

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
VÝZKUMNÝ ÚSTAV RYBÁŘSKÝ A HYDROBIOLOGICKÝ  
VE VODŇANECH

# DEZINFEKCE VODY V AKVAKULTUŘE

79

EDICE METODIK



JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
VÝZKUMNÝ ÚSTAV RYBÁŘSKÝ A HYDROBIOLOGICKÝ VE VODŇANECH



H. LILTVED

## DEZINFEKCE VODY V AKVAKULTUŘE

Faktory ovlivňující fyzikální a chemickou inaktivaci  
mikroorganismů

*Disinfection of water in aquaculture: Factors influencing the physical and  
chemical inactivation of microorganisms*

(Překlad: Rudolf Berka)

č. 71

Vodňany

2003

ISBN 80-85887-45-2

## Obsah

	Strana
Akvakultura a potřeba dezinfekce	2
Metody dezinfekce - mechanismy působení	3
Faktory ovlivňující dezinfekční účinnost	4
Charakteristika kvality vody vystavené dezinfekci	6
Dezinfekce vody pro akvakulturu - inaktivace patogenů ryb	9
Závěry	11

---

### Akvakultura a potřeba dezinfekce

Odchovávané ryby jsou v důsledku vysokých obsádek, manipulačního stresu či snížené kvality vody citlivé k onemocnění. K redukování ekonomických ztrát z nemoci či negativního působení na rybní obsádky byla vypracována opatření zahrnující nejen aplikace léčiv či vakcinační programy, ale také dezinfekci vody vstupující do prostředí chovu ryb. Nejde ale jen o vlastní chov ryb; stejná dezinfekční péče o vodu musí být věnována vodě odtékající z produkčních nádrží či zpracoven ryb, kde rovněž hrozí rozšíření rybích patogenů, jež mohou ohrozit okolní chovy či populace ryb ve volných vodách.

Výsledků pozitivního působení dezinfekce vody na zmírnění problémů kolem nemoci ryb je dnes už celá řada. V norském chovu strdlíc lososa bylo tímto způsobem např. možno zcela rozhodujícím způsobem snížit spotřebu dříve aplikovaných antibiotik, byť zejména virová onemocnění stále vytvářejí značné problémy. Podobně je tomu i jinde. Tím spíše je zapotřebí poznat všechny vhodné metody dezinfekce, aplikovatelné na různé typy akvakultury, prověřit citlivost potenciálních patogenů na dezinfektanty a faktory ovlivňující dezinfekční efektivitu. Zejména to pak platí na využívání živé potravy jako možného zdroje patogenů při odchovu raných stadií ryb.

Při optimalizaci dezinfekce vody v akvakultuře je nutno vycházet ze zkušenosti z úpravy pitné vody a komunálních odpadních vod. Nicméně, přihlídnout je třeba i ke specifickým požadavkům akvakultury.

- Cilové organizmy. Namísto humánních patogenů jsou zde cílovým kritériem rybní patogeny; to si vyžaduje především změněný postoj k dezinfekčním dávkám.
- Reziduální koncentrace a vedlejší produkty. Zvláštní pozornost je třeba věnovat přítokové vodě, jež musí být pro chovatelské účely dezinfikována z důvodů toxicity nízkoreziduálních koncentrací halogenů, ozónu a jejich vedlejších produktů. Často je obtížné redukovat reziduální koncentrace na netoxickou úroveň a to pro krátkou dobu zdržení mezi místem aplikace a produkčním (chovatelským) zařízením.
- Složky vody a změny v kvalitě vody. Vody v chovu/zpracování ryb, určené k dezinfekci, mají velmi rozdílnou kvalitu. Zejména vody ze zpracoven se velmi odlišují od komunálních odpadních vod a vyžadují si specifickou předúpravu i jiné dávky dezinfektantů.
- Specifické post-dezinfekční podmínky. V akvakultuře se post-dezinfekční podmínky výrazně liší od úpravy pitné vody či komunálních odpadních vod, což má své dopady do efektivity celkové úpravy. Po aplikaci UV záření v líně může následně ve venkovních nádržích světlo iniciovat u ryb fotoreaktivitu, jejímž důsledkem bude zvyšování počtu patogenních mikroorganizmů přežívajících po dezinfekci.

## Metody dezinfekce - mechanismy působení

Různé metody dezinfekce se vyznačují širokou škálou rozdílu své účinnosti a je často značně komplikované stanovit jejich přesné mikrobiální inaktivaci působení. Ovlivněno přitom může být několik buněčných složek a problémem je pak rozlišit vlivy primární a sekundární. Poškození buňky přitom může být vyjádřeno několika formami s konečným efektem, rozloženým od bakteriostáze až po rychlý úhyn buněk.

Vedle metod popsaných níže (UV záření, ozonizace a halogenace) je v akvakultuře využíván také kyslíčnick vodičítý (peroxid vodíku). Bez ohledu na svůj vysoký oksylichovací potenciál je směrem k většině patogenních bakterií ryb dezinfektantem problematickým, neboť ty jsou schopny produkovat enzymy rozkládající kyslíčnick jako katalázu a peroxidázu.

### 1. UV záření

Přirozené i umělé UV světlo (o vlnové délce 190 - 400 nm) může poškozovat mikroorganizmy ať již přímo či nepřímo měněním nukleových kyselin. Přímé poškození DNA vzniká absorpcí záření a ústí do vytváření fotoproduktů. DNA absorbance je vysoká v C-rozsahu ultrafialového záření (190 - 280 nm), klesá více než třífádově v B-rozsahu UV (280 - 320 nm) a je zanedbatelná v A-rozsahu UV (320 - 400 nm). Účinek poškozování DNA C-rozsahem UV je pak využíván v baktericidních lampách. Nízko tlaké lampy s rtuťovými výparý vydávájí zhruba 85 % svého energetického výkonu v podobě monochromatického světla o vlnové délce 253,7 nm, což je v rámci optimální vlnové délky od 250 do 270 nm vhodné k baktericidnímu působení.

