



Politechnika Wrocławska

Metoda automatycznego i bezinwazyjnego pobierania próbek biologicznych do wykrywania patogenów w akwakulturze

ROZPRAWA DOKTORSKA

mgr inż. Łukasz Józefowicz

Promotor: dr hab. inż. Anna Janicka, prof. uczelni

Opiekun pomocniczy: dr inż. Katarzyna Pała

Słowa kluczowe:

Recykulacyjne Systemy Akwakulturowe (RAS)

Zatężanie próbek biologicznych

Hodowla organizmów wodnych

Spis treści

Streszczenie	5
Abstract	6
Spis skrótów i oznaczeń	7
1. Akwakultura – sposoby hodowli, uwarunkowania oraz trendy	8
1.1. Historia akwakultury	8
1.2. Klasyfikacja systemów hodowli	8
1.2.1. Systemy statyczne	9
1.2.2. Systemy otwarte	10
1.2.3. Systemy przepływowe (flow-through)	11
1.2.4. Recyrkulacyjne Systemy Akwakulturowe (RAS – Recirculating Aquaculture Systems)	12
2. Cele i zakres rozprawy	13
3. Opracowanie skutecznej metody dezynfekcji	17
3.1. Założenia procesu dezynfekcji	18
3.2. Chemiczne metody dezynfekcji	19
3.2.1. Dezynfekcja z użyciem alkoholu	19
3.2.2. Dezynfekcja z wykorzystaniem nadtlenu wodoru	19
3.2.3. Dezynfekcja z wykorzystaniem kwasu nadoctowego	20
3.2.4. Dezynfekcja z wykorzystaniem związków chloru	20
3.2.5. Dezynfekcja z użyciem związków fenolowych	20
3.2.6. Dezynfekcja z użyciem czwartorzędowych związków amoniowych	20
3.2.7. Dezynfekcja z użyciem formaldehydu i glutaraldehydu	21
3.2.8. Dezynfekcja z wykorzystaniem ozonu	21
3.3. Metody fizyczne oraz fizykochemiczne	21
3.4. Opis i przebieg eksperymentu	21
3.5. Wyniki eksperymentu oraz ich analiza	24
3.6. Podsumowanie rozdziału i wnioski	30
4. Określenie wymagań oraz dobór materiałów odpowiednich dla metody pobierania próbek	31
4.1. Kryteria doboru materiałów	31
4.2. Przedstawienie oraz selekcja materiałów wybranych do badań	32
4.3. Opis oraz przebieg eksperymentu sprawdzającego wytrzymałość mechaniczną materiałów po wielokrotnym procesie dezynfekcji	34
4.4. Wyniki eksperymentu sprawdzającego wytrzymałość mechaniczną materiałów po wielokrotnym procesie dezynfekcji	37
4.5. Opis i przebieg eksperymentu sprawdzającego degradację struktury materiałów po długotrwałym kontakcie z środkami dezynfekcyjnymi	44
4.6. Wyniki eksperymentu sprawdzającego degradację struktury materiałów po długotrwałym kontakcie z środkami dezynfekcyjnymi	45

4.7.	Podsumowanie rozdziału i wnioski	50
5.	Wpływ sposobu regulacji natężenia przepływu na straty energii w układzie pompowym	52
5.1.	Opis problemu badawczego	52
5.2.	Opis eksperymentu oraz procedura badań	54
5.3.	Wyniki eksperymentu	56
5.4.	Podsumowanie rozdziału i wnioski	63
6.	Metoda pobierania próbek wody	66
6.1.	Opis założeń metody pobierania próbek wody	66
6.2.	Projekt prototypu systemu pobierania próbek wody zgodnego z założeniami	66
6.3.	Walidacja opracowanego systemu pobierania próbek wody	69
6.4.	Dobór membrany z wykorzystaniem Metody Objętości Skończonych (CFD)	71
6.5.	Wyniki eksperymentu oraz ich analiza	75
6.6.	Podsumowanie rozdziału i wnioski	80
7.	Metoda transportu próbek wody	81
7.1.	Opis założeń metody transportu próbek wody	81
7.2.	Projekt oraz wykonanie prototypu systemu do transportowania próbek wody	81
7.3.	Opis oraz procedura badań dla opracowanego systemu do transportowania próbek wody	84
7.3.1.	Weryfikacja czystości mikrobiologicznej próbek po przepompowaniu próbek wody do układu	85
7.3.2.	Weryfikacja stabilności temperaturowej próbek w warunkach podwyższonej temperatury	86
7.4.	Podsumowanie rozdziału i wnioski	91
8.	Metoda zatężania materiału biologicznego z wody z wykorzystaniem membran mechanicznych	92
8.1.	Projekt uproszczonego prototypu systemu zatężania materiału biologicznego z wody	92
8.2.	Przedstawienie oraz analiza wyników eksperymentu z wykorzystaniem prototypu uproszczonego układu	92
8.3.	Projekt finalnego prototypu systemu zatężania materiału biologicznego z wody	96
8.4.	Przedstawienie oraz analiza wyników eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu ..	97
8.4.1.	Proces zatężania próbek biologicznych z wykorzystaniem finalnego prototypu – powtórzenie nr 1	98
8.4.2.	Proces zatężania próbek biologicznych z wykorzystaniem finalnego prototypu – powtórzenie nr 2	99
8.4.1.	Proces zatężania próbek biologicznych z wykorzystaniem finalnego prototypu – powtórzenie nr 3	103
8.5.	Podsumowanie rozdziału i wnioski	105
9.	Podsumowanie i wnioski	106
	BIBLIOGRAFIA	110
	SPIS RYSUNKÓW	118
	SPIS TABEL	122

Streszczenie

W ramach pracy doktorskiej zrealizowano wszystkie zakładane cele badawcze i aplikacyjne, a także rozszerzono zakres działań o dodatkowe eksperymenty. Badania koncentrowały się na opracowaniu metody pobierania i transportu próbek biologicznych w recyrkulacyjnych systemach akwakultury (RAS), które stanowią przyszłościowy kierunek hodowli wodnej ze względu na ograniczenia klimatyczne i infrastrukturalne.

Pierwszym etapem była analiza literatury w zakresie trendów w akwakulturze oraz metod dezynfekcji. Spośród czterech przebadanych sposobów (UV-C, ozonowanie, nadtlenek wodoru, kwas nadoctowy) najskuteczniejszą okazała się dezynfekcja z użyciem nadtlenu wodoru, a jednocześnie bezpieczną dla tworzyw konstrukcyjnych. Na tej podstawie wytypowano odpowiednie materiały (PET-G, PE, PVC), które wykazały odporność na długotrwałą ekspozycję w warunkach procesowych.

W dalszej części badań zoptymalizowano sposób regulacji przepływu wody, realizując proces regulacji natężenia przepływu poprzez częściowe dławienie zaworu wykorzystując w tym celu zawór gilotynowy jako rozwiązanie zapewniające najmniejsze straty energii. Opracowano również prototyp systemu poboru próbek, w którym kluczowym elementem była membrana polipropylenowa o stopniu filtracji 1 μm . W eksperymentach wykazano, że metoda pozwala na zatężenie próbek o co najmniej 4 rzędy wielkości.

Równolegle opracowano system transportu próbek, eliminujący ryzyko kontaminacji zapewniający stabilność temperaturową. Testy potwierdziły bezpieczeństwo i zgodność z założeniami projektowymi.

Ostatecznie stworzono również uproszczony układ do pobierania próbek biologicznych, który umożliwił zwiększenie stężenia materiału o 4–5 rzędów wielkości, bez wpływu na życie oraz procesy metaboliczne mikroorganizmów.

Zrealizowane prace doprowadziły do opracowania kompletnej, innowacyjnej metody detekcji patogenów w warunkach akwakultury. Rozwiązanie charakteryzuje się skutecznością, niskim kosztem wdrożenia oraz łatwą adaptacją do standardów RAS. Osiągnięte wyniki wskazują na znaczący potencjał przemysłowy metody, która może poprawić nadzór sanitarny i efektywność produkcji akwakulturowej w skali globalnej.

Abstract

As part of the doctoral thesis, all intended research and application goals were achieved, and the scope of activities was expanded to include additional experiments. The research focused on developing a method for collecting and transporting biological samples in recirculating aquaculture systems (RAS), which represent a future direction in aquaculture due to climatic and infrastructure constraints.

The first stage involved a literature review of aquaculture trends and disinfection methods. Of the four methods tested (UV-C, ozonation, hydrogen peroxide, peracetic acid), disinfection using hydrogen peroxide proved to be the most effective and also safe for engineering plastics. Based on this, suitable materials (PET-G, PE, PVC) were selected, demonstrating resistance to long-term exposure under process conditions.

Further research optimized the water flow regulation process by partially throttling the valve, using a guillotine valve as the solution ensuring the lowest energy loss. A prototype sampling system was also developed, in which a polypropylene membrane with a filtration degree of 1 μm was the key element. Experiments demonstrated that the method allowed for sample concentration by at least 4 orders of magnitude.

A parallel sample transport system was developed, eliminating the risk of contamination and ensuring temperature stability. Tests confirmed its safety and compliance with the design assumptions.

Ultimately, a simplified biological sampling system was also created, which allowed for increasing the material concentration by 4–5 orders of magnitude without affecting the life or metabolic processes of microorganisms.

The completed work led to the development of a comprehensive, innovative method for pathogen detection in aquaculture. The solution is characterized by effectiveness, low implementation cost, and easy adaptation to RAS standards. The results achieved indicate the significant industrial potential of this method, which can improve sanitary supervision and the efficiency of aquaculture production on a global scale.

Spis skrótów i oznaczeń

RAS	- Recirculating Aquaculture Systems – Recyrkulacyjne Systemy Akwakulturowe
OZE	- Odnawialne Źródła Energii
PCR	- Polymerase Chain Reaction - łańcuchowa reakcja polimerazy
DNA	- DeoxyriboNucleic Acid - kwas dezoksyrybonukleinowy
RNA	- RiboNucleic Acid – kwas rybonukleinowy
THM	- Trihalometany
CFD	- Computational Fluid Dynamics – numeryczna mechanika płynów
API	- Analytical Profile Index - test biochemiczny mający na celu identyfikację gatunku organizmu
CFU	- Colony Forming Unit – jednostka tworząca kolonię
PBS	- Phosphate Buffered Saline – sól fizjologiczna buforowana fosforanami
PCA	- Plate Count Agar – medium do zliczania żywych organizmów w próbkach
YGC Agar	- Yeast Glucose Chloramphenicol Agar - selektywne podłoże mikrobiologiczne stosowane do izolacji i hodowli drożdży i pleśni

1. Akwakultura – sposoby hodowli, uwarunkowania oraz trendy

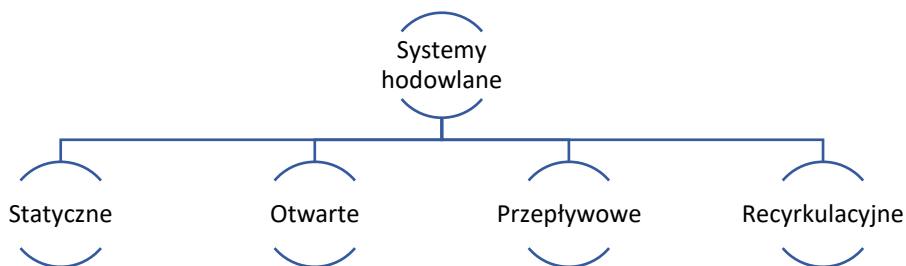
1.1. Historia akwakultury

Akwakultura jest dziedziną gospodarki i nauki zajmującą się hodowlą organizmów wodnych w sposób kontrolowany, efekty tejże hodowli mogą być różne, od celów konsumpcyjnych przez rekreacyjne aż do restytucyjnych. W tym rozdziale przybliżona zostanie tematyka związana z tym sposobem hodowli pod kątem produkcji żywności.

Historyczne początki akwakultury są niezwykle trudne do ustalenia. W zależności od źródła podawane są bardzo rozbieżne daty jeżeli chodzi o pierwsze systemy hodowli ryb. Odkrycia archeologiczne wskazują na to, że na terenach Azji wykorzystywano karpie do zintegrowanych upraw ryżu już 6000 lat p.n.e. [1], natomiast pierwsze udokumentowane informacje na temat celowej hodowli karpia pochodzą z traktatu rolniczego „Fan Li’s Treatise on Fish Culture”, który został spisany w V wieku p.n.e. w Chinach i rozprawia na temat początków hodowli około 3500 lat p.n.e. na tamtejszych terenach. Samo upowszechnienie się hodowli w Chinach datuje się na około 1000 rok p.n.e. [2], [3]. Poza rejonami Azji hodowle ryb takich jak tilapia były tworzone również w starożytnym Egipcie gdzie w odróżnieniu od hodowli w Chinach tworzone były sztuczne zbiorniki wodne już 1500 lat p.n.e. [4]. W Europie pierwsze hodowle ryb oraz skorupiaków były tworzone za panowania Cesarstwa Rzymskiego [5]. Rzymskie praktyki zostały przejęte przez europejskich mnichów, którzy tworzyli systemy hodowlane przy klasztorach, hodowle te były bardzo szanowane przez możnowładców ze względu na posty rybne w religii chrześcijańskiej [6]. Intensywny rozwój akwakultury w Europie datuje się na XV-XVI wiek [7]. Nowoczesna akwakultura zaczęła kształtować się w XIX wieku, wraz z opracowaniem technik sztucznego rozrodu, szczególnie pstrąga tęczowego [8]. W kolejnym stuleciu rosnące zapotrzebowanie na białko zwierzęce, postępy w biotechnologii oraz lepsze poznanie fizjologii ryb przyczyniły się do dynamicznego wzrostu hodowli na całym świecie. W Norwegii w latach 60. XX wieku rozpoczęto intensywną hodowlę łososia atlantyckiego co przekształciło kraj w światowego lidera branży akwakulturowej [9]. Obecnie akwakultura obejmuje nie tylko ryby, ale też skorupiaki, małże oraz glony, i stanowi jedno z najszybciej rozwijających się źródeł żywności na świecie [10].

1.2. Klasyfikacja systemów hodowli

Z perspektywy zarządzania zasobami wodnymi, systemy akwakultury można podzielić na cztery główne typy: statyczne, otwarte, przepływowe oraz recyrkulacyjne (RAS). Schemat z podziałem systemów przedstawiono na Rys. 1. Każdy z nich cechuje się odmiennym podejściem do obiegu wody, różnym poziomem kontroli parametrów środowiskowych oraz skalą oddziaływania na środowisko naturalne. Wybór systemu hodowli powinien być uzależniony od dostępności zasobów wodnych, warunków klimatycznych, profilu produkcyjnego oraz możliwości inwestycyjnych gospodarstwa.



Rys. 1. Podział systemów hodowlanych pod względem wymiany wody w układzie

W dalszej części rozdziału przedstawiono opisy wymienionych systemów wraz z analizami SWOT, które miały na celu wyłonienie najbardziej przyszłościowego sposobu hodowli akwakulturowej.

1.2.1. Systemy statyczne

Statyczne systemy hodowli akwakulturowej należą do najstarszych form użytkowania wód dla celów produkcji ryb i innych organizmów wodnych. Są one szczególnie popularne w Europie Środkowej, Azji oraz Afryce, gdzie sprzyjające warunki naturalne umożliwiają prowadzenie takich hodowli przy minimalnym wsparciu technologicznym. Ich podstawową cechą jest brak ciągłego przepływu wody – stąd określane są mianem systemów zamkniętych lub stawowych [11]. Systemy te funkcjonują w warunkach ograniczonej cyrkulacji wody. Zasilanie w wodę pochodzi najczęściej z opadów atmosferycznych, a utrata następuje wskutek parowania lub infiltracji do gruntu. Filtracja wody odbywa się poprzez procesy naturalne, takie jak sedymentacja zawiesin, biofiltracja w strefie litoralnej czy wykorzystanie roślin wodnych do absorpcji składników pokarmowych [12]. Przykładowy wygląd systemów statycznych przedstawiony został na Rys. 2.



Rys. 2. Fotografia stawów hodowlanych karpia w Rudzie Malenieckiej [13]

Największymi problemami tego typu hodowli są przede wszystkim zmiany klimatu oraz niedobór wody. Rosnące temperatury negatywnie wpływają na jakość prowadzonego chowu, a niekontrolowany rozwój chorób oraz wysokie ryzyko zakażeń wody powoduje znaczne straty w obsadzie hodowli [13]. Na Rys. 3 przedstawiono analizę SWOT dla opisanych systemów statycznych.

Mocne strony

- niskie nakłady inwestycyjne
- niskie zapotrzebowanie na energię

Słabe strony

- ograniczona kontrola jakości wody i parametrów środowiskowych
- duże zapotrzebowanie na powierzchnię i wodę
- niższe obsady i produktywność
- nieodporność na zmiany klimatyczne

Szanse

- możliwość uprawnienia poprzez dodatkowe napowietrzanie, kontrolę parametrów wody
- wykorzystanie OZE

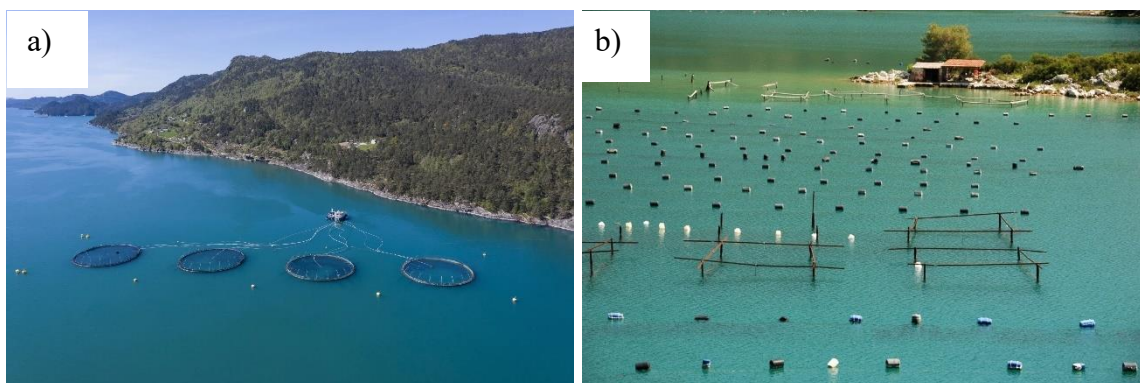
Zagrożenia

- susze
- konkurencje o grunt
- nowe przepisy oraz regulacje dotyczące zarządzania wodą

Rys. 3. Analiza SWOT statycznych systemów hodowli akwakulturowej

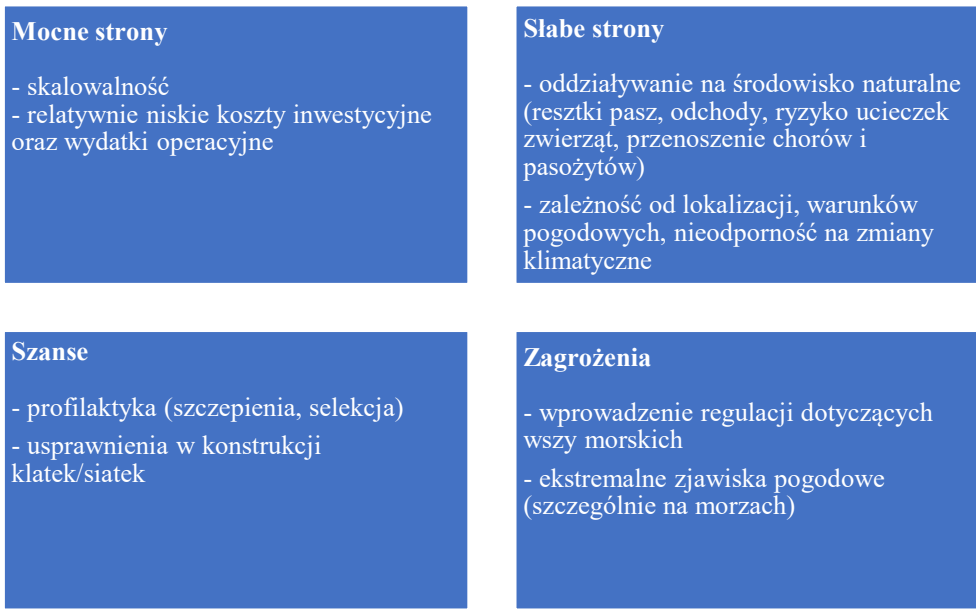
1.2.2. Systemy otwarte

Otwarte systemy hodowlane wykorzystują naturalne środowiska wodne takie jak jeziora, rzeki czy morza. Najbardziej rozpowszechnionym sposobem hodowli tego typu jest hodowla w klatkach lub w miejscach odgradzonych specjalnymi sieciami. Wykorzystuje się tutaj fakt naturalnego procesu filtracji wody oraz częściowo naturalną produkcję pożywienia dla hodowanych gatunków zwierząt [14]. Przykłady takich hodowli przedstawione zostały na Rys. 4.



Rys. 4. a) hodowla łososia w Norwegii [15], b) hodowla ostryg w Dalmacji [16]

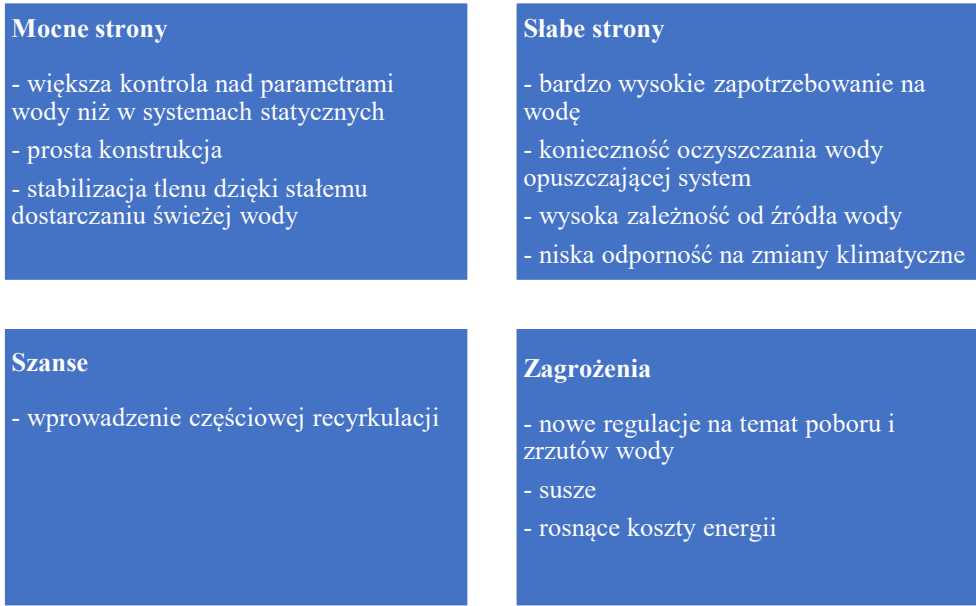
Największymi zaletami takiego typu hodowli są niskie koszty operacyjne oraz inwestycyjne w porównaniu do innych rodzajów chowu. Dużym atutem jest również prostota całego systemu, nie występują tutaj elementy, które mogłyby doprowadzić do utraty obsady takie jak pompy czy układy filtracji. Największymi problemami związanymi z tego typu hodowlą są ucieczki zwierząt spowodowane uszkodzeniem klatek lub sieci, a także fakt, że człowiek nie ma wpływu na warunki panujące w takim systemie takie jak natlenienie, temperatura czy rozprzestrzenianie się chorób i pasożytów [17], [18]. Analiza SWOT zaprezentowana została na Rys. 5.



Rys. 5. Analiza SWOT otwartych systemów akwakulturowych

1.2.3. Systemy przepływowe (flow-through)

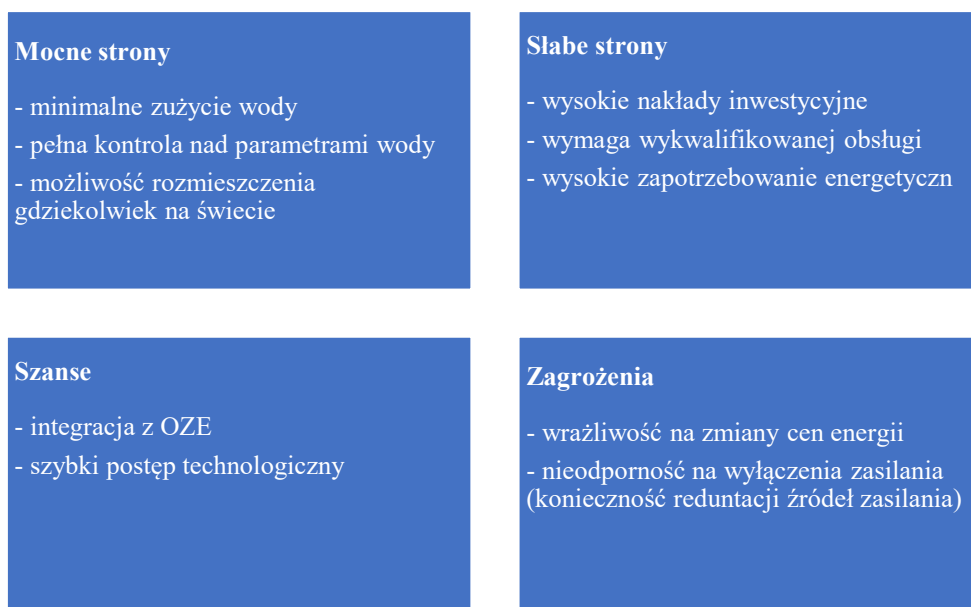
Systemy przepływowe to instalacje, w których woda dostarczana jest do stawów lub zbiorników z zewnętrznego źródła jak na przykład rzeka lub morze. Dzięki wykorzystaniu czystej wody w systemie nie musi występować filtracja biologiczna oraz systemy natleniania mogą być mniej wydajne [19]. Wadami takich systemów są; konieczność kontroli jakości wody, która trafia do systemu oraz niebezpieczeństwo wprowadzenia do układu hodowlanego niechcianych pasożytów lub patogenów. Dużym problemem jest również konieczność radzenia sobie z wodą opuszczającą system hodowlany, musi zostać ona odpowiednio oczyszczona by mogła wrócić do środowiska naturalnego [20]. Na Rys. 6 przedstawiono analizę SWOT systemów przepływowych.



Rys. 6. Analiza SWOT przepływowych systemów akwakulturowych

1.2.4. Recyrkulacyjne Systemy Akwakulturowe (RAS – Recirculating Aquaculture Systems)

Ostatnim opisywanym typem hodowli są Recyrkulacyjne Systemy Akwakulturowe, są one najbardziej nowoczesną formą hodowli, która ma niwelować wszystkie wady systemów opisanych wcześniej, a także być metodą dostępną w każdym miejscu świata, która produkuje żywność w sposób zrównoważony [21]. Recyrkulacyjne Systemy Akwakulturowe są technologią umożliwiającą intensywną produkcję organizmów wodnych przy minimalnym zużyciu zasobów wodnych i ograniczonym wpływie na środowisko naturalne. Główną ideą tych systemów jest wielokrotne wykorzystanie wody poprzez jej oczyszczanie w kolejnych modułach filtracyjnych, obejmujących m.in. separatory mechaniczne, biofiltry nityfikacyjne, odgazowywacze oraz systemy napowietrzania i dezynfekcji [22]. Analiza SWOT zaprezentowana została na Rys. 7.



Rys. 7. Analiza SWOT recyrkulacyjnych systemów akwakulturowych

Przeprowadzone analizy związane z różnymi typami hodowli wskazują na wyższość systemów RAS pod względem kluczowego czynnika, który jest nieodzownym problemem w przyszłości jakim są zmiany klimatyczne. Człowiek nie jest w stanie w przewidywalnej przyszłości cofnąć efektów zmian klimatycznych, dlatego najbardziej odpowiednim sposobem hodowli prawdopodobnie staną się systemy recyrkulacyjne, które jako jedyne są w pełni odporne na czynniki zewnętrzne oraz nie wpływają negatywnie na środowisko. Dodatkowo integracja tych systemów z OZE oraz postęp technologiczny, który powoduje coraz to większą redukcję zużycia energii w systemach tylko ułatwiają szeroki rozwój hodowli tego typu.

2. Cele i zakres rozprawy

Prowadzenie hodowli w Recyrkulacyjnych Systemach Akwakulturowych (RAS) wiąże się z szeregiem istotnych wyzwań, które w nadchodzących latach będą wymagały szczególnej uwagi w celu zapewnienia wysokiej jakości i zrównoważonej hodowli organizmów wodnych. Kluczowym aspektem jest zarządzanie jakością wody – podwyższony poziom amoniaku, azotanów czy azotynów stanowi poważne zagrożenie dla życia hodowanych gatunków. Równie istotne jest utrzymanie odpowiedniego składu chemicznego i stabilnej temperatury wody, dlatego konieczne jest stosowanie zaawansowanej filtracji biologicznej opartej na procesach nitryfikacji oraz ciągły monitoring parametrów [23]. Istotną rolę odgrywa również filtracja mechaniczna, odpowiedzialna za usuwanie resztek paszy i odchodów. Jej zaniedbanie może prowadzić do nadmiernego wzrostu stężenia związków azotu w wodzie, a także obniżać efektywność filtracji biologicznej poprzez zanieczyszczanie złóż filtracyjnych [24], [25].

Kolejnym obszarem wymagającym uwzględnienia są koszty – zarówno inwestycyjne, jak i operacyjne. Obecnie nakłady początkowe w przypadku systemów zamkniętego obiegu są znacznie wyższe niż w hodowlach otwartych, a koszty bieżącej eksploatacji utrzymują się na podobnym poziomie. W efekcie czas zwrotu inwestycji w RAS jest nawet dwukrotnie dłuższy [26]. Na wysokie koszty wpływają m.in. energochłonne urządzenia, takie jak pompy czy systemy grzania lub chłodzenia wody, a także cena specjalistycznych podzespołów tworzących infrastrukturę hodowlaną [27]. Istotnym wyzwaniem pozostaje również kontrola chorób. W zamkniętym obiegu ryzyko namnażania się patogenów jest wyższe niż w hodowlach otwartych [28]. Obecne metody diagnostyczne, takie jak testy PCR, pozwalają na identyfikację mikroorganizmów chorobotwórczych, jednak wymagają badania tkanek zwierząt, co utrudnia wczesne wykrycie choroby [29]. Skuteczniejsze byłoby wykrywanie patogenów bezpośrednio w wodzie systemowej, co pozwoliłoby reagować bez konieczności eliminowania obsady, ograniczając tym samym straty ekonomiczne. Niestety, obecnie jest to utrudnione z powodu niskiego stężenia drobnoustrojów w wodzie. Gdyby jednak możliwe było opracowanie opłacalnej metody zateżnienia materiału biologicznego do poziomu wykrywalnego istniejącymi technikami, mogłoby to znacząco podnieść efektywność i bezpieczeństwo produkcji w RAS. Dalsze opisywane prace wykonane zostały w celu opracowania skutecznej oraz nisko kosztowej metody pobierania próbek wody do wykrywania patogenów w akwakulturze.

Na podstawie przeprowadzonej analizy literaturowej przedstawionej w poprzednich rozdziałach określone zostały cele niniejszej pracy:

CELE NAUKOWE:

1. Opracowanie skutecznej metody próbkowania w systemach RAS w celu identyfikacji patogenów chorobotwórczych w akwakulturze.
Zdefiniowano również cele szczegółowe, których realizacja jest konieczna do uzyskania oczekiwanych rezultatów w celu głównym:
 - 1.1. opracowanie skutecznej metody dezynfekcji możliwej do wykorzystania w procesie pobierania próbek wody,
 - 1.2. opracowanie skutecznej metody próbkowania w systemach RAS w celu identyfikacji patogenów chorobotwórczych w akwakulturze,
 - 1.3. opracowanie metody transportu pobranych próbek wody do laboratorium – sposób transportu musi zapewniać komfort termiczny próbek oraz brak kontaminacji.

CELE UTYLITARNE:

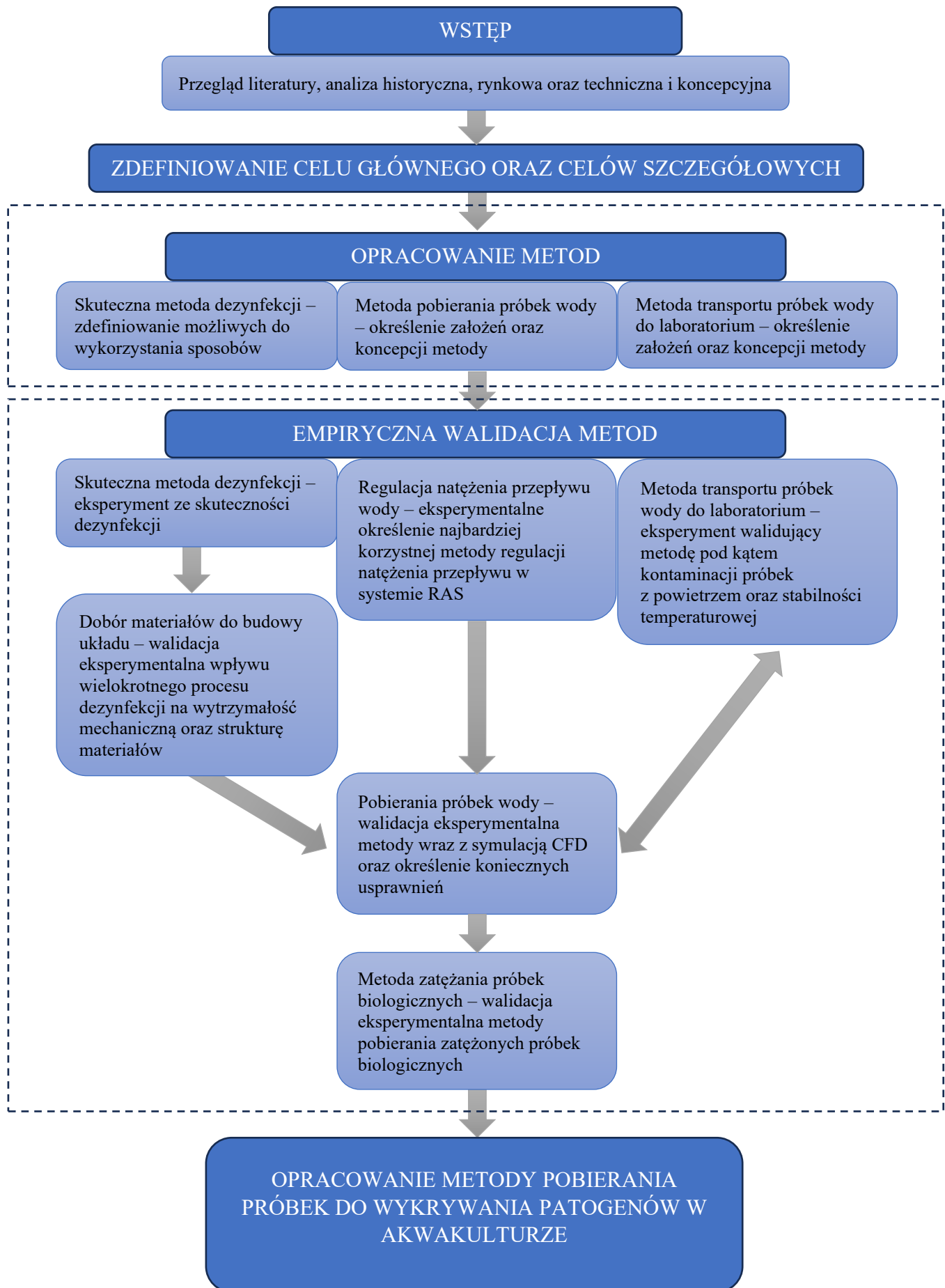
2. Zaprojektowanie i stworzenie stanowiska badawczego symulującego Recyrkulacyjny System Akwakulturowy,
3. Dobór na podstawie badań metody regulacji natężenia przepływu w Recyrkulacyjnych Systemach Akwakulturowych,
4. Wytypowanie na podstawie badań oraz analizy literaturowej materiałów, które mogą zostać wykorzystane w metodzie oraz w RAS,
5. Opracowanie wytycznych do projektowania elementów systemu hodowlanego w sposób adekwatny jakościowo oraz kosztowo.

Realizacja wyżej wymienionych celów wymaga wykonania szeregu przedsięwzięć o charakterze naukowym, badawczym oraz konstrukcyjnym:

- opracowanie skutecznej metody dezynfekcji;
 - analiza teoretyczna sposobów dezynfekcji w kierunku wyboru metod do badań eksperymentalnych,
 - przeprowadzenie eksperymentu mającego na celu weryfikację skuteczności metod dezynfekcji
 - wybór metod najbardziej odpowiednich dla opracowywanej metody pobierania próbek wody,
- określenie materiałów, które mogą zostać użyte do wykonania urządzenia mającego wykorzystywać opracowywaną metodę;
 - dobór teoretyczny materiałów do budowy prototypu układu do pobierania próbek wody,
 - przeprowadzenie eksperymentu weryfikującego wpływ wielokrotnego procesu dezynfekcji na;
 - wytrzymałość mechaniczną,
 - degradację struktury materiału,
- dobór najbardziej korzystnej energetycznie metody regulacji natężenia przepływu;
 - zaprojektowanie oraz zbudowanie stanowiska badawczego symulującego system RAS,
 - określenie na podstawie eksperymentów najbardziej korzystnej energetycznie metody regulacji natężenia przepływu,
- walidacja skuteczności opracowanej metody pobierania próbek wody;
 - skonstruowanie oraz wykonanie prototypu urządzenia mającego na celu walidację metody,
 - integracja stworzonego prototypu urządzenia do pobierania próbek wody ze stanowiskiem symulującym system RAS
 - przeprowadzenie eksperymentu mającego na celu weryfikację skuteczności metody,
 - określenie niezbędnych usprawnień,
- opracowanie metody transportowania próbek wody;
 - zaprojektowanie oraz zbudowanie systemu do transportu próbek wody,
 - przeprowadzenie badań weryfikujących jakość stworzonego systemu pod kątem stabilności temperaturowej oraz kontaminacji (kontaktu próbki z powietrzem),

- walidacja skuteczności opracowanej metody pobierania próbek biologicznych;
 - zaprojektowanie oraz wykonanie prototypu urządzenia do pobierania próbek biologicznych,
 - wykonanie symulacji CFD w celu określenia użyteczności membran mechanicznych w metodzie,
 - integracja stworzonego prototypu urządzenia do pobierania próbek biologicznych ze stanowiskiem symulującym system RAS,
 - przeprowadzenie eksperymentu mającego na celu weryfikację skuteczności metody,
- opracowanie podsumowania oraz wniosków z prac.

Na Rys. 8 przedstawiono strukturę rozprawy doktorskiej w formie graficznej.



Rys. 8. Struktura rozprawy doktorskiej

3. Opracowanie skutecznej metody dezynfekcji

Dezynfekcja powierzchni odgrywa kluczową rolę w zapobieganiu rozprzestrzenianiu się patogenów, stanowiąc podstawowy element strategii kontroli zakażeń zarówno w placówkach medycznych, jak i w wielu innych środowiskach, takich jak zakłady przemysłowe, obiekty użyteczności publicznej, szkoły, środki transportu publicznego czy przestrzenie biurowe. Skuteczna dezynfekcja przyczynia się do redukcji liczby mikroorganizmów chorobotwórczych, takich jak bakterie, wirusy, grzyby oraz ich formy przetrwalnikowe, co ma bezpośrednie przełożenie na bezpieczeństwo zdrowotne użytkowników danego środowiska.

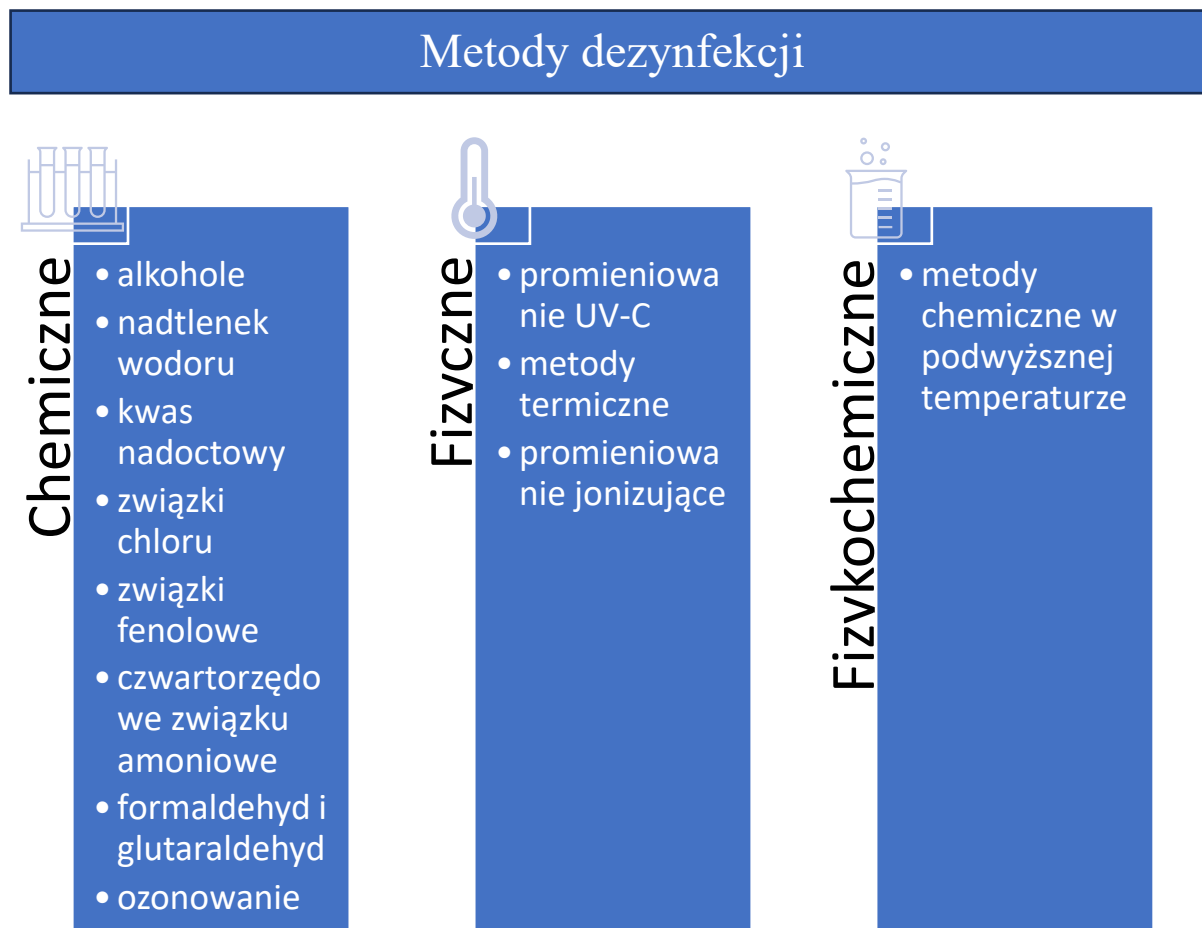
Istotne jest aby dobór metody dezynfekcji był dostosowany nie tylko do rodzaju zanieczyszczenia biologicznego, ale także do materiału, z jakiego wykonana jest dana powierzchnia, oraz do jej lokalizacji i funkcji. W środowiskach przemysłowych, zwłaszcza w sektorze spożywczym czy hodowlanym, dużą wagę przykładają do bezpieczeństwa mikrobiologicznego bez ryzyka kontaminacji środkami chemicznymi. Wybór odpowiedniego sposobu dezynfekcji jest złożony i zależy od kilku istotnych czynników. Po pierwsze, należy uwzględnić rodzaj mikroorganizmów, które mają zostać unieszkodliwione. Różne gatunki i formy (np. przetrwalniki bakteryjne) wykazują zróżnicowaną odporność na działanie środków dezynfekujących. Po drugie, istotny jest rodzaj powierzchni – inna metoda będzie odpowiednia dla gładkich powierzchni metalowych, a inna dla porowatych materiałów organicznych. Po trzecie, trzeba wziąć pod uwagę specyfikę środowiska, w którym dezynfekcja ma być przeprowadzana, obejmuje to między innymi obecność ludzi lub zwierząt, wrażliwość urządzeń elektronicznych na wilgoć lub promieniowanie.

Metody dezynfekcji można podzielić na trzy podstawowe grupy [30], [31]:

- metody chemiczne;
 - alkohole (głównie alkohol izopropylowy, alkohol etylowy)[32],
 - nadtlenek wodoru [33], [34],
 - kwas nadoctowy[32],
 - związki chloru [35],
 - związki fenolowe [36],
 - czwartorzędowe związki amoniowe [37],
 - formaldehyd i glutaraldehyd [32],
 - ozonowanie [38],
- metody fizyczne;
 - promieniowanie UV-C [34],
 - metody termiczne [31],
 - promieniowanie jonizujące (promieniowanie gamma, promieniowanie X, wiązka elektronowa) [39],
- metody fizykochemiczne [31];
 - wykorzystanie kombinacji metod chemicznych ze zwiększeniem temperatury.

Chemiczne metody dezynfekcji mają różne mechanizmy działania, można wyróżnić między innymi [40]; utlenianie (głównie grup tiolowych), reakcje alkilacji, halogenowanie itp. Promieniowanie z zakresu UV-C uszkadza komórki ponieważ jest pochłaniane przez kwas nukleinowy, radiacja może wywołać mutację u bakterii, wirusów i innych mikroorganizmów poprzez zmianę struktury molekularnej, niszczy również wiązania strukturalne w DNA patogenów przez co stają się one nieszkodliwe [34]. W przypadku promieniowania

jonizującego dochodzi do rozbicia błony komórkowej patogenów co może prowadzić do uszkodzenia materiału genetycznego (DNA lub RNA), ponadto gdy cząsteczki wody w komórce są narażone na promieniowanie może się ona przekształcić w wodór, tlen, rodniki hydroksylowe lub nadtlenek wodoru [41]. Schemat z podziałem metod dezynfekcji przedstawiono na Rys. 9.



Rys. 9. Schemat podziału metod dezynfekcji

3.1. Założenia procesu dezynfekcji

Kluczowym elementem układu pobierania próbek wody do wykrywania patogenów w akwakulturze jest sposób dezynfekcji całego układu przed przystąpieniem do zasadniczej pracy. Dobór metody powinien spełniać przyjęte kryteria:

- skuteczność dezynfekcji,
- prosta i niedroga w użyciu metoda dezynfekcji,
- możliwość łatwiej integracji metody w projektowany układ,
- brak znaczącego wpływu użytej metody dezynfekcji na otoczenie.

