



De invloed van deeltjes op de desinfectie van virussen door UV

Een literatuurstudie

BTO 2013.024(s)
Mei 2013

De invloed van deeltjes op de desinfectie van virussen door UV

Een literatuurstudie

BTO 2013.024(s)
Mei 2013

© 2013 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.

Colofon

Titel

De invloed van deeltjes op de desinfectie van virussen door UV, een literatuurstudie.

Opdrachtnummer

B111633

Rapportnummer

BTO 2013.024(s)

Onderzoeksprogramma

BTO

Projectmanager

Niels Dammers

Opdrachtgever

CvO

Kwaliteitsborger

Gertjan Medema

Auteur

Luc Hornstra

Verzonden aan

Dit rapport is verspreid onder BTO-participanten en is openbaar

Samenvatting

In de literatuur zijn de afgelopen jaren een tiental publicaties verschenen, waarin specifiek wordt gekeken naar het effect van deeltjes op de inactivatie van virussen door UV. De effecten die in deze studies zijn gerapporteerd lopen uiteen. In sommige studies wordt de UV desinfectie wel beïnvloed door de aanwezigheid van deeltjes, terwijl andere studies geen invloed waarnemen van deeltjes op UV desinfectie. Deze literatuurstudie beschrijft de resultaten van deze studies.

Het effect van deeltjes op de inactivatie van virussen door UV is op verschillende manieren onderzocht. In een aantal studies worden deeltjes toegevoegd aan een bacteriofagensuspensie, zodat coagulatie of aggregatie waarschijnlijk niet zal optreden. In andere worden de virussen met de deeltjes juist wel gecoaguleerd, om het effect van UV op virussen in vlokken of aggregaten te bestuderen. Ook zijn twee studies beschreven waarin het effect van processen voorafgaand aan de UV desinfectie, zoals coagulatie, snelfiltratie en membraanfiltratie, op de effectiviteit van UV desinfectie is geëvalueerd.

Uit de studies blijkt dat losse deeltjes, die zelf geen UV licht absorberen (zoals kleideeltjes), geen nadelig effect laten zien op de inactivatie van virussen door UV. Hierbij dient de UV intensiteit wel gecorrigeerd te worden voor de invloed van troebelheid en absorptie. Indien de vorming van deeltjes in een bacteriofagensuspensie wordt gestimuleerd, bijvoorbeeld door coagulatie, dan bieden kleideeltjes geen extra bescherming. Bescherming treedt wel op als bacteriofagen hechten aan deeltjes die zelf UV kunnen absorberen. Voorbeelden hiervan zijn ijzerdeeltjes, en humuszuurdeeltjes. Met name humuszuurdeeltjes beschermen bacteriofagen tegen UV inactivatie, en de combinatie van MS2 met humuszuurdeeltjes liet een verminderde activiteit zien van 2 tot 2,5 logeenheden na 80 mJ/cm². Humuszuren vormen mogelijk een coating rondom het virus.

Virussen gebonden aan deeltjes kunnen, als ze kleiner zijn dan 10 µm, de snelfilters passeren, terwijl deeltjes die in de snelfilters worden afgevangen tijdens "off-spec" situaties van het filter juist kunnen vrijkomen.

Omdat van ziekteverwekkende virussen niet bekend is of ze vrij, of gebonden aan deeltjes voorkomen in het oppervlaktewater, is het niet bekend of deze de snelfilters gemakkelijk kunnen passeren. Deze informatie is wel nodig om een betere inschatting te kunnen maken of en in welke mate ziekteverwekkende virussen coagulatie en filtratieprocessen kunnen passeren. Verder is niet bekend in hoeverre humuszuren, en andere UV absorberende stoffen virussen onder praktijkcondities kunnen beschermen tegen UV. Daarom wordt aanbevolen om in water met een hoge concentratie humuszuren, (of andere sterk UV absorberende stoffen) te bepalen of virussen hierdoor een extra bescherming kunnen verkrijgen tegen UV.

Inhoud

Samenvatting	1
Inhoud	3
1 Inleiding	5
2 Materiaal en Methoden	7
3 Resultaten	9
3.1 UV desinfectie	9
3.1.1 De gevoeligheid van virussen voor UV	9
3.1.2 Effecten van deeltjes in een "full scale" installatie	9
3.1.3 Ziekteverwekkende virussen in oppervlaktewater	10
3.2 Het effect van deeltjes op de inactivatie van virussen met UV.	11
3.2.1 Het effect van deeltjes in het water op de desinfectie door UV, waarbij de deeltjes niet zijn gebonden aan de virussen.	11
3.2.2 Het effect van door coagulatie ontstane deeltjes op de desinfectie van virussen door UV.	13
3.2.3 Verwijdering van aan deeltjes gehechte bacteriofagen door pre-UV waterbehandelingsstappen en de impact daarvan op UV desinfectie.	17
4 Discussie	19
5 Conclusies en aanbevelingen	21
5.1 Conclusies	21
5.2 Aanbevelingen	21
6 Referenties	23

1 Inleiding

In Nederland wordt drinkwater gewonnen uit grondwater en oppervlaktewater. Grondwater is vaak microbiologisch van een uitstekende kwaliteit, en niet verontreinigd met voor de mens ziekteverwekkende micro-organismen. Er is dus meestal geen desinfectiestap opgenomen in het zuiveringsproces naar drinkwater. Voor oppervlaktewater is desinfectie wel noodzakelijk. In oppervlaktewater komen pathogene micro-organismen voor, waarbij humaan pathogene virussen soms in hoge aantallen voorkomen (Lodder et al, 2010). Het is bekend dat virussen niet of in slechts in geringe mate worden verwijderd door de fysische waterbehandelingsstappen (Hijnen, 2004; Italiaander, 2013, Schijven, 2013).

Pathogene virussen in oppervlaktewater komen van verschillende bronnen. Het effluent van RWZIs kan hoge aantallen humaan pathogene virussen bevatten. Dit komt omdat deze zuivering vooral is gericht op het verwijderen van vaste bestanddelen en nutriënten. Virussen worden niet actief verwijderd. Andere bronnen van pathogene virussen zijn overstorten van rioleringen tijdens hevige regenval. Vanwege de aanwezigheid van ziekteverwekkende virussen in het oppervlaktewater is het essentieel om bij het gebruik van oppervlaktewater als grondstof voor drinkwater meerdere desinfectiestappen te implementeren in de zuivering. Op deze wijze worden voor ziekteverwekkende virussen voldoende barrières opgeworpen, zodat het drinkwater voldoet aan het in het Drinkwaterbesluit vastgestelde infectierisico van 10^{-4} per persoon per jaar.

Sinds een aantal jaren is UV een veel gebruikte desinfectiestap bij de bereiding van drinkwater. Een groot voordeel van UV is dat het een breed scala aan micro-organismen kan inactiveren, zoals protozoa, bacteriën en virussen. Ook organismen die door een chloorbehandeling niet adequaat worden geïnactiveerd, zoals de protozoa *Cryptosporidium* en *Giardia* zijn gevoelig voor UV. Dit heeft ervoor gezorgd dat UV desinfectie wereldwijd wordt toegepast. Een ander voordeel van het toepassen van UV is dat, in tegenstelling tot bijvoorbeeld chloor- en ozon desinfectie, er weinig tot geen schadelijke desinfectiebijproducten ontstaan (Liu, 2002, von Gunten, 2003).

Bij UV desinfectie worden LP (lage druk) of MP (midden druk) UV lampen gebruikt. Lage druk lampen hebben een emissiepiek bij 253,7 nm, terwijl middendruk lampen een emissiespectrum hebben met golflengtes tussen de 200 en 370 nm.

Met informatie over de UV absorptie van het water, en procestechnische parameters zoals reactor design, stroomsnelheid, UV-intensiteit van de lampen en stromingspatronen, is het mogelijk om de benodigde hoeveelheid UV intensiteit te berekenen, om tot de gewenste verwijdering van micro-organismen te komen (Qualls, 1983).

Ondanks zorgvuldig design van de UV reactoren bij drinkwaterzuiveringen, wordt niet altijd de verwijderingscapaciteit behaald die van tevoren was vastgesteld. Dit kan een aantal oorzaken hebben die te maken kunnen hebben met de UV-installatie. Door aanslag op de kwartsoppervlakken wordt een deel van de UV-straling verstrooid of tegengehouden. Dit kan worden tegengegaan door de reiniging van de kwartsbuizen. Na verloop van tijd loopt de prestaties van de lampen terug, al wordt hiervoor meestal een correctiefactor toegepast.

Ook watereigenschappen kunnen van invloed zijn op de prestaties van de UV installatie. Water in de zuivering kan variatie vertonen op het gebied van troebelheid, absorptie van het UV licht, en soms hoge aantallen deeltjes van verschillende grootte bevatten. Ook de samenstelling van deze deeltjes kan variëren. Dit kan samenhangen met processen voorafgaand aan de UV-bestraling, en bijvoorbeeld afhankelijk zijn van de condities van de zandfilters, of van seizoensafhankelijke parameters (Templeton, 2007). Verandering in de bovengenoemde watereigenschappen zal, indien er niet voor wordt gecorrigeerd, van invloed zijn op de prestaties van de UV installatie (Batch et al, 2004).

