

Ontwikkeling van biologische methoden om de toxicologische kwaliteit van water te bepalen

Inleiding gehouden tijdens het op 28 november 1978 door KIWA en VWN georganiseerde colloquium over Methodenontwikkeling ten behoeve van waterkwaliteitsmeting.

oorzaak van deze kwaliteitsproblemen kan worden aangepakt.

Over methoden voor de bepaling van individuele organische verbindingen, die slechts als daar een duidelijke noodzaak toe bestaat, gebruikt zullen behoeven te worden en die zich ook minder lenen voor toepassing in de normale waterleidinglaboratoria, zal de volgende voordracht gaan.

De laatste lezing handelt over anorganische microverontreinigingen. De problematiek op dit gebied ligt duidelijk anders dan bij de organische microverontreinigingen. Het accent ligt hier veel meer op harmonisatie van bestaande analysemethoden en op de ontwikkeling van methoden voor slibgebonden zware metalen en van zware metalen in chemicaliën.



• *vervolg van pagina 157*

For the determination of organic phosphorus and sulphur an investigation is carried out in a system in which the organic phosphorus and sulphur can be measured simultaneously using a flame-photometerdetector.

For these groupparameter measurements methods a macro-injection system has been developed, making it possible to inject relative large volumes of sample (to 250 μ l).

H₂O (12) 1979, nr. 8; 174

U.D.C. 543.544.25:543.38

A. NOORDSIJ:

Macro-injection on capillary columns

The analysis, qualitative as well as quantitative, of individual compounds remains a necessity. Gaschromatography with capillary columns, eventually in combination with a mass-spectrometer, is the most adequate tool for the identification and quantification of organic compounds. A very important accessory in this analytical instrumentation is the injection system of the gaschromatograph.

A macro-injection-apparatus for capillary columns has been developed in the KIWA-laboratory. Quantities of 100 microliter and more can be injected on the capillar-gaschromatograph.

H₂O (12) 1979, nr. 8; 178

U.D.C. 543.312.063

W. VAN DE MEENT:

Inorganic micro-pollutants

A review is given of the activities which are engineered by KIWA in the field of inorganic micro-pollutants in relation to the drinking water supply.

In the light of an example (arsenic) information is given on which way a regulation of a circular research is compared with the criteria drafted by the Subgroup Inorganic Micropollutants of the RIWA.

On the analysis of heavy metals in chemicals has been entered into details. A method for the analysis of arsenic in chemicals has been described, as well as the application of anodic stripping voltammetry. Finally there has been entered into the problems of the suspended solids which are bound to heavy metals.

A review is given of the bondpercentages of heavy metals with suspended solids in the rivers such as 'Maas', 'Rijn', 'Amazona' and 'Yukon'.

Vele oppervlaktewateren zijn tegenwoordig sterk vervuild. In verband hiermee staan in Nederland de Rijn en de Maas in het middelpunt van de belangstelling, omdat enerzijds deze rivieren de belangrijkste zoetwaterleveranciers zijn en anderzijds beide aanzienlijk vervuild zijn met — deels toxische — verontreinigingen.

Door de talloze lozingen van industrieel en huishoudelijk afvalwater en door andere oorzaken, die tot de verontreiniging bijdragen, is de samenstelling van het rivierwater zéér complex. Bovendien is deze



DR. C. L. M. POELS
KIWA NV

variabel als gevolg van het wisselende karakter van de lozingen, het variërend debiet en de klimatologische invloeden. Mede daardoor is het zeer moeilijk de toxicologische kwaliteit van oppervlaktewater te bepalen.

