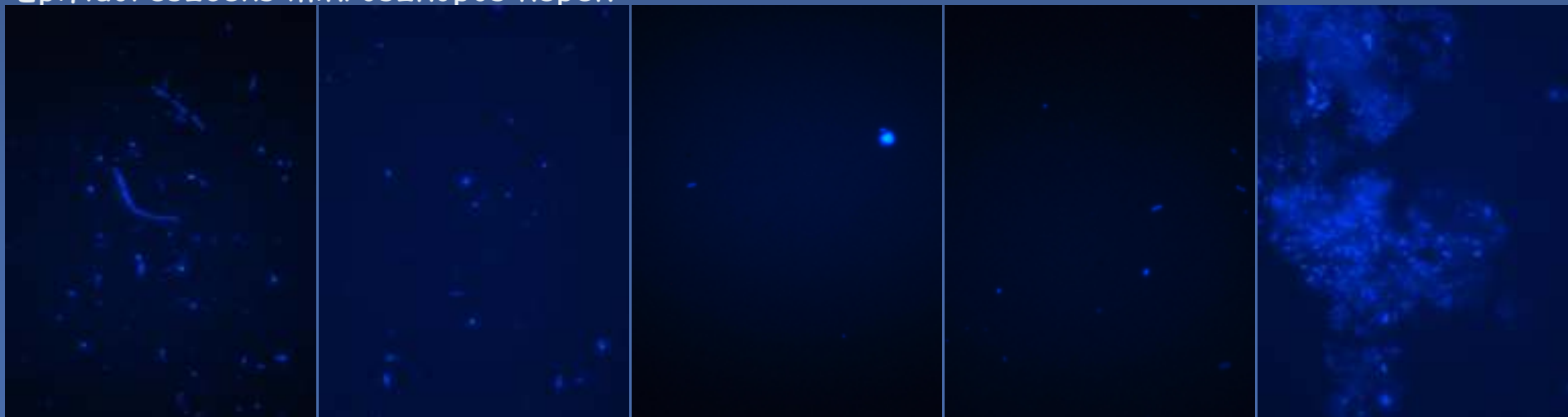
EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

