

BTO 2018.037 | Maart 2018

## **BTO** rapport

Groei van *Aeromonas* op sediment en ongewervelde dieren uit het distributienet van de productielocaties Kralingen, Braakman en Berenplaat van Evides

- *Herziene versie*



# BTO

## Groei van *Aeromonas* op sediment en ongewervelde dieren uit het distributienet van de productielocaties Kralingen, Braakman en Berenplaat van Evides – *Herziene versie*

BTO 2018.037 | Maart 2018

### Opdrachtnummer

401829

### Projectmanager

Luc Hornstra

### Opdrachtgever

BTO - Speerpuntonderzoek

### Kwaliteitsborger

Paul van der Wielen, Gertjan Medema

### Auteur

Nikki van Bel

### Verzonden aan

Dit rapport is verspreid onder BTO-participanten.  
Eén jaar na publicatie is het openbaar.

**Jaar van publicatie**  
2018

#### Meer informatie

dr. ir. Nikki van Bel  
T 030-6069516  
E [Nikki.van.Bel@kwrwater.nl](mailto:Nikki.van.Bel@kwrwater.nl)

#### Keywords

*Aeromonas*, ongewervelde dieren, sediment, *Asellus*

PO Box 1072  
3430 BB Nieuwegein  
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511  
F +31 (0)30 60 61 165  
E [info@kwrwater.nl](mailto:info@kwrwater.nl)  
I [www.kwrwater.nl](http://www.kwrwater.nl)



BTO 2018.037 | Maart 2018 © KWR

Alle rechten voorbehouden.

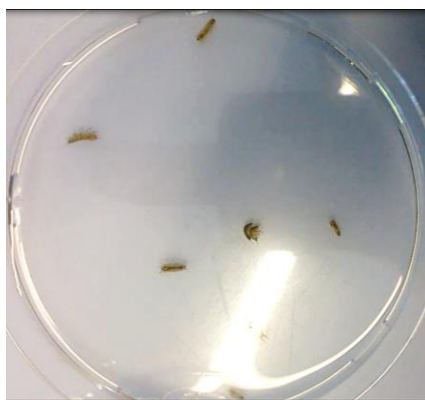
Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

## BTO Managementsamenvatting

### *Aanwezigheid van sediment en ongewervelde dieren speelt grote rol bij groei van *Aeromonas* in groeiproeven in het laboratorium*

**Auteur** dr. ir. Nikki van Bel

Het is raadzaam om drinkwater te produceren waarin zo min mogelijk sediment en ongewervelde dieren aanwezig zijn en dat een lage groeipotentie heeft. Laboratoriumproeven hebben namelijk laten zien dat *Aeromonas* kan groeien in water waaraan alleen ongewervelde dieren of alleen sediment is gedoseerd. De toename in groei die hierbij wordt gemeten kan mogelijk verklaren hoe in het distributienet de concentratie *Aeromonas* kan toenemen tot boven de wettelijke norm van 1000 kve/100 ml. Dit blijkt uit speerpuntonderzoek naar de relatie tussen de groei van *Aeromonas*, sediment en ongewervelde dieren. Evides ziet sinds een aantal jaar een toenemende trend van overschrijdingen van de wettelijke norm voor *Aeromonas* (1000 kve/100 ml) in een aantal voorzieningsgebieden. Voorafgaande studies hebben laten zien dat waterpissebedden (*Asellus*) groei van *Aeromonas* kunnen stimuleren. Uit dit onderzoek blijkt dat ook andere dieren dit kunnen, met name borstelwormen en, in mindere mate, roeipootkreeften. De hoeveelheid sediment en ongewervelde dieren in het distributienet lijkt het vóórkomen van *Aeromonas* in het distributienet wel te beïnvloeden, maar hierbij lijken meerdere factoren een rol te spelen.



*Aeromonas* groeiproeven drinkwater met en zonder spuiwater toegevoegd (links). Waterpissebedden (*Asellus*) voor de *Aeromonas* groeiproeven met ongewervelde dieren.

#### **Belang:** hypothese over groei *Aeromonas* op sediment en ongewervelde dieren testen

In een aantal voorzieningsgebieden van Evides nemen sinds enkele jaren de overschrijdingen van de wettelijke norm voor *Aeromonas* toe. Op basis van eerdere studies is een hypothese opgesteld over de groei van *Aeromonas* in het distributienet: *Aeromonas* is voornamelijk aan deeltjes gehecht en groeit ook op deeltjes, in het water vindt geen groei of zeer beperkte groei plaats. Bovendien groeit *Aeromonas* volgens die hypothese in

aanwezigheid van ongewervelde dieren. Ander onderzoek heeft laten zien dat *Aeromonas* kan groeien in aanwezigheid van de autochtone microbiële populatie van drinkwater en spuiwater, in aanwezigheid van sediment zonder verdere toevoeging en als er een waterpissebed of een mengsel van vetzuren en/of aminozuren aanwezig is. Waterpissebedden dragen het meest bij aan de biomassa in het distributiesysteem, maar er komen ook andere ongewervelde dieren voor. Van deze

andere dieren is onbekend of ze de groei van *Aeromonas* in drinkwater kunnen stimuleren.

Om deze hypothese te testen is onderzocht wat de relatie is tussen groei van *Aeromonas*, verschillende soorten ongewervelde dieren en verschillende hoeveelheden en fracties sediment, die zijn geogst in verschillende seizoenen.

**Aanpak: *Aeromonas* groeiproeven in drinkwater met spuiwater en ongewervelde dieren.**

In juni en september 2017 zijn in de distributiegebieden van Braakman, Kralingen en Berenplaat monsters genomen van ongefiltreerd spuiwater, spuiwater met deeltjes kleiner dan 30 µm en drinkwater. Het spuiwater is in verschillende verhoudingen gedoseerd aan het drinkwater. Daarna is een mengsel van *Aeromonas*-drinkwaterisolaten toegevoegd, waarna de groei van *Aeromonas* gedurende 14 dagen is gemeten.

In augustus 2017 zijn ongewervelde dieren uit het distributienet verzameld. Deze dieren zijn samen met het *Aeromonas*-mengsel toegevoegd aan drinkwater en spuiwater. Ook bij deze laboratoriumexperimenten is de groei van *Aeromonas* gedurende 14 dagen gemeten.

**Resultaten: *Aeromonas* groeit in water met sediment, waterpissebedden en borstelwormen.**

Tijdens de groeiproeven groeien *Aeromonas* en de microbiële populatie het sterkst in water uit het distributiesysteem van Braakman. In water van Berenplaat en Kralingen vindt alleen in juni groei van *Aeromonas* plaats, maar niet in september. De groei van *Aeromonas* is daarbij sterk gecorreleerd aan het sedimentvolume.

Het seizoen beïnvloedt de groeipotentie van het drinkwater of spuiwater voor *Aeromonas* en in welke sedimentfractie de nutriënten aanwezig zijn.

Dode en levende waterpissebedden zorgen voor de grootste *Aeromonas*-vermeerdering in groeiproeven. Roeipootkreeften en borstelwormen hebben een beperkter effect op groei van *Aeromonas*.

Groei van *Aeromonas* kan optreden als er alleen ongewervelde dieren of alleen sediment aanwezig zijn. De toename als gevolg van de aanwezigheid van sediment en/of ongewervelde dieren kan mogelijk verklaren hoe in het distributienet *Aeromonas* kan groeien tot boven de wettelijke norm van 1000 kve/100 ml.

De hoeveelheid sediment en ongewervelde dieren in het distributienet lijkt het voorkomen van *Aeromonas* in het distributienet wel te beïnvloeden maar niet geheel te verklaren. Er zijn dus meerdere factoren die groei van *Aeromonas* in het distributienet stimuleren.

**Implementatie: produceer drinkwater met zo min mogelijk sediment en een zeer lage groeipotentie.**

Gezien de rol die sediment en ongewervelde dieren mogelijk spelen bij de vermeerdering van *Aeromonas*, is het raadzaam om drinkwater te produceren waarin zo min mogelijk (sediment)deeltjes aanwezig zijn en dat een zeer lage groeipotentie heeft, om zo de groei van ongewervelde dieren in het distributiesysteem te voorkomen.

Omdat in deze experimenten de groei van *Aeromonas* alleen onder statische condities is onderzocht, is het belangrijk ook onder dynamische drinkwatercondities te kijken naar de groeipotentie van het sediment voor *Aeromonas*.

**Rapport**

Dit speerpuntonderzoek is beschreven in rapport *Groei van *Aeromonas* op sediment en ongewervelde dieren uit het distributienet van de productielocaties Kralingen, Braakman en Berenplaat van Evides* (BTO 2018.037).

**Jaar van publicatie**  
2018

**Meer informatie**

dr. ir. Nikki van Bel  
T 030-6069516  
E [Nikki.van.Bel@kwrwater.nl](mailto:Nikki.van.Bel@kwrwater.nl)

**Keywords**

*Aeromonas*, ongewervelde dieren, sediment, *Asellus*

PO Box 1072  
3430 BB Nieuwegein  
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511  
F +31 (0)30 60 61 165  
E [info@kwrwater.nl](mailto:info@kwrwater.nl)  
I [www.kwrwater.nl](http://www.kwrwater.nl)



BTO 2018.037 | Maart 2018 © KWR

Alle rechten voorbehouden.

Niets uit deze uitgave mag worden veeelvoudigd, 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.

**Jaar van publicatie**  
2018

**Meer informatie**

dr. ir. Nikki van Bel  
T 030-6069516  
E [Nikki.van.Bel@kwrwater.nl](mailto:Nikki.van.Bel@kwrwater.nl)

**Keywords**

*Aeromonas*, ongewervelde dieren,  
sediment, *Asellus*

PO Box 1072  
3430 BB Nieuwegein  
The Netherlands

T +31 (0)30 60 69 511  
F +31 (0)30 60 61 165  
E [info@kwrwater.nl](mailto:info@kwrwater.nl)  
I [www.kwrwater.nl](http://www.kwrwater.nl)

**KWR**

Watercycle  
Research  
Institute

BTO 2018.037 | Maart 2018 © 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.

# Voorwoord

In het projectplan van dit project was een literatuurstudie opgenomen naar de hydrofobiciteit en het isoelectrisch punt van *Aeromonas* bacteriën en deeltjes die in het distributiesysteem aanwezig zijn. Daarnaast zou een overzicht worden gemaakt van mogelijke methoden voor het meten van beide parameters op deze deeltjes en *Aeromonas* bacteriën en zou een aanbeveling worden gedaan of en hoe deze hechtingseigenschappen zouden kunnen worden bepaald. In overleg met Wim Hijnen zijn in verband met de ruimte in het budget in een beginstadium van het project deze activiteiten geschrapt. Het onderzoek richt zich nu op de rol van sediment en ongewervelde dieren op de groei van *Aeromonas*. Dit is uitgevoerd door middel van groeiproeven, zoals beschreven in dit rapport.

De resultaten van het speerpuntonderzoek uit 2016 zijn als onderdeel van het huidige project gerapporteerd in een apart rapport (*BTO 2018.031. Onderzoek naar de biologische condities in water, sediment en op de buiswand en de Aeromonas toename in een transportleiding als functie van het seizoen in 2016*).

# Inhoud

<b>Inhoud</b>	<b>4</b>
<b>1 Inleiding</b>	<b>6</b>
1.1 Aanleiding	6
1.2 Onderzoeksvraag	6
1.3 Projectopbrengsten	6
<b>2 Methoden</b>	<b>8</b>
2.1 Groeioproef met sediment in juni 2017 en september 2017	8
2.2 Groeiproeven met ongewervelde dieren in augustus 2017	14
<b>3 Resultaten</b>	<b>20</b>
3.1 Groeioproef met drinkwater en spuiwater van drie locaties in juni 2017	20
3.2 Groeioproef met drinkwater en spuiwater van drie locaties in september 2017	27
3.3 Groeioproef met drinkwater en spuiwater van Kralingen in augustus 2017	35
3.4 Groeiproeven met ongewervelde dieren geïsoleerd uit Kralingen, augustus 2017	37
<b>4 Discussie</b>	<b>48</b>
4.1 Relatie sedimentvolume en groei van <i>Aeromonas</i> in groeiproeven	48
4.2 Groei van <i>Aeromonas</i> op sediment en ongewervelde dieren	49
4.3 Groei van <i>Aeromonas</i> in Braakman, Berenplaat en Kralingen	54
<b>5 Conclusies en aanbevelingen</b>	<b>57</b>
5.1 Conclusies	57
5.2 Aanbevelingen	58
<b>6 Referenties</b>	<b>59</b>
<b>Bijlage I Hydrobiologische analyses Aqualab Zuid spuismonsters</b>	<b>60</b>
• 13 juni 2017	60
• 21 september 2017	64
<b>Bijlage II Troebelheidsmetingen</b>	<b>69</b>
• Troebelheid bij spuiacties op 13 juni 2017	69
• Troebelheid bij spuiacties op 21 september 2017	70





# 1 Inleiding

## 1.1 Aanleiding

Bij Evides is sinds een aantal jaar een toenemende trend van overschrijdingen van de wettelijke norm voor *Aeromonas* in een aantal voorzieningsgebieden. Het is de wens van Evides om de specifieke (groei)factoren van *Aeromonas* in het distributiesysteem te achterhalen, zodat meer gericht beheersmaatregelen tegen *Aeromonas* kunnen worden genomen.

Eerder onderzoek heeft laten zien dat *Aeromonas* kan groeien in aanwezigheid van de autochtone microbiële populatie van drinkwater en spuiwater wanneer sediment (zonder verdere toevoeging) of een waterpissebed of een mengsel van vetzuren en/of aminozuren aanwezig is (KWR 2017.021). Van de ongewervelde dieren dragen waterpissebedden het meeste bij aan de biomassa die aanwezig is in het distributiesysteem, maar er komen meerdere ongewervelde dieren voor. Van deze ongewervelde dieren is het onbekend of deze groei van *Aeromonas* in drinkwater kunnen ondersteunen. De resultaten van het eerdere onderzoek hebben daarom geleid tot de hypothese bij de start van dit project dat *Aeromonas* in het distributienet voornamelijk sediment-geassocieerd (inclusief ongewervelde dieren) is, groeit op aanwezige substraten in het sediment en dat er geen of zeer beperkte groei in water plaatsvindt.

## 1.2 Onderzoeksvraag

Wat is de rol van verschillende ongewervelde dieren en sedimentfracties, verkregen uit het distributiesysteem in verschillende seizoenen, op de groei van *Aeromonas* onder laboratoriumcondities?

## 1.3 Projectopbrengsten

De volgende onderdelen zijn in het projectplan benoemd als opbrengsten van dit project, aangegeven is welke onderdelen wel en niet in dit rapport besproken worden.

Wel:

- Uitvoering meting resterend uit het speerpuntonderzoek 2016: gerapporteerd onder BTO 2018.031. Onderzoek naar de biologische condities in water, sediment en op de buiswand en de *Aeromonas* toename in een transportleiding als functie van het seizoen in 2016.
- De rol van sediment (type, concentratie) op de groei van *Aeromonas*: *Aeromonas* groeiproeven in drinkwater en spuiwater.
- De rol van verschillende ongewervelde diergroepen, die van nature aanwezig zijn in het distributiesysteem, op groei van *Aeromonas*: *Aeromonas* groeiproeven in drinkwater en spuiwater met verschillende ongewervelde dieren.

Niet:

Zoals toegelicht in het voorwoord zijn de onderdelen gerelateerd aan de hydrofobiciteit, iso-electrisch punt en hechtingseigenschappen niet uitgevoerd.

- Inzicht in de hydrofobiciteit, het iso-electrisch punt en EPS-productie van *Aeromonas* en de in het distributiesysteem aanwezige type deeltjes door middel van literatuuronderzoek;
- Overzicht van mogelijke methoden voor het meten van de hydrofobiciteit en het iso-electrisch punt van *Aeromonas* bacteriën en de in het distributiesysteem aanwezige deeltjes door middel van literatuuronderzoek;
- Aanbeveling of en hoe hechtingseigenschappen van *Aeromonas* en deeltjes aanwezig in het distributiesysteem kunnen worden bepaald;
- Hechtingseigenschappen van natuurlijke *Aeromonas*-isolaten en deeltjes uit het distributiesysteem (indien uit literatuuronderzoek volgt dat deze eigenschappen te bepalen zijn);
- Inzicht of natuurlijke *Aeromonas* isolaten kunnen hechten aan deeltjes in het drinkwaterdistributiesysteem;
- Wetenschappelijk, peer-reviewed paper over het *Aeromonas* onderzoek uitgevoerd binnen het DPWE-verband (eerder gerapporteerd als KWR 2016.073): een deel van het paper met bijbehorende figuren en tabellen is geschreven. Echter in afwachting van aanvullende experimenten is dit onderdeel stil gezet.

## 2 Methodes

### 2.1 Groeiproef met sediment in juni 2017 en september 2017

#### 2.1.1 *Aeromonas*-groeiproeven in drinkwater en spuiwater

De *Aeromonas*-groeiproeven zijn uitgevoerd in het drinkwater van het voorzieningsgebied van de productielocaties Braakman, Kralingen, Berenplaat. Spuiwater is in verschillende verhoudingen toegevoegd aan drinkwater zoals weergegeven in Tabel 1.

De eerste (juni 2017) en derde groeiproef (september 2017) van dit onderzoek zijn uitgevoerd in tweevoud in 600 ml drinkwater met of zonder spuiwater en daaraan gedoseerd:

- *Aeromonas*-mix (2-10 kve/ml; *A. rivuli*, *A. salmonicida*, *A. sobria*, *A. veronii*)
- 0,1 mg NH<sub>4</sub>-N/l Ammonium, NH<sub>4</sub>Cl
- 0,1 mg NO<sub>3</sub>-N/l Nitraat, KNO<sub>3</sub>
- 0,36 mg PO<sub>4</sub>-P/l Fosfaat, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

De *Aeromonas*-isolaten zijn geïsoleerd uit het drinkwaterdistributienet in eerder onderzoek (KWR 2016.073, BTO 2013.228).