Ondanks de slechte kwaliteit van vele rivierwateren in Nederland zijn een aantal waterleidingbedrijven voornamelijk gedwongen dit water als grondstof voor de bereiding van drinkwater te gebruiken. Het is dan ook van groot belang, dat men in de bedrijfstak over methoden kan beschikken, waarmee de toxicologische kwaliteit van oppervlaktewater bepaald kan worden. Bij de ontwikkeling van deze methoden dient men er rekening mee te houden, dat één der belangrijkste doeleinden van deze wateren is, dat zij te allen tijde als grondstof voor de bereiding van drinkwater moeten kunnen dienen. Dit betekent, dat drinkwater, bereid uit deze oppervlaktewateren, niet schadelijk mag zijn voor de gezondheid van de mens.

Het verdient de voorkeur de toxicologische kwaliteit van oppervlaktewater vast te stellen door zoogdieren als proefdieren in te zetten. Met behulp van dergelijk onderzoek kunnen dan criteria geformuleerd worden met betrekking tot de geschiktheid van het oppervlaktewater als grondstof voor de bereiding van drinkwater. Helaas stuit dergelijk toxicologisch onderzoek met zoogdieren op grote technische problemen en is dit bovendien zeer kostbaar.

De KIWA-commissie Toxicologie Oppervlaktewater heeft dan ook besloten het toxicologisch onderzoek met vissen uit te voeren. Dit heeft een aantal belangrijke voordelen, zoals:

— vissen zijn door hun voortdurend verblijf in water zeer afhankelijk van de water-

kwaliteit, waardoor zij op lagere concentraties van toxische stoffen reageren dan zoogdieren [1, 2];

— de inwendige structurele organisatie van vissen vertoont veel overeenkomst met die van zoogdieren;

— zeer veel, bij zoogdieren gebruikelijke, toxicologische parameters kunnen ook bij vissen bepaald worden;

— toxicologisch onderzoek met vissen is goedkoper dan onderzoek met zoogdieren.

Een groep van aquatische toxicologen, onder leiding van Van Genderen, heeft enige jaren geleden in een advies aan de Europese Commissie gesteld, dat 'oppervlaktewater, waarin vis aanwezig is, die er zich normaal in voortplant', als gezond water beschouwd kan worden [3]. Bij deze opvatting sluit de stellingname van de WHO aan, die ervan uitgaat, dat 'water, dat voor vissen toxisch is, voor menselijke consumptie ongeschikt is' [4].

De Commissie Toxicologie Oppervlaktewater heeft beide visies samengevat en gesteld, dat oppervlaktewater, dat

— 'niet toxisch is voor vis en

— waarin vis zich normaal kan voortplanten'

uit kwalitatief oogpunt geschikt is voor de bereiding tot drinkwater voor menselijke consumptie.

Het toxicologisch onderzoek van het KIWA heeft zich de afgelopen jaren gericht op de beantwoording van de vraag of het Rijnwater uit de Lek aan deze kwaliteitseisen voldoet. Daarbij is gebruik gemaakt van twee verschillende typen langeduur onderzoeken met regenboogforellen:

1. Integraal toxicologisch onderzoek.

2. Langdurig embryo/larvaal onderzoek.

De kenmerken en resultaten van beide typen onderzoeken worden hieronder nader uiteengezet.

ad 1. Integraal toxicologisch onderzoek:

a. *principe*: het langdurig blootstellen van grote aantallen regenboogforellen aan Rijnwater en het vergelijken ervan met een groep forellen, die onder identieke omstandigheden verblijven in grondwater van drinkwaterkwaliteit;

b. *proefduur*: éénmaal 9 maanden en éénmaal 18 maanden;

c. *monsternamen*: elke 3 maanden;

d. *onderzoekparameters*: het betreft vele 10-tallen onderzoeksparameters, met als belangrijkste: groei, bloedwaarden, stofwisseling, histopathologie en accumulatie;

e. *resultaten*: Er werden bij vele onderzochte parameters afwijkingen geconsta-

TABEL I - Het effect op een aantal onderzoeksparameters na 18 maanden blootstelling van regenboogforellen aan Rijnwater in vergelijking met controles (gemiddelde van 20 - 30 vissen met standaardafwijking).