Daarnaast zal een UV desinfectiestap niet elk virus in gelijke mate afdoden. Virussen verschillen in de mate van gevoeligheid voor UV (Hijnen et al, 2006). Ook zullen virussen op verschillende manieren voorkomen in het oppervlaktewater, bijvoorbeeld als vrij virusdeeltje of gehecht aan andere in het water voorkomende deeltjes (Gerba, 2004). Vrij voorkomende virussen zullen vermoedelijk eerder worden geïnactiveerd door UV, dan virussen die zich in deeltjes bevinden. Er is echter niet veel informatie over in welke vorm virussen voorkomen in oppervlaktewater.

Voor virussen is eerder beschreven dat deze als gevolg van elektrostatische aantrekking en hydrofobe interacties in natuurlijk water bijna altijd gebonden zijn aan andere deeltjes (Gerba, 1984). Deeltjes waaraan deze virussen kunnen hechten zijn: zand, kleisoorten (montmorilloniet, kaoliniet, en bentoniet), bacteriën, natuurlijke colloïden, "sludge" deeltjes, etc. Daarnaast is beschreven dat humaan pathogeen virussen in natuurlijk water gebonden kunnen zijn aan deeltjes van fecale herkomst.

Omdat goed voor is te stellen dat deeltjes in het water een negatief effect kunnen hebben op een UV desinfectiestap, zijn er een aantal studies beschreven waarin het effect van deeltjes op de inactivatie van virussen is beschreven. Er zijn ook studies beschreven waarin het effect van deeltjes op de op de UV desinfectie van bacteriën en protozoa werd onderzocht, maar deze worden in deze rapportage grotendeels buiten beschouwing gelaten. Veel van de beschreven inactivatiestudies met deeltjes zijn verkregen onder gecontroleerde condities door middel van "collimated beam" experimenten, waarbij virussen samen met deeltjes werden blootgesteld aan verschillende UV doses. Door de strikt gecontroleerde condities is het goed mogelijk om uit deze experimenten conclusies te trekken over het effect van de onderzochte parameters op de UV desinfectie.

Er zijn een beperkt aantal studies beschreven waarin de effecten van deeltjes op de inactivatie van virussen door UV is beschreven. Een aantal van deze studies voegen deeltjes toe aan een bacteriofagensuspensie, en behandelen op deze wijze verschillende concentraties bacteriofagen en deeltjes met UV. In een aantal andere studies worden de deeltjes gevormd in een bacteriofagensuspensie, door het toevoegen van coagulatiemiddelen. Daarna worden de bacteriofagensuspensies met de daarin gevormde deeltjes blootgesteld aan UV. Met deze studies wordt enerzijds onderzocht of virussen worden beschermd door de vorming van vlokken tijdens de coagulatie, en anderzijds om de invloed van waterbehandelingsprocessen upstream van de UV installatie te onderzoeken.

Deze literatuurstudie is bedoeld om de literatuur waarin de effecten worden beschreven van deeltjes op de inactivatie van virussen door UV samen te vatten. Het doel hiervan is om beter te begrijpen of deeltjes een storend effect kunnen hebben op UV desinfectie, en als dit zo is, op welke manier deze storende werking dan wordt bewerkstelligd. Hierbij wordt niet alleen gekeken naar het effect van losse deeltjes, maar juist ook naar studies waar de virussen zijn gebonden aan deeltjes, een situatie die vermoedelijk de werkelijke situatie beter beschrijft.

Daarnaast is bepaald of de huidige studies volledig zijn, of dat er vragen overblijven over dit onderwerp. Op basis van de conclusies worden kennishiaten behandeld, en eventueel aangevuld met suggesties om de ontbrekende kennis te verkrijgen. Er wordt voornamelijk gebruik gemaakt van literatuur waarin het effect van deeltjes op de inactivatie van virussen door UV wordt beschreven. Indien relevant, zijn ook studies die het effect van deeltjes op de inactivatie van andere micro-organismen dan virussen door UV, in deze rapportage besproken.

2 Materiaal en Methoden

Voor deze rapportage zijn de bestaande literatuur databases gescreend op artikelen waarin de desinfectie van virussen door UV werd beschreven, en waarbij het effect van coagulatie of het toevoegen van deeltjes op de UV desinfectie van virussen werd onderzocht. Alle artikelen zijn afkomstig van peer reviewed tijdschriften. Tevens zijn de gegevens van een recent KWR rapport (Italiaander, 2013) gebruikt in deze studie.

De studies beschrijven het effect van deeltjes op UV transmissie in het water, het effect van deeltjes op de UV desinfectie van bacteriofagen MS2 en T4, en het effect van processen die plaatsvinden voor de UV desinfectie op de effectiviteit van de UV desinfectie. Ook deze experimenten zijn uitgevoerd met bacteriofagen.

Er zijn geen studies gevonden waar het effect van deeltjes, of van processen upstream van de UV desinfectie zoals coagulatie/sedimentatie op ziekteverwekkende in water voorkomende virussen is onderzocht. Alleen de recente KWR studie bevat naast informatie over bacteriofagen ook informatie over ziekteverwekkende virussen, in dit geval adenovirus.

De meeste studies maken gebruik van een experimentele opzet waar door middel van gestandaardiseerde “collimated beam” experimenten de inactivatie van bacteriofagen door UV wordt bepaald. De resultaten zijn daarom in de meeste gevallen onderling vergelijkbaar.

3 Resultaten

3.1 UV desinfectie

Bij UV desinfectie inactieveert het micro-organisme door de directe blootstelling van het micro-organisme aan de UV straling. De fotonen in het UV licht worden door chemische verbindingen in het micro-organisme geabsorbeerd. Die verbindingen raken daardoor beschadigd en inactief. Als UV straling het micro-organisme niet kan bereiken, zal geen inactivatie plaatsvinden, en zal het micro-organisme ongehinderd de UV bron kunnen passeren. Het is dus belangrijk dat elk micro-organisme ook daadwerkelijk wordt blootgesteld aan de UV straling. Daarnaast is een bepaalde UV dosis nodig voordat het micro-organisme daadwerkelijk volledig is geïnactiveerd door UV.

Factoren van belang voor UV desinfectie zijn de UV-intensiteit, de blootstellingstijd en de gevoeligheid van het micro-organisme voor UV.

3.1.1 De gevoeligheid van virussen voor UV

Recentelijk is de gevoeligheid van een groot aantal pathogene micro-organismen voor UV geëvalueerd (Hijnen et al 2006). De gegevens van deze studie zijn voor een groot deel afkomstig van experimenten waarbij gebruik werd gemaakt van een collimated beam UV installatie. Collimated beam experimenten vinden onder gestandaardiseerde condities plaats, waardoor de resultaten goed reproduceerbaar zijn, en het mogelijk is om de resultaten van verschillende studies goed te vergelijken.

Uit deze studie en uit eerdere publicaties bleek dat het adenovirus een zeer grote resistentie laat zien tegen LP-UV, en dat afhankelijk van het type adenovirus, 125 tot 167 mJ/cm² nodig is om 3 logeenheden te inactiveren. Dit is een 2 tot 4 keer hogere UV dosis dan de dosis die nodig is om andere ziekteverwekkende virussen te inactiveren.

Het adenovirus verschilt van de andere in het oppervlaktewater voorkomende ziekteverwekkende virussen, want het heeft een dubbelstrengs DNA genoom. De hoge resistentie van dit virus tegen UV kan vermoedelijk worden toegeschreven aan reparatie van de door UV veroorzaakte DNA schade na de UV behandeling. Het adenovirus kan deze schade niet zelf repareren, maar maakt, nadat het de gastheer cel is binnengedrongen, "gebruik" van de reparatiemechanismen van de gastheer. In de gastheer wordt de door UV toegebrachte genoomschade gerepareerd. Overigens is adenovirus gevoeliger voor MP UV straling, doordat MP UV ook andere viruselementen dan het genoom beschadigt.

Bacteriofaag MS2, die in veel studies wordt gebruikt als surrogaat voor ziekteverwekkende virussen, is relatief goed bestand tegen UV straling. Het is daardoor een goed modelorganisme om de effecten van UV op virussen te bestuderen. Alle tot nu toe onderzochte pathogene virussen en bacteriofagen zijn gevoeliger voor UV dan MS2 en het adenovirus.

3.1.2 Effecten van deeltjes in een "full scale" installatie

In de meeste artikelen wordt tijdens de experimenten gebruik gemaakt van een laboratoriumopstelling om de effecten van deeltjes op virusinactivatie door UV te onderzoeken. Uiteraard zijn in de praktijk de condities anders dan bij collimated beam experimenten. Daar zullen watereigenschappen, bijvoorbeeld door seizoensinvloeden, niet constant zijn, en dus invloed hebben op de werking van de UV installatie. Ook kan de troebelheid van het water variëren, en kunnen deeltjes in verschillende concentraties, met verschillende diameter en met een verschillende samenstelling van invloed zijn op de werking van UV.

Aan de aanwezigheid van deeltjes tijdens UV desinfectie worden in de literatuur de volgende effecten toegekend (Christensen, 2003; Passantino, 2004):

Blocking/Shielding:

Het deeltje blokkeert de UV straling, en beschermt op deze wijze het micro-organisme. Het micro-organisme bevindt zich daardoor permanent in de schaduw tijdens passage van de UV-bron, en passeert

daardoor zonder schade op te lopen. Dit kan gebeuren als het virus zich bijvoorbeeld in een deeltje bevindt, tijdens passage van de UV-installatie. Dit kan ook gedeeltelijke bescherming opleveren als een virus een deel van de stroombaan in de UV reactor zich in de schaduw bevindt.

