BTO 2016.201(s) | Januari 2016

BTO rapport

Meetprogramma voor het bepalen van het effect van toepassing van AOP op de (micro)biologie in de duinen

KWR Watercycle Research Institute

BTO

Meetprogramma voor het bepalen van het effect van toepassing van AOP op de (micro)biologie in de duinen

BTO 2016.201(s)| Januari 2016

Opdrachtnummer
400821/001

Projectmanager
Luc Hornstra

Opdrachtgever
BTO - Speerpuntonderzoek

Kwaliteitsborger(s)
Paul van der Wielen

Auteur(s)
Leo Heijnen

Verzonden aan

Jaar van publicatie
2016

Meer informatie
Leo Heijnen
T 030-6069743
E leo.heijnen@kwrwater.nl

PO Box 1072
3430 BB Nieuwegein
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511
F +31 (0)30 60 61 165
E
I www.kwrwater.nl

Keywords
Geavanceerde oxidatie, NGS, DNA, microbiologie

KWR Watercycle Research Institute

BTO 2016.201(s) | Januari 2016 © KWR

Alle rechten voorbehouden.
Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

Inhoud

Inhoud 3

1 Inleiding 4

2 Microbiologische parameters 6
2.1 Karakteriseren van de bacteriologische gemeenschap met NGS: “microbial profiling”. 6
2.2 Karakteriseren van de biochemische processen met NGS: metatrancriptomics 7
2.3 “Algemene microbiologische parameters” 7

3 Locaties, frequentie en monstername 9
3.1 De geselecteerde locaties 9
3.2 Monstername 13
3.3 Planning van analyses 14

4 Schematisch overzicht meetprogramma SPO 15

5 Literatuur 17

1 Inleiding

Vanaf 2018 zal Dunea op locatie Bergambacht de voorzuivering aanpassen door een deelstroom van het gewonnen Maaswater met geavanceerde oxidatie (AOP) te behandelen voordat het in de duinen wordt geïnfiltreerd. Door het toepassen van AOP zullen eventuele aanwezige microverontreinigingen in het Maaswater worden omgezet. Het is te verwachten dat infiltratie van dit, met AOP behandelde, water in de duinen invloed heeft op de microbiologische processen die plaats vinden in het geïnfiltreerde (grond)water en in de bodem van de duinen. AOP leidt tot productie van AOC uit moeilijk afbreekbaar organisch materiaal. Daarnaast zullen microverontreinigingen worden omgezet tot andere afbraakproducten. Mogelijk zullen AOC en afbraakproducten die zijn ontstaan t.g.v. AOP in de infiltratiebekkens of in de bodem microbiologisch verder worden afgebroken. Wellicht zorgt deze verhoogde microbiologische activiteit voor groei van bacteriën en een verhoogde turnover van nutriënten. Om te achterhalen wat het effect is van infiltratie van AOP behandeld maaswater op de microbiologie in de duinen t.o.v. de huidige situatie worden in 2016 nulmetingen uitgevoerd (zonder toepassing van AOP) en deze metingen worden vergeleken met effectmetingen in 2018 (met toepassing van AOP). Het is daarbij echter noodzakelijk om te weten hoe een monitoringprogramma eruit moet zien, om eventuele effecten op de microbiologie betrouwbaar te kunnen bepalen. Het doel van het speerpuntonderzoek (SPO) in 2015 en 2016 is:

- Het opstellen van een meetprogramma in 2015 om het effect van het infiltreren van AOP-behandeld Maaswater op de (i) microbiële populatiesamenstelling, (ii) biologische activiteit en (iii) nutriëntencyclus te kunnen bepalen. In dit meetprogramma wordt een beschrijving gegeven van: de parameters die gemeten dienen te worden; de frequentie van de metingen en de locaties in de duinen waar de metingen zullen gaan plaats vinden;
- Het uitvoeren van dit meetprogramma in 2016. Deze metingen zullen worden uitgevoerd voordat AOP wordt toegepast en worden gebruikt om vast te stellen wat de situatie is voordat wordt overgegaan tot AOP-behandeling van het te infiltreren Maaswater (“nulmetingen”).

