



Mirjam Blokker, KWR Water Research Institute  
 Paul van der Wielen, KWR Water Research Institute  
 Agata Donocik, Brabant Water  
 Egbert Zaadstra, Brabant Water

# Verblijftijd belangrijkste parameter in nagroei *Aeromonas* in de vulleiding Son-Vierlingsbeek

In de afgelopen jaren heeft Brabant Water herhaaldelijk groei van *Aeromonas* in de reinwaterkelder van waterproductiebedrijf Vierlingsbeek geconstateerd. Een deel van het water in deze kelder wordt aangevoerd door de vulleiding van het waterproductiebedrijf Son. Brabant Water wilde meer inzicht verkrijgen in de processen die verantwoordelijk zijn voor de groei van *Aeromonas* in deze leiding. Daarom heeft het bedrijf samen met KWR Watercycle Research Institute enkele hypothesen geformuleerd en getest over het ontstaan van de nagroei van *Aeromonas* in een specifieke vulleiding, namelijk de leiding Son-Vierlingsbeek. Er werd een verband verondersteld tussen de nagroei en de hoeveelheid aanwezig sediment, de verblijftijd in de leiding en/of het mengen van twee waterkwaliteiten (die van Son en die van Lieshout). De belangrijkste oorzaak van nagroei in de vulleiding Son-Vierlingsbeek blijkt de combinatie van aanwezigheid van *Aeromonas* af pompstation met lange verblijftijden; de nagroei stijgt exponentieel met de verblijftijd.

Bacteriën van het geslacht *Aeromonas* vermeerderen zich onder bepaalde omstandigheden in het distributiesysteem, waardoor de wettelijke eis van maximaal 1000 kolonievormende eenheden (kve)/100 ml kan worden overschreden. Deze wettelijke eis heeft tot doel om vermeerdering van bacteriën in het distributiesysteem te beperken, waarbij *Aeromonas* als indicator voor nagroei in het leidingnet fungeert.

Bepaalde typen *Aeromonas*-bacteriën zijn ook in Nederland aangetroffen bij personen met diarree, maar er zijn geen aanwijzingen dat de typen *Aeromonas* die zich vermeerderen in drinkwater ziekte kunnen veroorzaken. Nagroei van *Aeromonas* wordt voornamelijk waargenomen in de zomermaanden, bij temperaturen boven 15°C. Daarbij neemt het aantal bacteriën soms toe met de verblijftijd van het water in het distributiesysteem. Er zijn eveneens aanwijzingen dat groei van *Aeromonas* vooral optreedt in het sediment, maar onduidelijk is in welke mate de hoeveelheid en aard van het sediment een rol spelen bij de groei.

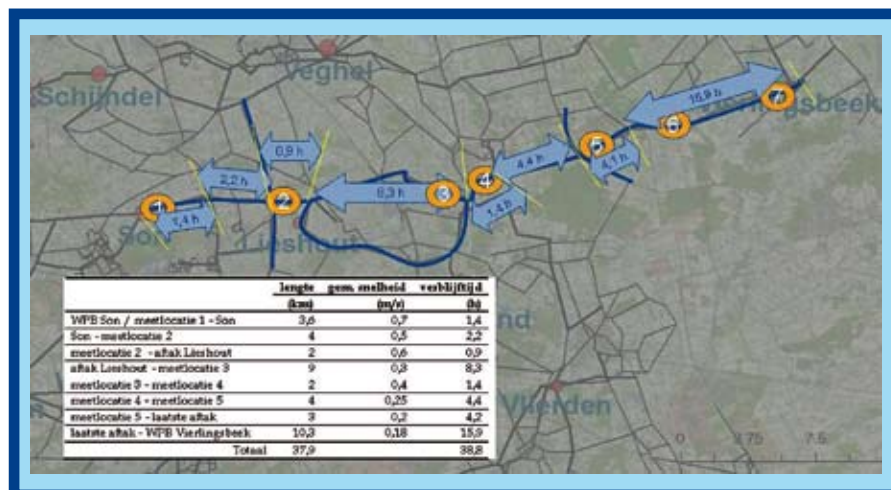
In de afgelopen jaren heeft Brabant Water herhaaldelijk groei van *Aeromonas* in de

reinwaterkelder van waterproductiebedrijf Vierlingsbeek geconstateerd: tussen juni 2004 en december 2005 zelfs zevenmaal een overschrijding van de bedrijfsnorm van 200 bacteriën per 100 ml. Een deel van het water in deze kelder wordt aangevoerd door de vulleiding van waterproductiebedrijf Son.