Absorptie:

De deeltjes in het water kunnen bestaan uit materialen die de UV-straling absorberen. Een voorbeeld hiervan zijn humuszuurdeeltjes, welke zeer sterk het UV-licht kunnen absorberen. Geabsorbeerd UV is niet meer beschikbaar voor de desinfectie van virussen. Door de absorptie van UV-licht zal de UV intensiteit op grotere afstand van de reactor lager zijn, en zal daar dus minder snel desinfectie plaats kunnen vinden.

Verstrooiing:

Deeltjes in het water kunnen de UV-stralen verstrooien. Door verstrooiing neemt de afgelegde weg van de UV straling door het water toe, en daarmee neemt de energie af (Huber and Frost, 1998). Op deze wijze bereikt de UV-straling minder gemakkelijk het water wat op een grotere afstand van de UV-bron stroomt.

3.1.3 Ziekteverwekkende virussen in oppervlaktewater

De belangrijkste bronnen van humane virussen in oppervlakte water zijn RWZI's en riooloverstorten. RWZI's lozen permanent op het oppervlaktewater, en zorgen op deze wijze voor een constante belasting van het oppervlaktewater met humane virussen. Riooloverstorten kunnen door lozingen van ongezuiverd rioolwater tijdens hevige regenval de oorzaak zijn van viruspieken in het oppervlaktewater.

Van beide verontreinigingsbronnen is bekend dat deze zeer hoge concentraties ziekteverwekkende virussen kunnen bevatten (Lodder, 2005; da Silva 2007; Arraj, 2008).

Het is dus onvermijdelijk het oppervlaktewater ziekteverwekkende virussen bevat. Virussen kunnen voorkomen als losse virusdeeltjes die vrij in het water kunnen bewegen, of gebonden zijn aan in het water voorkomende deeltjes of sediment. Het is niet bekend hoe deze virussen in het oppervlaktewater aanwezig zijn. Toch is deze informatie wel van belang. Indien bijvoorbeeld blijkt dat (bepaalde) ziekteverwekkende virussen zijn gebonden aan deeltjes of sedimenten, dan worden ze mogelijk ook ten dele verwijderd in de snelfilters van de zuiveringsinstallatie. Blijkt echter dat virussen hechten, maar voornamelijk aan kleine deeltjes (bijvoorbeeld kleiner dan 10µm), dan kunnen de virussen met de deeltjes gemakkelijk de snelfilters passeren. Snelfilters kunnen ook een plaats zijn waar juist deeltjes-associatie van virussen ontstaat doordat tijdens de filtratie de virussen aan deeltjes hechten. Bij doorslag van deeltjes door het filter, zoals vlak voor spoelen kan plaatsvinden, "produceert" het snelfilter dan deeltjes waaraan virussen gehecht kunnen zitten. Coagulatieprocessen zijn ontworpen om colloïden te vangen in vlokken die kunnen worden verwijderd. Bij vorming van kleine vlokken die de vlokverwijdering kunnen passeren zou ook "productie" van deeltjes met virussen kunnen optreden. Het is dan ook belangrijk om te bepalen of deeltjes waaraan de virussen zijn gehecht de virussen ook een bepaalde mate van bescherming kunnen bieden tegen de UV straling. Virussen gebonden aan de buitenkant van deeltjes kunnen zich aan de schaduwkant van het deeltje bevinden, en zo de UV-bron passeren, al zal de kans dat een virus zich permanent aan de schaduwkant van een deeltje bevindt vermoedelijk niet zo groot zijn door de beweging van het water en het ontwerp van UV reactoren met meerdere lampen. Virussen kunnen zich ook bevinden in aggregaten bestaande uit veel verschillende deeltjes. In dat geval zijn ze vermoedelijk veel beter beschermd tegen UV straling, en is de kans dat ze blootstaan aan directe UV-straling erg klein. Ze zullen in dat geval de UV-installatie onbeschadigd passeren en de aanwezigheid van deze deeltjes zal een negatief effect hebben op de desinfectie van virussen door UV. Virussen aan deeltjes blijven daardoor infectieus.

Gegevens over hoe de verschillende humaan pathogene virussen kunnen voorkomen in oppervlaktewater zijn zeer beperkt. Een recente studie van KWR, waarin de verwijdering van bacteriofagen en adenovirussen is bepaald door coagulatie/sedimentatie en snelle zandfiltratie werd bepaald, laat zien dat adenovirussen in het oppervlaktewater vermoedelijk voor een deel zijn gebonden aan deeltjes (Italiaander, 2013). Voor de bacteriofagen werd dit in veel mindere mate waargenomen. Het lijkt er dus op dat adenovirussen op een andere wijze voorkomen in het water dan de F-specifieke en

somatische colifagen. De adenovirussen die in het ruwe water waren gehecht aan deeltjes, werden in de coagulatie/sedimentatie en snelle zandfiltratie wel beter verwijderd dan de niet aan deeltjes gehechte adenovirussen en bacteriofagen.

Omdat het van de meerderheid van de humaan pathogene virussen niet bekend is of ze bij voorkeur voorkomen gehecht aan deeltjes, in aggregaten of juist als losse virusdeeltjes, is het effect van de zuiveringsstappen op ziekteverwekkende virussen op het moment niet bekend, en wordt geschat op basis van de verwijdering van indicatorbacteriofagen. De bovenstaande studie laat zien dat dat momenteel de beste benadering is, maar niet altijd volledige en juiste informatie zal opleveren.

3.2 Het effect van deeltjes op de inactivatie van virussen met UV.

Het effect van deeltjes op de inactivatie van virussen is op verschillende manieren bestudeerd. In een aantal studies worden deeltjes toegevoegd aan een bacteriofagen suspensie, zonder dat vervolgens aggregatie of coagulatie wordt toegepast. Er zijn ook studies beschreven waar de bacteriofagen voorafgaand aan de UV desinfectie door coagulatie deel gaan uitmaken van de gevormde aggregaten. De bacteriofagen na coagulatie worden vervolgens blootgesteld aan UV straling. Beide situaties worden in verschillende subhoofdstukken beschreven.

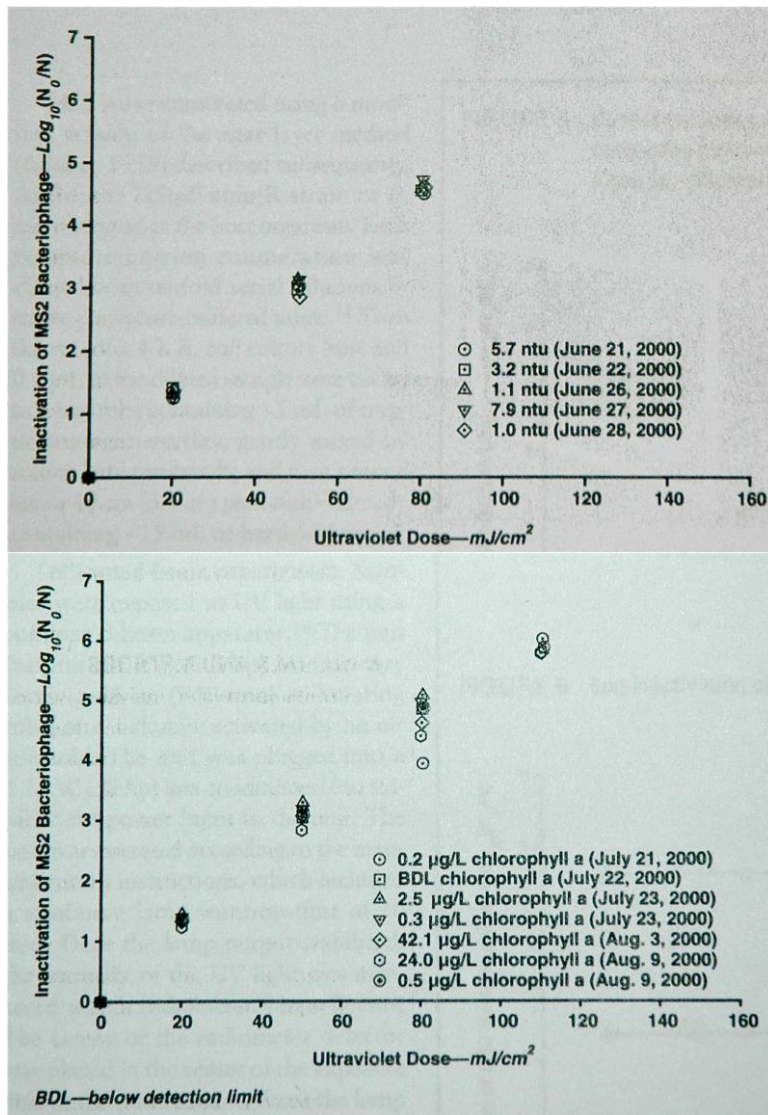
3.2.1 Het effect van deeltjes in het water op de desinfectie door UV, waarbij de deeltjes niet zijn gebonden aan de virussen.

In een studie is het effect van deeltjes op de transmissie van UV onderzocht (Christensen 2003) door middel van variatie van de troebelheid. Deze studie is uitgevoerd om te bepalen of een incidentele toename van de troebelheid in het water een groot effect zou hebben op de UV desinfectie. De studie liet zien dat een toename in de troebelheid van 0 tot 10 ntu resulteerde in een afname van de UV dosis van 25 to 35%. Toen voor de toegenomen troebelheid werd gecorrigeerd, was de afname van de UV dosis nog maar 1 tot 9%. Hierbij lieten kleinere deeltjes (kleiner dan 11µm) een grotere afname zien, dan deeltjes met een grootte van 40µm. Hieruit kan worden geconcludeerd dat indien wordt gecorrigeerd voor de toename van de troebelheid, door het aanpassen van de UV-intensiteit, de toename van de troebelheid tot 10 ntu geen groot effect heeft op de effectiviteit van UV.

