



Ed van der Mark, Dunea

Aleksandra Magic-Knezev, Het Waterlaboratorium

Luc Zandvliet, Het Waterlaboratorium

Toine Ramaker, Dunea

Biologische stabiliteit van drinkwater in een ander daglicht

Biologische stabiliteit wordt meestal gedefinieerd door nagroei van *Aeromonas spp.* en heterotrofe bacteriën, koloniegetal 22°C, in het distributienet. In het kader van DisConTO* is statistisch onderzoek naar langjarige metingen van *Aeromonas spp.* en koloniegetallen 22°C in het voorzieningsgebied van Dunea uitgevoerd. De resultaten laten zien dat het aantal bacteriën voor beide parameters in de regio noord significant lager is dan in de regio zuid. De voorzichtige conclusie was dat de biologische stabiliteit van het drinkwater in de regio noord groter is dan in zuid. Toepassing van relatief nieuwe parameters, zoals de concentratie van adenosine trifosfaat en directe celtelling met flowcytometrie, werpt een nieuw licht op de zaak. Zijn de eerder gemaakte conclusies wel juist? En welke waarde hebben de resultaten van *Aeromonas spp.* en koloniegetallen 22°C nog bij de beoordeling van de biologische stabiliteit van het drinkwater?

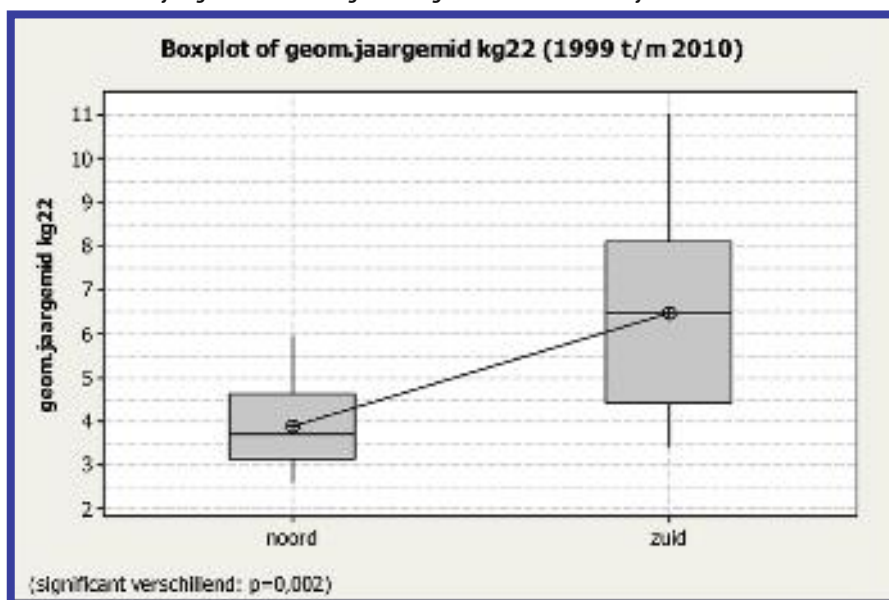
Waterleidingbedrijven hebben behoefte aan methoden die een goed beeld geven van de biologische stabiliteit, met lage kosten en met snel beschikbare resultaten. De parameters *Aeromonas spp.* (aero30) en koloniegetallen 22°C (kg22) zijn reeds vele jaren dé parameters die de waterleidingbedrijven toepassen als bedrijfstechnische parameters voor beoordeling van de microbiologische kwaliteit van het water in het zuiveringsproces en van het drinkwater in het distributienet. Beide parameters zijn ook in het Drinkwaterbesluit opgenomen.