Mírná energetická úroveň UV záření nezanechává žádná toxická rezidua v upravované vodě. I když radiace může měnit chemické sloučeniny, dávky UV, využité k dezinfekci jsou příliš nízké na to, aby generovaly významná množství fotoproduktů. Právě tato netoxičnost má rozhodující význam při výběru UV záření jako vhodné metody dezinfekce vody v rybochovných zařízeních. Proto jsou UV zářiče běžně instalovány na farmách s mořským i sladkovodním chovem ryb a jsou využívány v recirkulačních systémech.

### 2. Ozonizace

Ozón je extrémně reaktivní oxidant a velmi účinný baktericid a virucid. Inaktivace je do značné míry omezena schopností udržet po potřebnou dobu dostatečnou koncentraci reziduálního ozónu. Po aplikaci se ozón rychle rozkládá na kyslík a tím zvyšuje koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě. V akvakultuře je takové kyslíkové obohacení užitečné.

Pokusy s vystavením bakteriálních buněk na ozón ukázaly změny v membránové struktuře, vedoucí k propouštění bílkovinných a nukleových kyselin zároveň s oxidací lipidů. Intrabuněčné složky, bílkoviny a DNA, zůstávají na druhé straně neporušené. Prodlouženou expozici na ozón dochází k redukci životnosti buněk spolu s výrazným zvýšením oxidace lipidů a propouštěním bílkovinných a nukleových kyselin.

Ozón je také využíván k dezinfekci a zvyšování kvality vody v recirkulačních systémech. Vzhledem k akutní toxicitě reziduálního ozónu na vodní živočichy je zde začleňováno navíc deozonizační zařízení. V mnoha případech jsou rezidua eliminována několikaminutovým zdržením po ozonizaci nebo formou aplikace malých dávek redukčního činidla.

### 3. Chlorace

Chlorace je nejužívanější metodou dezinfekce komunálních a jiných odpadních vod. Účinnost dezinfekce chlórem ovlivňují faktory prostředí, jakými jsou teplota, pH, suspendované látky, organické složky či sloučeniny obsahující dusík. HOCl je potenciálnějším dezinfektantem než OCI.

Přesný mechanismus destrukce mikroorganismů hypochlornými složkami není známý. Reakce chlóru s dusíkem obsahujícím báze nukleových kyselin je označena jako inaktivační mechanismus.

V dezinfekci vody v akvakultuře je použití chlorace do značné míry limitováno na odpadní vody z chovu a to z důvodu toxicity volného chlóru a jeho oxidačních produktů na ryby. Při chloraci vody přítékající na rybochovnou farmu je obvykle současně zařazena pečlivá dechlorace thiosíranem, kyslíčnickem sírovým nebo filtrační aktivovaným uhlím.

Chlorace odpadních vod může vyústit do opačně působících environmentálních dopadů a to z důvodů toxicity reziduálního chlóru v upravené vodě a vytváření potenciálně toxických halogenních sloučenin. Rezidua chlóru mohou na své toxické úrovni setrvávat po dlouhé hodiny a je známá i bioakumulace chlorových složek ve vodních živočiších. Dechlorace odpadních vod redukuje environmentální dopady do recipientu.

#### 4. Dezinfekce jódovými složkami

Ve vodou ředěných jódových roztocích je přítomno nejméně sedm různých forem jódu. Z nich pak molekulární jód ( $I_2$ ), hypojódová kyselina (HOI) a kation jódu ( $H_2OI^+$ ) mají silné baktericidní vlastnosti. Při hodnotách pH nižších než 9 a koncentracích použitých pro dezinfekci představují  $I_2$  a HOI více než 97 % celkového jódu, což ukazuje na to, že obě tyto sloučeniny jsou významnými dezinfektanty. V rozsahu pH 3 až 9 lze očekávat víceméně konstantní baktericidní aktivitu jódu, což kontrastuje se závislostí chlorové dezinfekce na pH.

Molekulární jód je schopen velice rychle pronikat buněčnou stěnou mikroorganismů. Nicméně, detailní znalost inaktivačních mechanismů zatím chybí.

V akvakultuře jsou jód a sloučeniny uvolňující jód široce využívány při dezinfekci nářadí a zařízení, a dále při povrchovém ošetření jiker lososovitých ryb. Znalostí o působení jódu na patogeny ryb je však poskrovnu.

#### Faktory ovlivňující dezinfekční účinnost

Při dezinfekci vody a odpadních vod ovlivňuje účinnost bakteriální inaktivace celá řada faktorů. Ty zahrnují typ mikrobu, růstové podmínky mikrobu, typ a koncentraci dezinfektantu, schopnost mikrobu „opravit“ poškození vyvolané dezinfektantem, a kvalitu vody.

##### 1. Typ a růstový charakter mikroorganismu

Mikroorganismy se ve své citlivosti k fyzikálním či chemickým podnětům liší. Nejcitlivější k chemickým podnětům jsou vegetativní formy bakterií, nejméně citlivé pak endospory některých bakterií a protozoálních cyst. S výjimkou virů tento sestup citlivosti respektuje i princip UV záření. Značné kolísání citlivosti je zaznamenáno mezi patogenními viry ryb.

Citlivost také významně kolísá v rámci definovaných mikroorganismů. Bohužel, jen velmi málo je známo o reakci na dezinfektanty uvnitř kategorie významných patogenů ryb.

