

Wdrożenie metody badawczej do oceny materiałów przeznaczonych do kontaktu z wodą w zakresie ich podatności na powstawanie biofilmu, zgodnej z EN 16421:2014 Influence of materials on water for human consumption – Enhancement of microbial growth (EMG) – Method 3: Measured by mean dissolved oxygen depletion. Badania porównawcze

Implementation of the research method for the assessment of materials intended for contact with water in terms of their susceptibility to biofilm formation in accordance with EN 16421: 2014 Influence of materials on water for human consumption – Enhancement of microbial growth (EMG) – Method 3: Measured by mean dissolved oxygen depletion. Comparative study

MACIEJ SZCZOTKO, IZABELA ORYCH, ADAM GUŚPIEL, DOROTA MAZIARKA, JOLANTA SOLECKA

DOI 10.36119/15.2021.12.7

System nadzoru nad bezpieczeństwem zdrowotnym wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi nie obejmuje bezpośrednio instalacji wewnątrz budynków, które stanowią znaczący i zróżnicowany pod względem materiałowym element każdego systemu dystrybucji wody. Materiały niskiej jakości, podatne na powstawanie biofilmu na ich powierzchni mogą sprzyjać namnażaniu się drobnoustrojów, co z kolei powodować może liczne problemy zdrowotne u konsumentów. Obecność biofilmu w wewnętrznej instalacji budynków może też wiązać się z występowaniem w niej bakterii potencjalnie patogennych dla ludzi, m. in. z gatunków *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* czy *Mycobacterium avium*. Skuteczne zapobieganie wtórnemu mikrobiologicznemu zanieczyszczeniu wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi możliwe jest jedynie poprzez działania prewencyjne, w tym ocenę i eliminację z użycia wyrobów i materiałów niewłaściwej jakości, które stanowią źródło przenikających do wody substancji toksycznych, mogących niekorzystnie wpływać na ocenę sensoryczną wody, w tym smak, zapach, barwę, mętność. W pracy zaprezentowano wyniki wdrożenia znormalizowanej metody badawczej wg PN-EN 16421:2014 Influence of materials on water for human consumption – Enhancement of microbial growth (EMG) – Method 3: Measured by mean dissolved oxygen depletion, pozwalającej na ocenę podatności materiałów przeznaczonych do kontaktu z wodą do spożycia przez ludzi na tworzenie się biofilmu. W ramach realizowanych prac badawczych przebadano 62 próbki materiałów pochodzące od różnych producentów i o różnym składzie chemicznym. W porównaniu z oceną tych samych materiałów prowadzoną za pomocą dotychczas stosowanej własnej metody badawczej łączny odsetek różnic w ocenie dla wszystkich zbadanych materiałów wyniósł 8,06%. Metoda znormalizowana została wdrożona do stosowania, co stanowi jeden z pierwszych etapów złożonego procesu dostosowania krajowego systemu oceny higienicznej materiałów, prowadzonego od lat w Zakładzie Bezpieczeństwa Zdrowotnego Środowiska NIZP PZH – PIB, do wymagań dyrektywy 2020/2184 Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2020/2184 z dnia 16 grudnia 2020 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi.

SŁOWA KLUCZOWE: biofilm, materiały przeznaczone do kontaktu z wodą, metoda badawcza, ocena higieniczna

The drinking water health safety oversight system does not directly cover installations inside buildings that constitute a significant and materially diverse component of any water distribution system. Low – quality materials can enhance microbial growth on their surface, which can cause numerous health problems for consumers. The presence of biofilm inside installations of buildings may also be associated with the presence of potentially pathogenic

dr hab. Jolanta Solecka <https://orcid.org/0000-0002-6052-3423>, dr Maciej Szczotko <https://orcid.org/0000-0001-7740-5768>, lek. med. Dorota Maziarka, mgr Izabela Orych <https://orcid.org/0000-0003-3693-0923>, mgr Adam Guśpiel <https://orcid.org/0000-0003-1960-7497> – Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH – Państwowy Instytut Badawczy w Warszawie. Adres do korespondencji/Corresponding author: mszczotko@pzh.gov.pl

bacteria inside of its structure, including: *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* or *Mycobacterium avium*. Effective prevention of secondary microbial contamination of drinking water is possible only through preventive measures, including the assessment and elimination from the use of improper quality products and materials. Low-quality materials can also be a significant source of toxic substances migrating into the water and may adversely affect the sensory assessment of water, including taste, smell, color, turbidity. The paper presents the results of the implementation of the standardized research method according to PN-EN 16421: 2014 Influence of materials on water for human consumption Enhancement of microbial growth (EMG) – Method 3: Measured by mean dissolved oxygen depletion, enabling the assessment of the enhancement of microbial growth by materials intended for contact with drinking water. The 62 samples of various plumbing materials from different producers have been tested and two research methods have been compared. The percentage of differences between the assessment of materials based on the results obtained by standardized method and the custom Polish method for of all tested materials was 8.06%. The implementation of the standardized method is one of the first stages of upgrade and development process of the national system of materials hygienic assessment conducted at the NIPH NIH – NRI to fulfill the requirements of Directive (EU) 2020/2184 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2020 on the quality of water intended for human consumption.