## Vulleiding Son-Vierlingsbeek

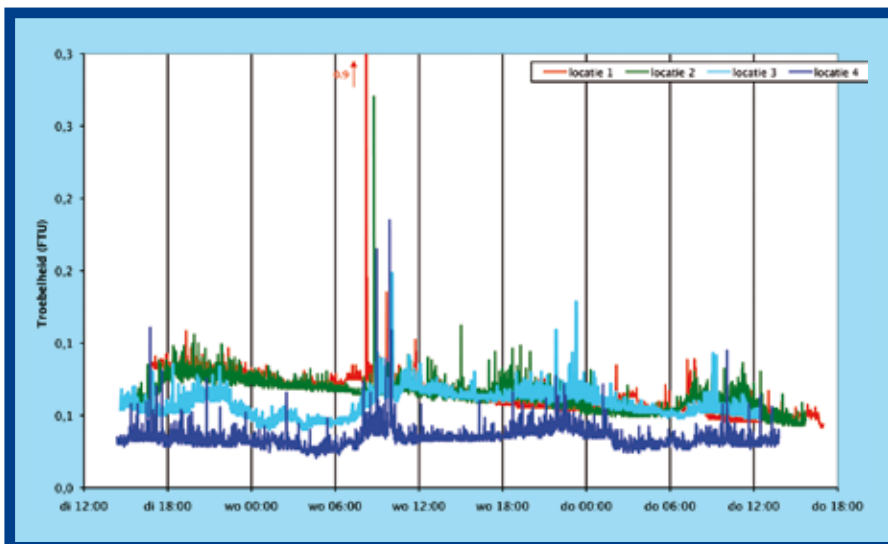
Het water van waterproductiebedrijf Vierlingsbeek wordt in de reinwaterkelder gemengd met het water van productiebedrijf Son. Dat water wordt over grote afstand getransporteerd naar het waterproductiebedrijf Vierlingsbeek: het loopt via een vulleiding met een doorsnede van 400 tot 600 millimeter en een lengte van 37,9 kilometer in

Afb. 1: Stroomsnelheden, verblijftijden en meetlocaties op de vulleiding.





Monitoringsysteem op een meetlocatie langs de vulleiding Son-Vierlingsbeek.



Afb. 2: Troebelheid op locaties 1-4 van dinsdag 12 tot en met donderdag 14 juni 2007.

#### Afstanden en verblijftijden tussen de meetlocaties.

locatie	adres	moni- torings systeem	afstand (km)	meet- periode (juni)	meet verblijf- tijd (uur)	verblijf- periode na verstoring (juni)	tijd na verstoring (uur)
(0)	waterproductie bedrijf Son	-	0		0		
1	Brouwerskampweg	4	0	12 - 15	0		
2	Meerven Mariahout	1	8,5	12 - 15	3,5		
3	Beekse dijk	2	19,0	12 - 15	12,5		
4	Oude Bakelsedijk	3	19,3	12 - 20	13,0	20 - 25	13,0
5	Grensweg	4	26,1	15 - 20	17,5	20 - 25	16,5
6	Boveneind St. Anthonis	1	31,1	15 - 20	27	20 - 25	21,5
7	Achter Stevens- beekseweg	2	37,8	15 - 20	37,5	20 - 25	27,0
8	waterproductiebe- drijf Vierlingsbeek	-	38,8		39,0		28

de reinwaterkelder. De aantallen *Aeromonas* in het water in deze vulleiding zijn hoog, waardoor het reinwater van Vierlingsbeek relatief hoge (in 2007 gemiddeld 30 per 100 ml) aantallen *Aeromonas* bevat.

KWR en Brabant Water hebben drie hypothesen geformuleerd over het ontstaan van de nagroei van *Aeromonas* in deze specifieke vulleiding: de nagroei hangt samen met de hoeveelheid aanwezig sediment of met de verblijftijd in de leiding, de temperatuur is van invloed of de nagroei ontstaat door menging van twee waterkwaliteiten (Son en Lieshout). Deze hypothesen zijn in dit onderzoek getoetst.