Skuteczność dezynfekcji zostanie sprawdzona eksperymentalnie, dlatego też warunki przeprowadzenia eksperymentu zostaną wybrane na podstawie analizy pozostałych kryteriów wymienionych powyżej. Najważniejszym kryterium jest brak znaczącego wpływu na organizmy wodne, projektowana metoda ma być nieinwazyjna, należy założyć, że pomimo

płukania układu wodą o wysokiej czystości ($<20 \mu\text{S/cm}$) przed procesem pompowania wody z środowiska resztki środków lub efektów pracy metody dezynfekcyjnej mogą trafić w niewielkich ilościach do systemu hodowlanego. We wstępie do rozdziału trzeciego powyższej pracy wymienione zostały metody dezynfekcji z podziałem na trzy grupy tj. metody chemiczne, metody fizyczne oraz metody fizykochemiczne, wszystkie z wymienionych zostaną rozbite na składowe oraz zostanie omówiony ich potencjał zastosowania w projektowanej metodzie.

3.2. Chemiczne metody dezynfekcji

3.2.1. Dezynfekcja z użyciem alkoholu

Badania naukowe wskazują na negatywny wpływ dezynfekcji z wykorzystaniem alkoholu na zwierzęta nawet w bardzo niskich stężeniach. Wykazano, że stężenie na poziomie 1 mg/L jest toksyczne dla ryb oraz ślimaków, stężenie na poziomie 100 mg/L dla roślin, a sama obecność alkoholu w wodzie negatywnie wpływała na zawartość tlenu rozpuszczonego w wodzie, a także zmianę pH, co wpływa dodatkowo negatywnie na zwierzęta wodne [42]. Wykazano również negatywny wpływ etanolu na larwy ryby *Danio rerio*, stężenie alkoholu na poziomie 100 mg/L powodowało zaburzenia zachowania ryb, a w stężeniu na poziomie 10 g/L wywoływało deformację ciała oraz śmiertelność na poziomie 89%, dodatkowo obecność alkoholu powodowała działanie neurotoksyczne oraz stres oksydacyjny [43]. Wykazano również negatywny wpływ metanolu na ryby z gatunku *Cirrhinus mrigala*, stężenia na poziomie $12,5 \text{ ml/L}$ powodowały śmiertelność 50% populacji, a stężenia na poziomie 10 ml/L powodowały znaczny spadek lipidów w narządach nawet na poziomie blisko 20% [44]. Zaobserwowano również negatywny wpływ na ryby z gatunków *Jesiotr atlantycki* oraz *Sieja marańska* po skażeniu wody alkoholem izopropylowym, miał on w stężeniach na poziomie 2% duży wpływ na śmiertelność ale niższe stężenia miały również zauważalny wpływ na zmiany w składzie wody pod względem ilości tlenu rozpuszczonego czy pH, co negatywnie wpływa na organizmy [45].

Analizując pozostałe kwestie dotyczące założeń projektowych można stwierdzić, że metoda mogłaby znaleźć zastosowanie w projektowanym układzie, istnieje możliwość integracji poprzez dozowanie roztworu alkoholu lub oprysk na dezynfekowane powierzchnie, kosztowność metody również nie jest specjalnie wysoka, natomiast bardzo negatywny wpływ działania alkoholu na organizmy żywe eliminuje możliwość wykorzystania metody.

3.2.2. Dezynfekcja z wykorzystaniem nadtlenu wodoru

Stosowanie nadtlenu wodoru w recyrkulacyjnych systemach akwakulturowych do dezynfekcji jest wykorzystywane bardzo powszechnie. Badania wykazują, że nawet wysokie stężenia na poziomie 15 mg/L/h powodują zwiększenie poziomu natlenienia wody, nie powodując negatywnego wpływu na organizmy w systemie, nie zaobserwowano śmiertelności ani widocznych objawów stresu, a poziomy kortyzolu i glukozy w osoczu pozostawały na podobnym poziomie, nie zaobserwowano również wpływu na zmniejszony przyrost masy ciała u ryb [46]. Badanie przeprowadzone na 13 gatunkach ryb słodkowodnych wykazało odporność organizmów na stężenia poniżej 150 mg/L/h , wykazano również, że krótkie ekspozycje są mniej niebezpieczne dla zwierząt [47]. Eksperymenty na larwach ryb słodkowodnych wskazują, że stężenie 1000 ml/L jest bezpieczne, a sam wpływ nadtlenu wodoru powoduje zapobieganie infekcjom grzybiczym [48].

Możliwość integracji tej metody dezynfekcji jest podobna dla wszystkich metod chemicznych i dość prosta, jej koszt mieści się na akceptowalnym poziomie, a wpływ na organizmy wodne pozwala na wykorzystanie jej w dalszych badaniach.

3.2.3. Dezynfekcja z wykorzystaniem kwasu nadoctowego

Toksyczny wpływ kwasu nadoctowego na organizmy wodne jest obserwowany dla stężeń większych niż 1.6 mg/L większości gatunków ryb, poniżej tego progu zakłada się, że metoda jest bezpieczna [49]. Inne badanie również potwierdza, że dla *lososia atlantyckiego* stosowanie dawek na poziomie mniejszym niż 2.4 mg/L jest bezpieczne i nie powoduje negatywnych skutków [50]. Pozytywnym aspektem używania kwasu nadoctowego do dezynfekcji jest fakt, że ulega on szybkiemu rozpadowi do nieszkodliwych produktów co minimalizuje wpływ na organizmy wodne [51], [52].

Integracja metody jest możliwa, a kosztowność na niskim poziomie, metoda będzie analizowana pod kątem skuteczności w dalszych badaniach.

3.2.4. Dezynfekcja z wykorzystaniem związków chloru

Związki chloru są powszechnie używane do dezynfekcji wody, badania na rybach z gatunków *Miezyk Hellera* oraz *Koi* wykazały, że stężenia chloru na poziomie 1-2 mg/L powodują śmiertelność ryb na poziomie 50% w ciągu 96 godzin [53]. Badania również wykazują negatywny wpływ związków chloru na skrzel, skórę oraz układ osmoregulacji u ryb. Ważnym aspektem w przypadku związków chloru są efekty uboczne dezynfekcji, substancjami ubocznymi, które powstają podczas procesu dezynfekcji chlorem są triahalometany (THM), które mogą prowadzić do zaburzenia rozmnażania organizmów, hamować wzrost i rozwój, a także mogą powodować deformację ciała i śmierć [54].

Metoda dezynfekcji z wykorzystaniem związków chloru podobnie jak poprzednie metody byłaby łatwa w integracji w metodzie, natomiast ze względu na możliwość tworzenia triahalometanów ta metoda została wykluczona z dalszych badań.

3.2.5. Dezynfekcja z użyciem związków fenolowych

Wpływ związków fenolowych jest obserwowalny dla nawet małych stężeń w przypadku ryb. Badanie sprawdzające toksyczność na rybach z gatunku tilapia wykazało, że stężenia na poziomie 1 mg/L zmniejsza tempo żerowania oraz spadek wzrostu i masy ciała, a stężenia na poziomie mniejszym niż 30 ml/L powodowało śmiertelność na poziomie 50%. Nawet niskie stężenia fenolu w wodzie powodują obniżenie zawartości tlenu rozpuszczonego oraz redukują ilość fitoplanktonu [55]. Związki fenolowe mają również wpływ na gospodarkę hormonalną co wykazało badanie wykonane na rybach z gatunku *tilapia nilowej*. Badanie wykazało znaczący wpływ fenolu na obniżenie płodności, zmiany histopatologiczne oraz zmiany w poziomach hormonów i białek, a także zwiększoną śmiertelność [56].

Ze względu na negatywny wpływ na zwierzęta oraz wysoką toksyczność związki fenolowe zostały wykluczone z dalszych badań.

3.2.6. Dezynfekcja z użyciem czwartorzędowych związków amoniowych

Czwartorzędowe związku amoniowe wykazują silne działanie toksyczne dla glonów (śmiertelność na poziomie 50% już przy stężeniu 0.11 mg/L) oraz ryb (śmiertelność na poziomie 50% przy stężeniu 40 mg/L), mają również negatywny wpływ na kluczowe procesy zachodzące w recyrkulacyjnych systemach akwakulturowych jakimi są procesy nitrifikacji oraz denitrifikacji [57]. Związki te mają duży wpływ na organizmy żywe uszkadzając błony

komórkowe, mogą też powodować stres oksydacyjny oraz negatywnie wpływają na rośliny blokując proces fotosyntezy, a u bezkręgowców hamując rozrodczość i rozwój larw [58].

Wysoka toksyczność środka dezynfekcyjnego wyklucza go z użycia w dalszych badaniach.

3.2.7. Dezynfekcja z użyciem formaldehydu i glutaraldehydu

Formaldehyd wykazuje toksyczny wpływ na organizmy wodne, w przypadku ryb słodkowodnych z gatunku *jesiotra atlantyckiego* stężenie na poziomie 9 mg/L powoduje śmiertelność populacji na poziomie 50%, dla bezkręgowców słodkowodnych z gatunku małżoraczek śmiertelność na poziomie 50% została zarejestrowana już przy stężeniu na poziomie 0,32 mg/L [59]. W przypadku ryb słonowodnych z gatunku *Sillago japonica* określono, że śmiertelność na poziomie 50% występuje dla stężenia 50 mg/L, a dla okrzemek 0,49 mg/L [60]. W przypadku glutaraldehydu stwierdzono u ryb z gatunku *Danio rerio* śmiertelność na poziomie 50% przy stężeniu 5,5 mg/L [61].

Ze względu na wysoką toksyczność formaldehydu oraz glutaraldehydu te środki dezynfekcyjne zostały wykluczone z dalszych badań.

3.2.8. Dezynfekcja z wykorzystaniem ozonu

W przypadku dezynfekcji z wykorzystaniem ozonu, nie będzie brany pod uwagę wpływ ozonu rozpuszczonego w wodzie na organizmy wodne ze względu na sposób jego użycia. Komora, która będzie dezynfekowana zostanie wypełniona ozonem, a następnie zostanie przedmuchana oraz przepłukana wodą oczyszczoną. Spowoduje to brak kontaktu ozonu z wodą w środowisku lub systemie hodowlanym. Metoda dezynfekcji z wykorzystaniem ozonu zostanie wykorzystana w dalszych badaniach.

3.3. Metody fizyczne oraz fizykochemiczne

W przypadku metod fizycznych oraz fizykochemicznych wykluczone z dalszych badań zostały metody termiczne oraz ich kombinacje, ze względu na utrudnioną integrację z projektowaną metodą. Dostarczenie do układu dużej ilości ciepła wymagałoby zastosowanie zbiorników ciśnieniowych, a także wysokich nakładów energetycznych. Wykluczone zostały również metody wykorzystujące promieniowanie jonizujące ze względu na ich skomplikowanie i kosztowność.

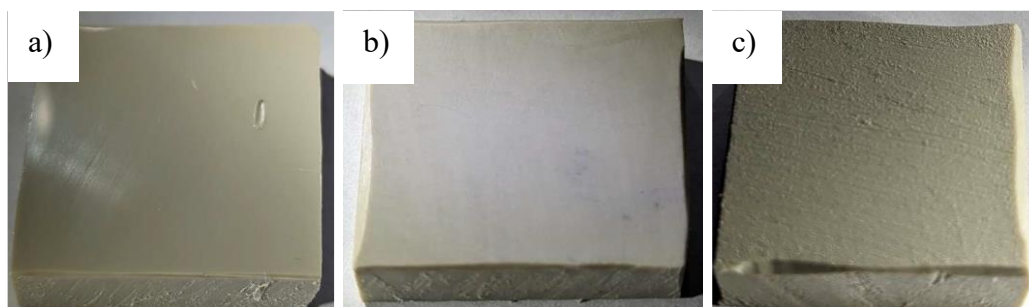
Metodą, która zostanie przeznaczona do dalszych badań jest dezynfekcja z wykorzystaniem promieniowania UV-C, metoda ta nie ma negatywnego wpływu na środowisko lub system hodowlany ze względu na to, że promieniowanie nie będzie miało bezpośredniego kontaktu z wodą w systemie. Metoda ta również jest łatwo integrowalna z projektowanym układem, a poprzez długi czas życia lamp UV-C jest również metodą niską kosztową.

3.4. Opis i przebieg eksperymentu

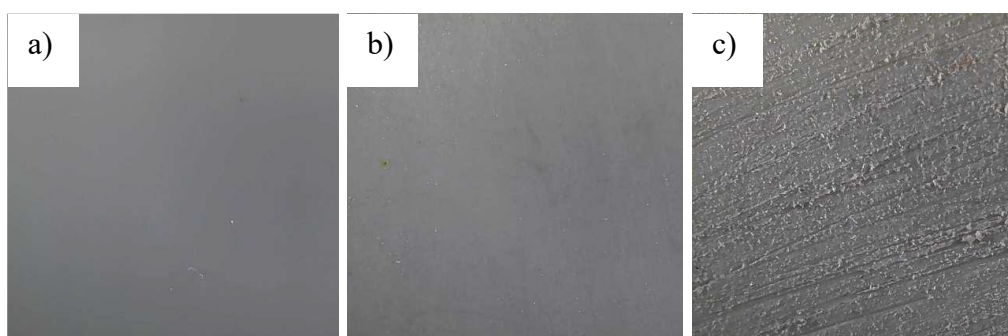
Eksperyment ze skuteczności dezynfekcji został przeprowadzony z wykorzystaniem realnych warunków środowiskowych, które mogą wystąpić podczas eksploatacji aparatury wykorzystującej metodę, której opracowanie było celem niniejszej pracy doktorskiej. Jako medium mikrobiologiczne wykorzystana została woda słona pobrana bezpośrednio z funkcjonującego Recyrkulacyjnego Systemu Akwakulturowego, w którym prowadzona była hodowla Czerwonego Kraba Królewskiego (*Paralithodes camtschaticus*). Recyrkulacyjne Systemy Akwakulturowe pomimo tego, iż woda, która krąży w obiegu zamkniętym jest zdecydowanie czystsza niż w środowisku naturalnym gdzie żyją wymienione kraby, nadal

zawiera życie mikrobiologiczne, które jest niezbędne do prawidłowego funkcjonowania układu. Bakterie przetwarzające trujący dla zwierząt amoniak na mniej złożone formy azotowe są kluczowe dla hodowli.

Podłożem wykorzystanym do badań były płytki wykonane z polipropylenu (ze względu na dużą powszechność tego materiału w budowie systemów RAS oraz jego łatwą obróbkę mechaniczną) o rozmiarach 30x30 mm oraz grubości 8 mm. Rozmiary płytek zostały dobrane by te mogły zostać w prosty sposób odcisnięte na ogólnodostępnych szalkach do posiewów bakteryjnych. Ze względu na fakt, że powyższy materiał dostarczony został w formie wielkoformatowej płyty o gładkiej strukturze postanowiono podzielić eksperyment na trzy grupy, w pierwszej grupie wykorzystano płytki fabryczne, o niskiej chropowatości powierzchni, drugą grupę stanowiły płytki, których powierzchnia została poddana szlifowaniu papierem ściernym o ziarnistości 600 (P600), trzecia grupa została przygotowana analogicznie do grupy poprzedniej, natomiast do szlifowania powierzchni wykorzystano papier o ziarnistości 100 (P100). Powyższe zabiegi pozwoliły na weryfikację czy poszukiwana metoda dezynfekcji będzie odpowiednia dla elementów wykonanych różnymi metodami obróbki ubytkowej, a także pozwoliła zweryfikować czy chropowatość powierzchni ma wpływ na skuteczność wybranych metod. Płytki przedstawione zostały na Rys. 10 oraz Rys. 11.



Rys. 10. Płytki polipropylenowe wykorzystane w badaniu, a) płytka gładka, b) płytka szlifowana papierem P600, c) płytka szlifowana papierem P100



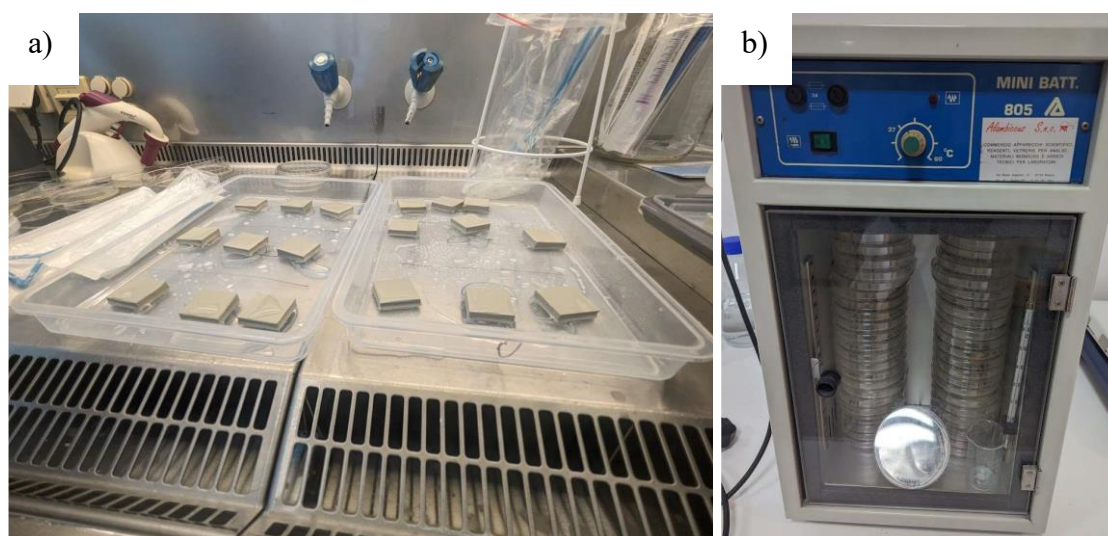
Rys. 11. Płytki polipropylenowe wykorzystane w badaniu - powiększenie x10, a) płytka gładka, b) płytka szlifowana papierem P600, c) płytka szlifowana papierem P100

Płytki po przygotowaniu oraz oczyszczeniu zostały zdezynfekowane poprzez umieszczenie w środku dezynfekcyjnym na bazie alkoholu etylowego na 20 minut, a następnie zostały przepłukane wodą dejonizowaną (przewodność $< 1 \mu\text{S}/\text{cm}$) i umieszczone w wodzie pobranej z wyżej wspomnianego systemu hodowlanego na 24 godziny. Przygotowane zostało 47 sterylnych szalek Petriego, w których umieszczony został agar odżywczy, czyli podłoże do hodowli mikroorganizmów, tak przygotowany zestaw posłużył do wykonania posiewów bakteryjnych. Płytki po wyjęciu z wody z systemu hodowlanego zostały podzielone na 5 grup,

każda z grup zawierała 3 płytki gładkie, 3 płytki szlifowane papierem P600, 3 płytki szlifowane papierem P100, grupy odzwierciedlają sposób dezynfekcji płytek:

- grupa 1: brak dezynfekcji – grupa kontrolna,
- grupa 2: dezynfekcja poprzez umieszczenie płytki pod lampą generującą promieniowanie UV-C marki Lena Lightning model sterilon 108W, lampa wyposażona była w trzy świetlówki o mocy 36 W każda, płytki zostały umieszczone w odległości 20 cm od źródła promieniowania, czas ekspozycji 15 minut,
- grupa 3: dezynfekcja poprzez umieszczenie płytek w szczelnej komorze, do której wtłoczony został ozon wytworzony za pomocą ozonatora marki Korona Ozon model Zdrowa Żywność, którego wydajność produkcji ozonu wynosi 3000 mg/h, płytki były poddane dezynfekcji przez 15 minut,
- grupa 4: dezynfekcja z wykorzystaniem 35% roztworu nadtlenu wodoru, płytki zostały pokryte roztworem za pomocą rozpylacza oraz pozostawione na 15 minut,
- grupa 5: dezynfekcja z wykorzystaniem 15% roztworu kwasu nadoctowego, płytki zostały pokryte roztworem za pomocą rozpylacza oraz pozostawione na 15 minut.

Po przeprowadzeniu procesów dezynfekcyjnych wszystkie próbki zostały przeniesione do komory laminarnej, by uniknąć kontaminacji (poprzez kontakt z powietrzem) oraz zostały przepłukane wodą dejonizowaną o przewodności $<0.2 \mu\text{S}/\text{cm}$ tak żeby usunąć resztki środków dezynfekcyjnych z ich powierzchni. Każda z płytek została odcisnięta w agarze odżywczym na szalce Petriego, następnie agar został rozsmarowany, a szalka przykryta pokrywką. Dodatkowo wykonano dwie identyczne szalki, na jednej znajdował się jedynie agar odżywczy, a na drugiej agar odżywczy wraz z wodą dejonizowaną, które była użyta w całym procesie. Próbkę kontrolną pozwoliły zweryfikować czy nie doszło do zanieczyszczenia z powietrzem oraz czy użyta woda dejonizowana była sterylna. Fotografie z przebiegu eksperymentu przedstawiono na Rys. 12.

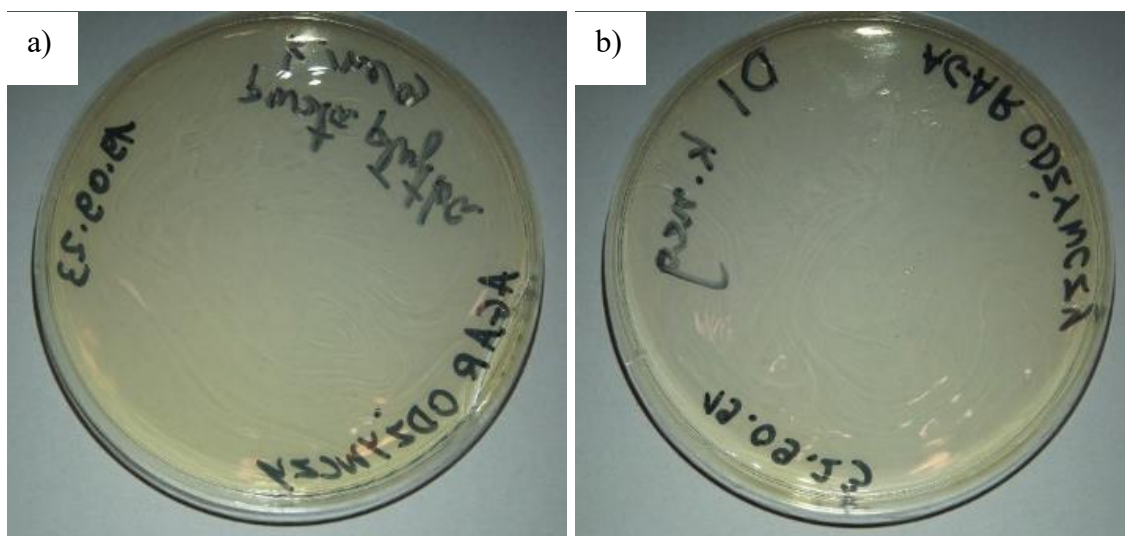


Rys. 12. a) płytki w komorze laminarnej po procesie dezynfekcji przygotowane do odcisnięcia w agarze odżywczym, b) szalki umieszczone w cieplarni laboratoryjnej

Szalki po odcisnięciu trafiły do cieplarki laboratoryjnej gdzie były inkubowane w warunkach tlenowych przez 96 godzin w temperaturze 37°C . Po okresie inkubacji wykonano dokumentację zdjęciową szalek oraz przeprowadzono analizę wyników, która przedstawiona została w kolejnym podrozdziale.

3.5. Wyniki eksperymentu oraz ich analiza

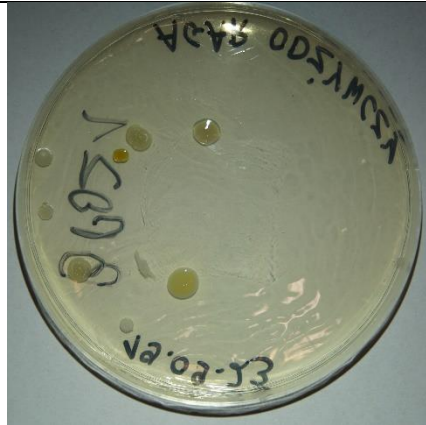
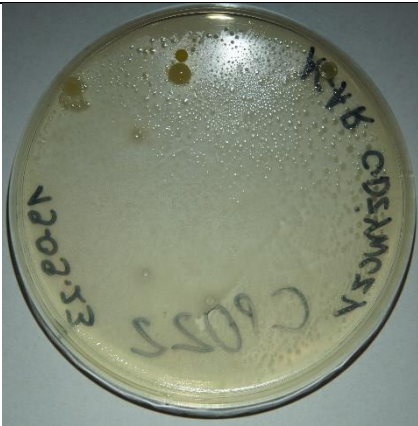
Pierwszym krokiem wykonanym po przeprowadzeniu eksperymentu była weryfikacja próbek kontrolnych tj. sprawdzenie szalki, w której umieszczony był tylko agar odżywczy, co pozwoliło potwierdzić, że eksperyment przeprowadzony został w sterylnych warunkach, nie doszło do kontaminacji mikrobiologicznej próbek (kontaktu z zanieczyszczonym powietrzem). Druga próbka kontrolna poza agarem odżywczym zawierała wodę dejonizowaną użytą do płukania płytek po procesie dezynfekcji. Na obu szalkach po inkubacji w cieplarni laboratoryjnej nie stwierdzono obecności organizmów mikrobiologicznych, co potwierdziło, że eksperyment został przeprowadzony w sposób pozwalający na dalszą analizę próbek. Posiewy bakteryjne zostały przedstawione na Rys. 13.



Rys. 13. a) posiew bakteryjny na szalce z agarem odżywczym - kontrola, b) posiew bakteryjny z agarem odżywczym oraz próbką wody dejonizowanej – kontrola

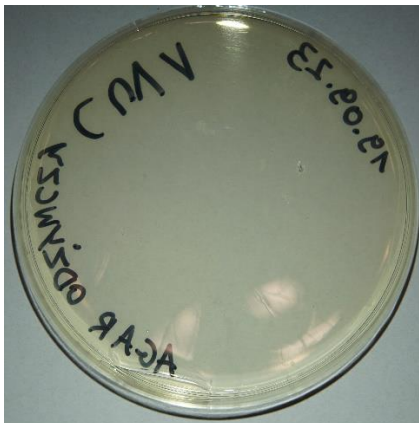
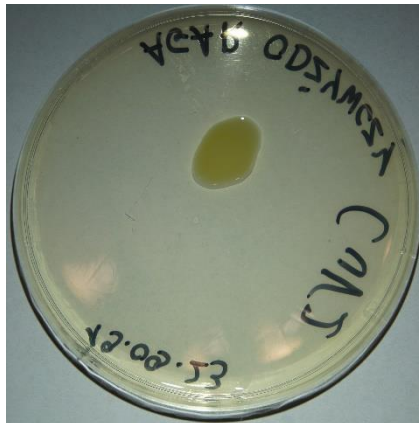
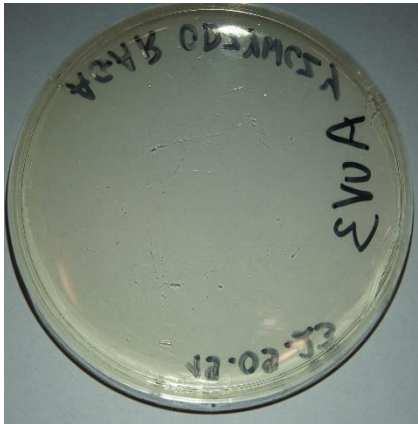
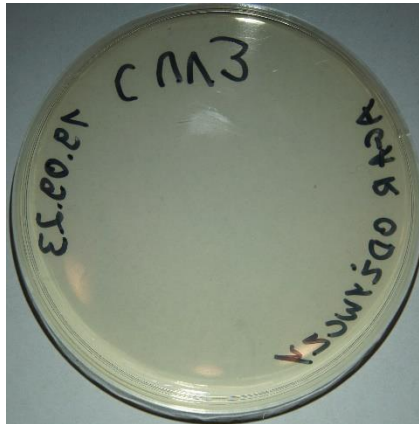
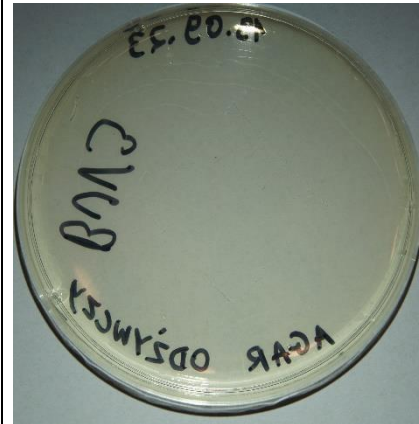
W Tab. 1 przedstawione zostały fotografie szalek, które były kontrolą pozytywną, czyli odciskane w agarze odżywczym płytki nie zostały poddane dezynfekcji. Na każdej z płytek poza jedną można zauważyć kolonie bakterii lub grzybów, co potwierdza, że w wodzie pobranej z systemu hodowlanego występowały bakterie, wyniki te pozwalają na analizę dalszych próbek.

Tab. 1. Przedstawienie wyników eksperymentu ze skuteczności dezynfekcji - próba kontrolna

Próba kontrolna			
Nr próbki	Płytki fabryczne	Płytki szlifowane papierem P600	Płytki szlifowane papierem P100
1			
2			
3			

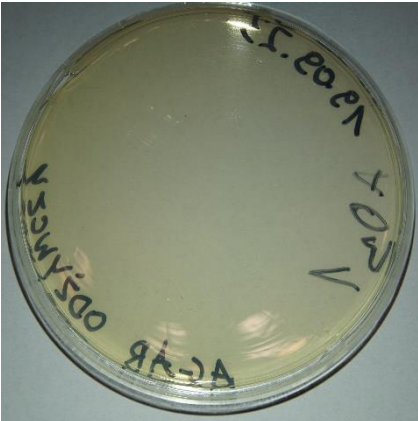
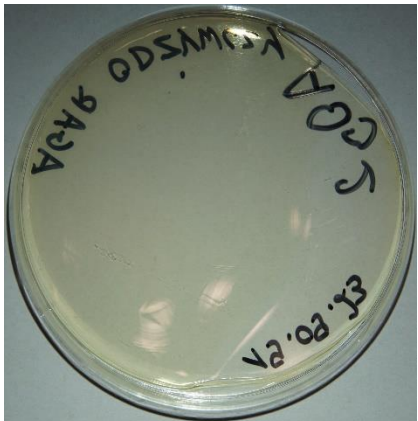
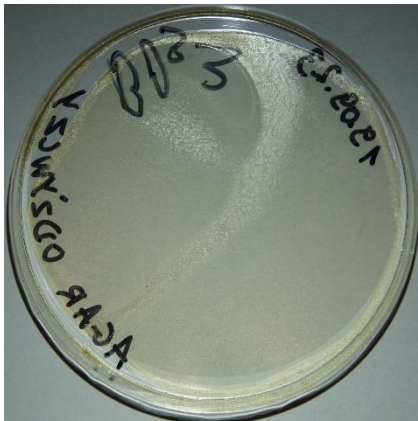
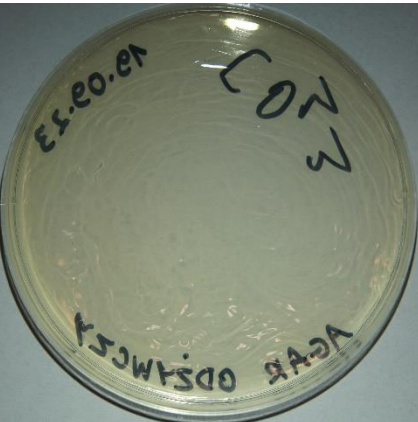
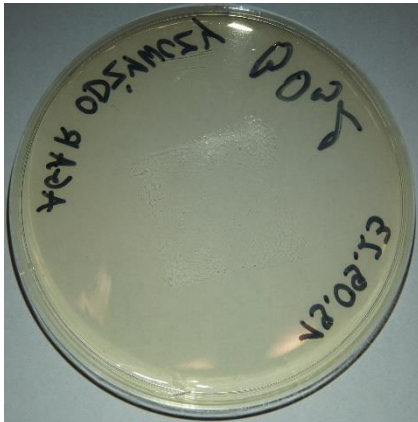
W Tab. 2 przedstawione zostały fotografie szalek, na których odcisnięte zostały płytki, które poddane były dezynfekcji z wykorzystaniem promieniowania UV-C. Na jednej z szalek z grupy płytek, które były szlifowane papierem P600 zauważyć można kolonię bakterii, na pozostałych szalkach nie stwierdzono obecności bakterii ani grzybów.

Tab. 2. Przedstawienie wyników eksperymentu ze skuteczności dezynfekcji - promieniowanie UV-C

Dezynfekcja z wykorzystaniem promieniowania UV-C			
Nr próbki	Płytki fabryczne	Płytki szlifowane papierem P600	Płytki szlifowane papierem P100
1			
2			
3			

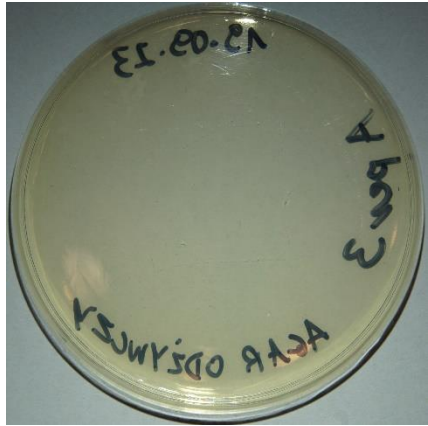
W Tab. 3 przedstawione zostały fotografie szalek, na których odcisnięte zostały płytki, które poddane były dezynfekcji z wykorzystaniem ozonu. Na trzech płytkach, po jednej z każdej grupy stopnia chropowatości powierzchni można stwierdzić obecność kolonii bakterii lub grzybów, na pozostałych szalkach nie stwierdzono rozwoju mikroorganizmów.

Tab. 3. Przedstawienie wyników eksperymentu ze skuteczności dezynfekcji - ozonowanie

Dezynfekcja z wykorzystaniem ozonu			
Nr próbki	Płytki fabryczne	Płytki szlifowane papierem P600	Płytki szlifowane papierem P100
1			
2			
3			

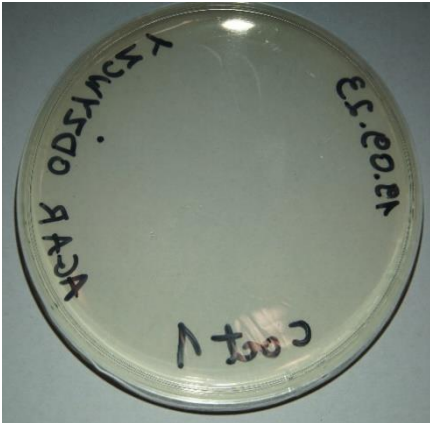
W Tab. 4 przedstawione zostały fotografie szalek, na których odcisnięte zostały płytki, które poddane były dezynfekcji z wykorzystaniem 35% roztworu nadtlenu wodoru. Na żadnej z szalek nie stwierdzono obecności bakterii lub grzybów.

Tab. 4. Przedstawienie wyników eksperymentu ze skuteczności dezynfekcji - nadtlenu wodoru

Dezynfekcja 35% roztworem nadtlenu wodoru			
Nr próbki	Płytki fabryczne	Płytki szlifowane papierem P600	Płytki szlifowane papierem P100
1			
2			
3			

W Tab. 5 przedstawione zostały fotografie szalek, na których odcisnięte zostały płytki, które poddane były dezynfekcji z wykorzystaniem 15% roztworu kwasu nadoctowego. Na jednej z płytek stwierdzono obecność rozwoju bakterii lub grzybów, na pozostałych płytkach nie stwierdzono obecności życia mikrobiologicznego.

Tab. 5. Przedstawienie wyników eksperymentu ze skuteczności dezynfekcji - kwas nadoctowy

Próbki po dezynfekcji 15% roztworem kwasu nadoctowego			
Nr próbki	Płytki fabryczne	Płytki szlifowane papierem P600	Płytki szlifowane papierem P100
1			
2			
3			

3.6. Podsumowanie rozdziału i wnioski

Przeprowadzony eksperyment miał za zadanie wyłonić metody dezynfekcji, które są w stanie zapewnić stopień dezynfekcji aparatury, która wykorzystywałaby metodę opracowywaną w pracy doktorskiej. Próby kontrolne pozwoliły stwierdzić, że przebieg eksperymentu był prawidłowy i nie doszło do kontaminacji mikrobiologicznej w komorze laminarnej podczas prowadzenia eksperymentu oraz, że użyta woda dejonizowana była czysta mikrobiologicznie. Próba kontrolna pozytywna również przebiegła prawidłowo ponieważ 8 na 9 próbek wykazało obecność bakterii lub grzybów na szalkach, które nie były dezynfekowane. Sprawdzane były cztery metody dezynfekcji, każda z nich wykazała, że są one w stanie w odpowiedni sposób zdezynfekować powierzchnie płytek, z czego najwyższą skuteczność miała dezynfekcja z wykorzystaniem roztworu nadtlenku wodoru, w tym przypadku na każdej z dziewięciu próbek nie wykryto obecności kolonii bakterii lub grzybów.

Dodatkowo w eksperymencie nie wykazano znaczącego wpływu chropowatości powierzchni na skuteczność dezynfekcji przy weryfikowanych metodach, żaden stopień chropowatości powierzchni nie spowodował trudności w dezynfekcji. Każda z metod może być użyta w dalszej części eksperymentów i zostanie zweryfikowana pod kątem wpływu wielokrotnego procesu dezynfekcji na degradację struktury tworzyw sztucznych, które zostaną wytypowane do eksperymentów. Finalnie użyta metoda dezynfekcji zostanie wytypowana na podstawie wspomnianego eksperymentu, poziomu trudności integracji metody dezynfekcji w aparaturze pomiarowej oraz innych aspektów, które zostaną poruszone w dalszej części pracy.

4. Określenie wymagań oraz dobór materiałów odpowiednich dla metody pobierania próbek

4.1. Kryteria doboru materiałów

Dobór materiału, który wykorzystany został do stworzenia prototypu urządzenia mającego na celu weryfikację skuteczności metody pobierania próbek wody do wykrywania patogenów w akwakulturze, a także do stworzenia finalnego urządzenia jest elementem krytycznym ze względu na wdrożeniowy charakter doktoratu. W dalszej części rozdziału przedstawione zostały kryteria doboru materiałów, przeprowadzona została selekcja oraz wykonane zostały badania i eksperymenty mające na celu wyłonienie najbardziej odpowiedniego rozwiązania. W niniejszym podrozdziale przedstawione zostały kryteria jakie spełniać musi materiał, który został wykorzystany do wykonania urządzenia mającego wykorzystywać projektowaną w pracy doktorskiej metodę pobierania próbek wody do wykrywania patogenów w akwakulturze. Założenia te dotyczą wymagań związanych z miejscem wykonywania pomiarów, odpornością na wielokrotny proces dezynfekcji, a także spełniają kryteria pod względem kosztochłonności i trudności w produkcji gotowego urządzenia. Projektowana metoda ma znaleźć głównie zastosowanie w Recyrkulacyjnych Systemach Akwakulturowych z powodów wymienionych w pierwszym rozdziale pracy. Poniżej przedstawione zostały kryteria doboru wraz z argumentacją:

1. odporność materiału na wielokrotny proces dezynfekcji;
 - a. urządzenie musi być niezawodne, a jego cechy jakościowe mają pozostawać niezmiennie w trakcie użytkowania przez okres co najmniej dwóch lat,
2. odporność na warunki pracy urządzenia;
 - a. wykorzystany materiał musi być odporny na warunki panujące w Recyrkulacyjnych Systemach Akwakulturowych, czyli woda o temperaturze w zakresie 5-40 °C, odporność na wysokie zasolenie do 35 ppt, nietoksyczność po kontakcie z wodą przepływającą przez układ,
3. możliwość obróbki materiału metodami pozwalającymi na uzyskanie gładkiej, nieporowatej powierzchni;
 - a. gładka powierzchnia jest ważnym kryterium każdego elementu pracującego w systemach, gdzie możliwe jest zagnieżdżanie się drobnoustrojów,
4. nietoksyczne i efektywne metody łączenia elementów układu;
 - a. materiały wykorzystane w układzie będą musiały zostać zintegrowane z pozostałą instalacją, dlatego możliwość połączenia podzespołów musi być możliwa z zachowaniem braku wpływu na pozostałe elementy systemu, wykluczone jest użycie np. klejów, które mogłyby być toksyczne,
5. niski koszt;
 - a. ważne jest żeby sam materiał był niedrogi, ale równie ważnym elementem jest kwestia kosztowności i czasochłonności obróbki oraz przygotowania elementów wchodzących w skład układu. Aktualnie dąży się do minimalizacji kosztów inwestycyjnych i operacyjnych w systemach RAS, wysoka cena dodatkowego systemu pobierania

próbek może negatywnie wpłynąć na jego atrakcyjność w oczach inwestorów.

4.2. Przedstawienie oraz selekcja materiałów wybranych do badań

Podrozdział poświęcony został kwestiom związanym z wytypowaniem materiałów do wykonania układu mającego na celu realizację metody pobierania próbek wody do wykrywania patogenów w akwakulturze. Wytypowane materiały muszą spełniać kryteria opisane w podrozdziale 4.1, następnie wybrana grupa materiałów została przebadana pod kątem wpływu wielokrotnego procesu dezynfekcji na wytrzymałość mechaniczną oraz strukturę materiałów. Materiały jakie były brane pod uwagę to tworzywa sztuczne, metale oraz kompozyty.

Analiza prac naukowych przedstawiających koncepcję Recyrkulacyjnych Systemów Akwakulturowych oraz elementów takich układów pozwoliła na wytypowanie kilku materiałów, które są wykorzystywane w konstrukcji takich systemów;

- stal nierdzewna 316l [26], [62], [63] ,
- PCV [26], [62]–[64],
- PE [26], [62], [63],
- szkło kwarcowe [26], [62], [63],
- żelazo galwanizowane [62].

Powyższe materiały zostały wytypowane ze względu na powszechne występowanie informacji o wykorzystaniu ich w systemach typu RAS, wyeliminowane zostało szkło kwarcowe ze względu na fakt, że wykorzystanie tego materiału ma w takich systemach wąskie zastosowanie i jest głównie używane jako element systemu sterylizacji wody obiegowej za pomocą promieniowania UV-C, nie wykorzystuje się tego materiału w celach konstrukcyjnych. Wyeliminowane zostało również żelazo galwanizowane ze względu na to, że wzmianka o tym materiale opisywana była jedynie jako element wspierający instalację, a nie materiał mający bezpośredni kontakt z wodą w systemie. W dalszej części podrozdziału zostały wytypowane kolejne materiały na podstawie analizy wykorzystywanych w systemach recyrkulacyjnych podzespołów takich jak filtry, zawory czy pompy. Celem analizy było wykazanie jakie materiały są wykorzystywane w takich układach i funkcjonują w nich niezawodnie, a nie zostały poświęcone im prace naukowe;

- PVC [65]–[67],
- ABS [68]–[70],
- PE [71], [72],
- EPDM [73], [74],

Dodatkowo do zestawienia materiałów dodany został materiał PET-G ze względu na możliwość wykorzystania go do produkcji prototypów w technologii przyrostowej. Wykorzystanie tego materiału zdecydowanie usprawni pracę nad prototypami, a także jeśli materiał i sposób wykonania byłby akceptowalny dałoby to możliwość łatwego wdrożenia w produkcji nisko i średnioseryjnej gotowego produktu. Poniżej zostało przedstawione zestawienie wytypowanych materiałów wraz z porównaniem ze stawianymi im wymaganiami, kryterium kosztowe zostanie przedstawione w osobnej tabeli:

- stal nierdzewna 316l – wysoka odporność na korozję [75], wysoka odporność chemiczna [76], oraz wysoka wytrzymałość mechaniczna [77], obróbka

wymaga dobrej jakości maszyn, by uzyskać dobrej jakości strukturę [78], łączenie elementów z wykorzystaniem spawania, które wymaga wysokiej jakości specjalisty [79], brak toksyczności [80],

- PE – wysoka odporność na korozję i odporność chemiczna [81], [82], odpowiednia wytrzymałość mechaniczna [83], prosta obróbka [83], [84], łączenie materiałów z wykorzystaniem zgrzewania [85], brak toksyczności [86],
- ABS – wysoka odporność na korozję lecz słaba odporność na promieniowanie UV, dobra odporność chemiczna [87], dobra wytrzymałość mechaniczna [88], łatwo obrabialny, możliwość spawania oraz klejenia z wykorzystaniem klejów nietoksycznych [89], toksyczność wykazuje jedynie w wysokich temperaturach [90],
- PVC – odporność na korozję oraz dobra odporność chemiczna [91], dobre właściwości mechaniczne [92] łatwy w obróbce oraz łączeniu [93], nie wykazuje toksyczności w standardowych zastosowaniach [94],
- PETG – odporność na korozję, dobra odporność chemiczna [95], dobre właściwości mechaniczne [96], łatwy w obróbce i scalaniu [97], nietoksyczny w normalnym użytkowaniu [98],
- EPDM – odporność na korozję i dobra odporność chemiczna [99], wystarczająca wytrzymałość mechaniczne jak na materiał uszczelkowy [100], możliwości obróbki oraz klejenia są utrudnione lecz nie jest to aspekt kluczowy dla materiału uszczelkowego, nie wykazuje się toksycznością w normalnych warunkach pracy [101].

Powyższe zestawienie wskazuje, że każdy z wytypowanych materiałów mógłby znaleźć zastosowanie w projektowanej metodzie, finalna lista materiałów została wytypowana na podstawie analizy kosztowej przedstawione w Tab. 6.

Tab. 6. Zestawienie wskaźników cen materiałów, opracowanie własne na podstawie [102]

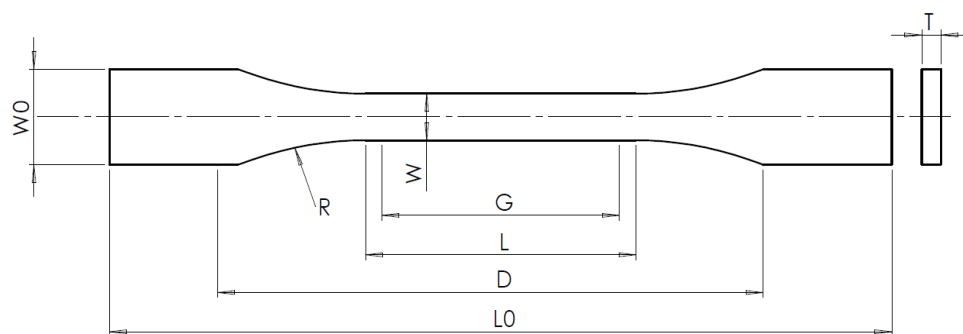
Materiał	Wskaźnik cen, \$/kg	Gęstość, kg/m ³	Wskaźnik cen, \$/dm ³
Stal nierdzewna 316l	2,9	7990	23170
PE	1,47	950	1400
ABS	1,95	1040	2030
PVC	1,28	1380	1770
PETG	1,5	1270	1910
EPDM	2,54	860	2180

Analizując powyższe zagadnienia i kryteria do dalszej analizy w pracy zostały wybrane materiały; PE, ABS, PVC, PETG, EPDM. Stal nierdzewna 316l została wyeliminowana ze względu na bardzo wysoki koszt, oraz na trudności w obróbce.