Parameter	Controle	Rijnwater	%-age van de controle
lichaamsgewicht (g)	631,5 ± 181,8	370,3 ± 82,4**	- 41,4
somatische lever index (1)	1,1 ± 0,2	1,50 ± 0,21***	+ 32,7
somatische nier index (1)	0,75 ± 0,19	0,85 ± 0,17	+ 13,3
somatische milt index (1)	0,11 ± 0,04	0,15 ± 0,05**	+ 35,8
hemoglobine gehalte bloed (g/100 ml)	4,3 ± 0,6	2,9 ± 0,5***	- 31,7
hematocrit waarde (vol %)	47,2 ± 7,3	35,9 ± 7,3***	- 23,9
glucose gehalte bloed (mg/100 ml)	41,9 ± 9,7	62,5 ± 11,8***	+ 49,2
ureum gehalte serum (mg/100 ml)	0,7 ± 2,1	7,3 ± 1,8*	- 16,2
APDM activiteit per mg levereiwit (2)	4,8 ± 2,1	4,2 ± 1,6	- 13,0
APDM capaciteit per lever (2)	3832 ± 1658	2688 ± 1240**	- 29,9
APDM capaciteit per lever relatief t.o.v. het lichaamsgewicht (2)	6,3 ± 2,5	7,2 ± 2,8	+ 12,9
GPT activiteit van de lever (mU/ml) (3)	627 ± 218	862 ± 259**	+ 37,5
LDH activiteit van serum (mU/ml) (4)	627 ± 385	940 ± 501*	+ 50,1
AF activiteit van serum (mU/ml) (5)	201 ± 123	250 ± 74	+ 24,4
Acetylcholine esterase activiteit in hersenweefsel (mU/mg eiwit)	88,9 ± 14,8	65,3 ± 10,9***	- 26,6

weefselgewicht (g) x 100

(1) somatische weefselindex: $\frac{\text{weefselgewicht (g)} \times 100}{\text{lichaamsgewicht (g)}}$

(2) Aminopyrinedemethylase activiteit uitgedrukt in n moles formaldehyde gevormd per uur

(3) Glutamaat pyruvaat transaminase

(4) Lactaat dehydrogenase

(5) Alkalische fosfatase

* P < 0,1

** P < 0,05

*** P < 0,005

teerd tussen de forellen, die in Lekwater verbleven en de controles (zie tabel I). Uit beide onderzoeken is de conclusie getrokken, dat: *Rijnwater uit de Lek chronisch toxisch is voor regenboogforellen* [5].

ad 2. Langdurig embryo/larvaal onderzoek.

a. *principe*: het langdurig blootstellen aan Rijnwater van ± zesduizend eieren en larven van forellen en het vergelijken ervan met een groep eieren en larven, die onder identieke proefomstandigheden verblijven in grondwater van drinkwaterkwaliteit;

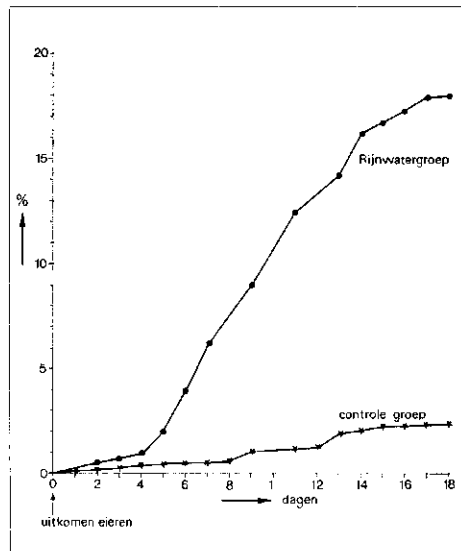
b. *proefduur*: 4 tot 6 maanden;

c. *monsternamen*: elke 2 tot 4 weken;