Brabant Water heeft een waterbalans opgesteld voor de leiding tussen Son en Vierlingsbeek. De leiding doet niet uitsluitend dienst als vulleiding, maar levert ook aan het distributienet. Vanuit Lieshout wordt relatief veel water bijgemengd. Op basis van de waterbalans en de diameters van de leidingen zijn de minimale verblijftijd en de maximale snelheid vastgesteld (zie afbeelding 1). De meetlocaties (zie afbeelding 1 en de tabel) zijn zodanig gekozen dat alle hypothesen konden worden getest.

#### Bemonsteringsprogramma

De monsterneming vond plaats met behulp van een steeklans (zie kader), die op verschillende locaties in de vulleiding werd ingebracht. Op de monsters werden de volgende biologische analyses uitgevoerd: ATP-gehalte, koloniegetal op glucose gistextract agar na drie dagen incuberen bij 22°C (kg22) en aantallen *Aeromonas* bij 30°C. Via chemische analyses zijn de parameters ijzer, mangaan, aluminium, gesuspendeerde stoffen, gloeirest en troebelheid bepaald.

Relatie nagroei en hoeveelheid sediment  
De troebelheid op de meetlocaties is laag. Afbeelding 2 geeft de troebelheid op vier locaties weer. Op de locaties 3 en 4 is de hoeveelheid sediment lager dan op locatie 1 en 2. Blijkbaar sedimenteert dus een kleine

Met vier monitorsystemen is op locatie 1 t/m 7 (zie afbeelding 1) de druk, temperatuur, elektrisch geleidingsvermogen, troebelheid en pH gemonitord. Hierbij zijn locatie 2 t/m 7 in het midden van de leiding gemonitord door een steeklans. Er is gekozen voor de middenpositie om (ten opzichte van de gebruikelijke aan boring) beter het effect van opwerveling te kunnen meten. Met de steeklans kunnen op eenvoudige wijze op verschillende niveaus in leidingen watermonsters worden genomen. De steeklans bestaat uit een metalen mantelbuis met hierin drie monsterbuizen, waarmee op drie niveaus (5 cm van de bodem, in het midden en 3 cm van de bovenkant van de leiding) monsters kunnen worden onttrokken. De steeklans wordt door een 1" aan boring onder druk in een leiding ingebracht. Het inbrengen van de steeklans vindt plaats zonder onderbreking van de levering.

fractie tussen locatie 2 en 3 (de maximale snelheid is op dit traject 0,3 m/s). Op 20 juni is een verstoring van de stroomsnelheid uitgevoerd, waarbij de troebelheid gedurende korte tijd steeg tot 1,0 FTU en vervolgens binnen enkele uren weer afnam tot de gebruikelijke troebelheid. De conclusie is dat enige sedimentophoping heeft plaatsgevonden sinds de laatste spuiactie op deze locatie 2,5 jaar geleden.

In afbeelding 3 zijn de aantallen *Aeromonas* (per locatie vóór, tijdens en na de verstoring) uitgezet tegen de gemiddelde troebelheid. De gemiddelde troebelheid betekent in dit geval de troebelheid gemeten met de monitorsystemen; de troebelheid voor de verstoring is het gemiddelde over de dagen voor 20 juni, de troebelheid tijdens de verstoring is het gemiddelde op 20 juni en de troebelheid na de verstoring is het gemiddelde vanaf 21 juni. De gemiddelde troebelheid die met de monitoringssystemen is gemeten, is gebruikt, omdat van de biologische monsters zelf geen troebelheid is bepaald.

Uit afbeelding 4 volgt dat geen duidelijke relatie bestaat tussen de troebelheid en aantallen *Aeromonas*. Bovendien leidt een milde verstoring met een iets verhoogde troebelheid (0,9 FTU) niet tot hoge aantallen *Aeromonas*.

Het lijkt er dus op dat de hoeveelheid sediment geen belangrijke rol speelt in de nagroei van de bacterie in de vulleiding Son-Vierlingsbeek. Dit verklaart ook waarom spuiacties op de vulleiding de nagroei van *Aeromonas* niet verminderden.