Met deze informatie zijn meerdere studies uitgevoerd waarin is bestudeerd of het toevoegen van deeltjes een effect liet zien op de UV desinfectie van virussen. In bijna alle studies is hiervoor MS2 gekozen als modelorganisme. De deeltjes die worden toegevoegd zijn kleideeltjes (als model voor anorganische deeltjes) of algen, maar ook troebelheid veroorzaakt door van nature voorkomende deeltjes wordt onderzocht.

In een collimated beam opstelling zijn de toevoegingen van montmorilloniet klei op de inactivatie van MS2 onderzocht. Tijdens deze experimenten waren de kleideeltjes en MS2 als losse deeltjes aanwezig in een bufferoplossing. Uit Figuur 1 blijkt dat het toevoegen van kleideeltjes tot een troebelheid van 7,9 ntu geen effect heeft op de inactivatie van MS2 door UV.

Voor het toevoegen van algen wordt hetzelfde resultaat gevonden (Fig. 1). Ook hier laat het toevoegen van algen (gemeten door het chlorophylgehalte van het water te meten) tot een concentratie van 42.1 µg/L (~42.000 cellen/ml) geen effect zien op de inactivatie van MS2 (Passantino et al, 2004).



Figuur 1. Het effect van verschillende hoeveelheden montmorilloniet klei (gemeten in troebelheid) (bovenste grafiek), en verschillende aantallen algen (onderste grafiek) op de inactivatie van MS2 door LP-UV (Uit Passantino et al, 2004)

Deze experimenten laten zien dat alleen de aanwezigheid van deeltjes, bij de geteste troebelheden, niet voldoende is om de UV desinfectie negatief te beïnvloeden, zolang wordt gecorrigeerd voor de UV transmissie van het water met klei of algen.

De experimenten werden herhaald in praktijkwater afkomstig van verschillende waterbedrijven. De resultaten bevestigden het beeld van de experimenten gedaan in een bufferoplossing. Het toevoegen van montmorilloniet klei deeltjes en algen liet geen negatief effect zien op de effectiviteit van UV desinfectie. In een aantal monsters van drinkwaterbedrijven werd overigens wel een verminderde inactivatie van MS2 waargenomen ten opzichte van de inactivatie in een buffer oplossing. Een mogelijke oorzaak hiervoor zijn in het natuurlijke water aanwezige componenten, die een beschermend effect kunnen hebben op MS2. Hierbij werd de aanwezigheid van natuurlijke organische stof en metaalionen genoemd als mogelijke componenten (Passantino, 2004).

Het feit dat montmorilloniet klei en algen geen effect lieten zien, wordt door de auteurs verklaard door de relatief lage concentratie deeltjes. In de gebruikte concentraties is het aantal deeltjes te gering om MS2 door middel van shielding te kunnen beschermen. Omdat het niet waarschijnlijk is dat MS2 onder de geteste condities aan de deeltjes is gaan hechten, zijn MS2 bacteriofagen als losse deeltjes aanwezig. Omdat het aantal deeltjes te laag is voor shielding, wordt MS2 net zo snel geïnactiveerd als bij de

experimenten waar geen deeltjes zijn toegevoegd. Wel blijkt dat natuurlijk water componenten bevat die wel een bescherming van MS2 kunnen bewerkstelligen.

Omdat het niet de verwachting is dat het water tijdens passage van de UV installatie een troebelheid heeft die hoger is dan de onderzochte waarde in deze studie, is de verwachting dat losse deeltjes tijdens de UV desinfectie geen rol van betekenis spelen.

Bijna gelijktijdig met de bovenstaande studie werd een studie gepubliceerd waarin water kwaliteitsparameters in relatie met UV werden onderzocht (Batch et al, 2004). Ook hier was het modelorganisme MS2. Deze studie evalueerde het effect van troebelheid, aantal deeltjes, grootte van de deeltjes en absorptie van het water op de inactivatie van MS2 door LP en MP UV. De experimenten werden uitgevoerd in water afkomstig van 17 drinkwaterbedrijven. De parameters troebelheid, en aantallen deeltjes en grootte van de deeltjes hadden geen effect op de inactivatie van MS2. Absorptie van het water had wel een effect, maar als de afname van de UV dosis als gevolg van de absorptie van het water werd gebruikt om de UV dosis te corrigeren, dan had ook deze factor geen negatief effect op de inactivatie van MS2. In deze studie werd ook de inactivatie van MS2 door LP UV vergeleken met MP UV. Hieruit bleek dat de inactivatie van MP UV groter was bij een vergelijkbare UV dosis. Dit is ook waargenomen bij andere studies waar LP UV en MP UV zijn vergeleken. Hiervoor werden twee verklaringen gegeven. Het is mogelijk dat MP-UV daadwerkelijk effectiever is, het is echter ook mogelijk dat de omrekeningsfactor van het emissiespectrum van een MP UV lamp naar de UV dosis niet correct is.

De studies van Passantino en Batch laten zien dat de parameters troebelheid, aantallen en grootte van deeltjes en de absorptie van het water binnen voor drinkwaterdesinfectie relevante troebelheidswaarden geen invloed heeft op de desinfectie van MS2 door UV. De ervaring leert dat in de meeste waterbehandelingsstrategieën deeltjes in de eerste fase van het proces, tijdens coagulatie/sedimentatie en snelfiltratie worden verwijderd. Alleen kleinere deeltjes (< 10 µM) kunnen soms deze behandelingsstappen passeren.

Tijdens bepaalde processen, zoals filterreiniging, is het wellicht mogelijk dat tijdens een kortdurende periode de hoeveelheid deeltjes in het water of de troebelheid van het water hoger is. Het is echter de verwachting ook onder deze condities de troebelheid van het water niet meer zal bedragen dan 10 ntu. Dit houdt in dat het aantal deeltjes in het water dat langs de UV installatie stroomt dermate laag is, dat daar geen negatief effect van is te verwachten op de desinfectie van losse virusdeeltjes. Gelijke resultaten zijn ook beschreven voor studies met andere micro-organismen. Ook daar werd geen effect gevonden van losse deeltjes op de inactivatie (Kollu, 2012)

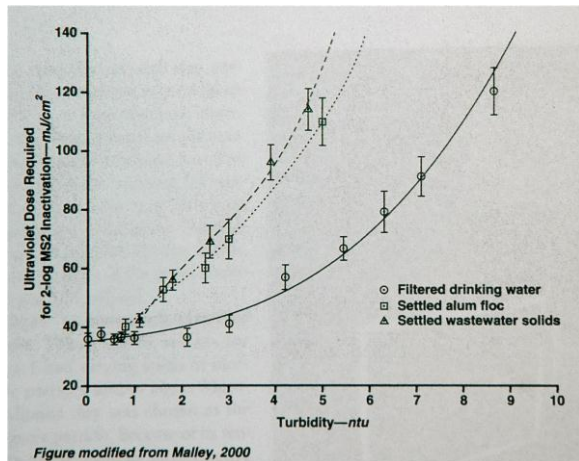
Concluderend hieruit kan daarom worden gesteld dat binnen voor drinkwater relevante waarden losse deeltjes in water geen negatief effect hebben op de effectiviteit van UV desinfectie.

3.2.2 Het effect van door coagulatie ontstane deeltjes op de desinfectie van virussen door UV.

In de voorgaande paragraaf werden situaties beschreven waar deeltjes en bacteriofagen worden samengebracht in het water zonder dat aggregatie of hechting wordt gestimuleerd. Het merendeel van de virussen zal dan vrij in het water aanwezig zijn, en de voorgaande studies laten zien dat ze onder die condities gemakkelijk worden geïnactiveerd door UV.

Het is echter de vraag of virussen in oppervlaktewater ook als vrije virussen voorkomen, of dat deze zijn gehecht aan deeltjes. Daarnaast heeft mogelijk ook de gebruikelijke coagulatie/sedimentatie stap in de zuivering een effect op de hechting van virussen aan deeltjes. Deze effecten zijn in een aantal studies onderzocht en worden hieronder verder beschreven.

In de eerder beschreven studie van Passantino (2004) wordt een figuur getoond, waarin MS2 deeltjes zijn gaan coaguleren met aluminium deeltjes of afvalwater deeltjes (Fig. 2). Hieruit blijkt dat voor MS2 inactivatie na coagulatie (door middel van aluminium vlokken of afvalwaterdeeltjes) een hogere UV dosis nodig is dan in water waarin geen coagulatie heeft plaatsgevonden. Hieruit wordt geconcludeerd dat biologische deeltjes of amorfe chemische deeltjes (aluminium of ijzer) na coagulatie MS2 kunnen beschermen tegen UV (Passantino et al, 2004).



Figuur 2. Het effect van verschillende deeltjes op 2 log inactivatie van MS2 door UV (uit Passantino et al, 2004)

Omdat er sterke aanwijzingen zijn dat virussen in het water vaak gebonden zullen zijn aan deeltjes of voorkomen in aggregaten of sedimenten, is het daarom voor de praktijksituaties relevanter om de virusinactivatie te bepalen van virussen die gebonden zijn aan deeltjes of die worden beschermd door vlokken die tijdens de coagulatie zijn ontstaan. Hoewel het erg lastig is om het binden van virussen aan deeltjes uit de praktijksituatie na te bootsten onder laboratoriumcondities, is dit wel in een aantal studies beschreven. Deze studies leveren informatie op over of een gehecht virus inderdaad een bepaalde mate van bescherming kan verkrijgen door hechting aan diverse soorten deeltjes.

