



MAGYAR AGRÁR- ÉS
ÉLETTUDOMÁNYI EGYETEM
ÉLELMISZERTUDOMÁNYI ÉS
TECHNOLÓGIAI INTÉZET

BIOFILM KÉPZŐDÉS VIZSGÁLATA ÍVÓVÍZHÁLÓZAT MODELLBEN

TDK-dolgozat

Erdei-Tombor Patrícia

Témavezetők: Dr. Kiskó Gabriella

Taczmanné dr. Brückner Andrea

Huzsvár Tamás

Budapest

2022

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	2
2. A MUNKA CÉLJA	4
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
3.1. Biofilmek	5
3.1.1. Biofilmek meghatározása és jelentőségük	5
3.1.2. Biofilmek kialakulása	5
3.2. Ivóvízelosztó rendszerek	7
3.2.1. Lehetséges problémák	8
3.2.2. Ivóvíz minőség mikrobiológiai vonatkozásai	10
3.2.3. Mikrobiális közösségek az ivóvízhálózatban	11
3.2.4. Ivóvízhálózatban lévő biofilmekkel kapcsolatos vizsgálatok	12
4. ANYAG ÉS MÓDSZER	15
4.1. Mikrobiológiai vizsgálatok	15
4.1.1. Felhasznált anyagok és eszközök	16
4.1.2. Alkalmazott tenyészetek	17
4.1.3. Előkísérlet	17
4.1.4. Biofilm képződés vizsgálata in vitro körülmények között	19
4.1.5. Modellezett ivóvízhálózat ellenőrzése	21
4.1.6. Biofilm képződés vizsgálata ivóvízhálózat modellben	22
4.2. Ivóvízhálózat modell	22
4.2.1. Modell felépítése	22
4.2.2. Monitoring rendszer	23
5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	27
5.1. Mikrobiológiai vizsgálatok eredményei és értékelésük	27
5.1.1. Előkísérlet eredményei	27
5.1.2. In vitro körülmények között végzett biofilm képződés vizsgálat eredményei	29
5.1.3. Ivóvízhálózat modell ellenőrzése	30
5.1.4. Biofilm képződés vizsgálata a modellben és eredményei	32
5.2.1. Monitoring rendszer	34
6. ÖSSZEFOGLALÁS	41
7. IRODALMI HIVATKOZÁS	43
8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	46

1. BEVEZETÉS

Napjainkban a tiszta, ivóvízminőségű vízhálózat meglete egyre szélesebb körben elterjedt, számtalan országban, városban már teljesen természetes, a mindennapi élet velejárója, elképzelhetetlen az élet nélküle. Hazánkban a lakott területeken többnyire jól kiépített, folyamatosan ellenőrzött, jó minőségű ivóvíz érhető el a hálózatokon keresztül.

Nem elég a jól kiépített ivóvízhálózat, a víz folyamatos ellenőrzése szükséges, valamint a hálózat karbantartása, amelyhez elengedhetetlen egy jól működő ellenőrző rendszer. A hálózatokban megtalálható csövek ellenőrzése és karbantartása egyaránt fontos, mert a csövek belső felszínén, ahol a vízzel érintkezik, kialakulhatnak biofilmek, különösen, ha sérült a belső felület, vagy érdes, amely elősegítheti a megtapadásukat. A rossz minőségű ivóvízben, vagy a már előregedett csövekben könnyen előfordulhatnak káros mikroorganizmusok, amelyek egymással kapcsolatot létesítve, majd közösséget alkotva elszaporodhatnak, és biofilmet képezhetnek, valamint káros anyagcseretermékeket választhatnak ki, amely eljutva a lakossághoz, komoly egészségügyi problémákat okozhat.

Munkám során a 135436 számú, „Biztonságos ivóvízellátó rendszerek” című Országos Tudományos Kutatási Alap által finanszírozott pályázathoz csatlakozhattam, ahol a biofilmek ivóvízhálózatban való tanulmányozása volt a téma. A pályázat során megépült egy ivóvízhálózat modell, amelyben tanulmányozhattam néhány héten keresztül a biofilm képződést. Az ivóvízhálózat modell két nagy egységből állt, egy átfolyó üzemű egységből, amely során a hálózatról az ivóvíz néhány másodpercet töltött el a rendszerben, majd belefolyt egyenesen a csatornába, míg a másik nagy egység egy keringetett üzemű egység volt, ahol nagy tartályból volumetrikus elven működő szivattyú keringette a vizet a zárt rendszeren belül. Magyarországon az ivóvíz hálózatok a kétüzemű keverékből állnak. A modell kemény polietilén (KPE) csövekből épült fel, amelyek a magyarországi ivóvízhálózatok nagyrésztében megtalálhatók.

A modell megépülése előtt in vitro körülmények között vizsgáltam csapvíz, valamint két baktérium biofilm képző tulajdonságait, majd a modell megépülése után pedig mind a kétféle üzemű egységben vizsgáltam a biofilm képződést.

A biofilm képződés vizsgálatán kívül a zárt rendszer monitoring rendszer kialakításának első lépéseiben részt vettem. A zárt rendszerben nyomásmérő szenzor ellenőrizte a rendszerműködését. A nyomásszenzor megfelelő hibadetektálását készítettem el, hiszen egy rendszer nyomon követése,

és hiba esetén azonnali jelzése nagyban megkönnyítette a rendszerben végzett vizsgálatokat abból a szempontból, hogy ha például szivárgás történne a zárt rendszerben, és ezt nem venném észre (mert nem jelezne a nyomás szenzor alapú monitoring rendszer), akkor a fenn állna a befertőződés veszélye és hamis eredmények születnének a biofilm képződéssel kapcsolatban.

2. A MUNKA CÉLJA

TDK dolgozatomban egyik célja az volt, hogy az ivóvízhálózat modellben megvizsgáljam a csapvíz biofilm képződését. Az ivóvízhálózat modell két különböző rendszerből állt, egy zárt, keringetett és egy átfolyó üzemből. A munkám egyik célja volt megvizsgálni, hogy van-e különbség a két rendszerben lévő ivóvíz biofilm képződése között. A másik fő célom egy monitoring rendszer magvalósítása volt, hogy a keringetett üzemi rendszert ellenőrizni tudjam és hiba esetén egy visszajelzést kapjak a rendszertől.

A munkám kezdetekor az első cél az volt, hogy megállapítsam az ivóvízhálózat modell elindulásához szükséges körülményeket, azaz meghatározni azt, hogy milyen feltételekkel érdemes elindítani a modellben lévő vizsgálatokat. Az első kísérlet sorozatában elsődlegesen a sima csapvíz által kialakított biofilm képződését szerettem volna nyomon követni. Másodlagos célom pedig az volt ezzel az első kísérlettel kapcsolatban, hogy megvizsgáljam in vitro körülmények között a *Pseudomonas brenneri* biofilm képző tulajdonságait, majd az eredmények ismeretében, vagy ugyanezzel folytatni, vagy másik baktériummal tovább vizsgálni. Továbbá fontos volt azt is megállapítani, hogy a hálózatban használt KPE csövekből készült lemezeknek milyen az optimális elhelyezkedése, valamint a szükséges vízmennyiség meghatározása is.

Az első kísérlet eredményeinek ismeretében a következő célom az volt, hogy megvizsgáljam, hogy a modellben használt KPE cső lemezek felületén egy hosszabb időintervallumban, 10 héten keresztül, hogyan alakul a biofilm állapota, különösen a csapvíz mikrobiotájának biofilm állapota. Emellett feladatul tűztem ki, hogy, a *Pseudomonas stutzeri*, szintén 10 héten át való vizsgálatával - in vitro körülmények között - megismerjem egy tipikusan biofilm képző mikroba tulajdonságait, mind a KPE lemezek felületén, mind az ivóvízben. A vizsgálat eredményeinek fényében kezdetét vehette az egyik fő célom megvalósítása: elindulhatott a modell és vizsgálhattam a csapvíz biofilm képződését a modell mindkét üzemi rendszerében.

Végül pedig megvalósíthattam a második fő célomat, a keringetett üzemi rendszer monitoring rendszerének kialakítását, amely nyomásszenzor segítségével az esetlegesen fellépő hibákat észlelte. A cél egy sikeres, jól működő monitoring rendszer kialakítása volt a megfelelő kóddal Spyder 5.3.3. Python programnyelvet használó szoftver segítségével, végül a rendszer ellenőrzése és hiba esetén nem csak a szoftverben, hanem üzenet – e-mail – formájában való értesítése.

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Biofilmek

3.1.1. Biofilmek meghatározása és jelentőségük

A szakirodalomban számos meghatározás található a biofilmekről, de lényegében mindegyik nagyon hasonló definíciót fogalmaz meg, mely szerint a biofilm a sejtek és extracelluláris termékeik felületéhez kapcsolódó biológiailag aktív mátrix (Bakke és munkatársai, 1984). Egy másik megfogalmazás szerint a mikroorganizmusok felülethez tapadt, az általuk termelt extracelluláris polimerben (továbbiakban: EPS – extracellular polymeric substance) rögzült, funkcionális társulás (Costerton és munkatársai, 1987). Egy harmadik definíció szerint szintén a mikrobák szilárd felületen történő tapadásán van a hangsúly, de kibővíti azt, nem csak megtapadnak, hanem szaporodnak, és az általuk termelt szerves polimereknek szerepe van a biofilm felépülésében (Allison és Sutherland, 1987).

A biofilmek heterogén, nem folytonos szerkezetűek, az anyagok felületén nem mutatnak egyenletes eloszlást. Mivel számos mikroorganizmus keverékéből állnak, a biofilmek mikrobiológiai aktivitása különböző aszerint, hogy milyen az aggregátumban elfoglalt pozíciójuk (pontosan hol találhatók a biofilmen belül, tápanyaghoz közel, segítve ezáltal a felszívódását vagy a felülethez közel, segítve ezáltal a megtapadást) (Block és munkatársai, 2003).

Biofilmek megtalálhatók a természetben, a kövek felszínén, a víz alatti felületeken, a természetes vizek és folyók medrében, az élő szervezetekben és az ipari környezetben is. Élelmiszeriparban jelentős higiéniai problémát okozhat, ha a gyártófelületeken és a berendezésekben jelennek meg biofilm rétegek. A biofilmet patogén mikrobák is alkothatják, ezáltal nemcsak üzemhigiéniai problémák, hanem komoly járványügyi gondok is megjelenhetnek, ezért folyamatos detektálásuk és eltávolításuk nehéz feladat a szakemberek számára (Pap, 2011).

3.1.2. Biofilmek kialakulása

Mikroorganizmusok kétféle állapotban fordulhatnak elő mind az ipari környezetben, mind pedig a természetben: szabadon lebegő (planktonikus) állapotban vagy felülethez kötötten. Előnyben részesítik a szilárd felülethez való megtapadást, mert nagyobb védelmet és jobb tápanyagellátást biztosít a planktonikus állapothoz képest. Kevés tápanyagot tartalmazó, áramló rendszerekben (pl. ivóvíz hálózat) nagyobb eséllyel alakul ki biofilm, mert a kiéhezett sejtek folyamatos tápanyagellátásban részesülhetnek a felületen megtapadva. A megtapadást segítve, sok mikroba

nyálkás poliszacharidot választ ki. A megtapadáson kívül a táplálkozásban és a hőingadozástól, valamint az antimikrobás szerekekkel szembeni védelemben is jelentős szerepe van a kiválasztott, ragadós, nyálkás poliszacharidnak. A poliszacharidok kémiai összetételét tekintve polidiolok is egyben, amely a hidrogén kötések kialakulását teszi lehetővé, illetve gyakran tartalmaznak aminocsoportokat, ezáltal a pozitív töltésüknek köszönhetően könnyen kötődnek a negatív töltésű felületekhez. A poliszacharidok láncai az amid- és hidroxilcsoportok között kialakuló hidrogénkötések által egy öntapadó vázat hoznak létre, mely segítségével a különféle mikroorganizmusokat is összeragasztják és magát a biofilmet pedig a felülethez ragasztják. Az így kiválasztott mátrixot nevezik EPS-nek (Pap, 2011).

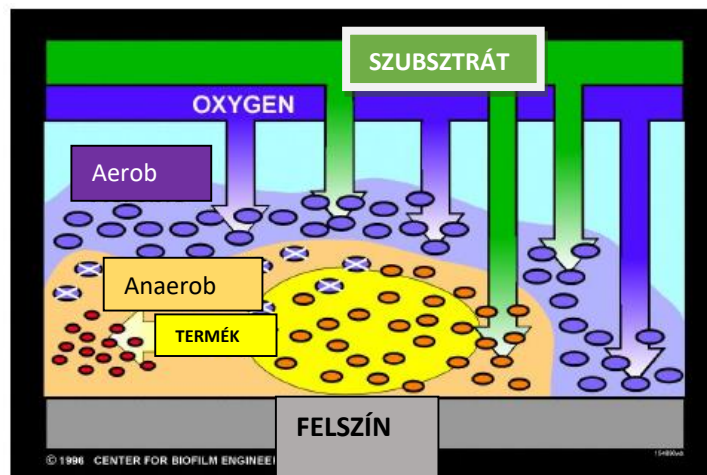
A berendezésekben, a csőrendszerek felületén fehérjék, szénhidrátok és egyéb szerves és szervetlen molekulák tapadnak meg (tápanyagban gazdag), és diffúzió illetve turbulens áramlás útján "kondicionáló film" alakul ki, amely előnyösen változtatja meg a felület elektronikus töltését és hidrofobicitását a biofilm számára. Ha a rendszerben jelen van áramló, vizes fázis, akkor a kondicionáló réteg tápanyag ellátottsága sokkal jobb a vizes fázishoz képest. Amint kialakult a kondicionáló réteg, a sejtek meg tudnak tapadni, de ez nagyban függ a tápanyag összetételétől. Egyes mikrobáknál a különböző fehérjék elősegítik a megtapadást. Egyes tanulmányok szerint például az albumin segíti a *Listeria monocytogenes* megtapadását (Al-Makhlafi és munkatársai, 1995), de gátló hatások is előfordulhatnak például szintén *Listeria monocytogenes* esetében a kazein gátló hatásáról számoltak be Helke és munkatársai (1993). Kialakulásukat nagyban befolyásolja még a felület anyaga és érdekessége (Pap, 2011).

A biofilmek kialakulásának következő lépése a mikrobák megtapadása, amely történhet fizikokémiai úton passzív vagy aktív adhézióval. A passzív adhézió hosszabb folyamat, de stabilabb, irreverzibilis megtapadást hoz létre, szemben az aktív adhézióval, amely gyengébb, reverzibilis. A kettő együtt is végbemehet ugyanazon a felületen, de a mikrobáktól függ, hogy melyik milyen mértékben következik be. Aktív adhéziónál elektrosztatikus erő, hidrofób kölcsönhatások és van der Waals kötések játszanak jelentős szerepet, míg a passzív adhéziónál gyenge kölcsönhatások: dipól-dipól kötések jellemzők, hidrogén kötések, ionos kötések kovalens kötések mellett. A felület tulajdonságai, mint a hidrofobitás, a hőmérséklet és a pH is hatással vannak a sejtek megtapadására (Fratanico és munkatársai, 2009; Pap, 2011; Grimaud és munkatársai, 2019).

A felületen megtapadt mikrobák szaporodásnak indulnak és úgynevezett mikrokolóniákat hoznak létre és megkezdődik az EPS kiválasztása, amely ténylegesen összetartja a biofilmet. Az első lépésként kialakuló kondicionáló film réteg és a mikrokörnyezet befolyásolja a kolóniák növekedését, az EPS kialakulásának sebességét és összetételét (Pap, 2011).

A tényleges biofilm kialakulásának következő állomása egy háromdimenziós mátrix kialakulása, melyet az EPS tart össze. A biofilm vastagsága eltérő, függően a tápanyag összetételtől, az alkotó mikrobáktól és az eltelt időtől. Az anyagcsere is változik a biofilmen belül, a felülethez közel anaerob anyagcserét folytató mikroorganizmusok, míg a vizes fázisban aerob anyagcserét végzők találhatók (1. ábra). A biofilmben élő mikrobák gátolhatják vagy segíthetik egymást (Pap, 2011).