Keywords: biofilm, materials intended to come into contact with drinking water, research method, hygienic assessment

Wstęp

Akty prawne w większości krajów rozwiniętych uwzględniają system nadzoru nad bezpieczeństwem zdrowotnym wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi do momentu wprowadzenia jej do budynku [1, 2]. Chociaż w teorii oznacza to, że przedsiębiorstwa wodociągowe – producenci wody, są odpowiedzialne za odpowiednią jakość wody, zarówno w budynkach prywatnych, jak i publicznych, interpretacje poszczególnych przepisów pozwalają na przeniesienie obowiązków prawnych bezpośrednio na właścicieli budynków [3, 4, 5]. W konsekwencji większość budynków, zwłaszcza prywatnych obiektów mieszkalnych, nie podlega regularnym kontrolom pod kątem mikrobiologicznej jakości wody dostarczanej do konsumenta. Dodatkowe wyzwania wynikają ze złożonego charakteru i różnorodności instalacji wodno-kanalizacyjnych. Należy wziąć pod uwagę fakt, że do sieci przesyłowych podłączone są często tysiące unikalnych budynków, np. > 20 000 domów jednorodzinnych w Zurychu [6], których instalacje składają się z wielu różnych podjednostek i odcinków, takich jak kotły, zbiorniki na wodę, przewody przesyłowe, armatura regulacyjna – zawory i kurki, armatura zabezpieczająca – filtry, armatura pomiarowa – wodomierze, armatura czerpalna – zawory czerpalne. Ponadto stosowane są elementy uszczelniające i krótkie przyłącza elastyczne. Biorąc pod uwagę wymienioną różnorodność należy przyjąć, że wewnątrz instalacji danego obiektu możemy wyróżnić odcinki, które ze względu na charakterystykę materiałową czy dynamikę przepływu wody, mogą potencjalnie stworzyć niepowtarzalne mikrośrodowiska sprzyjające namnażaniu się drobnoustrojów. W konsekwencji prowadzi to do wy-

tworzenia się biofilmu na wewnętrznych powierzchniach materiałów i wykonanych z nich wyrobów przeznaczonych do kontaktu z wodą do spożycia. Proces ten wspomagany jest przez kilka czynników, z których najważniejsze to temperatura wody, czas jej stagnacji wewnątrz instalacji oraz rodzaj materiałów, z jakich wykonano daną instalację [7]. O ile dochowanie odpowiednich parametrów hydraulicznych i temperaturowych systemów jest możliwe do realizacji poprzez właściwe projektowanie instalacji oraz stosowanie urządzeń automatycznych, zapewniających właściwą, zadaną temperaturę wody i jej cyrkulację, to wybór materiałów, z których wykonane są instalacje budzi wiele problemów natury higienicznej. Są one szczególnie istotne ze względu na wyraźny w ostatnich dziesięcioleciach wzrost przypadków chorób przenoszonych przez wodę pochodzącą z instalacji wewnątrz budynków. W latach 2000-2015 w Stanach Zjednoczonych odnotowano 4,5-krotnie, a w Szwajcarii 4-krotnie wzrost zachorowań na chorobę legionistów [8, 9]. Bakteria ją wywołująca – *Legionella pneumophila*, jest dobrze znanym mikroorganizmem bytującym w instalacjach wody zimnej i ciepłej budynków, zwłaszcza w powiązaniu z obecnością biofilmu [10, 11]. Inne patogeny oportunistyczne, takie jak *Pseudomonas aeruginosa* i *Mycobacterium avium*, również są często wykrywane wewnątrz instalacji [12]. Podczas ogólnokrajowych badań przeprowadzonych w Niemczech w 2010 r. stwierdzono obecność *Pseudomonas* sp. w liczbie przekraczającej dopuszczalny limit (0 jtk/100 ml) w około 3% wszystkich pobranych próbek wody do picia [13]. *Pseudomonas aeruginosa*, rzadko powoduje zakażenia u osób zdrowych, może natomiast stanowić znaczące zagrożenie dla zdrowia osób z tzw.

grup ryzyka, np. chorych na mukowiscydozę, nieodrobny odporności, chorych po przebiegu rozległych urazów lub oparzeń [14, 15]. *Mycobacterium avium* z kolei jest znanym czynnikiem mogącym powodować choroby płuc, szczególnie u osób starszych, ze współistniejącymi niedoborami odporności, a także zmianami anatomicznymi w układzie oddechowym w wyniku innych chorób, jak gruźlica, rozedma płuc lub rozstrzenie oskrzeli. Może stanowić jeden z wielu czynników zanieczyszczenia aerozoli wodno-powietrznych, np. kropli generowanych przez urządzenia natryskowe, co stanowi istotne ryzyko zakażenia drogą inhalacyjną [16,17].

Materiały do przesyłu wody wewnątrz budynków składały się dawniej prawie wyłącznie z wyrobów na bazie metali (miedź, stal ocynkowana, żeliwo), jednak w ciągu ostatniego półwiecza coraz częściej stosuje się syntetyczne produkty polimerowe. Ich zalety to niski koszt, łatwiejszy proces instalacji w porównaniu ze sztywnymi przewodami stalowymi, wysoka odporność na ciepło, dłuższa żywotność, odporność na korozję oraz lepsze parametry w zakresie oszczędności energii dzięki zmniejszonemu przenoszeniu ciepła. Szeroka gama syntetycznych materiałów polimerowych jest wykorzystywana zarówno do produkcji przewodów, jak i innych elementów instalacji. Przewody wytwarzane są najczęściej z usieciowanego polietylenu (PE-X) i nieplastifikowanego polichlorku winylu (PVC-U). Złączki produkuje się z polibutylenu (PB) i polipropylenu (PP). Węże przyłączeniowe są wykonane z plastifikowanego PVC (PVC-P), natomiast do produkcji materiałów uszczelniających stosuje się zazwyczaj monomer etylenowo-propylenowo-dienowy (EPDM) i kauczuk silikonowy. Co ważne, poszczególne elementy instalacji

są często złożone z wielu różnych materiałów mających kontakt z wodą. Na przykład pojedyncza bateria kuchenna może zawierać stal ocynkowaną, mosiądz, miedź, PE-X, EPDM i PVC-P. Każdy z tych materiałów stanowi wyjątkowe środowisko, a tym samym tworzy inną niszę dla potencjalnego wzrostu bakterii [18]. Migracja węgla organicznego z materiału do wody jest głównym powodem, dla którego syntetyczne materiały polimerowe są istotne dla rozwoju mikroorganizmów wewnątrz instalacji wodnej w budynkach. Woda przeznaczona do spożycia jest zazwyczaj środowiskiem o niskim stężeniu węgla organicznego [19, 20]. W rezultacie migracji związków węgla z materiału do wody, powstają warunki sprzyjające zwiększonemu namnażaniu się drobnoustrojów wewnątrz instalacji. W większości przypadków substratami emitującymi węgiel organiczny nie są same polimery, lecz różne dodatki nadające im pożądane cechy użytkowe i właściwości techniczne – plastyfikatory i stabilizatory [21]. Dodatki te są zwykle związkami o niskiej masie cząsteczkowej, przez co ulegają dość łatwo wymywaniu do wody, z którą się kontaktują. Niektóre z nich mogą służyć jako podstawowe źródło składników odżywczych, wspomagające wzrost drobnoustrojów [21, 22]. Prowadzi to w efekcie do tworzenia się biofilmu, co negatywnie wpływa na mikrobiologiczną jakość wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi.