Een studie uit 2005 neemt het coagulatieproces als uitgangspunt voor de vorming van deeltjes met daaraan bacteriofagen gehecht (Templeton et al, 2005). Het doel was om te bepalen of deeltjes met een diameter < 10 µm in staat waren om UV desinfectie van virussen te beïnvloeden. In deze studie werden de experimenten uitgevoerd met bacteriofagen MS2 en T4. De reden voor deze keuze is een eerdere classificatie van virussen aan bodemdeeltjes, waarbij de virussen op basis van hun adsorptiegedrag aan verschillende soorten bodem zijn ingedeeld in drie groepen. De meeste virussen werden ingedeeld in groep 1 en groep 2. Het adsorptiegedrag van de virussen in groep 1 werd beïnvloedt door bodemparameters zoals pH, organische stof en de hoeveelheid ijzer, terwijl voor de virussen in groep 2 geen relatie kon worden gelegd tussen bodemparameters en het adsorptiegedrag. Bacteriofaag MS2 behoort tot groep 1, en bacteriofaag T4 behoort tot groep 2.

Tabel 1. De indeling van virussen op basis van hun adsorptiegedrag aan de bodem (Uit Gerba, 2004)

TABLE II

VIRUS GROUPING BY ADSORPTIVE BEHAVIOR TO SOIL^a

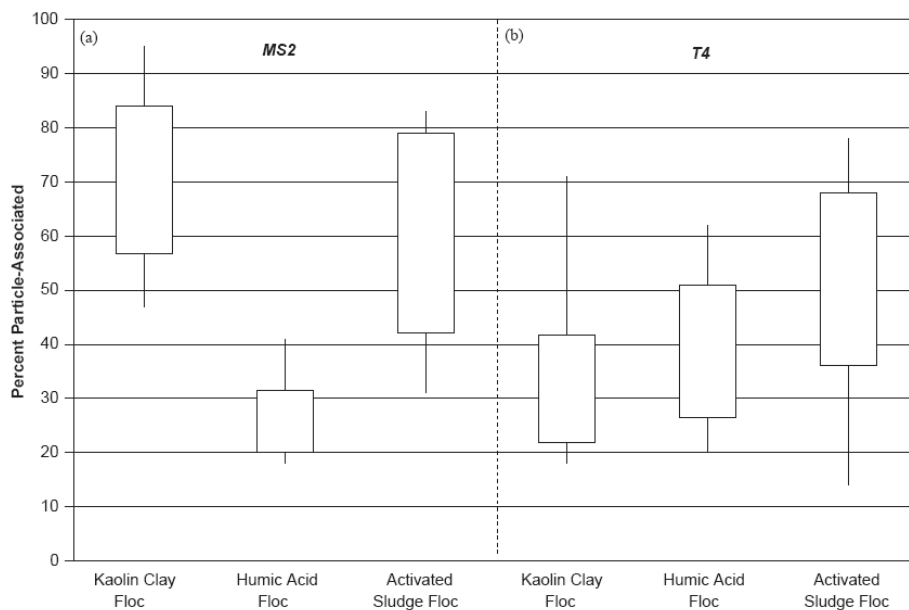
Group 1	Group 2	Group 3
Coxsackie B4 (V216) ^b	Polio (LSc)	f2
Coxsackie B4 (V240)	Echo 7 (Wallace)	
Echo 1 (Farouk)	Coxsackie B3 (Nancy)	
Echo 1 (V212)	T4	
Echo 1 (V-39)	T2	
Echo 1 (V248)		
φX-174		
MS-2		

^a From Gerba *et al.* (1980).

^b Codes in parentheses refer to virus strain.

Bacteriofagen MS2 en T4 werden gecoaguleerd in de aanwezigheid van deeltjes zoals kaolin klei (grootte 1,5 µm), humuszuurdeeltjes (1,9 µm) en afvalwaterdeeltjes (actief slib) 4,7 tot 9,4 µm). Als coagulatiemiddelen werd gebruik gemaakt van aluminium en ijzer. Vervolgens werden de watermonsters blootgesteld aan LP-UV in een collimated beam experiment. Twee verschillende doses werden gebruikt en bedroegen 40 en 80 mJ/cm² voor MS2, en omdat T4 veel gevoeliger is voor UV, aan 2 en 7 mJ/cm voor T4.

Met transmissie electronen microscopie (TEM) werd eerst bepaald of de bacteriofagen inderdaad bonden aan de deeltjes, en uit foto's blijkt dat de bacteriofagen worden gebonden aan de klei en humuszuur deeltjes.



Figuur 3. Het percentage van de totale MS2 populatie (a) en de totale T4 populatie (b) die was gebonden aan de deeltjes. Het gebruikte coagulant (aluminium of ijzer) had geen invloed op het percentage gebonden bacteriofagen, en gaf identieke resultaten.

Vervolgens werd bepaald hoe groot de aan de deeltjes gehechte populatie was. In Fig 3 is de populatie weergegeven die aan deeltjes is gehecht. Uit deze figuur blijkt dat hechtingseigenschappen van de bacteriofagen verschillen voor de verschillende soorten deeltjes. MS2 hecht goed aan klei, terwijl T4 daar minder goed aan hecht. Beide bacteriofagen hechten relatief goed aan actief slib. De bacteriofagen hebben dus verschillende hechtingseigenschappen.

Vervolgens werden de bacteriofagen blootgesteld aan UV. Blootstelling van de bacteriofagen in combinatie met de kleideeltjes liet zien dat de inactivatie met kleideeltjes gelijk was aan de inactivatie van de bacteriofagen zonder kleideeltjes. Ondanks dat bacteriofagen gebonden zijn aan de kleideeltjes (voor MS2 het grootste deel van de populatie, voor T4 minder dan 50% van de populatie) worden ze toch in gelijke mate geïnactiveerd als de niet gebonden bacteriofagen. De kleideeltjes boden dus, ondanks hechting, geen bescherming tegen UV.

Blootstelling van de bacteriofagen aan UV in combinatie met humuszuurdeeltjes liet wel een duidelijk effect zien. In het monster met humusdeeltjes werd bij de lagere UV doses (40 mJ/cm² voor MS2 en 2 mJ/cm² voor T4) ongeveer 1 log minder inactivatie waargenomen, en voor de hogere doses (80 mJ/cm² voor MS2 en 7 mJ/cm² voor T4) 2 tot 2.5 logeenheden. Opvallend hierbij is dat experimenten waar alleen humusdeeltjes en geen coagulatie middelen werden toegevoegd, ook bescherming boden tegen UV. Hier werd uiteraard geen vlokvorming waargenomen. Omdat de bestralingstijd van UV gecorrigeerd werd voor de toegenomen absorptie van het water, was dit ook niet de reden van de toegenomen bescherming. De auteurs suggereren dat de bescherming door humuszuurdeeltjes niet door de vorming van aggregaten plaatsvindt, maar dat humuszuurdeeltjes een coating kunnen vormen om het virusdeeltje.

Een experiment waarbij de bacteriofagenoplossing met humusdeeltjes vooraf aan de UV behandeling werd gefiltreerd over een 0,45 µm filter, liet zien dat filtratie geen invloed had op de inactivatie van de bacteriofagen. Dit betekent dat de humuszuurdeeltjes die verantwoordelijk zijn voor het beschermende effect kleiner zijn dan 0,45 µm.

Blootstelling van bacteriofagen in combinatie met actief slib deeltjes lieten zien dat ook deze deeltjes een beschermend effect lieten zien, maar veel minder dan de humuszuur deeltjes. Het effect was het duidelijkst te zien bij de hogere UV doses (80 mJ/cm² voor MS2 en 7 mJ/cm² voor T4).

De belangrijkste conclusie uit deze studie is dat het type deeltje de grootste invloed heeft op de bescherming van virussen. Virussen gehecht aan kleideeltjes ondervinden tijdens een UV behandeling geen bescherming. Humuszuurdeeltjes kunnen wel bescherming bieden, en ook actief slib biedt in een beperkte mate bescherming tegen UV.

Het effect van humuszuurdeeltjes op de inactivatie van virussen door UV

Een vervolgstudie gaat verder in op de hypothese dat humuszuur deeltjes MS2 en T4 beschermen tegen UV door het vormen van een coating om de bacteriofaag (Templeton et al, 2006). In deze studie worden meerdere concentraties van humuszuurdeeltjes gebruikt om het effect op inactivatie van MS2 en T4 te onderzoeken. Er wordt geen coagulatie toegepast. 50 mg/L humuszuurdeeltjes laat bescherming zien tegen UV van T4, maar niet van MS2, wat kan betekenen dat een eventuele coating afhankelijk is van eigenschappen van het virus. Een hogere concentratie van 150 mg/L humuszuurdeeltjes beschermt, net zoals in de eerdere studie, zowel T4 als MS2.

Tijdens alle experimenten wordt de UV dosis proportioneel gecorrigeerd voor de toegenomen absorptie van water met humuszuurdeeltjes, waardoor kan worden uitgesloten dat de afgenomen inactivatie het gevolg is van de toegenomen UV absorptie van het water.