A biofilm mátrix vastagodása véges, mert befolyásolja az így kialakult mikro környezetben lévő tápanyagok elérhetősége (hiánya vagy rendelkezésre állása) és a felhalmozódott anyagcsere termékek. A növekedés ezáltal egy idő után már nem lehetséges, azonban a felületen kialakult biofilmről leválhatnak kisebb-nagyobb darabok, rétegek és a bennük lévő mikroba közösség “tovább vándorolva” megtapadhat máshol, ezáltal tovább terjedhet az “eredeti” biofilm. Ezt a jelenséget nevezzük rekolonizációnak. A leválást főként környezeti hatások okozhatják, például turbulens áramlás, kémiai vegyszerekkel vagy fizikai módszerekkel végzett műveletek (Pap, 2011).



1. ábra: Különböző anyagcsere folyamatok a biofilmben (Pap, 2011)

3.2. Ivóvízelosztó rendszerek

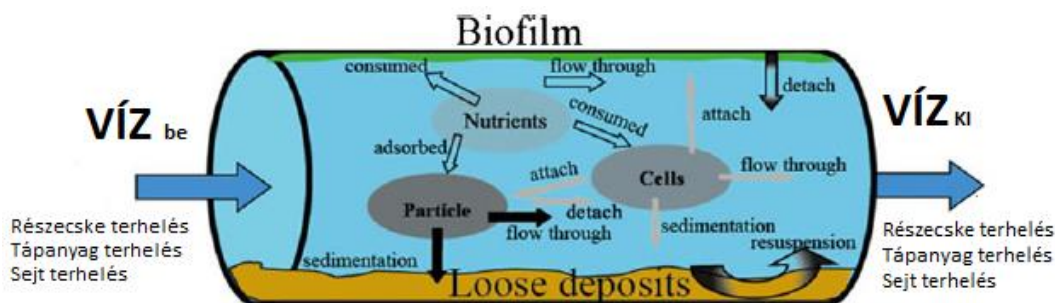
A szennyvíztisztítóból kikerülő, mikrobiológiai szempontból biztonságos ivóvíz több kilométer hosszú vezetékeken keresztül jut el a fogyasztóhoz. A vízelosztó rendszerben található csövek sok esetben biofilmmel vannak kibéelve, amiről a tudományos közösség azt gondolja, hogy

befolyással van a víz minőségre, azáltal, hogy baktériumokat juttat az ivóvízbe (Paul és munkatársai, 2019).

3.2.1. Lehetséges problémák

Ivóvíz hálózatok (későbbiekben: DWDS – drinking water distribution systems) tervezése és folyamatos ellenőrzése biztosítja a jó minőségű ivóvizet, fenntartva ezzel a lakosság fizikai erőnlétét (Sevda, 2021).

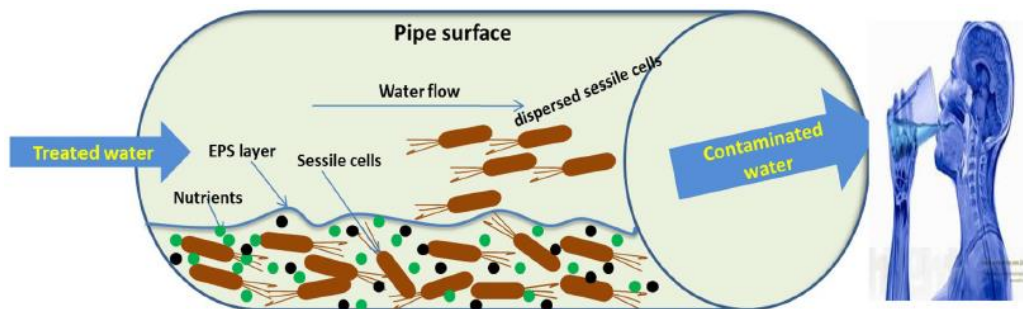
Számos tanulmány készült vízkezeléssel kapcsolatban, hozzájárulva a kezelt víz minőségének javításához. A jól kezelt ivóvíz a vízelosztó hálózaton keresztül a lakosság csapjaiba kerül. Nagy az egyetértés a tekintetben, hogy a vízművek végső célja a jó minőségű ivóvíz biztosítása nem csak a kezelés helyszínén, hanem természetesen a lakosság csapjaiban is. A DWDS-nek védelmi vonalként kell szolgálnia a folyamatos üzemeltetés és karbantartás mellett annak érdekében, hogy megelőzze az ivóvíz hálózatba kerülő mikroorganizmusok elszaporodását és szennyezését, mialatt eljut a fogyasztókhoz. A kezelt ivóvíz, mire eljut a lakossághoz az elosztórendszeren keresztül, számos terhelésnek van kitéve (2. ábra): fizikai terhelés (részecskék), mikrobiális terhelés (élő biomassza) és a tápanyagterhelés. Az ivóvízelosztó hálózatban végbe menő biológiai és a fizikokémiai folyamatok eredményeként a lakosság csapjaiból folyó ivóvíz gyengébb minőségű, mint a kezelés helyén. A DWDS-ek problémáit jelentős mértékben mikroorganizmusok okozzák, és ezek egymással alkotott közösségei, mint például a csőfalban biofilm növekedése, nitrifikáció, a hálózatban lévő cső anyagának biokorróziója, romlása, melynek hatására változik az ivóvíz illata és íze, valamint az opportunist, patogén mikroorganizmusok megjelenése. Az ivóvíz elosztás mikrobiális ökológiájának megértéséhez szükség van az innovatív és hatékony ellenőrzési stratégiák kidolgozására, melyek biztosítják a biztonságos és jó minőségű ivóvizet a végső fogyasztóknál (Liu és munkatársai, 2013).



2. ábra: Mikrobiális növekedéssel kapcsolatos folyamatok az ivóvíz elosztása során (Liu és munkatársai (2013) nyomán)

Számos tanulmány alapján a DWDS-ekben az alábbi fázisok találhatók meg: víz tömeg, lebegőanyag, csőfalon lévő biofilm és laza lerakódások. Az ömlesztett víz vívízközegnek minősül a tápanyagok, mikrobák és a részecskék számára az elosztó rendszerben. Ahogyan a víztömeg átfolyik a vízvezetéken, a belső felületén biofilm képződik, kialakul az úgynevezett csőfal biofilm. A részecskéket az egész hálózaton keresztül szállítja a víz, kolloidok és lebegő szilárd anyagok formájában, vagy laza szerkezetű lerakódásokként felhalmozódnak vagy leülepednek a cső alján. A gyakorlatban nehéz különbséget tenni a kolloidok és a lebegő szilárd anyagok között. Amikor a mintákat átszűrjük 0,5 µm vagy nagyobb szűrőn, a legtöbb kolloid átmegy a szűrőn és csak a lebegő anyagot mérjük. A 4. ábrán látható laza szerkezetű lerakódások normál hidraulikai nyomás alatt a cső aljára ülepednek. Hirtelen hidraulikus változtatások során (pl. tűzoltási műveletek, öblítés vagy cső törés) a laza lerakódások újra szuszpendálódhatnak és lebegő szilárd anyaggá válhatnak. A DWDS fizikokémiai folyamatai több fázisra is hatással lehetnek. Például az öntött vas csövek korróziója során részecskék szabadulnak fel, növelve ezáltal a zavarosságot, ugyanakkor az öntés során kialakult berakások kedveznek a csőfal biofilm képződésének (Liu és munkatársai, 2013).

Az egyik legnagyobb problémát a patogén kórokozók jelentik (3. ábra). A DWDS-ből származó káros mikrobák előfordulásának/megjelenésének megelőzése nehéz. A biofilm fejlődése meggátolható a fertőtlenítőszerrel, a csővezetékben lévő hidrodinamikai körülményekkel, vagy a felhasznált csővezeték anyagának megválasztásával. Biztosítani kell a megfelelő vízminőséget a szállítási hálózatokban, beleértve a háztartások közötti áramlást is. Vegyileg vagy biológiailag szennyezett ivóvíz fogyasztása számos higiéniai problémát okozhat az emberi szervezetben, különös tekintettel a veszélyeztetett csoportokra: újszülöttek, várandósok, idősek és az autoimmun betegségekben szenvedők (Sevda, 2021).



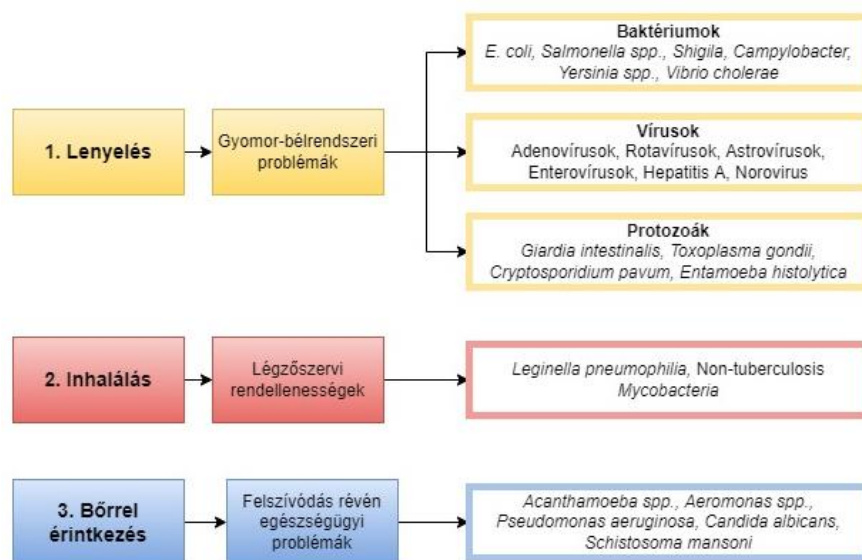
3. ábra: Biofilm képződés és diszpergált sejtek a DWDS-ben (Sevda, 2021)

3.2.2. Ivóvíz minőség mikrobiológiai vonatkozásai

A víz az élet alapvető feltétele, mégis sok ember a mai napig nem fér hozzá a biztonságos és ellenőrzött ivóvízhez, és sokan meghaltak és halnak meg a víz útján terjedő bakteriális fertőzések következtében. Például a gastroenteritis az egyik leggyakoribb betegség a víz útján terjedő fertőzések miatt. A kémiai szennyező anyagok szintén egészségügyi kockázatot jelentenek: hányás, tüdőirritáció, bőrbetegségek, szédülés, de szélsőséges esetben még halálos kimenetelű is lehet. Ennek ellenére, nem szükséges, hogy az ivóvíz teljesen tisztított legyen, tartalmazhat ártalmatlan és heterogén mikroorganizmusokat, melyek gyakran származnak diszpergált, levált biofilm sejtektől és levált biofilm darabokról. Emellett a baktériumok és vírusok okozta vízzel terjedő betegségek megjelenhetnek szennyezett í

Ivóvíz fogyasztása során és nem biztonságos vízben való emberi tevékenység során is, ideértve a fürdözést, vitorlázást és egyéb vízi sportokat. Szárazföldön végzett tevékenységek (föld felhasználása, fekális hulladékforrások) a fő okozói a patogén fajok vízben való elterjedésének. Továbbá, számos vízszennyező mikroba származik emberi és egyéb állati eredetű hulladékokból. A megfelelő kezelés hiányában a vízzel terjedő megbetegedések továbbra is súlyos egészségügyi problémákat fognak okozni (Sevda és munkatársai, 2021).

Az ivóvízhálózatban jelenlévő biofilm kiváltó oka az enterális kórokozók terjedésének és az ivóvíz szennyezésének. Ivóvízhálózatban a biofilm lényegében a mikrobás szennyezettség növekedésének okozója. Az embereket érintő egészségügyi kockázatok háromféleképpen jelenthetnek veszélyt (4. ábra): vízcseppek lenyelése illetve belélegzése zuhanyozás közben, és bőrrel érintkezve zuhanyozáskor vagy úszáskor (Speight és munkatársai, 2019).



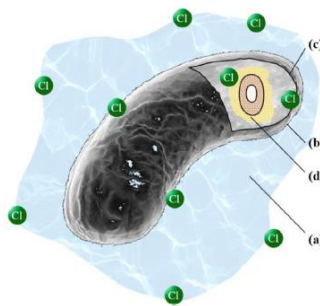
4. ábra: Vízrel terjedő kórokozók szervezetbe kerülésének módjai (Sevda és munkatársai, 2021 nyomán)

3.2.3. Mikrobiális közösségek az ivóvízhálózatban

A szakirodalom számos helyen kiemeli, hogy miért probléma a biofilm kialakulása, különösen az ivóvízhálózatban. Block és munkatársai (2003) különböző mikroorganizmusokat detektáltak az ivóvízelosztó rendszerben. Ők kifejezetten a patogén fajokkal foglalkoztak, mint például a *Pseudomonas*, *Helicobacter*, *Campylobacter*, *Flavobacterium*, *Legionella*, amelyek megtalálhatók voltak az ivóvízhálózat csövekben kialakult biofilmben. Ők is végeztek irodalmi kutatást, és arra jutottak, hogy ezek a baktériumok szimbiózisban élnek egymással, ezáltal nehéz az elpusztításuk. Kóliform baktériumok is megtalálhatók a hálózatban, mint az *Escherichia coli*, amely ráadásul ellenálló is. Előfordultak még *Cryptosporidium*, *Giardia* és enterovírusok is a hálózaton belül. Dacára annak, hogy a vírusoknak egy gazdaszervezetre van szükségük a szaporodáshoz, képesek a biofilmben életben maradni, mert túlélnek a vízben, túlélnek a vízkezelési módszereket, és ez által eljutnak a lakossághoz. Ebben az esetben a vízhálózzal, mint elosztó rendszerrel van a probléma, nem a szennyvíztározóval. *Helicobacter pylori*-t is találtak az ivóvízhálózatban, ráadásul ez a mikroba a példa rá, hogy nehéz megállapítani a mikroba patogenitását. Sok szakirodalom számolt be korábban már a *Helicobacter pylori* jelenlétéről (Hulten és munkatársai, 1998; Park és munkatársai, 2001; McKeown és munkatársai, 1999; Bunn és munkatársai, 2002) az

ivóvízhálózatban. Ez a mikroba szerepet játszik a krónikus gasztritisz, a gyomorrák és fekélyek kialakulásában.

A fent említett mikroorganizmusokon kívül még nagy problémát okoznak a klór rezisztens (chlorine resistant bacteria, továbbiakban: CRB) baktériumok megjelenése és terjedése az ivóvízhálózatban (Wu és munkatársai, 2021). A klóros fertőtlenítés ezeknél a baktériumoknál nem feltétlenül működik, ennek egyik magyarázata az EPS védelme a klórral szemben. Az ivóvízből izolált, leggyakrabban előforduló CRB-k nemzetségei a *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Legionella*, *Pseudomonas* és *Sphingomonas* voltak, amelyek mindegyike patogén vagy opportunista patogén baktérium volt. Az 5. ábrán látható a 4 celluláris permeabilitási gát, amely a klórral szemben alakul ki a klórrezisztencia érdekében az egyes baktériumoknál. A nem patogén CRB-t bizonyos mértékig figyelmen kívül lehet hagyni. Wu és munkatársai (2021) összegyűjtötték a CRB-k lehetséges detektálási módszereit, melyek közül az általuk javasolt módszer az alábbi volt: indexként logaritmusos eltávolítási ráta és *E. coli* referencia törzs alkalmazása 0,5; 2; 5 mg/L koncentrációjú tiszta klóros kezelés esetén 30 perc behatási időn keresztül. Az ajánlott fertőtlenítési körülmények között a nem túl súlyos inaktiváció (<1 log) és a nem teljes inaktiváció (<3 log csökkenés) a nagy klór rezisztenciájú és az alacsony klór rezisztenciájú baktériumok mennyiségi meghatározását tette lehetővé. Az ajánlott szabványmódszerrel összehasonlítható a klórrezisztencia értéke, amely nagy lehetőségeket rejt magában a klórrezisztencia elemzésére meghatározott fajok szintjén.