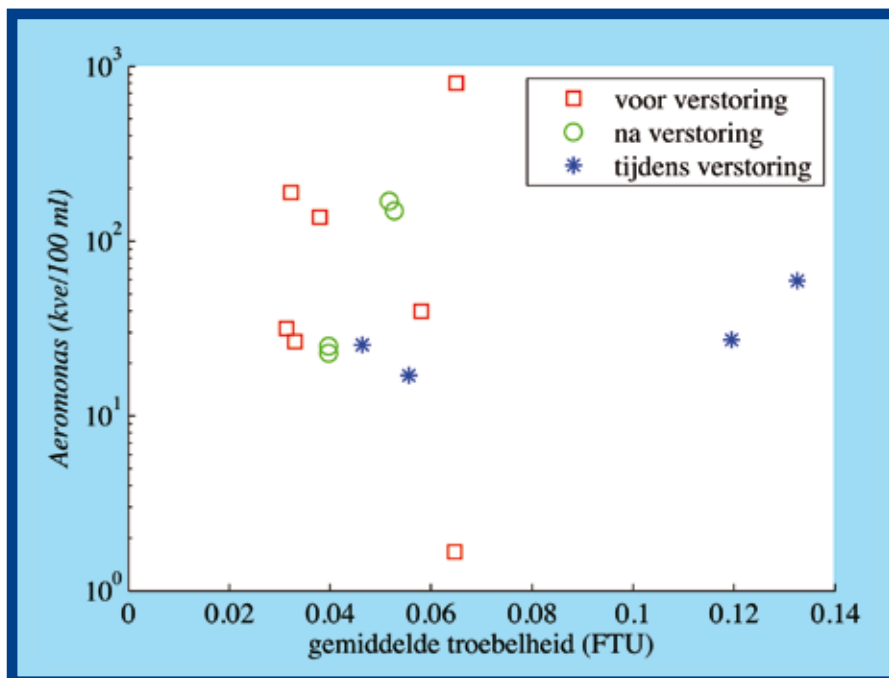
### Relatie snelheid en troebelheid

De gemiddelde troebelheid is in afbeelding 4 uitgezet tegen de (berekende) gemiddelde snelheid op een maximale dag (zie afbeelding 2). De rode vierkanten zijn de metingen voor de verstoring op locatie 2 t/m 7. De blauwe sterren zijn de metingen tijdens de verstoring op locaties 4 t/m 7. De groene cirkels zijn de metingen na de verstoring op locaties 4 t/m 7. De zwarte stippellijnen geven aan welke meetlocaties dezelfde zijn.

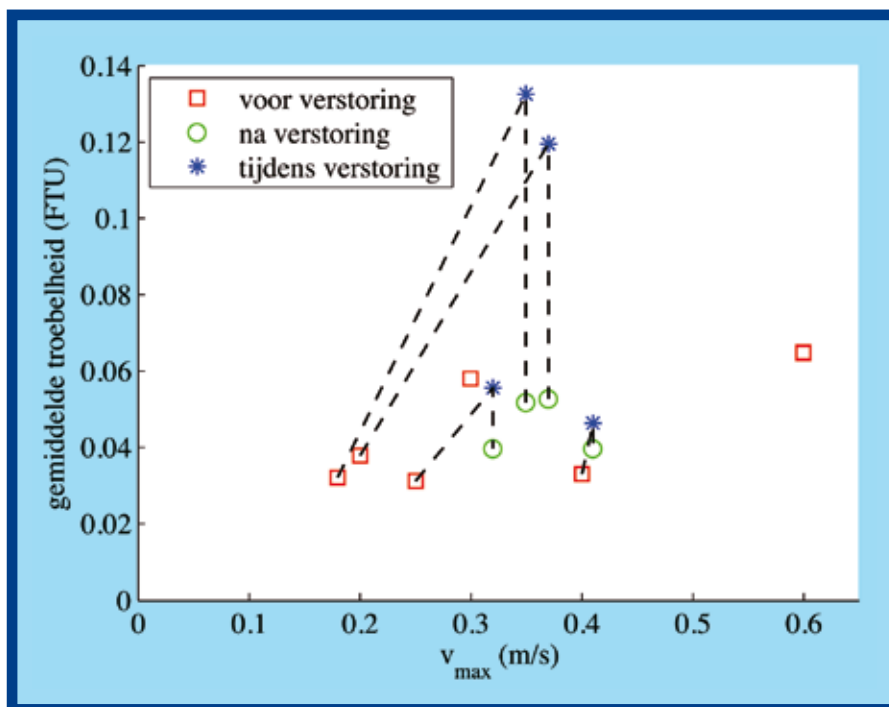
De grafiek maakt duidelijk dat bij een normale (maximale) snelheid van minder dan 0,25 m/s ophoping van sediment plaatsvindt; dit sediment wordt opgewerveld bij een versnelling in het leidingnet. Bij een hogere snelheid is de gemiddelde troebelheid van de waterfase licht hoger (0,06 ten opzichte van 0,03 FTU), maar wordt minder sediment opgebouwd in de leiding. Daarom wervelt ook minder sediment op tijdens een verstoring. De maximale gemiddelde troebelheid in de waterfase wordt bepaald door de sedimentlast af pompstation minus het sediment dat op de bodem bezinkt. Bij hogere snelheid bezinkt minder sediment, want dan is de troebelheid met 0,06 FTU iets hoger dan bij lagere snelheden. Uiteraard geldt dit niet tijdens de verstoring: dan geldt de maximale gemiddelde troebelheid plus opgewerveld sediment.