In dit (deel)rapport wordt het meetprogramma van de microbiologische parameters voor 2016 beschreven. Dit BTO speerpuntonderzoek loopt parallel met onderzoek dat wordt uitgevoerd door HWL (DVO-project), waarin diverse chemische metingen worden uitgevoerd om daarmee het effect van de introductie van AOP op de verwijdering/afbraak van organische microverontreinigingen in de zuivering en in het duingebied in kaart te brengen. Het meetprogramma van het chemische deel is door HWL gerapporteerd en is te vinden na het laatste hoofdstuk van dit microbiologische deelrapport. Daarnaast zal dit BTO speerpuntonderzoek worden aangevuld met TKI-onderzoek (Topconsortia voor Kennis en Innovatie) waarbinnen onderzoek zal worden gedaan naar de veranderingen die plaats vinden van de biochemische processen (o.i.v. micro-organismen) in de bodem en het geïnfiltreerde water.
Door goede afstemming van alle deelonderzoeken wordt een efficiënte uitvoering mogelijk gemaakt.
Tijdens drie bijeenkomsten (23 maart, 11 juni en 14 september 2015) is er met vertegenwoordigers van Dunea (Karin Lekkerkerker-Teunissen, Ton Knol en Jamal El

Majjaoui), HWL (Corine Houtman) en KWR (Paul van der Wielen en Leo Heijnen) gesproken over de metingen die uitgevoerd worden en de locaties waar deze metingen plaats gaan vinden om inzicht te krijgen in het effect van AOP op organische microverontreinigingen en de veranderingen van de microbiologie in het geïnfiltreerde water. Op basis van de uitgewisselde informatie zijn meetprogramma's opgesteld en op elkaar afgestemd. Met het uitvoeren van deze meetprogramma's worden twee verschillende vragen onderzocht:

1) In welke mate draagt AOP bij aan de verwijdering/afbraak van organische microverontreinigingen in de zuivering van Dunea (in de AOP-installatie zelf, maar ook de verwijdering in het duin)? Hiervoor worden in-uit-metingen uitgevoerd na de verschillende stappen in de zuivering.
2) Wat is het effect van het infiltreren van AOP-behandeld Maaswater op de (i) microbiële populatiesamenstelling, (ii) biologische activiteit en (iii) de nutriëntencyclus in het geïnfiltreerde water?

Het meetprogramma voor chemische metingen en algemeen microbiologische metingen is door Corina Houtman uitgebreid beschreven in het rapport "Monitoring van organische microverontreinigingen tijdens duinpassage ten behoeve van de uitbreiding van de zuivering van Dunea" (HWL rapportnummer: 201514). Deze rapportage is te vinden na het laatste hoofdstuk van dit (deel)rapport.
Het onderhavige rapport beperkt zich tot beschrijving van (i) de analyses welke gaan worden uitgevoerd om inzicht te krijgen in de veranderingen van microbiële populatiesamenstelling in het geïnfiltreerde water en in het water tijdens verblijf in de duinen en (ii) de monsternamepunten van de locaties waar analyses gaan plaats vinden en (iii) het aantal meetmomenten in 2016.

Leeswijzer

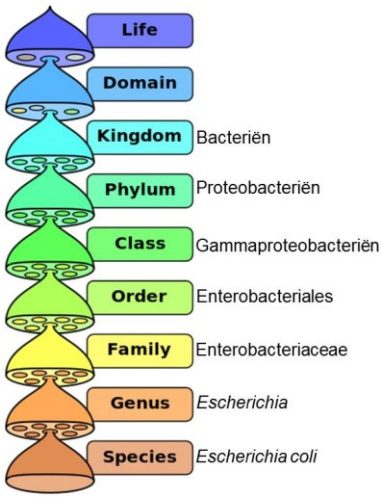
In hoofdstuk 2 worden de verschillende microbiologische parameters kort beschreven. In hoofdstuk 3 staan de meetlocaties, de meetfrequenties en monstername en in hoofdstuk 4 is het meetprogramma schematisch samengevat.

2 Microbiologische parameters

2.1 Karakteriseren van de bacteriologische gemeenschap met NGS: “microbial profiling”.

Next Generation Sequencing (NGS) is een relatief nieuwe technologie waarmee het mogelijk is om de DNA-sequentie (volgorde van de vier DNA-bouwstenen: A, C, G en T) van een groot aantal DNA-fragmenten in korte tijd en tegen beperkte kosten te bepalen. NGS is internationaal in diverse onderzoeken toegepast voor het karakteriseren van de bacteriële gemeenschap van drink- oppervlakte- en rioolwater (review: (Tan et al. 2015)) en ook in het onderzoek voor de Nederlandse drinkwatersector heeft NGS zijn intrede inmiddels gedaan (Heijnen et al. 2015, Roeselers et al. 2015, Liu et al. 2014). Voor het karakteriseren van de bacteriële gemeenschap wordt gebruik gemaakt van sequentieanalyse van het 16S ribosomaal RNA gen (16S rRNA). Deze 16S rRNA genen komen voor in alle bacteriegroepen en de DNA-sequenties van dit gen verschillen tussen de verschillende bacteriële groepen. Sequentieanalyse van dit gen wordt daarom al langere tijd algemeen gebruikt voor het karakteriseren van individuele bacteriën in een gemeenschap en wordt inmiddels gebruikt als “gouden standaard” voor het karakteriseren van onbekende bacteriën in een gemeenschap (Pace 1997). De 16S rRNA gensequenties van onbekende bacteriën uit een gemeenschap kunnen door vergelijking met, in databases beschikbare, 16S rRNA gensequenties van bekende bacteriën tot op verschillende taxonomische niveaus worden gekarakteriseerd (figuur 1).