PAKS 2009 FEBRUÁR IONCSERÉLŐK_SEJTSZÁM



- SCAVENGER
- KATIONCSERÉLŐ
- ANIONCSERÉLŐ
- KEVERTÁGYAS IONCSERÉLŐ
- KEVERTÁGYAS IONCSERÉLŐ LAZÍTÓVIZE

Epifluoreszcens mikroszkópos képek



SCAVENGER

KATIONCSERÉLŐ

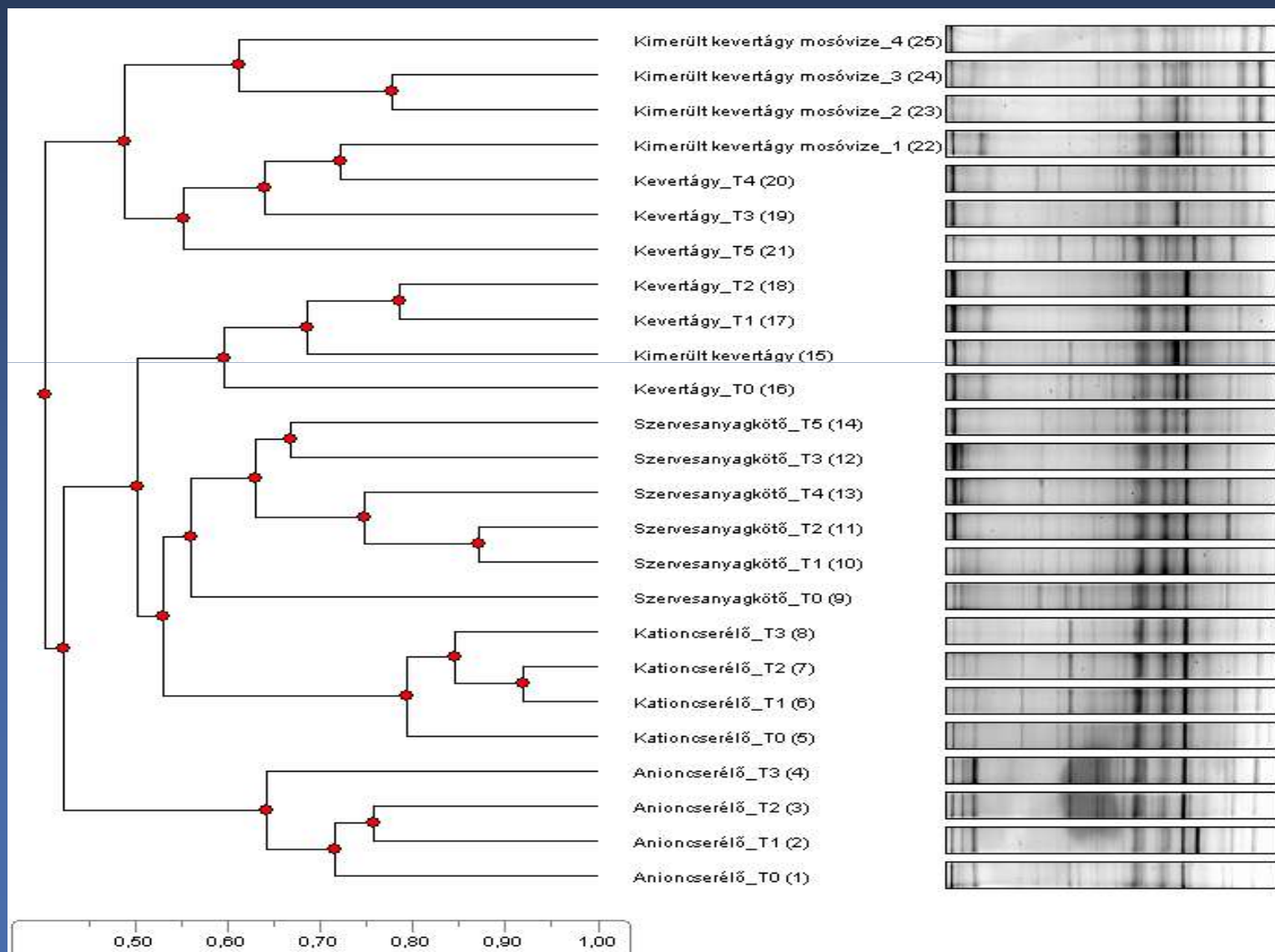
ANIONCSERÉLŐ

KEVERTÁGYAS IONCSERÉLŐ

UA. LAZÍTÓVIZE

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

DENATURÁLÓ GRÁDIENS GÉLELEKTROFORÉZIS (DGGE - FEBRUÁR) ALAPJÁN
KÉSZÍTETT HASONLÓSÁGI FA



ÖSSZEFOGLALÁS

- A vízelőkészítő üzem egyes pontjainál (kavicsszűrő, kevertágy) a rendszer fokozott mikrobaterhelését lehetett megállapítani
- Máshol jelentős csíra- és sejtszám csökkenést figyeltünk meg (meszes lágyító, anioncserélő) - erősen alkalikus pH (9-11)
- A mikroszkópos vizsgálatok (SEM) azt mutatják, hogy a gyanták sokszor töredeznek, minden gyantatípus felszínén találhatóak mikrobák, a gyantaszemek gyakran biofilm által kapcsolódnak, legterheltebbnek a kevertágyas gyanta tűnik
- A DGGE profilt illetően elmondható, hogy a különböző időpontokban vett vízmintákban fellelhető baktériumközösségek mintavételi helyenként egységesen csoportokba rendeződtek

TOVÁBBI CÉLJAINK

- A vízelőkészítő üzem csőrendszerében lévő biofilmből származó baktériumtörzsek tesztelése különböző biocidekkel
- Ioncserélő gyanták kezelése különböző hatóidőkkel és biocid koncentrációkkal - ezzel párhuzamosan a gyanták ioncserélő tulajdonságában biocid hatására bekövetkező esetleges változások monitorozása
- Laboratóriumi modellrendszer tesztelése biocid kezeléssel - az erőmű vízrendszerére adaptálható mikrobamentesítő eljárás kidolgozása
- A speciális táptalajokról nyert izolátumok csoportosítása (ARDRA), valamint a csoportreprezentánsok meghatározása 16S rDNS elemzés alapján

A bemutatott vizsgálatokkal párhuzamosan több, az erőmű ultra tiszta vizéből, illetve a budapesti ivóvízhálózatból származó, a tudomány számára új taxonok polifázikus taxonómiai vizsgálata is lezajlott, melyből nyert eredmények tudományos folyóiratban történő publikációja folyamatban van.

- *Tóth, E.M., Bohus, V., Kéki, Zs., Homonnay, Z.G., Schumann, P., Borsodi, A.K., Márialigeti, K.*

Hidropsixibacter pannonicus and *Hidropsixibacter pallens* gen. nov., sp. nov, 2 novel bacterium isolated from the ultra pure water of a power plant

- *Makk, J., Homonnay, Z.G., Márialigeti, K., Borsodi, A.K., Kéki, Zs., Schumann, P., Tóth, E.M.*

Tahibacter aquaticus gen. nov., sp. nov, a novel bacterium isolated from water distribution system of Budapest

- *Homonnay, Z.G., Makk, J., Márialigeti, K., Kéki, Zs., Schumann, P., Tóth, E.M.*

Brevibacterium aquaticum sp. nov, a novel bacterium isolated from water distribution system of Budapest

KÖSZÖNÖM A MEGTISZTELŐ
FIGYELMET