Fyziologický stav mikrobů může rovněž ovlivnit dezinfekční působení. Předchozí růstové podmínky, poškození nebo stres vyvolaný podmínkami prostředí - to vše jsou významné faktory. V přirozeném vodním prostředí může být takový stres vyvolán světelnou intenzitou, dosažitelností výživy, osmotickými podmínkami, teplotou a pH či dalšími příčinami.

##### 2. Agregace a vytváření biofilmu

Mikroorganismy vykazují směrem k dezinfektantům zvýšenou rezistenci na agregaci. Tento rezistenční mechanismus je vysoce vyvinut u významných patogenů ryb (např. u

*Aeromonas salmonicida*) a to jako důsledek hydrofobního charakteru jejich buněčného povrchu.

Bakterie se také mohou mimobuněčnými polymerními substancemi připojit k povrchovým plochám a vytvářet tak kontinuální biofilm, jehož formace pak mají vážné důsledky pro vodovodní systémy včetně kontaminace potenciálními patogeny, snížené vodovodní kapacity, koroze nebo organoleptických problémů. Bakterie v biofilmu mají daleko výraznější rezistenci k dezinfektantům, než volně existující buňky.

V akvakultuře se bakteriální biofilm může vyvinout v rozvodech vody či v nádržích. V principu takový biofilm může sloužit jako ochranný substrát pro patogenní bakterie ryb, snižující nebo eliminující účinky dezinfekce, zejména pokud jsou k ní využity oxidanty. Tvorbu biofilmu lze omezit periodickým vypouštěním a čištěním nádrží a rozvodů vody.

### 3. Mechanismus „oprav“ při aplikaci UV záření

Bakterie mohou „opravit“ či zrušit letální účinky UV záření pomocí dvou základních mechanismů: především fotoreaktivací a „opravou“ pomocí tmy (či návratnosti schopnosti k zadržení tekutiny). Kombinace obou základních mechanismů obvykle vede k vyššímu stupni přežívání.

Mechanismus fotoreaktivace si vyžaduje viditelné světlo jako spolupůsobící faktor. Světlo (ve viditelném nebo k UV se blížícímu spektru, tj. 330 - 480 nm) napomáhá „opravit“ některé typy poškození vyvolané UV zářením.

Intenzita fotoreaktivit je v silné korelaci s intenzitou světla. Za podmínek umělého světla z lampy je ke kompletní reaktivitě určitých bakterií zapotřebí několika hodin, intenzita slunečního světla redukuje dobu potřebnou k fotoreaktivitě na zlomky hodiny.

## 4. Faktory prostředí

### 4.1 Sluneční světlo

Vedle své schopnosti „opravovat“ poškození bakterií ozářením v rámci C-rozsahu UV spektra je sluneční světlo hodnoceno jako nejvýznamnější inaktivační faktor bakteriálních problémů v povrchových vodách. Expozice na sluneční světlo může ovlivnit přežívání jak ozářených (v C-rozsahu UV záření), tak neozářených bakterií, nacházejících se ve venkovním chovu ryb.

### 4.2 Suspendované látky

Hustota částic ve vodě je standardně hodnocena jako celkové suspendované látky či jako zákal. Ze sledování provedených na pitné vodě a komunální odpadní vodě vyplynulo, že suspendované látky mohou nabídnout ochranu před chemickými či nechemickými dezinfektanty a to v závislosti na typu a velikosti těchto látek a charakteru vztahu mezi mikroorganizmem a suspendovanými látkami.

Zvýšené přežívání bakterií připojených k suspendovaným látkám při expozici na oxidanty silně závisí na chemických požadavcích těchto látek (částic). Např. selhání ozónu v redukování heterotrofních bakterií v recirkulačním systému s chovem pstruha duhového bylo způsobeno rychlou ztrátou ozónu zapříčiněnou zvýšenými hladinami celkových suspendovaných látek.

Bakterie spojené se suspendovanými látkami z odpadních vod s částicemi o průměru menším než 7  $\mu\text{m}$  byly daleko citlivější k volnému chlóru ( $0,5 \text{ mg.l}^{-1}$ ) než bakterie spojené s většími částicemi. Existuje rovněž korelace mezi obsahem suspendovaných částic a přežíváním koliformních bakterií v UV ozařovaných odpadních vodách.

Absorbce UV záření povrchem suspendovaných částic může redukovat účinek záření. Částice organického původu také absorbují více záření než částice minerálního charakteru. Jistou, byť menší ochranu, poskytují mikrobům také částice jilu, kdy většina záření je

ztracena. Zastínění může omezit ozáření jednotlivých bakterií, nicméně v současných účinných UV dezinfekčních zařízeních s podélným vyzářováním to již nepřichází v úvahu.

V přirozených vodách může obsah suspendovaných látek vzrůst v obdobích vysoké primární produkce nebo při extrémních klimatických podmínkách (vítr a srážky). V takových obdobích může být inaktivační proces s udržitelným dezinfekčním efektem upraven účinnou předfiltrací a zvýšenými dávkami dezinfektantu.

#### 4.3 Rozpuštěná organická hmota

Dezinfektanty jako chlór, jód nebo ozón ztrácejí svou baktericidní účinnost reakcí s organickou hmotou. Produkty reakce pak vykazují slabou nebo vůbec žádnou baktericidní aktivitu.

Některé organické složky ve vodě, např. huminní látky, fenoly či sulfonáty ligninu absorbují UV záření, takže ve skutečnosti redukují dávky používané k mikrobiální inaktivaci. Přenos UV záření je ve vodě dobré kvality obvykle vysoce účinný; úroveň tohoto přenosu ale může dočasně klesnout v důsledku špatného počasí, v obdobích vodního květu apod.