Om de hypothese van een humuszuur coating rondom de bacteriofagen verder te onderzoeken, werd geprobeerd om bacteriofagen na blootstelling aan de verschillende concentraties humuszuren te precipiteren met behulp van ultracentrifugatie. Het idee was dat indien de bacteriofagen worden gecoat, en vervolgens worden geprecipiteerd door middel van ultracentrifugatie, de UV absorptie van de gepelleteerde bacteriofagen bij coating hoger zal zijn dan indien de bacteriofagen niet worden gecoat. Door de geprecipiteerde bacteriofagen te resuspenden, en vervolgens de absorptie te meten, kon een beeld worden verkregen van de hoeveelheid humuszuren die aan de bacteriofagen zijn gehecht. Alleen bij de concentratie van 10 mg/L humuszuren bleek de UV absorptie van het pellet van bacteriofagen die blootgesteld waren aan humuszuren hoger te zijn dan het pellet van bacteriofagen die niet aan humuszuren waren blootgesteld. Bij deze lage concentratie wordt echter nog geen beschermend effect geobserveerd van humuszuren tegen UV. Opvallend genoeg werd bij resuspensie van het pellet bij een concentratie van 50 en 150 mg/L humuszuurdeeltjes geen verschil waargenomen in absorptie in de monsters met en zonder bacteriofagen. Dit niet consistente resultaat wordt door de auteurs verklaard door de aanwezigheid van niet opgeloste humuszuurdeeltjes in de oplossing, die bij de hogere concentraties van 50 en 150 mg/L door ultracentrifugatie ook in het pellet terecht komen. De bepaling zonder bacteriofagen geeft daardoor een hoge achtergrondwaarde, en de daadwerkelijk hechting van humuszuren aan bacteriofagen kan daardoor niet worden vastgesteld.

De hypothese dat humuszuren door middel van coating virussen kunnen beschermen, kan daarom nog niet worden bevestigd.

De belangrijkste conclusies uit deze studie waren:

Coating van virussen door opgeloste humuszuurdeeltjes heeft mogelijk een beschermend effect op de bacteriofagen MS2 en T4 tegen UV. De resultaten van deze studie zijn echter niet eenduidig. Coating wordt aangetoond na blootstelling aan concentraties humuszuren tot 10 mg/L, maar bij deze concentratie zijn humuszuren nog niet in staat bescherming te bieden tegen UV. TEM foto's van de eerdere studie (Templeton, 2005) laten wel zien dat bacteriofagen binden aan humuszuurdeeltjes. De resultaten van deze studie worden wel ondersteund door eerdere publicaties. Het is beschreven dat een laagje organische extracellulaire polymeren van 1 µm 44% van het UV licht kan absorberen (Scott et al 2005). Het lijkt dus wel waarschijnlijk dat een zeer dunne coating van organische moleculen een significant reductie in inactivatie van virussen door UV kunnen veroorzaken.

Het effect van ijzer op de inactivatie van MS2 en T4 door UV.

Ook het effect van ijzerdeeltjes op de inactivatie van MS2 en T4 is onderzocht (Templeton 2006). Bacteriofagen MS2 en T4 werden toegevoegd aan anoxisch water, waarna door blootstelling aan lucht (zuurstof) het ijzer is gaan uitvlokken. Er werd waargenomen dat een groter deel van de T4 populatie werd geassocieerd met de ijzerdeeltjes dan de MS2 populatie. Zoals al eerder is geobserveerd verschillen de (oppervlakte?)-eigenschappen van MS2 en T4, en reageren ze anders met ijzer in het water. Na het uitvlokken zijn de bacteriofagen met ijzerdeeltjes blootgesteld aan LP-UV. Een controle hierbij was een watermonster waaraan EDTA is toegevoegd, en waarin geen vlokvorming optrad. De resultaten na de UV behandeling laten zien dat de inactivatie van bacteriofagen in water met ijzervlokken minder goed verliep dan in water waarin geen ijzervlokken zijn gevormd. IJzervlokken zijn dus in staat om MS2 en T4 te beschermen tegen UV. Opvallend is dat dit shielding effect al optreedt bij relatief lage troebelheid van 2,7 ntu.

Kaolin klei, ook een anorganisch deeltje, liet tot een turbiditeit van 70-100 ntu geen beschermend effect zien. Dit wordt mogelijk veroorzaakt doordat ijzer wel UV straling kan absorberen, maar kaolin klei deeltjes niet. Het materiaal waarmee het virus is geaggregeerd is van dus belang voor de mate van bescherming, waarbij deeltjes die zelf UV absorberen een groter beschermend effect lijken hebben dan deeltjes die geen UV absorberen. Overigens kan het ook niet worden uitgesloten dat bacteriofagen aggregaten van ijzerdeeltjes een andere structurele opbouw hebben dan kleideeltjes, en daardoor een betere bescherming bieden tegen UV. Overigens wordt een troebelheid van 2,7 ntu normaalgesproken niet waargenomen voor ingaand water van een UV installatie.

3.2.3 Verwijdering van aan deeltjes gehechte bacteriofagen door pre-UV waterbehandelingsstappen en de impact daarvan op UV desinfectie.

In twee studies is het effect bepaald van pre-UV waterbehandelingsprocessen op de UV desinfectie. De eerste studie is uitgevoerd met een proefopstelling waarin bacteriofaag MS2 en T4 met kaolin klei of humuszuurdeeltjes werden gecoaguleerd door toevoeging van aluminium (Templeton, 2007). De oplossing werd na coagulatie over een filterkolom geleid, waarna het effluent van de filterkolom werd onderworpen aan UV. Om het filter te beoordelen op zijn werking werd de troebelheid gemeten tijdens rijping, stabiele operatie, en tijdens het eind van een filter cyclus.

Uit de resultaten bleek dat de filtratiestap gemiddeld 2 en 4 log verwijdering van MS2 en T4 wist te behalen, waarbij de verwijdering tijdens stabiele operatie van het filter iets beter leek te verlopen. De populatie gebonden virussen in het filter effluent was lager dan in het filter influent. Dit betekent dat niet gebonden bacteriofagen gemakkelijker het filter kunnen passeren, terwijl aan deeltjes gehechte virussen beter worden verwijderd in de filtratiestap. Aan het eind van de filtercyclus neemt het percentage deeltjes gebonden virussen toe in het filtereffluent toe, en de verwijdering door filtratie neemt af, wat een indicatie kan zijn dat aan deeltjes gebonden virussen, die eerder in het filter achterbleven tijdens deze "off-spec periode" loskomen uit het filter. Dit was vooral duidelijk voor MS2 in combinatie met humuszuurdeeltjes. Voor MS2 met kaolin klei, en T4 met kaolin klei en humuszuurdeeltjes was dit effect minder duidelijk te zien.

Blootstelling van de bacteriofagen in het filter effluent liet zien dat effluent met kaolin klei resulteerde in een volledige inactivatie van MS2 en T4. Deze deeltjes beïnvloeden de UV desinfectie niet negatief. Humuszuurdeeltjes lieten een verminderde inactivatie zien van ongeveer 0,5 tot 1 log, en zorgden dus wel voor een bepaalde mate van bescherming. Dit effect was het duidelijkst zichtbaar bij filtercondities aan het eind van de cyclus. Onder deze condities kunnen MS2/humuszuurdeeltjes het filter het gemakkelijkst passeren, en zorgen humuszuren vervolgens voor een bepaalde mate van bescherming tegen UV (Templeton et al, 2007).

In een tweede, zeer recente studie is wederom het effect van pre UV zuiveringsstappen bepaald op de desinfectie van virussen door UV (Guo, 2012). In deze studie werd in een bufferoplossing MS2 met aluminium gecoaguleerd. Vervolgens werd na coagulatie de verwijdering bepaald van MS2 door passage over een microfiltratie (MF) of een ultrafiltratie (UF) membraan. Daarna werd het eluaat blootgesteld aan UV. De poriëgrootte van de MF membranen was 0,2 µm en ongeveer 10 keer groter dan de poriëgrootte van de UF membranen. Ook door poriën van deze UF membraan kunnen virussen nog passeren.

Met het toenemen van de dosis aluminium coagulant werd door het MF membraan meer MS2 tegengehouden. Het toenemen van de filtertijd liet zien dat daarmee nog meer MS2 door het filter werd tegengehouden, waarschijnlijk door het ontstaan van een extra filterende laag "cake layer" op het membraan. Coagulatie heeft dus een positief effect op de verwijdering van virussen door MF. In deze studie wordt ook inactivatie waargenomen door van MS2 door de aluminium vlokken. De inactivatie is sterker bij pH 6 dan bij pH 8. De blootstelling aan Al inactieveert MS2 (permanent). Coagulatie in combinatie UF membraan filtratie resulteerde in 6.7 tot 7.7 log verwijdering van MS2. De coagulatie verliep beter bij een hoge concentratie Al^{3+} (1 versus 5 mg/L) en bij pH 6 dan bij pH 8.

Vervolgens werden MS2 bacteriofagen na coagulatie en MF en UF filtratie blootgesteld aan LP UV. Het resultaat van de UV desinfectie liet zien dat de inactivatiesnelheid van MS2 na passage over het MF membraan was gerelateerd aan de Al^{3+} concentraties tijdens coagulatie. De inactivatiesnelheid van MS2 tijdens de UV behandeling was hoogst voor MS2 die was gecoaguleerd met de hoogste Al^{3+} concentratie, in een concentratiereeks van 0 tot 5.0 mg/L Al^{3+} . Dit is niet in lijn met de eerdere waarneming, waar virussen coaguleren met ijzerdeeltjes (Templeton 2006). Daar werd juist waargenomen dat ijzerdeeltjes virussen kunnen afschermen tegen UV-straling. De toenemende inactivatie door een hogere Al^{3+} concentratie wordt verklaard door de combinatie van het virusinactiverende effect van Al^{3+} in combinatie met de UV. De vorming van Al^{3+} vlokken lijkt dus door hun antivirale werking een positief effect te hebben op de verwijdering van virussen.