In de 1:1 verdunning is 300 ml spuiwater aan 300 ml drinkwater gedoseerd, in de 1:9 verdunning is 30 ml spuiwater aan 570 ml drinkwater gedoseerd.

TABEL 1. SCHEMA VAN DE GROEIPROEVEN MET DRINKWATER EN SPUIWATER (ONGEFILTREERD EN FRACTIE < 30 µM).

	Drinkwater : Spuiwater	Spuilocatie 13 juni 2017	Spuilocatie 21 september 2017
1	Geen spuiwater	Braakman (IJzendijke)	Braakman (Oostburg)
2	Spuiwater < 30 µm, 1:9	Braakman (IJzendijke)	Braakman (Oostburg)
3	Spuiwater < 30 µm, 1:1	Braakman (IJzendijke)	Braakman (Oostburg)
4	Ongefiltreerd spuiwater, 1:9	Braakman (IJzendijke)	Braakman (Oostburg)
5	Ongefiltreerd spuiwater, 1:1	Braakman (IJzendijke)	Braakman (Oostburg)
6	Geen spuiwater	Berenplaat (Rotterdam)	Berenplaat (Hoek van Holland)
7	Spuiwater < 30 µm, 1:9	Berenplaat (Rotterdam)	Berenplaat (Hoek van Holland)
8	Spuiwater < 30 µm, 1:1	Berenplaat (Rotterdam)	Berenplaat (Hoek van Holland)
9	Ongefiltreerd spuiwater, 1:9	Berenplaat (Rotterdam)	Berenplaat (Hoek van Holland)
10	Ongefiltreerd spuiwater, 1:1	Berenplaat (Rotterdam)	Berenplaat (Hoek van Holland)
11	Geen spuiwater	Kralingen (Spijkenisse)	Kralingen (Delft)
12	Spuiwater < 30 µm, 1:9	Kralingen (Spijkenisse)	Kralingen (Delft)
13	Spuiwater < 30 µm, 1:1	Kralingen (Spijkenisse)	Kralingen (Delft)
14	Ongefiltreerd spuiwater, 1:9	Kralingen (Spijkenisse)	Kralingen (Delft)
15	Ongefiltreerd spuiwater, 1:1	Kralingen (Spijkenisse)	Kralingen (Delft)

Het water is niet gepasteuriseerd voor de start van de groeiproeven, de nutriënten fosfaat, nitraat en ammonium zijn gesteriliseerd voor dosering aan de groeiproef. De groeiproef is uitgevoerd bij 25°C. Op dag 0, 1, 2, 3, 5, 7, 9 (groeiproef in juni), 10 (groeiproef in september), 12, 14 is van elke fles het ATP gehalte bepaald en het aantal *Aeromonas* bacteriën is op ADA (*Aeromonas* Dextrine Agar) platen bepaald.

De ATP-resultaten van de groeiproeven zijn tevens gebruikt om de BP7 en BPC14 waardes te berekenen volgens de biomassaproductiepotentie (BPP) test (van der Kooij & Veenendaal, 2014).

### 2.1.2 Spuiacties juni 2017

Voor de eerste groeiproef, in juni 2017, zijn drie spuiacties uitgevoerd in de voorzieningsgebieden van Braakman (IJzendijke), Berenplaat (Spijkenisse) en Kralingen (Rotterdam). Voor elk van deze locaties is door Evides een spuiplan gemaakt. Op elke locatie zijn water- en sedimentmonsters genomen die volgens onderstaand schema zijn geanalyseerd (Tabel 2). Drinkwater, ongefiltreerd spuiwater en spuiwater dat door een 30 µm planktonnet gefiltreerd is, is bemonsterd in AOC vrije flessen. Bij elke spuiactie is ook de troebelheid gemeten (Bijlage II).

TABEL 2. WATER- EN SEDIMENTMONSTERS DIE GENOMEN ZIJN BIJ DE SPUIACTIES OP 13 JUNI 2017 EN ZIJN GEBRUIKT VOOR *AEROMONAS*-GROEIPROEVEN, CHEMISCHE EN MICROBIOLOGISCHE ANALYSES.

Water- of sedimentmonster	Groeiproeven	Chemische analyses	Microbiologische analyses	Overige analyses
Drinkwater	Ja	Koolhydraten, TOC	ATP, <i>Aeromonas</i>	Nee
Spuiwater (ongefiltreerd)	Ja	Koolhydraten, TOC	ATP, <i>Aeromonas</i>	Nee
Spuiwater < 30 µm	Ja	Koolhydraten, TOC	ATP, <i>Aeromonas</i>	Nee
Sediment, 30 µm	Nee	Nee	Nee	Ongewervelde dieren en sediment volume*
Sediment, 100 µm	Nee	Nee	Nee	Ongewervelde dieren en sediment volume*
Sediment, 500 µm	Nee	Nee	Nee	Ongewervelde dieren en sediment volume*

\* Deze analyses zijn uitgevoerd door Aqualab Zuid en apart gerapporteerd. De resultaten zijn ook weergegeven in Bijlage I.

In Figuur 1 - Figuur 3 zijn de spuiplannen weergegeven.

**Braakman: IJzendijke, Papenmuts 31**

FIGUUR 1. SPUIPLAN VAN LOCATIE IN HET VOORZIENINGSGBIED VAN BRAAKMAN: PAPANMUTS 31, IJZENDIJKE. ER ZIJN GEEN AFSLUITERS DICHT GEZET. ER IS GESPUID OP DE MET PIJL AANGEGEVEN BRANDKRAAN (0404-YZ). UITGEVOERD OP 13 JUNI 2017.

**Berenplaat: Spijkenisse, Amandelgaard 6**

FIGUUR 2. SPUIPLAN VAN LOCATIE IN HET VOORZIENINGSGBIED VAN BERENPLAAT: AMANDELGAARD 6, SPIJKENISSE. DE TWEE AANGEGEVEN AFSLUITERS (G19641, G19636) ZIJN GESLOTEN EN ER IS GESPUID OP DE MET PIJL AANGEGEVEN BRANDKRAAN (HYDR-21841). UITGEVOERD OP 13 JUNI 2017.

### Kralingen: Rotterdam, Schans 7A



FIGUUR 3. SPUIPLAN VAN LOCATIE IN HET VOORZIENINGSGBIED VAN KRALINGEN: ROTTERDAM, SCHANS 7A. DE VIJF AANGEGEVEN AFSLUITERS ZIJN GESLOTEN EN ER IS GESPUID OP DE MET PIJL AANGEGEVEN BRANDKRAAN (HYDR-26625). UITGEVOERD OP 13 JUNI 2017.

#### 2.1.3 Spuiacties september 2017

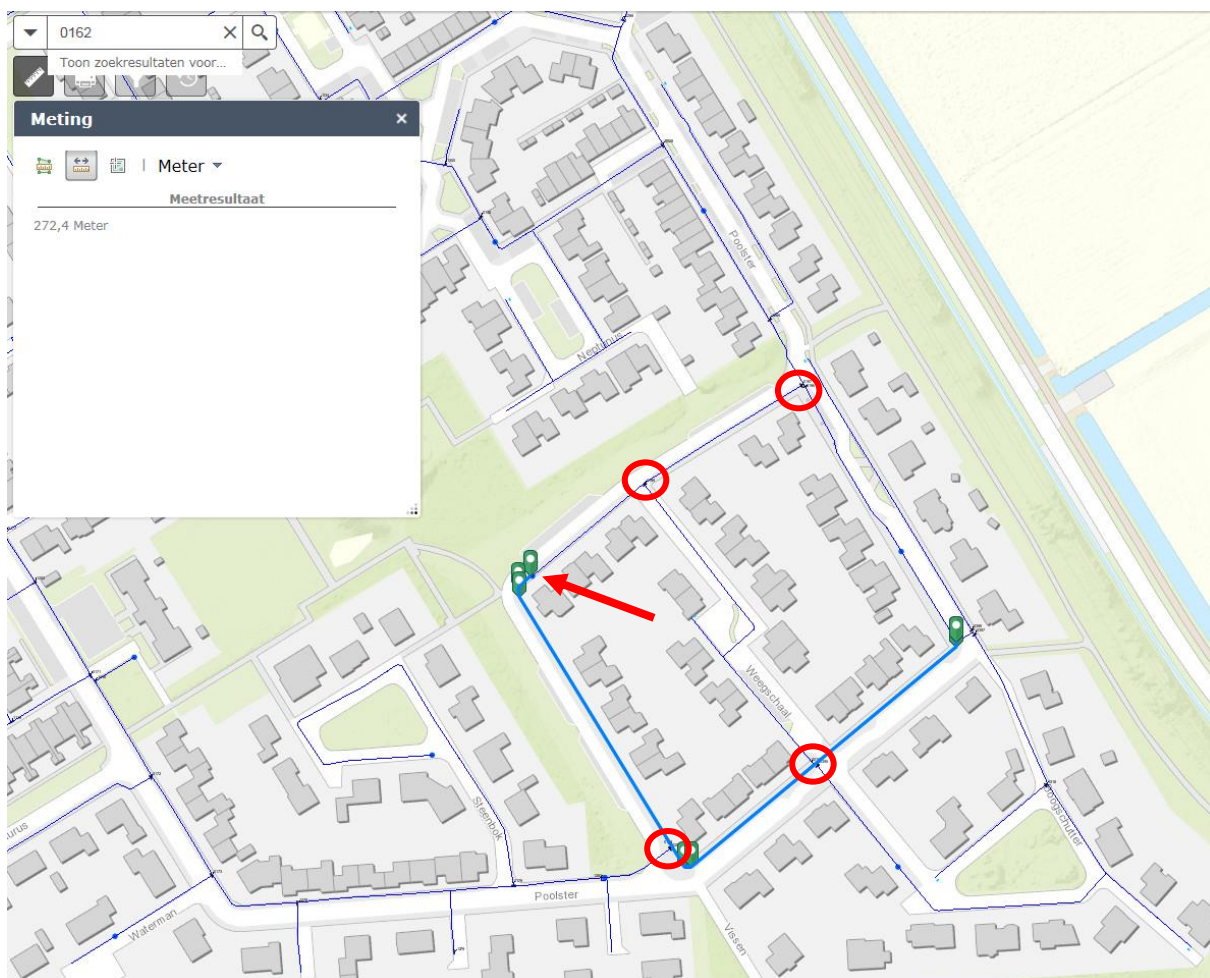
Voor de derde groeiproef, in september 2017, zijn drie spuiacties uitgevoerd in de voorzieningsgebieden van Braakman (Oostburg), Berenplaat (Hoek van Holland) en Kralingen (Delft). De spuiplannen voor deze locaties zijn gemaakt door Evides (Figuur 4, Figuur 5, Figuur 6). Op elke locatie zijn water- en sedimentmonsters genomen die volgens onderstaand schema zijn geanalyseerd (Tabel 3). Drinkwater (aan de tap na doorstroming), ongefiltreerd spuiwater en spuiwater dat door een 30  $\mu\text{m}$  planktonnet gefiltreerd is, is bemonsterd in AOC vrije flessen. Bij elke spuiactie is ook de troebelheid gemeten.

TABEL 3. WATER- EN SEDIMENTMONSTERS DIE GENOMEN ZIJN BIJ DE SPUIACHTIES OP 21 SEPTEMBER 2017 EN ZIJN GEBRUIKT VOOR *AEROMONAS*-GROEIPROEVEN, CHEMISCHE EN MICROBIOLOGISCHE ANALYSES.

Water- of sedimentmonster	Groeiproeven	Chemische analyses	Microbiologische analyses	Overige analyses
Drinkwater	Ja	Koolhydraten, TOC,		Nee
Spuiwater (ongefiltreerd)	Ja	Ammonium, IJzer,	ATP, <i>Aeromonas</i>	Nee
Spuiwater < 30 µm	Ja	Mangaan		Nee
Sediment, 30 µm	Nee	Nee	Nee	Ongewervelde dieren en sediment volume*
Sediment, 100 µm	Nee	Nee	Nee	Ongewervelde dieren en sediment volume*
Sediment, 500 µm	Nee	Nee	Nee	Ongewervelde dieren en sediment volume*

\* Deze analyses zijn uitgevoerd door Aqualab Zuid en apart gerapporteerd. De resultaten zijn ook weergegeven in Bijlage I.