#### 4.4 Anorganické sloučeniny

Oxidující dezinfektanty reagují s anorganickými sloučeninami v závislosti na svém oxidačním potenciálu. Ozón bude produkovat redox-reakce z důvodů svého vysokého oxysličovacího potenciálu. Jinou podobu má oxidace kovových iontů. Konverze amoniaku na dusitan je reakcí pomalou a závislou na pH, zatímco dusitan je velice rychle oxidován na dusičnan. Tato reakce má významný vliv na kapacitu ozónové dezinfekce v systémech úpravy odpadních vod při nekompletní nitrifikaci. Uvádí se, že až  $2 \text{ mg.l}^{-1}$  ozónu je zapotřebí k oxidaci  $1 \text{ mg.l}^{-1}$  dusitanu-N.

#### 4.5 Elektrolyty

Inaktivaci mikrobů může přímo ovlivnit i iontové prostředí a to specifickým iontovým nebo osmotickým působením. Sodík a chlorid patří mezi ionty s nejnižším toxickým působením na mikroby, na druhé straně 0,5 % NaCl stačí omezit růst některých mikroorganizmů.

#### 4.6 pH

Extrémní hodnoty pH mohou inaktivovat mikroorganismy nebo alespoň omezit jejich růst. Aktivita mnoha dezinfektantů závisí na pH. Působení dezinfekce mohou ovlivnit i malé změny v koncentraci vodíkových iontů. Účinek volného chlóru je vysoce závislý na pH. Při hodnotách pH pod 7 převažuje nedisociovaný HOCl, jenž prochází membránou živých buněk mnohem snáze než disociovaná forma. To vysvětluje vyšší biocidní potenci HOCl. Ve srovnání s chlórem je však účinnost jódu jen velice málo ovlivněna úrovní pH. Závislost biocidní aktivity ozónu na pH je méně jasná.

#### 4.7 Teplota

U chemických dezinfektantů obecně platí, že se zvyšující se teplotou vzrůstá jejich mikrobiální inaktivační intenzita. Podpora účinnosti baktericidního působení volného chlóru je zvláště při pH nad 8,5 a při nízkých reziduálních koncentracích chlóru. Na druhé straně inaktivace prostřednictvím UV záření se zdá relativně necitlivá na teplotu. V čistých kulturách některých virů, ozařovaných UV, byly v rozmezí 5 - 35 °C zaznamenány jen nevýrazné změny působení.

### Charakteristika kvality vody vystavené dezinfekci

U vody, jež má být dezinfikována, je zapotřebí věnovat primární pozornost jejím fyzikálním a chemickým parametrům. Na základě těchto parametrů pak musí být vybrána nejvhodnější předúpravová a dezinfekční metoda a stanoveny dávky dezinfektantů. Jako příklad jsou níže komentovány vybrané parametry kvality vody a podoby dezinfekce u čtyř

základních typů vod (přítokové a odtokové vody z chovu násadových ryb - strdlíc lososa, vody recirkulačního systému a odpadní vody ze zpracování ryb).

Při dezinfekci oxidanty a UV zářením vytváří vysoký obsah organické hmoty řadu problémů. Pro takový typ vody se doporučuje její výraznější předúprava. Obecně platí, že celkové suspendované látky (CSL) a rozpuštěný organický uhlík (ROU) jsou významnými indikátory působnosti dezinfekce a obvykle také existuje úzká korelace mezi ROU a dezinfekčním požadavkem vody. U hodnocení odpadní vody je obvyklým parametrem chemická spotřeba kyslíku (CHSK), zahrnující jak partikulární, tak rozpuštěnou organickou hmotu.

### **1. Voda přítékající do chovů násadových ryb (strdlíc lososa)**

Líhnutí a smoltifikace lososa vyžadují velké množství kvalitní sladkovodní vody. Průměrná spotřeba vody na velké farmě s roční produkcí 1,0 až 1,5 milionu strdlíc může dosahovat 30 - 35 m<sup>3</sup>.min<sup>-1</sup>. Vzhledem k existujícímu nebezpečí zavlečení patogenů (anadromními populacemi ryb, žijícími v lokalitě odběru vody) proto některé farmy dezinfikují přítokovou vodu. Vedle převažujícího UV záření se k tomu využívá i ozonizace.

Povrchová voda obsahuje přirozenou organickou hmotu, která by mohla limitovat účinek dezinfekce. Obsah částic je ve standardní jezerní vodě obvykle nízký, zejména pokud odběrové místo je situováno v hypolimniu. Toky mohou přinášet silné zatížení látkami v obdobích dešťů nebo tání sněhu. Různorodost kvality jednotlivých zdrojů vody (měnící se navíc v ročních obdobích) neumožňuje generalizovat kvalitativní parametry. Problémem norských odchoven násad lososa je navíc nízké přirozené pH a nízká pufrovací kapacita povrchových vod s adverzním působením v oblastech ovlivňovaných kyselými dešti. Systémovou součástí úpravy vod jsou i metody nastavení pH. Jednoduchou, spolehlivou a široce užívanou metodou je přidavek 3 - 6 % mořské vody do přítoku sladké vody. Mořská voda velmi vhodně zlepšuje kvalitu vody vstupující na farmu a to zvýšením pH, alkalinity a vodivosti, což redukuje toxické účinky hliníku.

Hledání spolehlivých dezinfekčních metod urychlila norská legislativa, ukládající dezinfekci mořské vody, využívané na farmách s odchovem násadových ryb. Zpočátku bylo malé přidávané množství této vody dezinfikováno samostatně. Využívalo se k tomu převážně UV nízkotlakých lamp s rtuťovými parami, produkujícími světlo o vlnové délce 253,7 nm. Ve srovnání s chemickými dezinfektanty bylo UV záření snáze dostupné a provozně jednoduché, navíc neprodukovalo pro ryby toxická rezidua.