Bij coagulatie gevolgd door passage over een UF membraan werd, (net zoals bij het MF membraan) een toenemende inactivatiesnelheid waargenomen tot 2 mg/L Al^{3+} , daarna nam de inactivatiesnelheid weer af. Dit werd verklaard doordat bij Al^{3+} hoger dan 2mg/L de poriën van het UF membraan grotendeels werden geblokkeerd door de door coagulatie geïnduceerde vlokken. Aan deeltjes gebonden virussen konden het membraan niet meer passeren. Niet gebonden virussen, konden echter nog wel door de poriën van het UF membraan. De inactivatie van deze (vrije) virussen leek dus ook op de inactivatie van virussen zonder coagulatie, en het additionele inactiverende effect van Al^{3+} werd hier niet waargenomen.

Om het effect van troebelheid en coagulatie te bepalen op de werking van UV werden batch experimenten uitgevoerd, waarbij een troebelheid van 0, 1 en 5 ntu werd bereikt door de toevoeging van formazine deeltjes met een grootte van 1 tot 5 μm . De concentratie coagulant die werd gebruikt was 1 en 5 mg/L Al^{3+} . Het toevoegen van formazine deeltjes tot een troebelheid van 1 ntu liet zien dat deze verhoging niet van invloed was op de inactivatie van MS2. Verhoging van de troebelheid tot 5 ntu verminderde de inactivatie van MS2 door UV wel. Zo nam de K-waarde door de toevoeging van formazine tot een troebelheid van 5 NTU af van 0,0508 cm^2/mJ tot 0,0489 voor de monsters waar 1 mg/L Al^{3+} was toegevoegd en nam af van 0.0636 tot 0,0589 cm^2/mJ voor de monsters waar 5 mg/L Al^{3+} was toegevoegd. Het verhogen van de troebelheid door het toevoegen van formazine deeltjes heeft in deze studie wel een negatief effect op de inactivatie van MS2 door UV.

4 Discussie

Om oppervlaktewater geschikt te maken als drinkwater is het noodzakelijk om het aantal ziekteverwekkende virussen te verminderen om te kunnen voldoen aan het in het drinkwaterbesluit genoemde infectierisico van 1 per 10000 mensen per jaar als gevolg van het drinken van leiding water. Desinfectie speelt daarbij een essentiële rol, en een deel van de oppervlaktewaterpompstations past UV toe als desinfectiestap. In het algemeen lijken UV installaties effectief en op robuuste wijze micro-organismen te inactiveren. De daadwerkelijke inactivatie van ziekteverwekkende virussen kan, vanwege de lage aantallen van deze virussen in oppervlaktewater, niet worden gemeten. Studies met indicatororganismen zoals zoals F-specifieke of somatische colifagen lijken echter aan te geven dat de desinfectiestap met UV resulteert in voldoende inactivatie van virussen.

Het effect van deeltjes op het desinfectieresultaat van UV is echter niet geheel duidelijk. Dit aspect is in een aantal studies onderzocht. Het bij elkaar brengen van de resultaten van deze studies geeft nieuwe informatie over het effect van deeltjes door UV, maar laat tegelijk zien dat er ook informatie ontbreekt.

Het grootste beschermende effect werd waargenomen voor humuszuren. In deze studies waarin dit effect werd gerapporteerd, werd aanbevolen om het effect van meer in het water voorkomende organische stoffen te bestuderen in relatie met bescherming van het virus tegen UV. In deze studies werd niet helemaal duidelijk hoe de humuszuurdeeltjes de virussen kunnen beschermen. Het bleken geen grote deeltjes te zijn, omdat filtratie over een 0.45 µm filter de bescherming van de deeltjes niet wegnam. Daarom werd gesuggereerd virussen wellicht niet aan grote deeltjes worden gebonden, maar kunnen worden gecoat door humuszuren (of andere mogelijk organische stoffen) die UV straling kunnen absorberen. De omvang van een virusdeeltje met een coating neemt nauwelijks toe, en zal dus ook de zandfilters kunnen passeren. Vervolgens zorgt de coating, bestaande uit organische stoffen, ijzerdeeltjes of mogelijke andere nog onbekende verbindingen voor een additioneel beschermend effect tijdens de passage door de UV installatie. Dat deze verbindingen in het water aanwezig zijn, en ook daadwerkelijk een beschermende werking hebben, laten de resultaten zien van Passantino (2004), waar het toevoegen van MS2 aan praktijkwater liet zien dat dit resulteerde in een weliswaar kleine, maar duidelijk toegenomen bescherming van MS2 tegen UV.

Potentieel de gevaarlijkste virussen met betrekking tot het passeren van de UV installatie zijn daarom ziekteverwekkende virussen die door hun oppervlakte-eigenschappen in staat zijn organische en ijzermoleculen te binden, en daarmee een UV werende coating kunnen samenstellen. Als de virussen verder niet hechten aan deeltjes, dan blijven ze klein genoeg om na coagulatie/sedimentatie het zandfilter te kunnen passeren. Bij passage van de UV bron is dan, door het beschermende effect van de coating een hogere dosis dan verwacht noodzakelijk om de virussen naar verwachting te kunnen inactiveren.

Het adenovirus is tot op heden het meest resistent tegen UV. Ook laat de studie van Italiaander (2013) zien dat een deel van de adenovirussen in het oppervlaktewater de coagulatie/sedimentatie en snelle zandfiltratie kan passeren. Het is niet bekend of dit virus ook in staat is om UV absorberende stoffen te binden. Mocht dat het geval zijn, dan is dat een ander mechanisme waarmee adenovirussen de UV straling kunnen overleven.

Uit verschillende studies blijkt verder dat losse (inerte) deeltjes bij voor drinkwater relevante troebelheden, geen enkel negatief effect lijken te hebben op de inactivatie van virussen. Losse deeltjes in lage concentraties zijn dus geen probleem en belemmeren de werking van de UV installatie niet. De studie van Guo liet bij troebelheden van 5 ntu, veroorzaakt door formazine deeltjes wel een verminderde werking zien van UV (Guo, 2012). Bij de meeste andere studies werd pas een effect waargenomen na 10 ntu. Het is niet duidelijk of in de studie van Guo is gecorrigeerd voor de afgenomen transmissie als gevolg van het toevoegen van formazine. Indien dat niet het geval is, dan zal een hogere troebelheid inderdaad een verminderde werking laten zien. Mocht er wel gecorrigeerd zijn, dan lijkt hier bij deze troebelheid toch shielding van MS2 op te treden.

Uit een aantal studies blijkt dat het resultaat van de UV desinfectie wordt beïnvloed door processen voorafgaand aan de UV installatie, zoals coagulatie/sedimentatie en snelfiltratie, maar ook door MF en UF membranen. Coagulatie/sedimentatie gevolgd door snelfiltratie of door MF of UF laat in geval van MS2 zien dat deze stappen in de zuivering al het aantal MS2 significant kan verminderen, doordat de grotere deeltjes in het snelfilter of het membraan achterblijven. Het is echter niet bekend of ziekteverwekkende virussen zich net zoals MS2 gedragen, en in dezelfde mate worden verwijderd door deze processen.

Een andere belangrijke kennislacune is dat het van geen van de bekende ziekteverwekkende virussen bekend is hoe deze voorkomen in het oppervlaktewater. Algemeen wordt aangenomen dat deze virussen in gebonden vorm (aan deeltjes/sediment etc.) voorkomen in het oppervlaktewater. Hier is echter geen informatie over. Mocht deze hypothese waar zijn, dan kan dit een positief effect hebben, omdat deeltjes groter dan 10µm over het algemeen goed worden afgevangen in de zandfilters. Daarmee zouden deze aan deeltjes gebonden virussen geen groot probleem vormen in de zuivering, behalve bij "off spec" periodes van het filter. Zijn de deeltjes kleiner, dan kunnen ze de zandfilters wel passeren, en moeten ze door de UV installatie onschadelijk worden gemaakt. In dat geval is het belangrijk om te weten of het mogelijk is dat virussen additionele bescherming ondervinden van het deeltje waar ze aan gehecht zijn.

De onderzochte studies laten zien dat de bescherming die een deeltje aan een virus kan geven voor een belangrijk deel wordt bepaald door de samenstelling van het deeltje. Duidelijke bescherming is waargenomen van de combinatie van bacteriofagen met deeltjes van humuszuren en ijzer. Dit zijn beide ook stoffen waarvan bekend is dat ze zelf UV straling kunnen absorberen. Hechting van bacteriofagen aan deeltjes die geen UV straling absorberen (zoals kleideeltjes) liet zien dat deze deeltjes geen bescherming boden tegen UV. Al³⁺ vlokken hadden zelfs het tegenovergestelde effect, en inactiverden MS2 additioneel aan UV.