FIGUUR 1. TAXONOMISCHE INDELING



Taxonomische indeling van organismen met, ter illustratie, een voorbeeld van de indeling van de bacteriesoort Escherichia coli

Met het gebruik van NGS is het mogelijk geworden om (met het MiSeq systeem van Illumina) in één analyse de sequentie te bepalen van ca. 15.000.000 DNA-fragmenten van de 16S rRNA genen. Met deze methode is het bovendien mogelijk om mengsels van een groot aantal monsters te analyseren. Dit wordt gedaan door de DNA-fragmenten te voorzien van een unieke monsterspecifieke index sequenties. Na sequentieanalyse worden deze indexsequenties gebruikt om de sequenties van individuele monsters

vanuit het mengsel te onderscheiden. Op deze manier is het mogelijk om bijvoorbeeld 15.000.000 sequenties te genereren vanuit één monster maar ook om 150.000 sequenties per monster te bepalen vanuit een mengsel van 100 monsters. Door het grote aantal sequenties per monster is het mogelijk om een vrijwel volledig beeld van de aanwezige bacteriën in het water te krijgen.
De voorgestelde NGS analyse is slechts mogelijk op een kort (250-450 baseparen) DNA-fragment van het 16S rRNA gen (Caporaso et al. 2012). Om een dergelijk fragment in voldoende hoeveelheid te krijgen wordt DNA geïsoleerd uit een watermonster en wordt het d.m.v. PCR vermeerderd. Vervolgens wordt de sequentie van individuele moleculen van het vermeerderde DNA-fragment bepaald. Bij de keuze van het fragment waarop de sequentieanalyse wordt uitgevoerd, wordt geselecteerd voor een regio van het 16S rRNA gen met voldoende variatie. Daarmee wordt zoveel mogelijk onderscheid gemaakt tussen de verschillende bacteriële groepen Het zal daarbij echter niet mogelijk zijn om de sequenties tot op soortniveau te onderscheiden, voor veel sequenties zal een onderscheidend vermogen tot op het niveau van familie of genus wel mogelijk zijn. Dit onderscheidend vermogen is voldoende om duidelijk te maken of- en welke veranderingen er in de bacteriële gemeenschap optreden, het is niet voldoende om een duidelijk beeld te krijgen van de mogelijke veranderingen die er optreden in de biochemische processen t.g.v. veranderingen in de bacteriologische gemeenschap.

Door NGS analyses uit te voeren op watermonsters vóór de toepassing van AOP en na de introductie van AOP en de resultaten van deze analyses met elkaar te vergelijken wordt een beeld verkregen van de veranderingen die er in de bacteriologische gemeenschap optreden t.g.v. de toepassing van AOP.

2.2 Karakteriseren van de biochemische processen met NGS: metatrancriptomics

Met metatransciptomics worden indirect NGS-analyses toegepast op het RNA van micro-organismen, dat een goede maat is voor de actieve microbiële populaties en waarmee inzicht wordt gekregen over de verschillende biochemische processen die plaats vinden in een ecosysteem. De methodiek is gebaseerd op het identificeren van de sequenties van messenger RNA (mRNA) moleculen van de microbiologische gemeenschap. Dit mRNA heeft een korte levensduur en bevat de genetische informatie die wordt gebruikt voor het maken van de eiwitten en enzymen die nodig zijn om stoffen af te breken en celprocessen te laten verlopen. De sequenties van de, in een monster aanwezige, mRNA moleculen worden met een NGS-analyse bepaald en, d.m.v. software en databases, vergeleken met RNA-sequenties welke coderen voor bekende enzymen. Met deze analyses wordt o.a. inzicht verkregen in de biochemische processen die in het ecosysteem actief zijn en de veranderingen die optreden t.g.v. de introductie van AOP, maar kunnen bijvoorbeeld ook worden gebruikt om antibioticaresistente genen op te sporen.
De metatranscriptomics analyses maken onderdeel uit van het TKI-onderzoek “Microbial profiling en metatranscriptomics analyses voor detailkarakterisering van microbiologische processen bij duininfiltratie” en het plan voor dit onderzoek zal in detail worden uitgewerkt binnen dit TKI-project. De monsters waarop de analyses worden uitgevoerd maken wel deel uit van dit speerpuntproject.

2.3 “Algemene microbiologische parameters”

Metingen van deze parameters worden uitgevoerd door HWL en zijn ook beschreven in het HWL rapport met nummer: 201514.