4.3. Opis oraz przebieg eksperymentu sprawdzającego wytrzymałość mechaniczną materiałów po wielokrotnym procesie dezynfekcji

Aparatura, opracowana w ramach pracy doktorskiej, która ma zadanie sprawdzić działanie oraz wykorzystywać metodę pobierania i transportowania próbek wody musi zostać wykonana z materiałów, które będą spełniać wymagania przedstawione w podrozdziale 4.1, dodatkowo urządzenia będzie musiało pracować przez okres minimum dwóch lat w sposób nie mający negatywnego wpływu na metodę. Założenia metody określają, że proces dezynfekcji będzie wykonywany raz dziennie i trwał będzie 15 minut. W założeniu eksperymentu przyjęto powyższe dane co sumarycznie daje około 183 godziny ekspozycji na środki/metody dezynfekcyjne na przestrzeni dwóch lat.

Próbki do badań wytrzymałościowych zostały wykonane z materiałów wyszczególnionych w poprzednim podrozdziale z wykorzystaniem frezarki, a ich kształt został opracowany na podstawie normy ASTM D638 – 14 „*Standard Test Method for Tensile Properties of Plastics*”, która opisuje przebieg eksperymentu oraz kształt próbek dla statycznej próby rozciągania materiałów z tworzyw sztucznych. Wybrany został typ I ze względu na możliwości wykorzystanej maszyny tj. Instron 3384 oraz grubość materiału. Kształt oraz wymiary próbki przedstawiono na Rys. 14.



Rys. 14. Kształt oraz wymiary próbki do próby statycznego rozciągania według normy ASTM D638-14

gdzie:

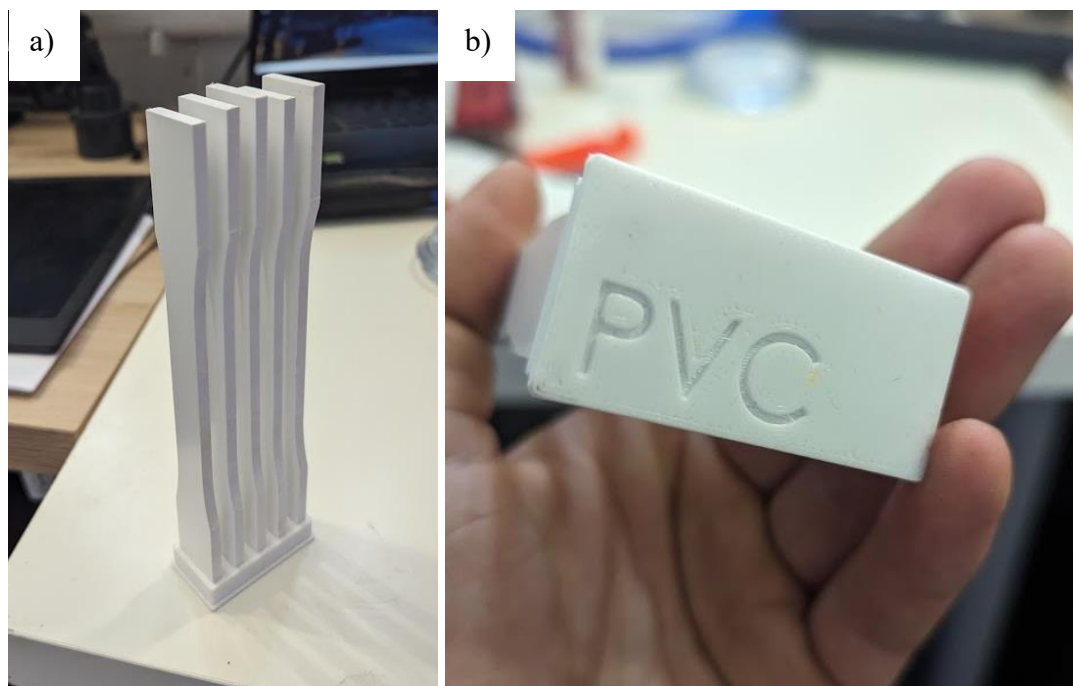
- W – szerokość sekcji wąskiej – 13mm
- L – długość sekcji wąskiej – 57mm
- WO – szerokość całkowita minimum – 19mm
- LO – długość całkowita minimum – 165mm
- G – długość pomiarowa – 50mm
- D – odległość pomiędzy częściami chwytowymi – 115mm
- R – promień zaokrąglenia – 76mm
- T – grubość próbki – 4mm

Próbki wykonane zostały z materiałów:

- poli(akrylonitryl-co-butadien-co-styren) (ABS) – 25 sztuk – prędkość rozciągania – 5 mm/min,
- politereftalan etylenu-glikol (PETG) – 25 sztuk – prędkość rozciągania 50 mm/min,
- polietylen (PE) – 25 sztuk – prędkość rozciągania 50 mm/min,

- poli(chlorek winylu) (PVC) – 25 sztuk – prędkość rozciągania 5 mm/min,
- kauczuk etylenowo-propylenowo-dienowy (EPDM) – 25 sztuk – prędkość rozciągania – 50 mm/min.

Aby zapewnić, że próbki w naczyniach były w pełni wystawione na działanie metod dezynfekcji, wykonane zostały specjalne uchwyty, które uniemożliwiły próbkom sklejanie się oraz zapewniły łatwą identyfikację. Próbki zostały przedstawione na Rys. 15.



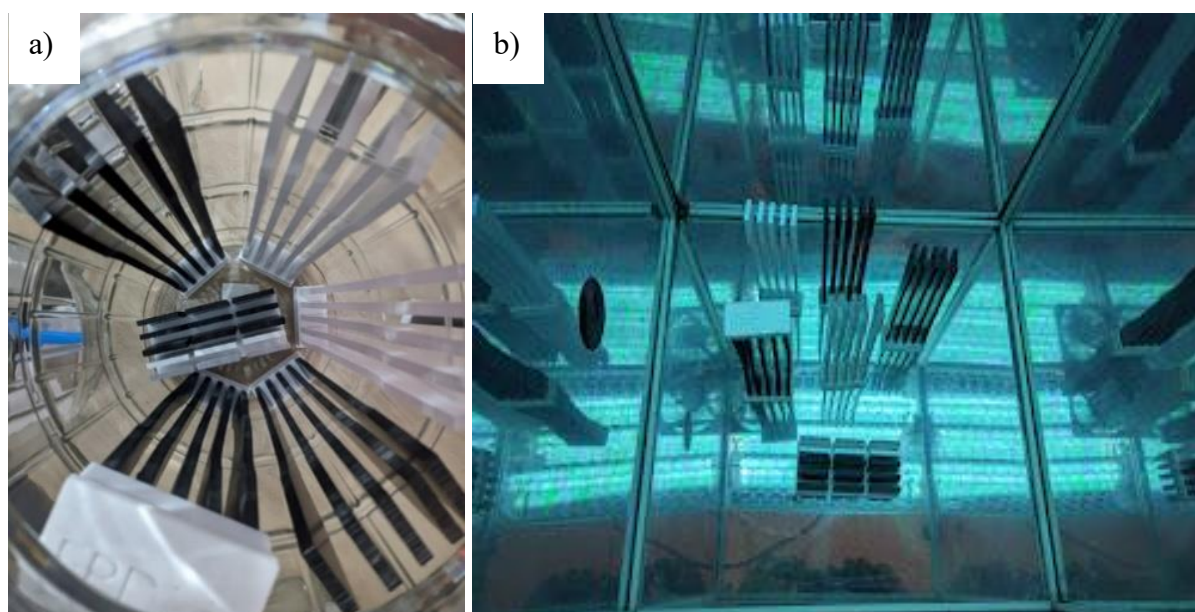
Rys. 15. a) Próbkki do statycznej próby rozciągania umieszczone w uchwycie, b) sposób identyfikacji próbek przy pomocy dedykowanych uchwytów

Przygotowane próbki zostały poddane ekspozycji przez 8 dni na badane metody dezynfekcji:

- grupa 1: dezynfekcja z wykorzystaniem promieniowania UV-C. Wykorzystano lampę UV-C marki Lena Lightning model sterilon 108W, lampa wyposażona była w trzy świetlówki o mocy 36W każda. Próbki zostały umieszczone w specjalnie przygotowanej komorze, której ścianki zostały wyklejone folią lustrzaną tak, by odbijać promieniowanie, dzięki czemu próbki były narażone na ekspozycję promieniowania z każdej strony, dodatkowo komora była wentylowana żeby zniwelować wpływ wzrostu temperatury w komorze na próbki,
- grupa 2: dezynfekcja z wykorzystaniem ozonu, próbki zostały umieszczone w naczyniu, do którego wtłaczany był ozon generowany przez ozonator marki Korona Ozon model Zdrowa Żywność, którego wydajność produkcji ozonu wynosi 3000 mg/h, ze względu na degradację ozonu, co 30 minut ozonator włączał się i ozon w naczyniu był wymieniany,
- grupa 3: dezynfekcja 35% roztworem nadtlenku wodoru. Próbki zostały umieszczone w naczyniu, które zostało wypełnione roztworem,
- grupa 4: dezynfekcja 15% roztworem kwasu nadoctowego. Próbki zostały umieszczone w naczyniu, które zostało wypełnione roztworem,

- grupa 5: próbki kontrolne, przechowywane w warunkach bez ekspozycji na powyższe metody dezynfekcji.

Fotografie z przebiegu eksperymentów zostały przedstawione na Rys. 16 oraz Rys. 17.



Rys. 16. a) Przykładowe umieszczenie próbek w naczyniu, b) komora naświetlania promieniowaniem UV-C i umieszczone w niej próbki

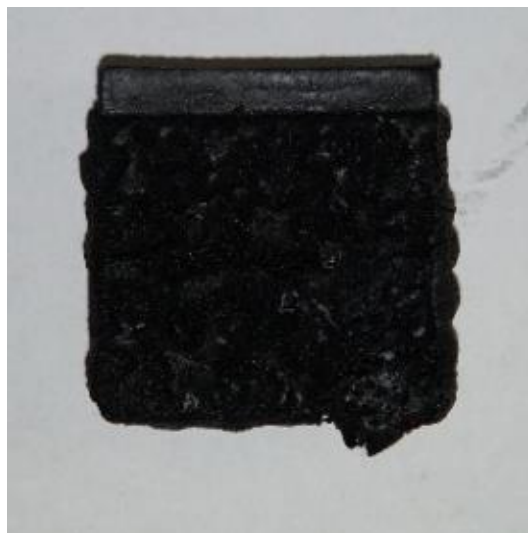


Rys. 17. Stanowisko eksperymentalne do symulacji wpływu metod dezynfekcji na próbki wykonane z tworzyw sztucznych

Po ekspozycji próbki zostały umyte w wodzie dejonizowanej, dzięki temu zakończona została ekspozycja na metody dezynfekcyjne. Próbki zostały przetransportowane do laboratorium, gdzie zostały poddane próbie statycznego rozciągania na maszynie Instron 3384.

4.4. Wyniki eksperymentu sprawdzającego wytrzymałość mechaniczną materiałów po wielokrotnym procesie dezynfekcji

Przedstawione wyniki zawierają dane z wykonania prób wytrzymałościowych dla 120 próbek, ponieważ 5 próbek wykonanych z materiału EPDM poddanych ekspozycji roztworu kwasu nadoctowego zdegradowało w stopniu uniemożliwiającym wykonanie jakichkolwiek badań, co zostało przedstawione na Rys. 18.

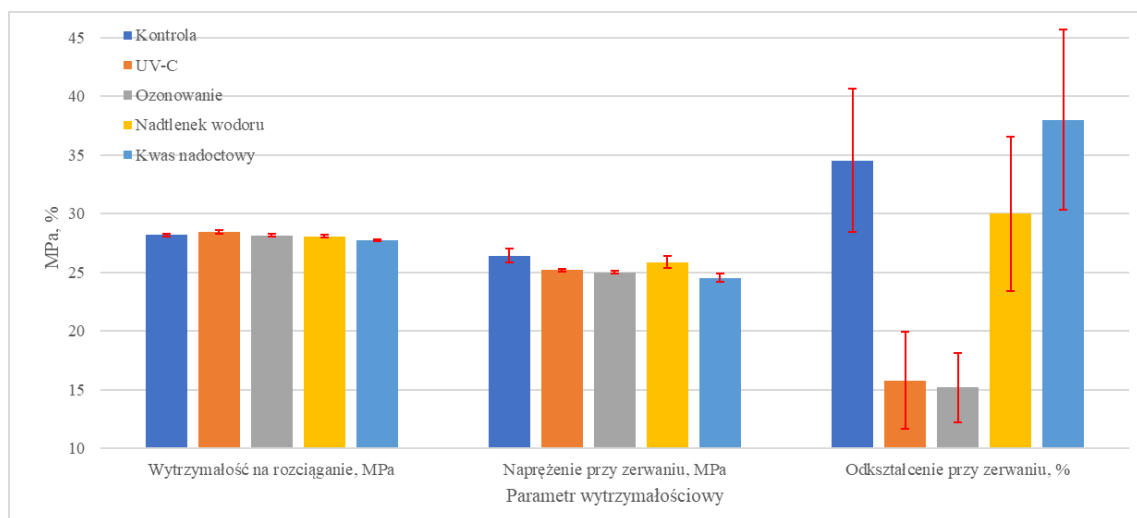


Rys. 18. Próbką materiału EPDM wystawiona na ekspozycję kwasu nadoctowego

W Tab. 7 zaprezentowane zostały wyniki dla próbek wykonanych z materiału ABS natomiast wykres słupkowych wraz z zaznaczonym błędem standardowym przedstawiony został na Rys. 19.

Tab. 7. Wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału ABS

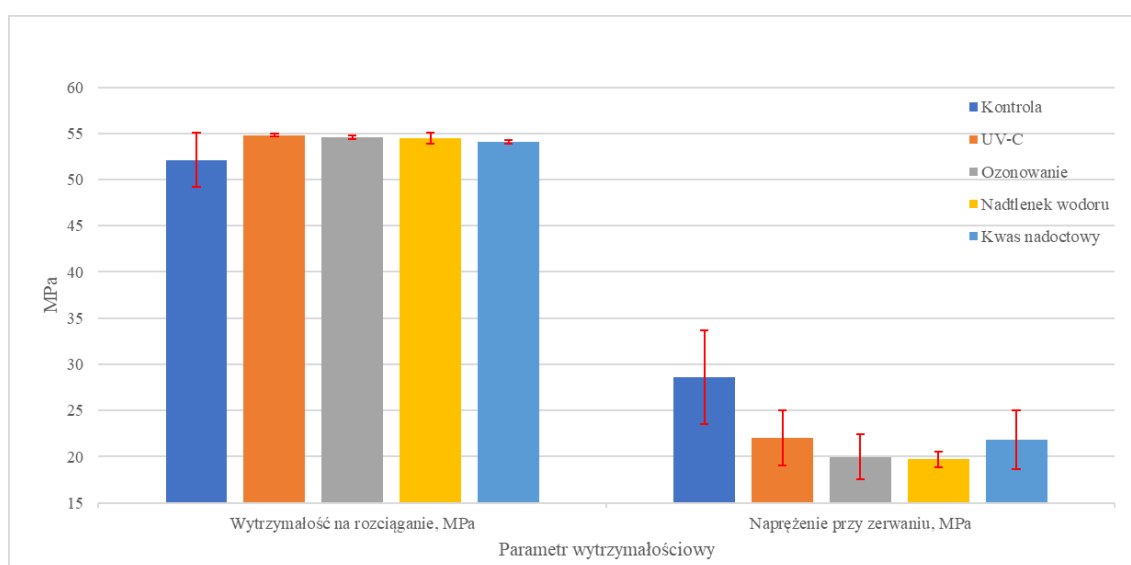
Metoda dezynfekcji	Kontrola		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	28,2	28,0	28,2	28,3	28,2	28,2	0,1
		Napężenie przy zerwaniu, Mpa	25,7	27,1	26,6	26,9	26,0	26,4	0,6
		Odczkształcenie przy zerwaniu, %	28	40	35	41	28,7	34,5	6,1
	UV-C		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	28,3	28,4	28,5	28,6	28,3	28,4	0,1
		Napężenie przy zerwaniu, Mpa	25,2	25,2	25,4	25,0	25,2	25,2	0,1
		Odczkształcenie przy zerwaniu, %	19,0	15,0	19,0	9,0	17,0	15,8	4,1
	Ozonowanie		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	27,9	28,3	28,2	28,1	28,3	28,2	0,1
		Napężenie przy zerwaniu, Mpa	24,9	25,1	24,9	25,1	25,0	25,0	0,1
		Odczkształcenie przy zerwaniu, %	16,0	16,0	17,0	10,0	17,0	15,2	2,9
	Nadtlenek wodoru		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	28,1	27,9	28,2	28,2	28,1	28,1	0,1
		Napężenie przy zerwaniu, Mpa	25,3	25,6	25,6	26,5	26,3	25,9	0,5
		Odczkształcenie przy zerwaniu, %	23,0	26,0	27,0	37,0	37,0	30,0	6,6
	Kwas nadoctowy		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	27,8	27,7	27,7	27,8	27,8	27,7	0,1
		Napężenie przy zerwaniu, Mpa	24,8	24,4	24,0	24,9	24,6	24,5	0,3
		Odczkształcenie przy zerwaniu, %	41,0	35,0	50,0	31,0	33,0	38,0	7,7



Rys. 19. Wykres słupkowy prezentujący wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału ABS

Średnia wytrzymałość na rozciąganie próbek wykonanych z materiału ABS, należących do grupy kontrolnej była na poziomie 28,2 MPa, przy niewielkim odchyleniu standardowym wynoszącym 0,1 MPa, co świadczy o wysokiej powtarzalności pomiarów. Średnie naprężenie przy zerwaniu wyniosło 26,4 MPa, z odchyleniem standardowym równym 0,6 MPa. Z kolei odkształcenie przy zerwaniu osiągnęło wartość średnią 34,5%, przy stosunkowo większym rozrzucie wyników, o czym świadczy odchylenie standardowe na poziomie 6,1. Widoczny jest wpływ metod dezynfekcji na materiał, w przypadku wytrzymałości na rozciąganie wpływ ekspozycji na metody dezynfekcji badane w doktoracie był znikomy, podobnie jak naprężenie przy zerwaniu próbek. Znaczący wpływ można zaobserwować przy odkształceniu przy zerwaniu. Próbkę, które wystawione były na ekspozycję promieniowania UV-C oraz ozonu mają widocznie niższe wyniki dla tego parametru.

Wyniki dla próbek wykonanych z materiału PETG zostały zaprezentowane w Tab.8 oraz na wykresie na Rys. 20.



Rys. 20. Wykres słupkowy prezentujący wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PETG

Tab. 8. Wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PETG

Metoda dezynfekcji	Kontrola		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	54,7	54,3	54,6	48,5	48,5	52,1	2,9
		Napężenie przy zerwaniu, MPa	26,11	25,7	24,9	27,8	38,5	28,6	5,1
		Odształcenie przy zerwaniu, %	26	111,0	96,0	193,0	272	139,6	84,9
	UV-C		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	54,5	54,9	54,9	54,7	55,0	54,8	0,2
		Napężenie przy zerwaniu, MPa	19,0	24,4	26,3	18,6	21,8	22,0	3,0
		Odształcenie przy zerwaniu, %	44,0	28,0	23,0	56,0	50,0	40,2	12,7
	Ozonowanie		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	54,3	54,7	54,5	54,6	54,8	54,6	0,2
		Napężenie przy zerwaniu, MPa	20,4	19,7	24,3	18,3	17,3	20,0	2,4
		Odształcenie przy zerwaniu, %	71,0	75,0	-	89,0	82,0	79,3	6,9
	Nadtlenek wodoru		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	54,3	55,6	53,9	54,3	54,3	54,5	0,6
		Napężenie przy zerwaniu, MPa	19,3	20,5	20,4	20,0	18,3	19,7	0,8
		Odształcenie przy zerwaniu, %	-	42,0	74,0	49,0	56,0	55,3	11,9
	Kwas nadoctowy		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	54,0	54,5	54,0	54,0	54,1	54,1	0,2
		Napężenie przy zerwaniu, MPa	17,3	24,0	-	24,1	-	21,8	3,2
		Odształcenie przy zerwaniu, %	38,0	29,0	-	45,0	-	37,3	6,5

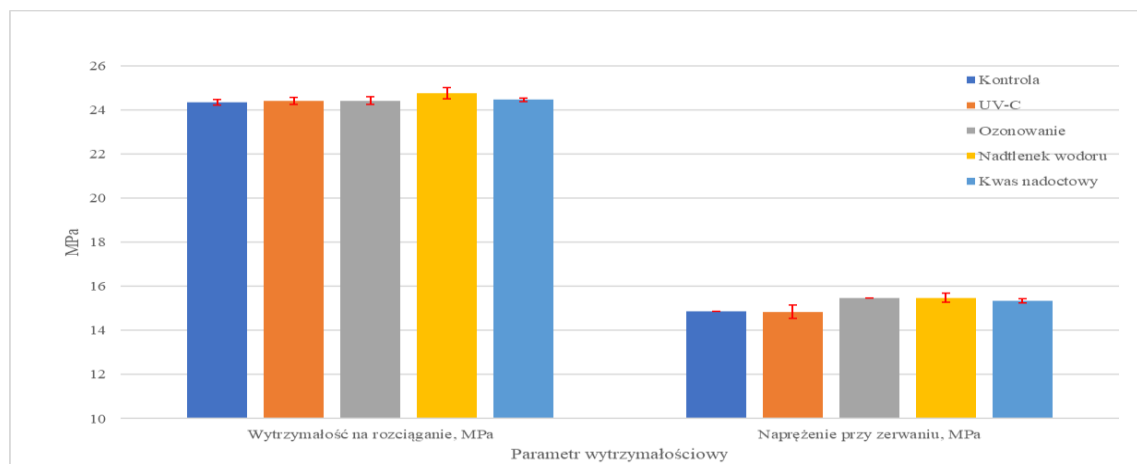
W przypadku tego materiału, ze względu na znaczny rozrzut wartości odkształcenia przy zerwaniu, parametr ten nie został uwzględniony na wykresie słupkowym. Uwzględnienie tych danych w wizualizacji prowadziło do zniekształcenia skali wykresu, co utrudniało porównanie pozostałych wyników oraz ich właściwą interpretację. Zgodnie z zasadami przejrzystości prezentacji danych, wyniki dotyczące odkształcenia zostały przedstawione wyłącznie w tabeli 8. W przypadku niektórych prób nie doszło do zerwania materiału, z tego powodu w niektórych komórkach tabeli wartości są zastąpione znakiem ‘-’.

Dla próbek kontrolnych wykonanych z materiału PETG wytrzymałość na rozciągania wyniosła około 52.1 MPa przy odchyleniu standardowym na poziomie 2.9, a napężenie przy zerwaniu około 28.6 MPa z odchyleniem standardowym 5.1, natomiast uśredniona wartość odkształcenia przy zerwaniu próbki kształtuje się na poziomie około 139%, w przypadku tego parametru rozbieżności są spore stąd odchylenie standardowe wyniosło 84.9. Wyniki tego badania nie wskazują na znaczący wpływ wielokrotnego procesu dezynfekcji na materiał PETG, wszystkie rozbieżności pomiędzy próbami mieszczą się w zakresie błędów pomiarowych.

Wyniki dla materiału PE zaprezentowane zostały w Tab. 9 oraz na Rys. 21.

Tab. 9. Wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PE

Metoda dezynfekcji	Kontrola		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	24,2	24,4	24,2	24,5	24,4	24,4	0,1
		Naprężenie przy zerwaniu, Mpa	-	-	14,9	-	-	14,9	0,0
		Odczkształcenie przy zerwaniu, %	-	-	313,0	-	-	313,0	0,0
	UV-C		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	24,5	24,5	24,5	24,1	24,5	24,4	0,2
		Naprężenie przy zerwaniu, Mpa	-	-	15,3	14,7	14,6	14,9	0,3
		Odczkształcenie przy zerwaniu, %	-	-	159,0	48,0	284,0	163,7	96,4
	Ozonowanie		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	24,5	24,7	24,5	24,2	24,3	24,4	0,2
		Naprężenie przy zerwaniu, Mpa	-	15,5	-	-	-	15,5	0,0
		Odczkształcenie przy zerwaniu, %	-	171,0	-	-	-	171,0	0,0
	Nadtlenek wodoru		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	25,0	24,7	24,8	24,3	25,0	24,8	0,3
		Naprężenie przy zerwaniu, Mpa	15,7	15,4	15,6	15,2	-	15,5	0,2
		Odczkształcenie przy zerwaniu, %	367,0	480,0	350,0	437,0	-	408,5	52,6
	Kwas nadoctowy		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	24,6	24,3	24,5	24,5	24,5	24,5	0,1
		Naprężenie przy zerwaniu, Mpa	15,5	-	-	15,2	-	15,3	0,1
		Odczkształcenie przy zerwaniu, %	309,0	-	-	319,0	-	314,0	5,0



Rys. 21. Wykres słupkowy prezentujący wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PE

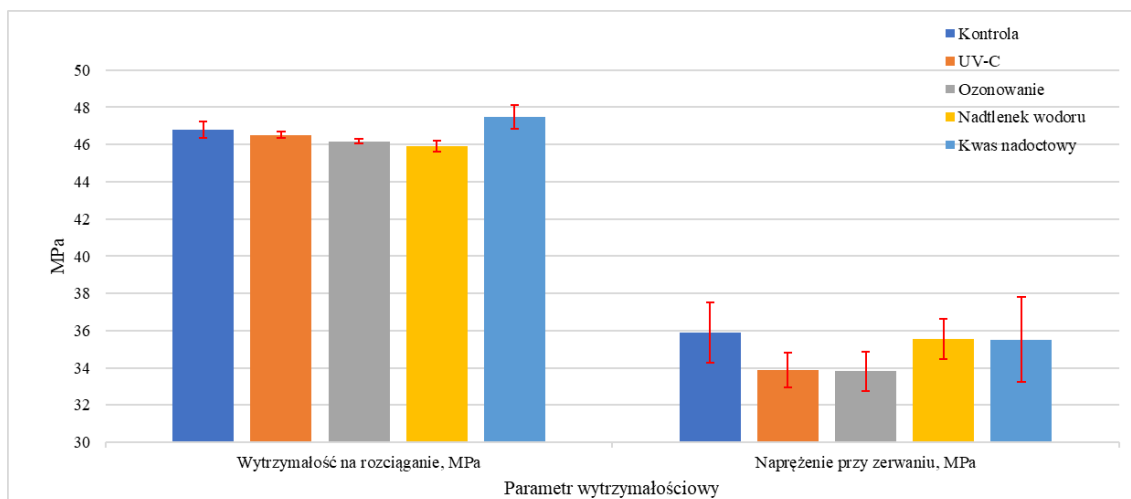
Średnia wytrzymałość na rozciąganie próbek wykonanych z materiału PE, należących do grupy kontrolnej była na poziomie 24.4 MPa, przy niewielkim odchyleniu standardowym wynoszącym 0,1 MPa, co świadczy o wysokiej powtarzalności pomiarów. W przypadku materiału PE również jak w przypadku materiału PETG nie zawsze dochodziło do zerwania próbek ze względu na jego wysoką elastyczność, stąd naprężenie przy zerwaniu próbek w przypadku kontroli bazuje na tylko jednym wyniku i wyniosło 14.9 MPa, natomiast odkształcenie przy zerwaniu wyniosło 313%. Podobnie jak w przypadku materiały PETG ze względu na duży rozrzut wyników dla parametrów związanych z zerwaniem próbki nie zostało zaprezentowane na wykresie odkształcenie przy zerwaniu.

Z otrzymanych wyników można wywnioskować, że materiał PE nie wykazał znaczącego wpływu metod dezynfekcji na parametry mechaniczne próbek.

Wyniki dla materiały PVC zaprezentowane zostały w Tab. 10 oraz na Rys. 22.

Tab. 10. Wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PVC

Metoda dezynfekcji	Kontrola		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	47,7	46,6	46,5	46,6	46,6	46,8	0,4
		Naprężenie przy zerwaniu, MPa	34,9	37,2	37,8	33,3	36,4	35,9	1,6
		Odkształcenie przy zerwaniu, %	78,5	159,0	167,0	121,0	157,0	136,5	33,0
	UV-C		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	46,5	46,8	46,4	46,7	46,3	46,5	0,2
		Naprężenie przy zerwaniu, MPa	32,6	35,3	34,4	33,3	33,7	33,9	0,9
		Odkształcenie przy zerwaniu, %	81,0	130,0	138,0	52,0	148,0	109,8	37,0
	Ozonowanie		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	46,351	46,2	46,2	46,1	46,0	46,2	0,1
		Naprężenie przy zerwaniu, MPa	32,65	32,9	33,3	35,0	35,3	33,8	1,1
		Odkształcenie przy zerwaniu, %	77	138,0	136,0	155,0	32,0	107,6	46,1
	Nadtlenek wodoru		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	46,1	46,2	45,5	46,0	45,7	45,9	0,3
		Naprężenie przy zerwaniu, MPa	35,5	36,9	36,7	34,3	34,5	35,6	1,1
		Odkształcenie przy zerwaniu, %	155,0	159,0	163,0	154,0	154,0	157,0	3,5
	Kwas nadoctowy		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	47,8	47,4	46,3	48,1	47,8	47,5	0,6
		Naprężenie przy zerwaniu, MPa	38,7	34,2	32,8	37,7	34,2	35,5	2,3
		Odkształcenie przy zerwaniu, %	166,0	125,0	149,0	150,0	125,0	143,0	15,9



Rys. 22. Wykres słupkowy prezentujący wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PVC

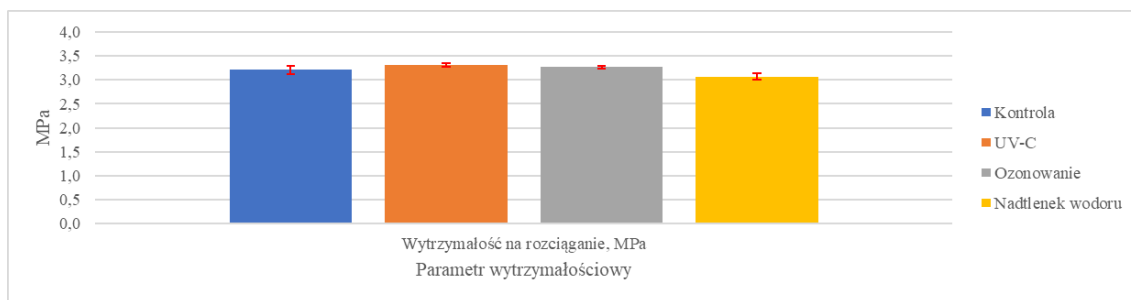
Dla grupy kontrolnej próbek wykonanych z materiału PVC wytrzymałość na rozciąganie wyniosła 46,8 MPa przy odchyleniu standardowy 0,4, napężenie przy zerwaniu wyniosło 35,9 MPa a odchylenie standardowe 1,6, natomiast odkształcenie przy zerwaniu wyniosło 136,5% przy odchyleniu standardowym na poziomie 33. Podobnie jak w przypadku poprzednich materiałów, tak i dla tego na wykresach zobrazowane zostały tylko wyniki dla wytrzymałości na rozciąganie oraz naprężenia przy zerwaniu ze względu na duży rozrzut wyników wynikający z dużej elastyczności materiału.

Analiza wyników pozwala stwierdzić, że wpływ ekspozycji materiału na badane metody dezynfekcji nie jest znaczący.

Wyniki dla materiału EPDM przedstawione zostały w Tab. 11 oraz na Rys. 23.

Tab. 11. Wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału EPDM

Metoda dezynfekcji	Kontrola		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, MPa	3,3	3,1	3,2	3,3	-	3,2	0,1
	UV-C		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	3,3	3,3	3,3	3,3	3,4	3,3	0,0
	Ozonowanie		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	3,3	3,2	3,2	3,3	3,3	3,3	0,0
	Nadtlenek wodoru		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	3,1	3,1	3,1	3,1	2,9	3,1	0,1
	Kwas nadoctowy		Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. stand.
		Wytrzymałość na rozciąganie, Mpa	Materiał nienadający się do prób						



Rys. 23. Wykres słupkowy prezentujący wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału EPDM

Żadna z próbek wykonana z materiału EPDM nie uległa zerwaniu podczas eksperymentu, dlatego zaprezentowane zostały tylko wyniki wytrzymałości na rozciąganie, dodatkowo jak zostało wcześniej wspomniane materiał ten po ekspozycji na kwas nadoctowy zdegradował w stopniu uniemożliwiającym przeprowadzenie jakichkolwiek eksperymentów wytrzymałościowych. Dla próby kontrolnej wytrzymałość na rozciąganie wyniosła 3,2 MPa przy odchyleniu standardowym na poziomie 0,1.

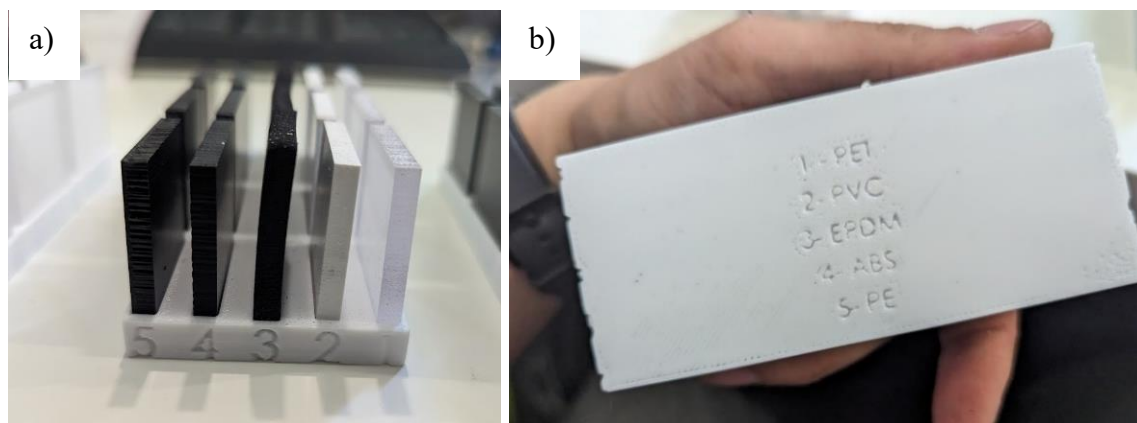
Wyniki tej próby nie wskazują na negatywny wpływ metod dezynfekcji poza dezynfekcją z wykorzystaniem kwasu nadoctowego na wytrzymałość mechaniczną próbek wykonanych z materiału EPDM.

4.5. Opis i przebieg eksperymentu sprawdzającego degradację struktury materiałów po długotrwałym kontakcie z środkami dezynfekcyjnymi

Przebieg symulacji wpływu wielokrotnego procesu dezynfekcji na degradację struktury tworzyw sztucznych przebiegał analogicznie do eksperymentu opisanego w podrozdziale 4.3. Próbkę o rozmiarach 30x30 mm i grubości 4 mm zostały wykonane z tych samych materiałów:

- poli(akrylonitryl-co-butadien-co-styren) (ABS) – 15 sztuk.
- politereftalan etylenu-glikol (PETG) – 15 sztuk,
- polietylen (PE) – 15 sztuk,
- poli(chlorek winylu) (PVC) – 15 sztuk,
- kauczuk etylenowo-propylenowo-dienowy (EPDM) – 15 sztuk.

Analogicznie do poprzedniego eksperymentu zostały również wykonane uchwyty na próbki, które pozwoliły na zachowanie odpowiednich odstępów między próbkami oraz ich identyfikację, próbki zostały poddane 8 dniowej ekspozycji na badane metody dezynfekcji, a następnie przeprowadzono badania makro oraz mikroskopowym, by zbadać wpływ dezynfekcji na degradację struktury materiałów. Fotografie przedstawiające próbki przedstawiono na Rys. 24.



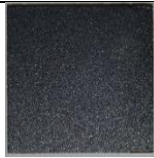
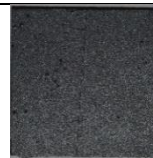
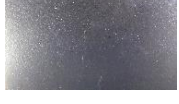
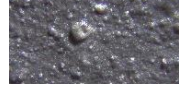
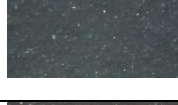
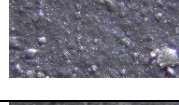
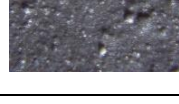
Rys. 24. a) Uchwyt na próbki zapewniający odstępy między próbkami, b) sposób identyfikacji próbek

4.6. Wyniki eksperymentu sprawdzającego degradację struktury materiałów po długotrwałym kontakcie z środkami dezynfekcyjnymi

Analiza wyników w przypadku eksperymentu sprawdzającego degradację struktury materiałów po symulacji wielokrotnego procesu dezynfekcji polegała na weryfikacji stanu struktury materiałów na podstawie wykonanych zdjęć makroskopowych, a także zdjęć wykonanych w powiększeniu 10-krotnym oraz 100-krotnym.

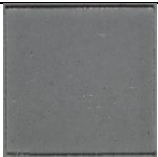
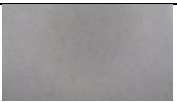
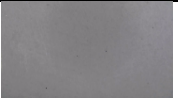
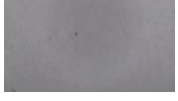
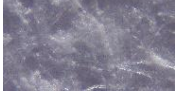
W Tab. 12 przedstawione zostały fotografie przedstawiające próbki wykonane z materiału ABS po ekspozycji na badane metody dezynfekcji oraz próbki kontrolne. W przypadku zdjęć wykonywanych bez powiększenia na próbkach po ekspozycji na promieniowanie UV-C, ozonowanie oraz roztwór nadtlenku wodoru nie widać żadnych zmian w strukturze materiału, w przypadku próbek, które poddane były działaniu kwasu nadoctowego widoczne są niewielkie defekty struktury przypominające pęcherze. Deformację struktury można dostrzec lepiej na zdjęciach w powiększeniu dziesięciokrotnym, a w powiększeniu stukrotnym można zauważyć, że deformacje struktury są względnie duże w porównaniu z pozostałymi próbkami, gdzie defekty nie zostały zlokalizowane.

Tab. 12. Przedstawienie wyników z eksperymentu sprawdzającego degradację struktury po wielokrotnym procesie dezynfekcji - materiał ABS

Materiał: ABS						
	lp	Kontrola	UV-C	Ozonowanie	Nadtlenek wodoru	Kwas nadoctowy
Fotografia	1					
	2					
	3					
Powiększenie X10	1					
	2					
	3					
Powiększenie X100	1					
	2					
	3					

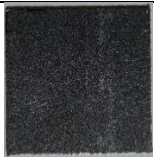
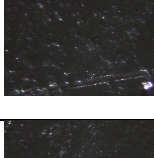
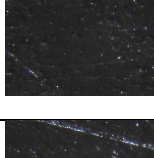
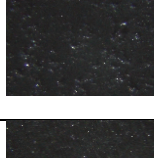
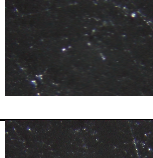
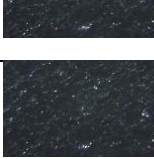
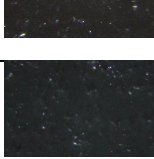
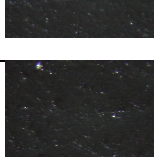
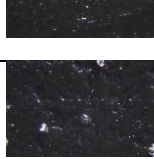
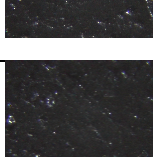
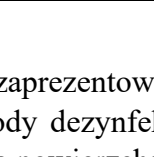
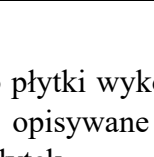
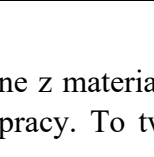
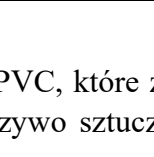
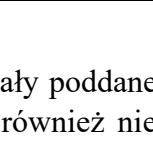
W Tab. 13 przedstawione zostały zdjęcia próbek wykonanych z materiału PETG, w przypadku tych próbek nie stwierdzono żadnych defektów struktury, które mogłyby w negatywny sposób wpływać na skuteczność dezynfekcji powierzchni.

Tab. 13. Przedstawienie wyników z eksperymentu sprawdzającego degradację struktury po wielokrotnym procesie dezynfekcji - materiał PETG

Materiał: PETG						
	lp	Kontrola	UV-C	Ozonowanie	Nadtlenek wodoru	Kwas nadoctowy
Fotografia	1					
	2					
	3					
Powiększenie x10	1					
	2					
	3					
Powiększenie x100	1					
	2					
	3					

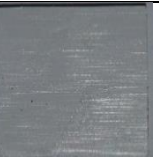
Zaprezentowane w Tab. 14 fotografie próbek wykonanych z materiału PE potwierdzają odporność materiału na badane metody dezynfekcji, żadna z próbek nie została uszkodzona przez metody dezynfekcji w sposób, który powodowałby występowanie defektów struktury na powierzchni próbek.

Tab. 14. Przedstawienie wyników z eksperymentu sprawdzającego degradację struktury po wielokrotnym procesie dezynfekcji - materiał PE

Materiał: PE						
	lp	Kontrola	UV-C	Ozonowanie	Nadtlenek wodoru	Kwas nadoctowy
Fotografia	1					
	2					
	3					
Powiększenie x10	1					
	2					
	3					
Powiększenie X100	1					
	2					
	3					

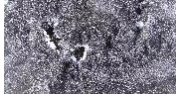
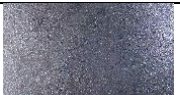
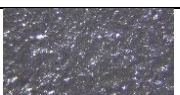
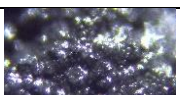
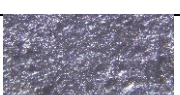
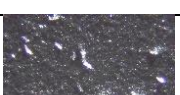
W Tab. 15 zaprezentowano płytki wykonane z materiału PVC, które zostały poddane ekspozycji na metody dezynfekcji opisywane w pracy. To tworzywo sztuczne również nie uległo degradacji na powierzchni płytek.

Tab. 15. Przedstawienie wyników z eksperymentu sprawdzającego degradację struktury po wielokrotnym procesie dezynfekcji - materiał PVC

Materiał: PVC						
	lp	Kontrola	UV-C	Ozonowanie	Nadtlenek wodoru	Kwas nadoctowy
Fotografia	1					
	2					
	3					
Powiększenie X10	1					
	2					
	3					
Powiększenie X100	1					
	2					
	3					

W Tab. 16 zaprezentowane zostały fotografie płytek wykonanych z materiału EPDM, materiał w przypadku ekspozycji na kwas nadoctowy zdegradował w stopniu bardzo wysokim, nienadającym się do jakichkolwiek dalszych prac. W przypadku ekspozycji na promieniowanie UV-C nie stwierdzono wystąpienia defektów struktury. Uszkodzenie powierzchni materiału stwierdzono dla materiałów poddanych ekspozycji na ozon oraz nadtlenek wodoru, zauważyć można powstawanie niewielkich pęcherzy na strukturze materiału w powiększeniu stukrotnym.

Tab. 16. Przedstawienie wyników z eksperymentu sprawdzającego degradację struktury po wielokrotnym procesie dezynfekcji - materiał EPDM

Materiał: EPDM						
	lp	Kontrola	UV-C	Ozonowanie	Nadtlenek wodoru	Kwas nadoctowy
Fotografia	1					
	2					
	3					
Powiększenie X10	1					
	2					
	3					
Powiększenie x100	1					
	2					
	3					

4.7. Podsumowanie rozdziału i wnioski

W dwóch eksperymentach przedstawionych w podrozdziałach 4.4 oraz 4.6 zweryfikowane zostały metody dezynfekcji pod kątem wpływu wielokrotnego procesu dezynfekcji na wybrane tworzywa sztuczne. Metody, które były analizowane to; dezynfekcja z wykorzystaniem promieniowania UV-C, dezynfekcja z wykorzystaniem ozonu, dezynfekcja roztworem nadtlenu wodoru oraz dezynfekcja roztworem kwasu nadoctowego. Materiały, które zostały przebadane to ABS, PVC, PE, PETG oraz EPDM. Pierwszym eksperymentem mającym na celu weryfikację wpływu metod dezynfekcji na wytrzymałość mechaniczną próbek była próba

statycznego rozciągania próbek wykonanych z tworzyw sztucznych. Analiza wykazała, że w przypadku badanych materiałów największą odpornością na metody dezynfekcji miały materiały; PETG, PE oraz PVC, w przypadku tych tworzyw sztucznych nie stwierdzono znaczącego wpływu wielokrotnego procesu dezynfekcji na wytrzymałość mechaniczną próbek.

W drugim eksperymencie analizowany był stan struktury powierzchni materiału po wielokrotnym procesie dezynfekcji. Eksperyment wykazał, że niektóre metody dezynfekcji mają znaczący wpływ na degradację powierzchni materiałów, zmiany w strukturze zaobserwowano dla materiałów EPDM oraz ABS, co pokrywa się z eksperymentem sprawdzającym wytrzymałość mechaniczną.

Po analizie wyników wytypowane zostały jako odporne na proponowane metody dezynfekcji materiały: PETG, PVC oraz PE, ponieważ były one odporne na wszystkie proponowane metody dezynfekcji. Na podstawie porównania wyników eksperymentów dotyczących skuteczności dezynfekcji oraz degradacji materiałów, a także analizy zagadnień związanych z integracją metod dezynfekcji i ich wpływem na zwierzęta hodowlane, do dalszych badań wytypowano materiały PETG, PVC i PE oraz dezynfekcję z wykorzystaniem roztworu nadtlenu wodoru.

5. Wpływ sposobu regulacji natężenia przepływu na straty energii w układzie pompowym

5.1. Opis problemu badawczego

Metoda pobierania próbek wody do wykrywania patogenów w akwakulturze z założeń projektowych powinna być automatyczna oraz bezinwazyjna. Stworzony system pobierania próbek ma pracować w Recyrkulacyjnym Systemie akwakulturowym, który w perspektywie lat ma stać się zastępstwem dla konwencjonalnej hodowli akwakultury na świecie. Żeby taki system mógł upowszechnić się koniecznym jest, by jak najmniej wpływał on na środowisko, a także powinien być odporny na wpływ warunków zewnętrznych takich jak zmiany klimatyczne. Zapewnienie oszczędnej pracy pod względem energetycznym jest kluczowe, dlatego każdy, nawet najmniejszy element systemu musi być energooszczędny, stąd element układu jakim miałby być system do pobierania próbek wody musi być pod tym względem jak najbardziej nieinwazyjny i nisko kosztowy.