V devadesátých letech se využívání mořské vody v odchovných násadových ryb z několika důvodů rozšířilo. Zvýšení produkce spolu s odpovídajícím navýšením požadavku na mořskou vodu a limitovanými zdroji sladké vody je základním důvodem. Za ním následovalo poznání pozitivních účinků zvýšené salinity v průběhu smoltifikace, dále pozitivní teplotní prvek využívání mořské vody v zimním období. Současná spotřeba mořské vody na velké farmě může periodicky dosahovat až 30 - 40 m<sup>3</sup>.min<sup>-1</sup>. Pro manipulaci s takovým objemem vody se k dezinfekci využívají vysoce účinné střednětlaké UV lampy.

### **2. Voda odtékající z chovů násadových ryb (strdlíc lososa)**

Voda odtekající z pozemních chovů ryb může obsahovat mikroorganismy patogenní pro ryby. K zabránění rozšíření těchto patogenů musí proto být tato voda, dříve než vstoupí do recipientů s přirozenými populacemi ryb, dezinfekčně ošetřena.

V typické odchovně s vysokou spotřebou krmiva pro ryby obsahuje odtékající voda významná množství živin a organické hmoty. I když tyto koncentrace jsou nižší ve srovnání s komunálními odpadními vodami, množství vypouštěné do recipientu je vzhledem k vysokému průtoku vody významné. V době vypouštění a čištění nádrží se pak koncentrace živin a organické hmoty několikanásobně zvyšují. Systém úpravy odpadní vody je nastaven



tak, aby zvládl zvýšená hydraulická a organická zátížení během čištění. Především to vyžaduje některou formu mechanické úpravy vody, zejména její průchod mikrosity či její sedimentaci; tyto postupy zachytí z vody před vlastní dezinfekcí větší frakce částic.

Složky odpadající vody ovlivňují provoz předúpravových zařízení i samotné dezinfekce. Obsah a poměr rozpuštěné a pevné hmoty v odtékající vodě je závislý na faktorech jako je např. technika krmení ryb, hustota obsádek, využití a hydraulika vody apod.

Při sledování provozu dvou typů mikrosít (velikost ok 60 $\mu$ m) při úpravě vody odtékající z odchovny strdlíc lososa (s průtočnými nádržemi) bylo zjištěno, že průměrná denní čistící účinnost činila z pohledu CHSK zhruba 40 % a z pohledu celkových suspendovaných látek 60 -70 %. S počátečními koncentracemi CHSK mezi 6 - 50 mg.l<sup>-1</sup> kyslíku zůstává po průchodu mikrosity stále ještě výrazná reziduální koncentrace organické hmoty. Tato hmota reaguje na oxidizační dezinfektanty a absorbuje UV záření, což vede k redukci baktericidního účinku.

Pokusně byly na různých typech vod odtékajících z odchoven ryb kvantifikovány požadavky na dezinfektanty včetně korelace k obsahu organické hmoty. Na příkladu průtočné odchovny s lososovitými rybami bylo zjištěno, že úroveň celkové suspendované hmoty činila 22 mg.l<sup>-1</sup>, rozpuštěného organického uhlíku 6,6 mg.l<sup>-1</sup> a absorbance UV pak 0,100 (v případě UV to značí zhruba desetiprocentní ztrátu počáteční hodnoty záření adsorpce nečistotami obsaženými ve vodě). Aplikace účinné dávky ozónu na úrovni 3,9 mg.l<sup>-1</sup> vedla k získání reziduální koncentrace 0,3 mg.l<sup>-1</sup>, což znamená zahájení procesu bakteriální inaktivace.

### 3. Voda v recirkulačních systémech

Recirkulační systémy pro chov lososovitých ryb v sobě obvykle zahrnují dezinfekční jednotku. Hlavním smyslem je potlačení celkové koncentrace heterotrofních bakterií, redukující nebezpečí epizootického bakteriálního onemocnění žaber. V těchto případech je preferenční metodou UV záření nebo ozonizace. Při výběru silného oxidantu, jakým je ozón jako dezinfektant, se navíc dosáhne pozitivních postranních účinků jako např. obohacení vody kyslíkem, odnětí zabarvení vody, oxidace dusitanů a biologicky nerozložitelné organické hmoty, zlepšené odnínání suspendovaných látek flotací, sedimentací či filtrací.

Akumulace suspendovaných látek, rozpuštěné hmoty a kyslík spotřebovávajících sloučenin je v recirkulačních systémech závislá na intenzitě krmení ryb, účinnosti systému na úpravu vody a intenzitě výměny vody. Biologicky nerozložitelná organická hmota a rozpuštěné anorganické sloučeniny mají tendenci se v recirkulačních systémech akumulovat.

### 4. Odpadní vody ze zpracoven ryb

Možnou cestou šíření patogenů ryb jsou neošetřené či špatně ošetřené odpadní vody ze zpracovatelských provozů. Legislativa obvykle příkazuje tyto typy vod dezinfikovat. Vedle základní úpravy vody mikrosity s maximální velikostí ok 1 mm musí být odpadní voda dezinfikována odpovídajícími schválenými metodami.

V norských podmínkách většina zpracoven provozně využívá mořskou vodu. Odpadní voda, obsahující krev, sliz aj., je charakterizována vysokým obsahem celkových suspendovaných látek a vysokou CHSK. Bez jakékoliv další předúpravy vody za mikrosity je její odpovídající dezinfekce tradičními dezinfektanty komplikovaná a to především z důvodů vysoké náročnosti na chemické oxidanty a špatný přenos UV záření. Získání dobrých výsledků na mikrositech pak znemožňuje malá velikost krevních buněk. Chemická precipitace či biologická úprava nedosáhly pro nutnou komplexnost svých operací a problémy s odsunem nadbytečného kalu žádoucí popularity. Zavedenou praxí je přidání kyseliny mravenčí do pH 3,5, nebo silná chlorace po mechanickém předčištění. V Kanadě se jako alternativa k chloraci využívá aplikace jódu. Zřejmě by bylo možno při úpravě odpadní vody

využit i některé další chemické dezinfektanty, nicméně jejich baktericidní a virucidní účinky směrem k patogenům ryb nejsou ověřeny.