2.3.1 BPP test

De methode voor bepaling van de biomassa productie potentie (BPP) methode voor drinkwater is recent verbeterd. Met de methode kan het gehalte aan afbreekbaar organisch materiaal met de BPP-methode worden vastgesteld. De BPP-waarde wordt bepaald door tijdens een periode van 14 dagen te incuberen bij 25°C en periodiek het ATP-gehalte te bepalen met behulp van NEN-EN 16421:2014. De maximale ATP-concentratie gedurende de eerste zeven van de incubatie en het oppervlakte onder de grafiek gedurende 14 dagen incubatie, zijn vervolgens een maat voor de hoeveelheid afbreekbaar organisch materiaal. Verdere details van deze BPP-methode zijn weergegeven in van der (Van der Kooij and Veenendaal 2012, van der wielen 2014). Vanwege eerdere ervaringen bij Dunea heeft het toepassen van de BPP test de voorkeur boven het gebruik van de AOC (Assimilable Organic Carbon) test voor het bepalen van de groeibevorderende eigenschappen van het water. Door BPP testen uit te voeren op water vóór en na de introductie van AOP en de resultaten van deze analyses met elkaar te vergelijken, wordt duidelijk of de toepassing van AOP zorgt voor de introductie van biologisch afbreekbare stoffen die gebruikt kunnen worden als voedingsstoffen voor de bacteriële flora in het duininfiltratiegebied.

2.3.2 Directe celtelling met flowcytometrie

Door toepassing van flowcytometrie wordt snel en eenvoudig de aantallen niet deeltjesgebonden cellen in water bepaald (Hammes and Egli 2010).
Door celtellingen uit te voeren op water vóór na de introductie van AOP en de resultaten van deze analyses met elkaar te vergelijken wordt duidelijk welke invloed de toepassing van AOP heeft op het aantal niet deeltjesgebonden cellen in het water van de verschillende locaties.

2.3.3 Meting van de concentratie ATP

ATP (Adenosine Trifosfaat) is de belangrijkste energiebron voor cellulaire functies in alle actieve organismen. ATP metingen geven, via een eenvoudig en snel uitvoerbare meting, een beeld van de hoeveelheid actieve biomassa in een watermonster. Periodieke ATP metingen maken duidelijk of de introductie van AOP invloed heeft op concentratie actieve biomassa.