Wobec dużej liczby obecnych na rynku materiałów dedykowanych do przesyłu wody wewnątrz budynków szczególnie istotny jest ich odpowiedni dobór na etapie planowania inwestycji. Materiały i wyroby mogą charakteryzować się różną jakością i podatnością na tworzenie się biofilmu. Skuteczne zapobieganie wtórnemu mikrobiologicznemu zanieczyszczeniu wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi możliwe jest jedynie poprzez działania prewencyjne, w tym ocenę i eliminację z użycia wyrobów i materiałów niewłaściwej jakości, które stanowią źródło przenikających do wody substancji toksycznych, mogących niekorzystnie wpływać na ocenę sensoryczną wody, w tym smak, zapach, barwę, mętność, a także promują wzrost drobnoustrojów [23]. W tym celu Państwa członkowskie UE poprzez zapisy w Dyrektywie 98/83/EC zobowiązały się do wykorzystywania w nowych instalacjach oraz w produkcji urządzeń stosowanych do dystrybucji wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi substancji i materiałów, które nie wpływają negatywnie na jakość stykającej się z nimi wody. W Polsce regulacje prawne dotyczące oceny higienicznej ma-

teriałów i wyrobów kontaktujących się z wodą zawarte zostały w ustawie o zbiorowym zaopatrzeniu w wodę i zbiorowym odprowadzaniu ścieków [5] oraz w rozporządzeniu Ministra Zdrowia w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi [4]. W art. 12.2 ustawy stwierdzono, że: „każdy materiał używany do uzdatniania wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi powinien posiadać pozytywną ocenę higieniczną właściwego terenu organu inspekcji sanitarnej”. Z kolei § 21, ustęp 2, punkt 2 rozporządzenia stwierdza, że: „jednym z dokumentów, których przedłożenie jest wymagane przy ubieganiu się o taką ocenę, jest aktualny atest higieniczny jednostki uprawnionej do jego wydawania”. Jednostką uprawnioną przez Ministra Zdrowia w zakresie wydawania atestów na materiały i wyroby stosowane w systemach dystrybucji wody oraz środki stosowane do jej uzdatniania jest Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego PZH – Państwowy Instytut Badawczy (NIZP PZH – PIB). Ocena materiałów pod kątem ich podatności na tworzenie się biofilmu, jako integralny element procesu atestacji higienicznej, prowadzona była w NIZP PZH – PIB od 2015 r. m.in. na podstawie wyników badań laboratoryjnych wg procedury badawczej PB-04-LHK/M [24, 25]. Uznawano jednocześnie wyniki badań pochodzące z niezależnych instytutów naukowych z krajów Unii Europejskiej, takich jak:

- DVGW (*Deutscher Verein des Gas und Wasserfaches* – Niemiecki Związek Przemysłu Gazu i Wody),
- WRAS (*Water Regulations Advisory Scheme* – Program Doradczy Regulacji Wody, Wielka Brytania),
- KIWA (holenderska instytucja certyfikująca jakość produktów),
- WRC (*Water Research Centre* – Centrum Badania Wody, Wielka Brytania),
- ACS (*Attestation de conformité sanitaire* – certyfikat wydawany przez jednostki francuskiego Ministerstwa Zdrowia),
- Instytut Pasteura lub Instytut Higieny Zagłębia Ruhry w Gelsenkirchen – o ile zakres badań był zgodny z wymogami atestacji higienicznej.

Wobec dostępności znormalizowanej metody badawczej wg EN 16421:2014, Zakład Bezpieczeństwa Zdrowotnego Środowiska NIZP PZH – PIB w 2019 r. podjął decyzję o rozpoczęciu prac mających na celu wdrożenie metodyki badawczej opartej o jedną z metod wskazanych w ww. normie. Wybrano metodę badawczą polegającą na umieszczaniu próbek różnych materiałów w szklanych butelkach

wypełnionych wodą testową i ocenie stopnia zużycia tlenu w wyniku aktywności metabolicznej drobnoustrojów kolonizujących ich powierzchnie (MDOD – *Mean Dissolved Oxygen Demand*) [26].

Cel:

Celem badań, których wyniki zaprezentowano w niniejszej publikacji, było wdrożenie metody badawczej zgodnej z EN 16421:2014 Influence of materials on water for human consumption – Enhancement of microbial growth (EMG) – Method 3: Measured by mean dissolved oxygen depletion, porównanie oceny różnych grup materiałów na podstawie jej wyników oraz wyników badań prowadzonych wg dotychczas stosowanej procedury własnej PB-04-LHK/M z dnia 21.12.2012 – Ocena podatności materiałów kontaktujących się z wodą na powstawanie biofilmu metodą pomiaru bioluminescencji, z zastosowaniem dwóch kontrolnych materiałów odniesienia.

Materiały i metody:

Materiały przeznaczone do kontaktu z wodą

Badaniom poddano materiały polimerowe pochodzące z krajowego rynku, które podlegały ocenie higienicznej prowadzonej w Zakładzie Bezpieczeństwa Zdrowotnego Środowiska NIZP PZH – PIB w latach 2019 – 2020. Należały do nich: polietylen (PE), polipropylen (PP), polichlorek winylu (PVC), mieszanki gumowe (głównie EPDM), a także inne materiały jak laminaty i żywice, pochodzące od różnych producentów.