Z environmentálního hlediska je úprava odpadní vody ze zpracoven ryb pomocí organických kyselin či halogenací problematickou dezinfekční metodou. Úprava pomocí kyseliny mravenčí zvýší BSK odpadní vody, což následně zvýší zatížení v recipientu (snížením obsahu kyslíku až k možnému poškození života ve vodě). Halogenace odpadní vody bez odejmutí organické hmoty může vytvářet formace toxických a bioakumulujících se halogenných uhlovodíků.

Průzkum na konkrétní zpracovně, filetuující lososa, ukázal, že v odpadní vodě celkové suspendované látky dosahují úrovně  $1600 \text{ mg.l}^{-1}$  a CHSK  $3050 \text{ mg.l}^{-1}$ . Do těchto hodnot přispívá rozpuštěná i partikulární bílkovina a tuk z rybi svaloviny. Analýza částic ukázala, že k rozpuštění ( $< 0,45 \mu\text{m}$ ) nebo k vytvoření malých částic ( $0,45 - 80 \mu\text{m}$ ) došlo u více než 80 % CHSK, celkového fosforu a celkového dusíku. Tyto výsledky dokumentují obtíže při dosahování vysoké odnímací účinnosti za použití mechanické předúpravy vody. Na druhé straně koagulace, flokulace a flotace za použití anorganických a organických koagulantů patří mezi úspěšné procesy úpravy odpadních vod ze zpracování ryb.

Zatížení zpracovatelských odpadních vod je ovšem měněno dalšími zásahy, např. táním zmrazených bloků ryb či praním ryb. Pro směsi těchto relativně čistých typů vody spolu s předčištěnou odpadní vodou může UV záření být alternativní dezinfekční metodou.

## Dezinfekce vody pro akvakulturu - inaktivace patogenů ryb

### 1. UV záření

Dávky UV záření na úrovni 2 - 6  $\text{mWs/cm}^2$  redukuje za laboratorních podmínek žijící mikroorganismy z 99,9 %. Nicméně za reálných provozních podmínek je k dosažení vysokého stupně inaktivace zapotřebí výrazně vyšších dávek. Inaktivací dávky, ověřené v laboratoři, je proto třeba při aplikaci v terénu brát se značnou opatrností.

Prokázalo se, že vir ISA (způsobující současné vážné onemocnění v chovech lososa - infekční anémii lososa) je na UV záření citlivý. Při ozáření homogenátů infikovaných tkání byla ztráta infekčnosti zaregistrována u dávek v rozmezí 4 - 10  $\text{mWs/cm}^2$ . Naproti tomu vir IPN je k UV záření rezistentní. K dosažení redukce titru viru v brakické vodě na úroveň 99,9 % je zapotřebí mimořádná dávka 122  $\text{mWs/cm}^2$ . Bez ohledu na tuto rezistenci k viru IPN je UV záření dezinfekční metodou bakteriální inaktivace, široce aplikovanou na norských odchovných strdlic. Vzhledem k vysokým ztrátám na rybách, zapříčiněným vzplanutím IPN, se nyní hledají cesty technického zlepšení UV zářičů tak, aby byly schopny postihnout i tento virus. Ve skutečnosti by to znamenalo nejméně pětinašobné zvýšení dávky UV ve srovnání se současným požadavkem hodnoty na úrovni 25  $\text{mWs/cm}^2$ .

Je dokázáno, že předfiltrace zlepšuje efekt UV záření při likvidaci bakterií. Už mikrosita s oky  $50 \mu\text{m}$  vedou k vyšší účinnosti, což dokazuje, že přítoková voda do rybochovných systémů by měla být před UV dezinfekcí filtrována, aby se tak odstranily pevné částice, jež mohou nést „zakotvené“ bakterie.

Rozhodující předností UV záření je absence toxických reziduí a podobných produktů, relativně nízké náklady na úpravu vysoce kvalitní vody, snadná provozuschopnost a údržba i minimální požadavky na prostor. Pravidelným mechanickým a chemickým čištěním je nutno pečovat o údržbu zářičů. Hlavní nevýhodou této metody v akvakultuře je neúčinnost proti významným patogenním virům. To by případně mohlo v budoucnosti, pokud se proti virům najde účinné preventivní opatření, limitovat využívání UV záření.

#### 1.1 Fotoreaktivita

Fotoreaktivita patogenních bakterií ryb spolu s jejich „opravou“ účinků UV záření pomocí tmy nebyly zatím studovány. Nicméně bylo zjištěno, že *A. salmonicida*, *V. anguillarum* a *Y. ruckeri* jsou schopny „opravit“ své poškození UV zářením jak za

přítomnosti, tak absence viditelného světla. Fotoreaktivita zlepšila přežívání těchto patogenů ryb na úrovni, jaká byla zjištěna pro bakterie indikující kvalitu vody ve shodných experimentálních podmínkách.

Při světelné intenzitě typické pro venkovní rybochovné provozy (1500 lx) bylo u výše jmenovaných bakterií v průběhu prvních dvou hodin dosaženo 10 až 1000násobné návratnosti do původního stavu. Fotoreaktivita byla v podstatě ukončena v průběhu 4 - 6 hodin. Tyto testy byly na bakteriálních buňkách provedeny v laboratoři.