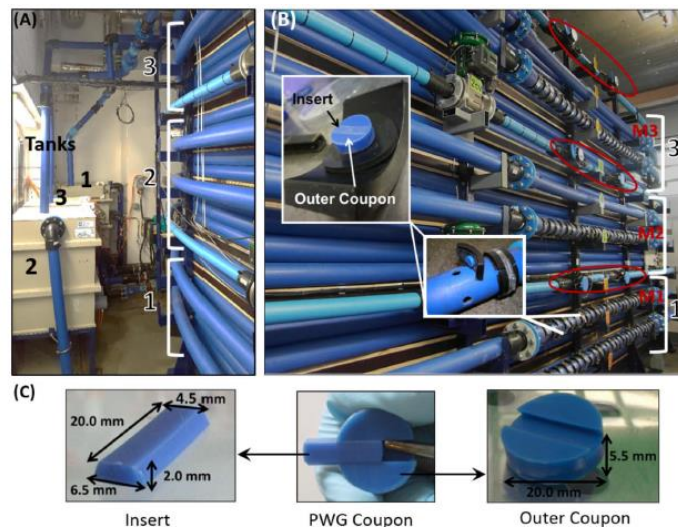


5. ábra: 4 sejtes permeábilis gát a klór ellen: a) EPS, b) sejtfal, c) sejtmembrán, d) spórát borító rétegek

3.2.4. Ivóvízhálózatban lévő biofilmekkel kapcsolatos vizsgálatok

Mivel az ivóvízelosztó rendszerekben állandó probléma a biofilm, már sok célzott vizsgálatot végeztek. Fish és Boxall (2018) létrehozta egy saját ivóvízhálózatot (6. ábra), amelyben figyelték a biofilm növekedését, csökkenését különböző kezelések mellett. Három független, 0,49 m³-es tartály és nagy sűrűségű, 200 m hosszú és 79,3 mm belső átmérőjű polietilén (HDPE) hurkokból

(A) állt, az egyes hurkokba PWG kuponokat (biofilm in situ elemzésére szolgáló eszköz) helyeztek be, az M1-M3 jelezték az on-line klórmérők helyét, piros körök jelezték a hidraulika vezérlésére használt áramlásmérők helyét és a PWG kuponok adatait is feltüntették (C). Vizsgálták magas, közepes és alacsony klór koncentráció mellett, és arra jutottak, hogy a klór koncentrációt növelve, csökkent a baktériumok száma, de a gombáké nem, azonban mindkét taxon szerkezetére és összetételére hatással volt a klór. A leggyakoribbak, az *Alfa*-, *béta*- és *gamma*-*proteobaktériumok* voltak, a gombák közül pedig az alábbi osztályok: *Sordariomycetes*, *Leotiomycetes*, és *Microbotryomycetes*. Mechanikai tisztítás során – öblítés - azonnal csökkent a baktériumok és gombák száma. A jelenséget az EPS eltávolításával magyarázták. Idővel újra elkezdtek szaporodni, ahogyan a biofilm “magához tér”. Tehát a mechanikai tisztítás (például öblítés) ugyanannyira hatékony, mint az agresszívabb tisztítás (például klóros tisztítás).



6. ábra: Ivóvízelosztó rendszer teszttelep, amelyben biofilmeket vizsgáltak (Fish, Boxall, 2018)

Liu és munkatársai (2020) szintén ivóvízelosztó rendszerben vizsgálták a biofilm képződést, de az ő kutatásuk 360°-os mintavételezéssel történt (a cső teljes belső felületéről, egy kör mentén) PVC-U, 110 mm átmérőjű, vízhálózatban használt cső belső felületéről. Mielőtt bevezették a vizet a hálózatba, levegőztetéssel, homokkal szűréssel, aktív szén szűréssel és UV fertőtlenítéssel kezelték a csőrendszert. Munkájuk során arra jutottak, hogy a biofilm eloszlása nem egyenletes a cső felületén. A cső felületét 16 részre és 3 szekcióra osztották, és megállapították, hogy a baktériumok közül a *Proteobacterium*-ok minden szekcióban megtalálhatók voltak, különösen a cső aljában.

Paul és munkatársai (2019) szintén biofilm képződést vizsgáltak ivóvízhálózatban. Szennyvíztisztító telepen ultraszűrővel (UF) kezelték a vizet és a vízben lévő baktériumok száma ez által $4.8 \times 10^5 \pm 1.7 \times 10^5$ sejt/ml koncentrációról $1,5 \times 10^3 \pm 0,5 \times 10^3$ -ra csökkent. A tisztítást követően a vízhálózatban elosztott vízben lévő baktériumok 58%-a származott a telepről, szemben a korábbi kutatási eredményekkel, ahol a baktériumok 99,5%-a származott a víztisztító telepről. Megállapították, hogy az ultraszűrő használata csökkenti a baktériumok számát, és azonosítást követően a biofilmben is más összetételben találhatók meg mikroorganizmusok. A tanulmány emellett beszámol az azonosítási lehetőségekről is.

Zhao és munkatársai (2014) vizsgálataik során arra a következtetésre jutottak, hogy foszfor, acetát- szén és glükóz jelenléte az ivóvízben fokozza a heterotróf baktériumok szaporodását és növekedését. 20-30°C-os víz az optimális a biofilm képződéshez, így a tanulmányban javasolják az ennél alacsonyabb vagy magasabb hőmérsékletet. A cső anyaga is jelentős mértékben befolyásolja a biofilm növekedését. A PVC-ből (polivinil-klorid) készült csőben több tenyésztethető sejtet találtak a rozsdamentes acélhoz képest a nagy felületi érdesség miatt, amelyek előnyösek voltak a mikroorganizmusok és tápanyagok megkötésében. A csövekben kialakuló áramlási sebességnek is nagy hatása van a biofilm képződésre: egyfelől a jobb tápanyag és oldott oxigén ellátottságot biztosít a mikroorganizmusoknak, másrészt az áramlással szállított fertőtlenítőszer gátolhatja a biofilm növekedését, valamint a folyadék nyírási sebessége megsértheti a friss biofilmeket.

4. ANYAG ÉS MÓDSZER

A mikrobiológiai vizsgálatokat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élelmiszer-mikrobiológia,-higiénia és -biztonság Tanszék laboratóriumában, az Ivóvízhálózat modell és annak monitoring rendszerével kapcsolatos méréseket pedig a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Hidrodinamikai Rendszerek Tanszék laboratóriumában végeztem el.

A TDK dolgozatom a méréseket tekintve 2 nagy részből állt: egy mikrobiológiai vizsgálatokból álló részből, melynek fő célja az volt, hogy egy biofilm képződést vizsgáló, modell ivóvízhálózathoz szükséges adatokat tárjam fel, meghatározzam a szükséges baktériumot és annak biofilm képzését, valamint megvizsgáljam az ivóvíz mikrobiótáját és a biofilm képzését.

A TDK dolgozatom második része egy ivóvízhálózat modellről és a vele való mérésekből állt, melynek fő célja a rendszer nyomon követése, és hiba észlelésének meghatározása keringetett üzemű vízhálózatban, monitoring rendszer segítségével.

4.1. Mikrobiológiai vizsgálatok

A mikrobiológiai vizsgálatok elsődleges célja az volt, hogy megvizsgáljam a vízvezetékben felhasznált csővezetékéből kivágott lemezeket (továbbiakban cső lemezek), hogy milyen tenyésztettel érdemes dolgozni és magát a tenyészet viselkedését, szaporodását, pusztulást. További fontos cél volt a csapvíz biofilm képzésének vizsgálata is.

Először egy előkísérlettel kezdtem, mely során a vízvezetékben felhasznált modell cső lemez pozícióját és a szükséges víz mennyiséget kívántam ellenőrizni, valamint azt, hogy a csapvíz mikrobiótája illetve a beoltással hozzáadott *Pseudomonas brenneri* milyen biofilmet képez a lemezek felületén, előkészítve ezzel egy következő, hosszabb (több hónapot felölelő) vizsgálatot.

Az előkísérlet eredményei alapján elvégeztem egy 10 hetes mérést, mely során a biofilm képződést vizsgáltam meg vízvezetékben használt modell cső lemezeken. A biofilm képződés vizsgálata során csapvíz és *Pseudomonas stutzeri*-vel beoltott csapvíz mikrobióta változását és a lemezek felületén képződő biofilmet követtem nyomon.

A 10 hetes mérést követően időközben a rendszer is összeállt a BME Hidrodinamikai Rendszerek Tanszékén és a beépített, vízvezetékrendszerből kivett cső szegmens belső felületén a mikrobaszaporodást ellenőriztem, megvizsgálva az akkor 2 hete tartályban lévő víz mikrobiótáját, hogy szükséges-e egy alapos átmosás a vizsgálat előtt vagy elindulhat a mérés.

4.1.1. Felhasznált anyagok és eszközök

Az előkísérlethez az alábbi anyagokat és eszközöket használtam fel:

- Peptonvíz/hígítófolyadék (0,1% pepton, 0,85% nátrium-klorid, desztillált víz)
- R2A tápagar (1,5% bakterológiai agar, 0,05% élesztő kivonat, 0,05% pepton, 0,05% kazein-hidrolizátum, 0,05% glükóz, 0,05% keményítő, 0,03% dikálium-foszfát, 0,0024% magnézium-szulfát, desztillált víz)
- Cetrimid tápagar (LAB 133 Cetrimide agar, desztillált víz)
- steril desztillált víz
- MATE Élelmiszer-mikrobiológia, -higiénia és -biztonság Tanszék, csapvíz
- felületi fertőtlenítőszer
- Petri csésze
- kisebb üveg (200 ml)
- befőttes üveg (500 ml)
- KPE - kemény polietilén, ivóvízhálózatban megtalálható csővezeték darabok (továbbiakban lemezek, átlagosan 13,5 cm² felületű darabok)
- steril mintavevő tampon

Biofilm képződés vizsgálta KPE lemezeken mérésekhez ugyanazokat az anyagokat és eszközöket használtam fel, mint az előkísérlethez, csak ebben az esetben a lemezeket már csak 200 ml-es üvegekbe helyeztem el.

A modell ivóvízhálózat mikrobiológiai vizsgálatához pedig az alábbi anyagokat és eszközöket használtam fel:

- Peptonvíz/hígítófolyadék (0,1% pepton, 0,85% nátrium-klorid, desztillált víz)
- R2A tápagar (1,5% bakterológiai agar, 0,05% élesztő kivonat, 0,05% pepton, 0,05% kazein-hidrolizátum, 0,05% glükóz, 0,05% keményítő, 0,03% dikálium-foszfát, 0,0024% magnézium-szulfát, desztillált víz)
- Petri csésze
- KPE - kemény polietilén, ivóvízhálózatban megtalálható csővezeték darabok (szegmens)
- steril mintavevő tampon

Minden elkészített oldatot, táptalajt és eszközt (a KPE csöveket és lemezdarabokat leszámítva) autoklávban 121 °C-on 20 percig sterilizáltam, a KPE lemezek felültét pedig a vizsgálatok

megkezdése előtt felületi fertőtlenítőszerrel kezeltem. A csőszegmensek gyári állapotukban, vagy a biofilm vizsgálat után fertőtlenítés és mosás után kerültek beépítésre a modell rendszerbe.

4.1.2. Alkalmazott tenyészetek

Az előkísérlethez *Pseudomonas brenneri* baktérium törzssel dolgoztam, amely egy Gram-negatív, pálcika alakú, fluoreszkáló, mozgékony baktérium, egyetlen poláris flagellával, amelyet Franciaországban természetes ásványvizekből izoláltak és megtalálható ivóvízhálózatokban is (Izard és munkatársai, 2001). Az előkísérlet során ez a baktérium gyengének bizonyult, nem képzett biofilmet, ezért a biofilm képződés vizsgálatához másik baktériummal dolgoztam.

A biofilm képződés vizsgálatához *Pseudomonas stutzeri* baktérium törzssel dolgoztam, amely szintén egy Gram-negatív pálcika alakú talajban előforduló baktérium, mozgékony, egyetlen poláris flagellummal rendelkezik. Pap Kata (2011) doktori értekezésében szintén ezzel a baktériummal dolgozott és jó biofilm képző tulajdonságairól számolt be, ezért választottam én is. A baktérium klinikai körülmények között opportunista kórokozó. Elsősorban olyan egyénekben okoz fertőzést, akik már valamilyen betegségben szenvednek. A fertőzötteken belül a *P. stutzeri* törzseket izolálták a vérből, a székletből, a gerincvelői folyadékból, a fülből, a szemből és a szervrendszerekből (például légzőrendszerből és vizeletből). Amikor ennek a baktériumnak a törzseit fedezik fel fertőzött betegekben, gyakran más patogén mikrobák kísérik őket. Míg a *P. stutzeri* számos fertőzést okozott felfedezése óta, azonban kevés halálesetet okozott, így sokkal alacsonyabb a virulencia besorolása a többi *Pseudomonas* fajhoz, például a *Pseudomonas aeruginosa*-hoz képest. Ennek ellenére azonban ez a baktérium továbbra is veszélyt jelent az emberi egészségre, mivel számos antibiotikum-rezisztencia mechanizmust tartalmaz. Valójában a *P. stutzeri* olyan sok rezisztencia mechanizmussal rendelkezik, hogy a fluorokinolonok kivételével szinte minden antibiotikumcsaládban felfedeztek és izoláltak antibiotikum-rezisztens *P. stutzeri* törzseket. A törzsek számos helyen előfordulhatnak, mert gyakran szerves anyagokkal táplálkoznak, így az ivóvízhálózatban a biofilm részeként is megtalálhatók (Chakraborty és munkatársai, 2017).

4.1.3. Előkísérlet

A vizsgálatnak 3 fő célja volt:

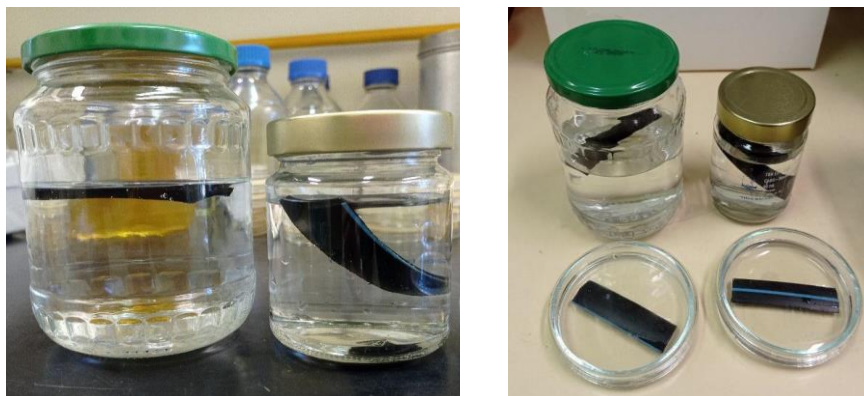
- A csapvíz saját mikrobiótája milyen biofilmet hoz létre,

- lemezek elhelyezkedése (vízszintes vagy függőleges) számít-e a biofilm képzés szempontjából, van-e jelentős különbség,
- csapvíz milyen mértékben párolog, milyen mennyiségben kell használni,
- és a *Pseudomonas brenneri* hogyan viselkedik, képez-e biofilmet a lemezek felületén a csapvíz saját mikrobiótája mellett.