d. *onderzoeksparameters*: sterfte, groei, duur van bepaalde ontwikkelingsstadia, histopathologie van de belangrijkste organen, morfometrie van het individu, accumulatie van gechlloreerde koolwaterstoffen;

e. *resultaten*: dit onderzoek, dat 3 x is uitgevoerd, is zeer gevoelig en laat bij diverse parameters gedurende verschillende ontwikkelingsstadia ernstige afwijkingen zien bij de proefdieren, die verbleven in Lekwater (afb. 1). Hieruit kan de conclusie getrokken worden, dat *'forellen zich in het Rijnwater van de Lek niet normaal kunnen voortplanten'*.

Men kan dus op grond van de proeven met Rijnwater uit de Lek concluderen, dat



Afb. 1 - Cumulatief sterftepercentage van juveniele forellen tijdens de resorptie van de dooierzak.

beide eisen, die door de Commissie Toxicologie Oppervlaktewater aan de grondstof voor de bereiding van drinkwater gesteld zijn, niet gehaald worden.

Ofschoon dit onderzoek met vissen is uitgevoerd en er nog weinig bekend is over de relatie tussen vis-toxiciteit en humane toxiciteit, noodzaakt dit onderzoekresultaat de betrokken waterleidingbedrijven tot grote oplettendheid omdat bekend is dat de gebruikelijke zuiveringstechnieken

niet alle toxische stoffen volledig verwijderen.

Met name dient in de toekomst onderzoek verricht te worden aan:

— de toxicologische kwaliteit van Maaswater, IJsselmeerwater en water in de diverse spaarbekkens;

— de relatie tussen de toxicologische kwaliteit van de grondstof en die van het eindproduct bij oppervlaktewater verwerkende bedrijven, mét en zónder duinfiltratie;

— de efficiency van de gebruikelijke fysisch-chemische zuiveringsprocessen met betrekking tot het verwijderen van toxische stoffen;

— de kwaliteit van het drinkwater bij een groot aantal verschillende typen bedrijven, zoals bedrijven, die oppervlaktewater, oeveriltraat of grondwater zuiveren.

Het is duidelijk, dat het niet mogelijk is een dergelijk omvangrijk onderzoekprogramma uit te voeren met behulp van de bovenschreven methoden, daar dit te tijdrovend en te kostbaar is.

Daarom richt het onderzoek van het KIWA zich op de ontwikkeling van een zo beperkt mogelijk aantal korteduur screeningstesten, die zoveel mogelijk informatie geven m.b.t. de belangrijkste aspecten van de langeduur testen. Men moet daarvoor nagaan welke informatie een langeduur test en wel in het bijzonder het chronische toxiciteitsonderzoek geeft en wat de belangrijkste kenmerken van een dergelijk onderzoek zijn (zie tabel II).

TABEL II - Globaal overzicht van langeduur toxiciteitsonderzoeken en hun vervanging door korteduur testen ten behoeve van toxicologisch screeningsonderzoek van water.

Langeduur toxicologische onderzoeken	Korteduur screeningstesten
— chronisch toxiciteitsonderzoek	— embryo-larvale test
— carcinoginiteitsonderzoek	— Ames-test
— mutageniteitsonderzoek	— Ames- en Hondsvistest
— teratogeniteitsonderzoek	— embryo-larvale test
— reproductie onderzoek	— ?
— bioaccumulatie	— octanol test

Chronisch toxiciteitsonderzoek heeft een proefduur van ongeveer 90 % van de levensduur van het proefdier. Het aantal proefdieren is groot, evenals het aantal te onderzoeken parameters. Naast het bepalen van de chronische toxiciteit op basis van parameters, die reeds genoemd zijn bij het integrale onderzoek, ad 1, omvat dergelijk onderzoek o.a. onderzoek, gericht op:

- a. de aanwezigheid van tumoren (carcinogeniteitsonderzoek);
- b. erfelijke afwijkingen (cytogenetisch onderzoek);
- c. vruchtbeschadigende werkingen (teratogeen onderzoek);
- d. voortplantingsvermogen (reproductie onderzoek);
- e. bioaccumulatie.