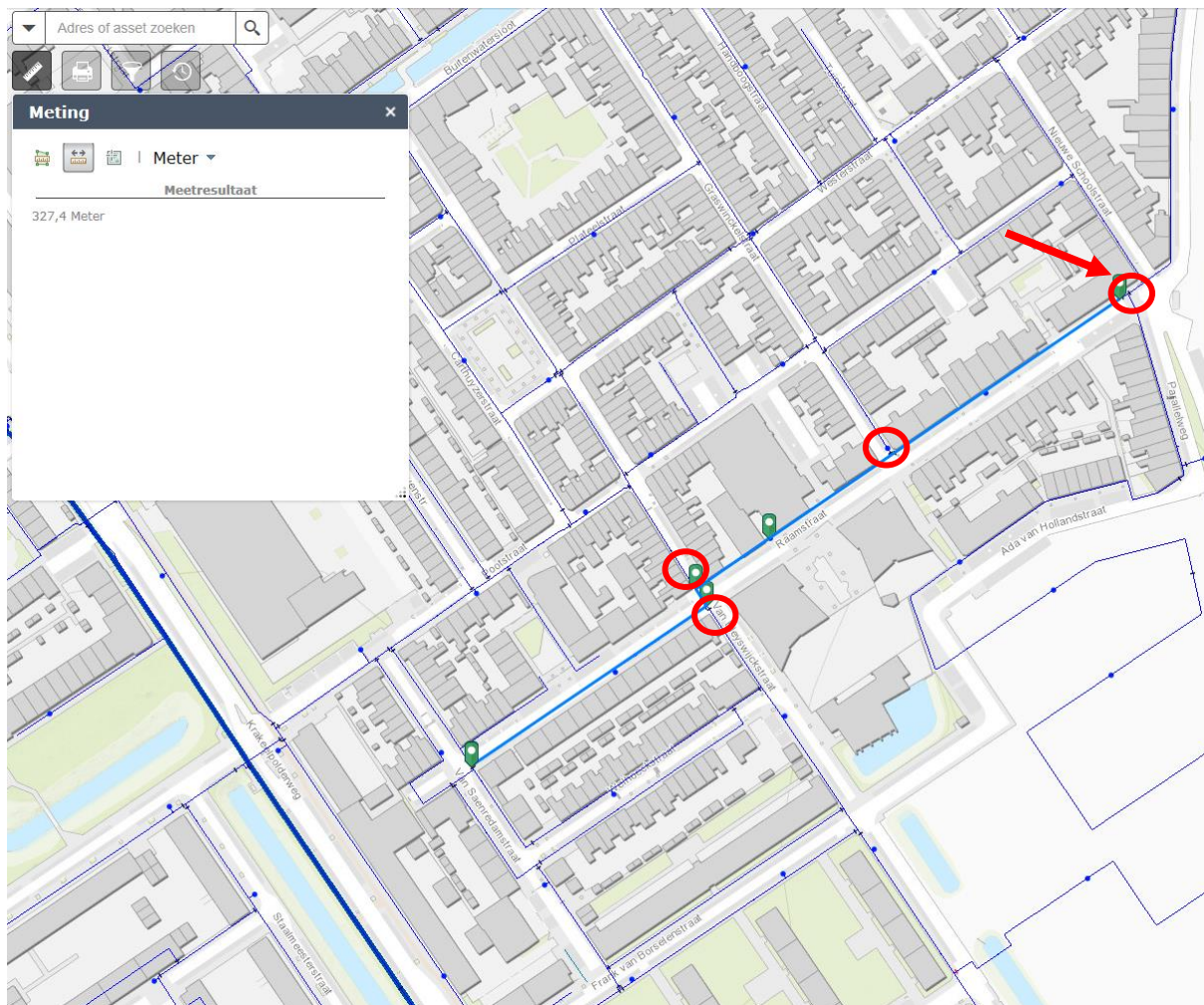
### Braakman: Kreeft 7, Oostburg





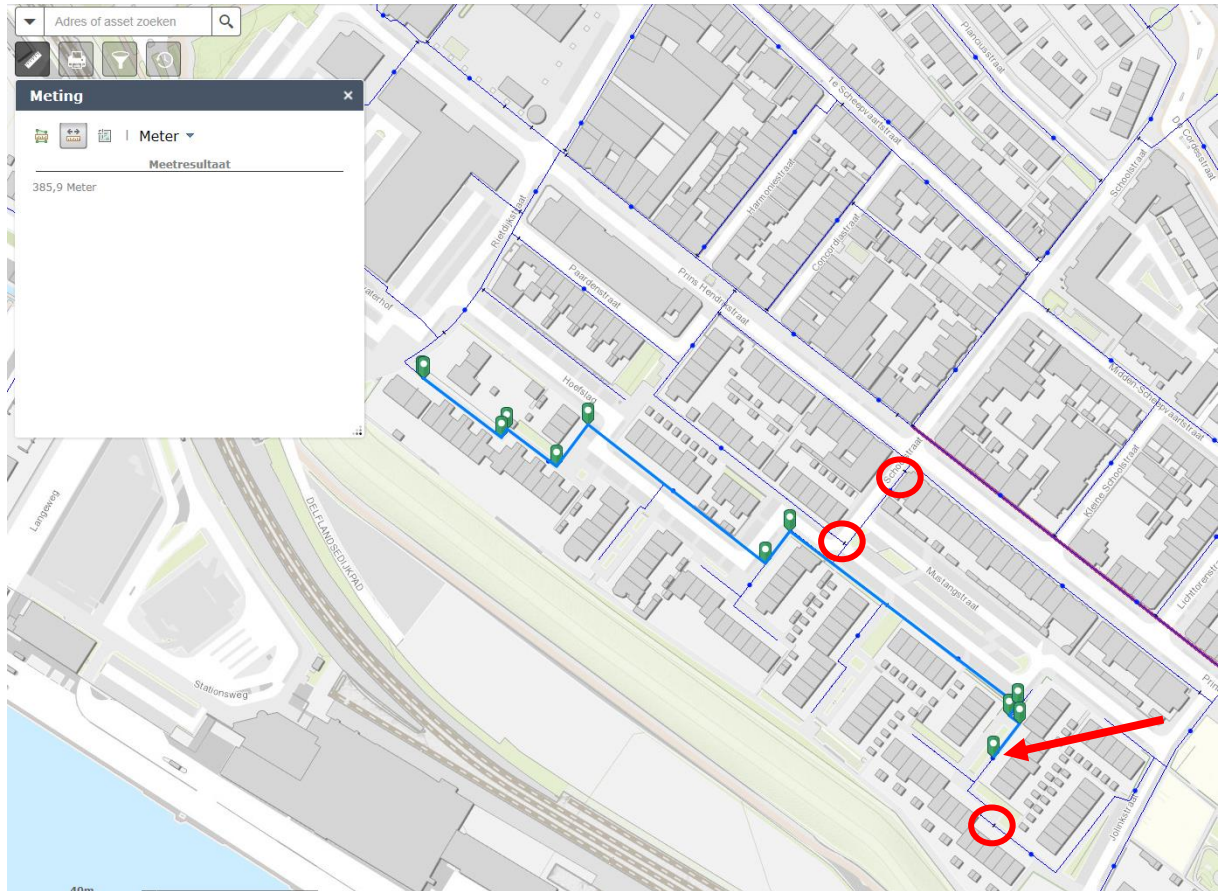
FIGUUR 4. SPUIPLAN VAN LOCATIE IN HET VOORZIENINGSGBIED VAN BRAAKMAN: OOSTBURG, KREEFT 7. DE VIER AANGEGEVEN AFSLUITERS ZIJN GESLOTEN EN ER IS GESPUID OP DE MET EEN PIJL AANGEGEVEN BRANDKRAAN (HYDR-0148 OBG). UITGEVOERD OP 21 SEPTEMBER 2017.

#### Kralingen: Burgermeesterrand 128, Delft



FIGUUR 5. SPUIPLAN VAN LOCATIE IN HET VOORZIENINGSGBIED VAN KRALINGEN: DELFT, RAAMSTRAAT 2-12. DE VIER AANGEGEVEN AFSLUITERS ZIJN GESLOTEN EN ER IS GESPUID OP DE MET EEN PIJL AANGEGEVEN BRANDKRAAN (HYDR-31379). UITGEVOERD OP 21 SEPTEMBER 2017.

## Berenplaat: Veulenstraat 8-10, Hoek van Holland



FIGUUR 6. SPUILAN VAN LOCATIE IN HET VOORZIENINGSGBIED VAN BERENPLAAT: HOEK VAN HOLLAND, VEULENSTRACHT 8-10. ER IS GESPUID OP DE MET EEN PIJL AANGEGEVEN BRANDKRAAN (HYDR-5168). UITGEVOERD OP 21 SEPTEMBER 2017.

## 2.2 Groeiproeven met ongewervelde dieren in augustus 2017

### 2.2.1 *Aeromonas*-groeiproeven met ongewervelde dieren

De *Aeromonas*-groeiproeven zijn uitgevoerd in drinkwater en spuiwater < 30 µm. Hieraan zijn verschillende soorten ongewervelde dieren gedoseerd samen met de standaard toevoegingen zoals vermeld voor de groeiproeven drinkwater en spuiwater (paragraaf 2.1.1).

Het aantal toe te voegen dieren is berekend aan de hand van het natgewicht van elk type organisme. Er is geprobeerd om van elk soort dierlijk organisme het equivalent van één waterpissebed te doseren (gemiddeld 1,6 mg natgewicht). Aqualab Zuid heeft geprobeerd dit aantal benodigde dieren te verzamelen. Dit is in de meeste gevallen niet gelukt omdat de opbrengst ongewervelde dieren van de spuiacties en uit het koolfiltraat te laag was. Om de dieren te verzamelen heeft Aqualab Zuid de ongewervelde dieren geïsoleerd uit het koolfiltraatsediment en/of spuisediment, geteld en verzameld in 10 ml spuiwater < 10 µm (Tabel 4, Figuur 7). Deze mengsels met ongewervelde dieren zijn bewaard bij 4°C en gekoeld naar KWR getransporteerd. Twee dagen na de spuiactie en één dag na de isolatie van de dieren is het mengsel van dieren in 10 ml spuiwater < 10 µm in zijn geheel toegevoegd aan

de kolven van de groeiproef. De ongewervelde dieren zijn bewaard in spuiwater < 10 µm zodat er wel wat kleine deeltjes aanwezig zijn om de dieren in leven te houden. Door alleen de kleine spuiwaterfractie te gebruiken, is geprobeerd de invloed van dit water op *Aeromonas* groei in de groeiproef zo beperkt mogelijk te houden.

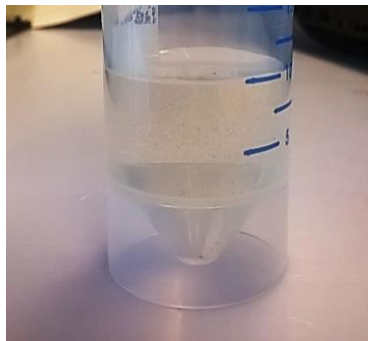
Voor de groeiproeven zijn alleen levende, ongewervelde dieren gebruikt. Met uitzondering van de conditie waarin een dode *Asellus* is toegevoegd. Aqualab Zuid heeft alleen levende ongewervelde dieren verzameld. Voor de start van het experiment is alleen van *Asellus* gecontroleerd of deze nog in leven waren. Van de andere dieren was dit niet mogelijk. Voor het beoordelen van een *Asellus* of deze levend of dood is, is gedurende enkele minuten gekeken of de *Asellus* beweegt door bijvoorbeeld over de bodem of het sediment te lopen. Als er geen beweging zichtbaar was, ook niet na zwenken van de fles, is aangenomen dat de *Asellus* overleden was.

De groeiproef met radardieren is niet ingezet aangezien de opbrengst zeer laag was en slechts enkele levende exemplaren aanwezig waren in het koolfiltraat. In plaats daarvan is een groeiproef uitgevoerd met een dode waterpissebed en zijn twee groeiproeven uitgevoerd waarbij de condities van het eerste experiment (Tabel 1) herhaald is, waarbij drinkwater 1:1 is verdund met ongefiltreerd spuiwater en spuiwater < 30 µm (Tabel 5). Er waren niet genoeg levende waterpissebedden beschikbaar om de darm uit te isoleren. Daarom is voor zowel de groeiproef in drinkwater als in spuiwater aan één kolf de darm uit een levende waterpissebed gedoseerd en in de andere kolf een darm uit een dode waterpissebed. De darmen zijn geïsoleerd uit hele waterpissebedden en na isolatie meteen gedoseerd aan de groeiproeven. Van elk organisme is aangegeven hoeveel biomassa aan de groeiproef is gedoseerd (Tabel 4).

TABEL 4. ONGEWERVELDE DIEREN DIE GEBRUIKT ZIJN VOOR DE GROEIPROEVEN, DE LOCATIE VAN WAAR DE DIEREN ZIJN GEÏSOLEERD. GEGEVEN IS HET AANTAL DIEREN DAT HAD MOETEN WORDEN GEDOSEERD VOOR EEN NATGEWICHT VAN 1,6 MG EN HOEVEEL DIEREN DAADWERKELIJK ZIJN GEDOSEERD VANWEGE DE LAGERE OPBRENGST.

Dierlijk organismen	Aantal dieren gelijk aan 1,6 mg natgewicht	Locatie	Gedoseerd aantal dieren	Gedoseerde biomassa (mg)
Draadwormen, levend	160	Spusediment/koolfiltraat	55	0,55
Borstelwormen, levend	5	Spusediment	5	1,6
Radardieren, levend	5333	Koolfiltraat	0*	0
Roeipootkreeften, levend	160	Spusediment/koolfiltraat	41	0,41
<i>Asellus</i> , levend	1	Spusediment	1	1,6
<i>Asellus</i> , dood	1	Spusediment	1	1,6
<i>Asellus</i> , darm	1	Spusediment	1	0,16**

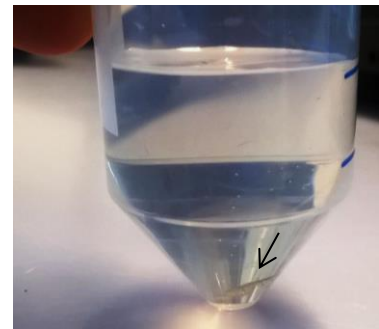
\* De opbrengst van radardieren was dermate laag dat deze conditie niet is ingezet. In plaats daarvan is de conditie met dode waterpissebedden toegevoegd (Tabel 5). \*\* Schatting van het gewicht van één darm als 1/10 van het gehele lichaamsgewicht.



Draadwormen, levend



Roeipootkreeften, levend



Waterpissebed, levend



Borstelwormen, levend



Waterpissebedden, levend

FIGUUR 7. GEÏSOLEERDE ONGEWERVELDE DIEREN. DE DRAADWORMEN EN ROEIPOOTKREEFTEN ZIJN ERG KLEIN EN TE ZIEN ALS EEN TROEBELE SUSPENSIE OP DE FOTO'S. DE BORSTELWORMEN ZIJN EEN PAAR MM LANG, TWEE EXEMPLAREN ZIJN AANGEGEVEN MET EEN PIJL. DE WATERPISSEBEDDEN IN DE FOTO ZIJN VAN HETZELFDE FORMAAT ALS DIE ZIJN GEBRUIKT IN DE GROEIPROEVEN.

TABEL 5. SCHEMA VAN DE GROEIPROEVEN MET ONGEWERVELDE DIEREN IN DRINKWATER OF SPUIWATER (FRACTIE < 30 µM). DE ONGEWERVELDE DIEREN ZIJN IN 10 ML SPUIWATER < 10 µM VERZAMELD EN GEDOSEERD AAN DE GROEIPROEF.

	Dierlijk organisme	Water	Overige doseringen/opmerkingen
1	-	Drinkwater	-
2	-	Spuiwater < 30 µm	-
3	-	Drinkwater	10 ml spuiwater < 10 µm
4	-	Spuiwater < 30 µm	10 ml spuiwater < 10 µm
5	Borstelwormen, levend	Drinkwater	-
6	Borstelwormen, levend	Spuiwater < 30 µm	-
7	Roeipootkreeften, levend	Drinkwater	-
8	Roeipootkreeften, levend	Spuiwater < 30 µm	-
9	Draadwormen, levend	Drinkwater	-
10	Draadwormen, levend	Spuiwater < 30 µm	-
11	Waterpissebed dood	Drinkwater	-
12	Waterpissebed dood	Spuiwater < 30 µm	-
13	Darm van waterpissebed	Drinkwater	Eén darm uit een levende, en één darm uit een dode waterpissebed.
14	Darm van waterpissebed	Spuiwater < 30 µm	Eén darm uit een levende (leeg, geen sediment), en één darm uit een dode waterpissebed.
15	Waterpissebed, levend	Drinkwater	-
16	Waterpissebed, levend	Spuiwater < 30 µm	-
17	-	Drinkwater	1:1 verdund met spuiwater <30 µm
18	-	Drinkwater	1:1 verdund met ongefiltreerd spuiwater

Het water is niet gepasteuriseerd voor start van de groeiproeven. De groeiproeven zijn in tweevoud en bij 25°C uitgevoerd. Op dag 0, 1, 2, 3, 5, 7, 10, 12, 14 is van elke fles het ATP gehalte gemeten en het aantal *Aeromonas* bacteriën is op ADA platen bepaald. De ATP-resultaten van de groeiproeven zijn tevens gebruikt om de BP7 en BPC14 waardes te berekenen volgens de biomassaproductiepotentie (BPP) test (van der Kooij & Veenendaal, 2014)

In Figuur 8 is duidelijk het verschil zichtbaar tussen de flessen met alleen drinkwater en de flessen waaraan spuiwater < 30 µm is gedoseerd. Levende waterpissebedden in spuiwater blijven enkele dagen in leven en produceren in dit geval een groot aantal fecale pellets (Figuur 9). Als de waterpissebedden in drinkwater zitten, worden geen pellets geproduceerd.



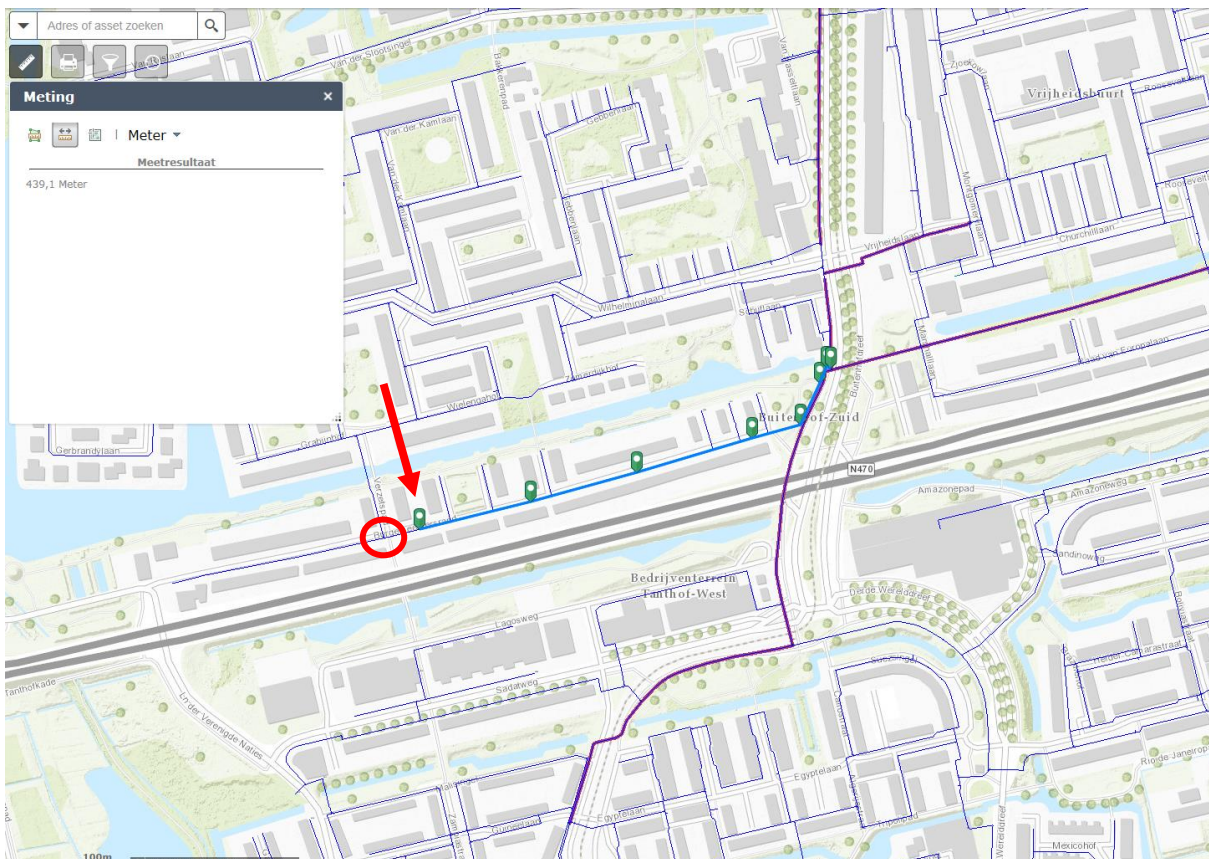
FIGUUR 8. GROEIPROEVEN IN SPUIWATER (VOORAAN) EN IN DRINKWATER (ACHTERAAN).



FIGUUR 9. FECALE PELLETS GEPRODUCEERD DOOR EEN LEVENDE WATERPISSEBED IN SPUIWATER. ZICHTBAAR IS HET SEDIMENT LANGS DE RAND EN DE FECALE PELLETS MEER IN HET MIDDEN VAN DE FLES. DE FOTO IS GENOMEN OP DAG 3.

### 2.2.2 Spuiactie en opvangen actieve-koolfiltraat

De ongewervelde dieren zijn op twee manieren verzameld: een spuiactie in Delft (voorzieningsgebied van pompstation Kralingen) en het bemonsteren van het actieve-koolfiltraat op de productielocatie Kralingen (PKRL56KF11). In Delft is 4000 liter gespuid, een tracé van ongeveer 440 meter (Figuur 10). Op deze locatie is ook drinkwater (aan de tap bij de consument na doorstroming), ongefiltreerd spuiwater en spuiwater gefiltreerd door een 30  $\mu\text{m}$  filter bemonsterd. Het drinkwater, spuiwater en sediment is op verschillende manieren geanalyseerd (Tabel 6). Het monsterpunt voor het koolfiltraat is een verzamelpunt waar het filtraat van 3 actieve-koolfilters bijeen komt. Er is 1000 liter van het filtraat over planktonnetten gefiltreerd en het sediment is verzameld.