Założeniem projektu była możliwość włączenia się w układ recyrkulacyjny działającego systemu, żeby umożliwić w prosty sposób ulepszenie działania systemu hodowli, a sama aparatura ma być niedroga i niezawodna, dlatego układ pobierania próbek ma być integralną częścią już istniejącego systemu pompowo-filtrującego. Aparatura miałaby być zintegrowana z systemem z użyciem by-passu, gdzie główny obieg wody zostałby zachowany, a część wody miałaby trafiać do układu pobierania próbek. Drugą koncepcją jest wyposażenie istniejącego systemu w dodatkową pompę, która miałaby zasilać układ pobierania próbek bezpośrednio, w tym przypadku koniecznym byłoby dobranie wydajności pompy lub możliwości sterowania jej natężeniem przepływu w sposób najkorzystniejszy energetycznie. Pompa taka musiałaby być pompą standardowo wykorzystywaną w konkretnym systemie akwakulturowym ze względu na stosowanie koncepcji lean management, żeby nie było konieczności magazynowania zapasowej pompy w razie awarii tylko na potrzeby systemu pobierania próbek [103].

Opisane zagadnienie wymagało przeprowadzenia eksperymentów mających na celu wyłonienie najbardziej odpowiedniej metody regulacji przepływu w układzie pompowym recyrkulacyjnego systemu akwakulturowego. Kluczowym elementem była możliwość regulacji natężenia przepływu wody przez układ pobierania próbek w sposób, który będzie w jak najmniejszym stopniu wpływał na zużycie energii. Regulację natężenia przepływu wody przez układ zasilany pompą wirnikową (stosowane w systemach typu RAS) można przeprowadzić na kilka sposobów:

- sterowanie częstotliwością zasilania pompy wirnikowej,
- regulacja mocy zasilania pompy wirnikowej,
- częściowe dławienie przepływu wody na układzie by-pass za pomocą zaworów.

Ze względu na wysoki koszt układu sterowania częstotliwościowego ten typ regulacji został wyeliminowany, pozostałe dwie metody były analizowane oraz zostały sprawdzone pod kątem strat energii. W eksperymencie sprawdzone zostały następujące sposoby:

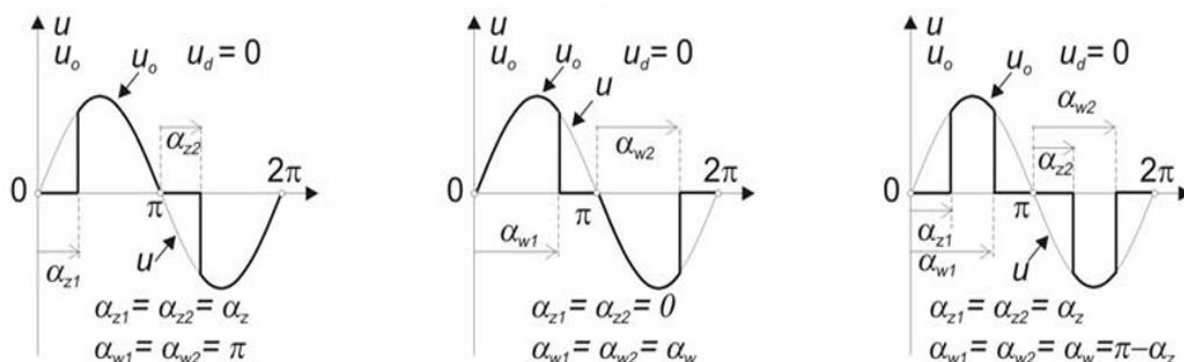
- regulacja natężenia przepływu z wykorzystaniem regulatora mocy,
- regulacja natężenia przepływu poprzez częściowe dławienie układu z wykorzystaniem zaworu kulowego,

- regulacja natężenia przepływu poprzez częściowe dławienie układu z wykorzystaniem zaworu gilotynowego.

W przypadku regulacji natężenia przepływu z wykorzystaniem regulatora mocy sterowanie mocą może odbywać się standardowo na trzy sposoby ze względu na sposób wyzwalania tyrystorów w sterownikach [104]:

- sterowanie fazowe (do płynnej regulacji napięcia odbiornika),
- sterowanie integracyjne impulsowe,
- sterowanie kluczowe.

Wykorzystany w badaniu został sposób sterowania fazowego, które polega na zmianie fazy impulsów wyzwalających względem napięcia anodowego tyrystora. Symetryczne sterowanie fazowe jest wykorzystywane głównie do regulacji w elektrotermii, w technice oświetlenia oraz napędach elektrycznych do napięciowej regulacji prędkości obrotowej silników komutatorowych prądu przemiennego oraz jako układ łagodnego rozruchu indukcyjnego dużej mocy [104]. Na Rys. 25 przedstawiono schematycznie sposób sterowania fazowego symetrycznego.

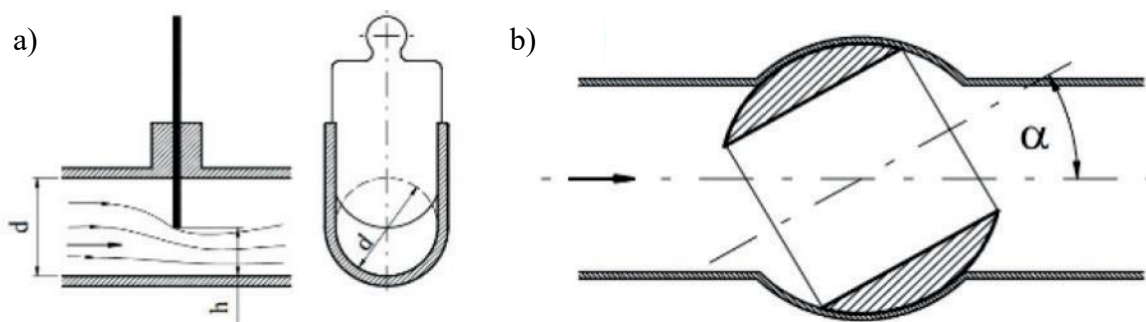


Rys. 25. Schematyczne przedstawienie sposobów sterowania fazowego symetrycznego; u – sinusoidalne napięcie zasilające, u_o – napięcie na odbiorniku, U_d – wartość średnia napięcia u_o liczona za pół okresu

W przypadku sposobu regulacji natężenia przepływu za pomocą częściowego dławienia zaworów straty energii wynikają z tego, że przypadku wystąpienia jakiejkolwiek przeszkody, która wywoła zmianę kierunku przepływu lub jego części, dojdzie do wystąpienia strat energii większych niż w przypadku przepływu przez prostą rurę. Przepływ wody przez zawory i złączki powoduje zaburzenie przepływu powodując spadek ciśnienia, na który składają się [105]:

- spadek ciśnienia na samym zaworze,
- spadek ciśnienia w orurowaniu przed zaworem – większy niż ten występujący w rurze bez przeszkód,
- spadek ciśnienia w rurociągu wylotowym – większy niż ten występujący w rurze bez przeszkód.

Na rys. 26 przedstawiono sposób regulacji przepływu poprzez częściowo zamknięte zawory a) gilotynowy, b) kulowy [106]:

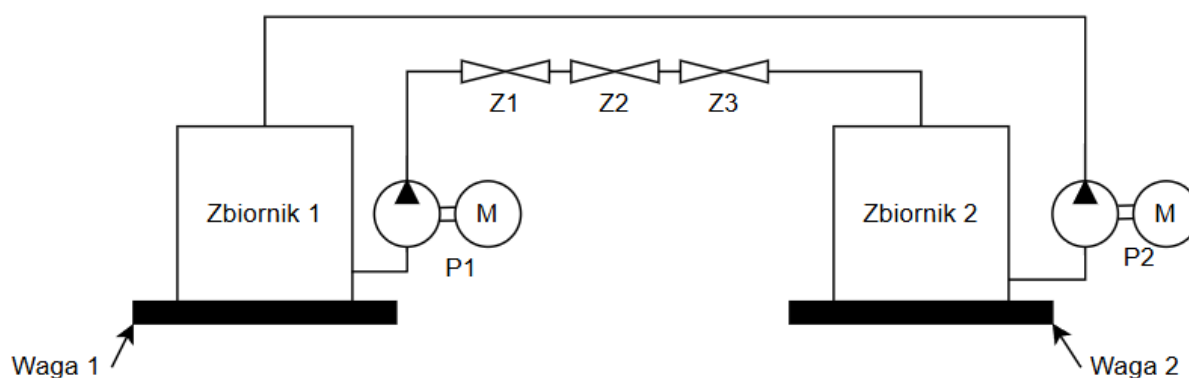


Rys. 26. sposób regulacji przepływu przez częściowo zamknięte zawory a. gilotynowy, b. kulowy [106]

Efektem badań miał być wybór najbardziej efektywnej metody regulacji natężenia przepływu.

5.2. Opis eksperymentu oraz procedura badań

Eksperyment przeprowadzony został z wykorzystaniem stanowiska symulującego uproszczony recyrkulacyjny system akwakulturowy, którego schemat przedstawiony został na Rys. 27.

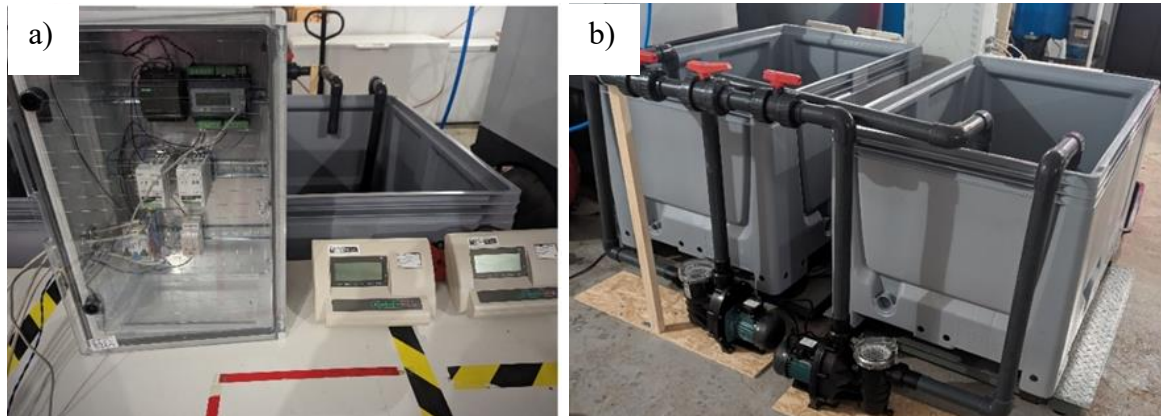


Rys. 27. Schemat stanowiska symulującego uproszczony recyrkulacyjny system akwakulturowy

Stanowisko składało się z następujących elementów:

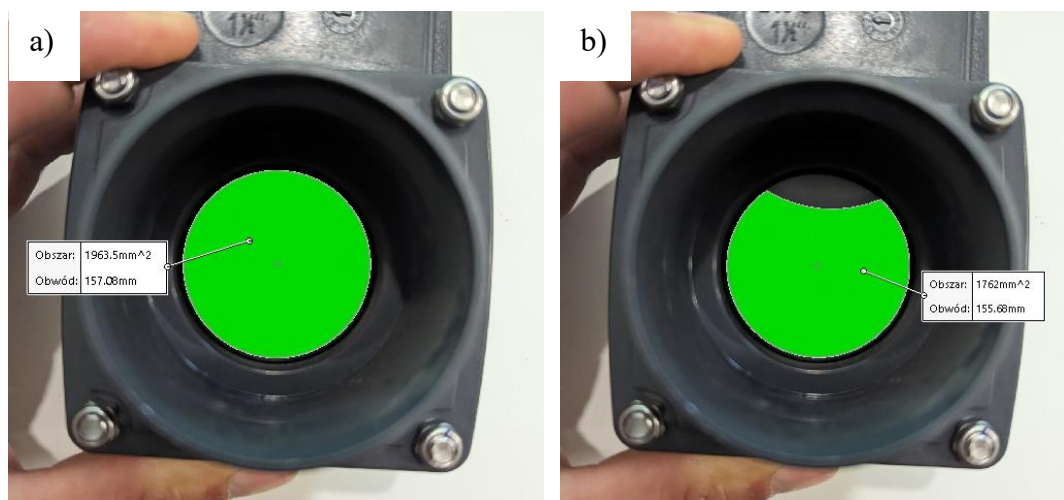
- dwóch zbiorników wykonanych z polipropylenu o wymiarach wewnętrznych 111x71x61 cm i pojemności 535 litrów każdy.
- zbiorniki zostały umieszczone na wagach platformowych o maksymalnym obciążeniu 1500 kg i działce odczytowej 200 g.
- dwóch pompy wirnikowych Hydro-S SS020 o mocy 280 W każda
- dwóch zaworów kulowych wykonanych z PVC-U Profec Safe 600 (średnica 50 mm) Z1 oraz Z3, które pozwalają na sprawną wymianę zaworu Z2
- zawór Z2 jest zaworem, który był badany:
 - Zawór kulowy Profec Safe 600 (średnica 50 mm)
 - Zawór gilotynowy Profec type 8000 (średnica 50 mm)
- połączenie poszczególnych elementów układu zostały wykonane z rur oraz kolan klejonych wykonanych z PVC-U o średnicy 50 mm

- sterownik mocy do zmiany wydajności pompy Lumel RP7
- analizator parametrów sieci elektrycznej NR30IoT 1222MQUO



Rys. 28. Zdjęcia stanowiska pomiarowego, a) część pomiarowa układu, b) zbiorniki wraz z pompami, zaworami oraz orurowaniem

Sposób przeprowadzania pomiaru przedstawiał się następująco; jeden ze zbiorników został napełniony około 450 litrami wody, wagi były tarowane, a następnie włączana była pompa, która przepompowywała wodę ze zbiornika 1 do zbiornika 2 poprzez rury, na których zamontowany był zawór Z2. W przypadku zaworu kulowego, przy każdej kolejnej serii pomiarów zawór był zamykany o konkretny kąt tj. 0° , 15° , 30° , 45° , 60° , w przypadku zaworu gilotynowego był on zamykany o konkretną wysokość tj. 0 mm, 11.5 mm, 21.5 mm, 31.5 mm, 36.5 mm. Stopień wychylenia dźwigni zaworu w przypadku zaworu kulowego oraz wysokość otwarcia zaworu gilotynowego zostały przeliczone na stopień otwarcia zaworów z wykorzystaniem oprogramowania typu CAD, wykonane zostały fotografie zaworów w każdej pozycji i policzony został przekrój poprzeczny, przez który woda przepływała przy zaworach częściowo zdławionych. Wartości pomiarowe wynikają z przybliżenia w programie, nie są to rzeczywiste wymiary, analiza miała na celu wyrażenie stopnia otwarcia zaworu. Sposób przeprowadzenia obliczeń przedstawiony został na Rys. 29, a wyniki pomiarów i obliczeń w Tab. 17.



Rys. 29. Sposób pomiaru stopnia otwarcia zaworu, a - zawór w pełni otwarty, b - zawór częściowo zamknięty

Tab. 17. Obliczenia rzeczywistego stopnia otwarcia zaworu dla zaworów; kulowego, gilotynowego

Typ zaworu	Stopień otwarcia zaworu	Pole powierzchni otwartej części zaworu, mm ²	Wyznaczony stopień otwarcia zaworu
Zawór kulowy	0 stopni	1963,5	100%
	15 stopni	1408,5	72%
	30 stopni	924,1	47%
	45 stopni	483,3	25%
	60 stopni	132,3	7%
Zawór gilotynowy	wyhylenie 51.5 mm	1963,5	100%
	wyhylenie 40 mm	1762,0	90%
	wyhylenie 30 mm	1244,9	63%
	wyhylenie 20 mm	630,4	32%
	wyhylenie 15 mm	298,9	15%

Po przepompowaniu około 300 litrów wody odczytywany był pomiar z wag, a następnie uśredniany. W przypadku pomiaru zużycia energii z wygenerowanego wykresu wybierany był okres pracy pompy, a następnie wykres był całkowany z częstotliwością próbkowania na poziomie 1 sekundy. Dla części eksperymentu związanej ze sterownikiem mocy zawory Z1, Z2, Z3 były w pełni otwarte, regulacja sterownikiem mocy odbywała się za pomocą wygenerowanego sygnału PWM (modulacja szerokości impulsów), wykonane zostały pomiary dla wypełnienia sygnału 100%, 85%, 75%, 65%, 55%. Przepompowanie jałowe ze zbiornika 2 do zbiornika 1 odbywało się bez pomiaru. Każdy pomiar powtórzony został 5-krotnie dla uzyskania odpowiedniej statystyki.

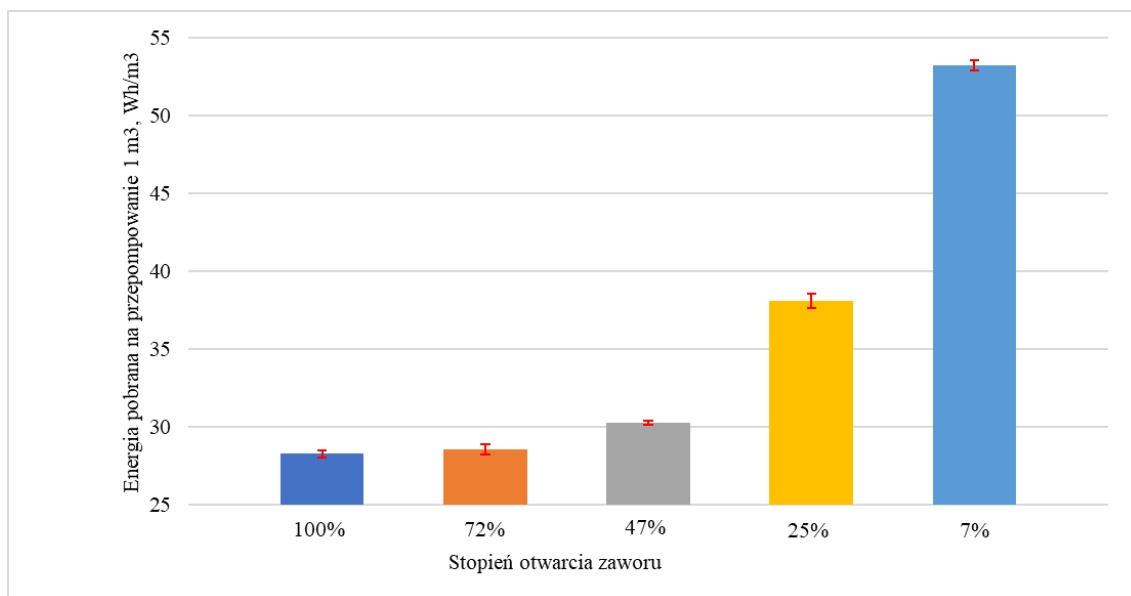
5.3. Wyniki eksperymentu

W Tab. 18 zaprezentowane zostały wyniki eksperymentu dla zaworu kulowego. Przedstawione zostały pomiary w jednostkach mierzonych podczas prowadzenia eksperymentu, zostały one również przeliczone na jednostki lepiej obrazujące wyniki. Rezultaty dla poszczególnych parametrów zostały uśrednione i wykorzystane do dalszej analizy.

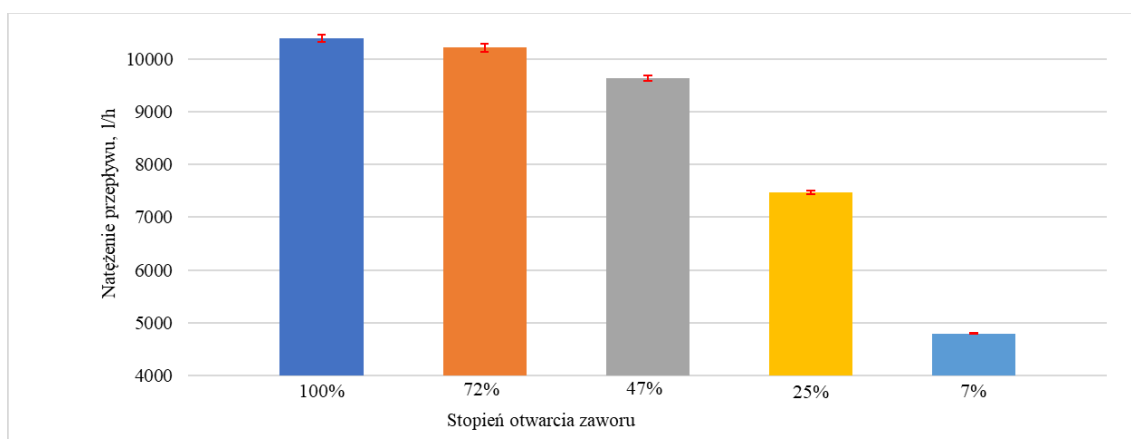
Tab. 18. Wyniki eksperymentu dla zaworu kulowego

Zawór kulowy - otwarty							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Stopień otwarcia zaworu 100%							
Energia pobrana, Ws	39713,6	39360,0	39022,7	38600,9	39215,1	39182,5	368,4
Energia pobrana, Wh	11,0	10,9	10,8	10,7	10,9	10,9	0,1
Czas pompowania, s	133	133	134	132	135	133,4	1,02
Przepompowana woda, l	385,5	384,4	383,4	384,0	386,3	384,7	1,0
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	28,6	28,4	28,3	27,9	28,2	28,3	0,2
Natężenie przepływu, l/s	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	0,0
Natężenie przepływu, l/h	10434,6	10404,8	10300,3	10472,7	10301,3	10382,8	70,3
Zawór kulowy - 15 stopni							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Stopień otwarcia zaworu 64%							
Energia pobrana, Ws	40264,2	39460,4	38705,4	39626,5	38808,1	39372,9	571,1
Energia pobrana, Wh	11,2	11,0	10,8	11,0	10,8	10,9	0,2
Czas pompowania, s	136	134	134	136	135	135,0	0,89
Przepompowana woda, l	387,5	381,3	383,4	381,9	380,3	382,9	2,5
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	28,9	28,7	28,0	28,8	28,3	28,6	0,3
Natężenie przepływu, l/s	2,8	2,8	2,9	2,8	2,8	2,8	0,0
Natężenie przepływu, l/h	10257,4	10243,9	10300,3	10109,1	10141,3	10210,4	72,7
Zawór kulowy - 30 stopni							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Stopień otwarcia zaworu 36%							
Energia pobrana, Ws	41427,3	41662,4	41658,6	41534,9	41630,6	41582,8	90,4
Energia pobrana, Wh	11,5	11,6	11,6	11,5	11,6	11,6	0,0
Czas pompowania, s	143	142	142	142	144	142,6	0,8
Przepompowana woda, l	380,7	381,0	380,1	382,6	383,3	381,5	1,2
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	30,2	30,4	30,4	30,2	30,2	30,3	0,1
Natężenie przepływu, l/s	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	0,0
Natężenie przepływu, l/h	9584,1	9659,2	9636,3	9699,7	9582,5	9632,4	44,9
Zawór kulowy - 45 stopni							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Stopień otwarcia zaworu 26%							
Energia pobrana, Ws	52749,3	53081,2	51167,0	52329,5	52433,8	52352,2	648,2
Energia pobrana, Wh	14,7	14,7	14,2	14,5	14,6	14,5	0,2
Czas pompowania, s	185	184	182	184	184	183,8	1,0
Przepompowana woda, l	383,0	381,8	381,5	380,4	381,7	381,7	0,8
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	38,3	38,6	37,3	38,2	38,2	38,1	0,5
Natężenie przepływu, l/s	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	2,1	0,0
Natężenie przepływu, l/h	7453,0	7470,0	7546,2	7443,2	7468,0	7476,1	36,4
Zawór kulowy - 60 stopni							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Stopień otwarcia zaworu 7%							
Energia pobrana, Ws	74174,3	72902,8	73169,4	73138,2	72765,6	73230,1	495,3
Energia pobrana, Wh	20,6	20,3	20,3	20,3	20,2	20,3	0,1
Czas pompowania, s	287	286	287	287	286	286,6	0,5
Przepompowana woda, l	382,4	382,4	382,1	381,4	380,9	381,8	0,6
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	53,9	53,0	53,2	53,3	53,1	53,3	0,3
Natężenie przepływu, l/s	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	1,3	0,0
Natężenie przepływu, l/h	4796,7	4813,4	4792,9	4784,1	4794,5	4796,3	9,6

Wizualizacje powyższych danych zostały przedstawione w formie wykresów słupkowych na Rys. 30 oraz Rys. 31.



Rys. 30. Wykres prezentujący energię pobraną na przepompowanie 1 m³ wody dla różnych stopni otwarcia zaworu kulowego

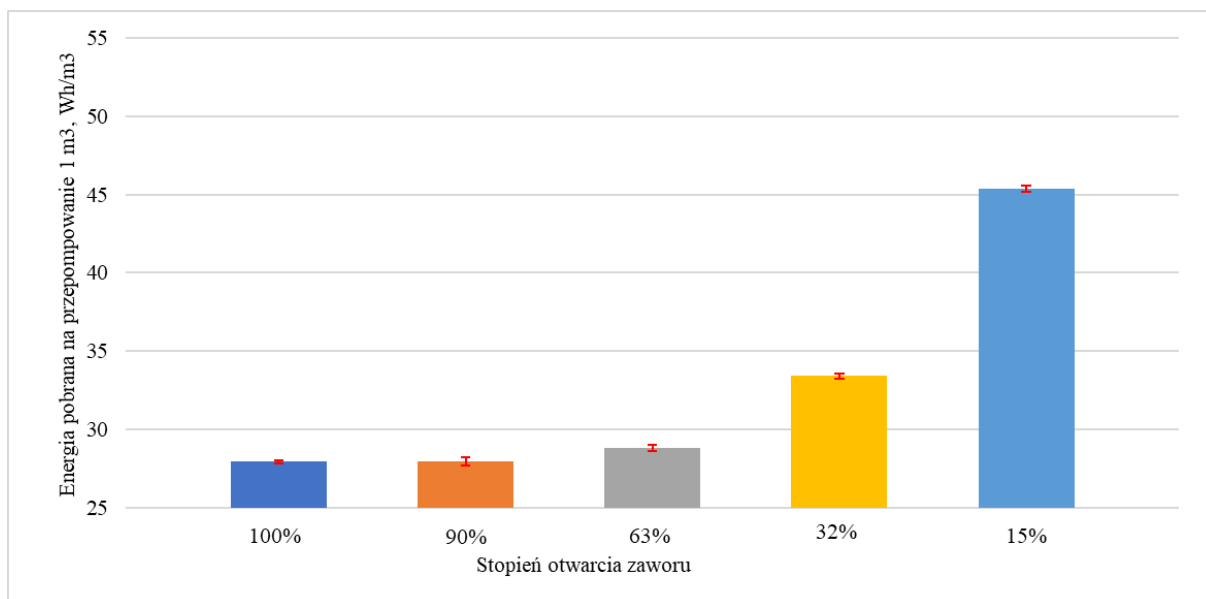


Rys. 31. Wykres prezentujący natężenie przepływu dla różnych stopni otwarcia zaworu kulowego

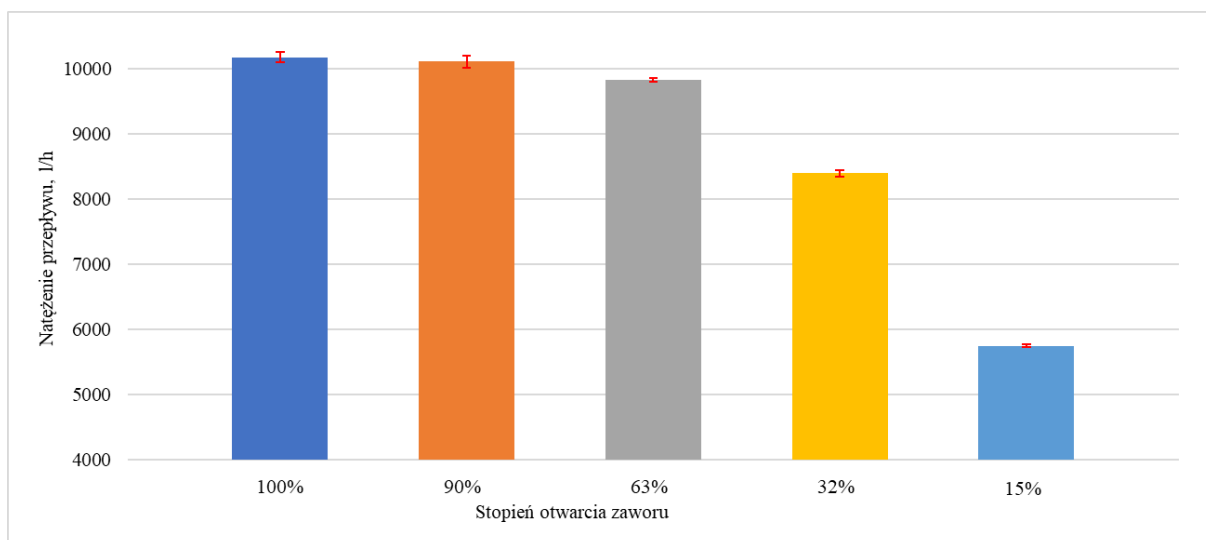
Analogiczne do wyników dla zaworu kulowego w Tab. 19 oraz na Rys. 32 i Rys. 33 przedstawione zostały wyniki dla zaworu gilotynowego.

Tab. 19. Wyniki eksperymentu dla zaworu gilotynowego

Zawór gilotynowy - otwarty							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Stopień otwarcia zaworu 100%							
Energia pobrana, Ws	35527,1	35243,0	35637,4	35487,2	35547,1	35488,3	132,2
Energia pobrana, Wh	9,9	9,8	9,9	9,9	9,9	9,9	0,0
Czas pompowania, s	125	123	125	125	126	124,8	0,98
Przepompowana woda, l	352,2	353,0	353,2	352,8	353,6	353,0	0,5
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	28,0	27,7	28,0	27,9	27,9	27,9	0,1
Natężenie przepływu, l/s	2,8	2,9	2,8	2,8	2,8	2,8	0,0
Natężenie przepływu, l/h	10143,4	10331,7	10172,2	10160,6	10102,9	10182,1	78,4
Zawór gilotynowy - 40 mm wysunięcia							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Stopień otwarcia zaworu 90%							
Energia pobrana, Ws	34958,2	35740,5	35946,7	35942,3	35101,9	35537,9	423,7
Energia pobrana, Wh	9,7	9,9	10,0	10,0	9,8	9,9	0,1
Czas pompowania, s	123	126	126	127	126	125,6	1,36
Przepompowana woda, l	351,8	352,5	353,7	353,9	352,1	352,8	0,8
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	27,6	28,2	28,2	28,2	27,7	28,0	0,3
Natężenie przepływu, l/s	2,9	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	0,0
Natężenie przepływu, l/h	10296,6	10071,4	10105,7	10031,8	10060,0	10113,1	94,7
Zawór gilotynowy - 30 mm wysunięcia							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Stopień otwarcia zaworu 63%							
Energia pobrana, Ws	34191,9	34579,9	35737,9	34708,7	34615,6	34766,8	516,7
Energia pobrana, Wh	9,5	9,6	9,9	9,6	9,6	9,7	0,1
Czas pompowania, s	128	129	133	129	129	129,6	1,7
Przepompowana woda, l	351,2	352,0	362,5	352,4	351,5	353,9	4,3
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	28,5	28,8	28,9	28,9	29,0	28,8	0,2
Natężenie przepływu, l/s	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	0,0
Natężenie przepływu, l/h	9877,5	9823,3	9812,0	9834,4	9809,3	9831,3	24,8
Zawór gilotynowy - 20 mm wysunięcia							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Stopień otwarcia zaworu 32%							
Energia pobrana, Ws	31466,8	30871,4	33784,2	31394,2	31184,8	31740,3	1042,7
Energia pobrana, Wh	8,7	8,6	9,4	8,7	8,7	8,8	0,3
Czas pompowania, s	151	149	160	151	151	152,4	3,9
Przepompowana woda, l	351,6	351,8	372,2	351,2	351,5	355,7	8,3
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	33,5	33,1	33,5	33,5	33,4	33,4	0,2
Natężenie przepływu, l/s	2,3	2,4	2,3	2,3	2,3	2,3	0,0
Natężenie przepływu, l/h	8382,5	8499,9	8374,5	8373,0	8380,1	8402,0	49,1
Zawór gilotynowy - 10 mm wysunięcia							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Stopień otwarcia zaworu 15%							
Energia pobrana, Ws	29909,7	30179,3	29446,7	28773,4	29758,9	29613,6	482,2
Energia pobrana, Wh	8,3	8,4	8,2	8,0	8,3	8,2	0,1
Czas pompowania, s	220	221	218	219	220	219,6	1,0
Przepompowana woda, l	350,1	351,2	350,2	351,6	351,2	350,9	0,6
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	45,7	45,5	45,1	45,4	45,3	45,4	0,2
Natężenie przepływu, l/s	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	1,6	0,0
Natężenie przepływu, l/h	5728,9	5720,9	5783,1	5779,7	5746,9	5751,9	25,5



Rys. 32. Wykres prezentujący energię pobraną na przepompowanie 1 m³ wody dla różnych stopni otwarcia zaworu gilotynowego

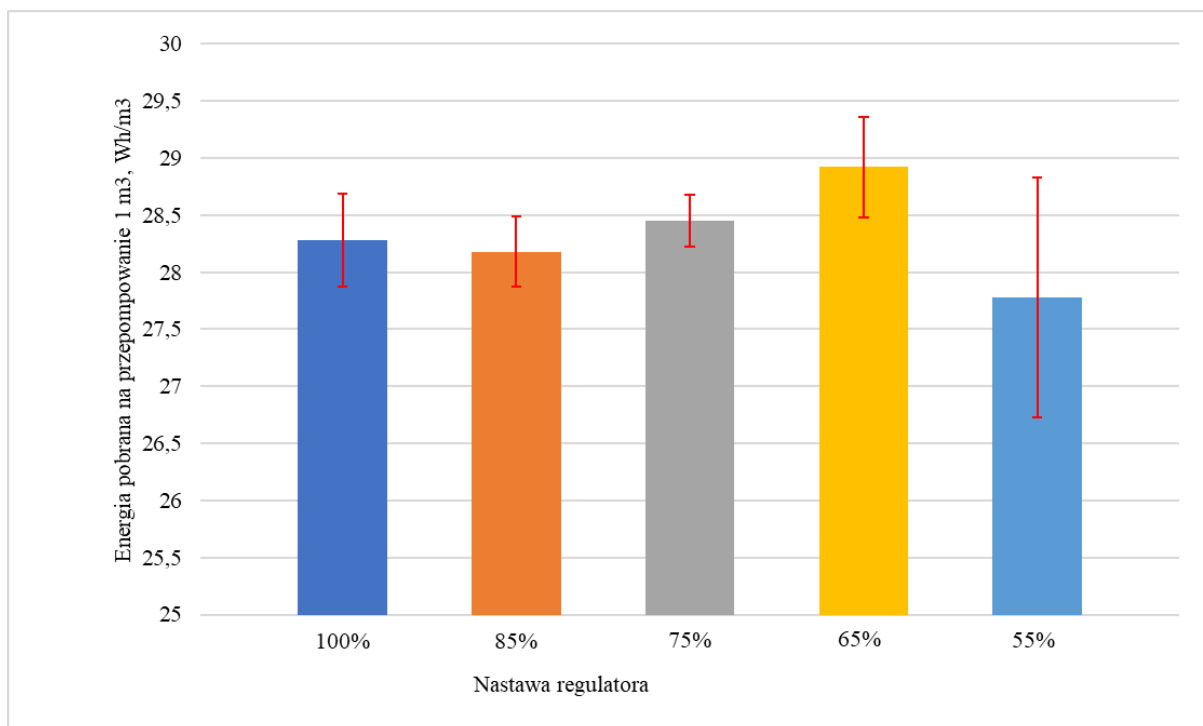


Rys. 33. Wykres prezentujący natężenie przepływu dla różnych stopni otwarcia zaworu gilotynowego

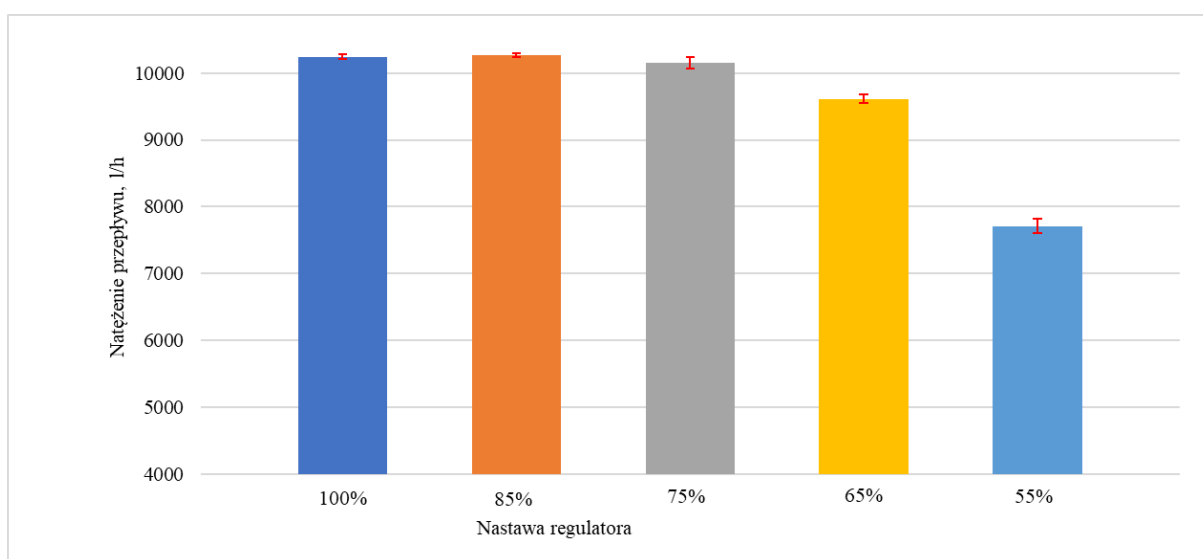
W Tab. 20 oraz na Rys. 34 i Rys. 35 przedstawiono wyniki dla regulatora mocy.

Tab. 20. Wyniki eksperymentu dla regulacji z wykorzystaniem regulatora mocy

Regulator mocy - nastawa 100%							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Energia pobrana, Ws	39672,7	38318,1	37963,9	38996,9	39430,9	38876,5	648,2
Energia pobrana, Wh	11,0	10,6	10,5	10,8	11,0	10,8	0,2
Czas pompowania, s	135	132	134	135	135	134,2	1,17
Przepompowana woda, l	384,3	373,7	383,4	383,4	384,5	381,9	4,1
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	28,7	28,5	27,5	28,3	28,5	28,3	0,4
Natężenie przepływu, l/s	2,8	2,8	2,9	2,8	2,8	2,8	0,0
Natężenie przepływu, l/h	10248,0	10191,8	10300,3	10224,0	10253,3	10243,5	35,8
Regulator mocy - nastawa 85%							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Energia pobrana, Ws	39232,2	38969,3	38195,1	39197,7	39377,9	38994,5	420,6
Energia pobrana, Wh	10,9	10,8	10,6	10,9	10,9	10,8	0,1
Czas pompowania, s	135	135	134	135	135	134,8	0,40
Przepompowana woda, l	384,5	384,6	384,4	384,6	383,9	384,4	0,3
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	28,3	28,1	27,6	28,3	28,5	28,2	0,3
Natężenie przepływu, l/s	2,8	2,8	2,9	2,8	2,8	2,9	0,0
Natężenie przepływu, l/h	10253,3	10256,0	10327,2	10256,0	10237,3	10266,0	31,4
Regulator mocy - nastawa 75%							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Energia pobrana, Ws	36757,3	36765,2	35549,3	36362,3	36166,9	36320,2	449,1
Energia pobrana, Wh	10,2	10,2	9,9	10,1	10,0	10,1	0,1
Czas pompowania, s	127	127	123	127	125	125,8	1,6
Przepompowana woda, l	356,9	356,3	352,4	354,8	352,4	354,6	1,9
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	28,6	28,7	28,0	28,5	28,5	28,5	0,2
Natężenie przepływu, l/s	2,8	2,8	2,9	2,8	2,8	2,8	0,0
Natężenie przepływu, l/h	10116,9	10099,8	10314,1	10057,3	10149,1	10147,5	88,4
Regulator mocy - nastawa 65%							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Energia pobrana, Ws	37771,6	36508,1	36738,3	36261,7	36492,7	36754,5	530,5
Energia pobrana, Wh	10,5	10,1	10,2	10,1	10,1	10,2	0,1
Czas pompowania, s	131	131	134	132	133	132,2	1,2
Przepompowana woda, l	352,0	353,4	355,2	351,5	353,1	353,0	1,3
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	29,8	28,7	28,7	28,7	28,7	28,9	0,4
Natężenie przepływu, l/s	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	2,7	0,0
Natężenie przepływu, l/h	9673,3	9711,8	9542,7	9586,4	9557,6	9614,3	66,5
Regulator mocy - nastawa 55%							
	Próba 1	Próba 2	Próba 3	Próba 4	Próba 5	Średnia	Odch. Standard
Energia pobrana, Ws	37707,9	34258,4	36688,6	33873,0	34556,2	35416,8	1505,5
Energia pobrana, Wh	10,5	9,5	10,2	9,4	9,6	9,8	0,4
Czas pompowania, s	162	162	173	163	167	165,4	4,2
Przepompowana woda, l	352,4	351,2	364,2	351,4	351,6	354,2	5,0
Energia pobrana na przepompowanie 1 m3, Wh/m3	29,7	27,1	28,0	26,8	27,3	27,8	1,1
Natężenie przepływu, l/s	2,2	2,2	2,1	2,2	2,1	2,1	0,0
Natężenie przepływu, l/h	7831,1	7804,4	7578,7	7761,0	7579,4	7710,9	110,0



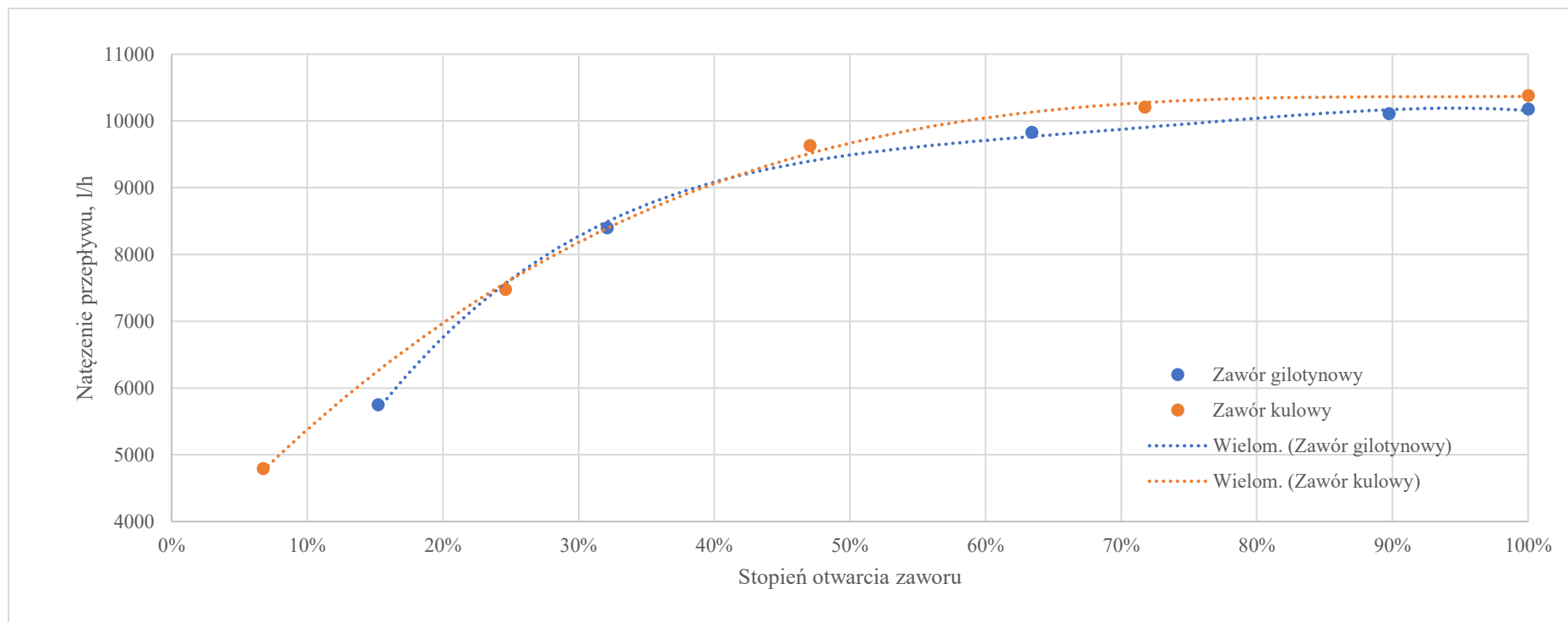
Rys. 34. Wykres prezentujący energię pobraną na przepompowanie 1 m³ wody dla różnych nastaw regulatora mocy.



Rys. 35. Wykres prezentujący natężenie przepływu dla różnych nastaw regulatora mocy.

Sprawdzona została również korelacja pomiędzy stopniem otwarcia zaworu, a przepływem wody przez częściowo zamknięty zawór. Wyznaczenie charakterystyki miało na celu stwierdzenie, która z metod jest bardziej przyjazna użytkownikowi pod kątem prostoty regulacji natężenia przepływu. Wykres prezentujący korelację przedstawiony został na Rys. 36.