Een dergelijk groot opgezet chronisch onderzoek is voor een aantal belangrijke aspecten te vervangen door de volgende korte duur screeningstesten, zoals:

1. Embryo/larvale test met vissen:

Deze test heeft een overeenkomstige gevoeligheid als de chronische test, hetgeen veroorzaakt wordt door het feit dat de embryonale en vooral de larvale ontwikkeling van een vis zijn gevoeligste ontwikkelingsstadia zijn [6].

Bij keuze van een geschikte vis als proefdier zijn deze ontwikkelingsstadia kort van duur en liggen in de orde van grootte van 2 - 6 weken. Bovendien worden in de embryo/larvale test teratogene effecten waargenomen.

Geschikte proefdieren zijn de forel (1 x jaarlijks, proefduur 6 weken), de zebrafis (continu uitvoerbaar, proefduur 2 weken), de *Jordanella floridae* en de rijstvis. De embryo/larvale test moet voor een deel nog ontwikkeld worden. De vooruitzichten met betrekking tot de bruikbaarheid van een dergelijke test zijn goed te noemen.

2. Amestest ofwel de Salmonella microsome mutageniteitstest volgens Ames.

Met deze test kunnen stoffen, die mutaties veroorzaken aangetoond worden. In vele gevallen blijken dergelijke mutagene stoffen bovendien carcinogeen te zijn, zodat ook een hoog percentage van potentieel carcinogene stoffen aangetoond kan worden.

Het principe van de Amestest is als volgt: Enkele speciaal geselecteerde stammen van de bacterie *Salmonella typhimurium* zijn niet in staat om te groeien op een bepaalde voedingsbodem, tenzij zij onder invloed van mutagene stoffen gemuteerd zijn. Dit is gemakkelijk waarneembaar door het al dan niet optreden van kolonies. Het aantal kolonies neemt toe bij een hogere concentratie van mutagene stoffen. In een aantal gevallen vertonen bepaalde stoffen pas een mutagene werking, wanneer zij onder invloed van de stofwisseling omgezet zijn. Deze omzetting vindt bij de meeste levende organismen in de lever plaats. Door het al dan niet toevoegen van een leverfractie aan het testmengsel kan

men stoffen, die mutageen/carcinogeen zijn, zowel mét als zónder metabole activering testen.

De Amestest zelf is relatief eenvoudig en op het toxicologisch laboratorium van het KIWA beschikbaar. Aangezien het gehalte aan mutagene stoffen in oppervlaktewater en andere wateren veelal gering is dienen deze stoffen over het algemeen uit het water geëxtraheerd en geconcentreerd te worden, alvorens men ze kan testen. De extractie- en concentreringstechnieken zijn zeer bepalend voor het slagen van de Amestest, vandaar dat op dit punt een uitgebreide samenwerking met de projectgroep Analytisch Chemie van het KIWA plaatsvindt. Als extractie- en concentreringstechnieken kunnen o.a. gebruikt worden: vriesdrogen, XAD-extractie, octanol- en petroleumether extractie. Met behulp van deze laatste methode bleek geconcentreerd Rijnwater positief te zijn in de Amestest [7].

De Amestest zelf duurt 2 dagen, echter de duur van de chemische extractie en concentrering is bepalend voor het aantal testen, dat uitgevoerd kan worden.

