

Powstawanie biofilmu w warunkach przemysłowych.

Cz. 2. Lokalizacja i likwidacja biofilmu

Dr. habil. Anna Sałek

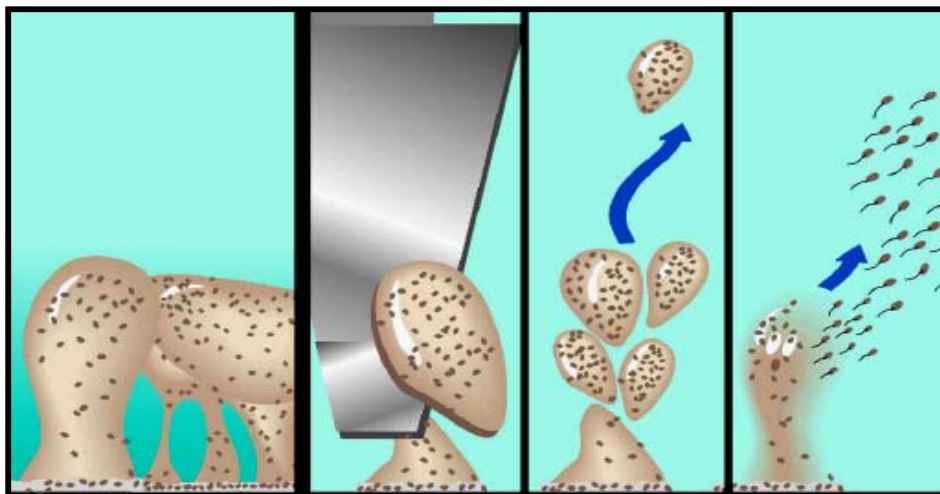
International Bio-Consulting, Germany; Domatec GmbH, Niemcy

Anna.Salek@T-Online.de www.international-bio-consulting.com

Metody likwidacji biofilmu

Konwencjonalne metody zabijania bakterii zasiedlających biofilm, użycie antybiotyków, czy typowa dezynfekcja chlorem, są często nieefektywne. Ogromne dawki środków przeciwbakteryjnych, stosowane celem zainaktywowania biofilmu są dla środowiska wysoce niepożądane (i być może niedozwolone przez obowiązujące regulacje), a w przemyśle oraz w medycynie - niepraktyczne i szkodliwe dla zdrowia ludzkiego.

Jednym ze skutecznych sposobów likwidacji biofilmu jest metoda kombinowana, tj. wstępne mechaniczne rozbicie hydrożelu (co przedstawia poniższy rysunek, Rys. 1), a następnie chemiczna, bądź termiczna inaktywacja (powyżej 70°C, przez co najmniej 2 minuty) odsłoniętych pojedynczych komórek bakterii w planktonie.



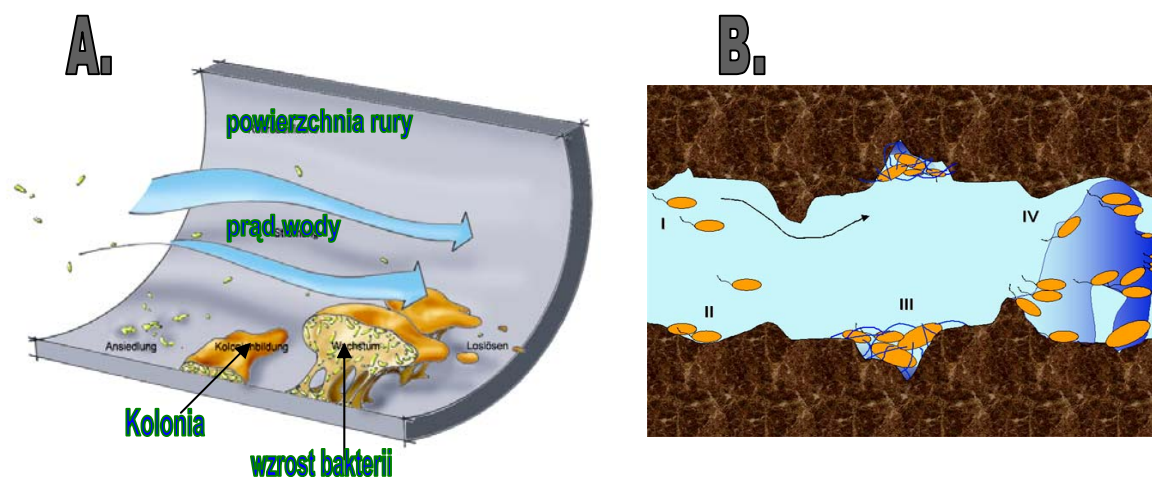
Rys. 1. *Mechaniczne rozbicie biofilmu w następstwie czego następuje dyspersja biofilmu i powrót bakterii do planktonu [Lewandowski i in., Montana State University – Bozeman, internet].*