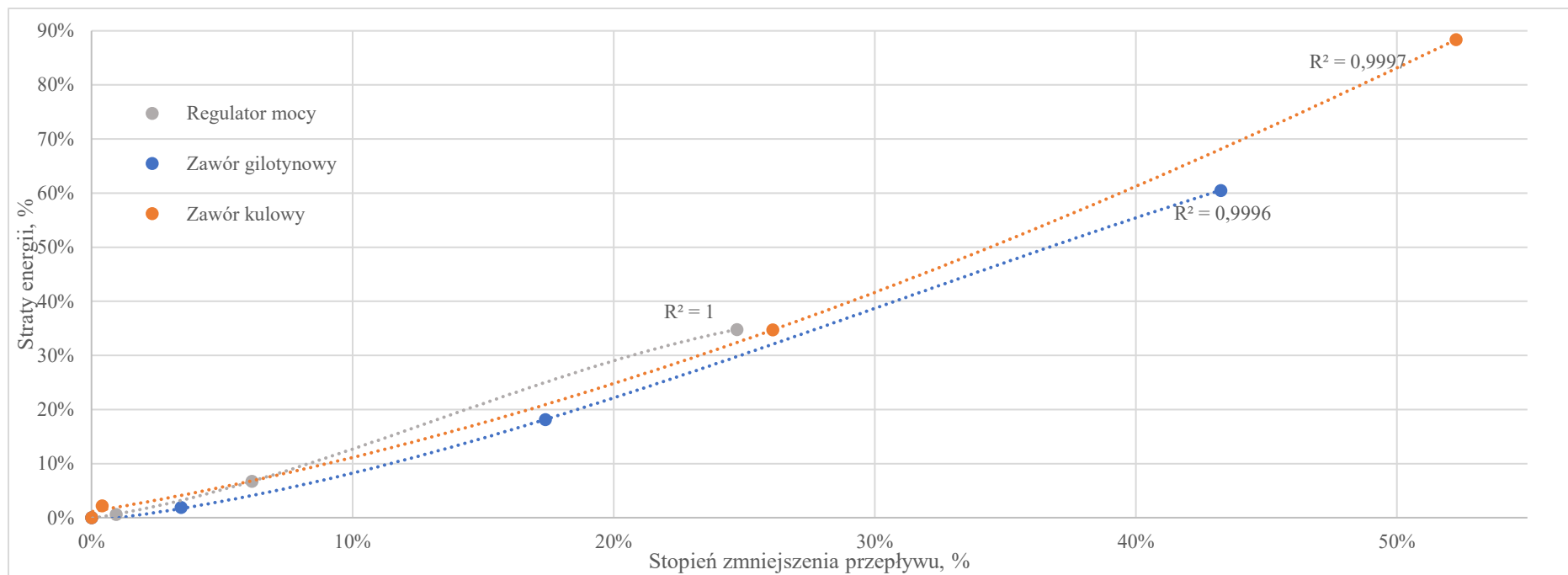
W przypadku zaworu gilotynowego dopasowanie linii trendu do funkcji wielomianowej trzeciego rzędu jest bardziej dokładne niż dla zaworu kulowego. Pokrywa się to z odczuciami zdolności precyzyjnego ustawienia oczekiwanego natężenia przepływu poprzez regulację stopnia zamknięcia zaworu. Możliwość regulacji zaworu gilotynowego poprzez wysuwanie dźwigni w sposób liniowy jest zdecydowanie bardziej intuicyjne niż regulacja poprzez obracanie dźwigni zaworu o zadany kąt jak w przypadku zaworu kulowego



Rys. 36. Wykres prezentujący korelację pomiędzy stopniem otwarcia zaworu kulowego oraz gilotynowego, a natężeniem przepływu

5.4. Podsumowanie rozdziału i wnioski

Wszystkie sposoby regulacji natężenia przepływu, które zostały wybrane do eksperymentu spełniają założenia stawiane w opracowywanej metodzie pobieranie próbek wody, na Rys. 37 przedstawiony został wykres obrazujący straty energii względem zmniejszenia natężania przepływu, czyli parametr najbardziej kluczowy dla opracowywanej metody.



Rys. 37. Wykres prezentujący straty energii względem stopnia zmniejszenia przepływu dla różnych metod regulacji

Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów wyłoniono najbardziej efektywną metodę regulacji natężenia przepływu w ramach opracowywanej procedury badawczej. W toku analizy porównawczej różnych rozwiązań technicznych wykazano, że zastosowanie zaworu gilotynowego umożliwia najkorzystniejszą regulację przepływu zarówno pod względem efektywności energetycznej, jak i zakresu dostępnych nastaw. Zawór ten charakteryzuje się minimalnymi stratami ciśnienia oraz szerokimi możliwościami modulacji natężenia przepływu, co czyni go najbardziej adekwatnym wyborem do dalszych etapów badań i potencjalnych aplikacji inżynierskich. Regulacja z zastosowaniem regulatora mocy nie wykazała porównywalnej skuteczności. Eksperyment wykazał, że przy nastawach mocy niższych niż 55%, pompa wirnikowa zastosowana w badaniu nie rozpoczynała pracy, oznacza to, że regulator mocy nie zapewniał wystarczająco szerokiego zakresu działania przy zachowaniu wymaganej stabilności systemu. Dodatkowym atutem zaworu gilotynowego jest jego mechaniczna prostota oraz łatwość obsługi w warunkach eksperymentalnych i eksploatacyjnych. W porównaniu do zaworu kulowego, zawór gilotynowy nie tylko generuje niższe straty energii, lecz także umożliwia dokładniejsze i bardziej intuicyjne ustawienie stopnia otwarcia dzięki mechanizmowi dźwigni wysuwanej z korpusu. Obsługa tego typu zaworu jest znacznie prostsza niż precyzyjne ustawienie pozycji kątowej dźwigni zaworu kulowego, co może mieć kluczowe znaczenie w zastosowaniach wymagających wysokiej precyzji i powtarzalności regulacji.

6. Metoda pobierania próbek wody

6.1. Opis założeń metody pobierania próbek wody

System pobierania próbek wody był kluczowym elementem pracy doktorskiej, projekt oraz wykonanie prototypu tegoż systemu miało prowadzić do potwierdzenia hipotez założonych na początku pracy nad doktoratem. Opracowanie skutecznej metody pobierania próbek wody do wykrywania patogenów w akwakulturze wymagało przeprowadzenia eksperymentów oraz symulacji potwierdzających lub obalających założenia pracy, bardzo ważnym elementem systemu była konieczność uwzględnienia, że wszystkie uzyskane wcześniej wyniki oraz wnioski musiały znaleźć zastosowanie w metodzie oraz zostać zintegrowane z systemem pobierania próbek wody. Prototyp systemu pobierania próbek wody do wykrywania patogenów w akwakulturze musiał spełniać założenia, które wymienione oraz objaśnione zostały poniżej, kryteria te wynikają z analizy literaturowej, wyników poprzednich badań oraz eksperymentów, a także z założeń koncepcyjnych systemu:

- możliwość integracji w systemie metody dezynfekcji z wykorzystaniem nadtlenu wodoru, czyli metody, która została wybrana jako najbardziej odpowiednia podczas poprzednich eksperymentów,
- możliwość wykonania elementów systemu z materiałów, które zostały przebadane w poprzednich eksperymentach i zostały wytypowane jako użyteczne i bezpieczne tj. PE, PVC oraz PET-G,
- możliwość integracji systemu z istniejącym układem recyrkulacyjnym w możliwością implementacji zaworu gilotynowego do regulacji natężenia przepływu, zawór ten został wybrany w poprzednim eksperymencie jako odpowiednia metoda,
- możliwość automatyzacji procesu pobierania próbek wody,
- możliwość zamocowania membran oddzielających część wlotową systemu z częścią wylotową oraz możliwość prostego rozdzielenia tych części w celu wymiany membrany,
- możliwość integracji systemu pobierania próbek z systemem transportowania próbek, połączenie obu systemów musi odbywać się w sposób sterylny, bez wykorzystywania dodatkowych elementów pompujących.

6.2. Projekt prototypu systemu pobierania próbek wody zgodnego z założeniami

Projektowanie prototypu systemu pobierania próbek wody zostało przeprowadzone z wykorzystaniem oprogramowania Solidworks do projektowania wspieranego komputerowo. Wszystkie elementy prototypu zostały zaprojektowane w sposób umożliwiający ich wykonanie z wykorzystaniem technik przyrostowych. Wykorzystanie metody Rapid Prototyping było ważnym elementem projektowania układu ze względu na szybką możliwość wprowadzania zmian oraz usprawnień w projekcie.

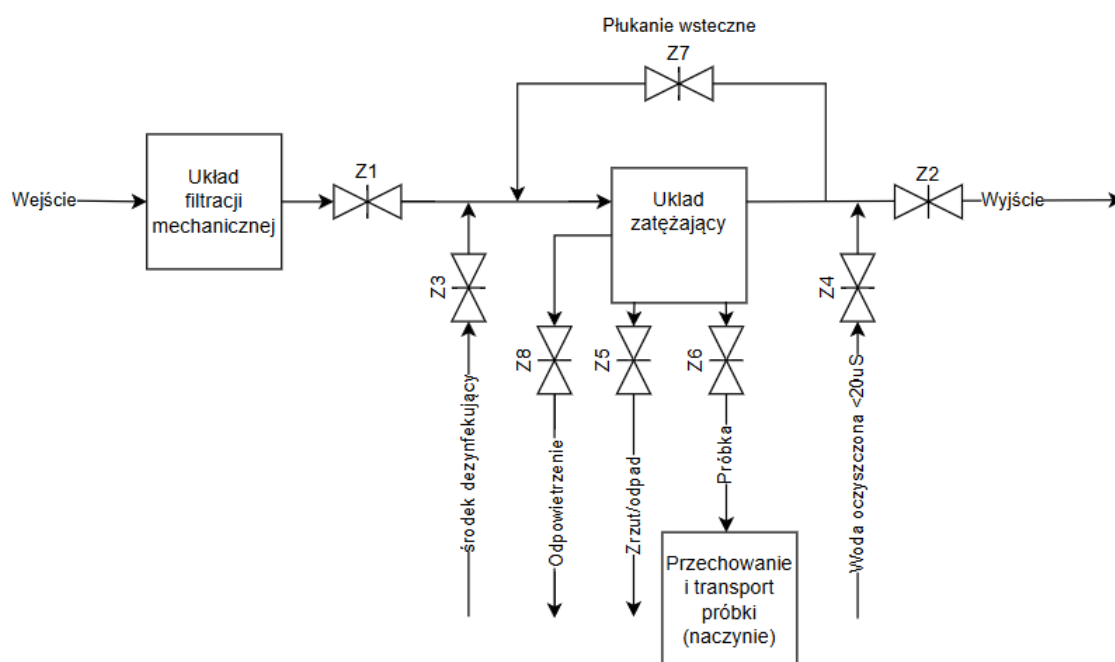
Punktem wyjścia w projekcie było założenie wykorzystania zaworów wykonanych z tworzywa PVC do budowy układu hydraulicznego. Zawory tego typu są powszechnie stosowane w konstrukcji Recyrkulacyjnych Systemów Akwakulturowych (RAS), co czyni je rozwiązaniem sprawdzonym, niezawodnym i łatwo dostępnym na rynku. Charakteryzują się one szerokim zakresem dostępnych rozmiarów, co umożliwia ich dopasowanie do specyfiki danego układu. W niniejszym projekcie zastosowano zawory o średnicy przyłączeniowej 25 mm, które stanowiły właściwy wybór z punktu widzenia oczekiwanego natężenia przepływu oraz kompaktowych gabarytów. Dodatkową zaletą była ich korzystna relacja kosztu do

wydajności w porównaniu do zaworów o większych średnicach. Do połączenia zaworów z częścią główną układu oraz pozostałymi elementami systemu wykorzystano rury, złączki i kształtki wykonane z tworzywa PVC. Większość połączeń została zrealizowana z użyciem techniki klejenia, co zapewnia szczelność i trwałość instalacji. Wyjątek stanowi połączenie z elementem mocującym membranę, wykonanym z materiału PET-G – w tym przypadku zastosowano połączenie gwintowane, ponieważ kleje do PVC nie są kompatybilne z innymi materiałami. Przykładowe elementy wykorzystane do budowy systemu zostały przedstawione na Rys. 38.



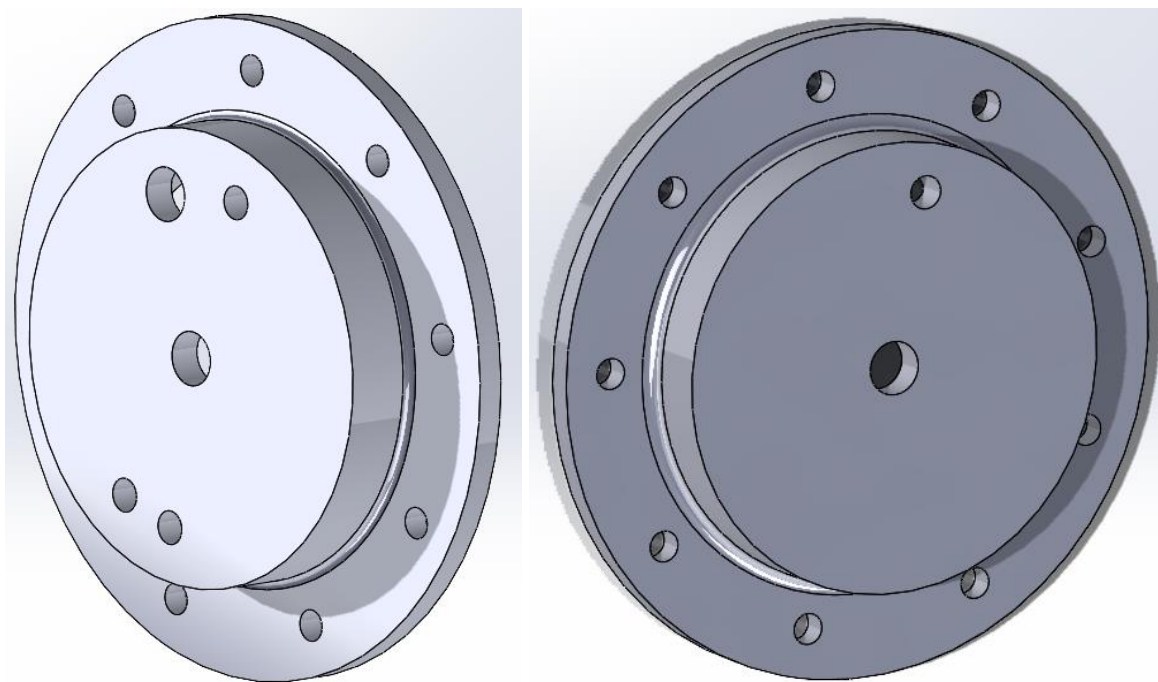
Rys. 38. Przykładowe elementy łączące wykorzystane do projektowania systemu pobierania próbek wody [107]

Opracowany został schemat projektowanego układu, który pozwolił na określenie koniecznych przyłączy w części łączącej układ. Schemat przedstawiono na Rys. 39.



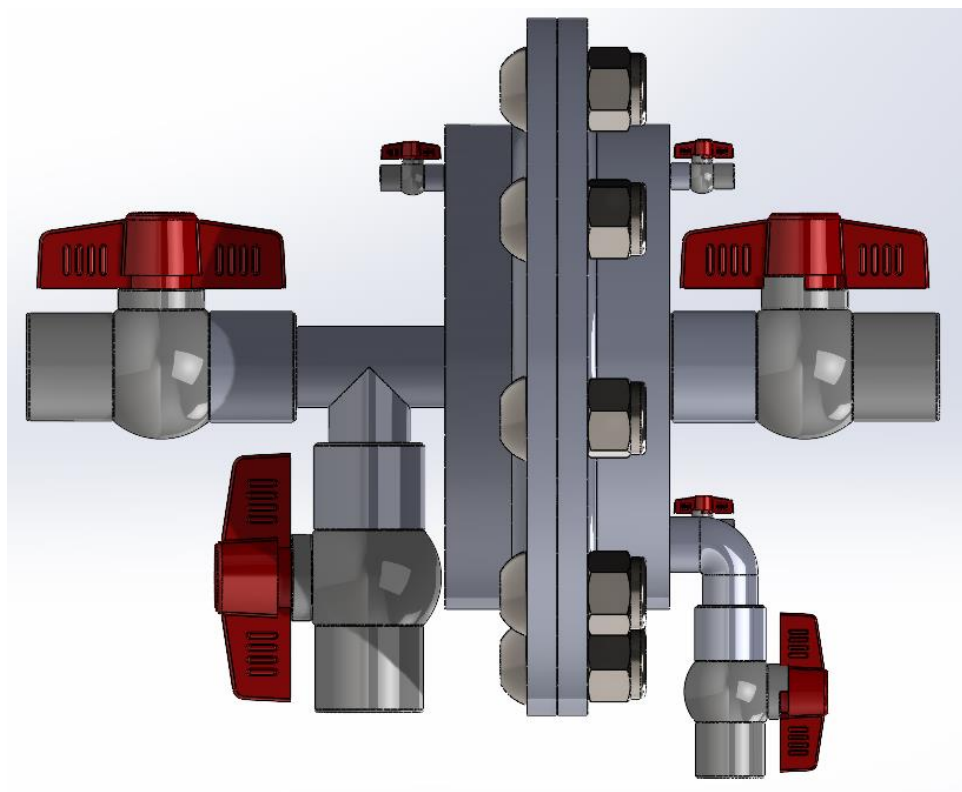
Rys. 39. Schemat projektowanego układu pobierania próbek wody

Na podstawie schematu powstał projekt zawierający wszystkie konieczne otwory montażowe oraz spełniający założenia systemu, został on zaprezentowany na Rys. 40.



Rys. 40. Zaprojektowane elementy układu do pobierania próbek wody

Projekt został rozwinięty, dodane zostały zawory, kształtki, śruby oraz inne elementy łączące, efekt projektu przedstawiony został na Rys. 41.

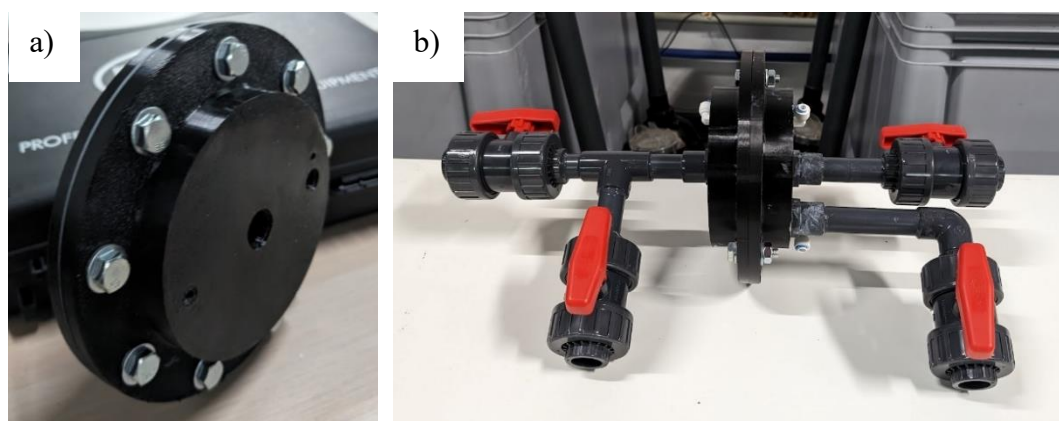


Rys. 41. Projekt systemu pobierania próbek wody

Tak przygotowany projekt spełniał wszystkie stawiane wymagania oraz posłużył w dalszej części prac do zbudowania oraz przetestowania koncepcji.

6.3. Walidacja opracowanego systemu pobierania próbek wody

Na podstawie projektu systemu pobierania próbek wody wykonany został pierwszy prototyp. Główne elementy konstrukcyjne wykonane zostały z wykorzystaniem technik przyrostowych. Taki sposób w zdecydowanym stopniu przyspieszył pracę nad prototypem, a także pozwolił na wprowadzanie na bieżąco poprawek i usprawnień. Pierwsze testy przeprowadzone zostały z wykorzystaniem ręcznych zaworów, tak by w prosty sposób móc zweryfikować szczelność układu oraz wyeliminować błędy. Na Rys. 42a przedstawiono pierwszy prototyp układu pobierania próbek wody bez zamontowanych zaworów, na Rys. 42b przedstawiono układ z zamontowanymi zaworami oraz króćcami.



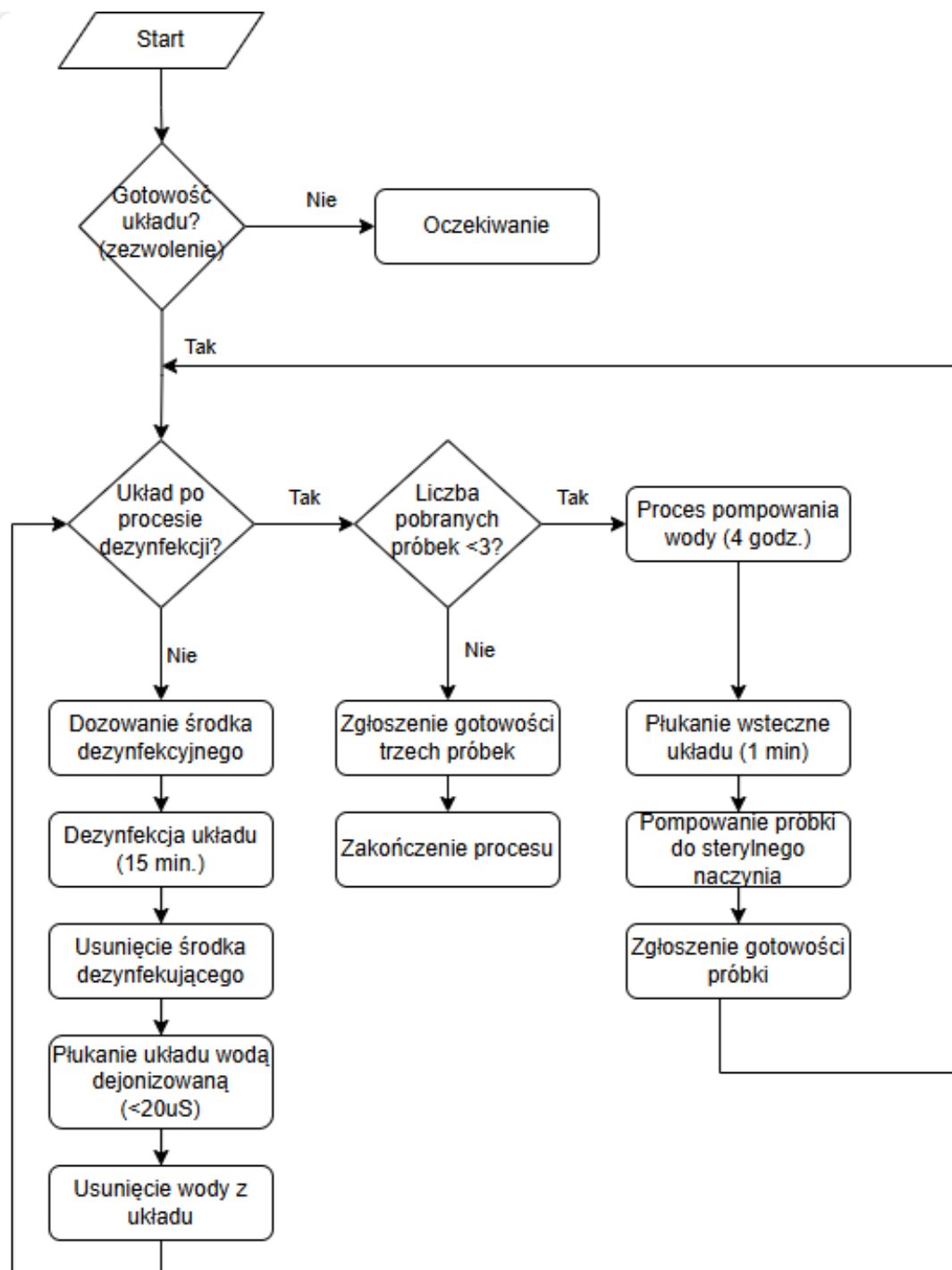
Rys. 42. Fragmenty systemu pobierania próbek wody, a) komora zatężająca, b) komora zatężająca wraz z orurowaniem i zaworami

Tak przygotowany układ został zintegrowany ze stanowiskiem wcześniej wykorzystywanym do badań związanych ze stratami energii podczas regulacji natężenia przepływu (przedstawiono na Rys. 43). Układ spełnił oczekiwania oraz założenia metody.



Rys. 43. Pierwszy prototyp układu do pobierania próbek wody

W następnym kroku układ został wyposażony w zawory umożliwiające automatyzację procesu, całość została zintegrowana z systemem automatyki opartym o sterownik Siemens S7-1200. System automatyki został zaprogramowany według schematu blokowego przedstawionego na Rys. 38.



Rys. 44. Schemat blokowy układu automatyki systemu pobierania próbek wody

Zintegrowany układ został przetestowany, wszystkie kroki uwzględnione w schemacie wykonywały się prawidłowo, nie stwierdzono nieszczelności w układzie. Gotowy do badań układ przedstawiony został na Rys. 45. Ilość przepompowanej przez układ wody weryfikowana była z wykorzystaniem przepływomierza ultradźwiękowego PCE-TDS 100HS.



Rys. 45. Gotowe stanowisko do walidacji układu pobierania próbek wody

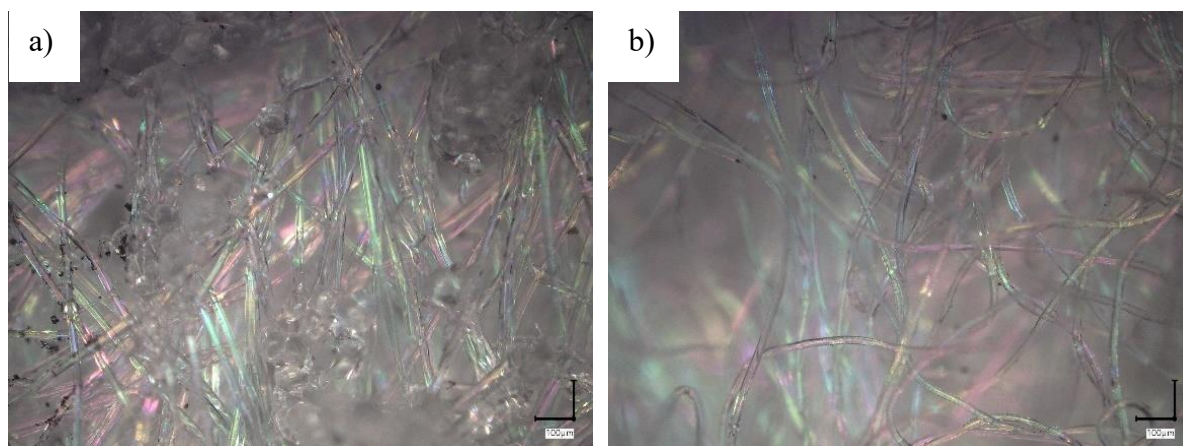
6.4. Dobór membrany z wykorzystaniem Metody Objętości Skończonych (CFD)

Układ do pobierania próbek wody musiał zostać wyposażony w membranę, która za zadanie miała mieć zatrzymanie materiału biologicznego po stronie wlotowej komory zatężającej. Proces doboru membrany został rozpoczęty od rozpoznania rynku pod względem dostępności membran filtracyjnych o wielkości oczka filtracyjnego poniżej 5 μm , uwaga została skupiona na tkaninach oraz włókninach wykorzystywanych do filtracji wody ze względu na większą wytrzymałość tych materiałów oraz większą dowolność rozmiarową względem membran używanych w skali laboratoryjnej. Do analizy wybrany został worek filtracyjny wykonany z polipropylenu ze względu na swoją dużą wytrzymałość mechaniczną oraz bardzo dobrą odporność chemiczną. Materiał ten jest bardzo często wykorzystywany w filtracji mechanicznej przeprowadzanej w Recyrkulacyjnych Systemach Akwakulturowych [108], [109].



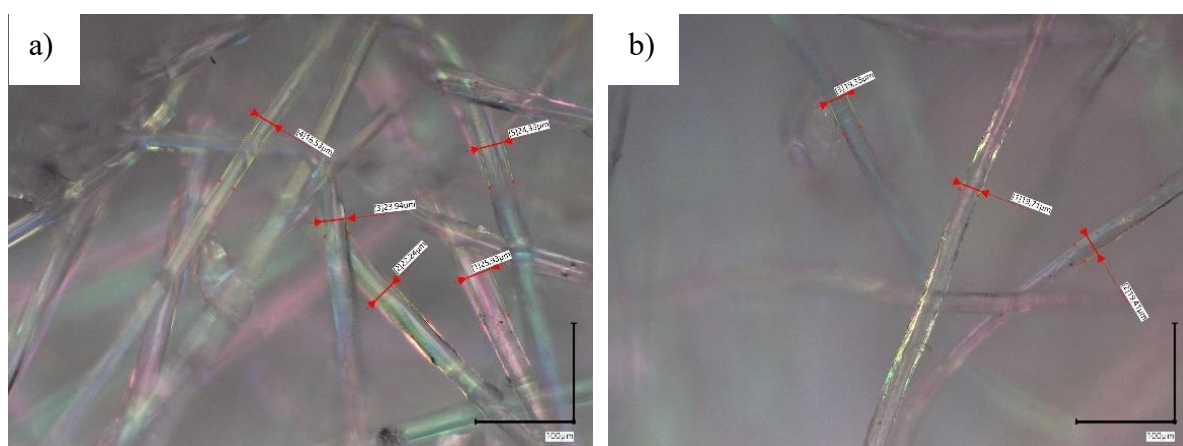
Rys. 46. Worki polipropylenowe wykorzystane do wykonania membrany [108], [109]

Ze względu na wysoką dostępność oraz niski koszt poddane zostały one analizie. Wykonane zostały zdjęcia mikroskopowe ich struktury, na Rys. 47 przedstawione zostały widoki mikroskopowe membrany polipropylenowej 1 μm oraz 5 μm .



Rys. 47. a - membrana polipropylenowa 1 μm , b – membrana polipropylenowa 5 μm - widoki mikroskopowe (skala 100 μm)

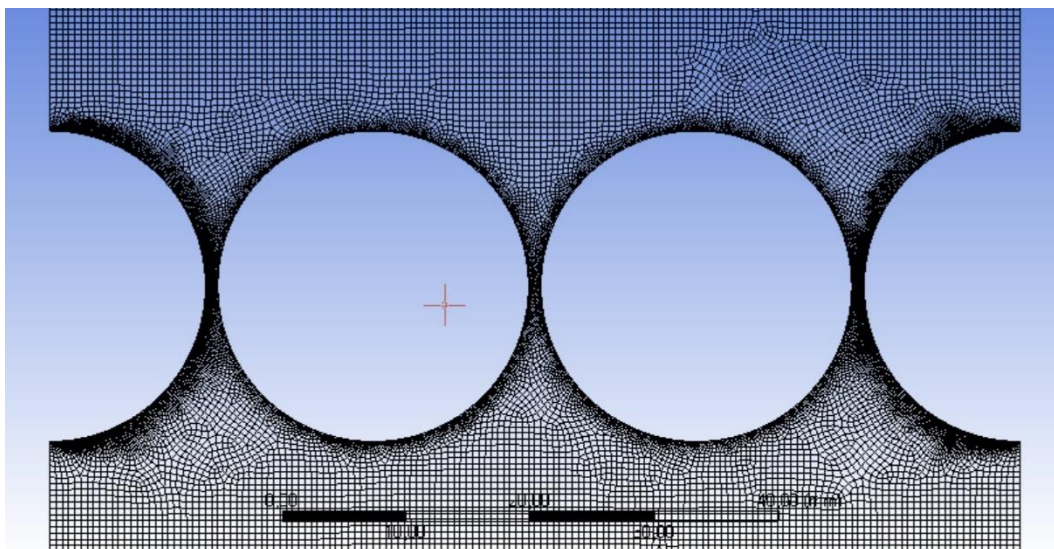
Zauważyć można, że membrana posiada strukturę chaotyczną, nie jest uporządkowana jak w przypadku chociażby filtrów PTFE. Wykonane zostały pomiary średnicy włókien w membranach, by można było odwzorować je w symulacji komputerowej, wyniki pomiarów przedstawiono na Rys. 48.



Rys. 48. Pomiary średnicy włókien w membranie polipropylenowej: a - membrana 1 μm , b - membrana 5 μm (skala 100 μm)

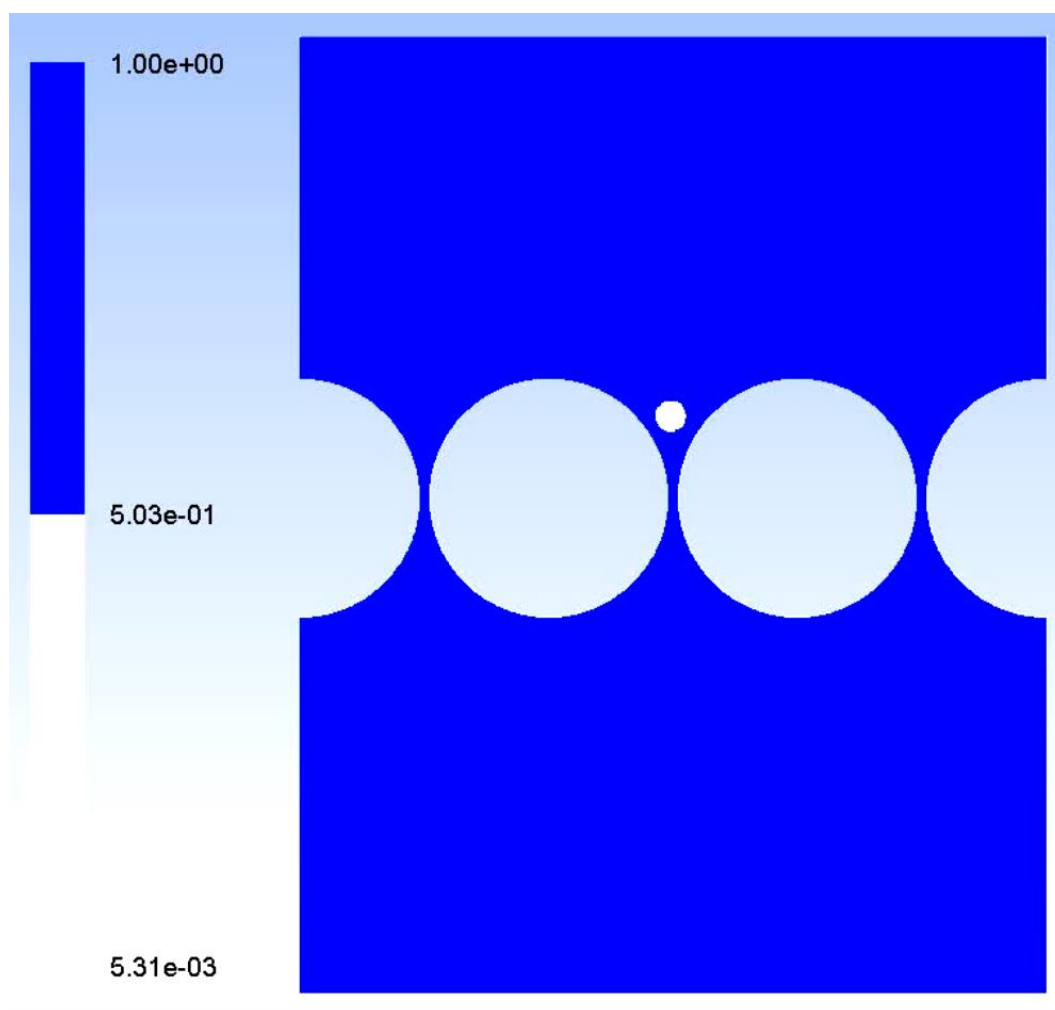
W przypadku membrany 5 μm średnica włókien jest bardzo podobna i wynosi około 20 μm , natomiast w przypadku membrany 1 μm średnica włókien zawiera się w zakresie między 15-27 μm . W symulacji została przyjęta wartość uśredniona na poziomie 20 μm .

Symulacja została przeprowadzona w środowisku Ansys Fluent, przyjęto model płaski, średnicę włókien przyjęto 20 μm , a szczelina między włóknami wynosiła 1 μm . W symulacjach użyto siatki z elementami kwadratowymi. Zachowano 8 elementów w świetle przepływu pomiędzy włóknami filtra. Postać wygenerowanej siatki elementów przedstawiono na Rys. 49.



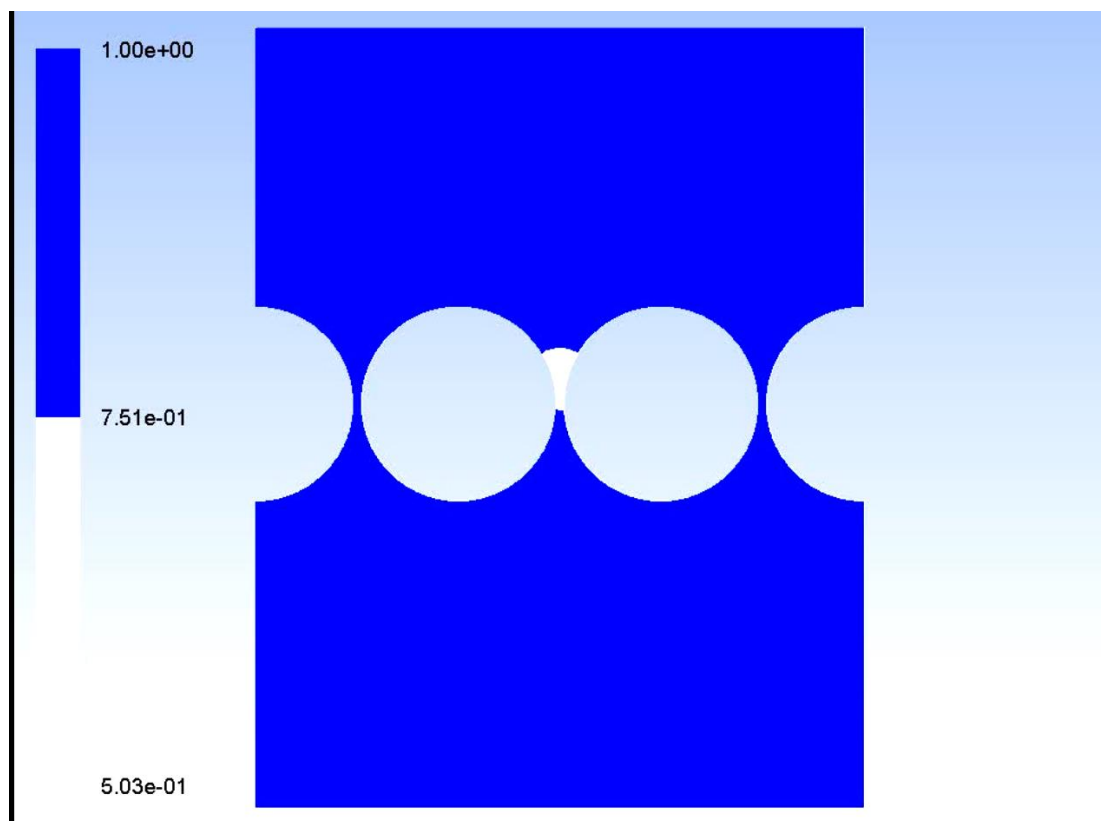
Rys. 49. Siatka elementów kwadratowych w symulacji CFD

Bakteria została sprowadzona do postaci koła o średnicy $3,4\ \mu\text{m}$ oraz gęstości $1,1\ \text{g/cm}^3$. Symulowany przepływ ciecży był laminarny, punkt startowy symulacji zaprezentowano na Rys. 50.

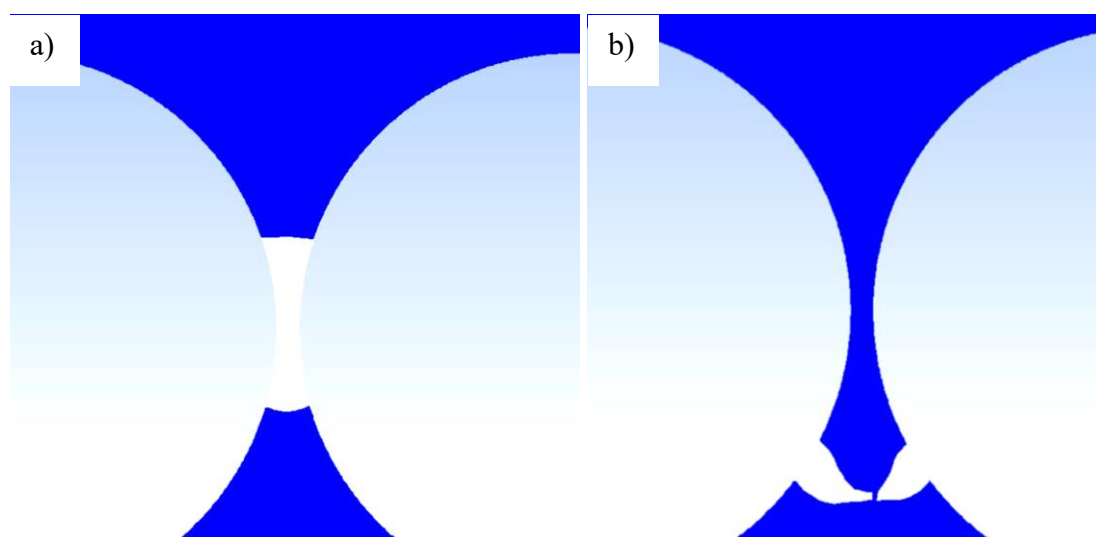


Rys. 50. Punkt startowy symulacji przepływu ciecży przez membranę

Badane było zachowanie modelu bakterii przy zadanym natężeniu przepływu co przedstawiono na Rys. 51, oraz przy jego 100-krotnym zwiększeniu co zostało przedstawione na Rys. 52.



Rys. 51. Bakteria zatrzymana w szczelinie między włóknami



Rys. 52. Zrzuty z symulacji CFD; a) bakteria przeciśnięta przez membranę, b) bakteria rozerwana po przejściu przez membranę

Symulacja wykazała, że bakteria przy odpowiednim natężeniu przepływu może zostać zatrzymana przez membranę o szczelinie $1\ \mu\text{m}$, natomiast przy zbyt dużym natężeniu przepływu może nie tylko zostać przeciśnięta przez membranę ale również rozerwana. Można tutaj zauważyć efekt Coandy, jest to zjawisko fizyczne polegające na tym, że strumień cieczy

lub gazu ma tendencję do przylegania do powierzchni zakrzywionej, zamiast poruszać się po linii prostej [110], [111]. Efekt ten w przypadku wykorzystania membran o strukturze chaotycznej jak w przypadku projektowanego systemu może być bardzo pomocny ze względu na to, że nawet w przypadku gdy mikroorganizm zostanie przecięnięty przez szczelinę membrany, tor przepływu zostanie zakrzywiony przez co zostanie on zatrzymany w dalszych warstwach materiału. Membrana wykonana z włókny polipropylenowej zostanie wykorzystana w dalszych eksperymentach.

6.5. Wyniki eksperymentu oraz ich analiza

Eksperyment przeprowadzony z wykorzystaniem układu do pobierania próbek wody miał na celu wykazanie zdolności układu do zateżniania próbek wody w stopniu umożliwiającym wykrycie obecności mikroorganizmów z wykorzystaniem dostępnych na rynku testów diagnostycznych, których próg detekcji nie pozwala na detekcję w próbkach pobranych bezpośrednio z wody. W eksperymencie wykorzystana została bakteria *Azotobacter Vinelandii* opisana na początku rozdziału. Do wykrycia obecności bakterii w próbkach zostały wykorzystane testy paskowe API 20 NE. W celu określenia wiarygodności testów wykorzystywanych w doświadczeniu, przygotowana została zawiesina bakterii o gęstości optycznej 0,5 McFarlanda. Wyniki testów API przedstawione zostały w formie fotografii testu oraz tabeli, do której przeniesione zostały odczytane z testu rezultaty. Wyniki dla próby kontrolnej przedstawiono na Rys. 53 oraz w Tab. 21.



Rys. 53. Testy paskowe API - weryfikacja skuteczności wykrywania bakterii *Azotobacter Vinelandii* w zawiesinie o gęstości optycznej 0.5 McFarlanda

Tab. 21. Porównanie aktywności enzymatycznej po 24 h (+ wzrost, - brak wzrostu)

Test	Kontrola pozytywna		
	1.1	1.2	1.3
GLU	-	-	-
ADH	-	-	-
URE	-	-	-
ESC	+	+	+
GEL	-	-	-
PNPG	+	+	+
GLU	+	+	+
ARA	+	+	+
MNE	+	+	+
MAN	+	+	+
NAG	-	-	-
MAL	+	+	+
GNT	+	+	+
CAP	-	-	-
ADI	-	-	-
MLT	-	-	-
CIT	-	-	-
PAC	-	-	-

Wszystkie trzy wykonane próby wykazały, że taka gęstość jest wykrywalna przez testy paskowe. Bakterie *Azotobacter vinelandii*, hodowano w medium płynnym Burks'a, w objętości 2 L przez 48 h w temperaturze 30 °C, 140 rpm. Tak przygotowane inokulum dodawano do objętości 400 litrów wody.

Podczas przeprowadzania eksperymentu przez układ przepompowane zostało 2000 litrów wody w czasie 4 godzin. Pierwsza próbka została pobrana przed dodaniem inokulum do układu, była to próbka kontrolna, druga próbka została pobrana po dodaniu inokulum, trzecia to próbka pobrana po procesie zateżnienia. Dodatkowo pobrany został również fragment membrany ze względu na pokrywający ją film bakteryjny. Przygotowano próbki zgodnie z załączoną instrukcją testu, w trzech powtórzeniach dla każdej z próbki, z kolei fragment

membrany przeniesiono do medium płynnego o objętości 100 ml, inkubowano w 30 °C, 140 rpm przez 24 h. Membranę po procesie przepompowywania wody zaprezentowano na Rys. 54, a wyniki testów API przedstawiono na Rys. 55 oraz w Tab. 22.