3. Hondsvistest.

De hondsvis, een inheemse vissoort, blijft een geschikt organisme te zijn om schade aan het erfelijk materiaal van in water aanwezige verontreinigingen aan te tonen. Aan de basis van dergelijke beschadigingen staan meestal mutagene stoffen. De test zelf is zeer simpel: 5 à 10 vissen worden gedurende 3 - 11 dagen blootgesteld aan het te onderzoeken water en vergeleken met een controlegroep, die onder identieke omstandigheden verblijft in grondwater van drinkwaterkwaliteit. Daarna worden van enkele organen microscopische preparaten gemaakt en de chromosoomsets gescoord op afwijkingen. Het voordeel van de hondsvistest is, dat er geen extractie en concentrering van de in water aanwezige stoffen hoeft plaats te vinden. Een nadeel is, dat deze vis zeldzaam is en moeilijk te kweken, alsmede dat het scoren van de schade aan het erfelijk materiaal (de chromosomen) veel tijd kost. De hondsvistest is bij het KIWA beschikbaar. Momenteel wordt in samenwerking met andere instellingen getracht de hondsvis te kweken, terwijl ook gezocht wordt naar alternatieve proefdiersoorten. Uit onderzoek is gebleken, dat het Rijnwater in de Lek het aantal chromosoomafwijkingen in de kieuwen van de hondsvis significant doet toenemen [7].

4. Octanol-bioaccumulatie test

Uit de literatuur is bekend, dat de octanol/water verdelingscoëfficiënt voor vele stoffen hoger is naarmate de accumulatie

van deze stoffen in vetweefsel van vissen groter is. Door zijn fysisch/chemische eigenschappen is octanol in staat lipofiele verbindingen uit water te extraheren. Het verband tussen de wateroplosbaarheid van een bepaalde verbinding en de octanol/water verdelingscoëfficiënt kan weergegeven worden in de volgende formule:

$$\log K = 5,00 - 0,670 \log S \quad (a) \quad [8]$$

terwijl het verband tussen de accumulatiefactor van een bepaalde stof in de regenboogforel en de wateroplosbaarheid door de volgende formule weergegeven kan worden:

$$\log (AF) = 3,41 - 0,508 \log S \quad (b) \quad [8]$$

Uit (a) en (b) volgt:

$$\log K = 1,32 \log AF + 0,5$$

K = octanol/water verdelingscoëfficiënt
 S = wateroplosbaarheid in $\mu\text{mol/l}$
 AF = accumulatiefactor in de regenboogforel

Hieruit volgt, dat er een rechtlijnig logaritmisch verband bestaat tussen de octanol/water verdelingscoëfficiënt en de accumulatiefactor in de regenboogforel. Met andere woorden, met behulp van een fysisch/chemische methode is te bepalen hoe groot de accumulatie van een bepaalde stof in de regenboogforel zal zijn. Het lijkt dus mogelijk, ter bepaling van het bioaccumulatievermogen van de forel voor lipofiele verbindingen, de forel te vervangen door octanol.

In samenwerking met de projectgroep Analytische Chemie van het KIWA wordt dit gegeven nader uitgewerkt. Het doel van het onderzoek is, middels extractie van water met behulp van octanol, gevolgd door concentrering over XAD-hars en meting van de concentratie van de geïsoleerde verbindingen (bijv. via somparameterbepaling), een maat te verkrijgen omtrent de in het water aanwezige hoeveelheid accumuleerbare stoffen.

Onderzoek naar de efficiency van octanol-extractie van water en meting van totaal organisch chloor (TOCl) en totaal organisch stikstof (TON), via de door het KIWA ontwikkelde somparameter-bepalingen, heeft uitgewezen, dat er goede mogelijkheden zijn om via octanolextractie een bruikbare screeningstest te ontwikkelen voor bio-accumuleerbare verbindingen.