Metody badawcze

Wszystkie materiały badano dwiema metodami:

1. PB-04-LHK/M z dnia 21.12.2012 – Ocena podatności materiałów kontaktujących się z wodą na powstawanie biofilmu metodą pomiaru bioluminescencji, z zastosowaniem dwóch kontrolnych materiałów odniesienia [24]. Kontrolę pozytywną (podatną na powstawanie biofilmu) stanowiły płytki szklane pokryte warstwą parafiny, natomiast kontrolę negatywną (niepodatną na powstawanie biofilmu), płytki wykonane ze stali nierdzewnej odpornej na korozję.
2. PN-EN 16421:2014 Influence of materials on water for human consumption – Enhancement of microbial growth (EMG) – Method 3: Measured by mean dissolved oxygen depletion [25]. Kontrolę pozytywną stanowiły

plytki parafinowe, natomiast kontrolę negatywną, płytki wykonane ze stali nierdzewnej odpornej na korozję.

Materiały i odczynniki stosowane w oznaczeniu bioluminescencji

Do oznaczania poziomu bioluminescencji na powierzchni badanych materiałów stosowano zestawy testowe do użytku *in vivo* HY-LiTE® (MERCK). W ich skład wchodziły wymazówki wolne od ATP oraz kuwety reakcyjne (pióra) z gotowym zestawem odczynników w postaci płynu do rozcieńczania, buforowania oraz neutralizacji próbki, a także liofilizatu kompleksu reakcyjnego lucyferyna – lucyferaza. Zestaw ten był przystosowany do pracy z luminometrem HY-LiTE 2® (MERCK). Czulość stosowanych testów wynosiła $1,4 \times 10^{-14}$ moli ATP. Wyniki oznaczeń wyrażane były w RLU/cm².

Testy prowadzono z wykorzystaniem urządzeń przepływowych UPE, które zasilane były zimną wodą pochodzącą bezpośrednio z instalacji wodociągowej. Średni przepływ wody ustalono na ok. 0,5 m³/dobę.

Szczegółowy opis techniczny urządzenia opublikowano we wcześniejszych pracach autorów [26]. Badania prowadzono przez kolejnych 8 tygodni (tworzywa sztuczne) lub 10 tygodni (mieszanki gumowe i materiały elastyczne). Pomiary poziomu bioluminescencji prowadzono raz w tygodniu.

Materiały i odczynniki stosowane w oznaczeniu poziomu rozpuszczonego tlenu

Do oznaczania średniego zużycia tlenu rozpuszczonego w wodzie wykorzystano trzyparametrowy miernik EDGE HI2040-02 (HANNA) zaopatrzone m. in. w sondę tlenową HI 764080 (HANNA). Pomiar wykonywano wg ISO 5814:2012(E) Water quality – Determination of dissolved oxygen – Electrochemical probe method.

Próbki badanych materiałów o powierzchni około 15000 mm² umieszczono w skalowanych, szklanych butelkach o pojemności 1000 ml i szerokości gwintu 80 mm (DURAN). Do butelek dodawano wodę testową pochodzącą z sieci wodociągowej. Zastosowano nakrętki o zwiększonej odporności na substancje chemiczne, z warstwą uszczelniającą z powłoką PTFE. Pierwsze napełnienie butelek następowało poprzez dodanie 100 ml wody powierzchniowej, która stanowiła inokulum drobnoustrojów oraz uzupełnienie butelki do 1000 ml wodą testową. Parametry mikrobiologiczne i fizyko-chemiczne wody powierzchniowej stosowanej jako inokulum oraz wody testo-

wej wykorzystywanej do okresowych podmiarów badano wg metod znormalizowanych, wskazanych w wymaganiach EN 16421:2014. Butelki z próbkami inkubowano w termostacie w temperaturze $30 \pm 1^\circ\text{C}$. Przez kolejne 7 tygodni w odstępach, odpowiednio co 3 i co 4 dni, wymieniano wodę testową. Od piątego tygodnia prowadzono oznaczenia poziomu tlenu rozpuszczonego w wodzie. W przypadku uzyskania wyników, wskazujących na konieczność przedłużenia lub powtórzenia badania, stosowano procedury opisane szczegółowo w EN 16421:2014. Ocena poszczególnych próbek materiałów na podstawie uzyskanych wyników prowadzona była wg kryteriów wskazanych w normie.

Wyniki i ich omówienie

Prezentację uzyskanych wyników badań podzielono na trzy części. Każda

z nich przedstawia wyniki dla jednej grupy badanych materiałów. Szczegółowy opis oceny podatności poszczególnych materiałów w danej grupie z wykorzystaniem dwóch metod badawczych zaprezentowano w poniższych tabelach.

Zbadano próbki 36 materiałów tworzywowych pochodzących od różnych producentów i charakteryzujących się odmiennym składem chemicznym. W znaczącej większości były to próbki rur wykonanych z różnych odmian polietylenu (PE) oraz polichlorku winylu (PVC). W grupie tej stwierdzono różnice w ocenie jedynie w przypadku dwóch, dość nietypowych materiałów – wykładzin basenowych z miękkiego PVC. Oba materiały zostały ocenione negatywnie w wyniku badań prowadzonych wg własnej procedury badawczej, natomiast ocena na podstawie wyników badań wg metody znormalizowanej pozwalała na ich pozytywną ocenę.