Rys. 54. Membrana po procesie zatężania

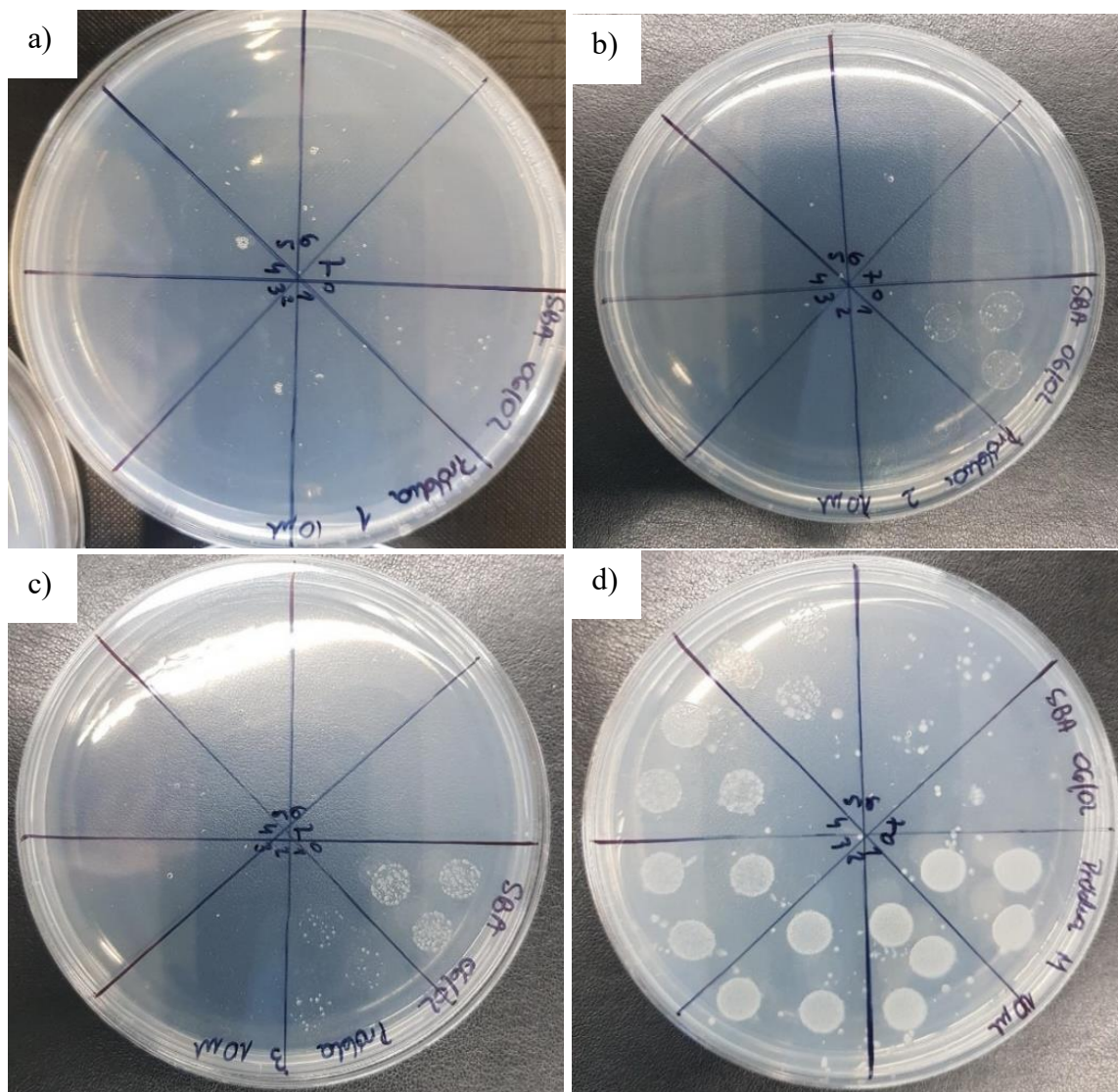


Rys. 55. Testy API - próbki 1-3

Tab. 22. Porównanie aktywności enzymatycznej po 24 h (+ wzrost, - brak wzrostu) – eksperyment z zateżenia nr 1

Test	Próbka 1			Próbka 2			Próbka 3			Próbka 4		
	1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3	3.1	3.2	3.3	4.1	4.2	4.3
GLU	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ADH	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+
URE	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ESC	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
GEL	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
PNPG	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
GLU	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ARA	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
MNE	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
MAN	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
NAG	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
MAL	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+
GNT	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
CAP	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
ADI	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
MLT	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
CIT	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
PAC	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

W przypadku próbki kontrolnej oraz próbki pobranej po dodaniu inokulum do systemu wyniki testów były negatywne, nie stwierdzono obecności bakterii. W próbkach wody oraz próbce przygotowanej na podstawie fragmentu membrany obecność bakterii została wykryta. Przeprowadzono dalsze analizy, wykonane zostały posiewy bakteryjne, mające na celu określenie liczebności bakterii w próbkach metodą Miles’a i Misra. Z każdej próbki przygotowano szereg rozcieńczeń w sterylnym roztworze PBS w zakresie $10^0 - 10^7$. Kolejno z każdego rozcieńczenia wysiewano 10 μL w trzech powtórzeniach na podłoże stałe. Płytki inkubowano przez 24 h, temp. 30 °C. Wyniki posiewów przedstawiono w Tab. 23 oraz na Rys. 56.



Rys. 56. Posiewy bakteryjne do wyznaczenia CFU/ml dla próbek 1-4 po 24 godzinach hodowli

Tab. 23. Wyniki pomiarów CFU/ml - eksperyment nr 1

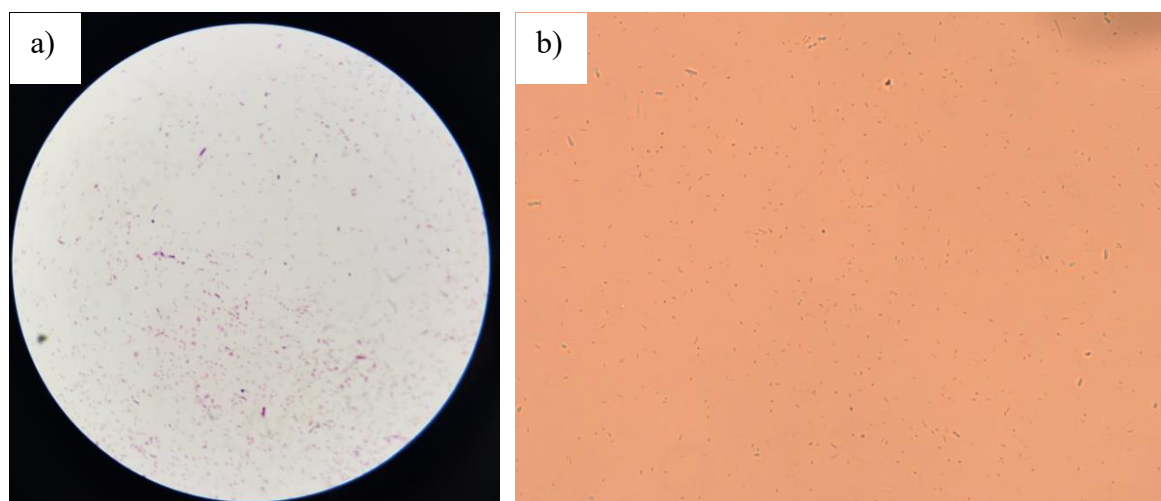
Numer próbki	CFU/mL
1	1×10^3
2	$1,19 \times 10^3$
3	$5,43 \times 10^4$
4	$6,39 \times 10^8$

Przeprowadzono również pomiar gęstości optycznej OD600, otrzymane próbki odwirowano 8000 rpm, 10 min, następnie zawieszono w sterylnym roztworze PBS i dokonano pomiaru przy długości fali optycznej 600 nm z wykorzystaniem spektrofotometru, wyniki zaprezentowano w Tab 24.

Tab. 24. Pomiary gęstości optycznej OD600 - eksperyment nr 1

Numer próbki	OD600
1	0,000
2	0,006
3	0,015
4	0,395

Wykonano również barwienie metodą Grama, kolonie otrzymane na podłożu stałym barwiono w celu określenia przynależności do bakterii Gram-dodatnich/Gram-ujemnych. Następnie przygotowane preparatu oglądano pod imersją. Wszystkie kolonie określono jako bakterie Gram-ujemne. Barwienie przedstawiono na Rys. 57.



Rys. 57. Zdjęcia mikroskopowe z barwienia próbek metodą Grama

6.6. Podsumowanie rozdziału i wnioski

Opracowana metoda pobierania próbek wody do wykrywania patogenów w akwakulturze okazała się skuteczna, lecz forma pobierania materiału biologicznego w formie pobierania membrany do dalszych badań laboratoryjnych okazała się zdecydowanie skuteczniejsza. W przypadku pobierania próbki wody po wcześniejszym płukaniu wstecznym membrany poziom zanieczyszczenia był poniżej oczekiwań, można tutaj zaobserwować wzrost stężenia bakterii o około jeden rząd wielkości co nie jest zgodne z założeniami metody. W przypadku ekstrakcji filmu bakteryjnego z membrany udało się uzyskać zwiększenie stężenia o około pięć rzędów wielkości.

Postanowiono rozszerzyć dalsze badania i przygotować uproszczony układ do zanieczyszczenia mikroorganizmów, ze względu na potwierdzenie, że budżetowa membrana wykonana z włókniny polipropylenowej jest w stanie zatrzymać mikroorganizmy. Układ może ulec uproszczeniu, a membrana może być wymieniana po każdorazowym procesie zanieczyszczenia.

7. Metoda transportu próbek wody

7.1. Opis założeń metody transportu próbek wody

Głównym celem niniejszej pracy było opracowanie metody skutecznego pobierania próbek wody przeznaczonych do wykrywania patogenów w środowiskach akwakulturowych. Już na etapie wstępnych założeń przyjęto jednak, że równie istotnym, komplementarnym elementem projektu będzie stworzenie dedykowanego układu do bezpiecznego transportu pobranych próbek do laboratorium analitycznego. Z praktycznego punktu widzenia samo pobranie próbek nie zapewnia jeszcze pełnej funkcjonalności opracowanej metody. W wielu przypadkach hodowle ryb i innych organizmów wodnych znajdują się w znacznej odległości od laboratoriów, w których przeprowadzane są badania mikrobiologiczne. W związku z tym kluczowe stało się opracowanie takiego sposobu transportu próbek, który zagwarantuje ich stabilność biologiczną i fizykochemiczną na całej długości łańcucha logistycznego. W ramach prac projektowych skupiono się na identyfikacji czynników, które mogą wpływać na degradację próbek w czasie oraz na zaprojektowaniu układu minimalizującego wynikające z tego zagrożenia. Uwzględnienie etapu transportu jako integralnej części metody pobierania próbek znacząco zwiększa jej wartość użytkową i praktyczną, a także przyczynia się do zapewnienia wiarygodności wyników uzyskiwanych w laboratorium.

Pierwszym etapem projektowania systemu do transportowania próbek wody było określenie założeń funkcjonalnych oraz zagrożeń, które układ musi niwelować:

- możliwość przechowywania trzech próbek wody w naczyniach o pojemności 100 ml,
- łatwa integracja z systemem pobierania próbek wody,
- zapewnienie izolacji termicznej pozwalającej na transport próbek w temperaturach podwyższonych,
- zapewnienie braku dostępu światła, które mogłoby się przyczynić do nadmiernego rozwoju mikroorganizmów,
- zapewnienie czystości mikrobiologicznej podczas umieszczania próbek wody w systemie transportowym,
- możliwość dezynfekcji układu z wykorzystaniem wybranej wcześniej na podstawie badań metody dezynfekcji – dezynfekcja z wykorzystaniem roztworu nadtlenku wodoru.

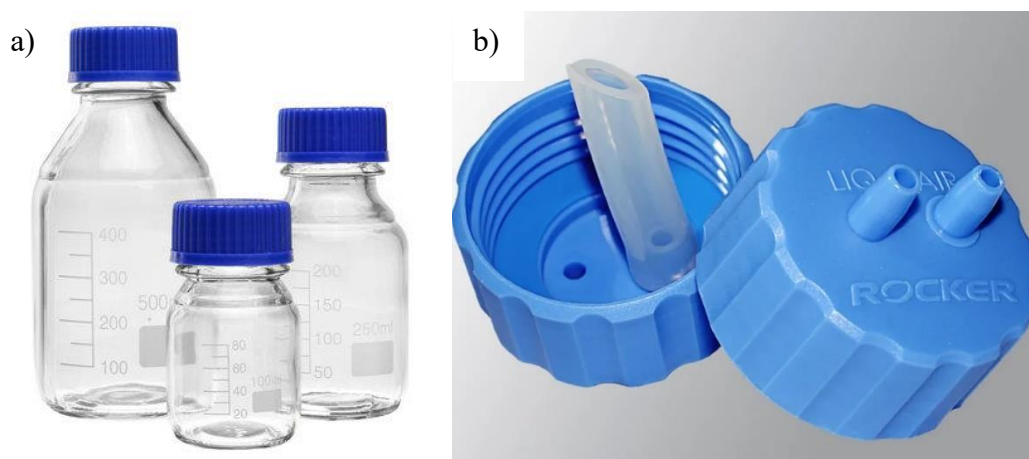
Dodatkowo, tak jak w przypadku wcześniejszych prac efekt prowadzonych badań musiał zakończyć się stworzeniem prototypu systemu do transportowania próbek wody, który będzie atrakcyjny ekonomicznie, czyli wykorzystane do jego budowy elementy, muszą być nisko kosztowe.

7.2. Projekt oraz wykonanie prototypu systemu do transportowania próbek wody

Proces projektowania prototypu systemu przeznaczonego do transportowania próbek wody rozpoczęto od wybrania materiałów, możliwych do wykorzystania zarówno na etapie wytwarzania prototypu, jak i w późniejszej produkcji seryjnej. Podobnie jak w przypadku wcześniej opracowanego urządzenia do pobierania próbek, zdecydowano się na zastosowanie tworzywa PET-G jako głównego materiału konstrukcyjnego do budowy prototypu. Całość projektu została zaprojektowana w sposób umożliwiający wykorzystanie w produkcji seryjnej

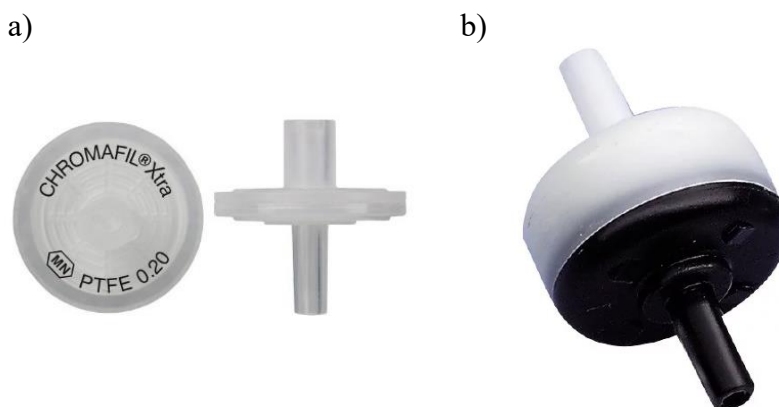
na dalszym etapie rozwoju produktu z wykorzystaniem polietylenu. Takie podejście pozwala na zachowanie zgodności technologicznej pomiędzy etapem prototypowania, a wdrożeniem finalnego produktu, co znacząco obniża koszty transformacji technologicznej i zwiększa szanse na komercjalizację opracowanego rozwiązania.

Dobre zostały naczynia szklane, w których umieszczane były próbki wody, były to standardowe butelki laboratoryjne ze szkła sodowo-wapniowego z gwintem GL45, występujące w wielu rozmiarach i możliwe jest ich sterylizowanie w autoklawie. Dodatkowo żeby zapewnić możliwość wtłaczania do ich wnętrza próbek wody bez konieczności odkręcania butelki zastosowane zostały specjalne nakrętki z króćcami przyłączeniowymi. Przykładowe zdjęcia elementów zostały zaprezentowane na Rys. 58. Do budowy układu zastosowano zgodnie z założeniami butelki o pojemności 100 ml.



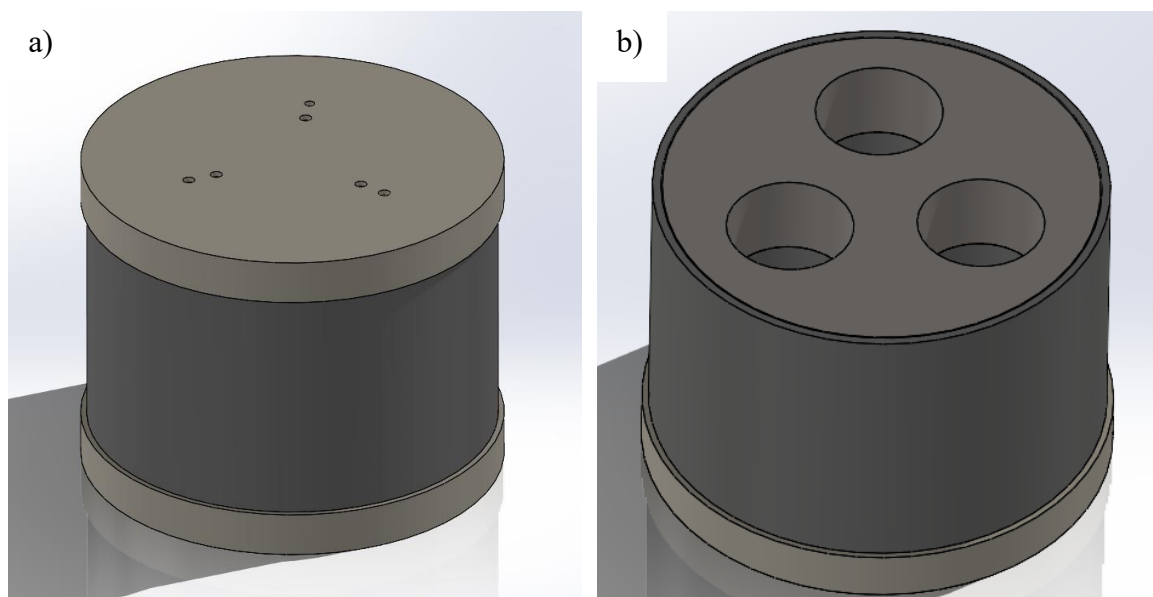
Rys. 58. a) butelka szklana z gwintem GL-45 [112], b) zakrętka z króćcami [113]

Zachowanie czystości mikrobiologicznej wymaga braku dostępu powietrza do cieczy wewnątrz butelki. Zanieczyszczone powietrze mogłoby doprowadzić do tego, że próbki wody stały by się bezużyteczne. Wcześniej wspomniane zakrętki do butelek posiadają dwa króćce, na jednym z nich przeznaczonym do odpowietrzania butelki umieszczony został filtr sterylny 0,2 μm , dzięki któremu zapewniona jest sterylność wewnątrz butelki. Dodatkowo, żeby uniknąć ruchu cieczy lub powietrza w kierunku przeciwnym do przepompowywania cieczy do butelek na drugim z króćców umieszczony został membranowy filtr zwrotny, oba elementy zaprezentowane zostały na Rys. 59.

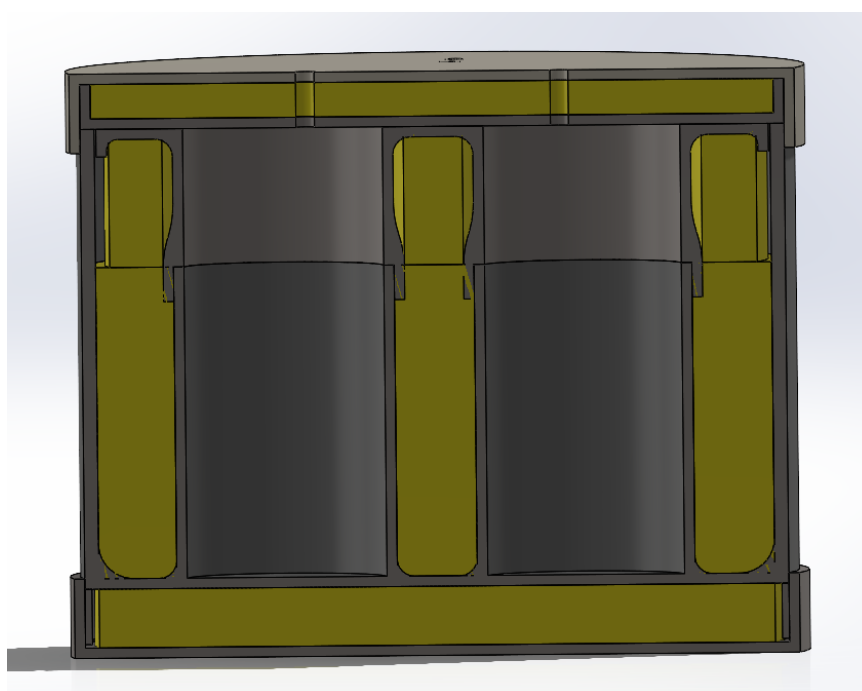


Rys. 59. a) strzykawkowy filtr sterylny 0,2 μm [114], b) membranowy filtr zwrotny [115]

Kolejnym krokiem było zaprojektowanie pojemnika, w którym przechowywane miały być butelki. Został on zaprojektowany w środowisku CAD z wykorzystaniem programu Solidworks. Zgodnie z założeniami miał mieścić 3 butelki oraz zapewniać izolację termiczną, a przy tym być nieprzeźroczystym. Projekt został podzielony na dwie części; zaprojektowana została obudowa do wyprodukowania z wykorzystaniem technik przyrostowych, a zaprojektowane wolne przestrzenie miały być wypełnione pianą poliuretanową, by zapewnić izolację termiczną. Na koniec ze względu na nieprzeprowadzenie badań związanych z wpływem nadtlenu wodoru podczas procesu dezynfekcji cała pianę zamknięto w taki sposób, żeby obudowa z PET-G nie pozwalała na dostęp środka dezynfekcyjnego. Projekt pojemnika został przedstawiony na Rys. 60 oraz na Rys. 61.

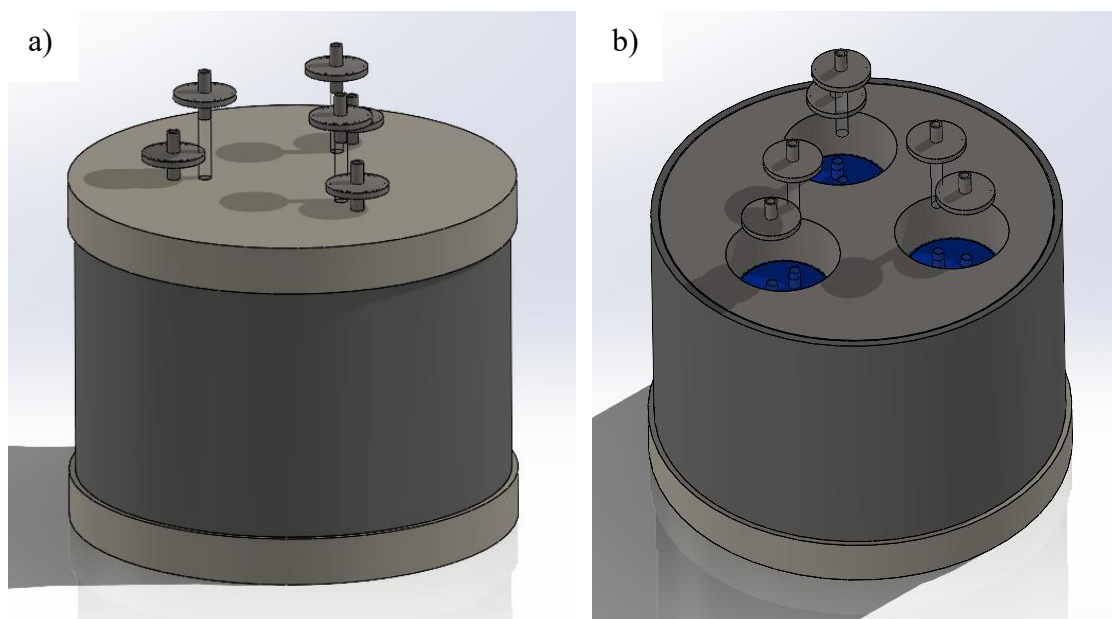


Rys. 60. Pojemnik transportowy, a) w pełni zamknięty, b) ze zdjętą pokrywą



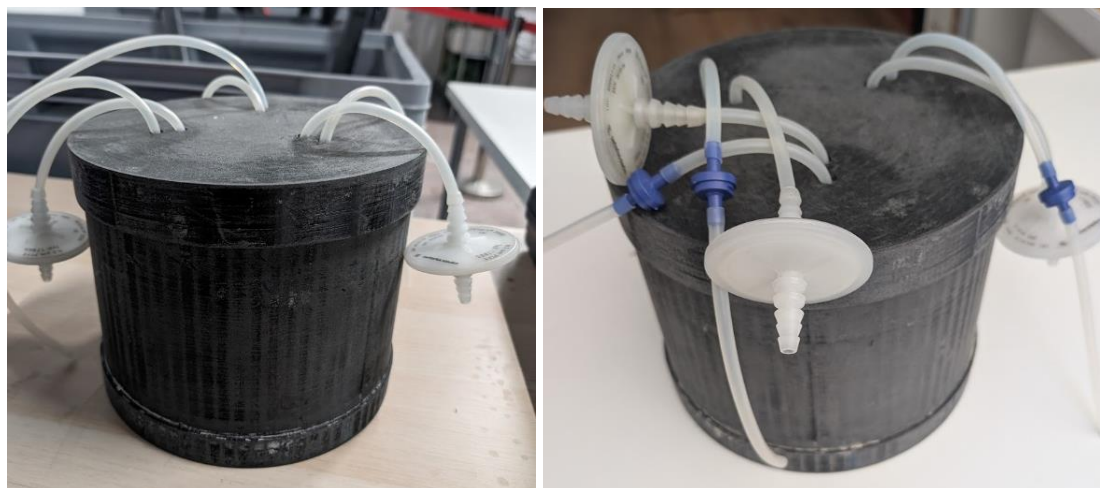
Rys. 61. Pojemnik transportowy w przekroju, elementy szare - materiał PET-G, elementy żółte - materiał piana poliuretanowa

Dla weryfikacji wymiarów oraz eliminacji kolizji elementów wykonany został model złożeniowy systemu pobierania próbek składający się ze wszystkich elementów wspomnianych wcześniej, model został przedstawiony na Rys. 62.



Rys. 62. Model złożeniowy systemu transportowania próbek wody, a) pojemnika zamknięty, b) pojemnik bez pokryw

Po weryfikacji zgodnie z założeniami wykonany został prototyp gotowy do testów. Luki powietrzne wypełnione zostały pianą poliuretanową niskoprężną, a obudowa została wykonana z materiału PET-G na drukarce 3D. Elementy układu przepompowywania cieczy zostały wykonane z wykorzystaniem wężyków silikonowych, które z założenia mają być sterylizowane w autoklawie razem z butelkami. Gotowy układ przedstawiono na Rys. 63.



Rys. 63. Prototyp układu do transportowania próbek wody

7.3. Opis oraz procedura badań dla opracowanego systemu do transportowania próbek wody

Eksperymenty związane z oceną jakościową opracowanego systemu transportowania próbek wody podzielone zostały na dwie osobne części. Pierwsza część dotyczyła weryfikacji czy konstrukcja systemu pozwala na przepompowanie wody do sterylnych butelek bez możliwości narażenia próbek wody na kontaminację mikrobiologiczną (kontakt z powietrzem).

Natomiast druga część polegała na zbadaniu stabilności temperaturowej próbek podczas obecności w warunkach podwyższonej temperatury.

7.3.1. Weryfikacja czystości mikrobiologicznej próbek po przepompowaniu próbek wody do układu

Do weryfikacji czystości mikrobiologicznej próbek wykonane zostało stanowisko badawcze składające się z następujących elementów:

- trzy butelki szklane o pojemności 100 ml wraz zakrętkami z króćcami przyłączeniowymi,
- butelki szklanej o pojemności 250 ml z zakrętką z króćcami przyłączeniowymi,
- pompy perystaltycznej,
- wężyków silikonowych oraz rurek wykonanych z polietylenu do połączeń między butelkami i pompą.

Przed rozpoczęciem eksperymentu wszystkie elementy układu zostały poddane procesowi sterylizacji w autoklawie w temperaturze 121 °C. Użyta w eksperymencie została woda dejonizowana poddana również sterylizacji w autoklawie dla zapewnienia czystości mikrobiologicznej medium. Na króćcu wchodzącym do pompy perystaltycznej umieszczony został strzykawkowy filtr sterylny 0,2 µm, do wyjścia pompy podłączony został króciec butelki zasilającej układ w sposób umożliwiający wytworzenie w butelce nadciśnienia, które wymusiło transport cieczy do butelek na próbki. Układ butelek na próbki był analogiczny do systemu opisanego w poprzednim podrozdziale. System podczas przepompowywania wody do butelek na próbki przedstawiony został na Rys. 64.

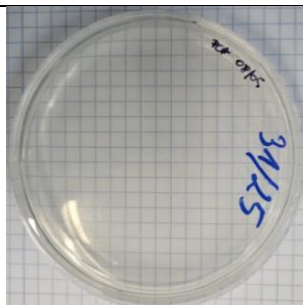
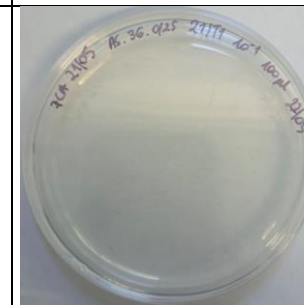
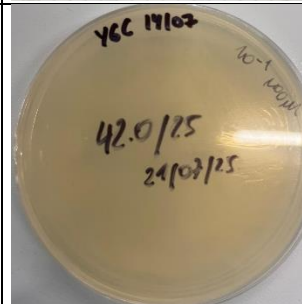
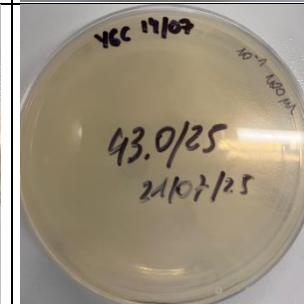


Rys. 64. Stanowisko eksperymentalne do badania czystości mikrobiologicznej

Po przepompowaniu wody do butelek zostały one pozostawione w niesterylnym środowisku na 48 godzin, by w razie nieprawidłowości wykonania układu próbki zostały zanieczyszczone i rozwinęły się w wodzie mikroorganizmy. Po zakładanym czasie z butelek pobrane zostały próbki wody i wykonane zostały posiewy mające na celu weryfikację obecności w próbkach bakterii oraz drożdży i pleśni. Posiewy na ogólną liczbę mikroorganizmów wykonane zostały na podłożu PCA w temperaturze 30°C przez 48 godzin, natomiast posiewy na obecność grzybów i pleśni wykonane zostały na podłożu YGC agar w temperaturze 25 °C przez 72 godziny. Zostały wykonane trzy powtórzenia dla każdej grupy. Dodatkowo prowadzona była weryfikacja sterylności podłoży.

Fotografie posiewów zaprezentowane zostały w Tab. 25.

Tab. 25. Posiewy na obecność mikroorganizmów oraz grzybów i pleśni

	Próbka nr 1	Próbka nr 2	Próbka nr 3
Posiew na ogólną liczbę mikroorganizmów			
Posiew na liczbę grzybów i pleśni			

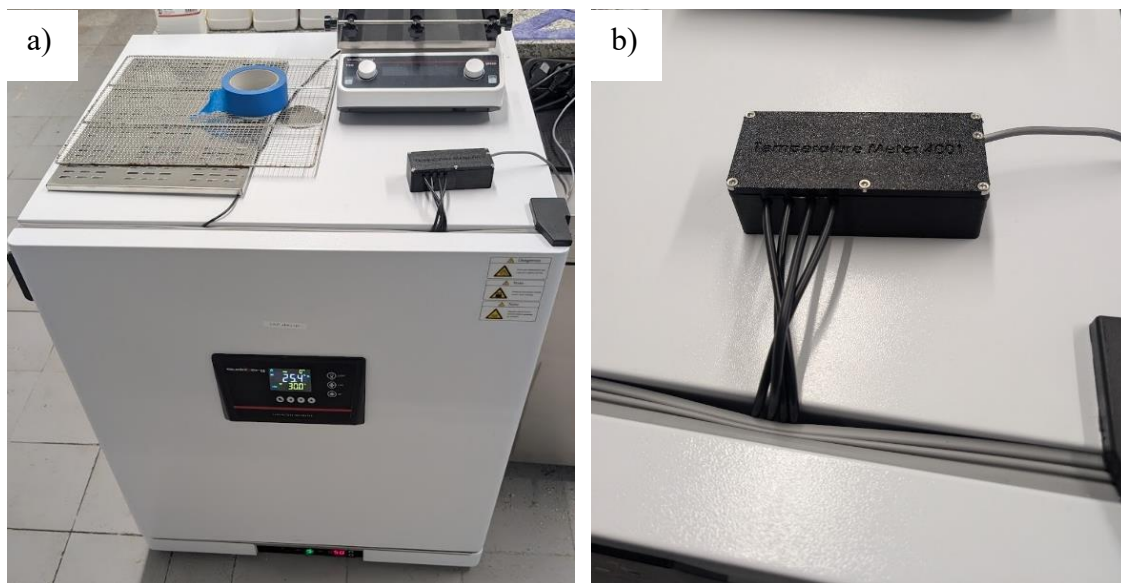
We wszystkich wykonanych posiewach nie wykryto obecności mikroorganizmów, przyjąć zatem można, że całość procesu przepompowywania wody wykonana została z zachowaniem czystości mikrobiologicznej, co było celem układu.

7.3.2. Weryfikacja stabilności temperaturowej próbek w warunkach podwyższonej temperatury

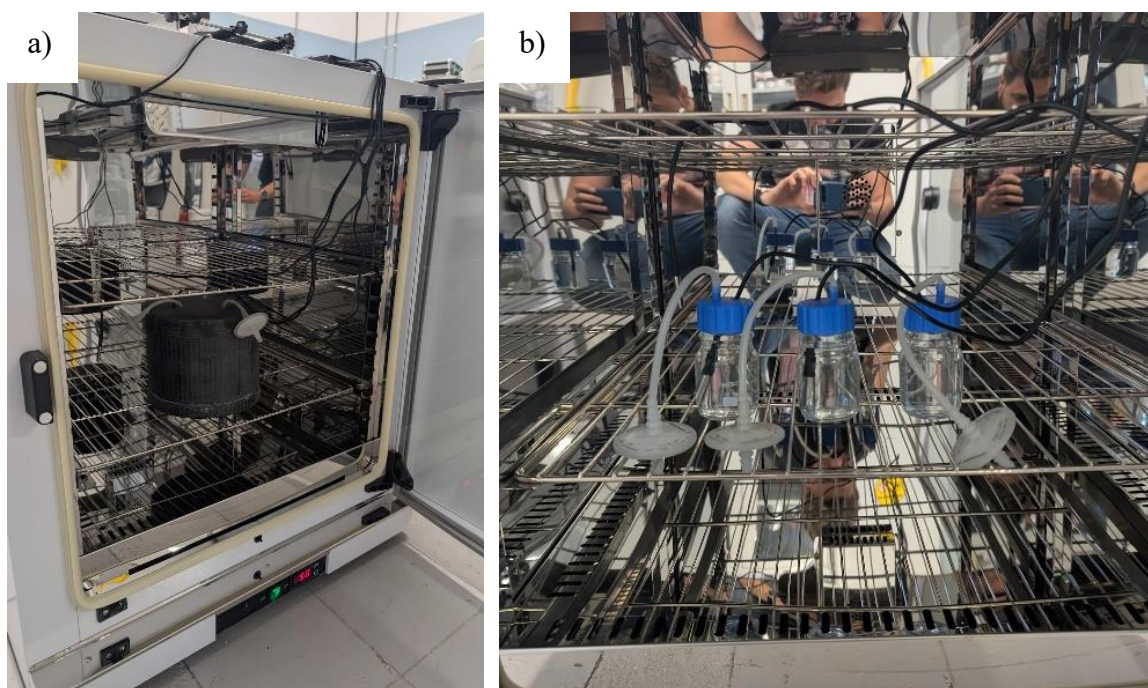
Stabilność temperaturowa próbek podczas transportu jest ważnym aspektem całego systemu. Wykonany został eksperyment mający na celu weryfikację wzrostu temperatury próbek w warunkach podwyższonej temperatury. Opracowany został układ elektroniczny mierzący temperaturę w czterech punktach z wykorzystaniem sond DS18B20, całość została zintegrowana z wykorzystaniem mikrokontrolera opartego o procesor ESP32-S3. Sondy zostały skalibrowane, by odczyty na poszczególnych sondach były takie same.

Trzy sondy temperaturowe umieszczone zostały w butelkach z wodą, a jedna z nich mierzyła temperaturę wewnątrz pieca. Wykonane zostały dwa pomiary, jeden, gdzie butelki umieszczone były bezpośrednio w piecu, a drugi, gdy butelki umieszczone zostały w opisanej w poprzednim podrozdziale obudowie termicznej. Temperatura wewnątrz pieca wynosiła

30 °C w obu przypadkach. Fotografie przedstawiające stanowisko eksperymentalne umieszczone zostały na Rys. 65 oraz Rys. 66.

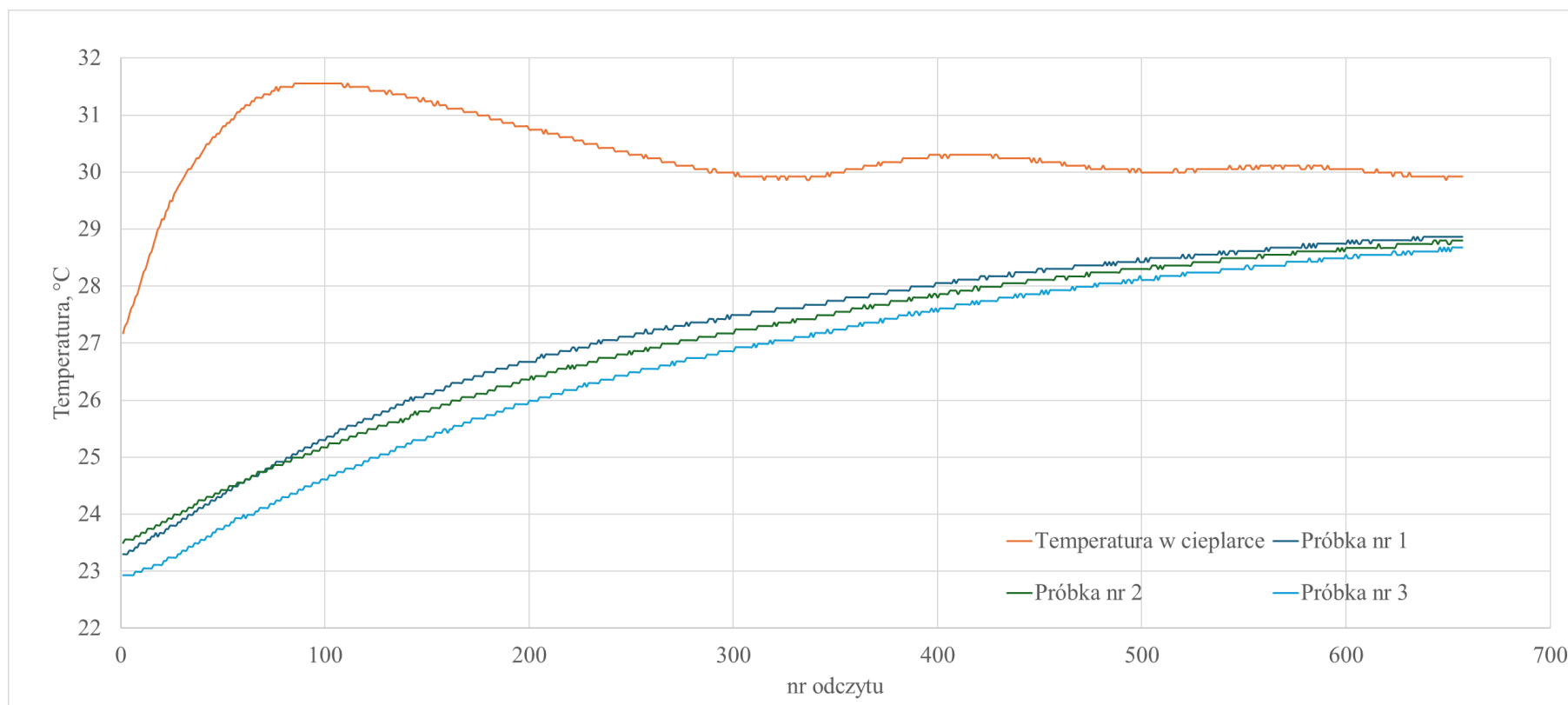


Rys. 65. Stanowisko do badania stabilności temperaturowej próbek, a) cieplarka, b) układ pomiaru temperatury



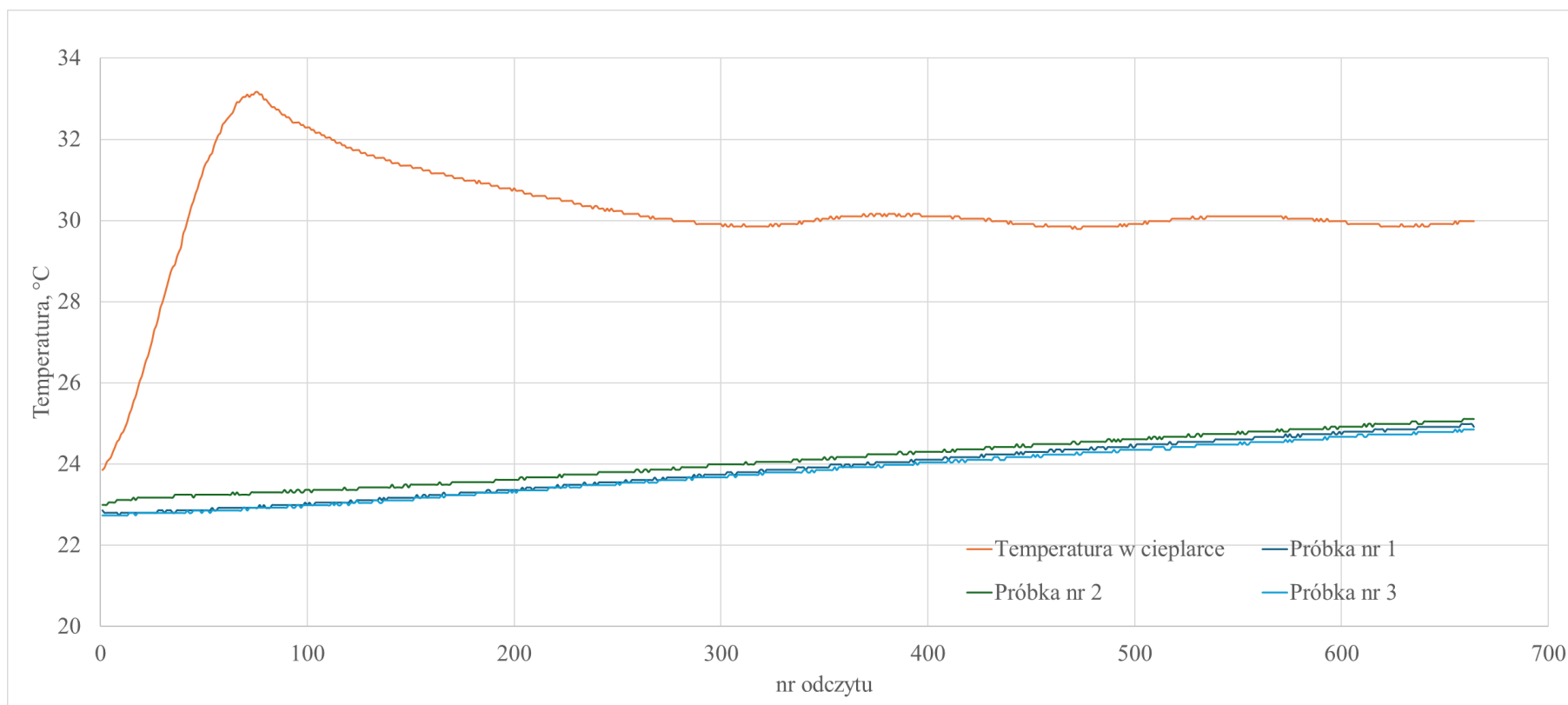
Rys. 66. Próbki umieszczone w cieplarni, a) próbki w obudowie termicznej, b) próbki bez obudowy termicznej

Eksperyment trwał dwie godziny, w tym czasie rejestrowane były co 10 sekund odczyty temperatury, charakterystykę temperaturową dla próbek bez pojemnika termicznego zaprezentowano na Rys. 67



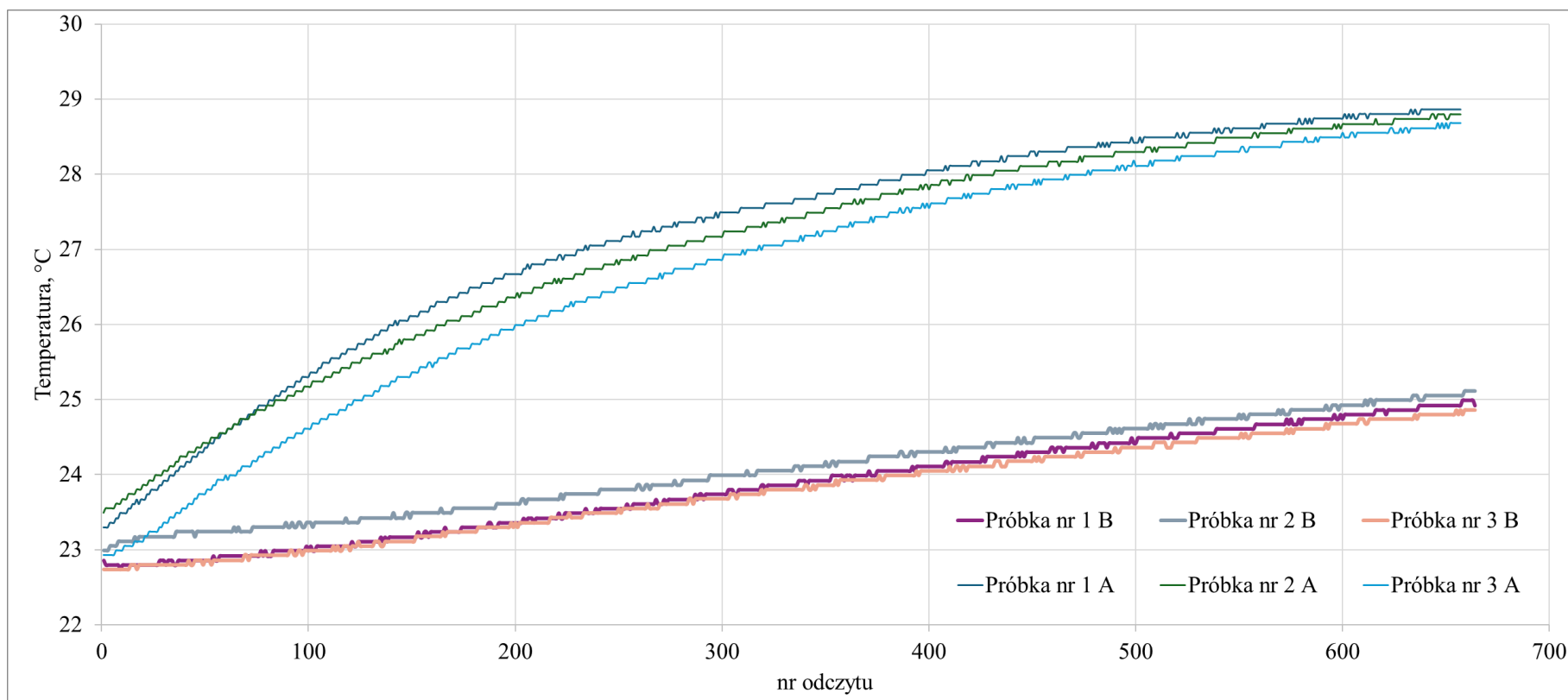
Rys. 67. Rejestracja temperatury - próbki w butelkach bez obudowy termicznej

Po dwóch godzinach ekspozycji temperatura próbek wzrosła od około 23-23,5°C do niemalże 28 °C. Wykres prezentujący pomiary temperatury dla próbek umieszczonych w obudowie termicznej zaprezentowano na Rys. 68.



Rys. 68. Rejestracja temperatury - próbki w butelkach w obudowie termicznej

W przypadku zastosowania obudowy termicznej temperatura wzrosła od około 23°C do około 25 °C. Na Rys. 69 zaprezentowano wykres wskazujący różnice w krzywych wzrostu temperatury podczas obu przebiegów.



Rys. 69. Wykres prezentujący krzywe wzrostu temperatury, A - próbki bez obudowy termicznej, B - próbki w obudowie termicznej

Zauważyć można, że próbki umieszczone w obudowie termicznej zostały ogrzane do temperatury niższej o około 3 stopnie, krzywa jest również bardziej liniowa co jest dodatkowym aspektem pozytywnym, ponieważ próbki nie są narażone na skoki temperaturowe, które mogłyby wpłynąć negatywnie na stan próbek.