Opracowanie nowych strategii likwidacji biofilmu, opartych na lepszym zrozumieniu procesu tworzenia się biofilmu jest pilną potrzebą dla wielu przemysłów w celu ograniczenia strat. Stąd niezbędne jest monitorowanie środowisk o szczególnym potencjale zagrożenia, np. przemysłowe wody w wieżach chłodniczych [Türetgen & Cotuk, 2007].

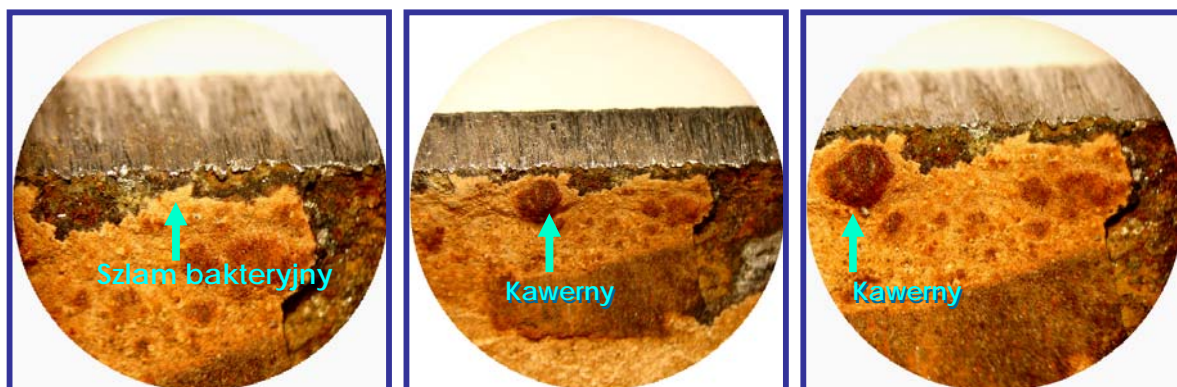
Lokalizacja biofilmu

Występowanie biofilmów w przyrodzie jest bardzo popularne z uwagi na zasiedlające bakterie i ich zdolności do aglomeracji.

W środowisku przemysłowym biofilmy mogą rozwinąć się na wewnętrznych stronach rur (Rys. 2, 3) i prowadzić do zatorów oraz korozji, a bakterie beztlenowe, które redukują siarczyn do siarkowodoru przyczyniają się do perforacji materiału sieci wodnej. Z kolei bakterie tlenowe są odpowiedzialne za korozję oksydacyjną metali.



Rys. 2. Tworzenie się biofilmu po wewnętrznej stronie rur w instalacji wodnej. A. Schemat wnętrza rury. B. Przekrój poprzeczny rury z formującym się biofilmem.



Rys. 3. *Obraz wewnętrzny rury z cyrkulującą ciepłą wodą. Zdjęcia wnętrza skorodowanej i obłożonej biofilmem rury z systemu doprowadzającego ciepłą wodę (Photo: A. Salek).*

Biofilmy mogą utrudnić również utrzymanie higieny w obiektach użytku publicznego, jak w hotelach, szpitalach, w placówkach fizykoterapeutycznych, w zakładach żywienia zbiorowego, w przemyśle spożywczym oraz w warunkach domowych. Pojawianie się biofilmów w sposób niekontrolowany, o przypadkowym, patogennym składzie, powoduje ogromne negatywne skutki, godzące w ochronę środowiska, w bezpieczeństwo pacjentów (infekcje w szpitalach) i zdrowie ludzkie. Ponadto mikrobiologiczne biofilmy, tworzące się na powierzchniach różnych materiałów i urządzeń, powodują szkody w wyposażeniach, aparaturze, niszczą wytwarzane produkty, wywołują straty energii, co w konsekwencji kosztuje miliardy Euro rocznie.