FIGUUR 10. SPUPLAN VAN 31 AUGUSTUS 2017, LOCATIE IN HET VOORZIENINGSGBIED VAN KRALINGEN: BURGEMEESTERSRAND 124-126, DELFT. ÉÉN AFLUITER IS AFGESLOTEN EN ER IS GESPUID OP DE MET PIJL AANGEGEVEN BRANDKRAAN (HYDR-39794).

TABEL 6. WATER- EN SEDIMENTMONSTERS DIE GENOMEN ZIJN BIJ DE SPUIACHTIES OP 31 AUGUSTUS 2017 EN ZIJN GEBRUIKT VOOR *AEROMONAS*-GROEI-PROEVEN, CHEMISCHE EN MICROBIOLOGISCHE ANALYSES.

Water- of sedimentmonster	Groeiproeven	Chemische analyses	Microbiologische analyses	Overige analyses
Drinkwater	Ja	Koolhydraten, TOC	ATP, <i>Aeromonas</i>	Nee
Spuiwater (ongefiltreerd)	Ja	Koolhydraten, TOC	ATP, <i>Aeromonas</i>	Nee
Spuiwater < 30 µm	Ja	Koolhydraten, TOC	ATP, <i>Aeromonas</i>	Nee
Sediment, 30 µm	Nee	Nee	Nee	Ongewervelde dieren en sediment volume*
Sediment, 100 µm	Nee	Nee	Nee	Ongewervelde dieren en sediment volume*
Sediment, 500 µm	Nee	Nee	Nee	Ongewervelde dieren en sediment volume*

\* Deze analyses zijn uitgevoerd door Aqualab Zuid en apart gerapporteerd. De resultaten zijn ook weergegeven in Bijlage I.

## 3 Resultaten

### 3.1 Groeiproef met drinkwater en spuiwater van drie locaties in juni 2017

#### 3.1.1 Microbiologische en chemische analyse van het water

Van alle drie de locaties in het distributiesysteem waar is gespuid, is het drinkwater, spuiwater < 30 µm en het ongefiltreerde spuiwater microbiologisch en chemisch geanalyseerd. In Braakman zijn de *Aeromonas*-aantallen in drinkwater en spuiwater <30 µm onder de detectielimiet. In ongefiltreerd spuiwater is *Aeromonas* in lage aantallen aanwezig. In Berenplaat en Kralingen zijn de aantallen duidelijk hoger, deze liggen onder de 1000 kve/100 ml. In het spuiwater zijn de *Aeromonas*-aantallen voor beide locaties het hoogst. Deze resultaten suggereren dat *Aeromonas* in het sediment van de individuele locaties meer geassocieerd is aan deeltjes > 30 µm, dan de deeltjes < 30 µm.

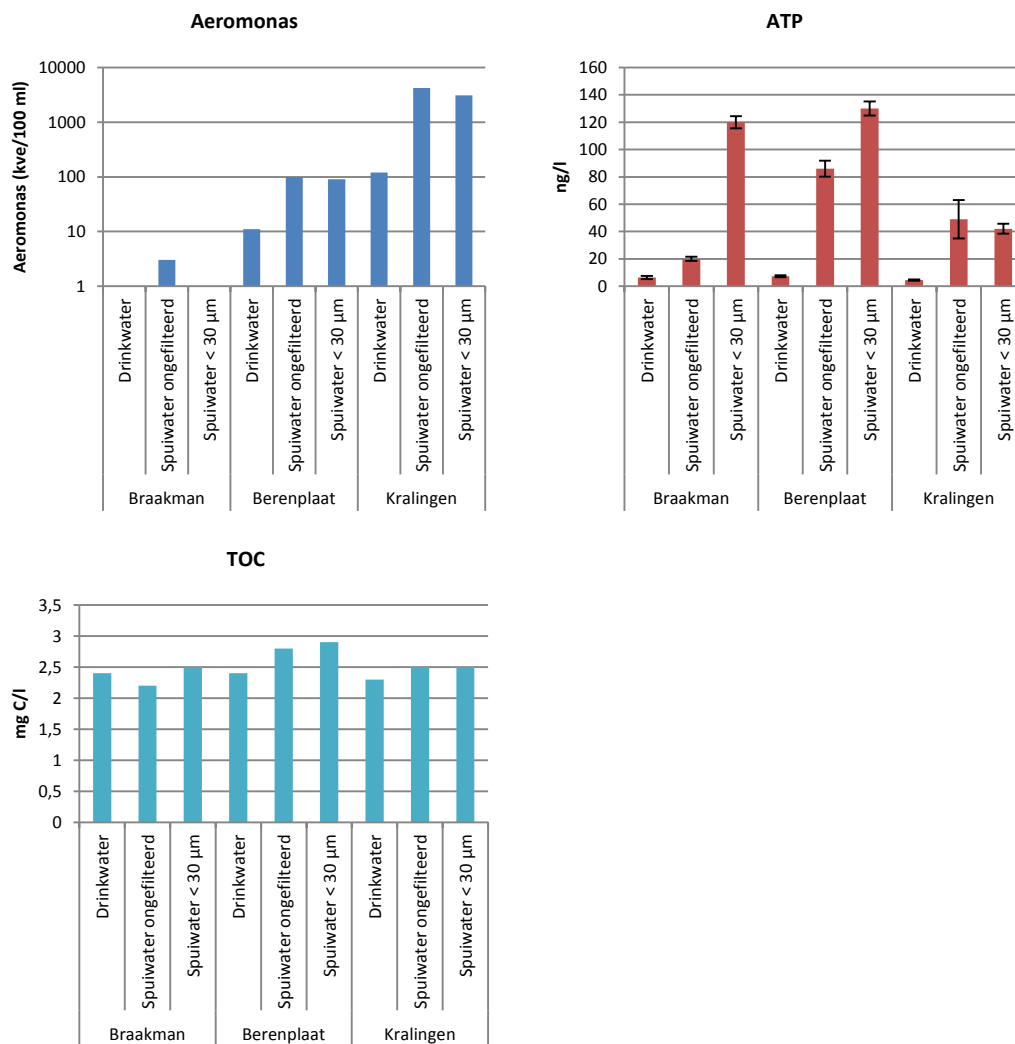
Het ATP gehalte van het drinkwater verschilt weinig tussen de verschillende locaties: 4,4 tot 7,3 ng/l (Tabel 7, Figuur 11). In ongefiltreerd spuiwater (20 – 86 ng/l) en gefiltreerd spuiwater (42 – 130 ng/l) zijn de verschillen groter. Dit suggereert dat in het spuiwater < 30 µm van de individuele locaties meer actieve biomassa aanwezig is dan in het ongefiltreerde spuiwater van dezelfde locatie. Hierbij is geen duidelijke relatie met de *Aeromonas*-aantallen in het drink- of spuiwater.

De koolhydratenconcentratie is onder de detectiegrens in alle watermonsters. De verschillen in de TOC-gehalten zijn klein (2,2 – 2,9 mg C/l). Alleen in het spuiwater van Berenplaat is het TOC-gehalte licht hoger.

TABEL 7. MICROBIOLOGISCHE, CHEMISCHE EN HYDROBIOLOGISCHE ANALYSE VAN HET DRINKWATER EN SPUIWATER. IN BIJLAGE I IS IN DETAIL WEERGEGEVEN WELKE ONGEWERVELDE DIEREN ZIJN GEVONDEN EN HOE DE BIOMASSA IN MG/M<sup>3</sup> IS BEREKEND. HET TOTALE SEDIMENTVOLUME (> 30 UM FRACTIE, SPUIWATER ONGEFILTREERD), EN HET SEDIMENT IN DE FRACTIE 30-100 UM (SPUIWATER < 30 UM) ZIJN GEGEVEN.

		<i>Aeromonas</i>	ATP	Koolhydraten	TOC	Biomassa	Sedimentvolume in
		kve/100 ml	ng/l	mg C/l	mg C/l	mg/m <sup>3</sup>	1000 L spuiwater ml
Braakman	Drinkwater	<1	6,4 ± 1,2	<0,8	2,4		
	Spuiwater ongefiltreerd	3,0	20 ± 1,5	<0,8	2,2	0,131	23,3
	Spuiwater < 30 µm	<1	120 ± 4,4	<0,8	2,5		20,2
Berenplaat	Drinkwater	11	7,3 ± 0,74	<0,8	2,4		
	Spuiwater ongefiltreerd	100	86 ± 5,8	<0,8	2,8	31,716	12,3
	Spuiwater < 30 µm	90	130 ± 5,2	<0,8	2,9		2,2
Kralingen	Drinkwater	120	4,4 ± 0,44	<0,8	2,3		
	Spuiwater ongefiltreerd	4200	49 ± 14	<0,8	2,5	1,373	9,4
	Spuiwater < 30 µm	3100	42 ± 3,7	<0,8	2,5		4,9





FIGUUR 11. MICROBIOLOGISCHE EN CHEMISCHE ANALYSE VAN SPUIWATER EN DRINKWATER BEMONSTERD OP 13 JUNI 2017 OP LOCATIES IN DE VOORZIENINGSGBIEDEN VAN BRAAKMAN, BERENPLAAT EN KRALINGEN. DE EXACTE RESULTATEN ZIJN WEERGEGEVEN IN TABEL 7.

### 3.1.2 *Aeromonas*-groeioproeven

De groeioproeven met *Aeromonas* zijn uitgevoerd in drinkwater, drinkwater met daaraan 1:1 of 1:9 ongefiltereerd spuiwater of spuiwater dat door een 30 µm planktonnet is gefiltreerd (Tabel 1). Aan dit mengsel is een mix van vier *Aeromonas*-soorten gedoseerd en zijn de kolven bij 25°C geïncubeerd. Door de hoge aantallen natuurlijke *Aeromonas* in het spuiwater van Kralingen zijn bij de start van de groeioproeven waarin spuiwater 1:1 is toegevoegd, de *Aeromonas*-aantallen hoger dan de dosering (Tabel 8). Dit geldt niet voor de groeioproeven die zijn uitgevoerd met de 1:9 verdunding van het spuiwater of in het water van Berenplaat of Braakman. Op deze locaties zijn de *Aeromonas*-aantallen in het spuiwater dusdanig laag dat deze niet significant bijdragen.

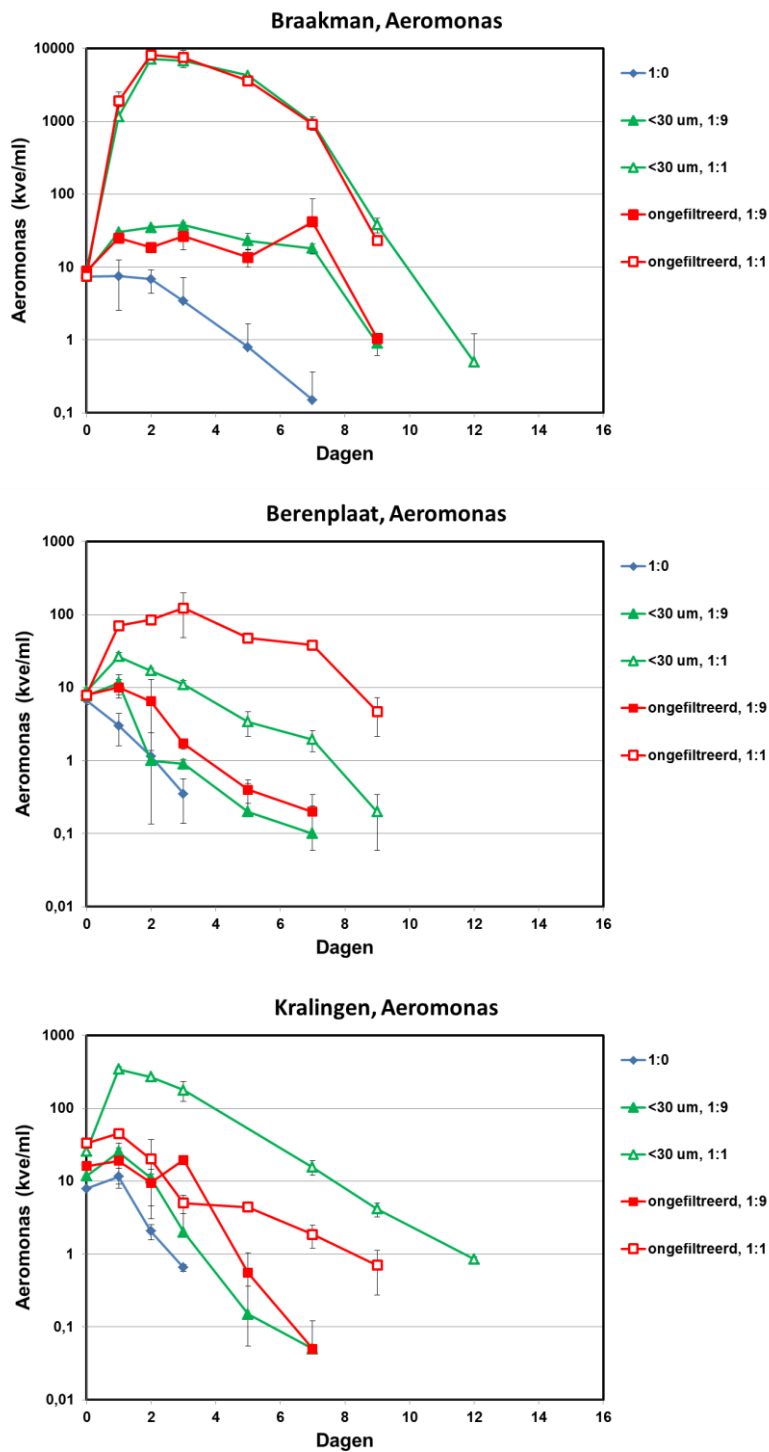
Groei van *Aeromonas* is het sterkst in water uit het voorzieningsgebied van Braakman (Figuur 12). In drinkwater met 1:1 spuiwater (ongefiltreerd of <30 µm) is de groei van *Aeromonas* het sterkst waarbij de hoogste aantallen ( $8,1 \times 10^3$  en  $7,1 \times 10^3$  kve/ml, Tabel 8) worden bereikt. Bij een 1:9 verdunding van het spuiwater stijgen de *Aeromonas*-aantallen de eerste dag licht waarna deze gedurende een week stabiel blijven. Bij dosering van een vijf

keer lager spuivolume is de  $N_{\max}$  voor *Aeromonas* dus ongeveer 300 keer lager. Bij beide verdunningen is er weinig verschil tussen het ongefiltreerde spuiwater en de fractie  $< 30 \mu\text{m}$ . In alleen drinkwater kan *Aeromonas* zich niet handhaven en daalt de concentratie snel tot onder de detectiegrens van 0,1 kve/ml.

In het water uit Kralingen vindt alleen sterke groei van *Aeromonas* plaats bij een 1:1 verdunning van de  $< 30 \mu\text{m}$ -fractie, al ligt de  $N_{\max}$  ruim een log lager dan bij Braakman (340 kve/ml). Bij een 1:9 verdunning kan *Aeromonas* in de eerste dag licht groeien, waarna de bacterie afsterft. In tegenstelling tot Braakman vindt er in verdund ongefiltreerd spuiwater geen groei plaats en is het verloop van de *Aeromonas*-aantallen vergelijkbaar met die van het drinkwater (alleen de beginaantallen *Aeromonas* zijn hoger bij verdund ongefiltreerd spuiwater dan in drinkwater). De *Aeromonas*-aantallen blijven gedurende enkele dagen stabiel waarna *Aeromonas* afsterft. Hierbij is de afsterving sneller in de 1:9 verdunning vergeleken met de 1:1 verdunning. In drinkwater sterft *Aeromonas* af tot onder de detectielimiet na vier dagen.

In het water uit het voorzieningsgebied van de Berenplaat is het beeld tegenovergesteld aan Kralingen. *Aeromonas* kan wel groeien en zich handhaven in het 1:1 verdunde ongefiltreerde spuiwater van de Berenplaat, maar groeit nauwelijks in een 1:1 verdunning van de  $< 30 \mu\text{m}$ -fractie. In beide typen spuiwater blijven de aantallen bij de 1:9 verdunning constant tijdens de eerste dag, hierna nemen de aantallen sterk af. Ook hier vindt er geen groei van *Aeromonas* plaats in drinkwater van Berenplaat en nemen de aantallen direct af na inoculatie.

De analyse van het spuisediment van de drie locaties (Bijlage I, Tabel 7) laat zien dat in het sediment van Braakman vrijwel geen ongewervelde dieren aanwezig zijn, in tegenstelling tot het sediment van Berenplaat en Kralingen. In de groeiproeven groeit *Aeromonas* echter in drinkwater met daaraan gedoseerd spuiwater van alle drie de locaties. Groei van *Aeromonas* kan dus optreden in afwezigheid van microscopisch telbare ongewervelde dieren wat erop wijst dat het sediment stoffen bevat die groei van *Aeromonas* bevordert. De lage TOC-waarde van spuiwater, vergeleken met drinkwater van Braakman, suggereert dat een groot deel van het spuiwater, en dus sedimentvolume van Braakman, uit anorganisch materiaal bestaat en niet uit organische bestanddelen zoals bijvoorbeeld ongewervelde dieren. De lage TOC komt overeen met de hydrobiologische analyse dat er heel weinig ongewervelde dieren aanwezig zijn in het sediment. Groei van *Aeromonas* is in (spui)water van Braakman wel mogelijk, maar als in het distributienet de gehalten ongewervelde dieren inderdaad lager zijn dan Kralingen en Berenplaat, kan dit verklaren waarom in de praktijk minder groei optreedt.