7.4. Podsumowanie rozdziału i wnioski

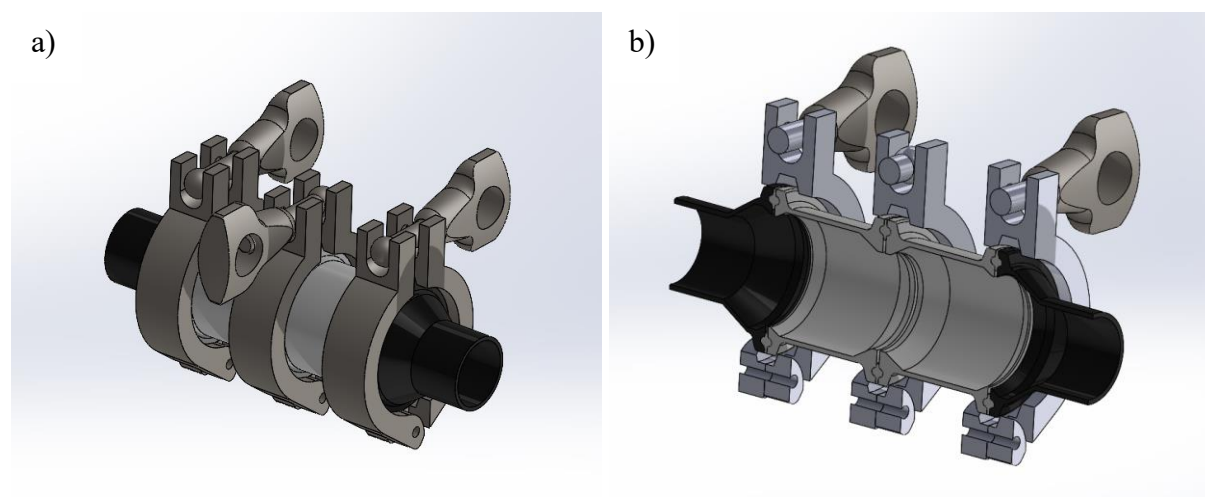
Opracowany system transportowania próbek wody miał spełniać kryteria wymienione na początku rozdziału. Przeprowadzone eksperymenty potwierdzają spełnienie tych kryteriów. Eksperyment związany z czystością mikrobiologiczną wykazał, że podczas przepompowywania medium do butelek umieszczonych w systemie transportowania próbek nie dochodzi do kontaminacji mikrobiologicznej próbek (kontakt z powietrzem). Eksperyment z badania stabilności temperaturowej próbek wykazał, że podczas dwugodzinnej ekspozycji na temperaturę 30 °C, próbki w obudowie termicznej zostały ogrzane w mniejszym stopniu, co spełnia założenia projektu.

8. Metoda zateżania materiału biologicznego z wody z wykorzystaniem membran mechanicznych

8.1. Projekt uproszczonego prototypu systemu zateżania materiału biologicznego z wody

Poprzedni eksperyment wykazał skuteczność opracowanej metody zateżania materiału biologicznego na membranie wykonanej w włókniny polipropylenowej. W dalszych etapach pracy przedstawione zostały modyfikacje układu zateżania oraz wielokrotne powtórzenia eksperymentu dla potwierdzenia skuteczności układu uproszczonego. Walidacja na podstawie dalszych eksperymentów pozwoliła stwierdzić czy stawiane w pracy tezy są właściwe. Dalsze prace nad systemem polegały na uproszczeniu urządzenia mające na celu jego miniaturyzację oraz zmniejszenie kosztu wytworzenia. Celem pracy było opracowanie systemu pobierania próbek co zostało osiągnięte, natomiast możliwość wielokrotnego zateżania organizmów na membranie i skuteczna ich ekstrakcja spowodowały rozszerzenie zakresu pracy oraz opracowanie prostszego układu.

Założenia konstrukcyjne układu zostały niezmiennie, wykorzystane w dalszych prototypach materiały oraz elementy systemu spełniały pierwotną koncepcję, natomiast w układzie uproszczonym zostanie zlikwidowana możliwość dezynfekcji układu w miejscu poboru próbek na rzecz dezynfekcji w laboratorium podczas wymiany membrany, która w tym wariantcie jest jednorazowa. Zaprojektowany został układ w oparciu o przemysłowy sposób łączenia tri-clamp. Zaprojektowany układ przedstawiono na Rys. 70.



Rys. 70. Projekt uproszczonego układu zateżającego, a) widok izometryczny, b) widok izometryczny w przekroju

8.2. Przedstawienie oraz analiza wyników eksperymentu z wykorzystaniem prototypu uproszczonego układu

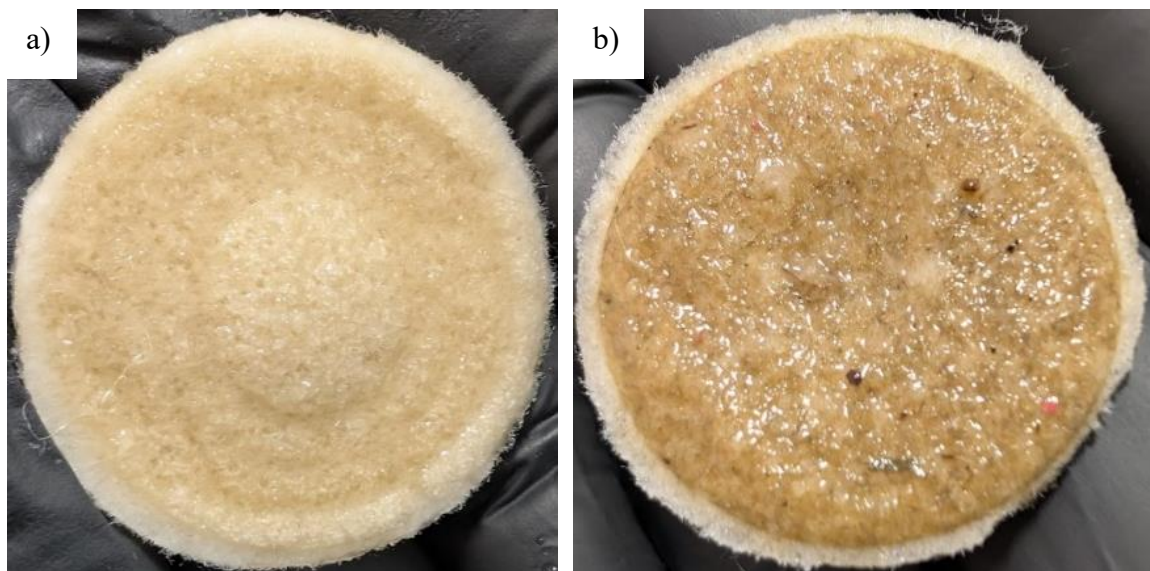
Przygotowany układ został wykonany oraz zintegrowany z używanym wcześniej układem symulującym Recyrkulacyjny System Akwakulturowy.

W eksperymencie założono identyczny czas pompowania wody w układzie jak w przypadku pierwszego eksperymentu, to jest 4 godziny ze względu na założenia projektu. Proces przygotowania inokulum oraz roztworu w objętości układu przebiegał analogicznie do poprzedniego eksperymentu. Na Rys. 71 przedstawiony został układ podczas pracy.



Rys. 71. Fotografie prezentujące uproszczony układ do pobierania próbek biologicznych podczas pracy

Podczas eksperymentu ze względu na mniejszy przekrój poprzeczny układu zatężającego, a przede wszystkim mniejszy rozmiar membrany i jej zatykanie się filmem bakteryjnym spowodowały, że ilość wody przepompowanej przez układ wyniosł 1200 litrów. Na Rys. 72 przedstawiono fotografie membrany po procesie zatężania.



Rys. 72. Fotografie przedstawiające membranę po procesie zatężania, a) membrana po stronie wylotowej, b) membrana po stronie wlotowej

Membrana pokryła się filmem bakteryjnym w bardzo wysokim stopniu. Podobnie jak w poprzednim eksperymencie wykonane zostały testy API, pomiar gęstości optycznej oraz wyznaczenie CFU/ml próbek. Próbka nr 1 była próbką pobraną z układu po dodaniu i rozmieszaniu inokulum, próbka nr 2 była przygotowanym tak jak w poprzednim eksperymencie medium z wyekstrahowanym filmem bakteryjnym, wyniki testów API zaprezentowano na Rys. 73 oraz w Tab. 26.



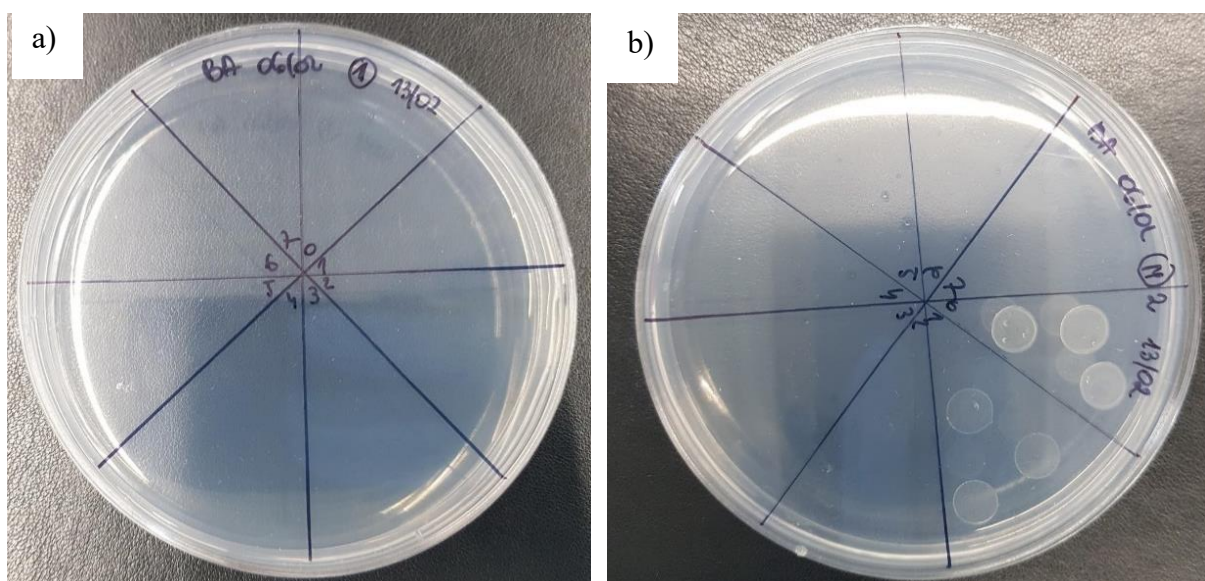
Rys. 73. Testy API wykonane podczas eksperymentu zatężania z wykorzystaniem układu uproszczonego

Tab. 26. Wyniki testów API dla eksperymentu z uproszczonym układem zatężania

Test	Próbka 1			Próbka 2		
	1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3
GLU	-	-	-	+	+	+
ADH	-	-	-	-	-	-
URE	-	-	-	-	-	-
ESC	-	-	-	+	+	+
GEL	-	+	-	+	+	+
PNPG	-	-	-	+	+	+
GLU	-	+	+	+	+	+
ARA	-	-	-	+	+	+
MNE	-	-	-	+	+	+
MAN	-	-	-	+	+	+
NAG	-	-	-	-	-	-
MAL	-	-	-	-	-	-
GNT	-	+	+	+	+	+
CAP	-	-	-	+	+	+

Test	1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3
ADI	-	-	-	-	-	-
MLT	+	+	+	+	+	+
CIT	+	-	+	+	+	+
PAC	-	-	-	-	-	-

Podczas powyższego eksperymentu testy API wykazały obecność bakterii w medium, poniżej zaprezentowane zostaną wyniki z pomiarów liczebności bakterii w obu próbkach. Na Rys. 73 zaprezentowano szalki z posiewami bakteryjnymi dla obu próbek.



Rys. 74. Szalki z posiewami bakteryjnymi – eksperyment z uproszczonym układem zateżania

Wyniki pomiarów gęstości optycznej oraz liczebności CFU/ml przedstawiono w tabelach Tab. 27 oraz Tab. 28.

Tab. 27. Wyniki pomiarów gęstości optycznej dla próbek z eksperymentu z wykorzystaniem uproszczonego układu

Numer próbki	McFarland	OD600
1	0,01	0,0025
2	0,12	0,03

W eksperymencie mierzona była gęstość w jednostkach McFarlanda, została ona również przeliczona na wartość OD600 z wykorzystaniem odpowiednich tabel przeliczeniowych [116].

Tab. 28. Wynik pomiarów CFU/ml dla próbek z eksperymentu z wykorzystaniem uproszczonego układu

Numer próbki	CFU/mL
1	$6,7 \times 10^3$
2	$1,82 \times 10^6$

Efekty uzyskane podczas eksperymentu z wykorzystaniem układu o mniejszym przekroju poprzecznym okazały się gorsze niż w przypadku poprzedniego eksperymentu. Udało się uzyskać zanieczyszczenie bakterii wyższe o niecałe trzy rzędy wielkości względem próbki kontrolnej. Wynik ten nie spełnia założeń metody, dlatego układ został zmodyfikowany i wykonane zostały dodatkowe eksperymenty.

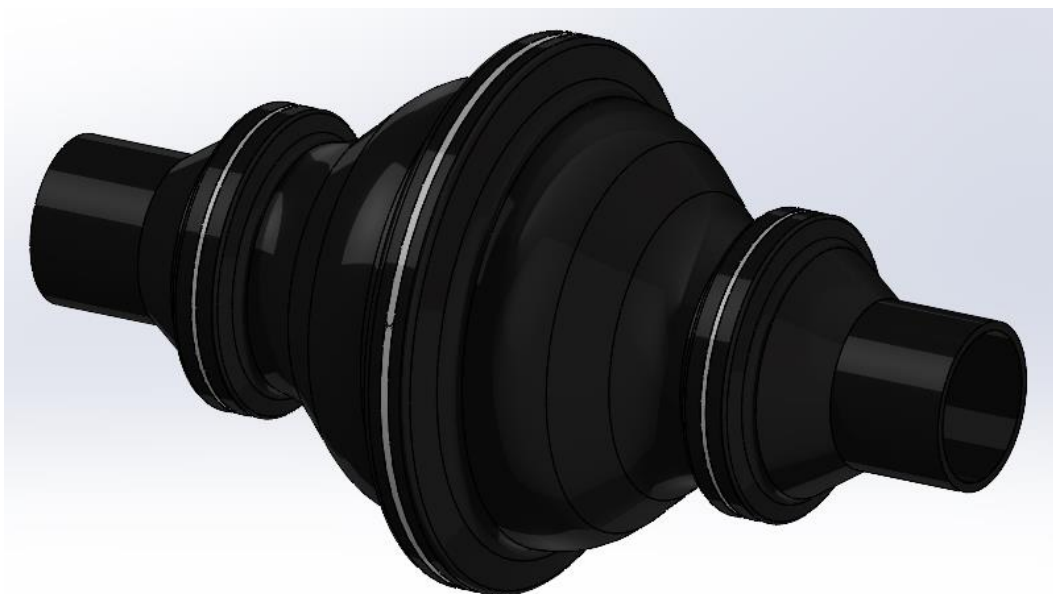
8.3. Projekt finalnego prototypu systemu zanieczyszczenia materiału biologicznego z wody

Ze względu na zbyt małą powierzchnię membrany w uproszczonym prototypie wykonane zostały zmiany projektowe. Zwiększenie powierzchni membrany wymagało przeprojektowania komory zanieczyszczającej oraz jej ponowne wykonanie. Dodatkowo zastosowane zostały uszczelnienia ze zintegrowaną siatką stalową, która stanowiła lepszy sposób mocowania membrany w komorze, uszczelka została przedstawiona na Rys. 75:

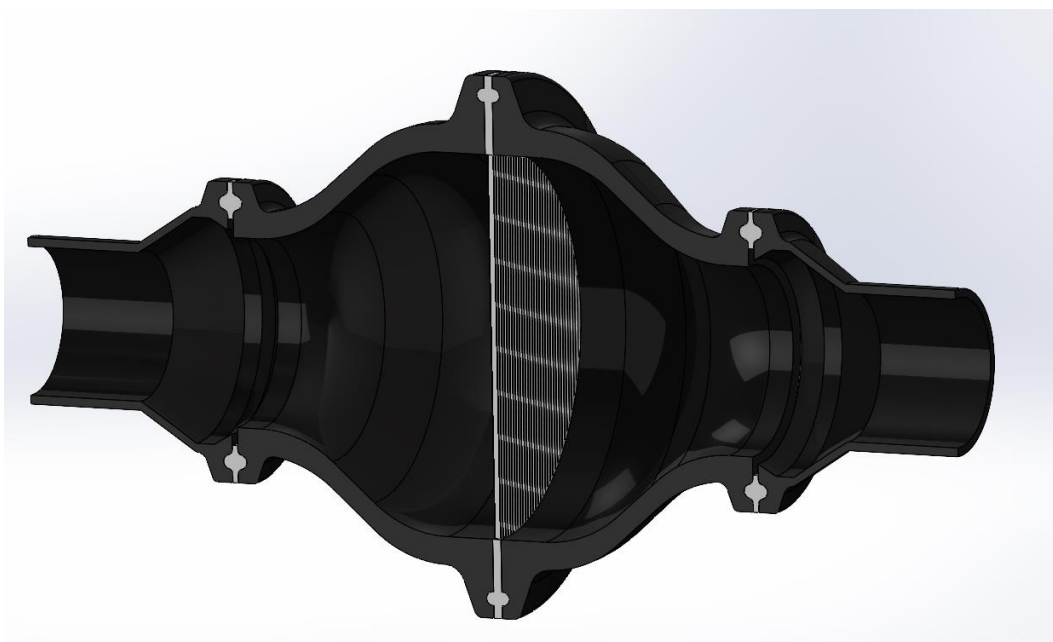


Rys. 75. Uszczelka tri-clamp z siatką stalową [117]

Projekt finalnego prototypu zaprezentowany został na Rys. 76 oraz Rys 77.



Rys. 76. Projekt finalnego prototypu komory zatężającej



Rys. 77. Projekt finalnego prototypu komory zatężającej w przekroju

Przygotowany układ został zintegrowany wraz z istniejącą infrastrukturą oraz przeprowadzone zostały eksperymenty z zatężaniem materiału biologicznego.

8.4. Przedstawienie oraz analiza wyników eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu

Ekspertyment przeprowadzony na finalnym prototypie układu do pobierania próbek biologicznych został powtórzony kilkakrotnie. Wyniki zostały zaprezentowane oraz omówione w kolejnych podrozdziałach. Sposób przeprowadzanych eksperymentów, przygotowanie układu oraz część pomiarowa pozostały niezmiennie względem poprzednich eksperymentów. Czas pompowania wody przez układ wynosił 4 godziny. W przypadku finalnego prototypu w tym czasie przez układ przepompowywane było około 2000 litrów wody. W przypadku serii

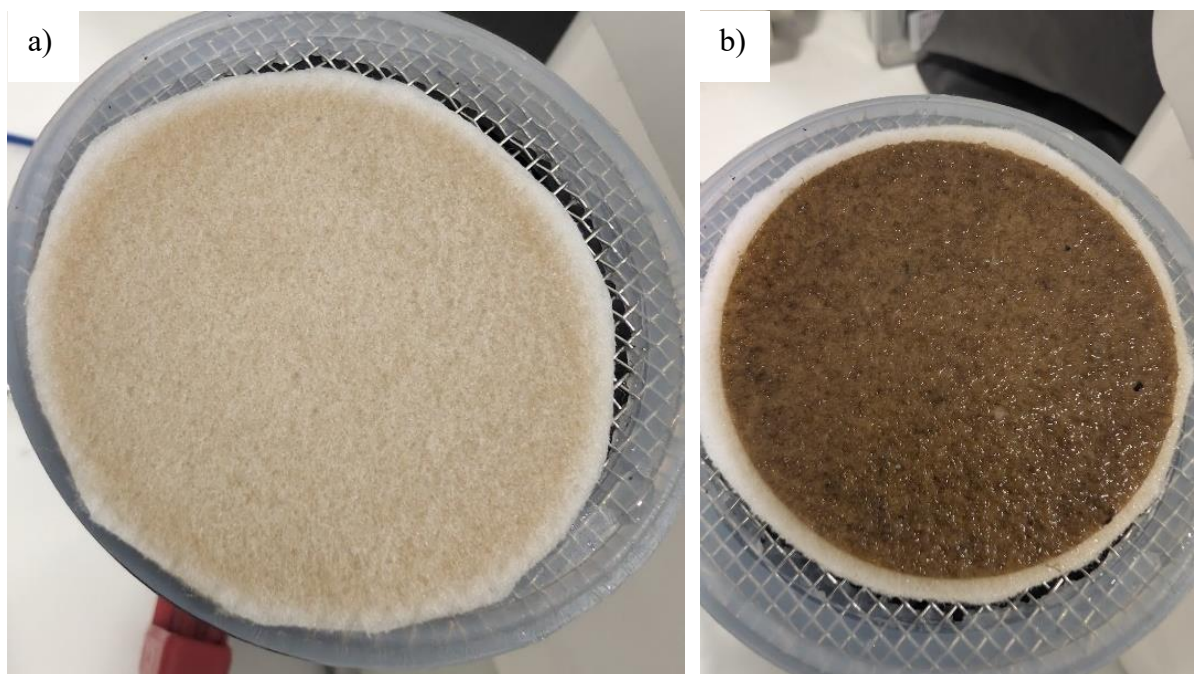
eksperymentów nie zostały wykonane testy API, weryfikowana była jedynie gęstość optyczna oraz liczebność komórek CFU/mL. Na Rys. 78 przedstawiono fotografie układu podczas pracy.



Rys. 78. Układ finalnego prototypu układu zatężania próbek biologicznych podczas pracy

8.4.1. Proces zatężania próbek biologicznych z wykorzystaniem finalnego prototypu – powtórzenie nr 1

Membrana po procesie zatężania była pokryta warstwą filmu bakteryjnego, membrana została zaprezentowana na Rys. 79. Wyniki eksperymentu nr 1 przedstawione zostały w tabelach Tab. 29 oraz Tab. 30. Zaprezentowane również zostały fotografie posiewów bakteryjnych na Rys. 80.



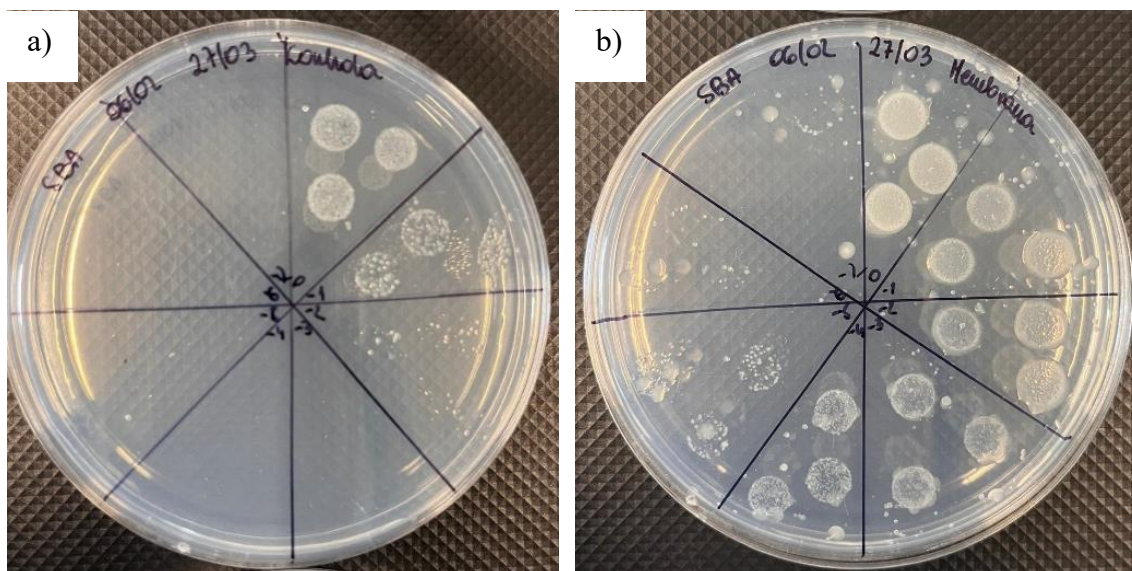
Rys. 79. Membrana po procesie zatężania - eksperyment z finalnym prototypem powtórzenie nr 1. a) membrana po stronie wylotowej, b) membrana po stronie wlotowej

Tab. 29. Gęstość optyczna - powtórzenie nr 1 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zateżniania próbek biologicznych

Numer próbki	McFarland	OD600
1	0,00	0,00
2	6,87	1,72

Tab. 30. Liczebność bakterii - powtórzenie nr 1 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zateżniania próbek biologicznych

Numer próbki	CFU/mL
1	$1,43 \times 10^5$
2	$7,5 \times 10^8$



Rys. 80. Szalki z posiewami bakteryjnymi. a) próbka kontrolna, b) próbka po zateżnieniu. Powtórzenie nr 1 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zateżniania próbek biologicznych

Powtórzenie nr 1 eksperymentu dało efekty pozytywne. osiągnięto zwiększenie stężenia mikroorganizmów o prawie 4 rzędy wielkości co jest zgodne z założeniami projektu.

8.4.2. Proces zateżniania próbek biologicznych z wykorzystaniem finalnego prototypu – powtórzenie nr 2

W przypadku eksperymentu nr 2 oraz nr 3 w badaniach wprowadzone zostały modyfikacje pozwalające uzyskać więcej informacji na temat pracy układu zateżniania. Parametry procesu pozostały niezmiennie, do układu dodany został czujnik ciśnienia Endress+Hauser PMP131. Pozwoliło to zweryfikować wartości ciśnienia przed membraną, parametr ten pozwolił określić zdolność układu do samoregulacji oraz pozwolił stwierdzić, że występujące w układzie membranowym ciśnienia nie są zagrożeniem dla życia bakterii. Wysokie ciśnienie mogłoby doprowadzić do zabicia lub stresowania bakterii, a w konsekwencji

mogłoby to doprowadzić do zmniejszonego tempa rozwoju bakterii podczas posiewów bakteryjnych co dawałoby przekłamania w wynikach pomiarów metoda Milesa-Misra. Modyfikacja układu została zaprezentowana na Rys. 81. Dodatkowo zweryfikowano czy woda, która używana była do napełniania zbiorników nie była zanieczyszczona mikrobiologicznie, co również mogłoby wpływać negatywnie na rzetelność wyników. W tym celu pobrana została również próbka wody bezpośrednio ze zbiornika przed dodaniem inokulum bateryjnego, próbka została zbadana w takim sam sposób jak pozostałe.



Rys. 81. Układ zmodyfikowany poprzez dodanie czujnika ciśnienia dla powtórzeń nr 2 oraz nr 3 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu zażęzania próbek biologicznych

Fotografię membrany po procesie zażęzania przedstawiono na Rys. 82.



Rys. 82. Membrana po procesie zateżania - eksperyment z finalnym prototypem powtórzenie nr 2

Wyniki z pomiarów gęstości optycznej oraz liczebności bakterii przedstawiono w Tab. 31 oraz w Tab. 32, próbka nr 1 była próbką pobraną przed dodaniem inokulum, próbka nr 2 była próbką pobraną po dodaniu inokulum do układu, próbka nr 3 została pobrana po ekstrakcji filmu bakteryjnego z membrany.

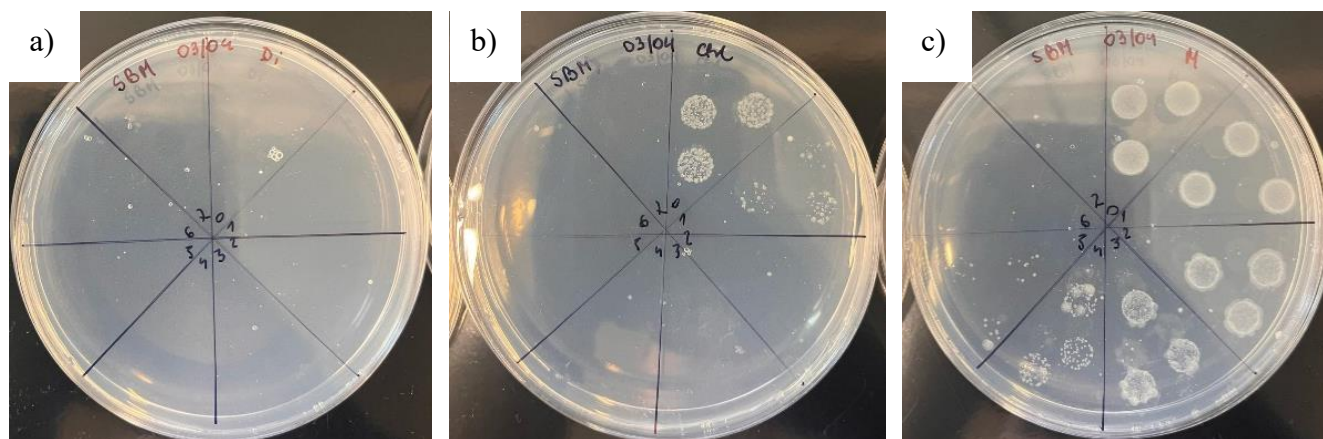
Tab. 31. Gęstość optyczna - powtórzenie nr 2 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zateżania próbek biologicznych

Numer próbki	McFarland	OD600
1	0,00	0,00
2	0,00	0,00
3	2,00	0,5

Tab. 32. Liczebność bakterii - powtórzenie nr 2 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zateżania próbek biologicznych

Numer próbki	CFU/mL
1	$2,34 \times 10^2$
2	$3,22 \times 10^4$
3	$9,67 \times 10^7$

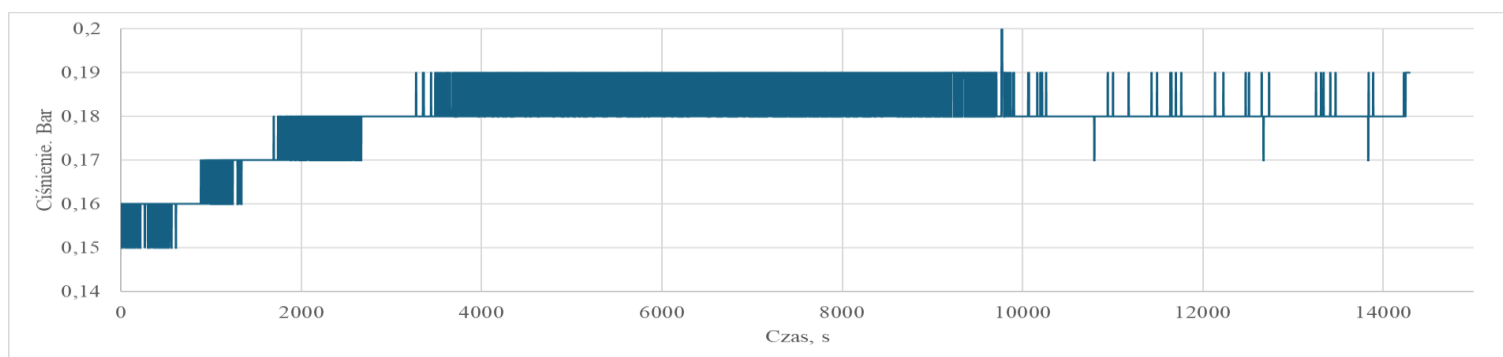
Na Rys. 83 zaprezentowano szalki z posiewami bakteryjnymi dla powtórzenia nr 2.



Rys. 83. Szalki z posiewami bakteryjnymi. a) próbka kontrolna przed dodaniem inokulum, b) próbka kontrolna po dodaniu inokulum, c) próbka po zateżaniu. Powtórzenie nr 2 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zateżania próbek biologicznych

Badanie próbki kontrolnej przed dodaniem inokulum wykazało, że próbka nie była nadmiernie zanieczyszczona. Występowanie bakterii w próbce wynika z zanieczyszczenia próbek z powietrza, nie wpływało to negatywnie na badania pozostałych próbek – pomiary można uznać za rzetelne. Stężenie próbki po zateżaniu wzrosła o prawie cztery rzędy wielkości, wynik uznany został za pozytywny i zgodny z projektem.

Przeprowadzono również dodatkowe pomiary ciśnienia wody przed membraną zateżającą, sprawdzenie tego parametru procesu miało za zadanie zweryfikowanie czy ciśnienie będzie wrastać wraz ze wzrostem stopnia zaklejenia membrany materiałem biologicznym. Dane uzyskane podczas wspomnianego pomiaru zaprezentowane zostały na wykresie na Rys. 84.



Rys. 84. Wykres prezentujący pomiar ciśnienia przed membraną podczas eksperymentu nr 2

Otrzymane rezultaty potwierdziły początkowe założenia projektowe, gdzie zastosowano by-pass w instalacji, który miał powodować, że ciśnienie przed membraną miało dochodzić do pewnej wartości oraz utrzymywać się na stałym, bezpiecznym dla mikroorganizmów poziomie. Wartości uzyskane w eksperymencie są na tyle niskie, że nie istnieje ryzyko wpływu ciśnienia na życie bakterii czy zmniejszenie ich reakcji metabolicznych. Pomiar ciśnienia został powtórzony w kolejnym eksperymencie dla potwierdzenia wyników.

8.4.1. Proces zatężania próbek biologicznych z wykorzystaniem finalnego prototypu – powtórzenie nr 3

Powtórzenie nr 3 wykonane było analogicznie do powtórzenia nr 2. Wszystkie parametry pozostały niezmiennie. Na Rys. 85 przedstawiono zdjęcia membrany po procesie zatężania.



Rys. 85. Membrana po procesie zatężania - eksperyment z finalnym prototypem powtórzenie nr 3

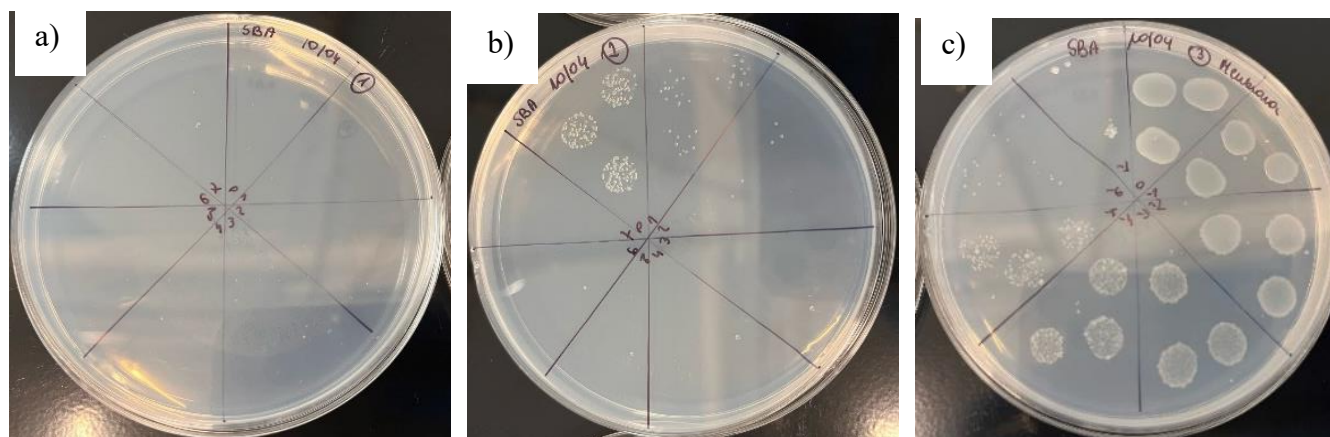
Wyniki z pomiarów gęstości optycznej oraz liczebności bakterii przedstawiono w Tab. 33 oraz w Tab. 34. Szalki z posiewami bakteryjnymi przedstawiono na Rys. 86.

Tab. 33. Gęstość optyczna - powtórzenie nr 3 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatężania próbek biologicznych

Numer próbki	McFarland	OD600
1	0,00	0,00
2	0,04	0,01
3	5,88	1,47

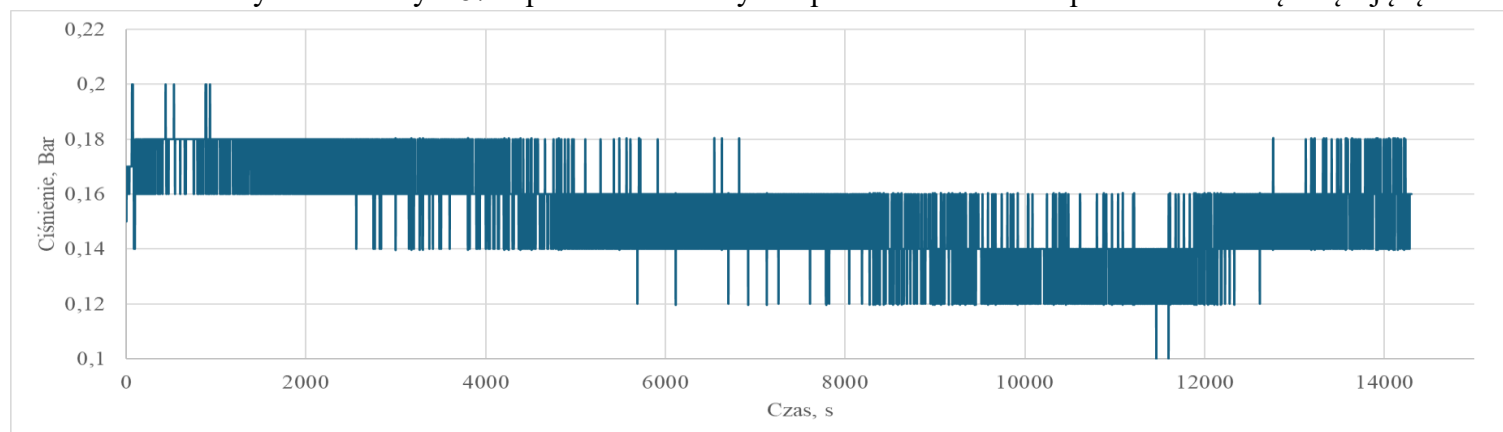
Tab. 34. Liczebność bakterii - powtórzenie nr 3 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatężania próbek biologicznych

Numer próbki	CFU/mL
1	0,00
2	$1,53 \times 10^4$
3	$6,2 \times 10^8$



Rys. 86. Szalki z posiewami bakteryjnymi. a) próbka kontrolna przed dodaniem inokulum, b) próbka kontrolna po dodaniu inokulum, c) próbka po zatężaniu. Powtórzenie nr 3 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatężania próbek biologicznych

Powtórzenie nr 3 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu układu do pobierania próbek biologicznych przebiegło pozytywnie. Wyniki zaprezentowane powyżej pokazują, że uzyskano zwiększenie stężenia mikroorganizmów o ponad cztery rzędy wielkości co jest spełnieniem warunków procesu. Również w tym powtórzeniu nie zaobserwowano znacznego zanieczyszczenia wody materiałem biologicznym przed dodaniem inokulum. Na wykresie na Rys. 87 zaprezentowano wyniki pomiarów ciśnienia przed membraną zatężającą.



Rys. 87. Wykres prezentujący pomiar ciśnienia przed membraną podczas eksperymentu nr 3

Powtórzenie pomiarów ciśnienia w eksperymencie nr 3 potwierdziło, że układ posiada zdolność do samoregulacji. Potwierdzono również, że ciśnienia, które występują w układzie są niskie i bezpieczne dla życia i tempa metabolizowania bakterii.

8.5. Podsumowanie rozdziału i wnioski

Na podstawie wyników oraz doświadczeń zebranych podczas realizacji eksperymentów związanych z opracowaniem metody pobierania próbek wody, stwierdzono, że układ może zostać uproszczony. W tym celu zaprojektowany został uproszczony układ do zatężania próbek biologicznych. Pierwsza iteracja prototypu nie przyniosła oczekiwanych rezultatów ze względu na przyjęcie zbyt małej średnicy membrany. Zbudowana druga wersja prototypu została poddana walidacji w postaci przeprowadzenia trzech powtórzeń eksperymentu. W każdym podejściu uzyskano zatężenie próbki o co najmniej 4 rzędy wielkości względem próbek referencyjnych. Przeprowadzona analiza ciśnienia przed membraną dowiodła, że opracowana metoda nie zagraża mikroorganizmom, gdyż wartości ciśnienia pozostają zbyt niskie, aby mogły negatywnie wpływać na ich przeżywalność lub metabolizm. Dzięki przeprowadzeniu dodatkowych badań dowiedziono, że możliwe jest zatężenie materiału biologicznego z wody w stopniu umożliwiającym wykrycie obecności mikroorganizmów z wykorzystaniem dostępnych komercyjnie testów, co było celem doktoratu.

9. Podsumowanie i wnioski

W toku realizacji pracy doktorskiej zrealizowano zakładane cele naukowe i użytkowe, a ponadto wykonano dodatkowe zadania nieuwzględnione w początkowym planie badań. Osiągnięcie założonych celów wymagało przeprowadzenia szeregu przedsięwzięć, analiz oraz eksperymentów, poniżej podsumowano efekty przeprowadzonych zadań badawczych.

Przeprowadzenie przeglądu literatury pod kątem historii ale przede wszystkim panujących trendów w hodowli akwakulturowej pozwoliło określić luki badawcze oraz zakres aplikacyjny pracy. Ze wszystkich analizowanych sposobów hodowli jedynie hodowla w systemach recyrkulacyjnych RAS ma perspektywę być wykorzystywaną w przyszłości ze względu na zmiany klimatyczne oraz kwestie związane z dostępnością mieszkańców do infrastruktury pozwalającej na inne typy hodowli. Z tego względu zdecydowano, że metoda pobierania próbek wody do wykrywania patogenów w akwakulturze powinna być przede wszystkim zintegrowana z Recyrkulacyjnymi Systemami Akwakulturowymi.

Opracowanie skutecznej metody dezynfekcji było pierwszym z wyzwań, które wymagało szeregu zadań badawczych. Pierwszym etapem było przeprowadzenie analizy literaturowej mającej na celu określenie jakie metody dezynfekcji są możliwe do zastosowania. W tym celu scharakteryzowano powszechnie znane metody i na tej podstawie wytypowano te, które miały możliwość aplikacji w przedmiotowym systemie. Wybrano 4 metody tj.: dezynfekcja promieniowaniem UV-C, dezynfekcja ozonem, dezynfekcja roztworem nadtlenku wodoru oraz dezynfekcja roztworem kwasu nadoctowego. Metody zostały sprawdzone pod kątem skuteczności dezynfekcji, w tym celu przeprowadzono eksperyment, który polegał na próbie dezynfekcji płytek wcześniej umieszczonych na 24 godziny w wodzie pobranej

z systemu RAS. Następnie przeprowadzono weryfikację obecności drobnoustrojów na płytkach po inkubacji. Osiągnięte rezultaty wskazały, że skuteczność była największa przy dezynfekcji z wykorzystaniem nadtlenku wodoru, natomiast dla potwierdzenia możliwości użycia metody w dalszym etapie prac przeprowadzono eksperymenty mające na celu weryfikację odporności materiałów konstrukcyjnych systemów RAS (wybranych tworzyw sztucznych) na wielokrotny proces dezynfekcji z wykorzystaniem wymienionych wyżej sposobów.

W rozdziale dotyczącym doboru materiału do konstrukcji prototypu systemu pobierania próbek wody, przeprowadzono analizę najczęściej używanych materiałów w systemach RAS. Na tej podstawie oraz analizy wytypowano 5 materiałów tj. PE, ABS, PVC, PETG oraz EPDM. Materiały poddane zostały symulacji wielokrotnego procesu dezynfekcji poprzez umieszczenie ich w środowisku odwzorowującym procesy na 8 dni co odpowiada około dwóm latom pracy systemu. Pierwszym przeprowadzonym eksperymentem było sprawdzenie wytrzymałości mechanicznej próbek po ekspozycji. Otrzymane wyniki wskazały, że wszystkie metody dezynfekcji nie miały znaczącego wpływu na materiały PETG, PE oraz PVC. W następnym kroku przeprowadzono weryfikację struktury materiałów oraz ich potencjalną degradację i ponownie nie stwierdzono znaczącego wpływu na materiały PETG, PE oraz PVC. Z tego powodu materiały te zostały wytypowane jako właściwe do wykonania elementów systemu.

Kolejnym założonym celem mającym na celu minimalizację wpływu na funkcjonujący system RAS było wybranie metody regulacji natężenia przepływu. Wybrany sposób powinien charakteryzować się jak najmniejszymi stratami ciśnienia (między innymi ze względu na koszty eksploatacyjne systemu). Po analizie problemu i weryfikacji istniejących rozwiązań wytypowano trzy sposoby regulacji tj. regulacja z wykorzystaniem regulatora mocy oraz

regulacja poprzez częściowe dławienie zaworów; gilotynowego i kulowego. Przeprowadzono eksperyment sprawdzający straty energii dla wymienionych sposobów i na podstawie wyników wybrano najbardziej korzystną metodę, czyli częściowe dławienie przepływu z wykorzystaniem zaworu gilotynowego.

Na podstawie wcześniejszych badań oraz założeń projektowych określono jakie funkcje musi posiadać układ do pobierania próbek. Opracowano koncepcję, a następnie z wykorzystaniem narzędzi do szybkiego prototypowania opracowano prototyp mający na celu weryfikację opracowanego projektu metody. Przeprowadzono analizę doboru membrany, na podstawie rozpoznania literaturowego oraz symulacji Metodą Objętości Skończonych. Na jej podstawie wybrano do eksperymentu membranę wykonaną z polipropylenu o strukturze chaotycznej i stopniu filtracji 1 μm . Weryfikacja skuteczności stworzonej metody potwierdzona została z wykorzystaniem kilku sposobów. Pobrane próbki sprawdzane były z wykorzystaniem paskowych testów API, wykonane zostały posiewy, a na ich podstawie wyznaczono liczbę mikroorganizmów oraz gęstość optyczną próbek. Wszystkie przeprowadzone testy pozwoliły potwierdzić skuteczność metody - osiągnięto zatężenie próbki o co najmniej 4 rzędy wielkości większe niż w zbiorniku przed procesem zatężania. Na tym etapie uznano, że konieczne jest zbudowanie drugiego prototypu, uproszczonego, który mógłby spełniać założenia projektowanej metody w stopniu wyższym niż uzyskane w tym eksperymencie wyniki.

Istotnym elementem metody było opracowanie sposobu transportowania próbek wody z miejsca poboru do laboratorium w celu ich przebadania z zachowaniem ich czystości mikrobiologicznej oraz odpowiedniej temperatury. Sposób przemieszczania próbek musiał zapewniać możliwość umieszczenia próbek w naczyniu transportowym w sposób nieumożliwiający jej kontaminację (czyli kontakt próbki z powietrzem) oraz zachowanie stabilnych warunków termicznych. Wykonano koncepcję oraz projekt układu, a następnie skonstruowano prototyp oraz przeprowadzono eksperymenty mające na celu sprawdzenie zgodności z założeniami (walidację). Pierwszym testem było sprawdzenie szczelności układu w celu prewencji kontaminacji, w tym celu układ został zastosowany zgodnie z jego przeznaczeniem. Próbkę wody o wysokiej czystości przepompowano do naczynia i po upływie 24 godzin wykonano analizy pod kątem obecności bakterii oraz grzybów i pleśni. Uzyskane wyniki wskazały, że nie doszło do kontaminacji (czyli kontaktu z powietrzem). Następnie przeprowadzono eksperyment mający na celu weryfikację stabilności temperaturowej próbek. Układ transportowy został wyposażony w czujniki temperatury i umieszczony w kontrolowanej temperaturze. Osiągnięte wyniki pozwoliły na stwierdzenie, że układ spełnia założenia, a próbki transportowane z jego wykorzystaniem są przechowywane w sposób bezpieczny, zapewniający niezmiennność składu próbek.