Problematyka biofilmu w browarnictwie

Skażenia mikroorganizmami są przedmiotem stałego zainteresowania w przemyśle spożywczym. Większość zakładów produkcyjnych boryka się z problemem biofilmu w urządzeniach przemysłowych, jak w systemach chłodniczych i wymiany ciepła, w sieci dostarczającej wodę technologiczną oraz w ciągu kanalizacyjnym.

W browarach również istnieje ryzyko infekcji drobnoustrojami w końcowym produkcie, jakim jest piwo, chociaż skażenia mikrobiologiczne dotyczą tylko pewnej grupy bakterii, odpornej na niskie pH (3.8 - 4.7), na obecność gorzkich lupulin pochodzących z chmielu (w przybliżeniu 17-55 mg iso- α -kwasów/l) i na pewną zawartość etanolu (0 - 8% w/v). Dlatego też ilość mikroorganizmów psujących piwo i wytwarzających biofilm - jest ograniczona do kilku rodzajów,

jak *Lactobacillus brevis*, *L. Lindnerii*, *Pediococcus damnosus*, czy beztlenowiec *Pectintus* sp. [Timke in., 2004a; Timke, 2004b; Timke i in., 2005].

Interrelację tych mikroorganizmów z pozostałymi drobnoustrojami w biofilmie wspierają warunki acidofilne i beztlenowe, wytworzone przez proces technologiczny produkcji piwa. Bakterie pochodzące z zepsutego piwa są bardzo wrażliwe na ciepło, środki dezynfekujące i wilgotność środowiska wzrostu, stąd przy życiu utrzymują się tylko dzięki aglomeracji w biofilmie z formami oporniejszymi na ww. czynniki [Timke i in., 2004a; Timke, 2004b; Timke i in., 2005].

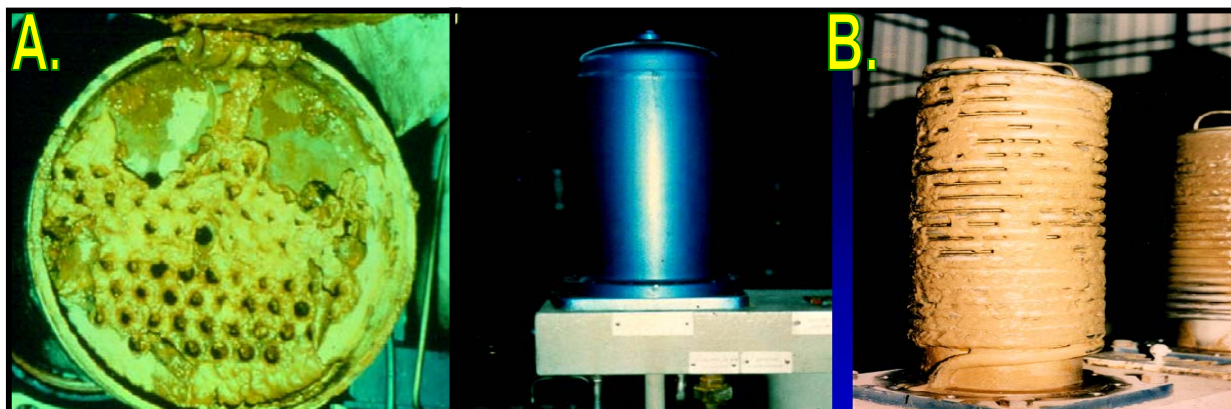
Panująca w browarze wilgotność i ciągły kontakt sprzętu z wodą, sprzyja osadzaniu się szlamu i biofilmu. Za kolonizację wilgotnych powierzchni w browarnictwie odpowiedzialne są przede wszystkim bakterie z gatunku *Acetobacter pasteurianus* i *Gluconobacter frateurii*. Ponadto wszechobecny jest szlam, zalegający szczególnie pewnego rodzaju nisze w instalacjach produkcyjnych, w którym rozwijają się bakterie jelitowe, jak *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae* i inne.