UV záření, následované vysoce intenzivní světelnou „opravou“, bylo také realizováno v provozních podmínkách. Výše jmenované bakterie, vystavené na UV záření, vykazaly při intenzivním slunečním svitu méně výraznou, nicméně rychlejší fotoreaktivitu než při umělém světle lampy. Ke kompletní reaktivaci bylo při slunečním světle zapotřebí 20 minut, při světle lampy pak 1 hodina. Testy ukázaly, že i ve venkovních rybochovných provozech se zvýšeným světelným tokem, dobou retence vody a nebo teplotou mohou reaktivační procesy po UV ozáření zvýšit četnost životaschopných bakterií. Pokud bude voda přitékající do odchovných nádrží či odpadní voda v jímkách po svém dezinfekčním UV ozáření vystavena na sluneční světlo, může dojít k rychlejší reaktivaci.

Významná, světlem vyvolaná reaktivace by neměla být opomíjena, naopak brána v úvahu při hodnocení účinnosti UV dezinfekce vod v chovu ryb. Aplikovaná UV dávka by měla být určena pro „nejhorší případ“. V norských odchovných strdlic požadují veterinární orgány nejnižší dávku UV záření na úrovni 25 mWs/cm<sup>2</sup>. Praktické zkušenosti s touto dávkou jsou ze stovky odchoven dobré, pouze s několika vzplanutími bakteriálních onemocnění, přenesených UV zářením dezinfikovanou přítokovou vodou.

### 1.2 „Oprava“ pomocí tmy

U patogenních bakterií ryb (*A. salmonicida*, *V. anguillarum*, *Y. ruckeri*) je „oprava“ pomocí tmy méně účinná a pomalejší než fotoreaktivita. I při zvýšené teplotě 22 °C bylo ke kompletní zapotřebí doby 48 hodin. V odchovných lososovitých ryb, charakterizovaných relativně chladnou vodou a její krátkou retenční dobou, nelze reaktivaci očekávat. Pokračování reaktivačního procesu je pravděpodobně po vypuštění odtékající vody do recipientu. To může významně ovlivnit environmentální dopad UV zářením ošetřených vod.

## 2. Inaktivace slunečním svitem a světlem lamp

Sluneční svit je v povrchové vodě významným inaktivačním faktorem bakterií patogenních pro ryby. Neozážené buňky byly inaktivovány slunečním světlem stejně jako buňky ozážené UV.

Intenzitu světlem vyvolané inaktivace ovlivňují také kvalitativní parametry vody. Zvýšením salinity se např. dosáhne vyšší rezistence na světelnou expozici.

## 3. Ozonizace

Obecně platí, že bakterie a viry patogenní pro ryby, jsou vysoce citlivé na reziduální ozón ve vodě. Vyšší reziduální koncentrace na úrovni 0,1 - 0,2 mg.l<sup>-1</sup> v sladkých vodách a 0,3 - 0,4 mg.l<sup>-1</sup> ve vodách odtékajících z rybích odchoven jsou obvykle dostačující k dosažení legálně vyžadované inaktivační úrovně.

Při praktické ozonizaci rybochovných vod je důležité, aby dávka ozónu byla schopna pokrýt jak počáteční požadavek, tak vytvořila odpovídající reziduální koncentraci po požadovanou kontaktní dobu.

Vedle metody uplatnění v recirkulačních systémech je ozón ceněn pro svou virucidní aktivitu. Platí to přitom i na viry s vysokou UV rezistencí (např. vir IPN). Bezpochyby právě pro svou virucidní vlastnost bude ozón výrazněji ceněn v budoucnosti a to jak v úpravě přítokové, tak odtékající vody. Ozónem upravená voda se také ukázala jako vhodná při

proplachování oplodněných jiker a při redukcii či eliminaci potenciálních patogenů spojených s živou potravou v odchovu larev ryb.

Ozón musí být generován přímo na místě. Vzhledem k vysokým energetickým nákladům na produkci ozónu je důležité optimalizovat přenosovou účinnost z plynné do tekuté fáze. V akvakultuře se pak využívají především vysokosloupcové bublinové difuzéry. Obvykle více než 85 % produkovaného ozónu je převedeno do tekuté fáze. Ve srovnání s UV zářiči je ozonizační systém nákladnější.

## 4. Halogenace

### 4.1 Chlorace

Většina známých bakterií a virů, patogenních pro ryby, je citlivá na reziduální koncentrace volného chlóru. Ve srovnání s inaktivací pomocí ozónu musí dávky chlóru být vyšší. Pro dezinfekci přirozených sladkých vod je nutno použít počáteční dávky 0,10 - 0,70 mg.l<sup>-1</sup>, u vod odtékajících z chovu ryb pak dávky 2,0 - 4,0 mg.l<sup>-1</sup>. U odpadních vod ze zpracoven ryb se - po předběžné úpravě vody mikrosity - aplikuje dávka nejméně 50 g.l<sup>-1</sup> chlóru.

U vod odpadajících z odchoven ryb se využívá hypochloritových sloučenin. Přímou do vody lze dávkovat roztok (10 - 15 %) sodného hypochloritu. (Roztok hypochloritu je nebezpečnou a korozivní sloučeninou.)

### 4.2 Dezinfekce jódem

Z environmentálního hlediska by jód měl být preferován před chlórem, neboť vytváří potenciálně méně nebezpečné halogenní organické sloučeniny. Na druhé straně je jód zhruba dvakrát nákladnější než chlóru. Praktické působení jódu v akvakultuře však zatím není dostatečně prověřeno. Jód a jodofory (jód uvolňující složky) jsou běžně používány k dezinfekci povrchů a zařízení v chovu ryb, jodofory pak jako dezinfektanty pro rybí jikry a živou potravu z důvodů své vysoké toxicity k patogenům ryb a relativně nízké toxicity na jikry a vířníky.