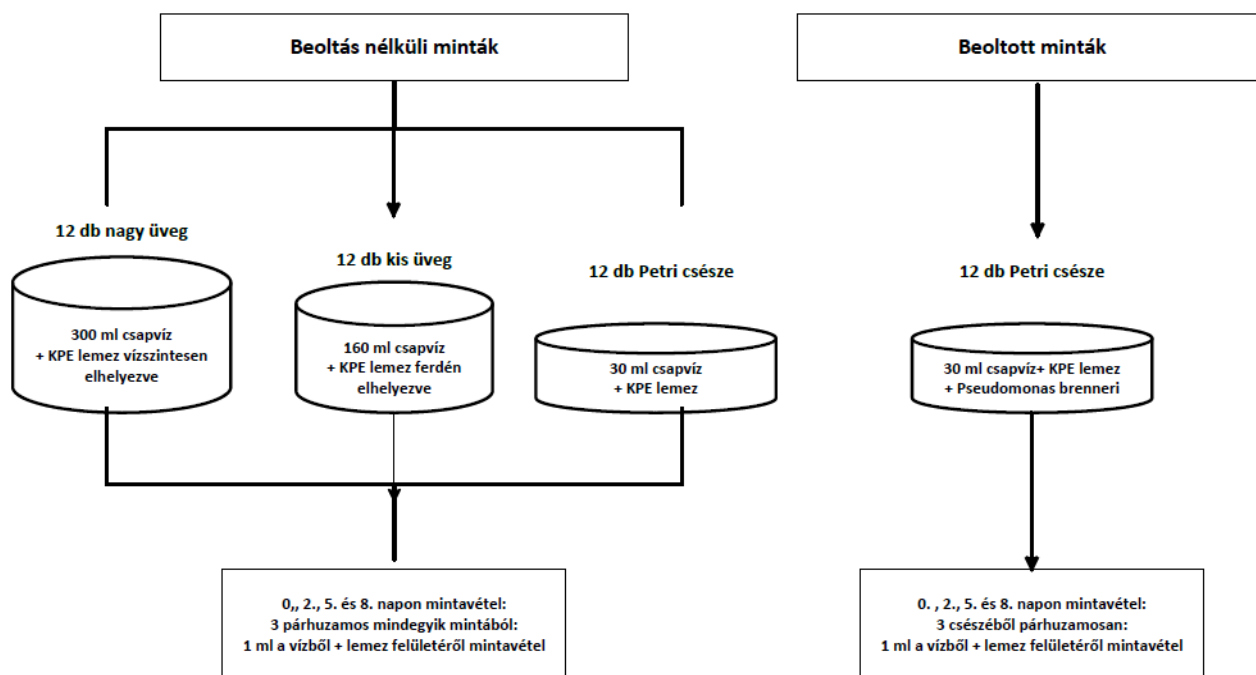
Összesen 48 db lemezt helyeztem el, 12 db-ot Petri csészékben, szintén 12 db-ot Petri csészékben, de *Pseudomonas brenneri*-vel beoltva, 12 db-ot ferdén, kis üvegben (200 ml) és 12 db-ot vízszintesen, befőttes üvegben. (7. ábra). A lemezek felülete átlagosan 13,5 cm² volt. Minden eszközt steriliztem, a csapvizet pedig 1 percig megnyitva a csapot folyattam, majd utána steril üveget töltöttem fel vízzel és adagoltam ki a szükséges mennyiségeket. A lemezeket felületi fertőtlenítőszerrel kezeltem használat előtt.

A vizsgálat 8 napon keresztül tartott. Mintavétel a 0., 2., 5. és 8. napon történt. A 0. napon a lemezeket belehelyeztem vízszintesen a nagyméretű üvegbe és 300 ml csapvizet öntöttem bele, a kisebb üvegbe 160 ml csapvizet, és a Petri csészébe 30 ml csapvizet öntöttem. A *Ps. brenneri* biofilm képzés vizsgálatához 10 sejt/ml koncentrációjú mikroba szuszpenziót állítottam be csapvízben (ehhez 4 ml csapvízbe oltottam 10³ sejt/ml koncentrációjú baktérium szuszpenziót, majd steril üvegbe öntöttem és 400 ml mennyiségig töltöttem fel az üveget csapvízzel), és Petri csészébe öntöttem 30 ml mennyiséget, majd belehelyeztem a lemezt. Petri csészében a beoltást követően, 2 óra elteltével mintát vettem a vízből és a lemezekről is, valamint a beoltás nélküli mintákból is. Mindegyikből 3-3 párhuzamos mintavétel történt. A csapvízből 1 ml mennyiségű mintát vettem. Lemezöntéssel határoztam meg a mikrobakoncentrációt. A lemezekről a mintavétel mintavevő tamponnal történt: a lemezek mind a 2 oldalát 10-10 ml steril, desztillált vízzel lemostam, majd mintavevő tamponnal alaposan áttöröltem a lemez homorú felületét, és 9 ml hígító folyadékot tartalmazó kémcsőbe tettem a tampon. A tampon tartalmazó kémcsövet 10 másodpercig vortex kémcső keverővel homogenizáltam, majd R2A tápagarral lemezöntést végeztem és Cetrimid tápközegre szélesztettem a mintákat. A 0. napon hígítási sorozat nélkül vettem mintákat mind a vízből, mind a lemezek felületéről, majd a mintákat R2A agarral lemezöntést végeztem, a *Pseudomonas*-sal beoltott lemezeknél pedig 100 µl mennyiséget szélesztettem Cetrimid táptalajra.

A 2., 5. és 8. napokon a mintavétel a lemezekről ugyanúgy zajlott mintavevő tamponnal, mint a 0. napon, valamint a vízmintákból is minden nap 1-1 ml mennyiséget vettem. A lemezöntést megelőzően elvégeztem a szükséges mértékű hígítást. A 8. ábra összefoglalja az előkísérlet menetét.



7. ábra: Előkísérlet: KPE lemezek elhelyezése különböző helyzetekben



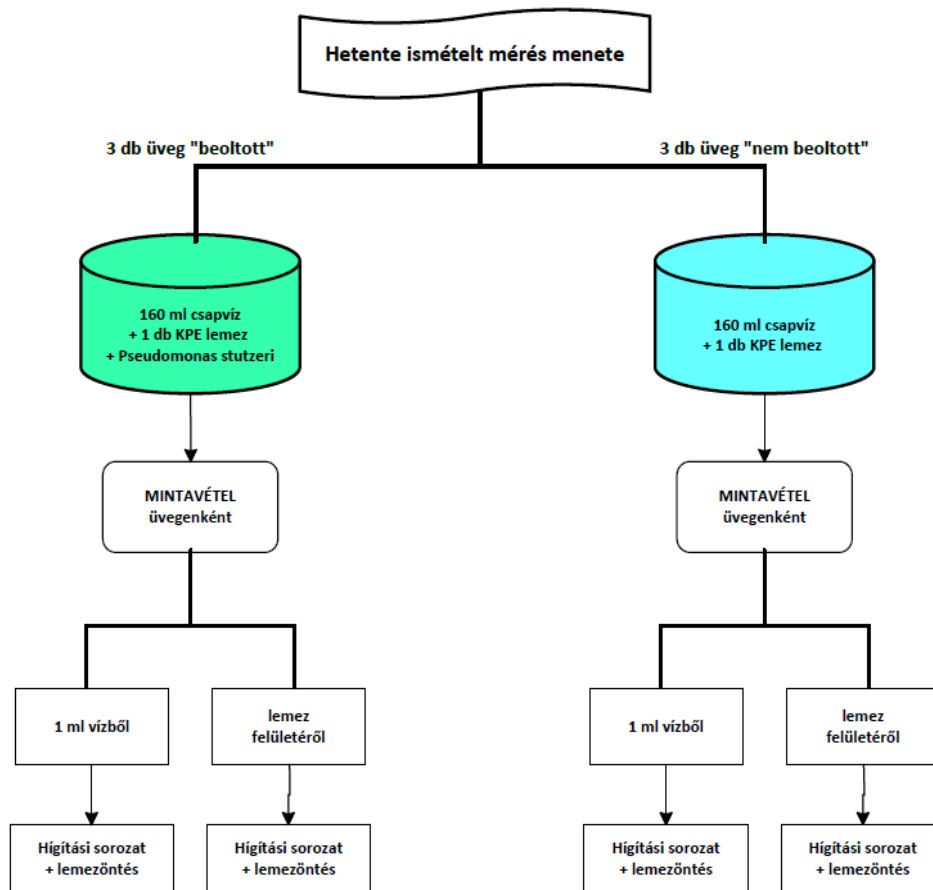
8. ábra: Előkísérlet mérési menete

4.1.4. Biofilm képződés vizsgálata in vitro körülmények között

A mérésnek több célja is volt:

- nyomon követni a *Pseudomonas stutzeri* szaporodását ivóvízben és biofilm képzését a modell cső lemez felületén,
- nyomon követni az ivóvíz mikrobióta biofilm képzését és a biofilm változását a modell cső lemezek felületén.

A vizsgálat 10 héten át tartott, mely során 200 ml-es kisebb üvegbe helyeztem el ferdén az előző vizsgálat során használt KPE lemezeket. A 0. héten összesen 60 db üvegbe helyeztem el 60 db lemezt, - melyet felületi fertőtlenítőszerrel kezeltem - 30 db üvegbe került 160 ml csapvíz és 1-1 db lemez ferdén és 30 db üvegbe került 2×10^8 sejt/ml koncentrációjú *Pseudomonas stutzeri* szuszpenzióval beoltott, 160-160 ml csapvíz és 1-1 db KPE lemez ferdén. Minden héten 3-3 párhuzamos mintavételezés történt, 3 üveg a beoltás nélküliekből és 3 üveg a beoltottakból. A mintavétel az előző vizsgálatához hasonlóan történt minden héten: a beoltott és nem beoltott vízmintákból 1-1 ml mennyiségű mintát vettem, majd tizedelő hígítási sorozatot készítettem. A lemezek mindkét oldalát 10-10 ml steril desztillált vízzel lemostam, mintavevő tamponnal mintát vettem a homorú oldalukról, majd 9 ml hígító folyadékot tartalmazó kémcsőbe tettem, és 30 másodpercig vortexeltem és hígítási sorozatot készítettem. Végül a különböző hígítási tagokból R2A tápagarral lemezöntést végeztem. A 9. ábra bemutatja a hetente ismételt mérési folyamatot.

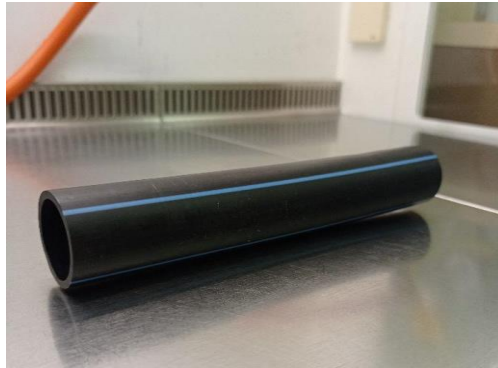


9. ábra: Biofilm képződés vizsgálata 10 héten keresztül, heti mérés vázlata

4.1.5. Modellezett ivóvízhálózat ellenőrzése

A 10 hetes vizsgálat alatt elkészült a Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem Hidrodinamikai Rendszerek tanszéken a modell ivóvízhálózat, és kéthetes ivóvíz keringett benne. A vizsgálattal ellenőrizni kívántam, hogy szükséges-e a rendszer átmosása és a tartályban lévő víz cseréje. A mintavétel a modell rendszerből történt, a tartályon lévő csapból vettem 500 ml mennyiségű vizet steril üvegbe, majd a szegmensben folyó (rendszerben keringő) vízből is mintát vettem, és az egyik szegmens cső darabot leszerelve a rendszerből steril mintavevő zacskóban tettem. Megvizsgáltam még egy új, be nem épített, tiszta cső darabot is. A két vízmintából 1-1 ml liter mennyiségű vizet vettem és 3 tagú hígítást végeztem, majd R2A táptalajjal lemezöntést végeztem és Cetrimid táptalajra szélesztettem. A rendszerből kivett szegmens cső darabot alaposan lecsepegtettem (fülke alatt, levegőn száradt) és a belső felületéről (10. ábra) pedig mintavevő tampon segítségével mintát vettem: mind a két széléről elindulva alaposan áttöröltem a

mintavevővel a belső falát, a tampont a korábbiakkal megegyező módon hígító folyadékba mostam, majd 3 tagú hígítást készítettem és R2A táptalajjal lemezöntést végeztem és Cetrimid táptalajra szélesztettem. A tiszta, új cső darabot is ugyanígy vizsgáltam meg.



10. ábra: Ivóvízhálózat modellben használt KPE cső

4.1.6. Biofilm képződés vizsgálata ivóvízhálózat modellben

Az ivóvízhálózat modell felépülése és elindulása után 3 hétig vizsgáltam a biofilm képződését az ivóvízben és a KPE csövek belső felszínén. A mintavétel minden héten úgy zajlott, hogy a zárt és az átfolyó üzemű rendszerből kiemeltem egy-egy szegmenst, kifolyattam belőle a vizet steril üvegbe, majd 1 ml mennyiségű mintát vettem az ivóvízből. A mintavétel után a cső darabokat 5 percig levegőn függőleges pozícióba állítva lecsepegtettem, majd steril mintavevő tamponnal mind a két végéből elindulva nagyon alaposan átdörzsöltem a belső felületet és megfelelő hígítási tagokat elkészítve, R2A tápagarral lemezöntést végeztem.

A vizsgált szegmensek tömegét is megmértem, hogy választ kapjak vajon a tömegváltozásban megmutatkozik-e a biofilm képződése. A szegmenseket beszámoztam és a modellbe építés előtt megmértem analitikai mérlegen a tiszta szegmensek (cső darabok) súlyát. A biofilm képződés vizsgálata során minden héten az adott szegmens súlyát megmértem a mintavétel után szintén analitikai mérlegen és a megvizsgáltam a két tömeg adat közötti eltérést.

4.2. Ivóvízhálózat modell

4.2.1. Modell felépítése

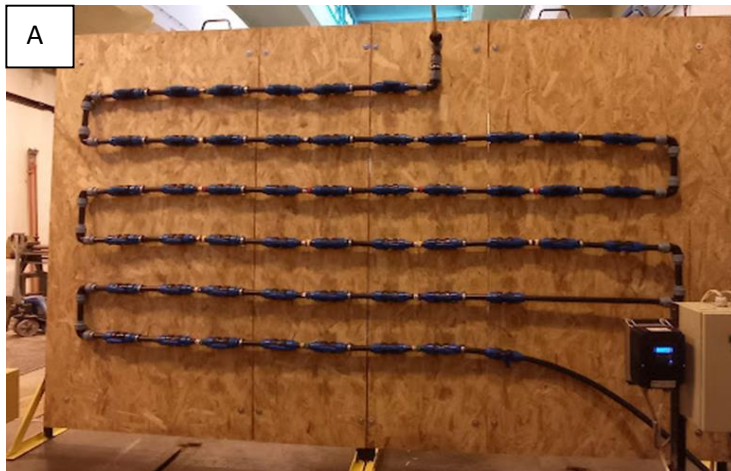
Az ivóvízhálózat modell két részből áll, amelyek falakon vannak elhelyezve. Az egyik fal az átfolyó üzemű fal (11. ábra: **A** kép), amely a hálózattól kapja a vizet, 20 szegmens található benne

és a hálózathálból kinyert friss víz tartózkodási ideje néhány másodperc, gyakorlatilag nulla a rendszerben, mert egyből a csatornába folyik.

A másik fal a keringetett üzemű fal (11. ábra: **B** kép), amely 5 szegmenst tartalmaz, és egy tartályból kapja a vizet, amelyet egy volumetrikus elven működő perisztaltikus szivattyú keringeti. A víz tartózkodási ideje végtelen nagy a rendszerben, friss víz nem kerül a rendszerbe, csak vízkivétel történik mintavétel során. A kivett szegmens pótlása azonnal megtörténik.

Mind a két falban az áramlási sebesség $0,64 \text{ m/s}$ ($= 20 \text{ L/s}$). Az átfolyó üzemű falban az áramlási sebesség köbözéssel került meghatározásra, míg a keringetett üzemű falban SV7200 örvényáramlás-mérővel. A térfogatárammérő még hőmérsékletmérésre is alkalmas. A fal tartalmaz még egy PTI 16 nyomásmérőt is.

A valódi ivóvízhálózatok a kettő rendszert ötvözik: egyes szakaszokban akár 3-4 napot is eltölt az ivóvíz, és van olyan szakasz (például fő nyomócső), ahol csak néhány másodpercet, ezért is épült fel így az ivóvízhálózat modell.