2.3.4 Algemene parameters die ook een relatie hebben met de microbiologie

- pH
- Temperatuur
- DOC
- LC-OCD van natuurlijk organisch materiaal

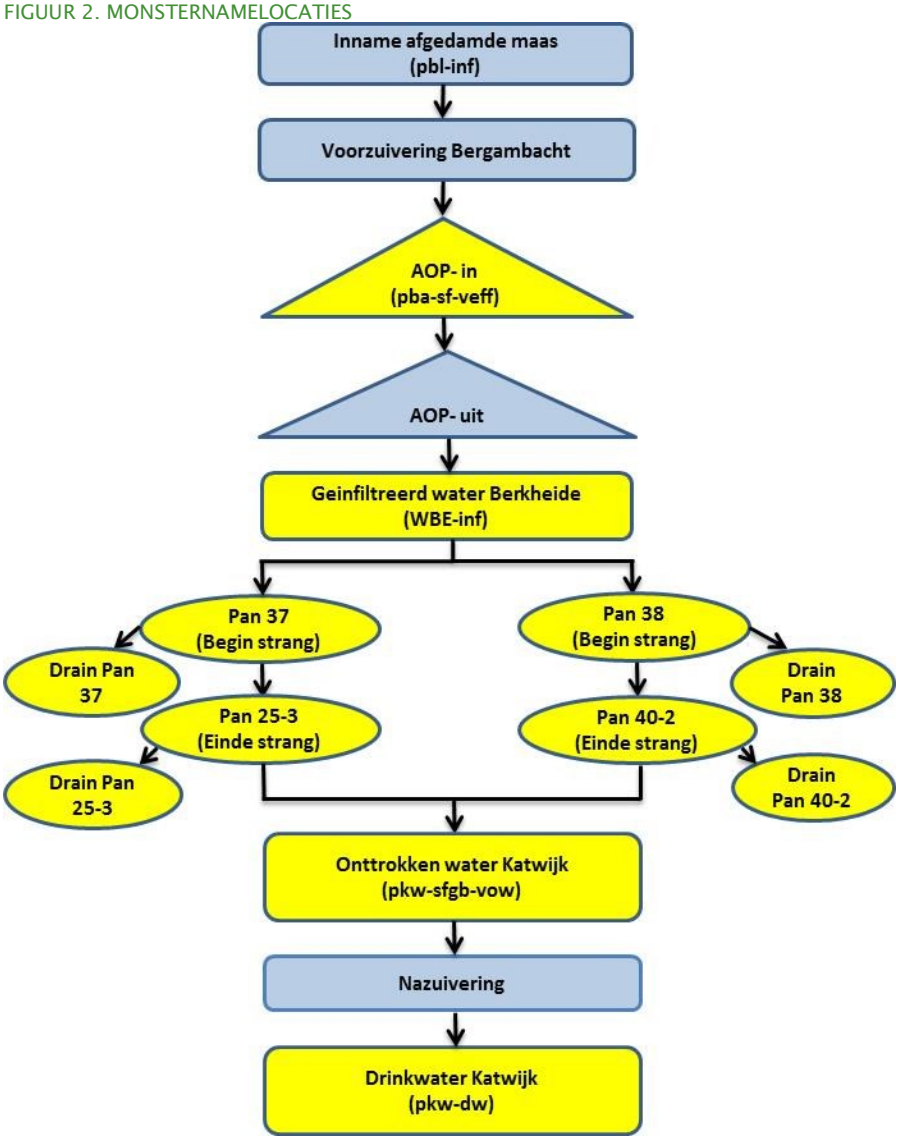
3 Locaties, frequentie en monstername

Een uitgebreide beschrijving van alle monsternamelocaties waar metingen (microbiologisch en chemisch) worden uitgevoerd is gegeven in het HWL-rapport "Monitoring van organische microverontreinigingen tijdens duinpassage ten behoeve van de uitbreiding van de zuivering van Dunea" (HWL rapportnummer: 201514) dat is te vinden na het laatste hoofdstuk van dit (deel)rapport.
Onderzoek bij een deel van deze locaties zal inzicht geven in het effect van het infiltreren van voorbehandeld Maaswater op de samenstelling van de microbiële populaties in het duininfiltratiegebied. Deze vraag zal vooral in dit speerpuntonderzoek door KWR worden onderzocht en de locaties die voor dit onderzoek zijn geselecteerd worden in dit rapport beschreven.

3.1 De geselecteerde locaties

Binnen dit SPO-project worden in 2016 nulmetingen uitgevoerd vóór de introductie van AOP. Om een zo volledig mogelijk beeld te krijgen van de samenstelling en de veranderingen van de microbiële populatie is het van belang om de microbiële populatie te onderzoeken van de meest relevante stappen in het traject van ingenomen water tot het afgeleverde water. Een schematische weergave van dit traject en de stappen waarvan watermonsters worden geanalyseerd is weergegeven in figuur 2.

FIGUUR 2. MONSTERNAMELOCATIES



Schematische weergave van het traject van inname van oppervlaktewater tot de levering van drinkwater. De locaties waar watermonsters zullen worden verzameld en geanalyseerd zijn in geel weergegeven.

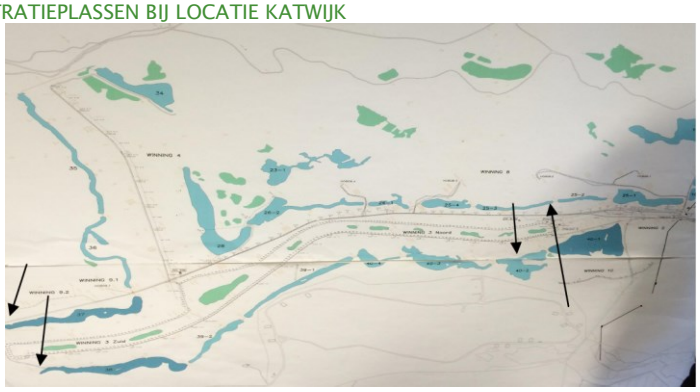
Het traject begint met inname van water uit de afgedamde Maas, een voorzuivering in Bergambacht en transport naar de kust. In het duingebied wordt het water vervolgens bij Monster, Scheveningen en Katwijk geïnfiltreerd en teruggewonnen. Via infiltratieplassen zakt het water in de bodem en, na een gemiddelde verblijftijd van ca. twee maanden wordt het water weer teruggewonnen. Om een zo volledig mogelijk beeld te krijgen van de microbiologische samenstelling van het water en de veranderingen die daarin optreden worden monsters geanalyseerd van de volgende locaties:

a. Het water afkomstig van een locatie direct vóór de geplande AOP installatie: pba-sf-veff.
b. Het water afkomstig van een locatie na de geplande AOP installatie en dat in de infiltratieplassen wordt gebracht. Hiervoor wordt gekozen om het water van locatie Meijendel (Scheveningen: WME-inf) te onderzoeken. Deze locatie wordt ook voor regulier onderzoek bemonsterd en het is niet te verwachten dat er

verschillen zullen zijn in de samenstelling van het geïnfiltreerde water tussen de locaties Katwijk, Monster en Scheveningen.