Tab. 1 Wyniki oceny podatności materiałów tworzywowych na tworzenie się biofilmu na ich powierzchni z wykorzystaniem dwóch metod badawczych

I.p.	Materiał	Wynik oceny metodą PB-04-LHK/M z dnia 21.12.2012	Wynik oceny metodą wg EN 16421:2014, metoda 3
1.	PVC nr 1	negatywna	negatywna
2.	PVC nr 2	pozytywna	pozytywna
3.	PVC nr 3	pozytywna	pozytywna
4.	PVC nr 4	negatywna	negatywna
5.	PVC nr 5	negatywna	negatywna
6.	PVC nr 6	negatywna	negatywna
7.	PVC nr 7	negatywna	negatywna
8.	PVC nr 8	pozytywna	pozytywna
9.	PVC nr 9	negatywna	negatywna
10.	PVC nr 10	pozytywna	pozytywna
11.	PVC-U nr 1	pozytywna	pozytywna
12.	PVC-U nr 2	pozytywna	pozytywna
13.	PE	pozytywna	pozytywna
14.	PE100 nr 1	pozytywna	pozytywna
15.	PE100 nr 2	pozytywna	pozytywna
16.	PE100 nr 3	pozytywna	pozytywna
17.	PE100 nr 4	pozytywna	pozytywna
18.	PE nr 2	pozytywna	pozytywna
19.	PE nr 3	pozytywna	pozytywna
20.	PE-HD nr 1	pozytywna	pozytywna
21.	PE-HD nr 2	pozytywna	pozytywna
22.	HDPE nr 1	pozytywna	pozytywna
23.	HDPE nr 2	pozytywna	pozytywna
24.	PE RT/EVOH/PE RT	pozytywna	pozytywna
25.	PE RT/AL/PERT	pozytywna	pozytywna
26.	PEX/AL./PEX nr 1	pozytywna	pozytywna
27.	PEX AL./PEX nr 2	pozytywna	pozytywna
28.	PEX AL./PEX nr 3	pozytywna	pozytywna
29.	PE-RT	pozytywna	pozytywna
30.	PP-R nr 1	pozytywna	pozytywna
31.	PP-R nr 2	pozytywna	pozytywna
32.	PP	pozytywna	pozytywna
33.	PVD	pozytywna	pozytywna
34.	poliamid	pozytywna	pozytywna
35.	wykładzina PVC nr 1	negatywna	pozytywna
36.	wykładzina PVC nr 2	negatywna	pozytywna

Tab. 2 Wyniki oceny podatności materiałów gumowych na tworzenie się biofilmu na ich powierzchni z wykorzystaniem dwóch metod badawczych

I.p.	Materiał	Wynik oceny metodą PB-04-LHK/M z dnia 21.12.2012	Wynik oceny metodą wg EN 16421:2014, metoda 3
1.	EPDM EP86	negatywna	negatywna
2.	EPDM nr 1	negatywna	pozytywna
3.	EPDM nr 2	negatywna	negatywna
4.	EPDM WP	negatywna	negatywna
5.	EPDM RCF-80 nr 1	negatywna	negatywna
6.	EPDM RCF-80 nr 2	negatywna	negatywna
7.	EPDM RCF-80 nr 3	negatywna	negatywna
8.	EPDM nr 3	negatywna	negatywna
9.	EPN 70	negatywna	negatywna
10.	EPN 47	negatywna	negatywna
11.	EPDM nr 4	negatywna	negatywna
12.	EPDM nr 5	negatywna	negatywna
13.	NBR 70	negatywna	negatywna
14.	EPDM 70	negatywna	pozytywna
15.	EPDM SO80	negatywna	negatywna
16.	EPDM nr 6	negatywna	negatywna
17.	EPDM nr 7	negatywna	negatywna
18.	Membrana EPDM z paskiem z butylu	negatywna	negatywna
19.	EPDM nr 8	negatywna	negatywna
20.	NBR	negatywna	negatywna
21.	chlorobutyl	negatywna	negatywna

Zauważyć należy jednak, że ocena negatywna podyktowana była nieznacznym przekroczeniem dopuszczalnej wartości bioluminescencji, którą stanowiła dziesięciokrotność poziomu bioluminescencji oznaczanej na powierzchni kontroli negatywnej – płytek ze stali nierdzewnej. Wyniki badań obu wykładzin wynosiły odpowiednio 2130 RLU/cm² i 2210 RLU/cm² dla wykładziny nr 1 i nr 2 przy dopuszczalnym wyniku na poziomie (10 × K-) 1440 RLU/cm². Ocena przeprowadzona na podstawie metody znormalizowanej była pozytywna, jednak wynik badania mieścił się w górnej granicy dopuszczalności materiału do kontaktu z wodą. Można więc stwierdzić, że materiał był stosunkowo trudny do oceny zarówno za pomocą jednej, jak i drugiej metody badawczej. Podsumowując, ocena materiałów tworzywowych była spójna, pomimo zastosowania dwóch odmiennych technicznie metod badawczych. Odsetek różnic w ocenie w całej grupie wyniósł 5,55%.

Zbadano próbki 21 różnych materiałów na bazie mieszanek gumowych, z których zdecydowaną większość stanowiły mieszanki EPDM o różnym składzie chemicznym. Odmienną ocenę podatności materiału na tworzenie się biofilmu stwierdzono w przypadku jednego materiału na bazie EPDM. W przypadku próbki oznaczonej jako EPDM nr 1 ocena przeprowadzona w 2017 r., na podstawie wyników badań wg metodyki własnej była dość jednoznaczna, a uzyskane wyniki bioluminescencji były stosunkowo wysokie, tj. 10000

RLU/cm² po 10 tygodniach trwania testu przy dopuszczalnej wartości na poziomie 1260 RLU/cm². Badanie za pomocą metody znormalizowanej zostało wykonane po blisko dwóch latach od oceny pierwotnej. Wyniki uzyskane za pomocą metody znormalizowanej pozwalały na jednoznaczną ocenę pozytywną. Był to jedyny materiał z wymienionych w tab. 2, w przypadku, którego ocena tych samych próbek za pomocą dwóch metod przeprowadzona została w tak długim odstępie czasu, co mogło mieć wpływ na jej ostateczny wynik. Podsumowując, ocena materiałów wykonanych na bazie mieszanek gumowych była spójna, pomimo zastosowania dwóch odmiennych technicznie metod badawczych. Odsetek różnic w ocenie w całej grupie wyniósł 4,76%.