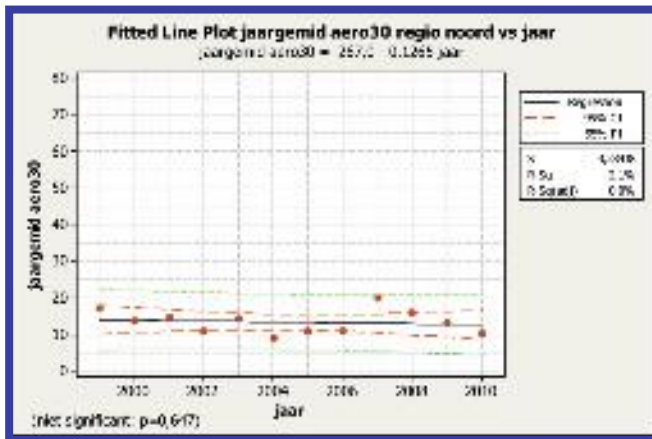
Kg22 staat nog steeds te boek als een indicator voor de hoeveelheid van nature voorkomende bacteriën in het drinkwater. Aero30 is een indicator voor nagroei in het distributienet. Beide parameters zijn al jaren een maat voor de biologische stabiliteit van drinkwater. Een alternatieve parameter voor biologische stabiliteit is assimileerbaar organisch koolstof (AOC). Bij AOC-concentraties beneden 10 µg C/l worden wettelijke normen voor aero30 en kg22 meestal niet overschreden¹⁾. In het distributienet wordt deze analyse slechts incidenteel uitgevoerd. Met een lage frequentie (viermaal per jaar) voert Dunea dit onderzoek wel uit in het drinkwater van de productielocaties. Bij Dunea zijn de AOC-concentraties in reinwater af productielocaties laag (< 10 µg C/l).

Analyse van adenosine trifosfaat (ATP) en directe celtelling met flowcytometrie (DCT) worden steeds vaker als alternatief gebruikt als maat voor biologische stabiliteit. ATP is een energiedrager voor de processen in cellen. Dus hoe hoger de ATP-concentratie, des te hoger de biologische activiteit. DCT geeft informatie over het totaal aantal cellen

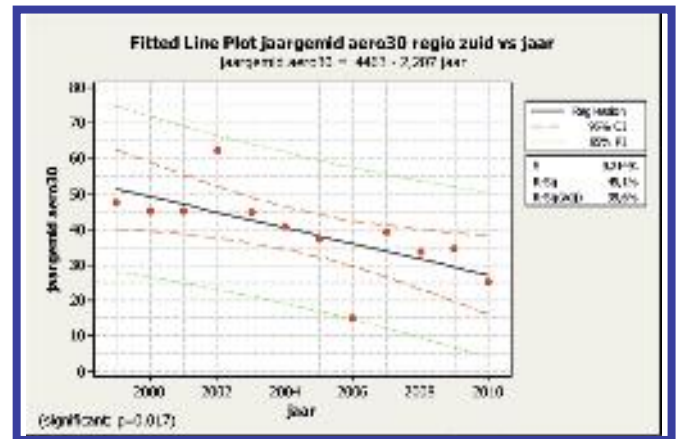
(bacteriën) per ml. Aantallen bacteriën bepaald met flowcytometrie zijn vele malen hoger dan de aantallen bepaald als kg22. Dat betekent dat kg22 nauwelijks een maat is voor de totale hoeveelheid cellen in drinkwater²⁾. Ook aero30 als indicator voor nagroei van bacteriën in het distributienet roept steeds vaker vraagtekens op. Kortom:

Afb. 1: Geometrisch jaargemiddelen van kg22 van regio noord en zuid over de jaren 1999 t/m 2010.