Następnie, osadzają się różne drożdże, m.in. *Rhodotorula* oraz pałeczki bakterii mlekowych. Uprzednio zakwaszone przez bakterie octowe środowisko kolonizacji sprzyja acidofilnym bakteriom mlekowym. Bakterie octowe i drożdże wyczerpują tlen i stwarzają warunki beztlenowe w szlamie. Obecność mleczanu, który powstaje w wyniku rozwoju bakterii kwasu mlekowego, umożliwia kolonizację mikroorganizmów beztlenowych, psujących piwo, jak *Pectinatus* spp. i *Megasphaera* sp. Piwo i jego piana są same w sobie doskonałą pożywką dla drobnoustrojów, stąd biofilmy w browarnictwie są siedliskiem mikroorganizmów psujących gotowy produkt.

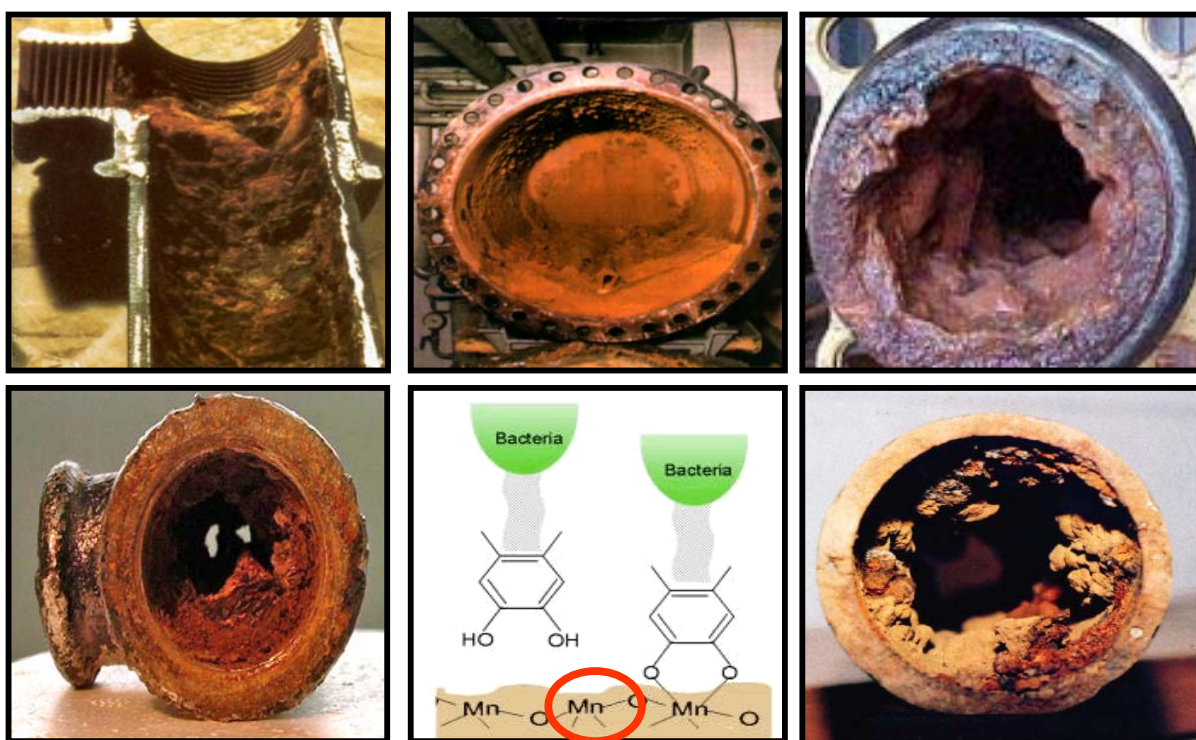
Infekcja piwa podczas procesu produkcyjnego jest zdefiniowana jako podstawowe zanieczyszczenie [Timke i in., 2004a; Timke i in., 2005]. Zakażenie całego zakładu drobnoustrojami z uformowanego, dojrzałego biofilmu jest szybkie, a ich przedostanie się do butelek powoduje tzw. drugorzędne zanieczyszczenie, które ma miejsce podczas butelkowania w rozlewni piwa. Są dwie zasadnicze strategie, by uniknąć mikrobiologicznego zanieczyszczenia: jest to pasteryzacja piwa oraz konserwacja i odkażanie aparatury.