5. Reproductietest

Een test ter bepaling van de reproductiecapaciteit van vissen zal voorlopig nog niet uitgevoerd worden. Een dergelijke test zal naar verwachting een te lange proefduur hebben, een groot aantal proefdieren en monsternames omvatten en zeer arbeidsintensief zijn. Indien men gebruik maakt van waterflooiën, kan de proefduur tot 2 à 3 weken beperkt worden, echter de

Ontwikkeling van een methode om de nagroei-mogelijkheid van bacteriën in drinkwater te bepalen

Inleiding gehouden tijdens het op 28 november 1978 door KIWA en VWN georganiseerde colloquium over Methodenontwikkeling ten behoeve van waterkwaliteitsmeting.

relatie watervlo/mens is nóg slechter te leggen dan de relatie vis/mens, terwijl de benodigde laboratoriumfaciliteiten aanzienlijk zijn.

Voorlopig zullen de inspanningen gericht blijven op de ontwikkeling van de reeds genoemde korte duur testen. Met nadruk moet er op gewezen worden, dat het hier gaat om de ontwikkeling van screenings-testen. In het geval dat positieve effecten gevonden worden, zullen meer testen en mogelijk langeduur onderzoeken nodig zijn om definitief zekerheid te verkrijgen omtrent de gevonden effecten.

Wanneer een bepaalde waterkwaliteit met de korteduur screeningstesten onderzocht wordt, zal een redelijke indruk verkregen kunnen worden over de actueel toxicologische kwaliteit van het water.

Bovendien zal het goed mogelijk zijn de efficiëncy van de zuivering, met betrekking tot het verwijderen van toxische stoffen, te bepalen.

Literatuur

1. Jung, K. D. (1973). *Extrem fischtoxische Substanzen und ihre Bedeutung für ein Fischtestwarnsystem*. GWF-Wasser/Abwasser, 114, 232-234.
2. Dawson, G. W., Stradley, M. W., Shuckrow, A. J. (1975). *Determination of harmful quantities and rates of penalty for hazardous substances*, Volume II, EPA-440/9-75-005-b.
3. Genderen, H. van, Canton, J. H., Leeuwang, P., Strik, J. J. T. W. A. (1973). *Report to the commission of the European Communities on a toxicological examination of a number of micro-pollutants of surface water*.
4. Water Pollution Control (1966). WHO Techn. Rep. Ser. no. 318.
5. Poels, C. L. M., Gaag, M. A. van der, Kerkhoff, J. F. J. van de. *Longterm toxicological investigation of Rhinewater with Rainbow trout (Salmo gairdneri, Rich)*. In voorbereiding.
6. McKim, J. M. (1977). *Evaluation of tests with early life stages of fish for predicting long-term toxicity*. J. Fish. Res. Bd. Can. 34, 1148-1154.
7. Prein, A. E., Thie, G. M., Alink, G. M., Koe-man, J. H., Poels, C. L. M. (1978). *Cytogenetic changes in fish exposed to water of the river Rhine*. Science of the Total Envir., 9, 287-291.
8. Chiou, C. T., Freed, V. H., Schmedding, D. W., Kohnert, R. L. (1977). *Partition coefficient and bioaccumulation of selected organic chemicals*. Envir. Sci. & Techn. 11, 475-478.

Inleiding

1. Nadelen verbonden aan nagroei

In bepaalde omstandigheden kan de kwaliteit van drinkwater tijdens het verblijf in het leidingnet zodanig veranderen, dat het waterleidingbedrijf wordt geconfronteerd met distributie-technische problemen en met klachten van consumenten. Micro-organismen spelen een belangrijke rol bij deze kwaliteitsverandering, met name wanneer ze zich sterk vermeerderen in het distributiesysteem. Met nadruk moet er echter op worden gewezen dat de nadelen verbon-



IR. D. VAN DER KOOIJ
KIWA NV

den aan deze vermeerdering van technische en esthetische aard zijn en dat de hygiënische kwaliteit van het drinkwater door deze zgn. nagroei vrijwel nooit wordt beïnvloed. De belangrijkste bezwaren verbonden aan het optreden van nagroei in drinkwater-distributiesystemen zijn:

1. Ontwikkeling van hogere organismen in het leidingnet.
2. Smaakverslechtering van het drinkwater.
3. Versterkte aantasting van leidingmaterialen.
4. Bemoeilijking van de kwaliteitscontrole.
5. Mogelijkheid tot ontwikkeling van opportunistisch pathogene bacterietypen.

