

Kwaliteitsverandering van drinkwater als gevolg van de groei van micro-organismen in het distributiesysteem

Voordracht uit de 30e vakantiecursus in drinkwatervoorziening 'Distributienetten en binnenleidingen', die op 12 en 13 januari 1978 aan de TH Delft werd gehouden.

1. Inleiding

Micro-organismen kunnen een belangrijke rol spelen bij het optreden van kwaliteitsveranderingen van drinkwater tijdens het verblijf in het distributiesysteem. De door micro-organismen veroorzaakte kwaliteitsveranderingen leiden echter vrijwel nooit tot een vermindering van de hygiënische betrouwbaarheid van het drinkwater. Wel kunnen de veranderingen van dien aard zijn, dat ze tot klachten van consumenten aanleiding geven. De voornaamste klachten over de kwaliteit van het drinkwater hebben



IR. D. VAN DER KOOIJ
KIWA NV

betrekking op de smaak van het water, de kleur van het water (met name door de aanwezigheid van roestdeeltjes) of de aanwezigheid van met het blote oog zichtbare organismen (Windle Taylor, 1965). Door Burman (1965, 1973) is onderzoek uitgevoerd naar het optreden van smaakverslechtering van het drinkwater en de aanwezigheid van bepaalde micro-organismen in het distributiesysteem. Hoewel smaakstofproducerende actinomyceten en schimmels in het drinkwater konden worden aangetoond, was een relatie tussen deze aanwezigheid en het optreden van smaakverslechtering onduidelijk. Bovendien bleek dat genoemde micro-organismen niet in het drinkwater konden groeien (Burman, 1965). Ook uit door de auteur bij het KIWA uitgevoerd onderzoek is tot nu toe nooit duidelijk gebleken dat bepaalde actinomyceten of schimmels de oorzaak waren van het optreden van smaakverslechtering van het drinkwater tijdens verblijf in het leidingnet.

De aanwezigheid van roestdeeltjes in drinkwater kan een gevolg zijn van een aerobe of anaerobe aantasting van gietijzeren en stalen leidingen. Bij de anaerobe corrosie spelen sulfaatreducerende micro-organismen, behorende tot de species *Desulfovibrio desulfuricans*, een belangrijke rol zoals onder meer is uiteengezet door Von Wolzogen Kühr (1951). Het is niet uitgesloten dat deze sulfaatreducerende micro-organismen de smaak van het water ongunstig beïnvloeden door de productie van zwavelwaterstof.

Een andere vorm van aantasting van leidingmaterialen, namelijk die van rubberen afdichtingsringen, werd door Leeflang (1963, 1968) onderzocht, die vaststelde dat deze aantasting door bepaalde actinomy-

ceten werd veroorzaakt. Deze waarneming was in overeenstemming met de bevindingen van Rook (1955), die als eerste aantoonde dat ge vulcaniseerde natuurrubber kon worden afgebroken door *Streptomyces* soorten. Waterleidingbedrijven worden soms geconfronteerd met klachten van zeer speciale aard. Zo is in de literatuur melding gemaakt van het optreden van slijmvorming in een industrieel proces, waarbij uit het drinkwater afkomstige *Pseudomonas* soorten een rol speelden (Poynter and Mead, 1964).

Ook kunnen bepaalde bacteriën, afkomstig uit drinkwater, een rol spelen bij voedselbederf (Windle Taylor, 1969-1970). Een bijzonder probleem, veroorzaakt door in leidingwater aanwezige micro-organismen is vermeld door Kelstrup et al. (1977), die constateerde dat het watertoevoerkanal van tandartsapparatuur door bacterie-aangroei verstoep raakte. Van meer belang is de aanwezigheid in drinkwater van bacterietypen die onder bepaalde omstandigheden ziekteverwekkend kunnen zijn. Tot deze zgn. opportunistische pathogenen behoort met name *Pseudomonas aeruginosa*. Vertegenwoordigers van deze soort zijn slechts uiterst zelden in drinkwater aanwezig. Hierop wordt nog nader ingegaan. Een in het leidingnet optredende vermeerdering van met het blote oog zichtbare organismen wordt, in tegenstelling tot reeds genoemde problemen, niet door speciale micro-organismen veroorzaakt maar door allerlei in hygiënisch opzicht onschadelijke bacteriesoorten die zich in het bereide drinkwater vermenigvuldigen. Deze zgn. 'nagroeï' kan tevens leiden tot het optreden van plaatselijke anaërobie in de leidingen, waardoor de anaërobie corrosie wordt versterkt. Een ten gevolge van de nagroeï voortdurend groot bestand aan micro-organismen in het drinkwater maakt bovendien de koloniegetalbepalingen ongeschikt voor het vaststellen van verontreinigingen van het leidingnet door invloeden van buiten af, terwijl tevens het water ongeschikt is voor bepaalde medische toepassingen in verband met het optreden van pyrogene reacties, veroorzaakt door bacteriemateriaal (Strobel, 1972). In het hiernavolgende wordt achtereenvolgens ingegaan op het meten, de betekenis en de oorzaken van het optreden van nagroeï van micro-organismen in drinkwaterdistributiesystemen.

2. Microbiologische bepalingmethoden

2.1. Algemeen

Voor het verkrijgen van informatie over de aanwezigheid en het gedrag van micro-organismen in drinkwater tijdens het verblijf in het leidingnet kunnen selectieve en niet-selectieve methoden voor het tellen

TABEL I - De toepassingsmogelijkheden van een aantal bepalingmethoden bij de beoordeling van de waterkwaliteit en bij onderzoek naar het gedrag van micro-organismen in het distributiesysteem.