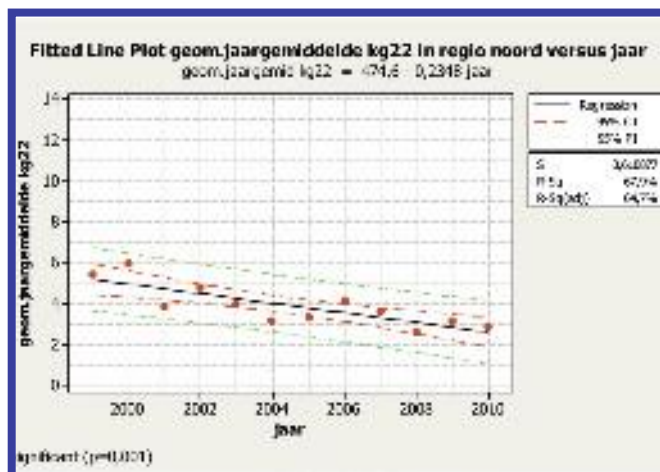




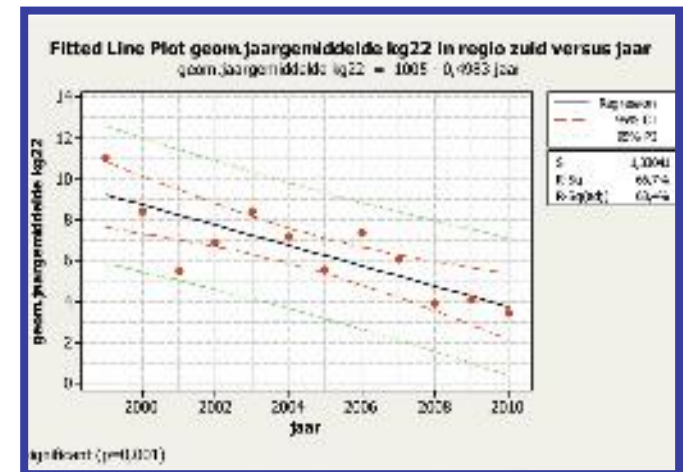
Afb. 2: Langjarige trend van jaargemiddelden van aero30 in de regio noord versus het jaar.



Afb. 3: Langjarige trend van jaargemiddelden van aero30 in de regio zuid versus het jaar.



Afb. 4: Langjarige trend van het geometrisch jaargemiddelde van kg22 in de regio noord versus het jaar.



Afb. 5: Langjarige trend van het geometrisch jaargemiddelde van kg22 in de regio zuid versus het jaar.

zijn aero30 en kg22 wel geschikte parameters om een goed beeld te geven van de totale biologische stabiliteit van het drinkwater in het distributienet? En wordt het geen tijd om de nieuwe ontwikkelingen op dit gebied te implementeren in het reguliere wateronderzoek?

Resultaten kg22 en aero30

Omdat van de parameters aero30 en kg22 langjarige informatie beschikbaar is, heeft Dunea statistisch onderzoek uitgevoerd naar verschillen in de regio's (noord en zuid). Regio zuid wordt voornamelijk voorzien van drinkwater van de productielocatie Scheveningen en regio noord door de productielocatie Katwijk. De twee productielocaties hebben een gezamenlijke bron en een vergelijkbare zuivering die in hoge mate biologisch stabiel water produceert³⁾ (AOC < 10 µgC/l). Uit statistisch onderzoek blijkt dat een significante positieve relatie bestaat tussen de temperatuur van het drinkwater en het aantal aero30. Bovendien is het aantal aero30 in de regio zuid significant hoger dan in de regio noord⁴⁾.

Aanvullend onderzoek van de gegevens over de periode 1999-2010 wijst uit dat voor de parameter kg22 hetzelfde geldt als voor aero30: in de regio zuid significant hogere waarden dan in de regio noord (zie afbeelding 1). De statistische analyse toont aan dat nagroei van aero30⁴⁾ en kg22 in de

regio zuid groter is dan in de regio noord. Daarmee is de biologische stabiliteit voor deze parameters in de regio noord dus groter dan in zuid.

Langjarige trends van aero30 en kg22

De norm voor aero30 van het Drinkwaterbesluit (1000 kve/100ml) is de afgelopen twaalf jaar in de distributieregio's zelden overschreden en de norm van kg22 (100 kve/ml als geometrisch jaargemiddelde) helemaal niet. Verder zijn voor beide parameters dalende trends te zien. Hierop vormt de trend van aero30 in de regio noord een uitzondering. Hier is geen significante trend gevonden en is het jaargemiddelde de afgelopen twaalf jaar nauwelijks gewijzigd (zie afbeelding 2).

Conclusie is dat voor aero30 en kg22 in het distributienet een dalende trend te zien is. Alleen aero30 in de regio noord blijft constant. Ook is de nagroei voor deze parameters in de regio noord kleiner dan in de regio zuid. Op basis van deze parameters is de conclusie dat de biologische stabiliteit in regio noord beter is.