11. ábra: Ivóvízhálózat modell: **A.** Átfolyó üzemű egység (fal), **B.** Keringetett üzemű egység (fal)

4.2.2. Monitoring rendszer

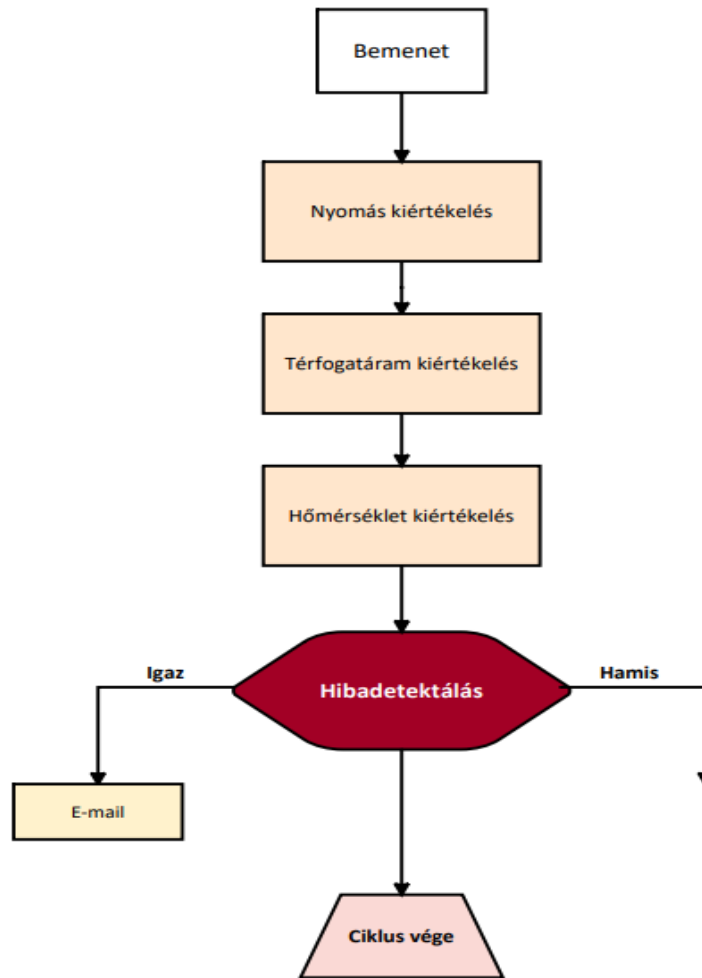
A korábban ismertetett ivóvízhálózat modell keringetett falában monitoring rendszer felügyeli a folyamatot. A monitoring rendszer egy hierarchikus felépítésű rendszer (12. ábra), amely, 4 panelből áll. Az első panel a bemenet, amely alatt a nyomás, a térfogatáram és a hőmérséklet mintavételezése történik. A második panel a nyomás, térfogat és hőmérséklet adatok értékelése. A

nyomásmérés, illetve a rendszerben lévő nyomás értékek az elsődleges információhordozók, mivel a berendezés volumetrikusan szállít, ezért fennáll a veszélye, hogy egy nem várt zárás esetén a rendszernyomás kritikus szintet ér el, így okozva csőtörést. Tehát először a nyomás jelet kell feldolgozni, mert ha a nyomás megszűnik vagy túl nagy értéket vesz fel, az kellően jó indikátora annak, hogy a rendszerben gond van (például szivárog), ezért hierarchikus felépítésű a rendszer. Háromféle adatbeolvasási forma valósul meg: egyfelől beolvassa az adatot a nyomásmérőről, másfelől a térfogatárammérőről és végül beolvassa a hőmérő felől. A panel statikus, egy kész függvény használata, bemenetnél minden 30 másodpercben mér 25 másodperc hosszan, nem folyamatos a mérés, és az adatokat txt fájl formájában menti el.

A harmadik panel a különböző hibák detektálására és kezelésére szolgál. A 4. panel pedig a ciklus vége, tehát igaz ág esetén (problémát detektált a rendszer) üzenetet küld a felhasználónak (e-mail formájában).

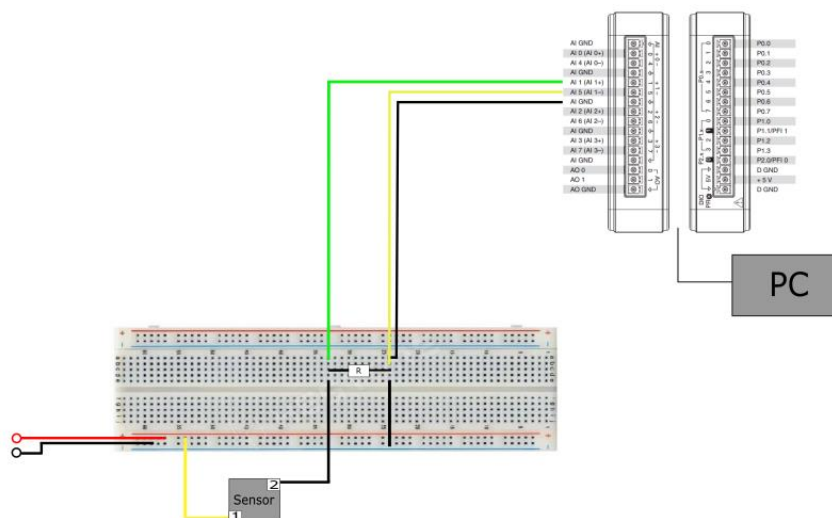
A monitoring rendszer tehát nyomás alapú: nyomásjel változásait figyeli, és ha kisebb, vagy változik, hibaüzenetet ír a rendszer. 3 hibaállapotot különböztet meg:

- 0-15% között változik a nyomásjel: valami gond van, de nem kell leállítani a rendszert,
- 15%-nál nagyobb lesz a nyomás amplitudójának változása: szélsőséges probléma, szükséges a beavatkozás, és
- 2 végállapot: szenzor hiba null üzenet: nincs nyomás vagy nyomás jel frekvenciájának adatait lekérve a szivattyú hibáját jelezheti.



12. ábra: Monitoring rendszer felépítése

A monitoring rendszer mérése során az első lépés a rendszer összeállítása volt. A nyomásmérő összekötése DAQ MX NI 6001 adatolvasó kártyával és a számítógéppel. A TDK dolgozatom során én a nyomásmérő szenzorral foglalkoztam, és a méréseim során a nyomásmérő szenzoron keresztül történő hibadetektálása volt a cél. A 13. ábrán a kapcsolási rajzon a nyomásmérő szenzor NI kártyával, majd számítógéppel való összekötése látható.



13. ábra: Nyomásmérő szenzor kapcsolási rajza

Az összekötést követően az adatok gyűjtéséhez és az eredmények értékeléséhez szükséges kódok megírása Spyder 5.3.3 Python programnyelvet használó szoftver segítségével történt. A kódot több részletben írtam meg, először arra vonatkozott, hogy az NI kártyát meghívjam, tehát mérjen az adatokat és az jelenjen meg a számítógépen, kommunikáljon a PC-vel. Ezt követően az NI kártya segítségével beolvasott adatok exportálására írtam meg a kódot, végül pedig a statikus és dinamikus hibák detektálására és ezen hibák ábrázolására és e-mailen keresztüli értesítésre írtam meg a kódokat.

A monitoring rendszer tesztelése során egy mérés 25 másodpercig tartott, és ez alatt az NI kártya a nyomásmérő szenzorról 500 Hz-es frekvencián 12500 adatpontot olvasott le. Ezt követően a kapott feszültség adatokat importáltam és ábrázoltam, majd a kalibrációs görbe segítségével azokat nyomásértékké számítottam át.

A rendszer tesztelése során szándékosan megadtam szűk hibatartományokat is, hogy látható legyen a hiba, és hogy azt detektálja-e.

A mérés menetéről részletesen az Eredmények és Értékelésük fejezetben számoltam be, mert szorosan összefügg a kettő, és Logikailag jobban átlátható.

5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

5.1. Mikrobiológiai vizsgálatok eredményei és értékelésük

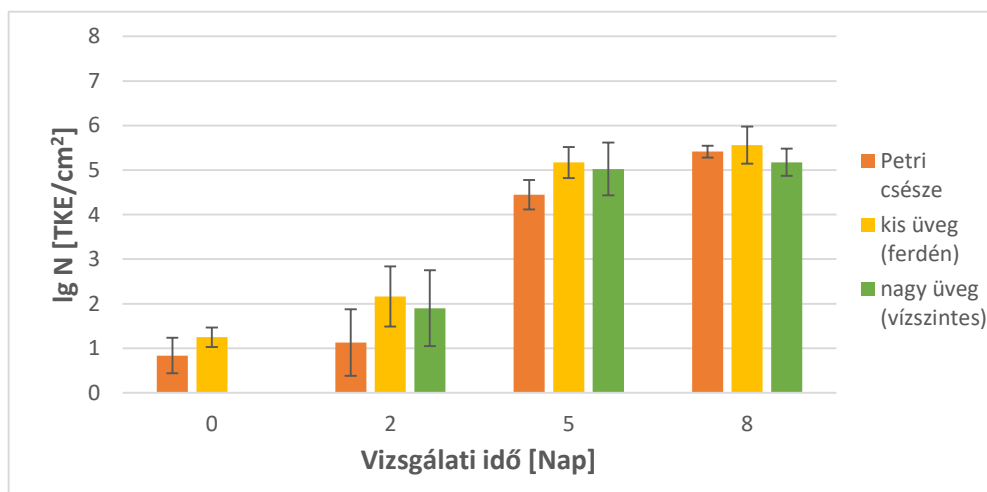
A mikrobiológiai vizsgálatok fő célja az volt, hogy megvizsgáljam a csapvíz mikrobiótájának biofilm képződését. Másodlagos célja pedig az volt, hogy tanulmányozzam két baktérium (*Pseudomonas brenneri* és *Pseudomonas stutzeri*) viselkedését ivóvízben és biofilm képző tulajdonságait. A vizsgálatokra azért is volt szükség, hogy az eredmények fényében megtudjam, hogyan érdemes az ivóvízhálózat modellt elindítani, választ kapjak az egyik legfontosabb kérdésre: szükséges-e a modell beoltása valamelyik baktériummal.

5.1.1. Előkísérlet eredményei

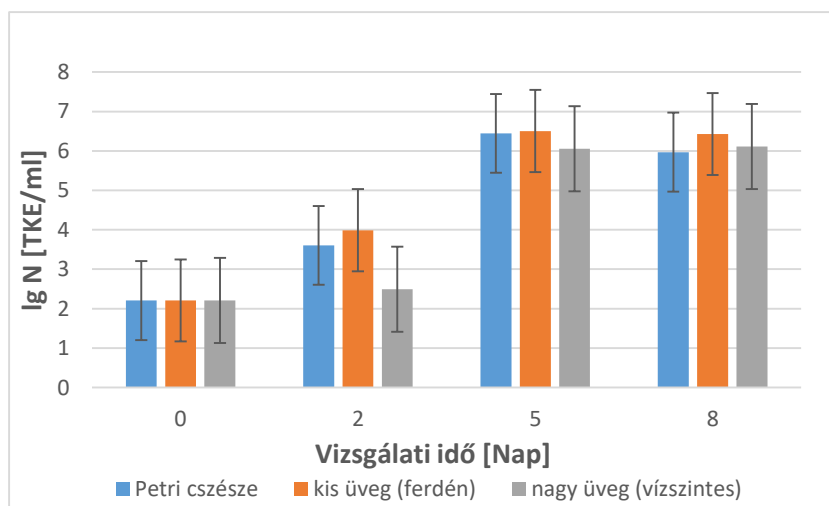
Az előkísérlet 8 napon át tartott, és eredményeit a 14., 15. és 16. ábrák mutatják be. Az 14. ábrán a három különböző tárolóban elhelyezett KPE lemezdarabok felületén képződő biofilm változása látható. Ennél a vizsgálatnál az ivóvízhálózatban előforduló mikrobák biofilmképző viselkedését, és a lemezek optimális elhelyezkedését tanulmányoztam. Az eredményekből azt a következtetést vontam le a szórások figyelembe vételével, hogy nem számít a lemez elhelyezkedése, azonban a kis üvegben (200 ml űrtartalmú) lévő lemez felületén mutattam ki a legtöbb mikrobát. A 14. ábrán a 2., 5. és 8. napon, a kis üvegben elhelyezett lemez felületén képződött a legnagyobb mennyiségben a biofilm, mind a négy mintavételi nap során az ilyen módon elhelyezett lemezről tudtam a legtöbb telepképző egységet meghatározni.

A 15. ábrán látható a beoltás nélküli csapvíz mikrobakoncentráció változása. A 0. napon, a lemezek elhelyezése után 2 óra elteltével mintát vettem, és az látható, hogy mind a három üvegben azonos mennyiségű, 10^2 sejt/ml koncentrációjú mikroba volt jelen. A tárolás során a 2. napon a kis üvegben történt a legnagyobb mértékű szaporodás, 2 nagyságrenddel nőtt meg a mikrobák száma, 10^2 -ről 10^4 sejt/ml koncentrációra, míg a nagy üvegben, csekély mértékben, kevesebb, mint egy nagyságrenddel nőtt meg a mikrobák száma. Az 5. napra a kis üvegben szintén 2 nagyságrenddel nőtt meg a mikrobák száma, így már a kezdeti 10^2 -ről 10^6 sejt/ml koncentrációra változott meg a mikrobák mennyisége, és a legnagyobb változás a nagy üvegben történt, ahol a 0. és 2. naphoz képest 4 nagyságrenddel nőtt a mikrobák száma, a kezdeti 10^2 -ről 10^6 sejt/ml koncentrációra. A 8. napon a kis és nagy üvegben közel azonos volt a mikrobák száma az 5. naphoz képest, míg a Petri csészében csökkent a számuk.

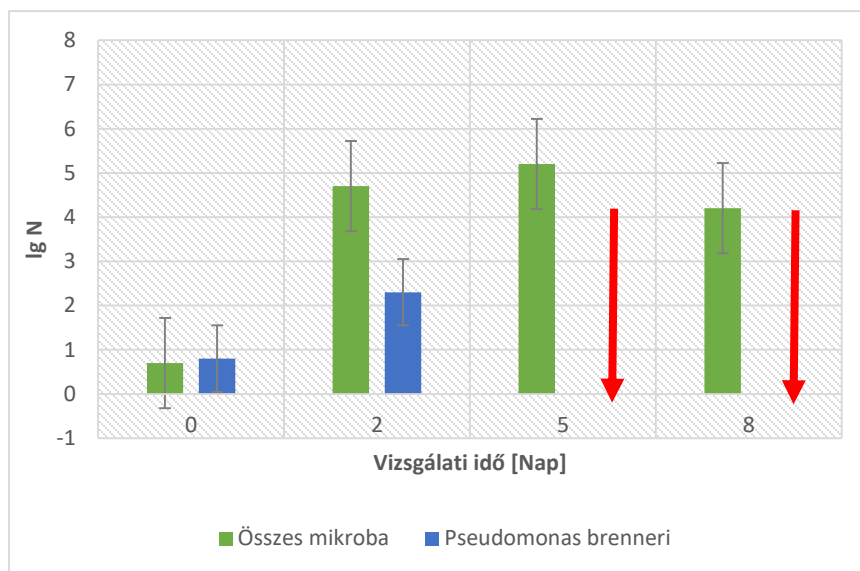
A vizsgálat során a *Pseudomonas brenneri* biofilmképző tulajdonságait is megvizsgáltam. A Petri csészékben lévő ivóvizet beoltottam a baktérium szuszpenzióval (10 sejt/ml koncentrációt állítottam be) és vízszintesen elhelyeztem a KPE lemezeket. A 16. ábrán látható, hogyan változott a *Pseudomonas brenneri*-vel beoltott lemezek felületén a mikroba koncentráció. Mivel beoltás csak a Petri csészében történt, ezért az eredmények is a beoltott Petri csészékre vonatkoznak. Az eredményekből jól látható, hogy a csapvíz mikrobiótája teljesen elnyomta a *Ps. brenneri*-t, és az 5. napon már kimutatási határ alá esett a baktériumok száma, ezért a *Pseudomonas brenneri* biofilm képző tulajdonságait az adott paraméterek között gyengének találtam, így a következő, 10 héten át tartó vizsgálatot *Pseudomonas stutzeri*-vel végeztem el.