	Hygiënische beoordeling	Besmetting van het leidingnet	Nagroeï	Speciale problemen ¹
22 °C-koloniegetal	—	(+)	++ ²	+
37 °C-koloniegetal	—	+	+	—
fecale coli-bacteriën	++	++	—	+
fecale streptococci	+	(+)	—	—
<i>P.aeruginosa</i>	(+)	(+)	—	+
sulfiet-reducerende clostridia	(+)	(+)	—	+
aerobe sporevormers	—	+	—	+
actinomyceten	—	—	—	+
schimmels	—	—	—	+
pseudomonassen	—	+	+	+
sulfaat-reducerende bacteriën	—	—	—	+

¹ Toepassingsmogelijkheid afhankelijk van de aard van het probleem.

² Voor het voorstellen van de mate van nagroeï heeft de strijkplaatmethode de voorkeur boven de gietplaatmethode.

— niet bruikbaar, (+) overbodig of onzeker.
+ en ++ goed resp. als enige bepaling te gebruiken.

van deze micro-organismen worden gebruikt. In tabel I zijn in dit verband de toepassingsmogelijkheden van een aantal bepalingmethoden aangegeven. De genoemde methoden hebben alle betrekking op aerobe en anaerobe heterotrofe micro-organismen. Voor de bepaling van autotrofe bacteriesoorten, zoals bijv. de nitrificerende bacteriën, bestaan echter eveneens selectieve telmethoden (bijv. Matulewich et al., 1975).

2.2. De betekenis van het 22 °C- en het 37 °C-koloniegetal bij de kwaliteitsbeoordeling van drinkwater

Nadat Koch in 1881 het gebruik van bouillongelatine voor de bepaling van het aantal bacteriën in water introduceerde werd aanvankelijk aangenomen dat deze methode bruikbaar was bij de hygiënische beoordeling van drinkwater. Al spoedig bleek echter, dat vrijwel alle bacteriën die met bouillongelatine in drinkwater werden geteld, tot onschadelijke soorten behoorden (Frankland and Frankland 1885, Haenle 1903, Kayser 1900, Lustig 1893, Van der Sleen 1894 en Zimmerman 1890-1900). Koch (1893) stelde wel vast dat het door middel van langzaamzandfiltratie gezuiverde rivierwater vrij van ziektekiemen was indien het koloniegetal op bouillongelatine kleiner dan 100 per ml was. Enkele jaren geleden hield Müller (1972, 1974) een pleidooi voor het opnemen van een grenswaarde voor het 22 °C-koloniegetal in de Duitse wet als maat voor de kwaliteit van drinkwater.

Een dergelijk gebruik van dit koloniegetal is echter niet in overeenstemming met de bevindingen van Koch (1893), die slechts aantoonde dat het koloniegetal als maat voor de bacterieverwijderende werking van de zuivering kon worden gebruikt.

In de huidige Trinkwasserverordnung (1975) is echter voor het 22 °C-koloniegetal van drinkwater een richtwaarde (100 kolonievormende eenheden per ml) en geen grenswaarde aangegeven. Voor verpakt drinkwater is in deze Verordnung wel een grenswaarde gesteld, namelijk van 1000 kolonievormende eenheden per ml. In het Nederlandse normblad N 3043 (1956) en in de Aanbevelingen van de VEWIN (1960) is, naast de coli-norm, voor vers bereid drinkwater voor het koloniegetal een norm van 100 per ml genoemd. Deze norm is eveneens als richtwaarde bedoeld.

Over de betekenis van het 37 °C-koloniegetal van drinkwater bestaat eveneens verschil van mening. In het normblad N 3043 (1956) werd gesteld dat in deugdelijk drinkwater het aantal op bouillonagar bij 37 °C gekweekte bacteriën niet groter mag zijn dan 50 per ml. In de Aanbevelingen van de VEWIN is gesteld, dat voor drinkwater bereid uit grondwater het 37 °C-koloniegetal (af pompstation) kleiner dan 20 per ml en bij drinkwater bereid uit oppervlaktewater kleiner dan 50 per ml behoort te zijn. Voor drinkwater in het distributiesysteem werden geen aanbevelingen gedaan, terwijl in het Waterleidingbesluit (1960) in het geheel geen eisen ten aanzien van het 37 °C-koloniegetal van drinkwater werden genoemd. Dat over de betekenis van de genoemde koloniegetallen nog steeds verschil van mening bestaat bleek bij het in EEG-verband formuleren van het 'Voorstel voor een richtlijn betreffende de kwaliteit van water bestemd voor menselijke consumptie' (1976). Gelukkig werd bijtijds gerealiseerd dat het vaststellen van grenswaarden voor de koloniegetallen van drinkwater niet wenselijk was en werd voor deze parameters het begrip 'richtniveau' geïntroduceerd. De voorgestelde niveaus voor het 37 °C-koloniegetal en het 22 °C-koloniegetal zijn resp. kleiner dan 10 en kleiner dan 100 per ml drinkwater. De verwarring over de betekenis van het 37 °C-koloniegetal is voor een belangrijk deel een gevolg van het ontbreken van gegevens over de aard van de bacteriën die bijdragen in dit koloniegetal. Geheel ten onrechte bestaat nog de mening dat een belangrijk deel van deze bacteriën potentiële ziektekiemen zijn, omdat ze bij 37 °C kunnen groeien. Over de mogelijke aanwezigheid van ziektekiemen geeft echter in eerste instantie de coli-bepaling uitsluitel. Een hoog 37 °C-koloniegetal kan echter wel wijzen op een

onvoldoende zuivering van het drinkwater of het optreden van een besmetting tijdens distributie, bijv. ten gevolge van reparatiewerkzaamheden, maar kan ook een gevolg zijn van bacterienagroeï. Over de hygiënische betrouwbaarheid van het water in deze situaties kan echter alleen op basis van de coli-bepaling een uitspraak worden gedaan.