FIGUUR 12. *AEROMONAS* GROEI-PROEVEN IN DRINKWATER WAARAAN GEEN SPUIWATER (1:0) OF SPUIWATER IN EEN 1:1 OF 1:9 VERDUNNING AAN IS TOEGEVOEGD. SPUIACTIES ZIJN UITGEVOERD OP 13 JUNI 2017.

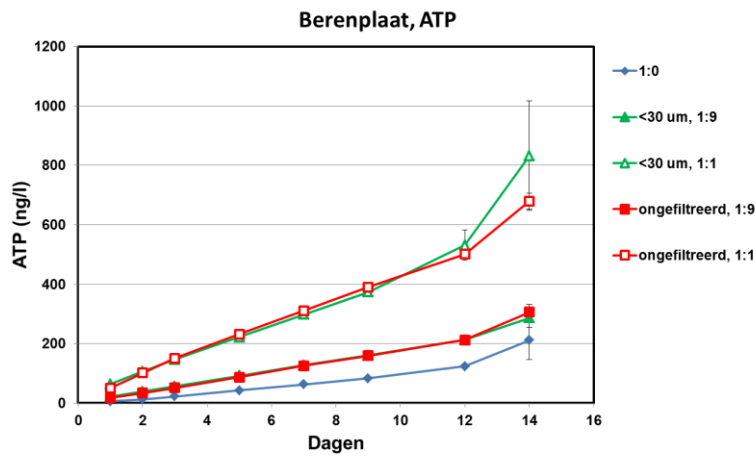
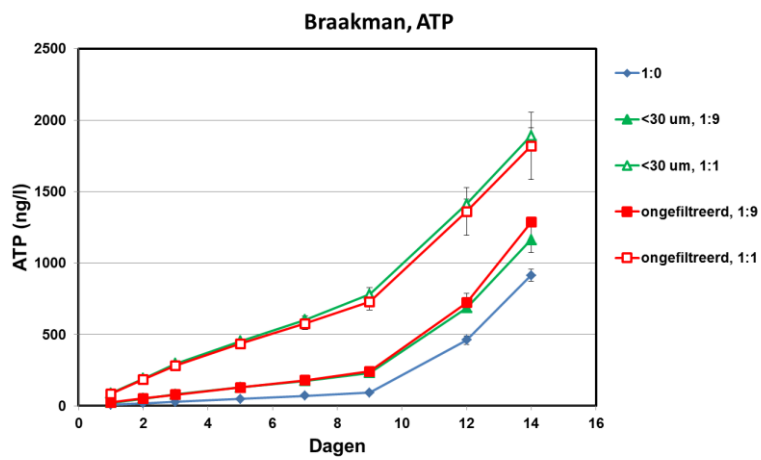
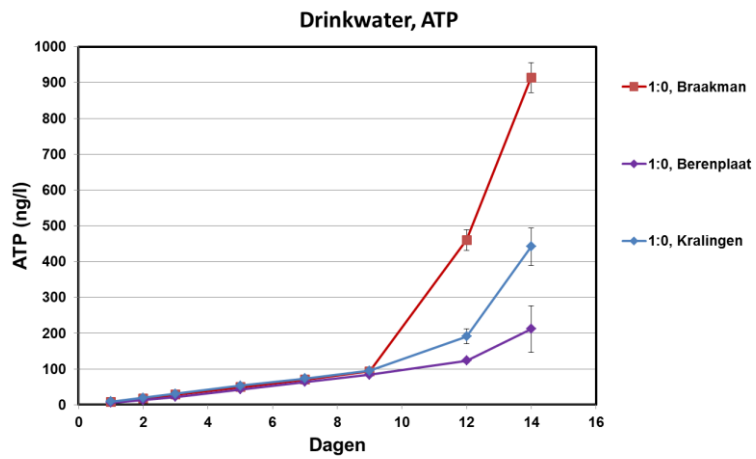
TABEL 8. AEROMONAS-AANTAL OP T<sub>0</sub> EN DE GROEIMAXIMA (N<sub>max</sub>) VAN DE AEROMONASGROEIPROEVEN UIT FIGUUR 12.

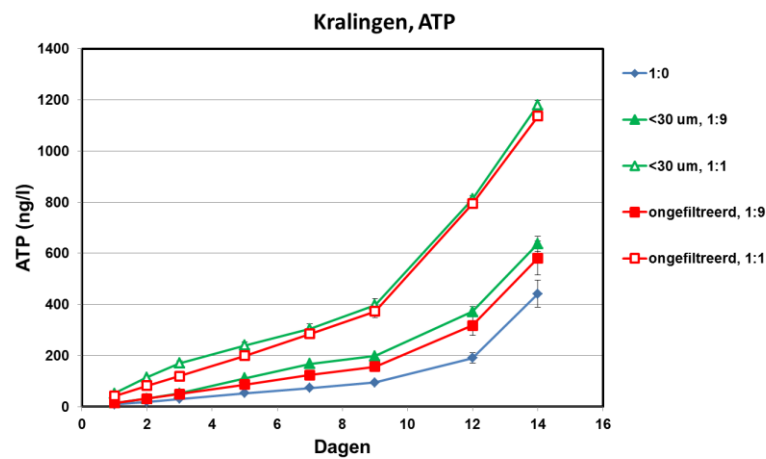
T <sub>0</sub> - N <sub>max</sub> (kve/ml)	Braakman	Berenplaat	Kralingen
1:1	7 - 8	7 - 7	8 - 12
<30 µm, 1:9	8 - 38	8 - 12	12 - 25
<30 µm, 1:1	9 - 7100	9 - 27	26 - 340
ongefiltreerd, 1:9	9 - 42	8 - 10	16 - 20
ongefiltreerd, 1:1	7 - 8100	8 - 120	33 - 45

Van alle groeiproeven is naast het *Aeromonas* aantal ook het ATP gehalte bepaald, wat een maat is voor de gehele actieve biomassa (Figuur 13). Opvallend is dat groei in drinkwater in de groeiproef in juni 2017 veel sterker is dan in BPP-testen met water uit het distributiegebied van Berenplaat (uitgevoerd in 2015 – 2016, BPP-test drinkwater Malisingel: BP7 7,2 – 19,4 ng ATP/l; Gekroonde Haringpad: BP7 11 – 23,1; BTO 2018.031). Opvallend zijn ook de grote verschillen in de BPC14-waarden van het drinkwater. De BPC14 waarden van Braakman (913,8 ng/l) en Kralingen (441,7 ng/l) zijn hoger (Malisingel en Gekroonde Haringpad: 134,6 – 304,5 ng/l). De BPC14 van drinkwater van Berenplaat (211,3 ng/l) is wel vergelijkbaar. Met name de BP7 en BPC14 waarden van IJzendijke, Braakman, vallen op. Het is onduidelijk waarom deze locatie zo sterk afwijkt. De erg hoge BP7 waarden, vergeleken met de normale BPP-test, worden mogelijk veroorzaakt door dosering van ammonium aan de groeiproeven waardoor nitrificerende bacteriën kunnen gaan groeien. Dit zou met een specifieke qPCR getest kunnen worden, of door de groeiproef uit te voeren zonder dosering van ammonium. Een andere optie is dat het drinkwater is bemonsterd in AOC-vrije flessen waarvan de dop niet AOC-vrij kan worden gemaakt. Mogelijk is hieruit tijdens het transport van het water stoffen opgelost in het water waarop bacteriën kunnen groeien. Aanvullend onderzoek zou hier duidelijkheid over moeten geven.

Met name na dag 9 is de groei in de huidige groeiproef erg sterk. Dit suggereert dat er in het water stoffen vrijkomen uit de afstervende *Aeromonas*.

In alle groeiproeven is de microbiële groeisnelheid van dag 1 t/m dag 9, alsook de N<sub>max</sub> op dag 14 het hoogst voor drinkwater waaraan spuiwater, ongefiltreerd of de < 30 µm-fractie, is gedoseerd in een 1:1 verdunning. Hierbij is er geen onderscheid tussen de twee spuiwaterfracties. Bij de 1:9 verdunning is de groeisnelheid van dag 1 t/m dag 9 lager, evenals de N<sub>max</sub> die op dag 14 minder hoog is. In de monsters met spuiwater en/of drinkwater van Braakman is de groeisnelheid van dag 9 t/m 14 is wel vergelijkbaar met de groeisnelheid van dag 9 t/m 14 van het drinkwater waaraan 1:1 spuiwater (ongefiltreerd en < 30 µm) is toegevoegd of het drinkwater zonder toevoeging. Voor Berenplaat en Kralingen lijkt de groeisnelheid van dag 9 t/m 14 wel lager te zijn voor 1:9 verdund spuiwater dan voor 1:1 verdund spuiwater. Voor groei van de algehele bacteriepopulatie is er geen verschil tussen het ongefiltreerde spuiwater en de <30 µm fractie. Dit wijst erop dat de groeistoffen in de <30 µm fractie aanwezig zijn en dat dit ook de belangrijkste fractie is.





FIGUUR 13. ATP GEHALTE IN DE *AEROMONAS* GROEIPROEF IN DRINKWATER WAARAAN GEEN SPUIWATER (1:0) OF SPUIWATER IN EEN 1:1 OF 1:9 VERDUNNING AAN IS TOEGEVOEGD. GEGEVEN IS HET GEMIDDELDE VAN TWEE GROEIPROEVEN MET DE STANDAARDDEVIATIE. SPUIACTIES ZIJN UITGEVOERD OP 13 JUNI 2017.

TABEL 9. BP7 EN BPC14 WAARDEN VAN DE *AEROMONAS* GROEIPROEVEN. GEGEVEN IS DE GEMIDDELDE BP7 EN BPC14 VAN TWEE GROEIPROEVEN MET DE STANDAARDDEVIATIE EN DE BPC14 TOENAME IN DE GROEIPROEVEN MET SPIUWATER TEN OPZICHTE VAN DE GROEIPROEF IN DRINKWATER. SPIUACTIES ZIJN UITGEVOERD OP 13 JUNI 2017.

		BP-7		BPC-14		BPC14 toename
		ng ATP/l	SD	Σ14 (d.ng ATP/l)	SD	Σ14 (d.ng ATP/l)
Braakman	1:1	11,5	1,8	913,8	42,2	
	<30 µm, 1:9	31,0	2,3	1162,9	89,8	249
	<30 µm, 1:1	111,6	1,3	1890,7	54,6	977
	ongefiltreerd, 1:9	28,7	0,2	1284,9	36,5	371
	ongefiltreerd, 1:1	106,0	5,2	1818,6	235,1	905
Berenplaat	1:1	10,6	0,4	211,3	64,6	
	<30 µm, 1:9	18,8	1,7	287,2	32,9	76
	<30 µm, 1:1	44,6	1,4	701,7	185,0	491
	ongefiltreerd, 1:9	20,1	1,3	306,5	25,3	20
	ongefiltreerd, 1:1	52,6	2,0	679,2	27,3	468
Kralingen	1:1	11,8	0,6	441,7	52,5	
	<30 µm, 1:9	41,1	1,6	637,3	29,3	195
	<30 µm, 1:1	65,1	0,0	1180,5	16,8	739
	ongefiltreerd, 1:9	20,4	2,7	581,6	66,3	140
	ongefiltreerd, 1:1	45,1	0,1	1136,9	0,1	695

### 3.2 Groeiproef met drinkwater en spuiwater van drie locaties in september 2017

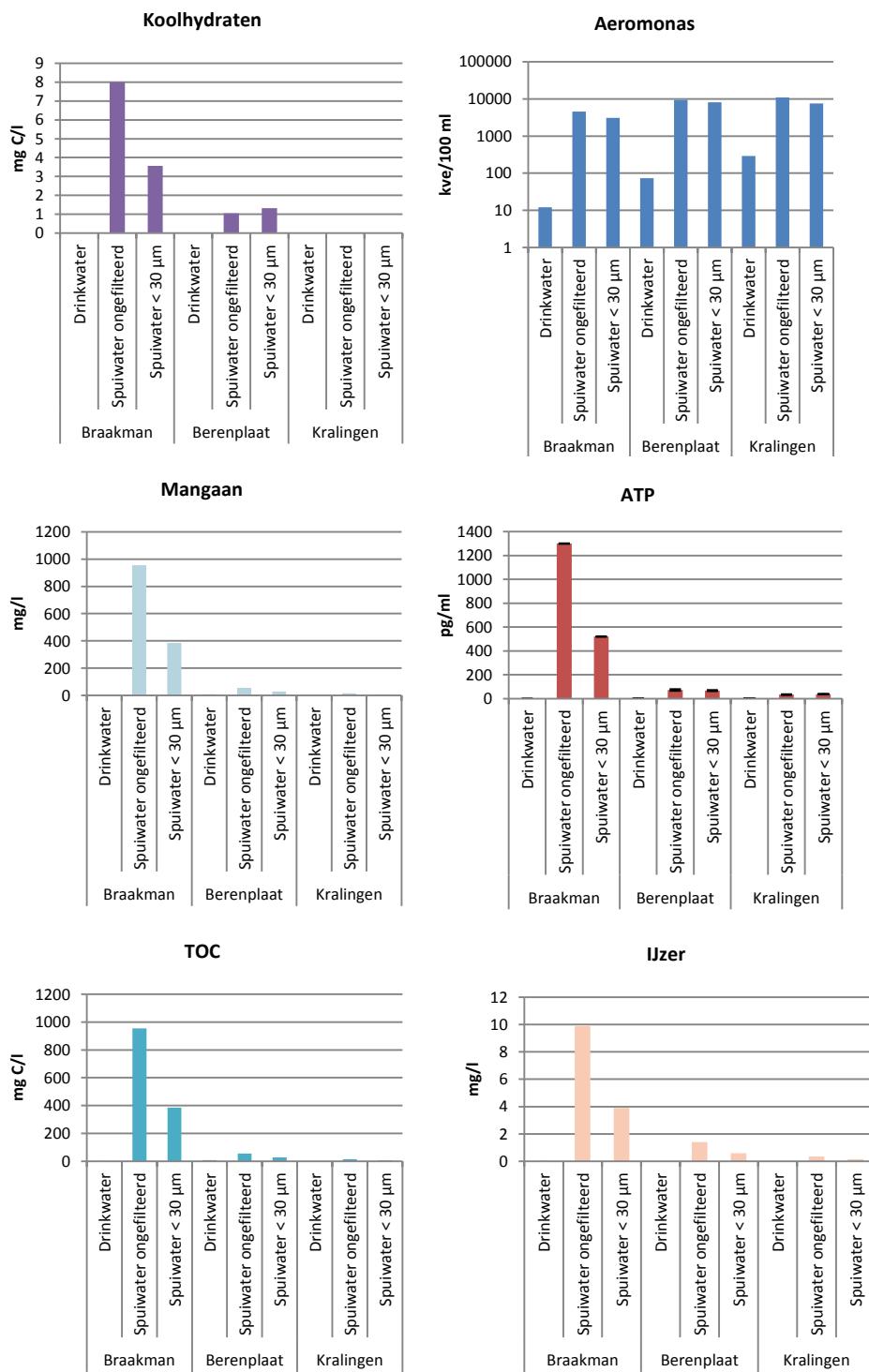
#### 3.2.1 Microbiologische en chemische analyse van het water

*Aeromonas* is in het drinkwater van Braakman en Berenplaat, bemonsterd in september 2017, in lage aantallen aanwezig, in Kralingen zijn de aantallen hoger maar deze zijn nog steeds onder de wettelijke norm (Tabel 10, Figuur 14). Vergelijkbaar met de vorige spuiacties zijn de *Aeromonas*-aantallen in het spuiwater hoger, waarbij in het ongefiltreerde spuiwater de aantallen licht hoger zijn dan in het spuiwater < 30 µm. In tegenstelling tot de spuiacties in juni 2017, lijkt *Aeromonas* nu meer geassocieerd te zijn met deeltjes > 30 µm. Het ATP gehalte is laag in drinkwater (< 4 ng ATP/l) en hoog in spuiwater (> 30 ng ATP/l). Bij Braakman zijn de ATP-concentraties van het spuiwater veruit het hoogst. Hetzelfde geldt voor het TOC-gehalte en de ijzerconcentraties in het water. De koolhydratenconcentratie is onder de detectiegrens in het drinkwater van alle drie de locaties. In Kralingen is de koolhydratenconcentratie in het spuiwater ook onder de detectiegrens, in het spuiwater van Braakman en Berenplaat is de koolhydratenconcentratie wel boven de detectiegrens. Mangaan is laag in het drinkwater van Kralingen en Braakman, maar verhoogd in het drinkwater van Berenplaat. In het spuiwater zijn de concentraties verhoogd, waarbij het ongefiltreerde spuiwater 2-3 keer hogere mangaanconcentratie heeft dan de < 30 µm fractie. Ammonium is onder de detectiegrens of aanwezig in erg lage concentraties in het drinkwater. In Kralingen en Berenplaat geldt hetzelfde voor de concentraties in het spuiwater. Bij Braakman zijn de ammoniumconcentraties licht verhoogd.

TABEL 10. MICROBIOLOGISCHE, CHEMISCHE EN HYDROBIOLOGISCHE ANALYSE VAN HET DRINKWATER EN SPUIWATER BEMONSTERD OP 21 SEPTEMBER 2017. IN BIJLAGE I IS IN DETAIL WEERGEGEVEN WELKE ONGEWERVELDE DIEREN ZIJN GEVONDEN EN HOE DE BIOMASSA IN MG/M<sup>3</sup> IS BEREKEND. HET TOTALE SEDIMENTVOLUME (> 30 UM FRACTIE, SPUIWATER ONGEFILTREERD), EN HET SEDIMENT IN DE FRACTIE 30-100 UM (SPUIWATER < 30 UM) ZIJN GEGEVEN.