'Nieuwe' parameters ATP en DCT

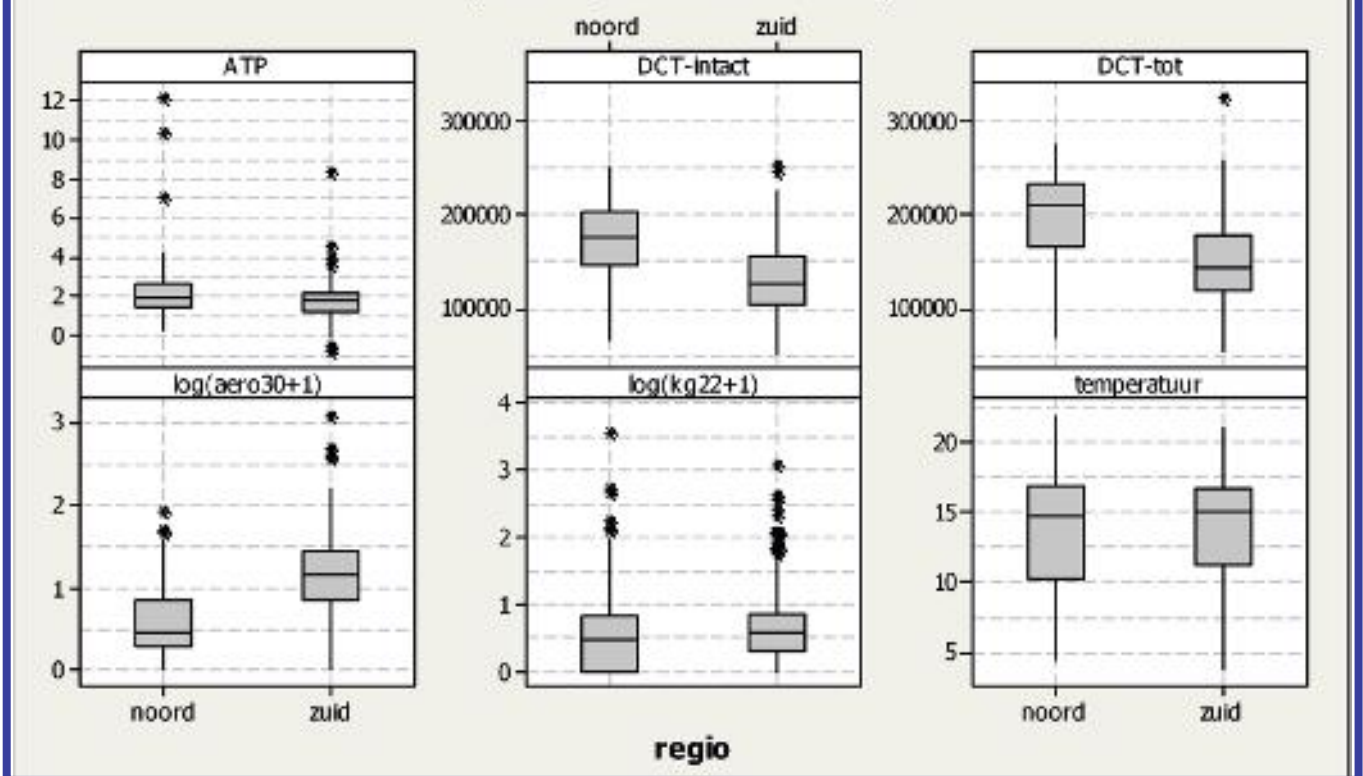
Vanaf 1 januari 2011 voert Dunea eveneens regulier onderzoek uit naar adenosine trifosfaat (ATP) en directe celtelling (DCT; flowcytometrie). ATP en DCT geven kwantitatieve informatie over respectievelijk de

bacteriologische activiteit en de bacteriële concentratie in water, terwijl aero30 en kg22 alleen een beeld geven van een specifiek deel van de bacteriologische gemeenschap in water. ATP is een energiedrager voor de processen in alle levende cellen. Dus hoe hoger de concentratie, des te hoger de biologische activiteit. DCT geeft informatie over het totaal aantal bacteriën in water, ongeacht de kweekbaarheid op algemene of specifieke voedingsbodems. Hierbij kan tevens onderscheid worden gemaakt in het totaal aantal intacte cellen (DCT-intact) als onderdeel van het totaal aantal cellen (DCT-tot). Evenals het onderzoek naar de parameters aero30 en kg22 wordt ook dit op *ad random* gekozen locaties in het voorzieningsgebied aan de tap uitgevoerd.

Resultaten ATP en DCT

Afbeelding 6 geeft de metingen van de parameters ATP, DCT, aero30, kg22 en temperatuur van januari tot en met oktober 2011 als boxplots weer. Hierin zijn aero30 en kg22 loggetransformeerd. De ATP-concentraties (medianen) zijn in beide regio's ongeveer gelijk: 1,9 ng/l in de regio noord en 1,7 ng/l in de regio zuid. De resultaten van DCT-intact en DCT-tot laten een heel ander beeld zien. Nu lijkt het beeld volledig omgedraaid, vergeleken met de aantallen aero30 en kg22. Met een mediaan van ongeveer 210.000 cellen/ml (DCT-tot) in de regio noord en 142.000 (DCT-tot) in zuid

Boxplot van ATP, DCT-intact, DCT-tot, log(aero30+1), log(kg22+1) en temp (periode jan 2011 t/m okt 2011)



Afb. 6: Boxplots van ATP ($n_{\text{noord}}=76$, $n_{\text{zuid}}=100$), DCT-intact, DCT-tot ($n_{\text{noord}}=76$, $n_{\text{zuid}}=100$), log(aero30+1), log(kg22+1) en temperatuur in de regio noord en regio zuid over de periode januari tot en met oktober 2011.

lijkt de nagroei in de regio zuid lager dan in noord. Dit staat dus in schril contrast met de bevindingen met de parameters aero30 en kg22.