2.3. De samenstelling van de koloniegetallen

Om meer inzicht te krijgen in de betekenis van het 37 °C-koloniegetal van het drinkwater in allerlei situaties is door de KIWA-projectgroep Microbiologie een groot aantal 37 °C-koloniegetalbepalingen in verschillende drinkwatertypen verricht en werden een duizendtal isolaten voor nadere determinatie verzameld. Voorlopige resultaten van het onderzoek wijzen uit dat ca. 25 % van de verkregen reïncultures tot het geslacht *Bacillus* behoort. Vertegenwoordigers van dit geslacht kunnen niet groeien in drinkwater (Frankland and Frankland 1894, Schubert 1975), waarmee wordt bevestigd dat een belangrijk deel van het 37 °C-koloniegetal inderdaad een gevolg is van een onvoldoende zuivering of een besmetting. Naast de bacilli werden herhaaldelijk bacteriën behorende tot de geslachten *Aeromonas* en *Pseudomonas* aangetroffen. Van een deel van de isolaten is de identiteit nog niet bekend.

Het 22 °C-koloniegetal van drinkwater kan in sterke mate door nagroeïende bacteriën worden gevormd. Een uitspraak over de mate waarin dit het geval is, kan alleen worden gedaan als men inzicht heeft in de koloniegetallen op meerdere plaatsen in het voorzieningsgebied en op meerdere tijdstippen.

Over de samenstelling van het 22 °C-koloniegetal bestaan nauwelijks kwantitatieve gegevens, omdat de identiteit van de meeste in drinkwater aanwezige bacteriën onbekend is. Een aantal bacterietypen, die kunnen bijdragen in het 22 °C-koloniegetal, zijn onder andere bacteriën behorende tot de geslachten *Flavobacterium* (Müller 1972, Schalekamp 1969), *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Xanthomonas*, *Cytophaga* (Selenka und Meissner 1971), *Arthrobacter* (Victoreen, 1969), *Corynebacterium* (Gräf und Bauer, 1973), *Bacillus* (Schubert, 1975), *Aeromonas* (Leclerc et Buttiau, 1962; Schubert, 1976; Van der Kooij, 1977) en *Pseudomonas*, namelijk *P. fluorescens*, *P. putida* en *P. alcaligenes* (Selenka und Meissner, 1971; en Windle Taylor, 1969-1970).

Uit eigen onderzoek is inmiddels gebleken dat bacteriën behorende tot het geslacht *Pseudomonas* weliswaar bijna altijd aantoonbaar zijn in 100 ml drinkwater, maar dat ze vrijwel steeds minder dan 10 % en vaak minder dan 1 % van het koloniegetal

vormen. *P. aeruginosa* werd in het geheel niet aangetroffen. (Van der Kooij, 1977). Bovendien is gebleken dat de zgn. 'gele kiemen', waartoe onder andere vertegenwoordigers van de geslachten *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Cytophaga*, *Caulobacter* en *Arthrobacter* behoren, meestal slechts een kleine minderheid van het 22 °C-koloniegetal vormen.

Met de op standaardwijze uitgevoerde 22 °C-koloniegetalbepaling wordt slechts een zeer gering gedeelte van het aantal aanwezige levende heterotrofe bacteriën geteld. Dit is onder meer een gevolg van het feit dat veel bacteriën slechts na een lange incubatieduur zichtbare kolonies vormen (Geldreich, 1975). De bacteriën, die na 72 uren zichtbare kolonies vormen behoren dus voornamelijk tot snelgroeïende soorten. Bovendien zijn veel bacteriën niet bestand tegen het overbrengen van een milieu arm aan voedingsstoffen naar een milieu rijk aan voedingsstoffen. Ook het mengen van het watermonster met de warme bouillongelatine of -agar leidt tot het afsterven van veel bacteriën. De bepaling van het koloniegetal door middel van het uitspreiden van een hoeveelheid water op reeds gestolde en afgekoelde platen levert in de regel dan ook hogere koloniegetallen op dan de standaard-bepaling. Dit geldt vooral voor het 22 °C-koloniegetal. Door de genoemde bezwaren kan de toepassing van de gestandaardiseerde 22 °C-koloniegetalbepaling slechts beperkte informatie opleveren. Duidelijke informatie over aanwezigheid en gedrag van bacteriën in distributiesystemen kan wel door toepassing van aangepaste methoden en selectieve media worden verkregen.

3. Nagroeï-bepalende factoren

3.1. Algemeen

De mate van bacterie-nagroeï in een distributiesysteem wordt in afwezigheid van desinfectiemiddelen vooral beïnvloed door de aard en hoeveelheid aanwezige assimileerbare verbindingen, de watertemperatuur en de verblijftijd van het water in het leidingnet. De aard van de nagroeïende bacteriën wordt eveneens door deze factoren bepaald.