		<i>Aeromonas</i>	ATP	Koolhydraten	TOC	IJzer	Mangaan	Ammonium	Biomassa	Sedimentvolume in 1000 L spuiwater ml
		kve/100 ml	pg/ml	mg C/l	mg C/l	mg/l	µg/l	mg NH <sub>4</sub> -N/l	mg/m <sup>3</sup>	
Braakman	Drinkwater	12	1 ± 0	<0.8	1,9	0,03	1	<0.015		
	Spuiwater ongefiltreerd	4600	1300 ± 2,2	8	21	9,9	955	0,076	135,29	71,6
	Spuiwater < 30 µm	3100	520 ± 2,4	3,56	9,3	3,9	385	0,039		65,9
Berenplaat	Drinkwater	74	3,9 ± 1	<0.8	1,8	0,02	7,5	0,016		
	Spuiwater ongefiltreerd	9400	72 ± 7,4	1,04	3,6	1,4	55	0,018	46,29	14,6
	Spuiwater < 30 µm	8200	67 ± 5	1,32	2,6	0,58	27	<0.015		2,9
Kralingen	Drinkwater	290	3,3 ± 0,3	<0.8	1,8	0,02	<0.6	<0.015		
	Spuiwater ongefiltreerd	11000	34 ± 4	<0.8	2,3	0,35	15	<0.015	106,02	2,7
	Spuiwater < 30 µm	7500	38 ± 0,89	<0.8	5,5	0,14	5,5	<0.015		1,1





FIGUUR 14. MICROBIOLOGISCHE EN CHEMISCHE ANALYSE VAN SPUIWATER EN DRINKWATER BEMONSTERD OP 21 SEPTEMBER 2017 OP LOCATIES IN DE VOORZIENINGSGBIEDEN VAN BRAAKMAN, BERENPLAAT EN KRALINGEN. DE EXACTE RESULTATEN ZIJN WEERGEGEVEN IN TABEL 10.

### 3.2.2 *Aeromonas* groeiproeven van spuiactie 21 september 2017

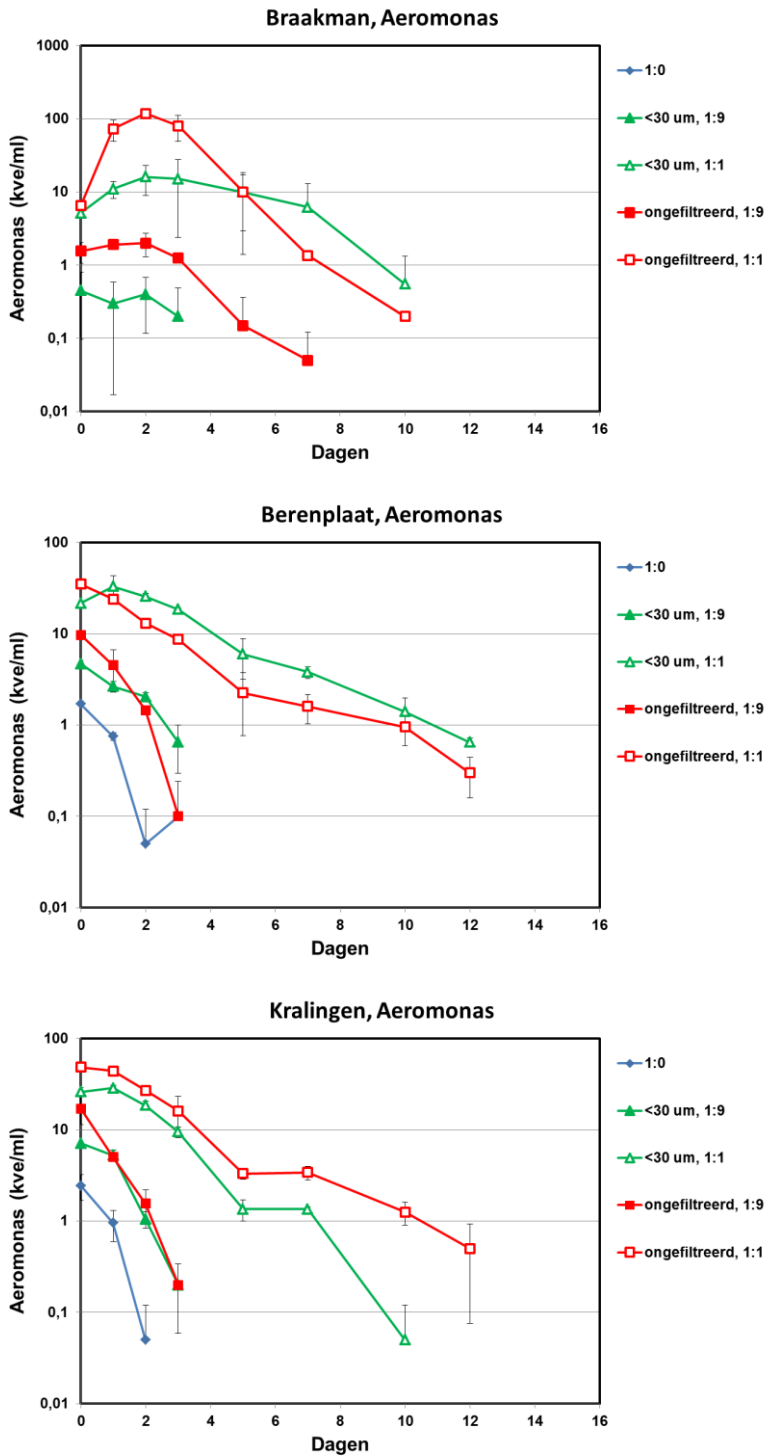
Door de hoge aantallen natuurlijke *Aeromonas* in het spuiwater van 21 september 2017 van alle drie de locaties, zijn bij de start van de groeiproeven waar spuiwater aan is toegevoegd de *Aeromonas*-aantallen hoger dan de dosering (Figuur 15).

*Aeromonas* groeit in drinkwater van Braakman waaraan 1:1 spuiwater is gedoseerd (Figuur 15). In de andere kolven is er nauwelijks tot geentoe name van *Aeromonas* ten opzicht van dag 0 (Tabel 11). De sterkste groei vindt plaats bij een 1:1 dosering van ongefiltreerd spuiwater. Hierin groeit *Aeromonas* ruim 1 log tot 118 kve/ml (Tabel 11) in 2 dagen voordat de populatie afsterft. Bij 1:1 dosering van de fractie < 30 µm groeit *Aeromonas* ongeveer 0,5 log tot 16 kve/100 ml (Tabel 11) in 2 dagen voordat de populatie afsterft. Bij de 1:9 dosering vindt er geen (< 30 µm spuiwater) tot zeer beperkte groei (ongefiltreerd spuiwater) plaats en sterft de *Aeromonas* populatie snel af. Ondanks dosering van *Aeromonas* op dag 0 aan alle flessen, is er geen groei zichtbaar in de fles met alleen drinkwater.

Bij de groeiproeven met water uit Kralingen en Berenplaat vindt alleen in de 1:1 verdunning van spuiwater < 30 µm zeer beperkte groei plaats. Bij de andere condities is geen groei van *Aeromonas* zichtbaar en sterft *Aeromonas* meteen af met een vrij constante snelheid (Figuur 15). De afsterving gaat het snelst in drinkwater en bij de 1:9 verdunning van spuiwater. Bij de 1:1 verdunning verloopt de afsterving minder snel.

Door de dosering van spuiwater aan drinkwater (1:1 of 1:9), zijn natuurlijke *Aeromonas*-bacteriën uit het distributienet in de groeiproef aanwezig. Hierdoor is het aantal *Aeromonas* op t=0 hoger in drinkwater waaraan spuiwater is gedoseerd dan in drinkwater, wat duidelijk te zien is in de grafieken op dag 0 (Tabel 11). Aangezien in de meeste groeiproeven nauwelijks tot geen groei plaats vindt, zijn de *Aeromonas*-aantallen op dag 0 vaak (bijna) gelijk aan de Nmax.

De groei van *Aeromonas* is in deze serie groeiproeven alleen hoog op ongefiltreerd spuiwater van Braakman. Desondanks is groei van *Aeromonas* in ongefiltreerd en < 30 µm spuiwater (1:1) van Braakman lager dan in de eerdere groeiproef in juni 2017. In het water van de andere locaties is er niet tot nauwelijks groei, terwijl in de groeiproef van juni 2017 wel beperkte groei waargenomen werd. In het algemeen kan worden geconcludeerd dat het sediment van de distributiesystemen van Kralingen en Berenplaat niet tot nauwelijks groei veroorzaken van *Aeromonas*, terwijl het sediment uit het distributienet van Braakman dit wel doet. De groeipotentie voor *Aeromonas* van het sediment uit het distributiegebied van Braakman is dus hoger dan van de andere twee locaties.



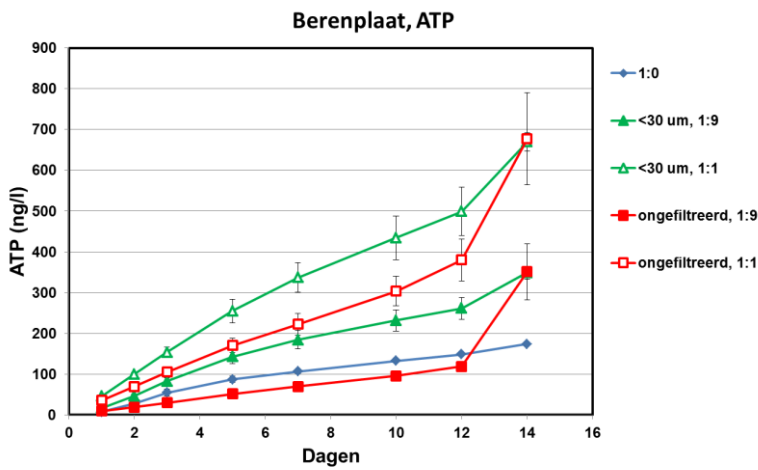
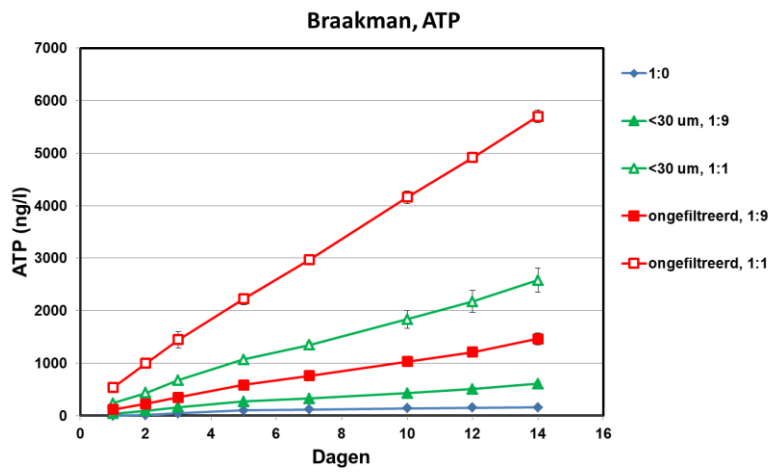
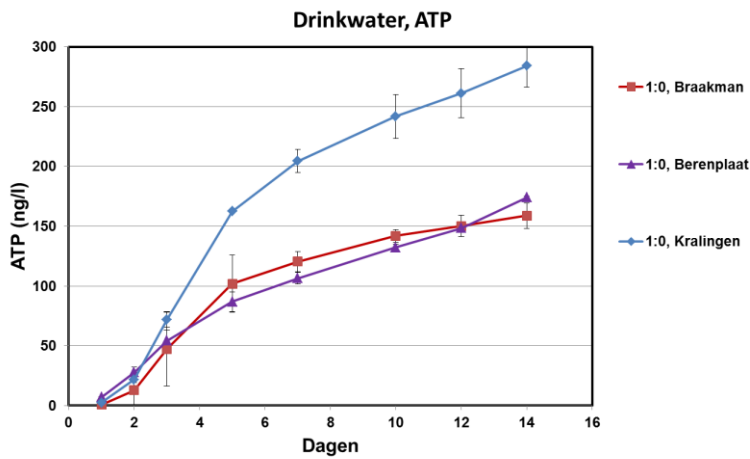
FIGUUR 15. *AEROMONAS* GROEI-PROEVEN IN DRINKWATER WAARAAN GEEN SPUIWATER (1:0) OF SPUIWATER IN EEN 1:1 OF 1:9 VERDUNNING AAN IS TOEGEVOEGD. SPUIACTIES ZIJN UITGEVOERD OP 21 SEPTEMBER 2017.

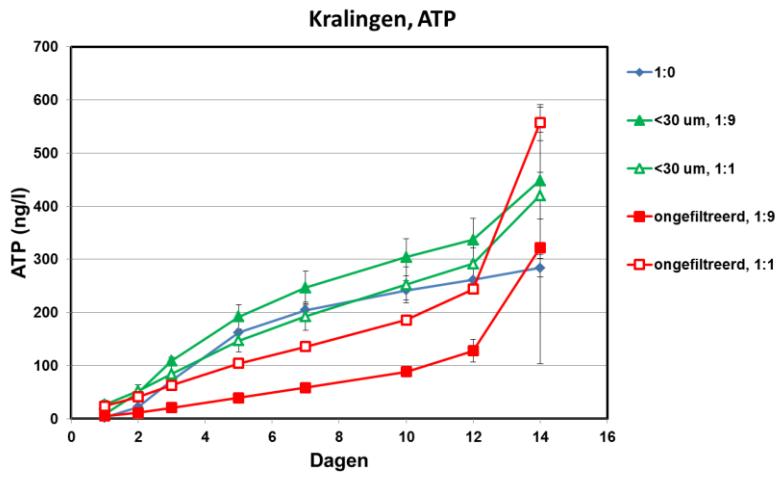
TABEL 11. AEROMONAS-AANTAL OP  $T_0$  EN DE GROEIMAXIMA ( $N_{MAX}$ ) VAN DE AEROMONASGROEIPROEVEN UIT FIGUUR 15.

$T_0 - N_{max}$ (kve/ml)	Braakman	Berenplaat	Kralingen
1:1	0 - 0	2 - 2	3 - 3
<30 $\mu\text{m}$ , 1:9	1 - 0,5	5 - 5	7 - 7
<30 $\mu\text{m}$ , 1:1	5 - 16	22 - 33	26 - 29
ongefiltreerd, 1:9	2 - 2	10 - 10	17 - 17
ongefiltreerd, 1:1	7 - 117,5	35 - 35	49 - 49

Tijdens de groeiproeven is naast het *Aeromonas*-aantal ook het ATP-gehalte bepaald (Figuur 16). Vergelijkbaar met de eerste groeiproef in juni 2017 is ook hier de groei van ATP in alleen drinkwater sterker dan wat normaal in de BPP-test wordt gemeten aan drinkwater van deze locaties dat is bemonsterd aan de tap na doorstroming. In deze experimenten is de groei het sterkst tussen dag 2 en 4, wat wijst op de aanwezigheid van voornamelijk gemakkelijk afbreekbare stoffen. In juni vond de sterkste groei plaats in de tweede week van de groeiproef, in september is de sterkste groei zichtbaar in de eerste week. Dit wijst erop dat in september meer gemakkelijk afbreekbare stoffen in het water aanwezig zijn, en in juni meer moeilijk afbreekbare stoffen. In dit geval zorgt dosering van ammonium voor normale BP7 waarden en niet de erg hoge waarden die in juni werden gevonden. Dit suggereert dat de dosering van ammonium niet de oorzaak is van de hogere BP7 en BPC-14 waarden in juni. Aanvullend onderzoek zou hier duidelijkheid over moeten geven.

Groei op drinkwater met spuiwater uit Braakman is ook in deze groeiproef 5-10x hoger dan op drinkwater met spuiwater uit Berenplaat en Kralingen. In water uit Braakman en Berenplaat is groei het snelst op drinkwater waaraan spuiwater, ongefiltreerd of de < 30  $\mu\text{m}$ -fractie, is gedoseerd in een 1:1 verdunning. Bij Braakman geeft het ongefiltreerde spuiwater de sterkste groei, bij Berenplaat is dit de < 30  $\mu\text{m}$  fractie van het spuiwater. Opvallend is dat groei in drinkwater uit Kralingen gedurende de eerste 12 dagen hoger is dan wanneer ongefiltreerd spuiwater wordt gedoseerd. Groei is het sterkst op <30  $\mu\text{m}$  spuiwater, waarbij de 1:9 verdunning een licht betere groeirespons geeft dan de 1:1 verdunning. De toevoeging van het spuiwater uit Kralingen lijkt de groei van micro-organismen in het begin van de groeiproef dus licht te remmen. Tussen dag 12 en dag 14 is de groei in 1:1 verdund ongefiltreerd spuiwater echter erg sterk en hoger dan de < 30  $\mu\text{m}$  fractie. Dit geldt ook voor de ATP toename in drinkwater 1:1 en 1:9 verdund met ongefiltreerd spuiwater van Berenplaat.





FIGUUR 16. ATP GEHALTE IN DE *AEROMONAS* GROEI-PROEF , GESTART NA DE SPUI-ACTIE VAN 21 SEPTEMBER 2017. GEGEVEN IS HET GEMIDDELD VAN TWEE GROEI-PROEVEN MET DE STANDAARD-DEVIATIE.