14. ábra: KPE lemez felület mikrobakonzentráció változása



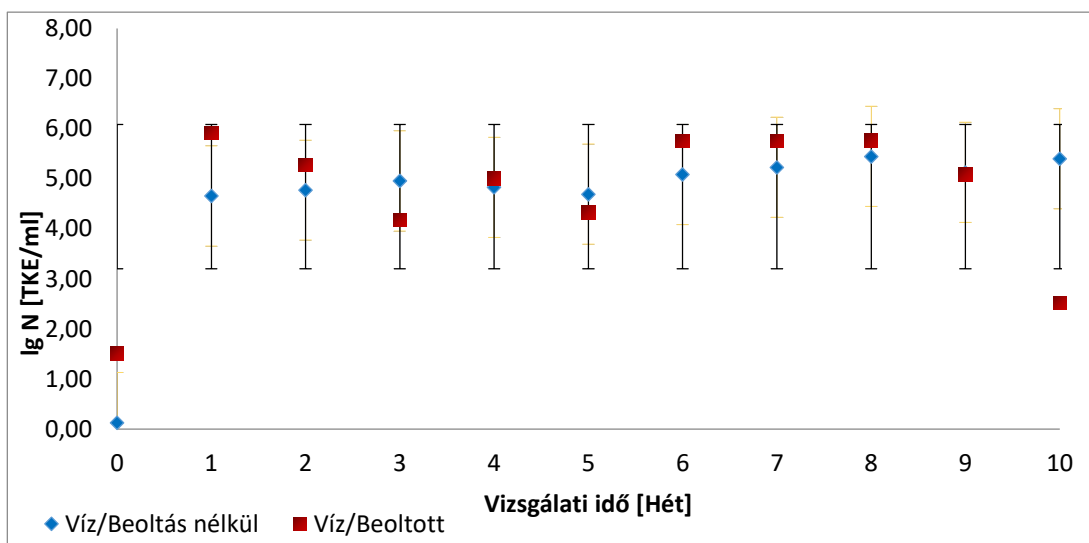
15. ábra: Beoltás nélküli csapvíz mikrobakonzentráció változása



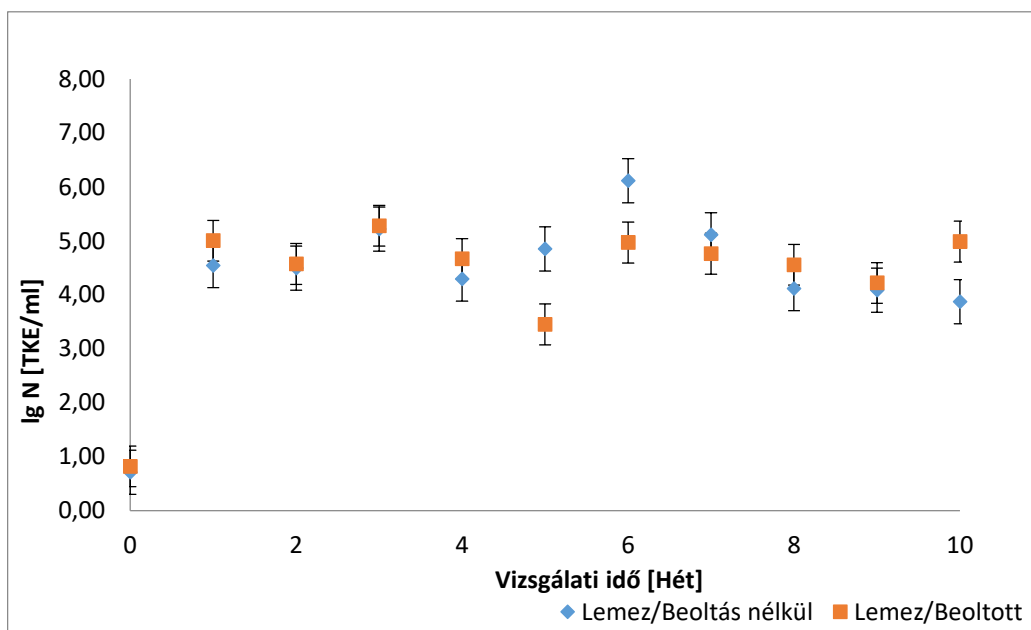
16. ábra: *Pseudomonas brenneri*-vel beoltott csapvízben tárolt lemezek mikrobakoncentráció változása

5.1.2. In vitro körülmények között végzett biofilm képződés vizsgálat eredményei

Az előkísérlet után megvizsgáltam, hogy az ivóvízben lévő mikroorganizmusok képeznek-e biofilmet, továbbá az előkísérlet eredményeinek tükrében a 10 hetén át tartó laboratóriumban végzett biofilm képződés vizsgálatot *Pseudomonas stutzeri* baktériummal végeztem el. Az eredményeket a 17. és 18. ábrán összesítettem. A 17. ábrán a beoltott és nem beoltott vízben tárolt lemezekon lévő baktérium biofilm képződése látható. Az ábrán látható, hogy nagy az adatok szórása, azonban az megállapítható, hogy már az első héten a *Pseudomonas stutzeri*vel beoltott víz 10^6 sejt/ml koncentrációra emelkedett, és stabilan, 10 héten át 10^4 és 10^6 sejt/ml koncentráció között változott az értéke, a 10. hétre csökkent 10^2 sejt/ml koncentrációra. Azonban a nem beoltott csapvízben lévő lemezekon közel hasonló mértékben képeztek biofilmet a jelen lévő mikrobák, szintén 10^4 - 10^6 sejt/ml koncentráció között változott az értékük. A 18. ábrán a beoltott és nem beoltott lemezek felületén lévő mikrobaváltozást mutattam be, az eredmények nagyon hasonlóak a 17. ábrán lévőkkel. Az eredmények alapján az látható, hogy a víz mikrobiótája nem nagyon hagyta érvényesülni a *Ps. stutzeri*-t.



17. ábra: KPE lemezek felületén jelen lévő biofilm változása 10 hét alatt



18. ábra: Ivóvízben lévő *Pseudomonas stutzeri* és egyéb mikroorganizmusok koncentráció változása

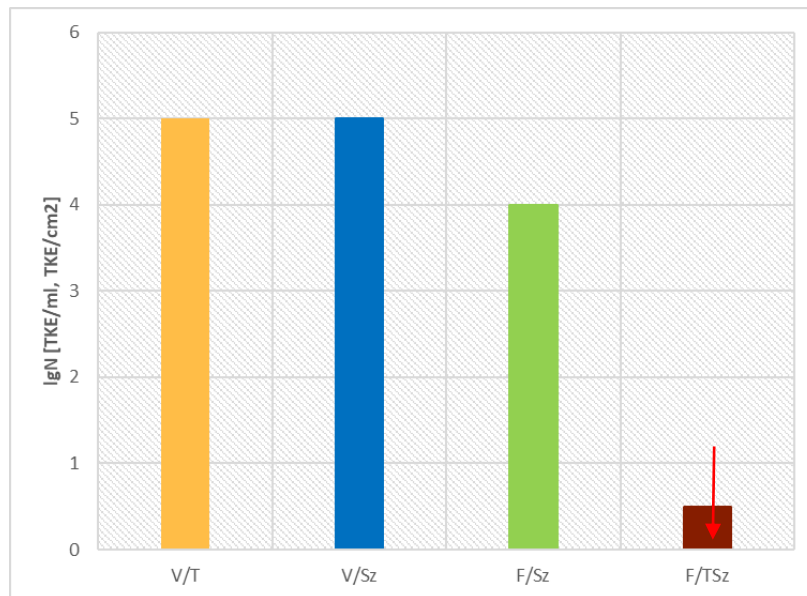
5.1.3. Ivóvízhálózat modell ellenőrzése

Az ivóvízhálózat indítását megelőző vizsgálat eredményét az 19. ábra mutatja be. A vizsgálat célja az volt, hogy megtudjam, szükséges-e a rendszer átmosása és tiszta vízzel való indítása, vagy megfelel-e a két hete keringetett víz, illetve, hogy a beépítendő szegmenseket szükséges-e

fertőtleníteni a beépítés előtt. A vizsgálatot a keringetett üzemű rendszerben lévő vízzel és KPE csövekkel végeztem el, az átfolyó üzemű rendszerben ez nem volt szükséges, mivel ott az ivóvízhálózathoz jön közvetlenül a víz, és folyik tovább a csatornába néhány másodperc alatt.

A mikrobiológiai vizsgálat során kiderült, hogy a rendszer átmosása szükséges és friss ivóvízzel kell elindítani a keringetett üzemű rendszert. A 19. ábrán látható, hogy a tartályban lévő vízben (V/T), és a KPE cső szegmensben lévő vízben (V/Sz) és a szegmens, KPE cső felületén (F/Sz) is sok mikroorganizmus volt jelen. A tiszta szegmens (F/TSz) felületén pedig a kimutatási határ alatt volt a mikroorganizmusok száma (a 19. ábrán a piros nyíl jelzi), tehát az új szegmensek valóban tiszták voltak és nem volt szükséges a fertőtlenítésük a behelyezésük előtt.

A vizsgálat eredménye után a keringetett üzemű rendszert át kellett mosni és tisztítani. Az átmosásnál a tartályba 3 liter (négy darab, egyenként 750 ml-es kiserelésű) Domestos fertőtlenítő tisztítószer került és hat órán keresztül, folyamatosan keringett a rendszerben. Az idő elteltével a rendszert a csatornára átkötve, megkezdődött az átmosása friss vízzel, egészen addig, ameddig már nem habzott a rendszerben a vegyszer, majd a habzás megszűnte után még 5 percig átfolyt a friss víz a rendszeren. Az átmosás után újra megtörtént a tartály feltöltése friss ivóvízzel, majd a rendszer zárttá tétele, és megkezdődhetett a biofilm képződés vizsgálata.

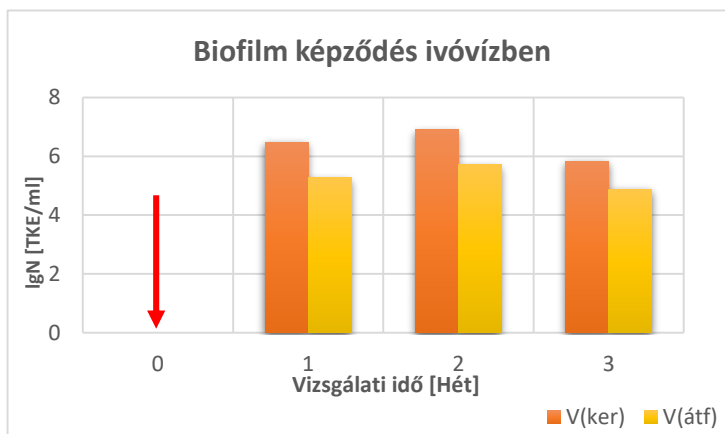


19. ábra: Mikroba szennyezettség ivóvízhálózat rendszerben keringő 2 hetes vízben

5.1.4. Biofilm képződés vizsgálata a modellben és eredményei

Az 5.1.3. alfejezetben ismertetett eredmények alapján a teljes rendszer átmosása után három héten keresztül vizsgáltam a biofilm képződést a keringetett üzemű és az átfolyó rendszerben. Az in vitro körülmények között vizsgált eredmények (5.1.1. és 5.1.2. alfejezetek) alapján az ivóvízhálózat modellt nem oltottam be baktériummal, kizárólag a csapvíz saját mikrobiótáját tanulmányoztam. A két rendszert megvizsgáltam, hogy a vízben és a KPE csövek felszínén történik-e változás, vannak-e jelen mikroorganizmusok, hogyan változik koncentrációjuk.

A 20. ábra bemutatja az ivóvízben jelen lévő mikroorganizmusok mennyiségét mind a kétüzemű rendszerben. A 0. héten a mintavétel az átmosás után történt közvetlenül, tehát a fertőtlenítési és tisztítási folyamat után, nem voltak kimutathatók a mikroorganizmusok, ezért 0. időpontban kimutatási határa alatti volt a mikrobák mennyisége (20. ábrán piros nyíl jelzi). Az jól látható az ábrán, hogy mind a két rendszerben a 0. hétről az 1. hétre megugrott a mikroorganizmusok koncentrációja, majd enyhén csökkenő tendenciát mutatott a 3. héten. A keringetett rendszerben egy nagyságrenddel nagyobb a mikrobák száma az átfolyó rendszerhez képest, 10^5 és 10^6 sejt/ml nagyságrendű koncentrációban vannak jelen a sejtek a kéttípusú rendszerben a harmadik hét végére.

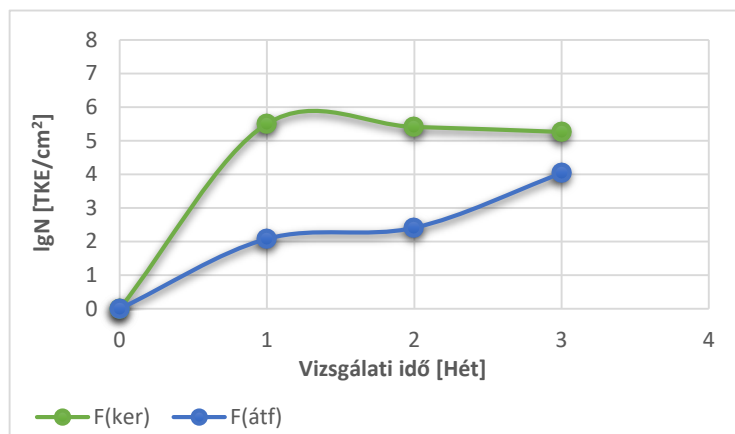


20. ábra: Mikroorganizmusok jelenléte az átfolyó és a keringetett modell ivóvízhálózat vízében

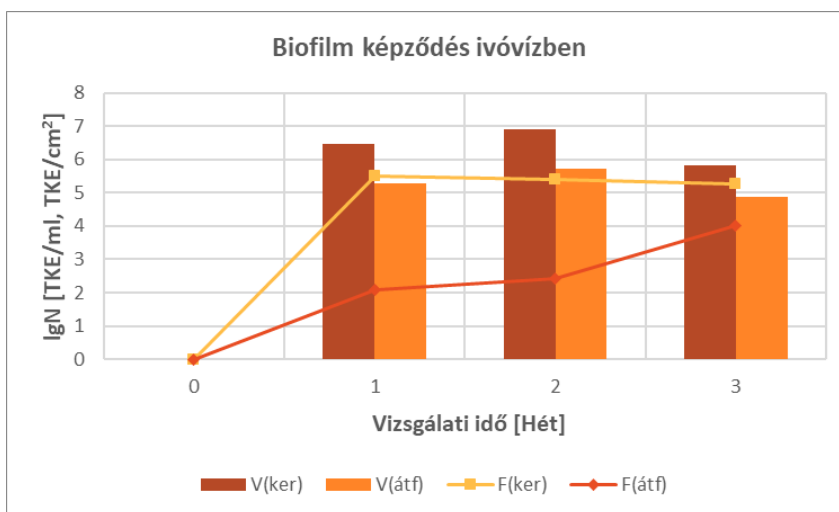
A KPE csövek felszínén képződő biofilmet a 21. ábra mutatja be. A csövek felszínéről is történt mintavétel az átmosás, tisztítás és fertőtlenítés során, így a kiinduló állapot ebben az esetben is a kimutatási határ alá esett. A keringetett rendszerben a csövek felszínén (F(ker)) egy hét eltelte után 10^5 sejt/cm² mennyiségű mikroba, míg az átfolyó rendszerben (F (átf)) ennél három nagyságrenddel kevesebb jelent meg. A keringetett rendszerben a második hétre egy enyhe

csökkenés volt látható, ami a harmadik hétre stagnált, szemben az átfolyó rendszerrel, ahol folyamatos mikrobanovekedés volt tapasztalható. A harmadik hétre az első héthez képest 2 nagyságrendet is nőtt a mikrobák száma 10^2 -ről 10^4 sejt/ml mennyiségre.

Az 22. ábrán összesítettem a teljes ivóvízhálózat modell KPE csövek felszínén képződő biofilm és az ivóvízben megtalálható mikrobák változását, hogy egy ábrán egységesen is látható és nyomonkövethető legyen a változás, amelyet korábban részletekben mutattam be a különböző ábrákon (20. és 21. ábrák). A keringetett rendszerben az ivóvízben (V(ker)) fordult elő a legnagyobb mennyiségben mikroba, míg az átfolyó rendszer csövek felületén (F(átf)) képződött a legkevesebb biofilm.. Érdekes jelenség, hogy az átfolyó rendszer ivóvizében (V(átf)) és a keringetett rendszer csöveinek (F(ker)) felszínén szinte azonos mennyiségű mikroba volt jelen, és hasonló tendenciát mutatott a növekedésük.