3.2. Assimileerbare organische koolstof (AOC)

Hoewel een aantal bacterietypen in staat is bepaalde anorganische verbindingen (bijv. ammoniak of zwavelwaterstof) als energiebron benutten, hebben de bacteriën die bijdragen in de eerdergenoemde koloniegetallen, organische verbindingen nodig als energiebron en als koolstofbron. De hoeveelheid en de aard van de assimileerbare koolstofverbindingen bepalen in belangrijke

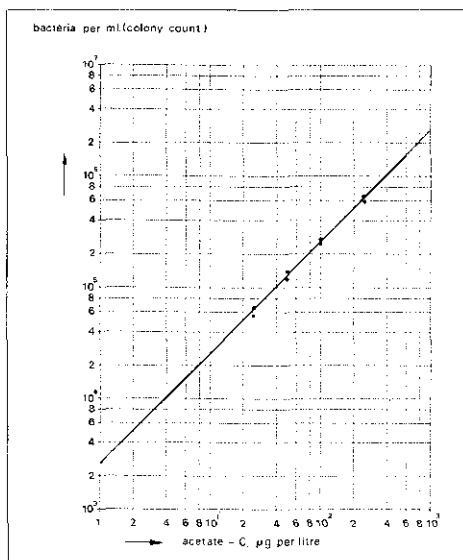
mate het aantal en de aard van de nagroeiende micro-organismen. Het begrip 'assimileerbare koolstof' zal vanaf nu worden aangeduid met AOC.

Onder invloed van verschillende waterbehandelingen en vooral na een biologische zuivering zal het AOC-gehalte in drinkwater doorgaans zeer gering zijn. Dat een zeer geringe hoeveelheid AOC al voldoende is voor de groei van een groot aantal bacteriën blijkt uit de volgende berekening: Een bacteriecel met een volume in 1 μm³ en ca. 20 % droge stof heeft een droog gewicht van ca. 2 x 10⁻¹⁰ mg. Uit de gemiddelde bruto-samenstelling van celmateriaal, die luidt C₅H₇NO₂P_{1/30} blijkt dat ca. 50 % van de droge stof uit koolstof bestaat.

Daar bij de opname van 1 gewichtshoeveelheid organische koolstof ca. 50 % wordt omgezet in CO₂ en 50 % in celmateriaal betekent dit, dat voor de productie van 1 bacteriecel ca. 2 x 10⁻¹⁰ mg AOC nodig is. Voor 10⁴ cellen per ml water is dus een AOC-concentratie van 10⁴ x 10³ x 2 x 10⁻¹⁰ mg = 2 μg AOC per liter nodig. Uit de samenstelling van het celmateriaal kan vervolgens worden afgeleid dat de benodigde hoeveelheden assimileerbare N en P nog veel kleiner zijn dan de benodigde hoeveelheid AOC. De verhouding waarin C, N en P nodig zijn, is namelijk 120 : 14 : 1, waardoor de AOC-concentratie vrijwel steeds de groeibepalende factor zal zijn in drinkwater.

De relatie tussen de AOC-concentratie en het maximaal bereikbare nagroeiniveau (aantal bacteriecellen per milliliter) maakt het mogelijk om met een in principe eenvoudige microbiologische methode het AOC-gehalte in drinkwater te bepalen. Deze methode berust op het onder geconditioneerde omstandigheden meten van de groeicurve van een bacterie-reincultuur in het te onderzoeken water. Het maximum van de groeicurve verschaft informatie over het AOC-gehalte en kan met behulp van een ijklijn (afb. 1) worden uitgedrukt in μg ijkstof-C, bijv. acetaat C, die, indien aanwezig, eenzelfde groeimaximum zou geven.

Uit een aantal op deze wijze uitgevoerde experimenten is inmiddels gebleken dat het AOC-gehalte van een aantal drinkwatertypen in Nederland varieert van enkele microgrammen tot enkele tientallen microgrammen per liter. Daar de AOC uit verschillende verbindingen zal zijn samengesteld, kunnen deze in drinkwater slechts aanwezig zijn in concentraties van enkele tienden tot enkele microgrammen per liter water, hetgeen verklaart waarom deze verbindingen, die goed in water oplosbaar zijn, zo moeilijk chemisch aantoonbaar zijn. In het drinkwater kunnen alleen bacterietypen zich nog vermenigvuldigen, die de



Afb. 1 - De relatie tussen maximum kolonietallen van een *P.fluorescens*-stam en verschillende concentraties Na-acetaat in drinkwater.

aanwezige verbindingen ook bij zeer lage concentraties nog goed kunnen opnemen. Deze bacteriën beschikken over een grote 'substraataffiniteit'. Dit begrip 'substraataffiniteit' is afkomstig uit de biochemie en werd in 1913 door Michaelis en Menten geïntroduceerd.

Deze onderzoekers stelden vast dat tussen de activiteit van een enzym en de substraatconcentratie (S) de volgende relatie bestaat: $V = V_{max} \cdot S / (K_s + S)$. (1)

In deze formule is V_{max} de maximale enzymactiviteit die bij hoge substraatconcentraties wordt bereikt. K_s is de Michaelis-Menten-constante, ofwel de substraataffiniteit voor een bepaalde enzymreactie en uit de formule blijkt dat als S = K_s dan geldt: V = 1/2 V_{max}, waarmee het begrip 'substraataffiniteit' is gedefinieerd.

Monod (1949) ontdekte dat tussen de groeisnelheid van micro-organismen en de concentratie van het groeibepalende substraat eenzelfde relatie bestaat als Michaelis en Menten bij enzymen waarnamen.