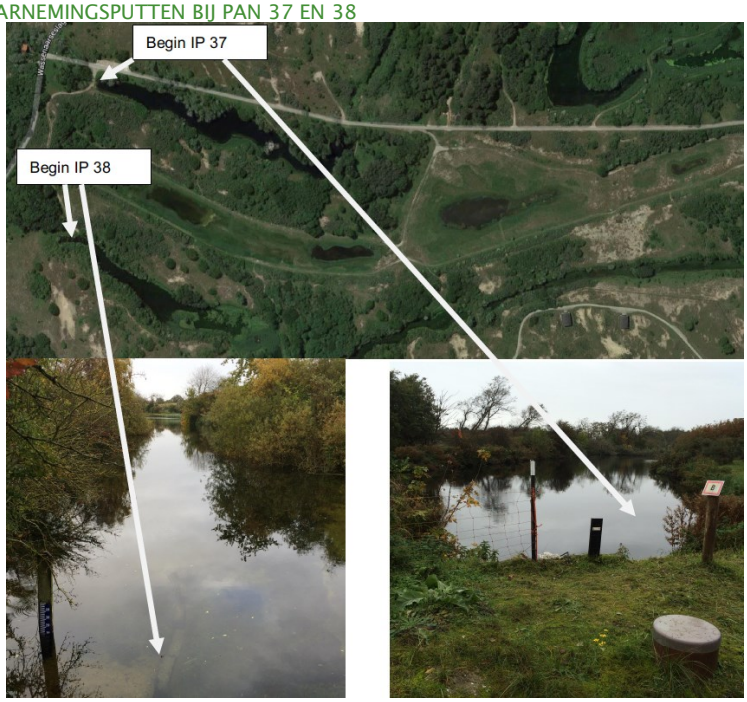
c. Het water afkomstig van vier infiltratiepannen van de twee infiltratiestrangen bij locatie Katwijk. Bij de winning van locatie Katwijk zijn de infiltratiepannen gelegen in twee strangen. Van beide strangen wordt de eerste en de laatste infiltratiepan bemonsterd: pan 37 en 25-3 van de ene strang en pan 38 en 40-2 van de andere strang (figuur 3, 4 en 5).
d. Het water afkomstig van waarnemingsputten welke zijn aangelegd bij de onder “c” genoemde infiltratiepannen. Deze zijn aangelegd zodat 1-1,5 m onder de bodem van de plas kan worden bemonsterd. Het is te verwachten dat afbraak van microverontreinigingen onder invloed van micro-organismen vooral plaats vindt in de eerste meter van de bodempassage. Analyse van watermonsters uit deze waarnemingsputten zal meer inzicht geven in de bacteriën die in dit proces een rol spelen en, na effectmetingen, de mogelijke veranderingen die daarin optreden t.g.v. de introductie van AOP.

FIGUUR 3. INFILTRATIEPLASSEN BIJ LOCATIE KATWIJK



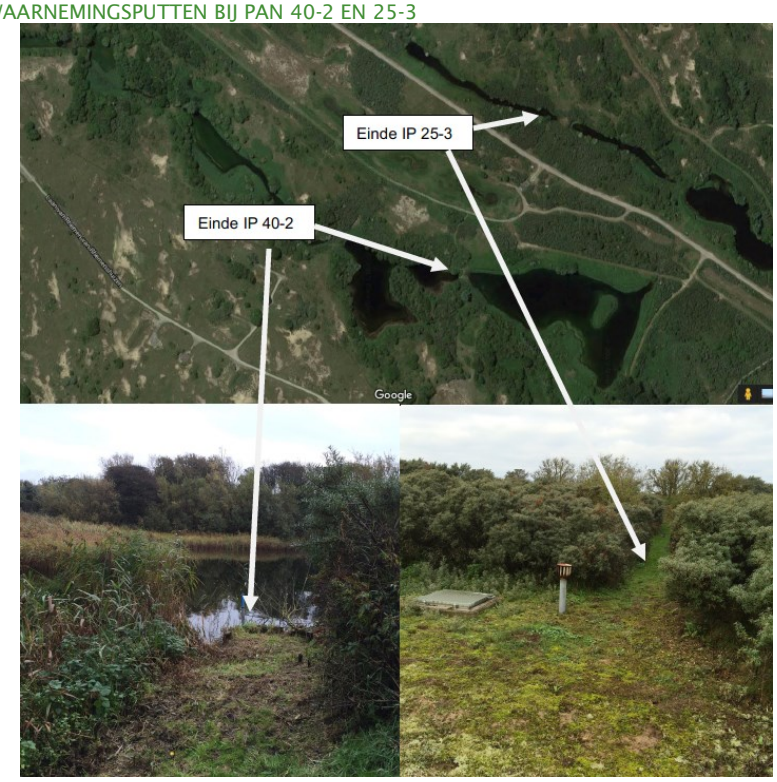
Kaart van de infiltratieplassen bij Katwijk. Met pijlen zijn de locaties van de pannen waar onderzoeksmonsters worden verzameld aangegeven (overgenomen van Jamal El Majjaoui) .