Over de mate waarin deze bezwaren kunnen leiden tot klachten van de consumenten, wordt informatie verschaft door Windle Taylor (1965). De microbiologische aard en achtergronden van genoemde bezwaren zijn in een eerdere publicatie vermeld door Van der Kooij en Zoeteman (1978).

2. Nagroei-bepalende factoren

Alvorens in te gaan op methoden waarmee deze nagroei voorkómen of bestreden kan worden, eerst iets over de factoren die het optreden van nagroei beïnvloeden. De belangrijkste factoren die hierbij een rol spelen zijn:

1. Aard en concentratie van afbreekbare verbindingen in het bereide water.
2. Aard van het leidingmateriaal.
3. De watertemperatuur.
4. De verblijftijd van het water in het leidingnet.

Uiteraard heeft de aanwezigheid van een

desinfectiemiddel in water eveneens een grote invloed op de nagroei-mogelijkheid van micro-organismen. Deze 'on-natuurlijke' factor wordt in dit artikel verder buiten beschouwing gelaten.

Micro-organismen kunnen zich alleen vermeerderen in het leidingnet als de verbindingen die ze nodig hebben voor hun groei aanwezig zijn. Deze verbindingen moeten de voor de opbouw van het celmateriaal benodigde elementen (o.a. C, H, O, N, P, S) leveren, terwijl ze bovendien in de energiebehoefte van de cellen moeten voorzien. De organismen kunnen worden onderscheiden op basis van het type verbinding, dat wordt benut voor de energiebehoefte (anorg-H of org-H); de koolstofbehoefte (anorg-C of org-C) en de aard van de waterstofacceptor (O₂ of NO₃⁻, SO₄⁼, CO₂, Org-C).

De meeste nagroeiende micro-organismen, en met name de bacteriën die bijdragen in het koloniegetal van drinkwater zijn chemo-organo-heterotroof van aard, d.w.z. dat ze organische koolstofverbindingen gebruiken als C- en energiebron, terwijl ze zuurstof gebruiken als waterstof-acceptor. De mate waarin micro-organismen de verschillende typen verbindingen nodig hebben blijkt ondermeer uit de bruto-samenstelling van hun celmateriaal (droge stof). Deze bruto-samenstelling luidt: C₅ H₇ NO₂ P¹/30; waarin: C : N : P = 60 : 14 : 1. Daar van de opgenomen organische koolstof ca. 50 % wordt omgezet in CO₂ (dissimilatie) voor de energievoorziening van de cel en 50 % wordt vastgelegd in nieuw celmateriaal (assimilatie) kan als vuistregel worden gehanteerd dat de opneembare C-, N- en P-verbindingen nodig zijn in de verhouding: C : N : P = 100 : 10 : 1.

De concentratie van organische koolstofverbindingen in allerlei drinkwatertypen ligt in de regel tussen enkele tienden en enkele milligrammen per liter. Deze verbindingen hebben veelal allerlei biologische processen doorstaan en slechts een zeer gering gedeelte kan nog worden benut als V- en als energiebron. Verbindingen die als N-bron kunnen dienen, en met name nitraat, zijn eveneens in de regel aanwezig in concentraties variërend van enkele tienden tot enkele milligrammen per liter, terwijl orthofosfaat-concentraties variëren van enkele tientallen tot enkele honderden micro-grammen per liter. Gezien de relatief grote behoefte van micro-organismen aan organische verbindingen die als koolstof en energiebron dienst kunnen doen, is het gehalte aan dit type verbindingen vrijwel steeds bepalend voor de vorming van celmateriaal, d.w.z. voor de groei van micro-organismen in drinkwater.

Het is daarom van groot belang te beschikken over een methode waarmee het gehalte