Door V en V_{max} te lezen als groeisnelheid (hr⁻¹) en maximale groeisnelheid (hr⁻¹) op een bepaald substraat kan formule (1) op bacteriën worden toegepast.

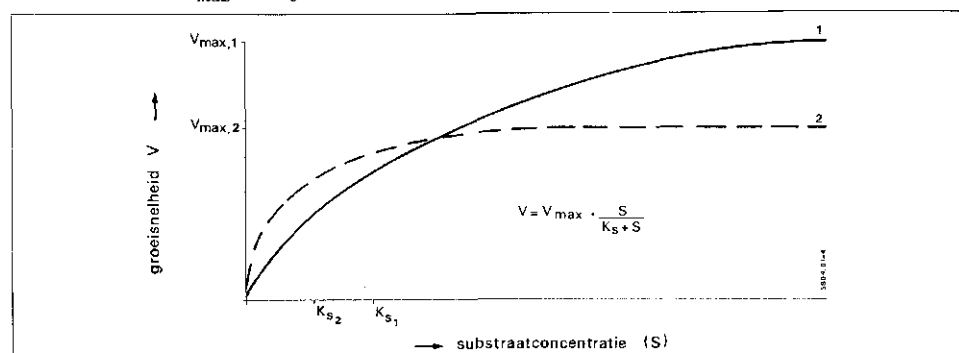
In afb. 2 is de betekenis van verschillen in substraataffiniteit (K_s) en maximale groeisnelheid (V_{max}) voor twee hypothetische bacterietypen bij verschillende substraatconcentraties (S) geïllustreerd. Een interessante consequentie van formule (1) is dat de groeisnelheid rechtevenredig is met de substraatconcentratie S (reactie van de eerste orde) als S << K_s, terwijl als S >> K_s, dan is V = V_{max} en onafhankelijk van S (reactie van de nulde orde).

Toepassing van de relatie tussen substraatconcentratie en groeisnelheid bij het verklaren van het optreden van bacteriegroei in drinkwater als gevolg van de aanwezigheid van assimileerbare organische koolstof is helaas nog nauwelijks mogelijk. Dit is met name een gevolg van het feit dat aard en hoeveelheid van de verbindingen die bijdragen in de AOC per watertype sterk variëren en met chemische methoden zeer moeilijk te meten zijn. Bovendien zijn van in het drinkwater nagroeiende bacteriën in het geheel geen K_s en V_{max}-waarden bekend, terwijl ook van allerlei bekende en belangrijke bacterietypen, bijv. *Escherichia coli*, slechts K_s-waarden van enkele substraten bekend zijn. De beschikbare K_s-waarden van een bepaald bacterietype ten opzichte van een bepaald substraat verschillen bovendien onderling vaak zeer sterk en zijn dus niet bruikbaar. Dit wordt geïllustreerd met de K_s-waarden die bij *E.coli* ten

TABEL II - Enkele K_s-waarden voor de groei of opname van glucose door *Escherichia coli*.

K _s (μg glucose - C/l)	temperatuur °C	organisme	Auteur(s)
27	30	<i>E.coli</i>	Sheata and Marr, 1971
72	37	<i>E.coli</i>	Von Meijenburg, 1971
3200	20	<i>E.coli</i>	Jannasch, 1968
5040	30	<i>E.coli</i>	Sheata and Marr, 1971

Afb. 2 - De invloed van de substraatconcentraties (S) op de groeisnelheid (V) van twee bacterietypen met verschillende V_{max} en K_s.



opzichte van glucose zijn gemeten (tabel II).

3.3. De watertemperatuur

De omgevingstemperatuur heeft een grote invloed op de groeisnelheid van micro-organismen. Een verhoging van de temperatuur binnen redelijke grenzen leidt in het algemeen tot een versnelde groei. De invloed van de temperatuursverhoging op de groeisnelheid kan voor een bepaald micro-organisme kwantitatief worden weergegeven door de Q_{10} , die wordt gedefinieerd als het quotiënt van de groeisnelheden van het organisme bij twee temperaturen die onderling 10 °C verschillen. Deze Q_{10} -waarde bedraagt bij temperaturen tussen 10 en 35 °C in de regel 1,5 à 2,5.

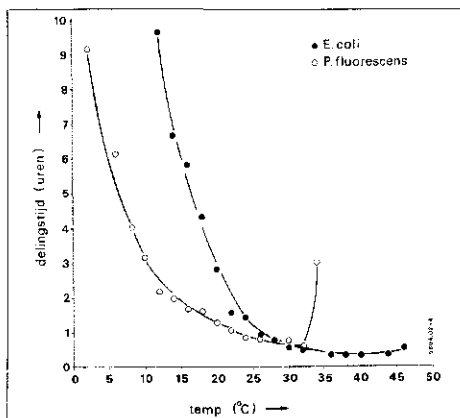
Door de meestal lage watertemperatuur zijn die bacteriën, die zich bij 10 à 15 °C nog snel kunnen vermenigvuldigen in het voordeel. Deze bacteriën behoren tot de psychrofiële of psychrotrofe micro-organismen, waarvan de eerstgenoemde een temperatuuroptimum bij ongeveer 15 °C hebben, terwijl de laatstgenoemde hun temperatuuroptimum bij 25 à 28 °C hebben (Morita, 1975). Vooral de psychrotrofe bacteriën dragen bij in het 22 °C-koloniegetal. In hoeverre echte psychrofielen in drinkwater voorkomen is onbekend. Naast psychrotrofe micro-organismen kunnen ook mesophile bacteriën in drinkwater aanwezig zijn. Deze zijn minder goed aan lage temperaturen aangepast, maar groeien wel goed bij temperaturen van 37 à 45 °C. Enkele bekende mesophile bacterietypen zijn *Escherichia coli* en *Pseudomonas aeruginosa*.