### Relatie nagroei en verblijftijd

De verblijftijd van het water in de vulleiding is geen constante, maar hangt samen met de



Afb. 3: Relatie tussen troebelheid en aantallen *Aeromonas*.



Afb. 4: Gemiddelde troebelheid tegen maximale snelheid op locaties 1-7 voor, tijdens en na de verhoogde inname (verstoring).

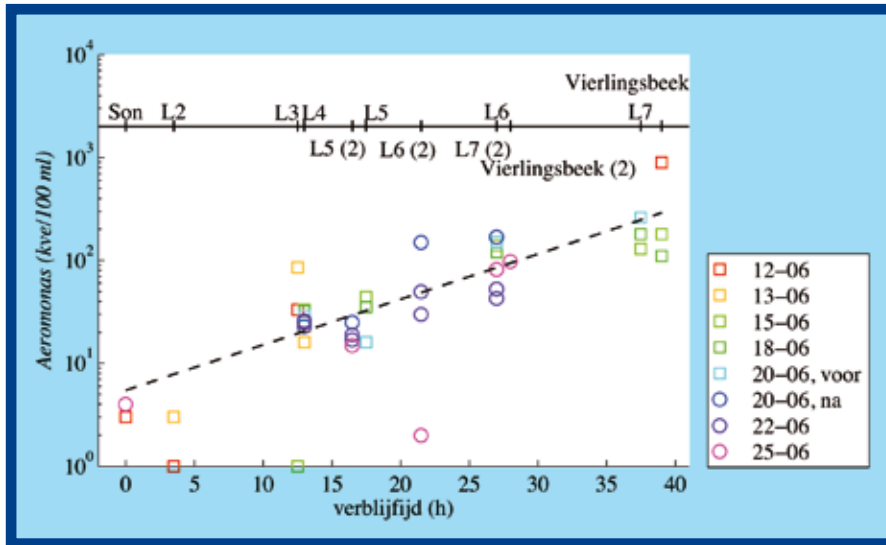
afgenomen hoeveelheid water en varieert dus over de dag. Vanuit de waterbalans zijn de minimale verblijftijden berekend tijdens het uur met maximale afname. Daarnaast dienen de geleidbaarheidsmetingen die onderdeel uitmaken van de monitor ter controle van de verblijftijden. Uit deze geleidbaarheidsmetingen volgt dat de gemeten verblijftijd overeenkomt met de berekende verblijftijd. Omdat niet van alle trajecten gemeten verblijftijden beschikbaar zijn en bij de metingen de variatie in de verblijftijden niet is gemeten, wordt verder de berekende verblijftijd gebruikt als een 'worst case'-scenario.

Afbeelding 5 geeft de gemeten aantallen *Aeromonas*, uitgezet tegen de verblijftijd.

De aantallen op locatie 1 zijn beschouwd als uitschieters en niet vergelijkbaar met de overige metingen, omdat de monsters niet van het midden van de pijp zijn genomen, maar aan de bovenkant. Om toch een referentie te hebben van de beginwaarden, zijn de metingen van het uitgaande water in Son meegenomen. Tevens zijn de metingen van het ingaande water van Vierlingsbeek toegevoegd.