W rozlewni piwa na wielu urządzeniach tworzy się brunatny skamieniały osad, lub półpłynny szlam, zawierający najczęściej bakterie *Pediococcus* i *Acetobacter*.

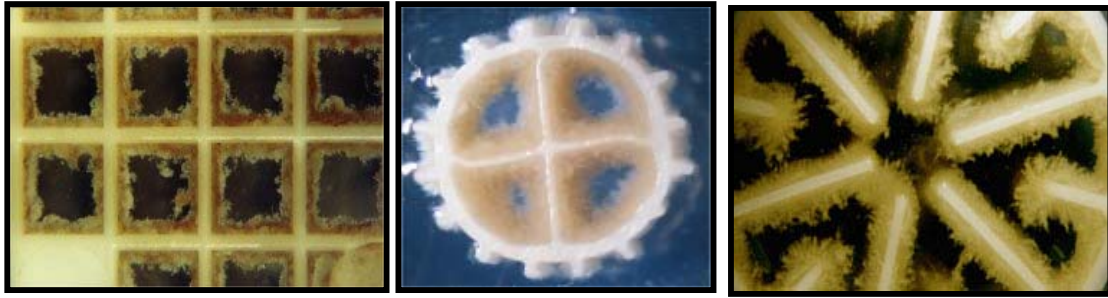
Niezmiernie ważnym w przemyśle, również w browarnictwie, jest problem osadzania się biofilmu, znacznie inkrustowanego kamieniem, na urządzeniach chłodniczych i wymiennikach ciepła, szczególnie z cyrkulacją ciepłej wody (Rys. 4).



Rys. 4. Twardy, skamieniały biofilm w systemie chłodniczym (A) oraz na wymienniczkach ciepła (B).



Rys. 5. Biofilm w rurach przemysłowych, inkrustowany związkami mineralnymi, jak wapń, mangan lub magnez.



Rys. 6. Rodzaje biofilmu na kratkach przepływowych w instalacji wodno-kanalizacyjnej.

W biofilmie, utworzonym w warunkach, zarówno przemysłowych, jak i domowych, obok niechorobotwórczych gatunków bakterii, np. *Pseudomonas* sp., mogą pojawić się bakterie *Legionella pneumophila* (różnych grup serologicznych) odpowiedzialne za chorobę zwaną legionellozą [Murga i in., 2001]. Ich likwidację w warunkach przemysłowych zapewnia cyrkulująca przez kilka minut w instalacji woda o temperaturze 70°C.

Referencje

Lewandowski Z., Stoodley P., Biofilm Coceptual Illustration with Labels, 2006, Center for Biofilm Engineering, Montana State University, Bozman, MT, www.erc.montana.edu/Res-Lib99-SW/Image_Library/Structure-Function/Full-image%20pages/BiofilmWithlabelsjpg.htm.

Murga R., Forster T.S., Brown E., Pruckler J.M., Fields B.S., Donlan R.M., Role of biofilms in the survival of *Legionella pneumophila* in a model potable-water system, 2001, *Microbiology*, 147:3121-3126.

Timke M., Wolking D., Ngoc Quynh Wang-Lieu, Altendorf K., Lipski A., Microbial composition of biofilms in a brewery investigated by fatty acid analysis, fluorescence in situ FISH and isolation techniques, 2004a, *Appl. Microbiol. A. Biotechnol.*, 66 (1):100-107.

Timke M., Analysis of biofilm communities in breweries, 2004b, Dissertation, Universität Osnabrück.

Timke M., Ngoc Quynh Wang-Lieu, Altendorf K., Lipski A., Community structure and diversity of biofilms from a beer bottling plant as revealed using 16S rRNA gene clone libraries, 2005, *Appl. Environ. Microbiol.*, 71 (10):6446-6452.

Türetgen I., Cotuk A., Monitoring of biofilm-associated *Legionella pneumophila* on different substrata in Model cooling tower system, 2007, *Environmental Monitoring and Assesment*, 125 (1-3):271-279.