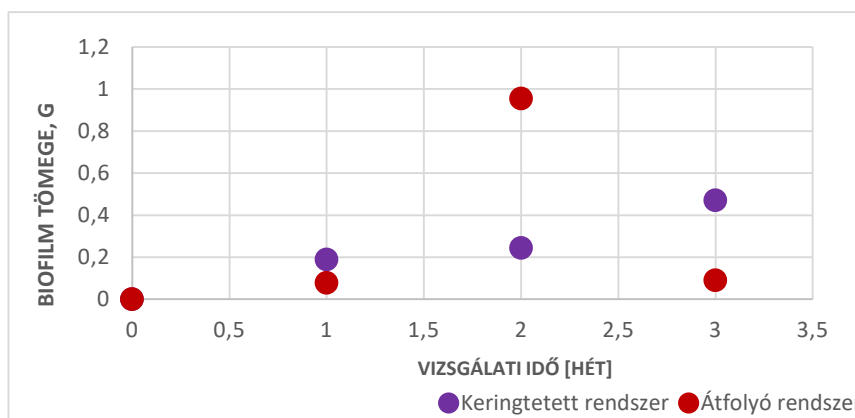


21. ábra: KPE csövek felszínén képződő biofilm ivóvízhálózat modellben



22. ábra: Biofilm képződés ivóvízhálózat modellben

Biofilm nyomon követéseként megmértem mind a két rendszerben lévő KPE csövek tömegét is, hogy kiderüljön, látható-e itt is változás. A 23. ábrán a keringetett rendszerben lévő biofilm változást lila pontok jelzik, és növekvő tendenciát mutatnak. A piros pontok jelzik az átfolyó rendszerben képződő biofilmet, ahol megfigyelhető volt egy kiugró érték a 2. héten. Azonban ennek a mérésnek nagy volt a bizonytalansága, nem biztos, hogy ténylegesen a biofilm tömege került megmérésre. A korábbi eredmények alapján elképzelhető, hogy biofilm mérése történt, hiszen a csapvíz mikrobiótája képez biofilmet.



23. ábra: Biofilm tömegváltozása ivóvízhálózat modellben

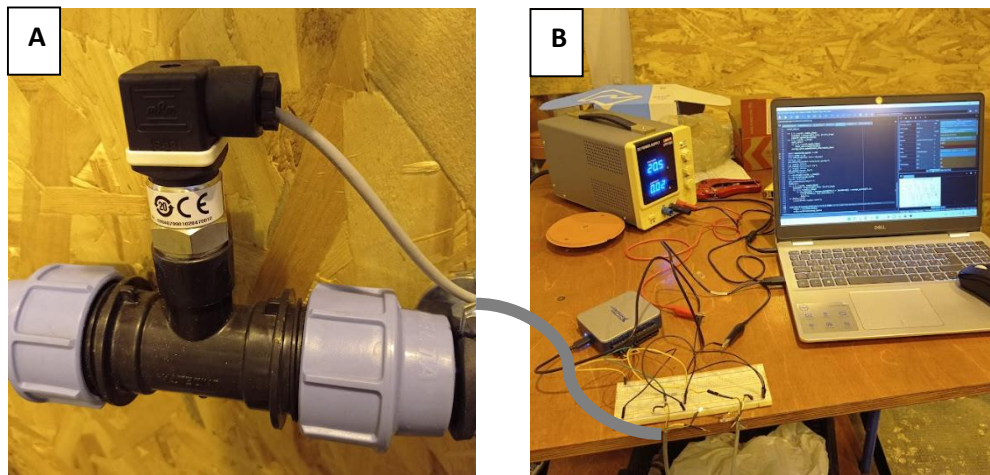
Az eredmények alapján megállapítható, hogy a zárt rendszerben keringő víz, amely nem cserélődik, és végtelen sok időt tölt a hálózatban, több mikroorganizmus szaporodik el és képez biofilmet, beindul a metabolizmus folyamata, és a szakirodalmi fejezetben is ismertetett biofilmképző tulajdonságok miatt alakulhatott ki biofilm.

Az átfolyó rendszerben is megfigyelhető biofilm képződés, kisebb mennyiségben, de jelen van. Ennek az az oka, hogy az ivóvíz nem steril víz, másrészt tartalmaz ásványi anyagokat, amelyek tápanyagként szolgálhatnak a mikroorganizmusok számára.

5.2.1. Monitoring rendszer

A monitoring rendszer legfőbb célja az volt, hogy a rendszerben létrejövő hibát észrevegye, és erről azonnali visszajelzést adjon. Mivel a két rendszerben (keringtetett - és átfolyó üzemű) több héten keresztül vizsgáltam a biofilm képződést, ezért különösen a zárt rendszerben nagyon fontos

volt a hiba detektálása, hiszen meghibásodás (és annak észre nem vétele esetén) hamis mérési eredmények és jelentős anyagi kár keletkezhetett volna. A 4.2.2. alfejezetben részletesen ismertettem a rendszer felépítését kapcsolási rajzzal és algoritmus vázlattal, ezért ebben az alfejezetben a 24. ábra már a BME laboratóriumában összeállított monitoring rendszert mutatja be. A képen jól látható az NI DAQMX 6001 kártya (24./B. kép) összekötve a nyomásmérő szenzorral a segédpanelen keresztül (24. A és B kép, szürke, vastag, görbe vonal jelzi az összekötést) és a számítógéppel.



24. ábra: Monitoring rendszer

A keringetett üzemű rendszerben működött maga a monitoring rendszer. A TDK dolgozatom esetében a monitorozás a nyomás szenzor hibadetektálásáig működött. Ha a nyomásmérés során hibát észlelt a rendszer, visszajelzést adott. A monitoring rendszer kialakításához, működéséhez és hibadetektálásához szükséges teljes kódot - amelyet Spyder 5.3.3 Python programnyelvet használó szoftver segítségével írtam meg. Ebben az alfejezetben kiemeltem néhány részét a kódnak, amelyekkel magyaráztam a monitoring rendszerem működését.

A kód megírása során az NI kártya meghívása és adatgyűjtésének megtörténte volt az első feladat. Be kellett állítani a megfelelő eszközt (hányas számú az NI kártya), és a megfelelő csatornát (a nyomásmérő szenzor mely csatornára van bekötve) és importálni a szükséges kiegészítőket (25. ábra). Amint sikeresen lefutott a kód, és gyűjtött be adatokat az NI kártya, megkezdődhetett az adatok importálása és a hibadektáláshoz szükséges kódok megírása.

```
from nidaqmx.constants import AcquisitionType
import matplotlib.pyplot as plt
import numpy as np
import nidaqmx.system
from statistics import mean

system = nidaqmx.system.System.local()
system.driver_version
for device in system.devices:
    print(device)

sample_time = 25 #units = [s], mintavételezési időtartam
s_freq = 500 #mintavételezési frekvencia, ennyi lesz a beolvasott adat, jel "feldarabolása"
num_samples = sample_time*s_freq
dt = 1/s_freq
warning_timelenght = 5 ##periódus időigénye,
sample_rate = 1024 ##mintavételi frekvencia, [Hz]
samples_to_acq = 2048 ## rezgéseknél minimum frekvencia 2048 [Hz]
wait_time = samples_to_acq/sample_rate ##Adatgyűjtési idő = 2048/1024 = 2 [s]:
cont_mode = AcquisitionType.CONTINUOUS
iterations = 10

total_wait_time = wait_time * iterations ## 2*10 = 20 [s]
samples_to_acq_new = samples_to_acq * iterations ## 2048*10

print('go acquisition')
with nidaqmx.Task() as task:
    task.ai_channels.add_ai_voltage_chan("Dev2/ai1") #Csatornák meghívása: Dev: eszköz neve, ai1: bekötött csatorna
    for i in range(0,10):
        task.timing.cfg_samp_clk_timing(rate = s_freq, sample_mode = AcquisitionType.FINITE,samps_per_chan=num_samples)
        data = task.read(number_of_samples_per_channel=num_sample5, timeout = nidaqmx.constants.WAIT_INFINITELY)
    print(data)
print('NI 6001 működik!')

#----- NI kártyával beolvasott adatok exportálása -----

sensor = str('Pressure')

from datetime import datetime
date = datetime.now().strftime("%Y-%m-%d_%H:%M:%S")
print(f"filename: {date}_{sensor}")
saved_file = datetime.now().strftime("%Y.%m.%d_%H-%M-%S") + "-" + sensor + ".csv"

import csv
## 'w': írásra fájl megnyitása, majd fájl feldarabolása
with open (saved_file, 'w') as file:
    writer = csv.writer(file)
    writer.writerow(data)

pressure = []
for i in range(0,len(data)):
    pressure.append(data[i]*2.132*10**5-3.962*10**5)
print(pressure)

p_min = 20000 #Pascalban
p_max = 70000
fail = False
```

25. ábra: Spyder 5.3.3. szoftverben megírt kód NI DAQMX 6001 kártya adatgyűjtésére nyomásmérő szenzortól

A hibák detektálása teljes mértékben kód segítségével történt, azonban a kód háttérében lezajló folyamatokat ismertettem ebben az alfejezetben, hogy áttekinthetőbb, jobban érthető legyen. Nyomáshibák tekintetében 3 féle nyomáshibát detektált a rendszer, ebből kettő statikus és egy dinamikus hibát:

1. Az első statikus nyomáshiba volt a legegyszerűbb, amely szerint a nyomás (p , pressure változó) egyenlő 0 ($p = 0$) vagy pedig a p kisebb, mint egy előre definiált $p_{\min}$ érték ($p < p_{\min}$). Ennek a detekteálása nagyon egyszerű volt, ezt úgy detektáltam, hogy végigsöpörtem az egész pressure változót, és megnéztem, hogy a $p = 0$ vagy $p < p_{\min}$ teljesült-e bárhol. Ennek az ellenőrzése úgy történt, hogy kiszűrtem azt az esetet, amikor előjelet váltott. Az egész rendszerben (keringetett rendszerben) egy pumpálás volt jelen. Abban a pillanatban, amikor előjelet váltott a jel, átmehetett a nullán (például valamilyen “furcsa” jel, amit valamilyen nulla körüli értéknek tekinthető, vagy $p_{\min}$ alá megy), de megnéztem, hogy tartósan 5 másodpercig fenn állt-e a probléma. A $p_{\min}$ értéke 20 000 Pascal volt.
 2. A második típusú hiba esetében a $p_{\max} < p$, ezt a hiba típust is tartósan 5 másodpercig vizsgáltam. Ez azt jelentette, hogy felvágtam a jelet 5 másodperces szeletekre, és megnéztem, hogy ha egy ilyen 5 másodperces szelettel végighaladtam a jelen, lett-e bárhol olyan része, ami ennél, ennyi ideig egy $p_{\max}$ felett vagy $p_{\max}$ alatt van. A $p_{\max}$ értéke 70 000 Pascal volt.
- A statikus hibák detektálásához szükséges kód részletet a 26. ábra szemlélteti. A kódban jól látható az első típusú hibánál, hogy jelezzen ha $p = 0$ vagy $p < p_{\min}$. Ha ezt detektálta volna a rendszer, akkor alacsony lett volna a nyomás a rendszerben. A második típusú statikus hibánál is látható a kódban, hogy ha magasabb a $p_{\max}$ értéknél, akkor pedig túlnyomás lett volna a rendszerben.

```
##-----Statikus hibák detektálása-----
for i in range(0,len(pressure)-warning_timelenght*s_freq):
    localdata = pressure[i:i+warning_timelenght*s_freq]
    if mean(localdata) < p_min or mean(localdata) < 0:
        print("Statikus nyomáshiba detektálva, beavatkozás szükséges! Alacsony nyomás!", mean(localdata))
        fail = True
    elif mean(localdata) > p_max:
        print("Statikus nyomáshiba detektálva, beavatkozás szükséges! Túlnyomás!", mean(localdata) )
        fail=True
    if (fail==False):
        print("Minden rendben!")
```

26. ábra: Spyder 5.3.3. szoftverben megírt kód statikus hiba detektálásra

3. A harmadik típusú hiba, a dinamikus hiba volt, a legnehezebb. Megvizsgáltam a jelet, amelyen egy bizonyos pumpálás volt megfigyelhető, és arra voltam kíváncsi, hogy egy amplitúdón, egy cikluson belül változott-e a viselkedése valamilyen szélsőségesen. Ehhez meg kellett határozni a jel középvonalát, a maximum és minimum értéket, valamint meg kellett határozni azt az esetet, azt az állapotot, amikor pontosan a jel előjelet vált. Az előjel váltás pillanatában felvágható a jel

egy periódusra, és ezeket a periódusokat egymásra kellett átlagolni. Ehhez szükség volt egy periódus időigényének meghatározására, majd egy periódus jellemzőit, maximumát és minimumát. Utána az egész jelen átlagperiódust kellett számolni, és azt detektálta a rendszer, ahol nagyon eltért. A 27. ábra bemutatja a dinamikus hibához szükséges kódrészletet.

A hibadetektálás első lépéseként ismert a mintavételezési frekvencia, tehát 1 másodperc alatt 500 jelet vett, 5 másodperchez 2500 egymás utáni jelet kellett megvizsgálni, tehát az adathalmazban 2500-asával lépkedünk, tehát megnéztem, hogy az első 2500-nak mennyi az átlaga, majd a második 2500-nak és így tovább. A jel felvágásánál (s_freq) mindegy volt, hol vágtam fel a jelet (csúcsoknál, vagy minimumoknál), mindig hasonló trendet követett. Felvágtam szegmensekre, amelyek egymáshoz hasonlóak voltak. Szegmensekké alakításuk a következő képpen történt: minden egyes jelrészlet a mátrix egy sorává tettünk, és ezt addig kellett folytatni, amíg egész részekre fel lehetett vágni a jelet. A mátrixban minden oszlop kiátlagolása történt meg, és így egy egysoros, de mátrix hosszúságú átlagperiódust kaptam. Utána vissza kellett nyúlni magához a jelhez, és a szegmenseket egyesével megvizsgálva, a szegmensek 1-1 pontja eltért-e az átlagperiódus pontjától túl nagy mértékben. Az összes szegmensnek az átlagperiódushoz kellett hasonlítani. Ha ez nem történt meg, akkor dinamikus hiba volt rendszerben.

```
##-----Dinamikus hiba detektálása-----
segments = []
average_cycle= []
nodal_data=0.

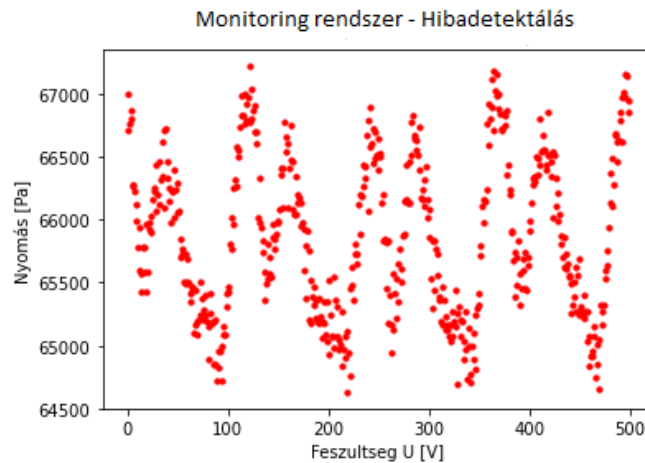
for i in range(0, sample_time):
    localdata = pressure[i*s_freq: (i+1)*s_freq]
    segments.append(localdata)
for i in range(0, s_freq):
    nodal_data=0
    for j in range(0, sample_time):
        nodal_data+=segments[j][i]
    average_cycle.append(nodal_data/sample_time)

##Grafikus megjelenítés

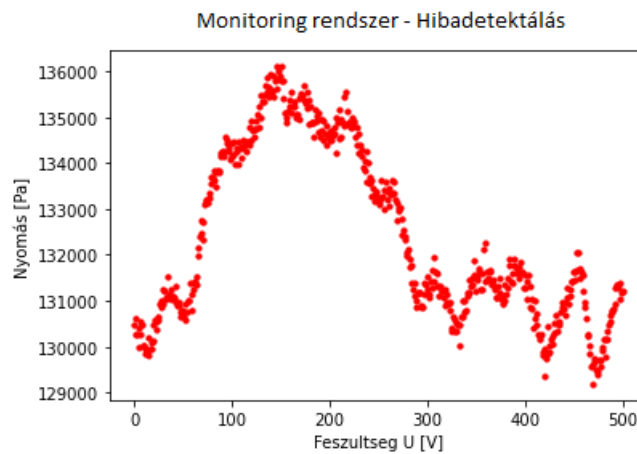
import matplotlib.pyplot as plt
import numpy as np
from sklearn.metrics import r2_score
```

27. ábra: Spyder 5.3.3. szoftverben megírt kód dinamikus hiba detektálásra

A mérés során a keringetett rendszerben hiba nélkül működött, a nyomásszenzor nem jelzett hibát és a hibadetektálás során szépen kiadta az átlagperiódust (28. ábra). Azonban leteszteltem, hogy ha lenne hiba, valóban működne-e a monitoring rendszerem, mind a statikus, mind a dinamikus hibához, ehhez a csapok megnyitásával, illetve elzárásával vizsgáltam a rendszert. A 29. ábrán a dinamikus hiba jelében keletkező zavar látható, ahogyan a jel valóban “furcsán” viselkedik.