Uit afbeelding 5 blijkt dat, ondanks een tweetal uitschieters (15 juni, locatie 3 en 25 juni, locatie 6), *Aeromonas* exponentieel toeneemt met verblijftijd (lineaire toename van de logaritme van de aantallen *Aeromonas* met de verblijftijd). De correlatie tussen logaantallen *Aeromonas* (exclusief de





**Afb. 5:** Aantallen *Aeromonas* uitgezet tegen verblijftijd op locaties L2 - L7, met uitgaand water uit Son en ingaand water uit Vierlingsbeek (de metingen op locatie 1 zijn buiten beschouwing gelaten); de meetlocaties L5-L7 en Vierlingsbeek na de verkorting van de verblijftijd zijn aangegeven met een (2).

uitschieters van minder of gelijk aan 2) en verblijftijd is statistisch significant ( $p < 0,001$ ) en heeft een relatief hoge  $R^2$  van 0,77. Dit laatste betekent dat 77 procent van de variatie in de logaantallen *Aeromonas* wordt verklaard door variatie in de verblijftijd. Uit afbeelding 5 blijkt ook dat de logaantallen *Aeromonas* sterk gecorreleerd zijn met de verblijftijd. Een verklaring hiervoor is dat een langere verblijftijd van het water micro-organismen de tijd geeft om voedingsstoffen uit het water te benutten, waardoor hun aantallen zullen toenemen. De grafiek toont aan dat de verhoogde inname vanaf 20 juni, waardoor de verblijftijd werd verkort van maximaal 38 uur naar 28 uur, een gunstig effect heeft op de totale aantallen *Aeromonas* in het water aan het eind van de vulleiding. De verblijftijd is dus een belangrijke factor bij de nagroei van *Aeromonas* in de vulleiding Son-Vierlingsbeek; de aantallen *Aeromonas* dalen hierdoor met circa 40 procent.

### Invloed menging

In afbeelding 5 is geen trendbreuk te zien wanneer het water van Son wordt gemengd met het water van Lieshout (tussen locaties 2 en 4). Hieruit is geconcludeerd dat menging

geen invloed heeft; deze hypothese is dan ook niet verder onderzocht.

### Invloed temperatuur op groei

De invloed van de bodemtemperatuur op de kwaliteit van water bij lange verblijftijden is niet expliciet onderzocht. Wel is de meetperiode bewust in de zomer gekozen, zodat de nagroei van *Aeromonas* in de vulleiding Son-Vierlingsbeek goed meetbaar zou zijn. Onderzoek naar de invloed van de temperatuur loopt momenteel binnen het bedrijfstakonderzoek voor de waterbedrijven (programma Microbiologie), met de nadruk op de invloed van de temperatuur op de nagroei van opportunistische ziekteverwekkende micro-organismen.

### Aanwezigheid en lange verblijftijd

In deze studie is een relatie te leggen tussen verblijftijden en sediment en de nagroei van *Aeromonas*. Dit heeft waarschijnlijk te maken met een eenduidige stromingsrichting en een beperkte menging in de onderzochte vulleiding. In het distributienet van Brabant Water zijn vergelijkbare metingen uitgevoerd, maar daar was het niet mogelijk om een relatie te leggen tussen verblijftijden

en *Aeromonas*<sup>1)</sup>. In deze studies was de verblijftijd ook korter dan 38 uur. Onderzoek naar groei van *Aeromonas* in het leidingnet maakt ook deel uit van het BTO-programma 2010-2012.

De belangrijkste oorzaak van nagroei in de vulleiding van Son naar Vierlingsbeek is de combinatie van aanwezige *Aeromonas* af pompstation met lange verblijftijden. De nagroei verloopt exponentieel met de verblijftijd. Tijdens het project zijn de verblijftijden verkort (van maximaal 38 naar 28 uur); dit heeft geleid tot een verlaging (circa 40 procent) van de aantallen *Aeromonas*.

Een andere mogelijke maatregel om de nagroei van *Aeromonas* in de vulleiding van Son naar Vierlingsbeek te beperken, bestaat uit een aanpak van de uitgaande waterkwaliteit in Son. In het verleden is onderzocht aan welke kwaliteitseisen het uitgaande reinwater moet voldoen om nagroei van *Aeromonas* in de distributienetten te voorkomen. Dit leverde de volgende referentiewaarden voor biologisch stabiel water op: AOC < 10 µg Ac/l; BVS < 10 pg ATP cm<sup>-1</sup> dag<sup>-1</sup><sup>2)</sup>.

### LITERATUUR

- 1) Blokker E. en H. Beverloo (2008). Verandering van waterkwaliteit in het distributienet. Waterkwaliteit in Rosmalen in vermaasde en vertakte netten. KWR Watercycle Research Institute. BTO 2008.039.
- 2) Van der Kooij D., J. Vrouwenvelder en H. Veenendaal (1997). Bepaling en betekenis van de biofilmvormende eigenschappen van drinkwater. H<sub>2</sub>O nr. 25, pag. 767-771.