## 5. Účinky kombinované úpravy

Zvýrazněného účinku inaktivace lze dosáhnout kombinovaným využitím dezinfektantů. K dezinfekčním účelům se využívá UV záření v kombinaci s peroxidem vodíku nebo ozónu. Současná aplikace chlóru a UV záření či jódu a UV záření vůči *A. salmonicida* prokázala zvýrazněný biocidní účinek ve srovnání s individuálními ošetřeními jak přítokové, tak odtékající vody z odchoven ryb.

Zvýrazněná inaktivace nebyla, na rozdíl od individuálního dávkování, pozorována při současné aplikaci UV záření a ozónu.

## Závěry

- Bakterie *A. salmonicida*, *V. salmonicida*, *V. anguillarum* a *Y. ruckeri*, patogenní pro ryby, jsou citlivé na UV záření. V kvalitní přirozené vodě je dávkami 1,5 - 3,4 mWs/cm<sup>2</sup> dosahováno jejich 99,9% nebo vyšší inaktivace. V porovnání s bakteriemi je vir IPN vysoce rezistentní na UV a vyžadoval by si dávky 30krát vyšší než jsou požadovány pro bakterie. UV záření je tedy účinnou metodou k inaktivaci bakterií patogenních pro ryby. Pokud by měl být inaktivován i vir IPN, pak by k vyžadované dávce záření musela UV jednotka být konstruována pro vysokou intenzitu radiace a nízký průtok vody.
- Pokud bakterie byly spojeny s pevnými částicemi (např. fragmenty artemii), nebylo uspokojivého inaktivacího působení dosaženo ani při intenzitě UV záření na úrovni 10 - 22 mWs/cm<sup>2</sup>. Zlepšení výsledku nastalo při předřazení mikrositových filtrů o velikosti ok 50 μm a dávce UV záření 22 mWs/cm<sup>2</sup>. Voda pro chov ryb by měla před UV dezinfekcí

být vždy filtrována, aby se tak odstranily pevné částice, jež mohou „zastínit“ bakterie před ozářením.

- Patogeny ryb včetně viru IPN jsou citlivé na ozón. V jezerní vodě bylo inaktivačního efektu na úrovni 99,9 % a více dosaženo v průběhu 60 s při koncentracích reziduálního ozónu 0,15 - 0,20 mg.l<sup>-1</sup>. Spolu s časem klesá inaktivační intenzita, což je zapříčiněno snižováním koncentrace ozónu v průběhu expozice. V praxi rybářských farem je k inaktivaci *A. salmonicida* zapotřebí reziduální koncentrace ozónu na úrovni 0,3 - 0,4 mg.l<sup>-1</sup>. Při ozonizaci rybochovných vod je důležité, aby dávka ozónu byla dostatečně vysoká nejen pro pokrytí počáteční potřeby, ale aby zabezpečila i dostatečnou reziduální koncentraci po celou kontaktní dobu.
- V porovnání s inaktivací *A. salmonicida* chlórem je v přirozených kvalitních vodách účinnost jódu nižší, nicméně ve vodě odtékající z chovu ryb, zatížené organickou hmotou je plně srovnatelná. V těchto podmínkách postačuje dávka jódu 1,3 mg.l<sup>-1</sup>, zajišťující v průběhu 47 s inaktivaci na úrovni 99,9 %. Působení jódu je ve srovnání s chlórem méně ovlivněno změnami kvality vody a jód lze označit za realistickou alternativu zejména pro dezinfekci odpadních vod ze zpracoven ryb.
- Souběžná aplikace UV záření a halogenů zvyšuje (oproti individuálnímu nasazení) biocidní účinek a to ve všech typech vod. Efektivnější dezinfekce naznačuje, že lze snížit halogenové dávky a redukovat tak enviromentální dopad vody, vypouštěné s obsahem halogenů, pro recipient. Kombinaci ozónu s UV zářením nebylo dosaženo zvýšení inaktivační intezity (v porovnání se samotným ozónem).
- Při vystavení na vhodné světelné podmínky po UV ozáření byly bakterie *A. salmonicida*, *V. anguillarum* a *Y. ruckeri* schopné fotoreaktivovat a obnovit svou schopnost zadržetí tekutiny.
- Fotoreaktivita je účinnějším reaktivačním mechanismem než „oprava“ poškozených bakterií pomocí tmy. Intenzitu fotoreaktivity ovlivňuje intenzita světla a teplota. K 10 až 100násobnému zvýšení schopnosti obnovení fotoreaktivity bakterií dochází v prvních dvou hodinách při světlené intenzitě a teplotě charakteristické pro venkovní chovy lososovitých ryb. Na slunečním světle je fotoreaktivita *A. salmonicida* dokončena v průběhu 20 minut, u *V. anguillarum* je zapotřebí 60 minut. S fotoreaktivitou je nutno kalkulovat při stanovení dávek UV záření, dezinfekčně účinných pro rybochovné vody.
- Také UV dávkami neošetřené bakterie *A. salmonicida* a *V. anguillarum* jsou citlivé na sluneční záření, což naznačuje, že z hlediska bakterií patogenních pro ryby je to v povrchových vodách významný inaktivační faktor. V říční vodě došlo k inaktivaci *A. salmonicida* na úrovni 99,9 % již po 2 hodinách expozice, *V. anguillarum* vykazala pomalejší reakci. Citlivost *A. salmonicida* na sluneční světlo přispívá k rychlé ztrátě schopnosti její kultivace v povrchových vodách, což částečně vysvětluje obtíže jejího zjišťování ve vzorcích z vodního prostředí.

#### Adresa autora:

Helge Liltved, The Norwegian College of Fishery Science, University of Tromso, Norsko.

#### Poděkování:

Překlad a vydání této publikace bylo umožněno pomocí finanční podpory projektu EU AquaFlow II.

---

V edici Metodik vydala Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický ve Vodňanech - Náklad: 200 ks - Tisk: Tiskárna Public - M. Kreuz, 389 01 Vodňany