In afb. 3 is de invloed van de temperatuur op de groeisnelheid van de mesofiele *E. coli* en de psychrotrofe *P. fluorescens* in bouillon aangegeven. Duidelijk blijkt dat *E. coli* zelfs in dit rijke medium zeer langzaam groeit bij 10 à 15 °C.

Naast het vermogen om bij lage temperatuur nog snel te groeien, beïnvloedt de eigenschap om zich vast te hechten op oppervlakken in belangrijke mate de aanwezigheid van bepaalde bacteriën in drinkwater. Een deel van de nagroeiende bacteriën kan zijn oorsprong in voorfilters of nafiltes hebben, waarin hechtende bacteriën domineren. In het leidingnet zijn de hechtende bacteriën in het voordeel omdat door hechting aan de buiswand uitspoelen wordt voorkomen, terwijl de deling gewoon door kan gaan. Mogelijk is ook de substraat-aanvoer naar hechtende bacteriën groter dan naar zwevende bacteriën (Victoreen, 1969).

3.4. Rekenvoorbeeld

De invloed van de voornaamste factoren, die de mate van nagroei bepalen is in een volgend rekenvoorbeeld geïllustreerd.



Afb. 3 - De invloed van de temperatuur op de delingstijd van een psychrotroof (*P. fluorescens*) en een mesofiel bacterietype (*E. coli*) in bouillon. Ontleend aan Ingraham (1958).

Bij dit rekenvoorbeeld wordt van twee watertypen met AOC-gehalten van 10 en 25 µg/l uitgegaan, en van twee bacterietypen A en B, met K_s -waarden van 10 en 100 µg AOC/l. De K_s -waarden hebben betrekking op de AOC alsof deze slechts uit één bepaalde verbinding bestaat. De watertemperatuur bedraagt 15 °C. De minimale generatietijd van beide bacterietypen op deze verbinding waaruit de AOC bestaat is gesteld op 2,5 uur (bij 15 °C). Een bepaald aantal groeiende bacteriën neemt toe met het verstrijken van de tijd volgens:

$$N_T = N_0 \cdot e^{\mu \cdot T} \quad (2)$$

waarin:

N_T = aantal bacteriën op het tijdstip T;
 N_0 = aantal bacteriën op tijdstip nul;
 T = tijd (uren) verstreken sinds T = 0;
 e is het grondgetal van het natuurlijke logaritmestelsel en μ is de specifieke groeisnelheid (uren⁻¹).

Tussen de groeisnelheid en de substraatconcentratie bestaat de al eerder gegeven relatie:

$$\mu = \mu_{\max} \cdot S / (K_s + S) \quad (1)$$

Uit (1) en (2) volgt:

$$N_T = N_0 \cdot e^{\mu_{\max} \cdot S / (K_s + S) \cdot T}$$

Daar bovendien geldt: $\mu_{\max} = 0,693 \times$ minimale regeneratietijd wordt (3):

$$N_T = N_0 \cdot e^{0,277 \cdot S / (K_s + S) \cdot T} \quad (3)$$

In tabel III is weergegeven welke kolonietallen (N_T) na de verschillende reistijden T van het water door de bacterietypen A en B bij 2 verschillende AOC-gehalten en uitgaande van $N_0 = 10$ per ml kunnen zijn gevormd. Uit deze tabel blijkt duidelijk dat de bacteriepopulatie steeds meer uit bacterie A gaat bestaan, naarmate de reistijd van het water, waarin $N_{0A} = N_{0B} = 10$ was, langer wordt.

Daar nagroei-waarnemingen in de praktijk overeenkomen met de onder bacterietype A

TABEL III - Nagroei (N_T) van twee bacterietypen A en B bij twee verschillende AOC-gehalten en 4 verschillende verblijftijden.

AOC/l	Bacterietype A ($K_s = 100$)		Bacterietype B ($K_s = 100$)	
	10 µg	25 µg	10 µg	25 µg
T(uren)				
10	39	72	13	17
24	278	1152	18	37
48	7743	$6,5 \times 10^4$ *	33	140
72	$2,6 \times 10^4$ *	$6,5 \times 10^4$ *	60	525

* Groeimaximum (zie afb. 3).

weergegeven situatie, kan worden geconcludeerd dat de K_s -waarden van nagroei-bacteriën in drinkwater inderdaad zeer laag zijn.

4. Bestrijding van de nagroei

Het tegengaan van de bacteriegroei is zoals uit de voorgaande hoofdstukken is gebleken noodzakelijk voor de kwaliteitsbeheersing van drinkwater tijdens het verblijf in het leidingnet. Het gegeven rekenvoorbeeld illustreert nog eens duidelijk welke factoren voornamelijk de mate van nagroei bepalen. Hieronder zijn, zonder verder op de praktische toepassing in te gaan, een aantal maatregelen voor de bestrijding van nagroei weergegeven.

1. Verlaging van het AOC-gehalte van het drinkwater door verbetering van de zuivering door verwijdering van leidingmaterialen die AOC afgeven. De verbetering van de zuivering kan tot standkomen door toepassing van een waterbehandelingsproces, waarvan met behulp van de AOC-bepaling is aangetoond, dat deze een optimale AOC-reductie veroorzaakt. De AOC-bepaling kan ook bij het onderzoek naar AOC-afgifte door bepaalde leidingmaterialen goede diensten bewijzen.