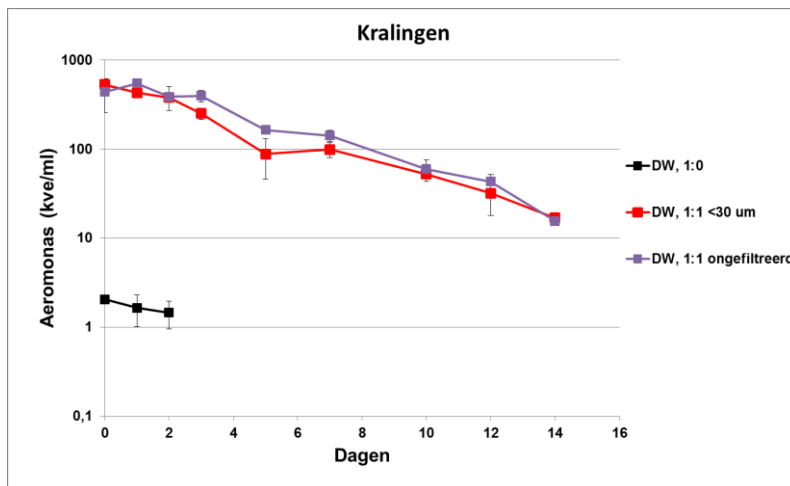
TABEL 12. BPC14 WAARDEN VAN DE *AEROMONAS* GROEIPROEVEN UIT FIGUUR 16. GEGEVEN IS DE GEMIDDELDE BP7 EN BPC14 VAN TWEE GROEIPROEVEN MET DE STANDAARDDEVIATIE EN DE BPC14 TOENAME IN DE GROEIPROEVEN MET SPUIWATER TEN OPZICHTE VAN DE GROEIPROEF IN DRINKWATER. DE BIJBEHORENDE SPUIACTIE IS UITGEVOERD OP 21 SEPTEMBER 2017.

		BP-7		BPC-14		BPC14 toename Σ14 (d.ng ATP/l)
		ng ATP/l	SD	Σ14 (d.ng ATP/l)	SD	
Braakman	1:1	45,6	0,6	158,7	10,8	
	<30 µm, 1:9	71,6	2,1	606,2	41,5	448
	<30 µm, 1:1	283,8	37,7	2581,4	226,2	2423
	ongefiltreerd, 1:9	147,1	5,0	1462,4	111,7	1306
	ongefiltreerd, 1:1	589,1	11,5	5701,5	114,9	5543
Berenplaat	1:1	30,4	6,4	174,0	1,2	
	<30 µm, 1:9	36,5	3,3	348,7	16,2	175
	<30 µm, 1:1	66,7	15,9	685,9	22,5	512
	ongefiltreerd, 1:9	12,4	0,1	351,0	68,5	177
	ongefiltreerd, 1:1	39,8	4,0	676,9	112,7	564
Kralingen	1:1	64,0	2,4	284,0	17,9	
	<30 µm, 1:9	71,0	0,4	448,2	138,6	164
	<30 µm, 1:1	38,7	2,4	419,9	43,5	136
	ongefiltreerd, 1:9	10,9	2,4	321,4	218,1	37
	ongefiltreerd, 1:1	30,2	5,3	557,1	33,6	273

### 3.3 Groeiproef met drinkwater en spuiwater van Kralingen in augustus 2017

Vanwege het uitvallen van de groeiproef met radardieren en de bijbehorende controle (beschreven in paragraaf 3.4), is de groeiproef met drinkwater waaraan spuiwater is toegevoegd herhaald in augustus voor de locatie van Kralingen. Aan het drinkwater van Kralingen is spuiwater < 30 µm of ongefiltreerd spuiwater (beide uit Kralingen) in een 1:1 verdunding gedoseerd.

In tegenstelling tot de eerdere groeiproeven met drinkwater en spuiwater van Kralingen vindt nu geen (beperkte) groei van *Aeromonas* plaats en is de afsterving langzamer dan in de twee eerdere groei-experimenten met drinkwater/spuiwater verzameld in juni en september 2017. Daarnaast is de afsterving van *Aeromonas* in het ongefiltreerde spuiwater en de < 30 µm fractie nu gelijk aan elkaar (Figuur 17).



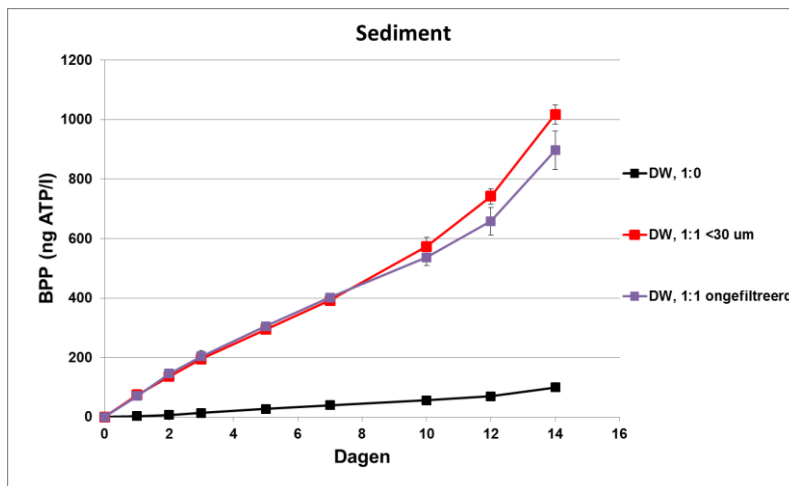
FIGUUR 17. *AEROMONAS* GROEI-PROEVEN MET DRINKWATER GEEN SUIWATER (1:0) OF SUIWATER IN EEN 1:1 VERDUNNING AAN IS TOEGEVOEGD. GEGEVEN IS HET GEMIDDELDE VAN TWEE GROEI-PROEVEN MET DE STANDAARD DEVIATIE VOOR DE CONTROLES.

TABEL 13. BIOMASSAGEHALTE EN SEDIMENTVOLUME VAN DE SUIACTIE IN KRALINGEN IN AUGUSTUS 2017.

Kralingen	Drinkwater	Biomassa	Sediment volume
		mg/m <sup>3</sup>	ml
	Spuiwater ongefiltreerd	1016,8	41
	Spuiwater < 30 µm		12

In Kralingen is het totale sedimentvolume 41 ml (Tabel 13), waarvan 12 ml (29,3%) bestaat uit deeltjes < 30 µm. Naar verwachting zou de ATP toename bij dosering van spuiwater < 30 µm lager zou moeten zijn dan bij dosering van ongefiltreerd spuiwater. Dit is echter niet het geval. De ATP-curves zijn gelijk voor de groeiproeven met 1:1 verdund spuiwater. Gedurende de eerste tien dagen vind redelijk sterke lineaire groei plaats, waarna exponentiële groei wordt waargenomen vanaf dag 10. Dit verschilt van de eerdere groeiproeven met water van Kralingen. In juni werd waargenomen dat de groei voornamelijk plaatsvond na 9 dagen, terwijl in september exponentiële groei werd waargenomen in de eerste week. De BPC14-waarde is in dit experiment iets lager dan de groeiproef in juni 2017, maar hoger dan de groeiproef in september 2017.





FIGUUR 18. ATP-GEHALTE VAN DE *AEROMONAS* GROEIPROEVEN MET DRINKWATER WAARAAN GEEN SPUIWATER (1:0) OF SPUIWATER IN EEN 1:1 VERDUNNING AAN IS TOEGEVOEGD. GEGEVEN IS HET GEMIDDELDE VAN TWEE GROEIPROEVEN MET DE STANDAARD DEVIATIE VOOR DE CONTROLES

TABEL 14. BP7 EN BPC14 WAARDEN VAN DE *AEROMONAS* GROEIPROEVEN UIT FIGUUR 18. GEGEVEN IS DE GEMIDDELDE BP7 EN BPC14 VAN TWEE GROEIPROEVEN MET DE STANDAARDDEVIATIE. DE 'SW, 1:0' CONDITIE (ALLEEN ONGEFILTREERD SPUIWATER) IS TOEGEVOEGD AAN DE TABEL TER VERGELIJKING.

	BP-7		BPC-14	
	ng ATP/l	SD	Σ14 (d.ng ATP/l)	SD
DW, 1:0	7,0	0,4	99,5	13,5
SW, 1:0	197,7	10,2	1980,1	78,6
1:1, <30 µm	86,3	17,2	1017,1	32,0
1:1, ongefiltreerd	84,4	3,6	896,5	64,9

### 3.4 Groeiproeven met ongewervelde dieren geïsoleerd uit Kralingen, augustus 2017

De *Aeromonas*-aantallen in het drinkwater uit Kralingen, bemonsterd op 31 augustus 2017, zijn ongeveer even hoog als in juni en overschrijden de wettelijk norm niet (Tabel 15). In beide soorten spuiwater (ongefiltreerd en < 30 µm) zijn de aantallen in augustus ongeveer 1 log hoger dan in juni. Het ATP-gehalte van het drinkwater is ongeveer even hoog als in juni. In het ongefiltreerde spuiwater is het ATP-gehalte hoog (110 ng/l), dat ruim twee keer zo hoog was dan in juni en in de < 30 µm fractie is de ATP concentratie nog hoger (260 ng/l), dat ruim zes keer zo hoog was dan in juni. De biologische activiteit in het sediment is dus duidelijk hoger in augustus dan in juni. De TOC-concentratie in drinkwater is vergelijkbaar met de TOC-concentratie in juni. In spuiwater is het TOC-gehalte verhoogd (3,8 tot 4,1 mg C/l), waar dit in juni niet het geval was. IJzer en mangaan zijn in lage concentraties aanwezig in het drinkwater, maar vergelijkbaar met de spuiactie in september 2017 is de concentratie in het spuiwater is erg hoog. Ammonium is alleen aanwezig in het spuiwater < 30 µm.

TABEL 15. MICROBIOLOGISCHE, CHEMISCHE EN HYDROBIOLOGISCHE ANALYSE VAN HET DRINKWATER EN SPUIWATER BIJ DE SPUIACTIE IN DELFT, SPUIACTIES UITGEVOERD IN AUGUSTUS 2017. DE HYDROBIOLOGISCHE GEGEVENS ZIJN OOK GEGEVEN IN TABEL 13. HET TOTALE SEDIMENTVOLUME (> 30 UM FRACTIE, SPUIWATER ONGEFILTREERD), EN HET SEDIMENT IN DE FRACTIE 30-100 UM (SPUIWATER < 30 UM) ZIJN GEGEVEN.

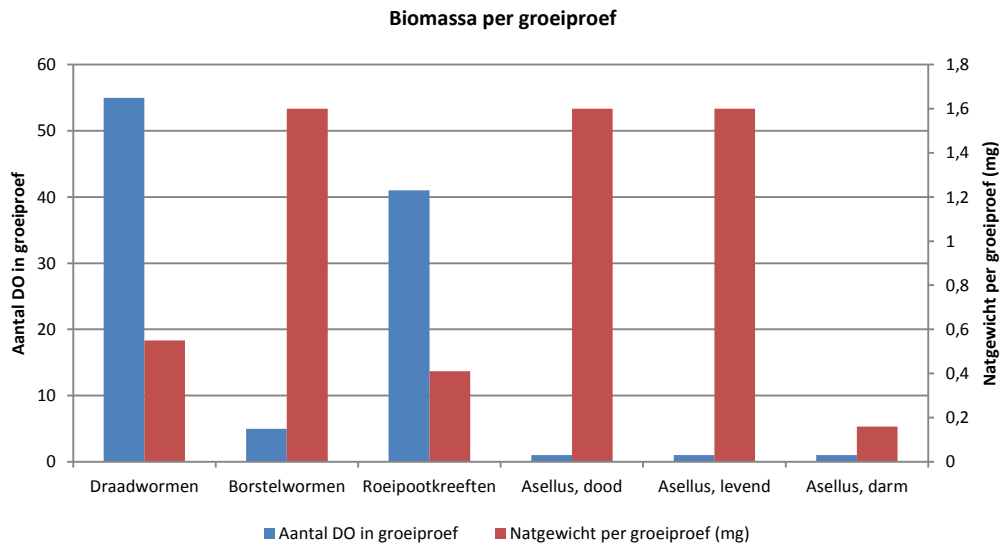
	<i>Aeromonas</i>	ATP	Koolhydraten	TOC	IJzer	Mangaan	Ammonium	Biomassa	Sediment volume
	kve/100 ml	pg/ml	mg C/l	mg C/l	mg/l	µg/l	mg NH <sub>4</sub> -N/l	mg/m <sup>3</sup>	ml
Drinkwater	280	4,7±2,2	<0,8	1,8	0,03	1,6	<0,015		
Spuiwater ongefiltreerd	36000	110±1,5	1,2	3,8	1,1	53	<0,015	1016,8	41
Spuiwater < 30 µm	67000	260±3,8	1,72	4,1	1,8	81	0,033		12

Van de draadwormen, borstelwormen en roeipootkreeften zijn de *Aeromonas*-aantallen in en op deze ongewervelde dieren bepaald (Tabel 16). Er waren niet genoeg waterpissebedden over om ook de *Aeromonas*-aantallen van de waterpissebedden te bepalen. Uit eerder onderzoek is echter bekend dat de aantallen in waterpissebedden sterk kan variëren van 0 tot 10<sup>9</sup> kve/*Asellus* (KWR 2017.021). In Tabel 16 is ook aangegeven hoeveel *Aeromonas*-bacteriën aan de groeiproef worden toegevoegd via de dosering van de ongewervelde dieren. Deze aantallen komen overeen met het aantal *Aeromonas*-bacteriën dat via 10 ml spuiwater wordt toegevoegd aan het water en deze aantallen zijn beperkt.

TABEL 16. AANTAL *AEROMONAS* BACTERIËN IN DE VERSCHILLENDE ONGEWERVELDE DIEREN EN HET *AEROMONAS* AANTAL DAT DOOR DOSERING VAN DE ONGEWERVELDE DIEREN OF SPUIWATER < 10 UM AAN DE GROEIPROEF WORDT TOEGEVOEGD. HET AANTAL *AEROMONAS* BACTERIËN DAT WORDT TOEGEVOEGD DOOR DOSERING VAN 10 ML SPUIWATER < 10 UM IS BEPAALD MET HET GEMIDDELDE VAN DE *AEROMONAS* AANTALLEN IN ONGEFILTREERD SPUIWATER EN SPUIWATER < 30 UM (TABEL 15).

<i>Aeromonas</i>	Draadwormen	Borstelwormen	Roeipootkreeften	Spuiwater
kve/organisme	49,1	960	3,8	-
kve/groeiproef	2700	4800	154	5150
kve/ml in groeiproef	4,5	8,0	0,3	8,6

Groei van *Aeromonas* wordt beïnvloed door zowel het soort organismen dat is toegevoegd als de hoeveelheid biomassa die is gedoseerd. Vanwege de lage opbrengst van ongewervelde dieren uit het spuimonster en het koolfiltraat is niet van elk dierlijke organisme het equivalent van 1,6 mg natgewicht, het gemiddelde gewicht van één *Asellus* (communicatie Aqualab Zuid), gedoseerd (Tabel 4, Figuur 19). Van de borstelwormen, levende *Asellus* en dode *Asellus* is het wel gelukt om een gelijke hoeveelheid biomassa van 1,6 mg natgewicht te doseren. De biomassa van één darm is lager dan de biomassa van één hele *Asellus*, maar omdat in beide groeiproeven één darm wordt toegevoegd (geïsoleerd of als onderdeel van een *Asellus*) zijn ze in dit opzicht vergelijkbaar. Door het effect van één hele *Asellus* op groei van *Aeromonas* te vergelijken met de invloed van één darm, kan na worden gegaan wat de invloed is van de rest van de *Asellus* op *Aeromonas* groei. De biomassa van de gedoseerde draadwormen en roeipootkreeften is lager dan 1,6 mg, respectievelijk 0,55 mg en 0,41 mg.



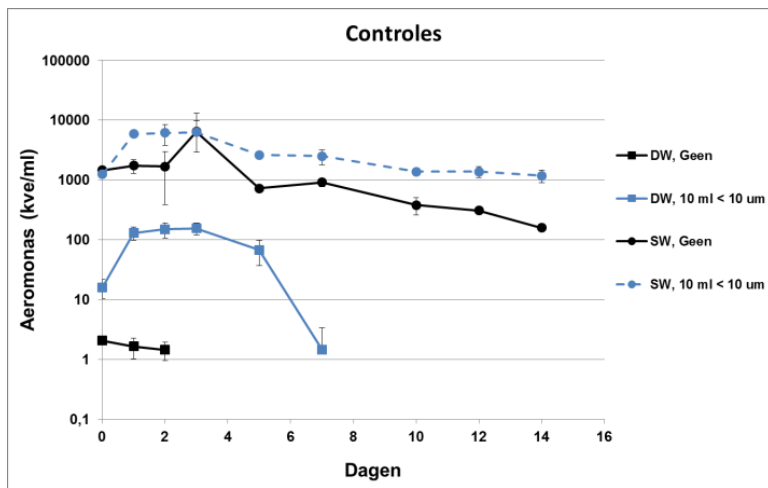
FIGUUR 19. BIOMASSA VAN ONGEWERVELDE DIEREN PER GROEIPROEF.

### 3.4.1 *Aeromonas*

#### 3.4.1.1 Controles

Voor de *Aeromonas* groeiproeven met ongewervelde dieren zijn vier controlecondities getest: drinkwater, drinkwater met 1:60 verdund spuiwater < 10 µm, spuiwater en spuiwater met 1:60 verdund spuiwater < 10 µm. Hieraan zijn geen ongewervelde dieren gedoseerd, maar wel het spuiwater < 10 µm waarin de dieren worden toegevoegd aan de groeiproef. Naast de ongewervelde dieren kan ook de kleine hoeveelheid spuiwater die tegelijk met de ongewervelde dieren wordt toegevoegd de groei van *Aeromonas* mogelijk stimuleren. De groeiproeven met ongewervelde dieren moeten dus vergeleken worden met deze controle (drinkwater of spuiwater met 1:60 verdund spuiwater < 10 µm) en niet met de conditie zonder de 10 ml spuiwater < 10 µm.