Concluderend kan men stellen dat er wel informatie beschikbaar is over het effect van deeltjes op de desinfectie van virussen met UV, maar dat deze gegevens bijna volledig afkomstig zijn van bacteriofaag MS2 en in mindere mate T4. Eigenlijk is over het voorkomen van de ziekteverwekkende enterovirussen, norovirussen, rotavirussen, adenovirussen en bijvoorbeeld ook vogelgriepvirussen niets bekend. Om beter te kunnen voorspellen hoe deze virussen zich gedragen in de zuivering, in combinatie met deeltjes, of wellicht UV absorberende stoffen, is het noodzakelijk om meer kennis te verkrijgen over de daadwerkelijke probleemvirussen in plaats van de indicatorbacteriofagen.

5 Conclusies en aanbevelingen

5.1 Conclusies

1. Deeltjes die de UV straling niet absorberen, hebben, bij voor drinkwater relevante troebelheden, geen negatief effect op de inactivatie van virussen door UV.
2. Deeltjes die UV straling wel absorberen, zoals organische stoffen, humuszuren en bepaalde metalen, hebben wel een negatief effect op de inactivatie van virussen door UV. Deze deeltjes zijn in staat om de virussen te beschermen tegen UV, waardoor een langere bestralingstijd nodig is om tot de gewenste inactivatie te komen. Het beschermende effect wordt vermoedelijk veroorzaakt door binding van deze deeltjes aan het oppervlak van het virus. Omdat het virus door deze "coating" niet veel in diameter zal toenemen, is het nog steeds in staat om de processen voorafgaand aan UV, zoals snelfiltratie, te passeren.
3. Processen voorafgaand aan de UV desinfectie zoals coagulatie/sedimentatie en snelfiltratie hebben een effect op de effectiviteit van de UV desinfectie. IJzer kan virussen afschermen tegen UV, en aluminium heeft van zichzelf als een virusinactiverend effect (bij MS2). De werking van het filter is niet constant in de tijd, en bij "off-spec" situaties kunnen er deeltjes (met gehechte virussen) uit vrijkomen.
4. Het is van ziekteverwekkende virussen in oppervlaktewater niet bekend of ze voorkomen als vrij virus, als gecoat virus of gehecht aan grotere deeltjes. Een recente studie bij KWR laat zien dat het adenovirus vermoedelijk voorkomt zowel als vrij virus als gehecht aan deeltjes. Het gehechte deel wordt waarschijnlijk verwijderd door coagulatie/sedimentatie en snelle zandfiltratie, terwijl de niet gehechte populatie deze processen kan passeren. Van de overige ziekteverwekkende virussen is weinig tot geen informatie beschikbaar over hoe ze voorkomen. Deze informatie is noodzakelijk om passage van het virus door de verschillende waterbehandelingsmethoden en inactivatie door UV goed in te kunnen schatten.

5.2 Aanbevelingen

1. Om meer informatie te verkrijgen over het daadwerkelijk voorkomen van de ziekteverwekkende virussen in het oppervlaktewater wordt aanbevolen om te bepalen of deze virussen zich vrij in het water bevinden of zijn gebonden aan deeltjes. Dit zou als volgt kunnen worden bepaald:
 - Neem watermonsters van oppervlaktewater op een aantal locaties met verschillende soorten oppervlaktewater (bijv. dicht bij een RWZI, oppervlaktewater dicht bij een innamepunt).
 - Verdeel de deeltjes in de watermonsters in verschillende fracties door ze te filteren over filters met verschillende poriëgroottes.
 - Isoleer het RNA/DNA van de deeltjes van de fracties en analyseer het totale RNA/DNA met behulp van 454 sequencing. Uit de gegenereerde sequenties kan vervolgens worden herleid welke ziekteverwekkende virussen aanwezig zijn, en in welke fractie deze voornamelijk worden gevonden. Als alternatief voor 454 sequencing kan ook worden gekozen voor detectie van ziekteverwekkende virussen met PCR. Voor alle bekende ziekteverwekkende virussen zijn primersets voorhanden.

Dit levert informatie op over in welke fractie de ziekteverwekkende virussen voornamelijk worden aangetroffen, en of de verschillende ziekteverwekkende virus voorkeur hebben voor een bepaalde fractie. Met deze informatie is te bepalen ziekteverwekkende virussen juist aan deeltjes zijn gebonden, of dat ze als vrij virus voorkomen in het milieu.

2. Als Al^{3+} als coagulant wordt toegepast in Nederland, dan is het relevant om het inactiverend effect van Al^{3+} op ziekteverwekkende virussen te bepalen.

3. Bepaal door middel van absorptiemetingen of UV absorberende verbindingen (zoals organische stoffen, metalen of andere verbindingen) in verhoogde concentraties in het water voor kunnen komen, en of deze stoffen door middel van hechting of coating een virus kunnen beschermen tegen UV desinfectie.

4. Locaties met water met een hoge humuszuurconcentratie, en een zuivering met Fe coagulatie en zandfiltratie lijken op basis van de bovenstaande conclusies het meest kritisch te zijn. Bepaal of deze combinatie van factoren voorkomt bij Nederlandse drinkwaterpompstations, en bepaal of de verwijdering van virussen door UV daar daadwerkelijk minder effectief verloopt.

6 Referenties

- Arraj, A., J. Bohatier, C. Aumeran, J. L. Bailly, H. Laveran, and O. Traore. 2008. An epidemiological study of enteric viruses in sewage with molecular characterization by RT PCR and sequence analysis. *J. Water Health* 6:351-358
- Batch, L.F., Schulz, C.R., and Linden, K.G. (2004). Evaluating water quality effects on UV disinfection of MS2 coliphage. *J AWWA* 96 (7) p75-87.
- Christensen, J. and Linden, K.G., (2003). How particles affect UV light. *J AWWA* 95(4) p179-189.
- da Silva, A. K., J. C. Le Saux, S. Parnaudeau, M. Pommepuy, M. Elimelech, and F. S. Le Guyader. 2007. Evaluation of removal of noroviruses during wastewater treatment, using real-time reverse transcription-PCR: different behaviors of genogroups I and II. *Appl. Environ. Microbiol.* 73:7891-7897.
- Gerba C.P., 2004. Applied and theoretical aspects of virus adsorption to surfaces. *Adv. Appl. Microbiol.* 30, p133-168.
- Guo, H., and Hu, J. (2012). Effect of hybrid coagulation-membrane filtration on downstream UV disinfection. *Desalination* 290, p115-124.
- Hijnen, W.A., Schijven, J.F., Bonne, P., Visser, A., and Medema, G.J. (2004). Elimination of viruses, bacteria and protozoan oocysts by slow sand filtration. *Water Sci Technol.* 50: p147-154.
- Hijnen, W.A., Beerendonk, E.F., Medema, G.J. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. *Water Research.* 40: p3-22.
- Huber, E and Frost, M. (1998). Light scattering by small particles. *Aqua* 47 (2). p87-94.
- Italiaander, R. (2013). Virusverwijdering uit oppervlaktewater door coagulatie/sedimentatie en snelle zandfiltratie, KWR BTO rapportage BTO2013.012.
- Kollu, K., and Örmeci, B., (2012). Effect of particles and bioflocculation on ultraviolet disinfection of *Escherichia coli*. *Water Research* 46; p750-760.
- Liu, W. et al. 2002. Comparison of Disinfection by products formation from different UV-technologies at Bench scale. *Water Sci. Technol.: Water Supp.*, 2:5/6 p515.
- Lodder, W. J. and A. M. de Roda Husman. 2005. Presence of noroviruses and other enteric viruses in sewage and surface waters in The Netherlands. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:1453-1461
- Lodder, W.J., H.H.J.L. van den Berg, S.A. Rutjes, and A.M. de Roda Husman. 2010. Presence of enteric viruses in source waters for drinking water production in the Netherlands. *AEM* 76(17), p5965-5971
- Malley, J.P. Jr., 2000. Engineering of UV disinfection systems for drinking water. *Intl. UV Assn. News*, 2, 3, 8.
- Qualls, R.G., Johnson, J.D. 1983. Bioassay and dose measurement in UV disinfection. *AEM.* 45 p872-877.
- Schijven JF, van den Berg HH, Colin M, Dullemeont Y, Hijnen WA, Magic-Knezev A, Oorthuizen WA, Wubbels G. 2013. A mathematical model for removal of human pathogenic viruses and bacteria by slow sand filtration under variable operational conditions. *Water Research* (Epub ahead of print).

Scott, H.E., Liss, S.N., Franood, R.R., and Allen, D.G. (2005). Ultraviolet disinfection of sequencing batch reactor effluent: a study of physicochemical properties of microbial floc and disinfection performance. *J. Environ. Eng. Sci.* 4, p65-75

Templeton M.R., R.C. Andrews, R. Hofmann. 2005. Inactivation of particle associated viral surrogates by ultraviolet light. *Water Research* 39, 3487-3500.

Templeton M.R., R. Hofmann, R.C. Andrews. 2006. UV inactivation of humic-coated bacteriophages MS2 and T4 in water. *J. Environ. Eng. Sci.* 5: 537-543.

Templeton M.R., R.C. Andrews, R. Hofmann. 2006. Impact of iron particles in groundwater on the UV inactivation of bacteriophages MS2 and T4. *J. Appl. Microbiol.* 101: 732-741.

Templeton M.R., R.C. Andrews, R. Hofmann. 2007. Removal of particle-associated bacteriophages by dual-media filtration at different filter cycle stages and impacts on subsequent UV disinfection. *Water Research.* 41: p2393-2406.

Von Gunten, U. 2003. Ozonation of drinking water: part II. Disinfection and by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine. *Water Research.* 37: p1469-1487