2. Verkorting van de reistijd T, bijv. door verbetering van de structuur van het leidingnet of door spuien.

3. Verlaging van N_0 door dosering van een snel-verdrijvend desinfectiemiddel.

4. Transport van drinkwater met een blijvende restconcentratie van een desinfectiemiddel.

Voor een optimale bestrijding van de nagroei zijn met name de onder 1 en 2 genoemde maatregelen van belang.

Literatuur

- Burman, N. P. 1965. *Taste and odour due to stagnation and local warming in long lengths of piping*. Proc. Soc. Wat. Treatm. Exam. 14: 125-131.
 Burman, N. P. 1973. *The occurrence and signifi-*

- cance of actinomycetes in water supply. In G. Sykes and F. A. Skinner (eds.), actinomycetales, characteristics and importance, 219-230. London-New York.
- Frankland, P. and Frankland, P. 1894. *Microorganisms in water. Their significance, identification and removal*. London, Longmans, Green, and Co.
- Geldreich, E. E., Nash, H. D., Reasoner, D. J. and Taylor, R. H., 1975. *The necessity of controlling bacterial populations in potable waters, bottled water and emergency water supplies*. J. Am. Wat. Works Ass. 67: 117-124.
- Gräf, W. und Bauer, L., 1973. *Roter Bakterienaufwuchs (Corynebacterium rubrum n. spec.) in Leitungswassersystemen*. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig., B 157, 291-303.
- Haenle, O. 1903. *Die Bakterienflora der Metzger Wasserleitung*. Strassburg, Heitz.
- Ingraham, J. L., 1958. *Growth of psychrophilic bacteria*. J. Bacteriol. 76: 75-80.
- Jannasch, H. W., 1968. *Competitive elimination of Enterobacteriaceae from seawater*. Appl. Microbiol. 16: 1616-1618.
- Kayser, H., 1900. *Die Flora der Strassburger Wasserleitung*. Kaisers Lautern.
- Kelstrup, J., Funder-Nielsen, T. D., and Theilade, J., 1977. *Microbial aggregate contamination of water lines in dental equipment and its control*. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sect. B. Microbiol. 85: 177-183.
- Koch, R., 1893. *Wasserfiltration und Cholera*. Gesammelte Werke, Bd 2, Teil 1, Leipzig, Georg Thieme, 1912.
- Kooij, D. van der. 1977. *The occurrence of Pseudomonas spp. in surface water and in tap water as determined on citrate media*. Antonie van Leeuwenhoek 43: 187-197.
- Leclerc, H. et Butiaux, R., 1962. *Fréquence des Aeromonas dans les eaux d'alimentation*. Ann. Inst. Pasteur 103: 97-100.
- Leefflang, K. W. H., 1963. *Microbiologic degradation of rubber*. J. Am. Wat. Works Ass. 55: 1523-1535.
- Leefflang, K. W. H., 1968. *Biologic degradation of rubber gaskets used for sealing pipe joints*. J. Am. Wat. Works Ass. 60: 1070-1076.
- Lustig, A., 1893. *Diagnostik der Bakterien des Wassers*. Jena, Gustav Fischer.
- Matulewich, V. A., Strom, P. F., Finstein, M. S., 1975. *Length of incubation for enumerating nitrifying bacteria present in various environments*. Appl. Microbiol. 29: 265-268.
- Von Meijenburg, K., 1971. *Transport-limited growth rates in a mutant of Escherichia coli*. J. Bacteriol. 107: 878-888.
- Monod, J. 1949. *The growth of bacterial cultures*. Ann. Rev. Microbiol. 3: 371-394.
- Müller, G., 1972. *Koloniezählbestimmungen im Trinkwasser*. Gas-Wasser-Fach, 113: 52-100.
- Müller, G., 1974. *Vorkommen und Bedeutung technisch unerwünschter Bakterien in der Trinkwasserversorgung*. Zentralbl. Bacteriol. Hyg. I. Abt. orig. A. 227: 50-55.
- Morita, R. Y., 1975. *Psychrophilic bacteria*. Bacteriol. Rev. 39: 144-167.
- N3043, 1956. *Bacteriologisch onderzoek van drinkwater*, KIWA, Rijswijk.
- Poynter, S. F. B. and Mead, G. C., 1964. *Volatile organic liquids and slime production*. J. appl. Bacteriol. 27: 182-195.
- Publ.bl. E.G. 18, 1975. C214: 10 en gewijzigd vlg. R/2736/76 (ENV. 123): 27.
- Rook, J. J., 1955. *Microbiological deterioration of vulcanized rubber*. Appl. Microbiol. 3: 302-309.
- Schalekamp, M., 1969. *Untersuchungen zur Abklärung des Phänomens der Wiederverkeimung in Rohrnetzen im Zusammenhang mit Ozonung*. Gas Wasser Abwasser 49: 253-257.
- Schubert, R. H. W., 1975. *Der Nachweis von Spuren der Bacillus-Species in Rahmen der hygienischen Wasserbeurteilung*. Zentralbl. Bacteriol. Hyg. I. Abt. Orig. b. 160: 155-162.
- Schubert, R., 1976. *Der Nachweis von Aeromonaden der 'Hydrophila-Punctata-Gruppe' im Rahmen der hygienischen Trinkwasserbeurteilung*. Zentral-bl. Bacteriol. Hyg. I. Abt. Orig. B. 161: 482-497.
- Selenka, F., Meissner, R., 1971. *Unterschiedliche Erfassung von Keimgruppen auf Nährböden bei der Bestimmung der Keimzahl im Wasser*. Arch. Hyg. 154: 488-499.
- Sheata, T. E., and Marr, A. G., 1971. *Effect of nutrient concentration on the growth of Escherichia coli*. J. Bacteriol. 107: 210-216.
- Sleen, N. van der, 1894. *Sur l'examen bacteriologique qualitatif de l'eau*. Archives du Musée Teyler. Ser. II, Vol. IV, 3me Partie, Haarlem.
- Strobel, K., 1972. *Pyrogenuntersuchungen an Inhalationswässern bei intravenöser Injektion und Inhalation*. Dtsch. Gesundh. wesen 27: 1618-1623.
- Trinkwasser-Verordnung, 1975. *Verordnung über Trinkwasser und über Brauchwasser für Lebensmittelbetriebe (Trinkwasser-Verordnung)*. Die Trinkwasser-Verordnung, 213-227, Schmidt, E. Berlin.
- VEWIN, 1961. *Aanbevelingen terzake van het bepaalde in artikel 4, lid 2 van de Waterleidingwet*. Vermande Zonen, IJmuiden.
- Victoreen, H. T., 1969. *Soil bacteria and color problems in distribution systems*. J. Am. Wat. Works Ass. 61: 429-431.
- Waterleidingwet. 1957. *Wet van 6 april 1957, Stb. 150, houdende regelen met betrekking tot het toezicht op waterleidingbedrijven en tot de organisatie van de openbare drinkwatervoorziening*, Vermande Zonen, IJmuiden.
- Waterleidingbesluit. 1960. *Besluit van 7 juni 1960, Stb. 345, houdende technische, hygiënische, geneeskundige en administratieve uitvoeringsmaatregelen van de Waterleidingwet*. Voorschriften Volksgezondheid, Vermande Zonen, IJmuiden.
- Windle Taylor, E. 1965. *Symposium on consumer complaints: Introduction*. Proc. Soc. Wat. Treatm. Exam. 14: 99-101.
- Windle Taylor, E., 1969-1970. *Aerobic sporing bacilli, fungi, and actinomycetes in slow filters*. Rep. Res. Bacteriol. Chem. Biol. Exam. London Wat. 44: 16-22.
- Windle Taylor, E., 1969-1970. *The growth, survival and distribution of fluorescent pseudomonads in water*. Rep. Res. Bacteriol. Chem. Biol. Exam. London Wt. 44: 27-38.
- Wolzogen Kühn, C. A. H. von, en Vlugt, L. S. van der, 1951. *Aerobe en anaerobe ijzercorrosie in waterleidingbuizen*. Water, 24: 3-11.
- Zimmerman, O. E. R., 1900. *Die bakterien unserer Trink- und Nutzwasser, ins besondere des Wassers der Chemnitz Wasserleitung*. Chemnitz, Carl Brunner.