Tab. 3 Wyniki oceny podatności materiałów zaliczanych do pozostałych rodzajów na tworzenie się biofilmu na ich powierzchni z wykorzystaniem dwóch metod badawczych

I.p.	Materiał	Wynik oceny metodą PB-04-LHK/M z dnia 21.12.2012	Wynik oceny metodą wg EN 16421:2014, metoda 3
1.	zaprawa na bazie cementu	negatywna	pozytywna
2.	okładzina z włókna szklanego	pozytywna	pozytywna
3.	żywica nr 1	pozytywna	negatywna
4.	żywica nr 2	pozytywna	pozytywna
5.	powłoka izofilm	pozytywna	pozytywna

Trzecią grupę badawczą stanowiło 5 materiałów, w tym jedna zaprawa na bazie cementu oraz cztery powłoki wieloskładnikowe na bazie żywic. Stwierdzono dwa przypadki, w których ocena materiału różniła się przy zastosowaniu obu metod badawczych. Pierwszy dotyczył

zaprawy na bazie cementu, która podobnie jak wskazana powyżej mieszanka gumowa EPDM nr 1 (tab. 2), oceniana była za pomocą własnej metody badawczej przeszło rok przed przeprowadzeniem jej badań za pomocą metody znormalizowanej. Wynik jednoznacznie wskazywał na wysoką podatność materiału i kształtował się na poziomie 11000 RLU/cm² przy dopuszczalnej granicy 1370 RLU/cm². W drugim przypadku różniła się ocena dotyczyła powłoki wieloskładnikowej na bazie żywicy epoksydowej, która z kolei pozytywnie została oceniona w teście z wykorzystaniem metody własnej, natomiast na podstawie wyników badań prowadzonych wg metody znormalizowanej wynik oceny był negatywny. Odsetek różnic w grupie materiałów przedstawionych w tab. 3 wyniósł 40% jednak podkreślić należy, że zbadano w jej ramach jedynie 5 materiałów, z których większość stanowiły materiały wieloskładnikowe, których ocena za pomocą metody znormalizowanej nie jest wskazana, a porównanie miało jedynie charakter informacyjny i miało na celu weryfikację czy zgodnie z zapisami normy, mogą wystąpić problemy z oceną końcową w zakresie podatności materiałów na tworzenie się biofilmu.

Przebadano łącznie 62 próbki materiałów pochodzące od różnych producentów i o różnym składzie chemicznym. Ich ocena opracowana na podstawie wyników badań prowadzonych za pomocą dwóch różnych metod badawczych – metodyki własnej oraz metody znormalizowanej, była dość jednolita. W pięciu przypadkach wykazano jednak odmienną ocenę końcową, co każdorazowo związane było z charakterystyką materiału lub znaczną rozbieżnością w czasie pomiędzy wykonywanymi badaniami. Łączny odsetek różnic w ocenie dla wszystkich

zbadanych materiałów wyniósł 8,06%. Z punktu widzenia atestacji higienicznej materiałów i wyrobów do kontaktu z wodą przeznaczoną do spożycia przez ludzi prowadzonej w NIZP PZH – PIB, określenie podatności materiałów na tworzenie się biofilmu jest, obok fizykochemicznych

badan migracji, istotnym parametrem pozwalającym na ocenę potencjalnego negatywnego wpływu danego materiału na jakość wody w instalacji wewnętrznej budynków. Pozwala to na eliminację z rynku materiałów i wyrobów niskiej jakości, przed ich wprowadzeniem do obrotu, a które po zamontowaniu jako element instalacji mogłyby pogarszać jakość wody i przyczynić się do problemów zdrowotnych u potencjalnych konsumentów. Podatność materiałów różni się w zależności od ich składu chemicznego i dynamiki procesu migracji związków organicznych, w tym węgla, do wody [27]. W pracy autorstwa Wen i wsp. [22] wykazano, że dobrej jakości przewody wykonane z polietylenu usieciowanego (PE-X) uwalniają do wody zdecydowanie mniej węgla organicznego niż wyroby z EPDM, szczególnie w pierwszej dobie kontaktu. W pracy wskazano też, że bardzo istotny jest początkowy okres, który określono na 14 dni eksploatacji, w którym to migracja węgla organicznego jest najwyższa i w sprzyjających warunkach może wiązać się ze zwiększoną podatnością materiału na powstawanie biofilmu. Stąd też stosowane są zalecenia intensywnego płukania nowych instalacji w pierwszych tygodniach ich użytkowania, co ma na celu usunięcie ze światła przewodów wody wzbogaconej o substancje organiczne wypłukiwane bezpośrednio z materiałów, z których instalacja została wykonana. Szczególnie wyraźnie proces ten zachodzi w przypadku materiałów z tworzyw elastycznych jak np. PVC, silikon czy EPDM, stosowanych jako elastyczne przyłącza prysznicowe lub przyłącza do wylewek i kranów [28]. Są to relatywnie krótkie elementy końcowe instalacji wodnej w budynku, jednak ze względu na swoje cechy mogą znacząco wpływać na jakość wody, powodując zwiększony wzrost mikroorganizmów. Podobne obserwacje stwierdzono podczas badań porównawczych, będących tematem niniejszej pracy. Wyrobami ocenionymi negatywnie były w znacznej mierze te, które wykonano z materiałów elastycznych. W szczególności wysoką podatność na tworzenie się biofilmu, niezależnie od metody badawczej, wykazywały węże przyłączeniowe z EPDM i innych syntetycznych materiałów gumowych. Dlatego szczególnie ta grupa wyrobów powinna być poddawana wszelkim, niezbędnym badaniom mającym na celu potwierdzenie, że nie będą one negatywnie wpływać na jakość wody do spożycia poprzez generowanie jej wtórnego, mikrobiologicznego zanieczyszczenia. Należy mieć też na uwadze, że instalacje wewnątrz budyn-