Ostatnim krokiem w pracy było opracowanie uproszczonej metody pobierania próbek biologicznych. Zaprojektowano oraz wykonano układ, który był uproszczeniem układu użytego wcześniej do pobierania próbek wody. Przeprowadzono trzy powtórzenia eksperymentu analogicznie jak poprzednio. Osiągnięto w każdej próbie zatężenie o 4 do 5 rzędów większe względem próbek referencyjnych co jest wynikiem spełniającym założenia badawcze. Dodatkowo przeprowadzono weryfikację ciśnienia przed membraną w układzie i na podstawie wyników stwierdzono, że panujące ciśnienia są na tyle niskie, że nie stanowią zagrożenia dla życia mikroorganizmów.

Efektom prac prowadzonych podczas realizacji doktoratu jest opracowanie kombinacji metod i procedur badawczych, obejmujących pobieranie, zatężanie, transport oraz ekstrakcję próbek. Zastosowanie tych metod pozwala na skuteczne pozyskiwanie próbek biologicznych umożliwiających wykrywanie patogenów w warunkach akwakultury. Proces wymagał

przeprowadzenia licznych iteracji projektowych oraz znacznego zakresu badań eksperymentalnych. Kluczowym elementem prac był etap sposobu zażęzania materiału biologicznego, który wiązał się z koniecznością zastosowania kreatywnego podejścia inżynierskiego oraz nietypowych technik wykonawczych. Celem było zapewnienie, że opracowana metoda będzie nie tylko skuteczna i wydajna, ale również ekonomicznie uzasadniona i możliwa do wdrożenia na szeroką skalę.

Wszystkie komponenty użyte do budowy prototypowych urządzeń zostały dobrane z myślą o ich powszechnej dostępności oraz niskim koszcie pozyskania, co znacząco zwiększa potencjał wdrożeniowy rozwiązania w praktyce przemysłowej. Wszystkie metody zostały opracowane w taki sposób, aby mogły być łatwo dostosowane do warunków panujących w Recyrkulacyjnych Systemach Akwakultury (RAS), które stanowią coraz bardziej rozpowszechniony standard hodowli wodnej na świecie. Przeprowadzone eksperymenty potwierdziły skuteczność metod - wszystkie przyjęte kryteria i wymagania zostały spełnione. Co więcej, osiągnięte wyniki sugerują, że opracowane podejście może znacząco zwiększyć jakość nadzoru sanitarnego w hodowlach ryb i innych organizmów wodnych, przyczyniając się tym samym do poprawy efektywności i bezpieczeństwa produkcji akwakulturowej na skalę globalną.

Wnioski naukowe:

1. Opracowano skuteczną metodę próbkowania w systemach RAS w celu identyfikacji patogenów chorobotwórczych w akwakulturze osiągając tym samym główny cel pracy.
Ponadto:
 - 1.1. Stwierdzono, że nie wszystkie metody dezynfekcji, które wykorzystywane są w prowadzeniu hodowli akwakultury są odpowiednio skuteczne oraz bezpieczne dla życia oraz środowiska wodnego. Wyniki zrealizowanych badań wskazują, że podczas projektowania układów pracujących w systemach akwakulturowych należy zwrócić szczególną uwagę na wykorzystywane materiały ze względu na możliwą degradację w procesie dezynfekcji. W wyniku realizacji pracy wykazano negatywny wpływ najczęściej stosowanych metod dezynfekcji oraz określono najbardziej adekwatną metodę.
 - 1.2. Eksperymentalnie dowiedziono, że możliwe jest zażęzanie materiału biologicznego z wykorzystaniem membran mechanicznych w stopniu umożliwiającym zwiększenie koncentracji bakterii aż o pięć rzędów wielkości. Opracowano metodę ekstrakcji materiału biologicznego na bazie membrany wykonanej z polipropylenu,
 - 1.3. Opracowano i doświadczalnie zwalidowano metodę transportu próbek. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów stwierdzono, że opracowana metoda transportu zapewnia ich czystość mikrobiologiczną oraz gwarantuje stabilność temperaturową w trakcie przenoszenia do laboratorium.

Wnioski użytkowe:

2. Zaprojektowano oraz zbudowano stanowisko badawcze symulujące Recyrkulacyjny System Akwakulturowy. Stanowisko badawcze wykorzystane zostało w celu przeprowadzenia wielu eksperymentów tj.; doboru najbardziej odpowiedniej metody regulacji natężenia przepływu w systemach RAS, weryfikacji skuteczności opracowanej metody pobierania próbek wody, weryfikacji skuteczności opracowanej metody

pobierania próbek biologicznych. Było to możliwe dzięki modułowej konstrukcji stanowiska, które mogło być modyfikowane według potrzeb.

3. Przeprowadzone eksperymenty pozwoliły na określenie najbardziej korzystnej, pod względem energetycznym oraz operacyjnym, metody regulacji natężenia przepływu w zaprojektowanym układzie - również w odniesieniu globalnym do Recyrkulacyjnych Systemów Akwakulturowych,
4. Na podstawie przeprowadzonych analiz oraz eksperymentów wytypowano materiały, których zastosowanie w zaprojektowanym układzie nie powoduje nadmiernego zużycia materiałów lub ich degradacji z uwagi na sposób dezynfekcji.
5. Na podstawie przeprowadzonych eksperymentów oraz procesu projektowania stworzonych prototypów opracowano wytyczne, które zaleca się brać pod uwagę podczas projektowania podobnych systemów:
 - 5.1. Sposoby dezynfekcji powierzchni należy dobierać nie tylko pod kątem skuteczności procesu, ale również ich wpływu na organizmy żywe w przypadku kontaktu środka dezynfekującego ze środowiskiem/systemem hodowlanym (kontaminacji),
 - 5.2. Podczas doboru materiałów mających styczność z otoczeniem oraz środkami dezynfekującymi należy brać pod uwagę ich negatywny wpływ na wytrzymałość mechaniczną oraz degradację struktury materiału,
 - 5.3. Sposób regulacji natężenia przepływu wody w systemach RAS należy dobierać do istniejących warunków, by uniknąć zwiększania strat energii w układzie. W eksperymencie wykazano, że istnieją rozwiązania np. zmiana typu zaworu, które dają bardzo korzystne efekty w tym obszarze bez wpływu znaczącego wpływu na koszty inwestycyjne.

BIBLIOGRAFIA

- [1] J. Harland, “The origins of aquaculture,” *Nat. Ecol. Evol.*, vol. 3, no. 10, pp. 1378–1379, 2019, doi: 10.1038/s41559-019-0966-3.
- [2] D. A. Chistiakov and N. V. Voronova, “Genetic evolution and diversity of common carp *Cyprinus carpio* L,” *Cent. Eur. J. Biol.*, vol. 4, no. 3, pp. 304–312, 2009, doi: 10.2478/s11535-009-0024-2.
- [3] S.-W. Ling, *Aquaculture in Southeast Asia A Historical Overview*. A WASHINGTON SEA GRANT PUBLICATION, 1977.
- [4] S. V. Guy *et al.*, “Tooth oxygen isotopes reveal Late Bronze Age origin of Mediterranean fish aquaculture and trade,” *Sci. Rep.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–10, 2018, doi: 10.1038/s41598-018-32468-1.
- [5] A. M. McCann, “The harbor and fishery remains at cosa, Italy,” *J. F. Archaeol.*, vol. 6, no. 4, pp. 391–411, 1979, doi: 10.1179/009346979791489014.
- [6] M. Wilmart and D. M. Un, “Les étangs de Marcoussis . Un exemple d ’ exploitation piscicole dans la région parisienne à la fin du XVe siècle Mickaël Wilmart To cite this version : HAL Id : halshs-00425001 Les étangs de Marcoussis fin du XVème siècle,” 2009.
- [7] R. C. Hoffmann, “Economic development and aquatic ecosystems in medieval Europe,” *Intern. Colon. Mediev. Eur.*, vol. 101, no. 3, pp. 123–161, 2017, doi: 10.4324/9781315252094-5.
- [8] M. Huet, *Textbook of fish culture: breeding and cultivation of fish*. Londyn: Fishing news, 1973.
- [9] B. T. Björnsson *et al.*, “Growth hormone endocrinology of salmonids: Regulatory mechanisms and mode of action,” *Fish Physiol. Biochem.*, vol. 27, no. 3–4, pp. 227–242, 2002, doi: 10.1023/B:FISH.0000032728.91152.10.
- [10] J. H. Tidwell and G. L. Allan, “Fish as food: aquaculture’s contribution,” *EMBO Rep.*, vol. 2, no. 11, pp. 958–963, 2001, doi: 10.1093/embo-reports/kve236.
- [11] C. E. Boyd and Craig S. Tucker., *Pond aquaculture water quality management*. SPRINGER SCIENCE+BUSINESS MEDIA, LLC, 1998.
- [12] R. H. Bosma and M. C. J. Verdegem, “Sustainable aquaculture in ponds: Principles, practices and limits,” *Livest. Sci.*, vol. 139, no. 1–2, pp. 58–68, 2011, doi: 10.1016/j.livsci.2011.03.017.
- [13] “<https://www.piekielnyszlak.pl/atrakcje/gmina-ruda-maleniecka/120-stawy-w-rudzie-malenieckiej>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 27 lipiec 2025]. .
- [14] S. Y. Cottee and P. Petersan, “Animal welfare and organic aquaculture in open systems,” *J. Agric. Environ. Ethics*, vol. 22, no. 5, pp. 437–461, 2009, doi: 10.1007/s10806-009-9169-2.
- [15] “<https://www.mojanorwegia.pl/aktualnosci/pierwsza-na-swiecie-farma-lososi-zasilana-pradem-powstala-w-norwegii-17535.html>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 27 lipiec 2025]. .

- [16] "https://www.trybuszon.pl/dalmatynskie-ostrygi/," [Online]. [Data uzyskania dostępu: 27 lipiec 2025]. .
- [17] T. B. Lawson, "AQUACULTURE IN OPEN SYSTEMS," *Fundam. Aquac. Eng.*, 1995, doi: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7047-9_5.
- [18] M. Soltan, "Aquaculture Systems," *Aquaculture*, pp. 241–256, 2016, doi: 10.1201/b10791-11.
- [19] A. Snow, B. Anderson, and B. Wootton, "Flow-through land-based aquaculture wastewater and its treatment in subsurface flow constructed wetlands," *Environ. Rev.*, vol. 20, no. 1, pp. 54–69, 2012, doi: 10.1139/a11-023.
- [20] J. Kolarevic *et al.*, "Performance and welfare of Atlantic salmon smolt reared in recirculating or flow through aquaculture systems," *Aquaculture*, vol. 432, pp. 15–25, 2014, doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.03.033.
- [21] M. Badiola, D. Mendiola, and J. Bostock, "Recirculating Aquaculture Systems (RAS) analysis: Main issues on management and future challenges," *Aquac. Eng.*, vol. 51, pp. 26–35, 2012, doi: 10.1016/j.aquaeng.2012.07.004.
- [22] B. J. . Timmons M. B., Vinci, *Recirculating Aquaculture*, 5th edition. Ithaca Publishing Company, 2022.
- [23] C. I. M. Martins *et al.*, "New developments in recirculating aquaculture systems in Europe: A perspective on environmental sustainability," *Aquac. Eng.*, vol. 43, no. 3, pp. 83–93, 2010, doi: 10.1016/j.aquaeng.2010.09.002.
- [24] K. Viswasanthi, N. ., Dumpala, S. ., Srimadhuri, S. ., & Ramaneswari, "Recirculating aquaculture systems: Current practices, challenges, and future directions," *Deep Sci. Publ.*, 2024, doi: https://doi.org/10.70593/978-81-982935-0-3_6.
- [25] S. P. S. & S. R. Saquib Sarosh, Rajeswari M. Kulkarni, Esha Varma, "Recirculating Aquaculture System and Nitrification: A Review," *J. Indian Inst. Sci.*, 2024.
- [26] N. Ahmed and G. M. Turchini, "Recirculating aquaculture systems (RAS): Environmental solution and climate change adaptation," *J. Clean. Prod.*, vol. 297, p. 126604, 2021, doi: 10.1016/j.jclepro.2021.126604.
- [27] I. Golfand, "Economics of growing salmon in recirculating aquaculture systems (RAS)," *J. Aquac. Mar. Biol.*, 2023.
- [28] R. P. E. Yanong, "Biosecurity in Aquaculture , Part 2 : Recirculating Aquaculture Systems," *SRAC Publ.*, no. 4708, p. 12, 2012, [Online]. Available: <http://fisheries.tamu.edu/files/2013/09/SRAC-Publication-No.-4708-Biosecurity-in-Aquaculture-Part-2-Recirculating-Aquaculture-Systems.pdf>.
- [29] S. M. Aly and M. Fathi, "Advancing aquaculture biosecurity: a scientometric analysis and future outlook for disease prevention and environmental sustainability," *Aquac. Int.*, vol. 32, no. 7, pp. 8763–8789, 2024, doi: 10.1007/s10499-024-01589-y.
- [30] S. S. Basak and A. Adak, "Physicochemical methods for disinfection of contaminated surfaces – a way to control infectious diseases," *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, vol. 22, no. 1. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, pp. 53–64, Jun. 01, 2024, doi: 10.1007/s40201-024-00893-2.
- [31] M. Fleischer, "KATEDRA I ZAKŁAD MIKROBIOLOGII UNIWERSYTET

MEDYCZNY IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCŁAWIU,” Wrocław, 2023.
[Online]. Available: https://www.umw.edu.pl/sites/default/files/2023-09/Dezynfekcja_i_sterylizacja.pdf.

- [32] G. McDonnell, A. D. Russell, L. Operations, and S. Louis, “Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance,” 1999.
- [33] S. M. Goyal, Y. Chander, S. Yezli, and J. A. Otter, “Evaluating the virucidal efficacy of hydrogen peroxide vapour,” *J. Hosp. Infect.*, vol. 86, no. 4, pp. 255–259, 2014, doi: 10.1016/j.jhin.2014.02.003.
- [34] A. Teksoy, U. Alkan, S. Ç. Eleren, B. Ş. Topaç, F. O. T. Şağban, and H. S. Başkaya, “Comparison of indicator bacteria inactivation by the ultraviolet and the ultraviolet/hydrogen peroxide disinfection processes in humic waters,” *J. Water Health*, vol. 9, no. 4, pp. 659–669, 2011, doi: 10.2166/wh.2011.205.
- [35] G. Kampf, D. Todt, S. Pfaender, and E. Steinmann, “Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents,” *Journal of Hospital Infection*, vol. 104, no. 3. W.B. Saunders Ltd, pp. 246–251, Mar. 01, 2020, doi: 10.1016/j.jhin.2020.01.022.
- [36] D. D. Addie *et al.*, “Disinfectant choices in veterinary practices, shelters and households: ABCD guidelines on safe and effective disinfection for feline environments,” *J. Feline Med. Surg.*, vol. 17, no. 7, pp. 594–605, Jul. 2015, doi: 10.1177/1098612X15588450.
- [37] E. Sozzi *et al.*, “A bioassay-based protocol for chemical neutralization of human faecal wastes treated by physico-chemical disinfection processes: A case study on benzalkonium chloride,” *Int. J. Hyg. Environ. Health*, vol. 222, no. 2, pp. 155–167, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.ijheh.2018.07.002.
- [38] Z. C. Yang *et al.*, “Ozone, hydrogen peroxide, and peroxymonosulfate disinfection of MS2 coliphage in water,” *Environ. Sci. Process. Impacts*, vol. 26, no. 5, pp. 824–831, 2024, doi: 10.1039/d3em00527e.
- [39] C. W. Hiatt, “KINETICS OF THE INACTIVATION OF VIRUSES,” 1964. [Online]. Available: <https://journals.asm.org/journal/br>.
- [40] S. P. Denyera and G. S. A. B. Stewartb, “Mechanisms of action of disinfectants,” 1998.
- [41] D. J. Weber, W. A. Rutala, D. J. Anderson, L. F. Chen, E. E. Sickbert-Bennett, and J. M. Boyce, “Effectiveness of ultraviolet devices and hydrogen peroxide systems for terminal room decontamination: Focus on clinical trials,” *Am. J. Infect. Control*, vol. 44, no. 5, pp. e77–e84, May 2016, doi: 10.1016/j.ajic.2015.11.015.
- [42] A. F. da Silva, C. da Cruz, N. Garlich, W. R. C. Junior, and R. A. Pitelli, “Sensitivity of aquatic organisms to ethanol and its potential use as bioindicators,” *Acta Sci. - Biol. Sci.*, vol. 38, no. 4, pp. 377–385, 2016, doi: 10.4025/actascibiols.v38i4.28946.
- [43] T. H. Chen, Y. H. Wang, and Y. H. Wu, “Developmental exposures to ethanol or dimethylsulfoxide at low concentrations alter locomotor activity in larval zebrafish: Implications for behavioral toxicity bioassays,” *Aquat. Toxicol.*, vol. 102, no. 3–4, pp. 162–166, 2011, doi: 10.1016/j.aquatox.2011.01.010.
- [44] M. Bhilave, “Effect of methanol on lipid profile of freshwater fish *Cirrhinus mrigala*,” *Int. J. Fish. Aquat. Stud.*, vol. 9, no. 5, pp. 201–204, 2021, doi:

- [45] B. Grunow, G. P. Franz, and K. Tönißen, “In vitro fish models for the analysis of exotoxins and temperature increase in the context of global warming,” *Toxics*, vol. 9, no. 11, 2021, doi: 10.3390/toxics9110286.
- [46] D. Bögner, M. Bögner, F. Schmachtl, N. Bill, J. Halfer, and M. J. Slater, “Hydrogen peroxide oxygenation and disinfection capacity in recirculating aquaculture systems,” *Aquac. Eng.*, vol. 92, 2021, doi: 10.1016/j.aquaeng.2020.102140.
- [47] M. P. Gaikowski, J. J. Rach, and R. T. Ramsay, “Acute toxicity of hydrogen peroxide treatments to selected lifestages of cold-, cool-, and warmwater fish,” *Aquaculture*, vol. 178, no. 3–4, pp. 191–207, 1999, doi: 10.1016/S0044-8486(99)00123-4.
- [48] J. J. Rach, M. P. Gaikowski, G. E. Howe, and T. M. Schreier, “Evaluation of the toxicity and efficacy of hydrogen peroxide treatments on eggs of warm- and coolwater fishes,” *Aquaculture*, vol. 165, no. 1–2, pp. 11–25, 1998, doi: 10.1016/S0044-8486(98)00248-8.
- [49] D. Liu, D. L. Straus, L. F. Pedersen, C. Good, C. C. Lazado, and T. Meinelt, “Towards sustainable water disinfection with peracetic acid in aquaculture: A review,” *Rev. Aquac.*, no. May 2023, pp. 1621–1646, 2024, doi: 10.1111/raq.12915.
- [50] S. Haddeland *et al.*, “Dynamic morphometrics of mucous cells reveal the minimal impact of therapeutic doses of peracetic acid on Atlantic salmon gill health,” *Aquaculture*, vol. 534, no. December 2020, p. 736315, 2021, doi: 10.1016/j.aquaculture.2020.736315.
- [51] M. Lujan, “Peracetic Acid: a Safe and Sustainable Disinfectant for Aquaculture,” 2024.
- [52] P. D. I. Milano *et al.*, “Doctoral Dissertation of : Laura Domínguez Henao PhD . Supervisor : Prof . Manuela Antonelli PhD . Co-supervisor : Dr . Andrea Turolla PhD . Tutor : Prof . Roberto Canziani The Chair of the Doctoral Program : Prof . Alberto Guadagnini,” 2017.
- [53] Z. M. El-Bouhy, G. A. Saleh, G. A. El-Nobi, and R. M. Reda, “Study on The Effect of Chlorine on Health and Growth of Some Ornamental Fishes,” *Zagazig Vet. J.*, vol. 34, no. 2, pp. 164–172, 2006.
- [54] J. S. Mattice, S. C. Tsai, M. B. Burch, and J. J. Beauchamp, “Toxicity of Trihalomethanes to Common Carp Embryos,” *Trans. Am. Fish. Soc.*, vol. 110, no. 2, pp. 261–269, 1981, doi: 10.1577/1548-8659(1981)110<261:tottcc>2.0.co;2.
- [55] A. Tutić, M. Miloloža, M. Cvetnić, Š. Ukić, and D. Kučić Grgić, “Phenol, Cyanide, and Thiocyanate in Aquatic Media: The Ecotoxicity of Individual Substances and Their Mixtures,” *Environ. - MDPI*, vol. 12, no. 4, 2025, doi: 10.3390/environments12040128.
- [56] M. M. G. Soliman, M. Abdelaziz, A. E. Eissa, N. Elias, “Impacts of natural and experimental phenol pollution on the reproductive performance, vitellogenin synthesis and pathological alterations of male *Oreochromis niloticus*,” *Egypt. J. Aquat. Biol. Fish. Zool. Dep. Fac. Sci. Ain Shams Univ. Cairo, Egypt.*, vol. 24, no. 4, pp. 479–495, 2020, [Online]. Available: www.ajas.uoanbar.edu.iq.
- [57] C. Zhang *et al.*, “Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment,” *Sci. Total Environ.*, vol. 518–519, pp. 352–362,

2015, doi: 10.1016/j.scitotenv.2015.03.007.

- [58] K. Y.-H. G. Sanjeeb Mohapatra, Lin Yutao, Shin Giek Goh, Charmaine Ng, You Luhua, Ngoc Han Tran, “Quaternary ammonium compounds of emerging concern: Classification, occurrence, fate, toxicity and antimicrobial resistance,” *J. Hazard. Mater.*, 2023.
- [59] U. States, E. P. Agency, and P. Prevention, “Draft Environmental Hazard Assessment for Formaldehyde CASRN 50-00-0,” no. MARCH, pp. 1–34, 2024.
- [60] Y. T. Hirotsaka Sagau, Tomoko Onda, Hitomi Fujino, “Acute toxicity of formaldehyde to marine organisms and risk assessment in aquatic environment with the toxicity data,” *Jpn. J. Environ. Toxicol.*, 2004.
- [61] S. P. P. Pereira *et al.*, “From sub cellular to community level: Toxicity of glutaraldehyde to several aquatic organisms,” *Sci. Total Environ.*, vol. 470–471, pp. 147–158, 2014, doi: 10.1016/j.scitotenv.2013.09.054.
- [62] A. N. Potnis, K. Vivek Ghanekar, and A. N. Sinnarkar, “System design, sustainable production and water quality research for Recirculating Aquaculture System (RAS),” *Int. Res. J. Eng. Technol.*, pp. 0–22, 2022, [Online]. Available: www.irjet.net.
- [63] S. M. Roy, H. Choi, and T. Kim, “Review of state-of-the-art improvements in recirculating aquaculture systems: Insights into design, operation, and statistical modeling approaches,” *Aquaculture*, vol. 605, no. November 2024, p. 742545, 2025, doi: 10.1016/j.aquaculture.2025.742545.
- [64] F. Fakunmoju, A. Babalola, and B. Adesina, “Design and construction of a Prototype Aquaculture Pond Re-Circulatory system using locally sourced materials (Wood and PVC Blind),” *Int. J. Fish. Aquat. Stud.*, vol. 9, no. 3, pp. 180–185, 2021.
- [65] “<https://sklep.gambitsystems.pl/rura-pvc-u-sdr21-pn10-d90x4-5-dn80->,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [66] “<https://sklep.seafarm.pl/pl/p/Rura-srednica-16mm/2023>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [67] “<https://zkaqua.en.made-in-china.com/product-group/EeoxZGTIJprO/Protein-Skimmer-catalog-1.html>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [68] “<https://www.aquamerek.com/boutique/abs-tank-fittings/?lang=en>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [69] “<https://www.btaqua.com.au/products/heavy-duty-abs-bulkhead-fittings>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [70] L. Padgham and M. Winikoff, “System Specification,” *Dev. Intell. Agent Syst.*, no. April, pp. 33–52, 2004, doi: 10.1002/0470861223.ch4.
- [71] “<https://www.rk2.com/protein-skimmers.php>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [72] “<https://www.integrated-aqua.com/subcategories/polyethylene>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [73] “https://www.bevo.com/pl-pl/vdl-zawor-kulowy-pvc-u-kw-szary-typ-dil-7003054m?_gl=1*4a4p97*_up*MQ..*_gs*MQ..&gclid=Cj0KCQjw_8rBBhCFARIsAJ

- rc9yAjXrKqLnFCsEUQ3NITNzNe3O_GMi5HjI_GxOoWGtrm5emjUuaoJ34aAsrWEALw_wcB,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [74] “https://www.bevo.com/pl-pl/zawor-kulowy-pvc-u-kw-szary-typ-ak-0161501m?_gl=1*j8ddhs*_up*MQ..*_gs*MQ..&gclid=Cj0KCQjw_8rBBhCFARIsAJrc9yAjXrKqLnFCsEUQ3NITNzNe3O_GMi5HjI_GxOoWGtrm5emjUuaoJ34aAsrWEALw_wcB,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [75] J. I. Ahuir-Torres *et al.*, “A Study of the Corrosion Resistance of 316L Stainless Steel Manufactured by Powder Bed Laser Additive Manufacturing,” *Appl. Sci.*, vol. 14, no. 17, 2024, doi: 10.3390/app14177471.
- [76] ISM Industrial Specialties Mfg. and IS MED Specialties, “316L Stainless Steel Chemical Compatibility Chart,” 2020, [Online]. Available: <https://marketing.industrialspec.com/acton/attachment/30397/f-003a/1/-/-/-/316l-stainless-steel-chemical-compatibility-from-ism.pdf>.
- [77] “<https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=2382>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [78] “<https://www.machiningdoctor.com/mds/?matId=1790>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [79] “<https://materialwelding.com/316-stainless-steel-welding-guide/>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [80] P. Taxell and P. Huuskonen, “Toxicity assessment and health hazard classification of stainless steels,” *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 133, no. July, p. 105227, 2022, doi: 10.1016/j.yrtph.2022.105227.
- [81] T. Literature, “Polyethylene chemical resistance Description : chemicals and other media . It is not affected by aqueous solutions of salts , acids and alkalis . Up to,” pp. 1–8.
- [82] 2018 Smiths Metal Centres, “Technical Datasheet Tough , Chemical Resistant , Engineering Plastics Typical Applications Attributes Machinability Polyethylene (HD-PE & UHMW-PE),” pp. 2–3, 2018.
- [83] “<https://shop.machinemfg.com/machining-hdpe-properties-challenges-and-applications/>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [84] “<https://aipprecision.com/machining-hdpe-plastics-guide/>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [85] “<https://www.pfs-gmbh.com/en/welding-procedures-for-pe-pipes/>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [86] Z. Yao, H. J. Seong, and Y. S. Jang, “Environmental toxicity and decomposition of polyethylene,” *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 242, no. May, p. 113933, 2022, doi: 10.1016/j.ecoenv.2022.113933.
- [87] IPEX, “PRESSURE ABS Chemical Resistance Guide,” 2019.
- [88] “<https://www.makeitfrom.com/material-properties/Acrylonitrile-Butadiene-Styrene-ABS/>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [89] “<https://richconn.com/abs-machining/>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj

2025]. .

- [90] J. V. Rutkowski and B. C. Levin, “Acrylonitrile–butadiene–styrene copolymers (ABS): Pyrolysis and combustion products and their toxicity—a review of the literature,” *Fire Mater.*, vol. 10, no. 3–4, pp. 93–105, 1986, doi: 10.1002/fam.810100303.
- [91] “https://www.engineeringtoolbox.com/PVC-polyvinyl-chloride-chemical-resistance-d_2147.html,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [92] “<https://matmake.com/materials-data/polyvinyl-chloride-properties.html>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [93] “<https://at-machining.com/pvc-machining>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [94] “<https://biologyinsights.com/pvc-toxicity-health-risks-and-environmental-impact>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [95] “https://www.corning.com/catalog/cls/documents/application-notes/Application_Note_CLS-AN-461_Chemical_Resistance_Comparison_PETandPETG.pdf,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [96] “<https://www.theplasticpeople.co.uk/ThePlasticPeople/media/The-Plastic-People/Products/Cut%20To%20Size/Data%20Sheets/datasheet-petg-2014.pdf?ext=.pdf>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [97] M. El Mehtedi, P. Buonadonna, R. El Mohtadi, F. Aymerich, and M. Carta, “Surface quality related to machining parameters in 3D-printed PETG components,” *Procedia Comput. Sci.*, vol. 232, no. 2023, pp. 1212–1221, 2024, doi: 10.1016/j.procs.2024.01.119.
- [98] “<https://www.jabil.com/dam/jcr%3Ac1b33de2-a557-4c96-8bad-c3834e9b8810/jabil-petg-sds.pdf>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [99] “<https://blog.darwin-microfluidics.com/epdm-chemical-resistance-chart>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [100] “<https://www.engineercalculator.com/polymer-plastic-properties-and-overview/epdm-polymer-plastic-various-properties-and-overview>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [101] “<https://ferris.msdssoftware.com/ImageDir/17901565.pdf>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [102] “businessanalytiq.com,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 25 maj 2025]. .
- [103] Ł. Józefowicz, “Wpływ sposobu regulacji natężenia przepływu wody w Recyrkulacyjnych Systemach Akwakulturowych (RAS) na straty energii,” *Gaz, Woda I Tech. Sanit.*, vol. 1, no. 9, pp. 23–27, 2023, doi: 10.15199/17.2023.9.4.
- [104] J. Borecki, M. Stosur, S. Szkółka, O. Wydawnicza, and P. Wrocławskiej, *Energoelektronika. Podstawy i wybrane zastosowania*. 2008.
- [105] CRANE CO., “Flow of Fluids Through Valve, Fittings and Pipe,” 1982.
- [106] K. Jeżowiecka-Kabsch and H. Szewczyk, *Mechanika Płynów*. Oficyna Wydawnicza

Politechniki Wrocławskiej, 2001.

- [107] “www.bevo.com,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 2 czerwiec 2025]. .
- [108] “<https://techniczne24.pl/produkt/worek-do-filtracji-cieczy-wloknina-polipropylenowa-po/>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 2 czerwiec 2025]. .
- [109] “<https://worki-24.pl/baza-wiedzy/worki-filtracyjne-z-polipropylenu.html>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 2 czerwiec 2025]. .
- [110] V. L. Streeter and E. B. Wylie, “Fluid mechanics (seventh ed.),” 1979.
- [111] I. Circiu and C. Rotaru, “Theoretical and practical aspects of the Coandaeffect applied in aeronautics,” *MATEC Web Conf.*, vol. 290, pp. 1–8, 2019, doi: 10.1051/mateconf/201929006003.
- [112] “<https://sklep.bio-space.pl/butelka-szklana-100-ml-z-niebieska-nakretka-gl45,3,8435,10906>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 20 czerwiec 2025]. .
- [113] “<https://edusklep.pl/nakretka-gl45-do-systemow-prozniowych-dwa-krocce-do-weza.html>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 20 czerwiec 2025]. .
- [114] “<https://www.bionovo.pl/p/filtry-strzykawkowe-chromafil-membrana-ptfe/>,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 20 czerwiec 2025]. .
- [115] “https://alchem.com.pl/filtry-membranowe-cn-0-45um-sr-50mm-sterylne-biale-z-zielona-kratka-azotan-celulozy-estry-celulozy.html?_gl=1*1lughvk*_up*MQ..*_ga*MTkwNTg0NTE5Ni4xNzQ5OTAwNTMw*_ga_VJZL3LR2KW*czE3NDk5MDA1MjkkbzEkZzAkdDE3NDk5MDA1MjkkajYwJGwwJGgxNDUyOD,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 2 czerwiec 2025]. .
- [116] K. B.-Ś. Krystyna Mysłowska, “Przygotowanie mianowanych zawiesin szczepów wzorcowych znajdujących zastosowanie w badaniach mikrobiologicznych,” *LAB Lab. Apar. Badania*, vol. 21, no. 3, pp. 14–18, 2016.
- [117] “https://www.auspol.com.pl/produkty_384_uszczelki-tc-z-siatka_2.html,” [Online]. [Data uzyskania dostępu: 2 czerwiec 2025]. .

SPIS RYSUNKÓW

Rys. 1. Podział systemów hodowlanych pod względem wymiany wody w układzie	8
Rys. 2. Fotografia stawów hodowlanych karpia w Rudzie Malenieckiej [13]	9
Rys. 3. Analiza SWOT statycznych systemów hodowli akwakulturowej	10
Rys. 4. a) hodowla łososia w Norwegii [15], b) hodowla ostryg w Dalmacji [16].....	10
Rys. 5. Analiza SWOT otwartych systemów akwakulturowych	11
Rys. 6. Analiza SWOT przepływowych systemów akwakulturowych.....	11
Rys. 7. Analiza SWOT recyrkulacyjnych systemów akwakulturowych	12
Rys. 8. Struktura rozprawy doktorskiej.....	16
Rys. 9. Schemat podziału metod dezynfekcji.....	18
Rys. 10. Płytki polipropylenowe wykorzystane w badaniu, a) płytka gładka, b) płytka szlifowana papierem P600, c) płytka szlifowana papierem P100	22
Rys. 11. Płytki polipropylenowe wykorzystane w badaniu - powiększenie x10, a) płytka gładka, b) płytka szlifowana papierem P600, c) płytka szlifowana papierem P100	22
Rys. 12. a) płytki w komorze laminarnej po procesie dezynfekcji przygotowane do odcisnięcia w agarze odżywczym, b) szalki umieszczone w cieplarni laboratoryjnej	23
Rys. 13. a) posiew bakteryjny na szalce z agarem odżywczym - kontrola, b) posiew bakteryjny z agarem odżywczym oraz próbką wody dejonizowanej – kontrola	24
Rys. 14. Kształt oraz wymiary próbki do próby statycznego rozciągania według normy ASTM D638-14.....	34
Rys. 15. a) Próbki do statycznej próby rozciągania umieszczone w uchwycie, b) sposób identyfikacji próbek przy pomocy dedykowanych uchwytów	35
Rys. 16. a) Przykładowe umieszczenie próbek w naczyniu, b) komora naświetlania promieniowaniem UV-C i umieszczone w niej próbki	36
Rys. 17. Stanowisko eksperymentalne do symulacji wpływu metod dezynfekcji na próbki wykonane z tworzyw sztucznych	36
Rys. 18. Próbka materiału EPDM wystawiona na ekspozycję kwasu nadoctowego	37
Rys. 19. Wykres słupkowy prezentujący wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału ABS	38
Rys. 20. Wykres słupkowy prezentujący wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PETG.....	39
Rys. 21. Wykres słupkowy prezentujący wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PE	41
Rys. 22. Wykres słupkowy prezentujący wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PVC	43
Rys. 23. Wykres słupkowy prezentujący wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału EPDM	44
Rys. 24. a) Uchwyt na próbki zapewniający odstępy między próbkami, b) sposób identyfikacji próbek.....	45
Rys. 25. Schematyczne przedstawienie sposobów sterowania fazowego symetrycznego; u – sinusoidalne napięcie zasilające, u_o – napięcie na odbiorniku, U_d – wartość średnia napięcia u_o liczona za pół okresu	53
Rys. 26. sposób regulacji przepływu poprzez częściowo zamknięte zawory a. gilotynowy, b. kulowy [106]	54

Rys. 27. Schemat stanowiska symulującego uproszczony recyrkulacyjny system akwakulturowy	54
Rys. 28. Zdjęcia stanowiska pomiarowego, a) część pomiarowa układu, b) zbiorniki wraz z pompami, zaworami oraz orurowaniem	55
Rys. 29. Sposób pomiaru stopnia otwarcia zaworu, a - zawór w pełni otwarty, b - zawór częściowo zamknięty	55
Rys. 30. Wykres prezentujący energię pobraną na przepompowanie 1 m ³ wody dla różnych stopni otwarcia zaworu kulowego	58
Rys. 31. Wykres prezentujący natężenie przepływu dla różnych stopni otwarcia zaworu kulowego	58
Rys. 32. Wykres prezentujący energię pobraną na przepompowanie 1 m ³ wody dla różnych stopni otwarcia zaworu gilotynowego	60
Rys. 33. Wykres prezentujący natężenie przepływu dla różnych stopni otwarcia zaworu gilotynowego	60
Rys. 34. Wykres prezentujący energię pobraną na przepompowanie 1 m ³ wody dla różnych nastaw regulatora mocy	62
Rys. 35. Wykres prezentujący natężenie przepływu dla różnych nastaw regulatora mocy	62
Rys. 36. Wykres prezentujący korelację pomiędzy stopniem otwarcia zaworu kulowego oraz gilotynowego, a natężeniem przepływu	63
Rys. 37. Wykres prezentujący straty energii względem stopnia zmniejszenia przepływu dla różnych metod regulacji	64
Rys. 38. Przykładowe elementy łączące wykorzystane do projektowania systemu pobierania próbek wody [107]	67
Rys. 39. Schemat projektowanego układu pobierania próbek wody	67
Rys. 40. Zaprojektowane elementy układu do pobierania próbek wody	68
Rys. 41. Projekt systemu pobierania próbek wody	68
Rys. 42. Fragmenty systemu pobierania próbek wody, a) komora zatężająca, b) komora zatężająca wraz z orurowaniem i zaworami	69
Rys. 43. Pierwszy prototyp układu do pobierania próbek wody	69
Rys. 44. Schemat blokowy układu automatyki systemu pobierania próbek wody	70
Rys. 45. Gotowe stanowisko do walidacji układu pobierania próbek wody	71
Rys. 46. Worki polipropylenowe wykorzystane do wykonania membrany [108], [109]	71
Rys. 47. a - membrana polipropylenowa 1 μ m, b – membrana polipropylenowa 5 μ m - widoki mikroskopowe (skala 100 μ m)	72
Rys. 48. Pomiary średnicy włókien w membranie polipropylenowej: a - membrana 1 μ m, b - membrana 5 μ m (skala 100 μ m)	72
Rys. 49. Siatka elementów kwadratowych w symulacji CFD	73
Rys. 50. Punkt startowy symulacji przepływu cieczy przez membranę	73
Rys. 51. Bakteria zatrzymana w szczelinie między włóknami	74
Rys. 52. Zrzuty z symulacji CFD; a) bakteria przeciętna przez membranę, b) bakteria rozerwana po przejściu przez membranę	74
Rys. 53. Testy paskowe API - weryfikacja skuteczności wykrywania bakterii Azotobakter Vinelandii w zawiesinie o gęstości optycznej 0.5 McFarlanda	75
Rys. 54. Membrana po procesie zatężania	77
Rys. 55. Testy API - próbki 1-3	77
Rys. 56. Posiewy bakteryjne do wyznaczenia CFU/ml dla próbek 1-4 po 24 godzinach hodowli	79

Rys. 57. Zdjęcia mikroskopowe z barwienia próbek metodą Grama.....	80
Rys. 58. a) butelka szklana z gwintem GL-45 [112], b) zakrętka z króćcami [113].....	82
Rys. 59. a) strzykawkowy filtr sterylny 0,2 µm [114], b) membranowy filtr zwrotny [115] ..	82
Rys. 60. Pojemnik transportowy, a) w pełni zamknięty, b) ze zdjętą pokrywą	83
Rys. 61. Pojemnik transportowy w przekroju, elementy szare - materiał PET-G, elementy żółte - materiał piana poliuretanowa	83
Rys. 62. Model złożeniowy systemu transportowania próbek wody, a) pojemnika zamknięty, b) pojemnik bez pokrywy	84
Rys. 63. Prototyp układu do transportowania próbek wody	84
Rys. 64. Stanowisko eksperymentalne do badania czystości mikrobiologicznej	85
Rys. 65. Stanowisko do badania stabilności temperaturowej próbek, a) cieplarka, b) układ pomiaru temperatury	87
Rys. 66. Próbkki umieszczone w cieplarni, a) próbki w obudowie termicznej, b) próbki bez obudowy termicznej	87
Rys. 67. Rejestracja temperatury - próbki w butelkach bez obudowy termicznej	88
Rys. 68. Rejestracja temperatury - próbki w butelkach w obudowie termicznej	89
Rys. 69. Wykres prezentujący krzywe wzrostu temperatury, A - próbki bez obudowy termicznej, B - próbki w obudowie termicznej	90
Rys. 70. Projekt uproszczonego układu zatężającego, a) widok izometryczny, b) widok izometryczny w przekroju	92
Rys. 71. Fotografie prezentujące uproszczony układ do pobierania próbek biologicznych podczas pracy	93
Rys. 72. Fotografie przedstawiające membranę po procesie zatężania, a) membrana po stronie wylotowej, b) membrana po stronie wlotowej	93
Rys. 73. Testy API wykonane podczas eksperymentu zatężania z wykorzystaniem układu uproszczonego	94
Rys. 74. Szalki z posiewami bakteryjnymi – eksperyment z uproszczonym układem zatężania	95
Rys. 75. Uszczelka tri-clamp z siatką stalową [117].....	96
Rys. 76. Projekt finalnego prototypu komory zatężającej	97
Rys. 77. Projekt finalnego prototypu komory zatężającej w przekroju	97
Rys. 78. Układ finalnego prototypu układu zatężania próbek biologicznych podczas pracy ..	98
Rys. 79. Membrana po procesie zatężania - eksperyment z finalnym prototypem powtórzenie nr 1. a) membrana po stronie wylotowej, b) membrana po stronie wlotowej	98
Rys. 80. Szalki z posiewami bakteryjnymi. a) próbka kontrolna, b) próbka po zatężaniu. Powtórzenie nr 1 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatężania próbek biologicznych	99
Rys. 81. Układ zmodyfikowany poprzez dodanie czujnika ciśnienia dla powtórzeń nr 2 oraz nr 3 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu zatężania próbek biologicznych	100
Rys. 82. Membrana po procesie zatężania - eksperyment z finalnym prototypem powtórzenie nr 2.....	101
Rys. 83. Szalki z posiewami bakteryjnymi. a) próbka kontrolna przed dodaniem inokulum, b) próbka kontrolna po dodaniu inokulum, c) próbka po zatężaniu. Powtórzenie nr 2 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatężania próbek biologicznych ..	102
Rys. 84. Wykres prezentujący pomiar ciśnienia przed membraną podczas eksperymentu nr 2	102

Rys. 85. Membrana po procesie zatężania - eksperyment z finalnym prototypem powtórzenie nr 3.....	103
Rys. 86. Szalki z posiewami bakteryjnymi. a) próbka kontrolna przed dodaniem inokulum, b) próbka kontrolna po dodaniu inokulum, c) próbka po zatężaniu. Powtórzenie nr 3 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatężania próbek biologicznych..	104
Rys. 87. Wykres prezentujący pomiar ciśnienia przed membraną podczas eksperymentu nr 3	104

SPIS TABEL

Tab. 1. Przedstawienie wyników eksperymentu ze skuteczności dezynfekcji - próba kontrolna	25
Tab. 2. Przedstawienie wyników eksperymentu ze skuteczności dezynfekcji - promieniowanie UV-C	26
Tab. 3. Przedstawienie wyników eksperymentu ze skuteczności dezynfekcji - ozonowanie ..	27
Tab. 4. Przedstawienie wyników eksperymentu ze skuteczności dezynfekcji - nadtlenek wodoru.....	28
Tab. 5. Przedstawienie wyników eksperymentu ze skuteczności dezynfekcji - kwas nadoctowy	29
Tab. 6. Zestawienie wskaźników cen materiałów, opracowanie własne na podstawie [102]..	33
Tab. 7. Wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału ABS	38
Tab. 8. Wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PETG ...	40
Tab. 9. Wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PE	41
Tab. 10. Wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału PVC ...	42
Tab. 11. Wyniki próby statycznego rozciągania dla próbek wykonanych z materiału EPDM	43
Tab. 12. Przedstawienie wyników z eksperymentu sprawdzającego degradację struktury po wielokrotnym procesie dezynfekcji - materiał ABS	46
Tab. 13. Przedstawienie wyników z eksperymentu sprawdzającego degradację struktury po wielokrotnym procesie dezynfekcji - materiał PETG	47
Tab. 14. Przedstawienie wyników z eksperymentu sprawdzającego degradację struktury po wielokrotnym procesie dezynfekcji - materiał PE	48
Tab. 15. Przedstawienie wyników z eksperymentu sprawdzającego degradację struktury po wielokrotnym procesie dezynfekcji - materiał PVC	49
Tab. 16. Przedstawienie wyników z eksperymentu sprawdzającego degradację struktury po wielokrotnym procesie dezynfekcji - materiał EPDM	50
Tab. 17. Obliczenia rzeczywistego stopnia otwarcia zaworu dla zaworów; kulowego, gilotynowego	56
Tab. 18. Wyniki eksperymentu dla zaworu kulowego	57
Tab. 19. Wyniki eksperymentu dla zaworu gilotynowego	59
Tab. 20. Wyniki eksperymentu dla regulacji z wykorzystaniem regulatora mocy	61
Tab. 21. Porównanie aktywności enzymatycznej po 24 h (+ wzrost, - brak wzrostu).....	76
Tab. 22. Porównanie aktywności enzymatycznej po 24 h (+ wzrost, - brak wzrostu) – eksperyment z zatężania nr 1	78
Tab. 23. Wyniki pomiarów CFU/ml - eksperyment nr 1	79
Tab. 24. Pomiary gęstości optycznej OD600 - eksperyment nr 1	80
Tab. 25. Posiewy na obecność mikroorganizmów oraz grzybów i pleśni	86
Tab. 26. Wyniki testów API dla eksperymentu z uproszczonym układem zatężania.....	94
Tab. 27. Wyniki pomiarów gęstości optycznej dla próbek z eksperymentu z wykorzystaniem uproszczonego układu	95
Tab. 28. Wynik pomiarów CFU/ml dla próbek z eksperymentu z wykorzystaniem uproszczonego układu	96
Tab. 29. Gęstość optyczna - powtórzenie nr 1 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatężania próbek biologicznych.....	99
Tab. 30. Liczebność bakterii - powtórzenie nr 1 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatężania próbek biologicznych.....	99

Tab. 31. Gęstość optyczna - powtórzenie nr 2 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatyżania próbek biologicznych.....	101
Tab. 32. Liczebność bakterii - powtórzenie nr 2 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatyżania próbek biologicznych.....	101
Tab. 33. Gęstość optyczna - powtórzenie nr 3 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatyżania próbek biologicznych.....	103
Tab. 34. Liczebność bakterii - powtórzenie nr 3 eksperymentu z wykorzystaniem finalnego prototypu do zatyżania próbek biologicznych.....	103