• Vervolg van pagina 260

Het voorkomen van Clostridium botulinum in een drietal drinkwaterproductiebedrijven en in hun waterwingebieden.

kiemen toxinen kunnen produceren en of deze toxinen door de verschillende zuiveringsprocessen worden geïnactiveerd en/of verwijderd.

6. Samenvatting

Cl.botulinum kwam, evenals in 1977, zeer frequent in waterwingebieden voor. In 1977 domineerde Cl.botulinum type C. In de monsters die in 1978 onderzocht werden domineerde Cl.botulinum type E. Dit type werd in 36 % van de onderzochte monsters aangetroffen, type B, C en D in resp. 30, 19 en 13 % van de onderzochte monsters.

In de drinkwaterproductiebedrijven was het voorkomen van Cl.botulinum evenals in 1977 beperkt tot de eerste zuiveringsstappen. In één productiebedrijf werd Cl.botulinum ook op de langzame zandfilters aangetroffen. Hun voorkomen was echter beperkt tot de bovenste laag van het filter. In het water, na deze langzame zandfiltratie, kon Cl.botulinum niet worden aangetoond. Geconcludeerd kon worden dat de kans uitermate gering is dat Cl.botulinum kiemen die in het oppervlaktewater aanwezig zijn ook in het drinkwater voorkomen.

Dankbetuiging

Dank is verschuldigd aan de heren dr. ir. J. A. Schellart en P. Kooy (Gemeentewaterleidingen Amsterdam), drs. W. C. A. van Bremen (NV Waterwinning gebied Brabantse Biesbosch) en ir. A. J. van der Veer (drinkwaterleiding der Gemeente Rotterdam) voor het behulpzaam zijn bij het nemen van diverse monsters en voor het kritisch doornemen van het manuscript.

Literatuur

- Eklund, M. W., Poysky, F. T., Reed, S. M. en Smith, C. A. *Bacteriophages and toxigenicity of Clostridium botulinum type C*. Science, New York; 480-482, 1971.
- Haagsma, J. *Etiologie en epidemiologie van botulisme bij watervogels in Nederland*. Dissertatie RU Utrecht, 1973.
- Notermans, S. en Noorle Jansen, M. van. *Het voorkomen van Clostridium botulinum en indicatorkiemen in drinkwaterwingebieden en drinkwater productiebedrijven*. H₂O; 16, 344-347, 1978.
- Noterman, S., Dufrenne, J. en Schothorst, M. van. *Influence of incubation temperature on the detection of Cl.botulinum types A, B and E in mud samples naturally contaminated with Cl.botulinum type C*. Eur. J. Microbiol. 1979 (in press).