FIGUUR 4. WAARNEMINGSPUTTEN BIJ PAN 37 EN 38



Foto's verkregen van Jamal El Majjaoui

FIGUUR 5. WAARNEMINGSPUTTEN BIJ PAN 40-2 EN 25-3



Foto's verkregen van Jamal El Majjaoui

3.1.1 Frequentie van bemonstering

Om uiteindelijk conclusies te kunnen trekken over het effect van de introductie van AOP op de microbiologie tijdens duininfiltratie is het noodzakelijk om bij de nulmetingen

informatie te verzamelen over de eventuele dynamiek in de microbiologie gedurende het jaar. Als gedurende het jaar variatie in de microbiologie optreedt t.g.v. seizoensinvloeden (temperatuur) dan is het van belang om een beeld te krijgen van deze variatie. Voor het verkrijgen van dit beeld worden analyses uitgevoerd gedurende het jaar: winter (week 9), voorjaar (week 21) en zomer (week 33). In eerste instantie was de eerste monsterserie gepland in week 9 van 2016. Echter, vanwege problemen met de kwaliteit van het water in de afgedamde maas t.g.v. de lozing van dimethoaat, is Dunea tijdelijk overgegaan tot inname van lekwater voor de productie van drinkwater. Dit zorgt ervoor dat het ingenomen oppervlaktewater tijdelijk een andere samenstelling heeft en dus niet representatief is voor de normale situatie. Daarom is op 15 februari 2015 besloten om de meetserie van week 9 te verplaatsen naar week 9 van 2017.

3.2 Monstername

Op de watermonsters die voor dit onderzoek zullen worden geanalyseerd zullen ook analyses plaats vinden binnen het TKI-onderzoek “Microbial profiling en metatranscriptomics analyses voor detailkarakterisering van microbiologische processen bij duininfiltratie”. Door op de watermonsters “taxonomisch” vast te stellen welke bacteriële groepen in het water aanwezig zijn (dit SPO-project) en, via metatranscriptomics (TKI-project), vast te stellen welke microbiologische processen er plaats vinden wordt een compleet beeld gegenereerd van de actieve microbiologie in deze watermonsters. Bij de monstername zal dus rekening gehouden worden met beide projecten.

- *Volume*
    - Elke locatie: 2 monsters.

Het is noodzakelijk om van elke locatie voldoende water te verzamelen voor het isoleren van DNA (t.b.v. dit SPO-project) en RNA (t.b.v. TKI-onderzoek). Voor het isoleren van voldoende DNA en RNA is bacteriële biomassa nodig, op basis van resultaten van eerder onderzoek is te verwachten dat een volume van 1 liter water voldoende is voor microbiële profilering. Voor metatranscriptomics is nog onduidelijk hoeveel volume nodig is en dit wordt bepaald aan de hand van een proefbemonstering in februari waarbij van bepaald volume (1 liter) het aantal cellen, DNA en RNA wordt gemeten. Om inzicht te krijgen in de homogeniteit van de monsters en de reproduceerbaarheid van de analyses wordt voorgesteld om van alle locaties duplo-monsters te nemen.
Er wordt daarom voorgesteld om van alle locaties duplomonsters te nemen. Het benodigde volume van de monsters wordt vastgesteld tijdens de proefbemonstering.

- *Conservering en transport*
    - Monsters worden direct na monstername gekoeld en op ijs getransporteerd naar KWR. Voor isolatie van DNA dienen de monsters binnen 24 uur na monstername bij KWR in behandeling te worden genomen. Deze voorzorgsmaatregelen dienen te worden genomen om te waarborgen dat de microbiologische samenstelling van de monsters tijdens de analyses overeenkomt met de oorspronkelijke situatie in het duin.
    - Voor de isolatie van RNA is mogelijk te verwachten dat koelen op ijs en opwerking binnen 24 uur niet voldoende zal zijn om te waarborgen dat de samenstelling van de populatie RNA-moleculen (“transcriptome”) van het geïsoleerde RNA hetzelfde zal zijn als het “transcriptome” in het duinwater. Daarom zal met enkele partners van het TKI-project eerst

nader worden overlegd op welke manier de monsters het beste kunnen worden geconserveerd.

3.3 Planning van analyses

Na het isoleren van DNA en RNA is het mogelijk om de monsters, onder de juiste omstandigheden, lange tijd te bewaren zonder dat er veranderingen in de samenstelling zullen optreden. Het RNA zal daarom, in afwachting van de vorderingen binnen het TKI-project, worden geconserveerd. Analyses van de eerste serie DNA-monsters zal snel na monstername plaats vinden zodat de resultaten beschikbaar zijn en besproken kunnen worden vóór de tweede monsterserie.