ków nigdy nie są homogeniczne pod względem wykorzystanych w nich materiałów, a negatywny wpływ tychże może ulegać swoistej kumulacji. Stąd dokładna ocena potencjalnego negatywnego wpływu wszystkich elementów takich instalacji z osobna powinna być podstawą ich wprowadzenia do obrotu, a także podstawą doboru materiałów przy projektowaniu i wykonaniu nowych instalacji. Szczególnie istotne jest to w związku z wejściem w życie nowej dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2020/2184 z dnia 16 grudnia 2020 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (Dz.U. L 435) [29]. Dokument ten wprowadził zaktualizowane regulacje w wielu obszarach związanych z zaopatrzeniem w wodę, w szczególności nowe zasady oceny materiałów i chemikaliów do kontaktu z wodą przeznaczoną do spożycia, które zostały określone w art. 11 i 12 oraz w załączniku V. Przewiduje się zatem utworzenie ujednoliconego systemu oceny w skali Unii Europejskiej, opartego na wspólnych kryteriach dotyczących analizy składu materiałowego i opracowania europejskich list pozytywnych, a także spójnym zakresie badań laboratoryjnych oraz zasadach interpretacji ich wyników. Założenia definiują rodzaj parametrów wymaganych przy ocenie poszczególnych grup wyrobów do kontaktu z wodą, wśród których wyodrębniono materiały metalowe, organiczne, cementowe oraz – jako odrębną grupę – emalie i materiały ceramiczne. Zasady nowego systemu, w szczególności harmonizacja wymagań higienicznych dotyczących powyższej grupy materiałów w obrębie całej UE i docelowo opracowanie w pełni jednolitych regulacyjnych ram prawnych oceny, są postulatem wysuwanym od lat przez reprezentantów producentów i dystrybutorów. Ich wprowadzenie w życie stanowi jednak wyzwanie dla większości krajów członkowskich, z uwagi na głęboką przebudowę dotychczasowych systemów oceny, odmiennych w poszczególnych państwach i poszerzenie zakresu badań laboratoryjnych materiałów, zarówno w zakresie parametrów fizykochemicznych (testy migracji), jak i badań mikrobiologicznych (podatność na tworzenie się biofilmu). W te zmiany doskonale wpisuje się wdrożenie znormalizowanej metody oceny materiałów pod względem ich podatności na tworzenie się biofilmu, ponieważ zapewni jednolitą formę prezentacji wyników i ich interpretacji oraz pozwoli na dostosowanie krajowego systemu oceny materiałów do wymogów ww. dyrektywy. Implementacja jej zapisów do krajowych przepisów

krajów członkowskich powinna zostać ukończona w ciągu dwóch lat od daty obowiązywania dyrektywy 2020/2184. W wyniku oceny prowadzonej w 2021 r. podczas audytu PCA metoda uzyskała akredytację i od 17 maja 2021 r. została wdrożona do stosowania jako podstawowa metoda badawcza pozwalająca na ocenę materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z wodą do spożycia pod kątem ich podatności na powstawanie biofilmu w ramach działalności badawczej NIZP PZH – PIB.

Wnioski:

- Metoda badawcza wg PN-EN 16421:2014 Influence of materials on water for human consumption – Enhancement of microbial growth (EMG) – Method 3: Measured by mean dissolved oxygen depletion, wdrożona w Laboratorium Zakładu Bezpieczeństwa Zdrowotnego Środowiska NIZP PZH – PIB została wprowadzona do stosowania i porównana z dotychczas stosowaną metodyką własną.
- Wdrożenie powyższej metody badawczej pozwala w dalszej perspektywie na dostosowanie krajowego systemu oceny, prowadzonego od lat w Zakładzie Bezpieczeństwa Zdrowotnego Środowiska NIZP PZH – PIB, do wymagań dyrektywy Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2020/2184 z dnia 16 grudnia 2020 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. Należy również zwrócić uwagę, że przedmiotowa metoda badawcza jest stosowana w innych, uznanych europejskich ośrodkach badawczych, zajmujących się tematyką jakości materiałów budowlanych stosowanych w instalacjach wodnych.
- W trakcie badań porównawczych potwierdzono, że grupą materiałów o szczególnej podatności na tworzenie się biofilmu są organiczne materiały elastyczne jak wyroby z EPDM i plastyfikowanego PVC. Wskazuje to na konieczność dalszych badań w tym obszarze i podjęcia szczególnych działań na rzecz eliminacji z rynku materiałów niewłaściwej jakości, przed ich wykorzystaniem do budowy nowych instalacji wodociągowych wewnątrz budynków.

Badania zaprezentowane w niniejszej pracy finansowane były w ramach realizacji Projektu Badań Własnych NIZP PZH – PIB nr 2BKBW/19, realizowanego w latach 2019-2020.