Met de medianen van ATP en DCT-tot kan vervolgens de ATP per cel worden berekend. Dit levert voor de regio noord en de regio zuid respectievelijk $1,00 \cdot 10^{-8}$ en $1,05 \cdot 10^{-8}$ ng ATP/cel op. Deze waarden zijn niet significant verschillend ($p=0,450$). Hieruit kan worden afgeleid dat de biologische activiteit in beide regio's gelijk is.

Conclusie

Uit dit onderzoek blijkt dat de metingen van aero30 en kg22, als maat voor biologische stabiliteit, een ander beeld geven dan metingen van ATP en DCT. De parameters aero30 en kg22 alleen geven geen goede indicatie van de totale biologische stabiliteit van het drinkwater in het distributienet. Mogelijk zijn deze parameters wel goed toepasbaar voor specifieke nagroei mechanismen zoals de relatie met leidingmateriaal (met name gietijzer). Van der Wielen *et al.*⁵⁾ beschreven onder andere dat meervoudige regressieanalyses voor aero30 laten zien dat gietijzer in het leidingnet een significante factor is voor groei van aero30.

ATP en ATP/cel zijn goede parameters voor de biologische activiteit. Met ATP-waarden kleiner dan 2 ng/l en ATP-waarden per cel van rond de $1 \cdot 10^{-8}$ ng ATP/cel in beide regio's kunnen we concluderen dat de biologische activiteit in het distributienet van Dunea in beide regio's gelijk is én zeer klein. Het aantal

cellen per ml verschilt in beide regio's; in noord is dit groter dan in zuid. De nagroei van het aantal cellen in beide regio's is echter verwaarloosbaar, omdat de niveaus van het aantal cellen in het drinkwater van de productielocaties hetzelfde zijn als die in de respectievelijke regio's. De bevindingen van ATP en DCT zijn in tegenstelling tot die van aero30 en kg22 waarvoor wel nagroei plaats en de aantallen in zuid groter zijn dan in noord.

Het is dus aan te bevelen om ATP en DCT op te nemen in het reguliere meetprogramma om zo de 'overall' biologische stabiliteit in het distributienet goed in beeld te brengen. Voor specifieke nagroei mechanismen zijn aero30 en kg22 mogelijk goed toe te passen nadat de betreffende mechanismen (relatie leidingmateriaal, verblijftijden?) goed zijn vastgesteld.

NOTEN

* DisConTO is een samenwerkingsverband van Vitens, PWN, Brabant Water, RIVM, TU Delft, DHV, softwarebedrijf UReason en Dunea dat onderzoek doet naar de kwaliteitsontwikkeling van drinkwater in het distributienet onder normale en calamiteuze omstandigheden met financiële ondersteuning van AgentschapNL.

LITERATUUR

- 1) Van der Kooij D. (1992). Assimilable Organic Carbon as an indicator of bacterial regrowth. JAWWA 84/2, pag. 57-65.
- 2) Hammes F., M. Berney, Y. Wang, M. Vital, O. Köster en Th. Egli (2008). Flow-cytometric total bacterial cell counts as a descriptive microbiological parameter

for drinking water treatment processes. Water Research 42, pag. 269-277.

- 3) Van der Kooij D. en H. Veenendaal (2009). Biofilmvormende eigenschappen en legionellagroei-potentie van het water van de pompstations Katwijk en Scheveningen. KWR Watercycle Research Institute. Rapport 09.053.
- 4) Van der Mark E., F. Roman, L. Zandvliet en T. Ramaker (2011). Ruim tien jaar wateronderzoek: een statistische goudmijn. H₂O nr. 18, pag. 34-36.
- 5) Van der Wielen P. en D. van der Kooij (2011). Omvang en oorzaak overschrijding kwaliteitseisen door nagroei in drinkwater. H₂O nr. 22, pag. 36-38.