4 Schematisch overzicht meetprogramma SPO

Meetmomenten Microbiologisch		Maand ➢	**Mei (2016)**			**Jun**			**Jul**			**Aug**			**Sept**			**Okt**			**Mrt (2017)**			**Apr**	**Mei**
		weeknr.➢	18			22			26			31			35			40			9				
Parameters	**Monstername⮟**	**Analyse ⮟**																							
Proefmonstername																									
Celtelling	HWL	KWR																							
DNA/RNA isolatie:	HWL	KWR																							
DNA meting	HWL	KWR																							
RNA meting	HWL	KWR																							
NGS anayses																									
Extractie DNA	HWL	KWR			21							33									9*				
NGS 16S	HWL	KWR																							
Extractie RNA (t.b.v. TKI)	HWL/KWR	KWR			21							33									9*				
Microbiologische analyses																									
BPP test	HWL	KWR			21							33													
Directe celtelling (FCM)	HWL	HWL			21							33													
ATP meting	HWL	HWL			21							33													
pH	HWL	KWR			21							33													
Temperatuur	HWL	HWL			21							33													
DOC	HWL	KWR			21							33													
LC-OCD	HWL	HWL			21							33													

* Wijziging t.o.v. oorspronkelijke plan vanwege tijdelijk stopzetten inname vanuit Afgedamde Maas

Meetlocaties	Maand ➤	Mei (2016)				Jun (2016)				Jul (2016)				Aug (2016)				Sept (2016)				Mrt (2017)			
	Weeknr.➤	18				22				26				31								9			
Proefmetingen	**Locatie code**																								
Geinfiltreerd water	WME-inf																								
Infiltratie	Pan naar keuze																								
Na bodempassage	Pan naar keuze																								
Onttrokken water Katwijk	Pkw-sfgb-vow																								
Periodieke metingen																									
Locatie "vóór AOP“	Pba-sf-veff				21										33							9*			
Geinfiltreerd water	WME-inf				21										33							9*			
Infiltratie	Pan 37				21										33							9*			
Na bodempassage	Put bij pan 37				21										33							9*			
Infiltratie	Pan 25-3				21										33							9*			
Na bodempassage	Put bij pan 25-3				21										33							9*			
Infiltratie	Pan 38				21										33							9*			
Na bodempassage	Put bij pan 38				21										33							9*			
Infiltratie	Pan 40-2				21										33							9*			
Na bodempassage	Put bij pan 40-2				21										33							9*			
Onttrokken water Katwijk	Pkw-sfgb-vow				21										33							9*			
Afgeleverd water Katwijk	Pkw-dw				21										33							9*			

* Wijziging t.o.v. oorspronkelijke plan vanwege tijdelijk stopzetten inname vanuit Afgedamde Maas

5 Literatuur

Tan, B., Ng, C., Nshimyimana, J.P., Loh, L.L., Gin, K.Y. and Thompson, J.R. (2015) Next-generation sequencing (NGS) for assessment of microbial water quality: current progress, challenges, and future opportunities. Front Microbiol 6, 1027.

Heijnen, L., IJszenga, M., Graaf de, B. and Wielen, P.W.J.J. (2015) Application of NGS for monitoring microbiological water quality. Rapid Methods Europe 2015 conference (RME) (Poster presentation).

Roeselers, G., Coolen, J., van der Wielen, P.W., Jaspers, M.C., Atsma, A., de Graaf, B. and Schuren, F. (2015) Microbial biogeography of drinking water: patterns in phylogenetic diversity across space and time. Environ Microbiol 12(10), 1462-2920.

Liu, G., Bakker, G.L., Li, S., Vreeburg, J.H., Verberk, J.Q., Medema, G.J., Liu, W.T. and Van Dijk, J.C. (2014) Pyrosequencing reveals bacterial communities in unchlorinated drinking water distribution system: an integral study of bulk water, suspended solids, loose deposits, and pipe wall biofilm. Environ Sci Technol 48(10), 5467-5476.

Pace, N.R. (1997) A molecular view of microbial diversity and the biosphere. Science 276(5313), 734-740.

Caporaso, J.G., Lauber, C.L., Walters, W.A., Berg-Lyons, D., Huntley, J., Fierer, N., Owens, S.M., Betley, J., Fraser, L., Bauer, M., Gormley, N., Gilbert, J.A., Smith, G. and Knight, R. (2012) Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms. Isme J 6(8), 1621-1624.

Van der Kooij, D. and Veenendaal, H.R. (2012) Bepaling van de biomassaproductiepotentie van drinkwater. KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein BTO 2014.038.

van der wielen, P.W.J.J. (2014) Validatie en standaardisatie van de BPP-test voor drinkwater. KWR Watercycle Research Institute, Nieuwegein. BTO 2015.019.

Hammes, F. and Egli, T. (2010) Cytometric methods for measuring bacteria in water: advantages, pitfalls and applications. Anal Bioanal Chem 397(3), 1083-1095.

Rapport HWL: dubbelklik op het logo om te openen

Tabel 2. *Overzicht van de monsternamefrequenties tijdens de effectmeting*