LITERATURA

- [1] EU Commission, D.W.D. DWD 98/83/EC. O. J. Eur. Communities. 1998, 41, 54.
- [2] Trinkwasserverordnung und Legionellen. Dostępny online: https://www.bundesgesundheitsministerium.de/fileadmin/Dateien/3_Downloads/T/Trinkwasserverordnung/Stamtxmtx_TrinkwV_und_Legionellen_250418.pdf
- [3] Bundesministerium für Wirtschaft. Verordnung Über Allgemeine Bedingungen Für Die Versorgung Mit Wasser (AVBWasserV). 1980. 2014. Dostępny online: <https://www.gesetze-im-internet.de/avbwasserv/BjNR007500980.html>
- [4] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 7 grudnia 2017 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi; Dz.U. 2017 poz. 2294.
- [5] Ustawa z dnia 7 czerwca 2001 r. o zbiorowym zaopatrzeniu w wodę i zbiorowym odprowadzeniu ścieków (Dz.U. nr 123/2001, poz. 858, z późn. zm.).
- [6] OpenDataZürich. Gebäude und Wohnungen nach Gebäudeart und Stadtquartier seit 2008.
- [7] Neu L., Hammes F. Feeding the building plumbing microbiome: the importance of synthetic polymeric materials for biofilm formation and management. *Water*. 2020, 12 (6), 1774. <https://doi.org/10.3390/w12061774>
- [8] Barskey A., Lackraj D., Tripathi P.S., Cooley L., Lee S., Smith J., Edens C. Legionnaires' Disease Surveillance Summary Report, United States. Dostępny online: <https://www.cdc.gov/legionella/health-depts/surv-reporting/2016-17-surv-report-508.pdf>
- [9] Bundesamt für Gesundheit BAG. Zahlen zu Infektionskrankheiten: Legionellose. Bern (Schweiz): Bundesamt für Gesundheit BAG. 2019.
- [10] Richards A.M., Von Dwingelo J.E., Price C.T., Kwai Y.A. Cellular microbiology and molecular ecology of *Legionella*-amoeba interaction. *Virulence*. 2013, 4 (4), 307–314. <https://doi.org/10.4161/viru.24290>
- [11] Matuszewska R., Szczętko M. Ocena występowania punktowego i systemowego zanieczyszczenia bakteriami z rodzaju *Legionella* w instalacjach wodociągowych wody ciepłej. *Instal.* 2020, 11, 38–42. <https://doi.org/10.36119/15.2020.11.5>
- [12] Falkinham J.O., Pruden A., Edwards M. Opportunistic premise plumbing pathogens: increasingly important pathogens in drinking water. *Pathogens*. 2015, 4 (2), 373–386. <https://doi.org/10.3390/pathogens4020373>
- [13] Völker S., Schreiber C., Kistemann T. Drinking water quality in household supply infrastructure – a survey of the current situation in Germany. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2010, 213 (3), 204–209. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2010.04.005>
- [14] Bédard E., Prévost M., Déziel E. *Pseudomonas Aeruginosa* in premise plumbing of large buildings. *Microbiology Open*. 2016, 5 (6), 937–956. <https://doi.org/10.1002/mbo3.391>
- [15] Feazel L.M., Baumgartner L.K., Peterson K.L., Frank D.N., Harris J.K., Pace N.R. Opportunistic pathogens enriched in showerhead biofilms. *PNAS*. 2009, 106 (38), 16393–16399. <https://doi.org/10.1073/pnas.0908446106>
- [16] Falkinham J.O. Reducing human exposure to *Mycobacterium avium*. *Annals of the American Thoracic Society*. 2013, 10 (4), 378–382. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201301-013FR>
- [17] Gebert M.J., Delgado-Baquerizo M., Oliverio A.M., Webster T.M., Nichols L.M., Honda J.R., Chan E.D., Adjemian J., Dunn R.R., Fierer N. Ecological analyses of *Mycobacteria* in showerhead biofilms and their relevance to human health. *MBio*. 2018, 9 (5), e01614-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.01614-18>
- [18] Krzeminski P., Vogelsang C., Meyn T., Köhler S.J., Poutanen H., de Wit H.A., Uhl W. Natural organic matter fractions and their removal in full-scale drinking water treatment under cold climate conditions in Nordic Capitals. *Journal of Environmental Management*. 2019, 241, 427–438. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.02.024>
- [19] Park S.K., Lee S.H., Choi S.C., Kim Y.K. Characteristics of biofilm community formed in the chlorinated biodegradable organic matter-limited tap water. *Environmental Technology*. 2006, 27 (4), 377–386. <https://doi.org/10.1080/09593332708618650>
- [20] Schiller M. PVC Additives. München (Germany): Carl Hanser Verlag; 2015.
- [21] Erythropel H.C., Maric M., Nicell J.A., Leask R.L., Yargeau V. Leaching of the plasticizer di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) from plastic containers and the question of human exposure. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2014, 98, 9967–9981. <https://doi.org/10.1007/s00253-014-6183-8>
- [22] Wen G., Koetzsch S., Vital M., Egli T., Ma J. BioMig – A method to evaluate the potential release of compounds from and the formation of biofilms on polymeric materials in contact with drinking water. *Environmental Science and Technology*. 2015, 49 (19), 11659–11669. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b02539>
- [23] Jamsheer-Bratkowska M., Stankiewicz A., Maziarka D., Szczotko M. Aktualne zasady oceny higienicznej wyrobów kontaktujących się z wodą przeznaczoną do spożycia przez ludzi. *Rynek Instalacyjny*. 2016, 9. Dostępny online: <http://www.rynekinstalacyjny.pl/artukul/id4118,aktualne-zasady-oceny-higienicznej-wyrobow-kontaktujacych-sie-z-woda-przeznaczona-do-spozycia-przez-ludzi?p=1>
- [24] PB-04-LHK/M z dnia 21.12.2012 – Ocena podatności materiałów kontaktujących się z wodą na powstawanie biofilmu metodą pomiaru bioluminescencji, z zastosowaniem dwóch kontrolnych materiałów odniesienia. NIZP PZH – PIB, Warszawa, Polska.
- [25] EN 16421:2014 Influence of materials on water for human consumption – Enhancement of microbial growth (EMG) – Method 3: Measured by mean dissolved oxygen depletion.
- [26] Szczętko M., Krogulski A. Assessment of microbial growth on the surface of materials in contact with water intended for human consumption using ATP method. *Polish Journal of Microbiology*. 2010, 59 (4), 289–294. <https://doi.org/10.33073/pjm-2010-043>
- [27] Bucheli-Witschel M., Koetzsch S., Darr S., Widler R., Egli T. A new method to assess the influence of migration from polymeric materials on the biostability of drinking water. *Water Research*. 2012, 46 (13), 4246–4260. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2012.05.008>
- [28] Proctor C.R., Gächter M., Kötzsch S., Rölli F., Sigrist R., Walser J.-C., Hammes F. Biofilms in shower hoses – choice of pipe material influences bacterial growth and communities. *Environmental Science: Water Research and Technology*. 2016, 2 (4), 670–682. <https://doi.org/10.1039/C6EW00016A>
- [29] Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2020/2184 z dnia 16 grudnia 2020 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (Dz. U. L. 435).