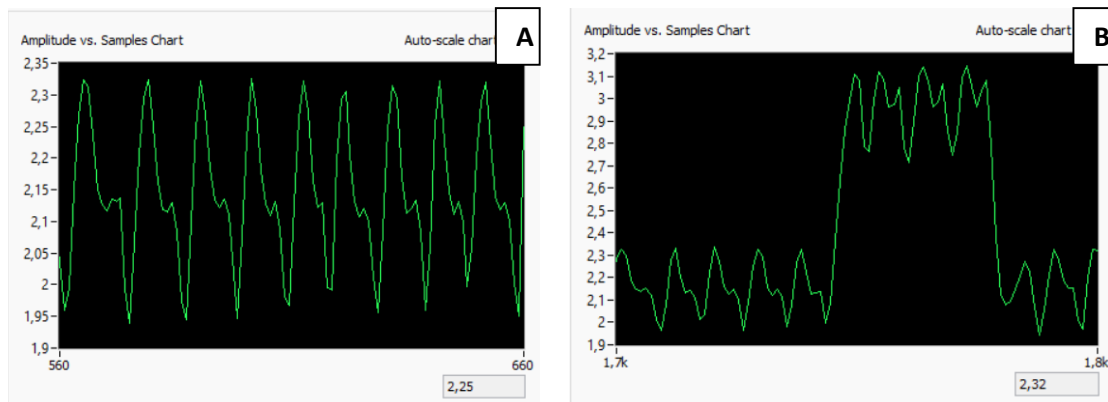


28. ábra: Átlagperiódus



29. ábra: Dinamikus hiba

Az NI kártya és a monitoring rendszer működését nemcsak a Spyder programon keresztül tudtam ellenőrizni, hanem az NI kártyának is volt egy Test Panel funkciója. A 30. ábra A képen látható, ahogyan hiba nélkül működik a rendszer és a B képen pedig az látható, amikor dinamikus hibát talált a rendszer.



30. ábra: NI kártya tesztelése hiba nélküli rendszerben (A) és dinamikus hiba esetén (B)

Végezetül, utolsó lépésként a kódot kiegészítettem egy olyan részlettel, amely hiba esetén üzenetet küld egy általam meghatározott e-mail címre. Ehhez létre hoztam egy külön email címet a projektnek, amelyre hiba esetén üzenete érkezett. A 31. ábra az ehhez szükséges kód részletet mutatja be.

```
##-----ÜZENETKÜLDÉS E-MAIL ÚTJÁN A HIBÁRÓL-----
from email.message import EmailMessage
import ssl
import smtplib

email_sender = 'biofilm.projekt@gmail.com'
email_password = 'pwjchfclrrtcyqga'

email_receiver = 'tombor.pati@gmail.com'
subject = "Rendszer jelzés "
body = """
Hiba van a rendszerben!
"""

em = EmailMessage()
em['From'] = email_sender
em['To'] = email_receiver
em['Subject'] = subject
em.set_content(body)

context = ssl.create_default_context()
with smtplib.SMTP_SSL('smtp.gmail.com', 465, context=context) as smtp:
    smtp.login(email_sender, email_password)
    smtp.sendmail(email_sender, email_receiver, em.as_string())
    # smtp.send_message(em)
```

31. ábra: Spyder 5.3.3. szoftverben megírt kód E-mail küldésre

6. ÖSSZEFOGLALÁS

TDK dolgozatomban témájaként a biofilm képződés vizsgálatát választottam ivóvízhálózat modellben. A dolgozatomban két fő részből állt: egy mikrobiológiai vizsgálatokat tartalmazó részből és egy ivóvízhálózat modell bemutatásából valamint a modellben képződő biofilm vizsgálatáról.

A dolgozatomban fő célja az volt, hogy megvizsgáljam egy felépített, ivóvízhálózat modellben képződő biofilmet. A modellben való méréseket több mikrobiológiai vizsgálat előzte meg, melynek célja az volt, hogy megvizsgáljam a csapvíz mikrobiotájának biofilm képző tulajdonságait és milyen körülmények szükségesek a modell felépítéséhez. Az első vizsgálat során az ivóvízben jelenlévő mikroorganizmusok biofilm képző tulajdonságait figyeltem meg ivóvízhálózatban használt kemény-polietilén csövek felületén, valamint *Pseudomonas brenneri* baktérium biofilm képző tulajdonságait vizsgáltam. Továbbá megvizsgáltam a KPE cső lemezek optimális elhelyezkedését és a szükséges vízmennyiséget. A csövekből kivágott, közel egyforma darabokat (átlagosan 13,5 cm² felületű) különböző méretű, zárt edényekben helyeztem el, különböző mennyiségű ivóvízzel feltöltve. A vizsgálat során elértem a kitűzött célokat, a csapvíz mikrobiotája képzett biofilmet, míg a *Pseudomonas brenneri* kisebb mértékben, tehát másik baktériummal dolgoztam tovább, valamint a lemezek elhelyezkedésére is választ kaptam, melyik az optimális.

Az eredmények ismeretében másik baktériumot választottam, *Pseudomonas stutzeri*-t és már csak egyféle edényben elvégeztem egy 10 héten át tartó vizsgálatot, szintén a KPE cső lemezdarabokkal, majd az ivóvízzel is. A vizsgálat során megállapítottam, hogy az ivóvízben lévő mikrobák is képeznek biofilmet, ráadásul elnyomják a választott baktériumot. A választott baktérium is jó biofilm képző tulajdonságokkal rendelkezett, azonban választ adott arra a kérdésre, hogy szükséges-e beoltani a modellt is vele vagy nem. A modell megépítése a mikrobiológiai mérések alatt történt, és a 10 hetes mérést követően el is indult a modell ivóvízhálózat, baktérium beoltása nélkül.

Kezdetét vette a második fő célom megvalósulása. A modell vízvezeték két nagy egységből állt: egy keringtetett üzemű egységből, melyben egy tartályból volumetrikus elven működő szivattyú keringtette az ivóvizet zárt rendszerben, és egy átfolyó egységből, amelyben az ivóvíz közvetlenül a hálózatról került a rendszerbe és néhány másodperc tartózkodási idő után az elvezető csatornába került. A magyarországi vízvezetékben is ez a két rendszer található meg, ezért épült fel így a modell.

A dolgozatom során mind a két egységben vizsgáltam a biofilm képződést 3 héten keresztül. A keringetett üzemű egységet egy monitoring rendszerrel folyamatosan nyomon követtem nyomásmérő szenzoron keresztül, megvalósítva ezáltal a másik legfőbb célomat, így bármilyen hiba esetén azonnal figyelmeztetett a rendszer, nemcsak helyben, hanem üzenet formájában (e-mail) is. A monitoring rendszer folyamatos működése mellett vizsgáltam a keringetett rendszerben a biofilm képződést, és azt tapasztaltam, hogy az ivóvízben lévő mikroorganizmusok 3 hét leforgása alatt is már képeztek biofilmet, amely a szervezetre kedvezőtlen hatásokat fejthet ki. Az eredményeim rámutattak arra, hogy kiemelten fontos az ivóvíz folyamatos ellenőrzése és kezelése mikrobiológiai szempontból. A kitűzött két legfontosabb célomat sikerült ezáltal megvalósítani.

A jövőben a vizsgálatot hosszabban érdemes elvégezni, több hónapon keresztül, valamint a monitoring rendszer kiterjesztése is megfontolandó, hogy nem csak nyomásjel alapján, hanem a térfogat áramlás alapján is figyelje a rendszert, és így több csatornán keresztül, még jobban, gyorsabban észlelhet esetleges hibát, valamint érdemes az átfolyó üzemű rendszerre is kialakítani a saját monitoring rendszerét.

7. IRODALMI HIVATKOZÁS

1. Al-Makhlafi, H., Nasir, A., McGuire, J., Daeschel, M. (1995): Adhesion of *Listeria monocytogenes* to Silica Surfaces after Sequential and Competitive Adsorption of Bovine Serum Albumin and b-Lactoglobulin. *Applied and Environmental Microbiology*, May 1995, p. 2013–2015
doi: <https://doi.org/10.1128/aem.61.5.2013-2015.1995>
2. Allison, D. G., Sutherland, I.W., (1987): The role of exopolysaccharides in adhesion of freshwater bacteria. *Journal of General Microbiology* (1 987) 133, 1319–1327.
3. Bakke, R., Trulear, M. G., Robinson, J. A., Characklis, W. G. (1984): Activity of *Pseudomonas aeruginosa* in Biofilms: Steady State. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXVI, Pp. 1418-1424 (1984)
4. Block, J. C., Batte, M., Appenzeller, B.M.R., Grandjean, D., Fass, S., Gauthier, V., Jorand, F., Mathieu, L., Boualam, M., Saby, S. (2003): Biofilms in drinking water distribution systems. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology* 2: 147–168
5. Bunn, J.E.G., MacKay, W.G., Thomas, J.E., Reid, D.C., Weaver, L.T. (2002): Detection of *Helicobacter pylori* DNA in drinking water biofilms: Implications for transmission in early life. *Letters in Applied Microbiology* 2002, 34, 450–454
doi: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01122.x>
6. Chakraborty, R., Woo, H., Dehal, P., Walker, R., Zemla, M., Auer, M., Goodwin, L. A., Kazakov, A., Novichkov, P., Arkin, A. P., Hazen, T. C. (2017): Complete genome sequence of *Pseudomonas stutzeri* strain RCH2 isolated from a Hexavalent Chromium [Cr(VI)] contaminated site. *Standards in Genomic Sciences* (2017) 12:23
doi: 10.1186/s40793-017-0233-7
7. Costerton, J. W., Cheng, K. J., Geesey, G. G., Ladd, T. I., Nickel, J. C., Dasgupta, M., Marrie, T. J., (1987): Bacterial biofilms in nature and disease. *Annu. Rev. Microbiol.* 41, 435–464.
8. Fish, K. E., Boxall, J. B. (2018): Biofilm microbiome (re)growth dynamics in drinking water distribution systems are impacted by chlorine concentration. *Frontiers in Microbiology* 9:2519.
DOI: 10.3389/fmicb.2018.02519

9. Fratamico, P. M., annous, B. A., Gunther, n. W. (szerk.) (2009): Biofilms in the food and beverage industries. Woodhead Publishing Limited, Cambrige ISBN: 978-1-84569-477-7
10. Grimaud, R., Sivadon, P., Barnier, C., Urios, L. (2019): Biofilm formation as a microbial strategy to assimilate particulate substrates. Society for Applied Microbiology and John Wiley & Sons Ltd, Environmental Microbiology Reports
doi:10.1111/1758-2229.12785
11. Helke, D. M., Sommers, E. B., Wong, A. C. L. (1993): Attachment of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* to Stainless Steel and Buna-N in the Presence of Milk and Individual Milk Components. *Journal of Food Protection*, Vol. 56, No. 6, Pages 479-484
doi: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-56.6.479>
12. Hulten, K., Enroth, H., Nyström, T., Engstrand, L. (1998): Presence of *Helicobacter pylori* DNA species in Swedish water. *Journal of Applied Microbiology* 1998, 85, 282–286
doi: 10.1046/j.1365-2672.1998.00500.x
13. Izzard, D., Baida, N., Yazourh, A., Singer, E. (2001): *Pseudomonas brenneri* sp. nov., a new species isolated from natural mineral waters. *Research in Microbiology* 152 (2001) 493–502
doi: [https://doi.org/10.1016/S0923-2508\(01\)01223-2](https://doi.org/10.1016/S0923-2508(01)01223-2)
14. Liu, G., Verberk, J. Q. J. C., Van Dijk J. C. (2013): Bacteriology of drinking water distribution systems: an integral and multidimensional review. *Appl Microbiol Biotechnol* (2013) 97:9265–9276
doi: 10.1007/s00253-013-5217-y
15. Liu, G., Zhang, Y., Liu, X., Hammes, F., Liu, W. T., Medema, G., Wessels, P., van der Meer, W. (2020): 360-Degree Distribution of Biofilm Quantity and Community in an Operational Unchlorinated Drinking Water Distribution Pipe. *Environmental Science and Technology* 2020, 54, 5619–5628
doi: <https://dx.doi.org/10.1021/acs.est.9b06603>
16. McKeown, I, Orr, P., Macdonald, S., Kabani, A., Brown, R., Coghlan, G., Dawood, M., Embil, J., Sargent, M., Smart, G., Bernstein, C. N. (1999): *Helicobacter pylori* in the

- Canadian article: Seroprevalence and detection in community water samples. *The American Journal of Gastroenterology* 94: 1823–1829
doi: [https://doi.org/10.1016/S0002-9270\(99\)00268-3](https://doi.org/10.1016/S0002-9270(99)00268-3)
17. Pap, K. (2011): Az élelmiszer mikrobiológia kiemelt szempontjai palackozott forrás- és ásványvíz gyártása során. Doktori értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszertudományi Doktori Iskola
 18. Park, S.R., MacKay, W.G., Reid, D.C. (2001): *Helicobacter* sp. recovered from drinking water biofilm sampled from a water distribution system. *Water Research* 35(6): 1624–1626
doi: [https://doi.org/10.1016/S0043-1354\(00\)00582-0](https://doi.org/10.1016/S0043-1354(00)00582-0)
 19. Paul, C. J., Chan, S., Pullerits, K., Keucken A., Persson, K. M., Radström, P. (2019): Bacterial release from pipe biofilm in a full-scale drinking water distribution system. *Nature Partner Journals Biofilms and Microbiomes* (2019) 5:9
doi: <https://doi.org/10.1038/s41522-019-0082-9>
 20. Sevda, S., Hemdan, B. A., El-Taweel, G. E., Goswami, P., Pant, D. (2021): The role of biofilm in the development and dissemination of ubiquitous pathogens in drinking water distribution systems: an overview of surveillance, outbreaks, and prevention. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (2021) 37:36
doi: <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03008-3>
 21. Speight, V.L., Mounce, S.R., Boxall, J.B. (2019): Identification of the causes of drinking water discolouration from machine learning analysis of historical datasets. *Environmental Science Water Research and Technology* 5:747–755.
doi: <https://doi.org/10.1039/c8ew00733k>
 22. Wu, Y., Luo, L., Yu, T., Wang, Y., Chen, G., Tong, X., Bai, Y., Xu, C., Wang, H., Ikuno, N., Hu, H. (2021): Evaluating method and potential risks of chlorine-resistant bacteria (CRB): A review. *Water Research* 188 (2021) 116474
doi: <https://doi.org/10.1016/j.watres.2020.116474>
 23. Zhao, J., Yang, Y., Li, C. (2014): The laboratory study of drinking water biofilms. *Applied Mechanics and Materials* Vol 535 (2014) pp 455-459.
doi: [10.4028/www.scientific.net/AMM.535.455](https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMM.535.455)

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A TDK dolgozatom nem jöhetett volna létre a sok segítség nélkül, amelyet megírása közben kaptam. Első sorban szeretnék köszönetet mondani a két belső konzulensemnek, Dr. Kiskó Gabriellának és Taczmanné dr. Brückner Andreának, akik által csatlakozhattam a 135436 számú, „Biztonságos ivóvízellátó rendszerek” című Országos Tudományos Kutatási Alap által finanszírozott pályázathoz, és ezáltal maga a TDK munkám témája létrejött, valamint szeretném megköszönni a mikrobiológiai vizsgálatok során nyújtott sok-sok segítséget, tanácsot és támogatást. A pályázathoz való csatlakozásomat szeretném még megköszönni Dr. Hős Csabának, aki a pályázat vezetője, az ő közbenjárása nélkül nem jöhetett volna létre a projekt adta lehetőség.

Szeretnék köszönetet mondani a külső konzulensemnek, Huzsvár Tamásnak, aki a Monitoring rendszer kialakításában nyújtott rengeteg segítséget és szakértőn, rengeteg türelemmel vezette a kódok megírását, a program felépítését.

Végül, de nem utolsó sorban szeretném megköszönni Langa Júliának a Spyder szoftverben megírt kódokhoz és a monitoring rendszerhez szükséges ismeretekben nyújtott segítségét és munkáját, valamint Medve Dánielnek a modell felépítésében vállalt óriási szerepét.