*Aeromonas* groeit niet in drinkwater zonder dosering van spuiwater of ongewervelde dieren en binnen drie dagen zijn de aantallen gedaald tot onder de detectiegrens (Figuur 20). In de controle waaraan spuiwater < 10 µm is toegevoegd worden *Aeromonas*-bacteriën die aanwezig zijn in het spuiwater gedoseerd, wat leidt tot hogere *Aeromonas*-aantallen op t=0. *Aeromonas* groeit in het drinkwater met 1:60 verdund spuiwater relatief snel en na 24 uur zijn de aantallen met ongeveer 1 log toegenomen, waarna de aantallen stabiel blijven tot dag 3 tot 5. Na dag 3 tot 5 nemen de *Aeromonas*-aantallen af. In spuiwater < 30 µm zijn de *Aeromonas*-aantallen op dag 0 ongeveer 3 log hoger dan in drinkwater (Figuur 25). Extra dosering van 10 ml spuiwater < 10 µm heeft hier geen invloed op. In spuiwater vindt echter nauwelijks groei plaats (0,5 log toename op dag 3) en *Aeromonas* sterft na dag 7 geleidelijk af. Vrijwel dezelfde groeicurve is zichtbaar bij dosering van 10 ml spuiwater < 10 µm. Het enige verschil is dat *Aeromonas* al op dag 1 met ongeveer 0,5 log toeneemt. Afsterving van *Aeromonas* is vergelijkbaar.



FIGUUR 20. *AEROMONAS* GROEIPROEVEN IN DRINKWATER EN SPUIWATER < 30 µM ZONDER DOSERING VAN ONGEWERVELDE DIEREN. WEERGEGEVEN IS HET GEMIDDELDE VAN TWEE GROEIPROEVEN MET DE STANDAARD DEVIATIE.

### 3.4.1.2 Ongewervelde dieren

#### *Borstelwormen*

Dosering van borstelwormen aan drinkwater geeft in één van de kolven 2 log hogere aantallen bij de start op dag 0, terwijl de andere gelijk is aan de controle met spuiwater < 10 µm (Figuur 21). In beide kolven stijgen de *Aeromonas*-aantallen binnen één dag zeer snel tot  $3,2 \times 10^4$  –  $1,2 \times 10^5$  kve/ml (Tabel 17). In spuiwater met borstelwormen wordt op dag 1 ongeveer dezelfde  $N_{max}$  bereikt ( $9,8 \times 10^4$  kve/ml). Zowel in drinkwater als spuiwater leiden de borstelwormen tot hogere *Aeromonas* aantallen dan in de controles waaraan 10 ml spuiwater < 10 µm is gedoseerd. Borstelwormen geven dus waarschijnlijk voedingsstoffen af aan het water, waarop *Aeromonas*-bacteriën kunnen groeien. Ondanks het grote verschil in het aantal *Aeromonas*-bacteriën op dag 0 liggen de  $N_{max}$  waarden relatief dicht bij elkaar. Na de *Aeromonas*-piek op dag 1 of 2 nemen de aantallen *Aeromonas* in het drinkwater en spuiwater met borstelwormen af. Deze afsterving van *Aeromonas* in spuiwater is echter beperkt, terwijl deze in drinkwater zeer sterk is.

#### *Draadwormen*

Dosering van draadwormen aan drinkwater leidt vrijwel meteen tot een sterke daling van het *Aeromonas* aantal. In spuiwater stijgt het aantal *Aeromonas*-bacteriën licht waarna het aantal langzaam daalt gedurende de 14 dagen incubatie (Figuur 21, Tabel 17). De afsterving in drinkwater met draadwormen is ongeveer even snel als de afsterving in de controle (DW, 10 ml < 10 µm). In spuiwater verloopt de groei en afsterving van *Aeromonas* ook gelijk aan die van de controle (SW, 10 ml < 30 µm). Draadwormen scheiden in drinkwater dus geen stoffen uit waarop *Aeromonas* kan groeien. Aan de hand van deze resultaten kan niet worden geconcludeerd of dit ook in spuiwater het geval is.

#### *Roeipootkreeften*

Dosering van roeipootkreeften aan drinkwater leidt tot groei van *Aeromonas* in de eerste drie dagen waarna *Aeromonas* snel afsterft (Figuur 21, Tabel 17). De groei van *Aeromonas* in drinkwater met roeipootkreeften is hoger dan bij de controle (DW, 10 ml < 10 µm). In spuiwater, waar roeipootkreeften aan zijn toegevoegd, verloopt de groei van *Aeromonas*

gelijk aan de controle. Roeipootkreeften lijken dus voedingsstoffen te bevatten die *Aeromonas* kan gebruiken voor groei. Het stimulerende effect op groei van *Aeromonas* is echter beperkt aangezien de toevoeging van roeipootkreeften alleen leidt tot verhoogde groei in drinkwater en niet in spuiwater.

#### *Asellus*

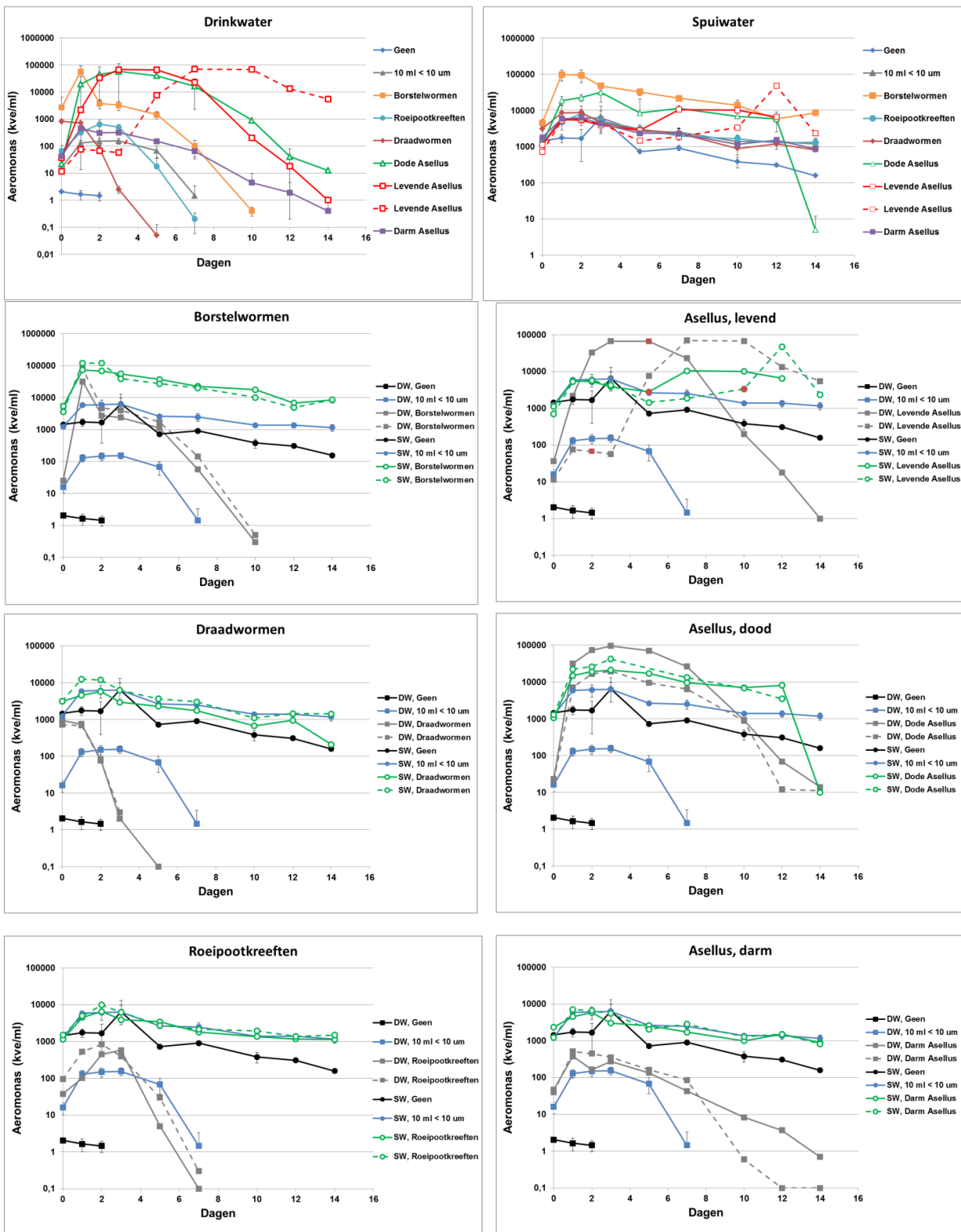
Dosering van *Asellus* (dood of levend) aan drinkwater leidt tot de sterkste groeirespons van *Aeromonas* vergeleken met de doseringen van de andere ongewervelde dieren aan drinkwater (Figuur 21, Tabel 17). In één van de twee kolven met drinkwater waar een levende *Asellus* is toegevoegd, stijgen de *Aeromonas*-aantallen direct vanaf dag 0 tot de  $N_{\max}$  op dag 3, terwijl de *Asellus* pas op dag 5 overlijdt. In de andere kolf waar een levende *Asellus* is toegevoegd, stierf *Asellus* op dag 2 en pas daarna treedt eenzelfde sterke groei op als in de andere kolf en worden uiteindelijk na zeven dagen vergelijkbare aantallen *Aeromonas* behaald als in de andere kolf waar een levende *Asellus* aan drinkwater werd toegevoegd. In spuiwater waar een levende *Asellus* aan is toegevoegd, is nauwelijks tot geen effect van *Asellus* op groei van *Aeromonas* zichtbaar zolang de toegevoegde *Asellus* in leven blijft. Pas na de dag van overlijden van *Asellus*, dag 5 en 10, stijgen de *Aeromonas*-aantallen in de groeiproeven met spuiwater en *Asellus* tot boven de controle. De respons van het *Aeromonas*-aantal op het overlijden van een *Asellus* varieert in dit onderzoek en tussen de verschillende onderzoeken (KWR 2017.021, Hijnen et al., 1992). Echter, een toename van het *Aeromonas*-aantal na het overlijden van de *Asellus* wordt vaker waargenomen dan dat er geen toename zichtbaar is. De groei en  $N_{\max}$  van *Aeromonas* zijn hoger in drinkwater dan in spuiwater met een levende *Asellus*. Dit beeld komt overeen met eerdere groeiproeven (KWR 2017.021). Een mogelijke verklaring is dat in spuiwater meer micro-organismen aanwezig zijn waarmee *Aeromonas* competeert en dus minder sterk kan groeien dan in drinkwater. Een andere mogelijkheid is dat de stoffen die in spuiwater uit een *Asellus* vrijkomen aan het sediment hechten. Omdat deze stoffen niet in de waterfase aanwezig zijn, zijn deze mogelijk minder goed bereikbaar voor *Aeromonas*. In drinkwater blijven deze stoffen wel in oplossing.

Dosering van een dode *Asellus* aan drinkwater en spuiwater leidt tot sterke groei van *Aeromonas* die ruim boven de controles uitkomt. De  $N_{\max}$  is ongeveer gelijk tussen de groeiproeven in drinkwater en spuiwater. De hierboven genoemde mogelijkheid, dat stoffen uit een overleden *Asellus* aan het sediment hechten, treedt dus niet op indien een dode *Asellus* aan drinkwater of spuiwater wordt toegevoegd en is er dus een verschil tussen een dode en levende *Asellus*. Nadat de  $N_{\max}$  is bereikt op dag 3, nemen de *Aeromonas*-aantallen weer af. Deze afsterving van *Aeromonas* is sneller in drinkwater dan in spuiwater. Dit komt overeen met eerdere groeiproeven waarbij een dode *Asellus* in spuiwater hogere aantallen geeft en een levende *Asellus* in drinkwater de sterkste groei geeft (KWR 2017.021).

Dosering van een darm van *Asellus* aan drinkwater resulteert in beperkte groei van *Aeromonas* gedurende de eerste dag (1 log toename). De  $N_{\max}$  was daarbij 0,5 log boven de controle, maar op  $t=0$  waren de *Aeromonas*-aantallen in het drinkwater met de *Asellus*-darm ook 0,5 log hoger dan de controle. De afsterving is gelijk of minder snel dan bij de controle. Het lijkt er dus op dat het toevoegen van de darm aan drinkwater niet leidt tot groei van *Aeromonas*. In spuiwater is de *Aeromonas* groeicurve gelijk aan de controle en is dus ook geen effect van de *Asellus*-darm op groei van *Aeromonas* zichtbaar. Er is dus geen bewijs gevonden voor eerdere hypothese dat de *Asellus*-darm hoge aantallen *Aeromonas* bevat die vrijkomen in het water en voor een snelle stijging van het *Aeromonas* aantal in het water zorgen (KWR 2017.021).

### *Correctie voor biomassa*

Van draadwormen, roeipootkreeften en de darm van een *Asellus* is een lagere biomassa gedoseerd aan de groeiproef dan bij dosering van een *Asellus*. Dit kan effect hebben op de beschikbare hoeveelheid nutriënten die vrij kan komen uit de dieren. Als de  $N_{\max}$  voor dit verschil in biomassa wordt gecorrigeerd (Tabel 18), zijn de *Aeromonas*-aantallen in drinkwater nog steeds lager dan de *Aeromonas*-aantallen die in aanwezigheid van een levende of dode *Asellus* worden behaald. In spuiwater zijn de gecorrigeerde  $N_{\max}$  voor de draadwormen en roeipootkreeften hoger dan de  $N_{\max}$  van een levende *Asellus*, maar lager dan de  $N_{\max}$  van een dode *Asellus*. Deze resultaten suggereren dat mogelijk de *Aeromonas* groeipotentie van de draadwormen en roeipootkreeften overeenkomen met die van *Asellus*. Aanvullende experimenten zijn echter nodig om dit te bevestigen.



FIGUUR 21. AEROMONAS-GROEI-PROEVEN MET ONGEWERVELDE DIEREN.

TABEL 17. GROEIMAXIMUM ( $N_{MAX}$ ) VAN DE *AEROMONAS*-GROEIPROEVEN UIT FIGUUR 20 EN FIGUUR 21.

$N_{max}$	Drinkwater (kve/ml)	Spuiwater (kve/ml)
Geen	$2,1 \times 10^0$	$6,4 \times 10^3$
10 ml < 10 $\mu$ m	$1,6 \times 10^2$	$6,3 \times 10^3$
Borstelwormen	$5,7 \times 10^4$	$9,8 \times 10^4$
Roeipootkreeften	$6,5 \times 10^2$	$8,2 \times 10^3$
Draadwormen	$8,2 \times 10^2$	$8,8 \times 10^3$
Dode <i>Asellus</i>	$5,8 \times 10^4$	$3,2 \times 10^4$
Levende <i>Asellus</i>	$4,7 \times 10^4$	$6,8 \times 10^3$
Darm <i>Asellus</i>	$4,5 \times 10^2$	$6,3 \times 10^3$

TABEL 18. CORRECTIE VAN DE  $N_{MAX}$ , TEN OPZICHTE VAN DE BLANCO (DOSERING VAN 10 ML SPUIWATER < 10  $\mu$ m), VOOR HET VERSCHIL IN GEDOSEERDE BIOMASSA.

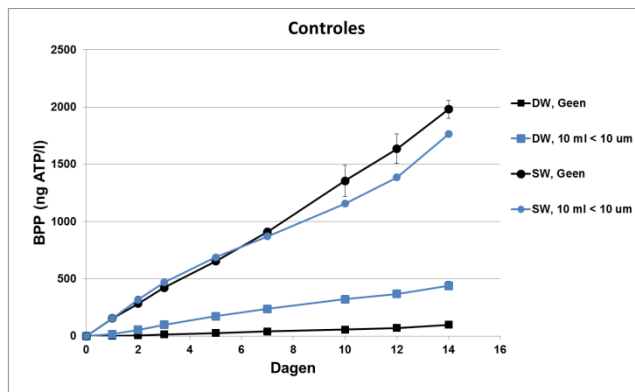
	Fractie natgewicht van <i>Asellus</i>	$N_{max}$ (kve/ml), t.o.v blanco		$N_{max}$ (kve/ml), tov blanco, gecorrigeerd voor biomassa	
		Drinkwater	Spuiwater	Drinkwater	Spuiwater
Draadwormen	0,34	668	2450	1942	7127
Borstelwormen	1,00	56420	91425	56420	91425
Roeipootkreeften	0,26	490	1900	1912	7415
<i>Asellus</i> , dood	1,00	57595	25175	57595	25175
<i>Asellus</i> , levend	1,00	46345	425	46345	425
<i>Asellus</i> , darm	0,10	293	-50	2925	-500

### 3.4.2 Biomassa

#### 3.4.2.1 Controle

Van de groeiproeven met water waaraan de verschillende ongewervelde dieren zijn toegevoegd, is ook het ATP-gehalte bepaald. Van de controles is op spuiwater de snelste microbiële groei waargenomen (Figuur 22). Groei in spuiwater waaraan 10 ml < 10  $\mu$ m spuiwater is gedoseerd was gedurende de eerste vijf dagen vergelijkbaar, daarna was de microbiële groei iets trager dan de groei in spuiwater zonder dosering. In het drinkwater is het verschil in microbiële groei tussen wel of geen dosering van 10 ml < 10  $\mu$ m spuiwater groter. Het toegevoegde spuiwater aan drinkwater leidt tot sterkere groei van micro-organismen.





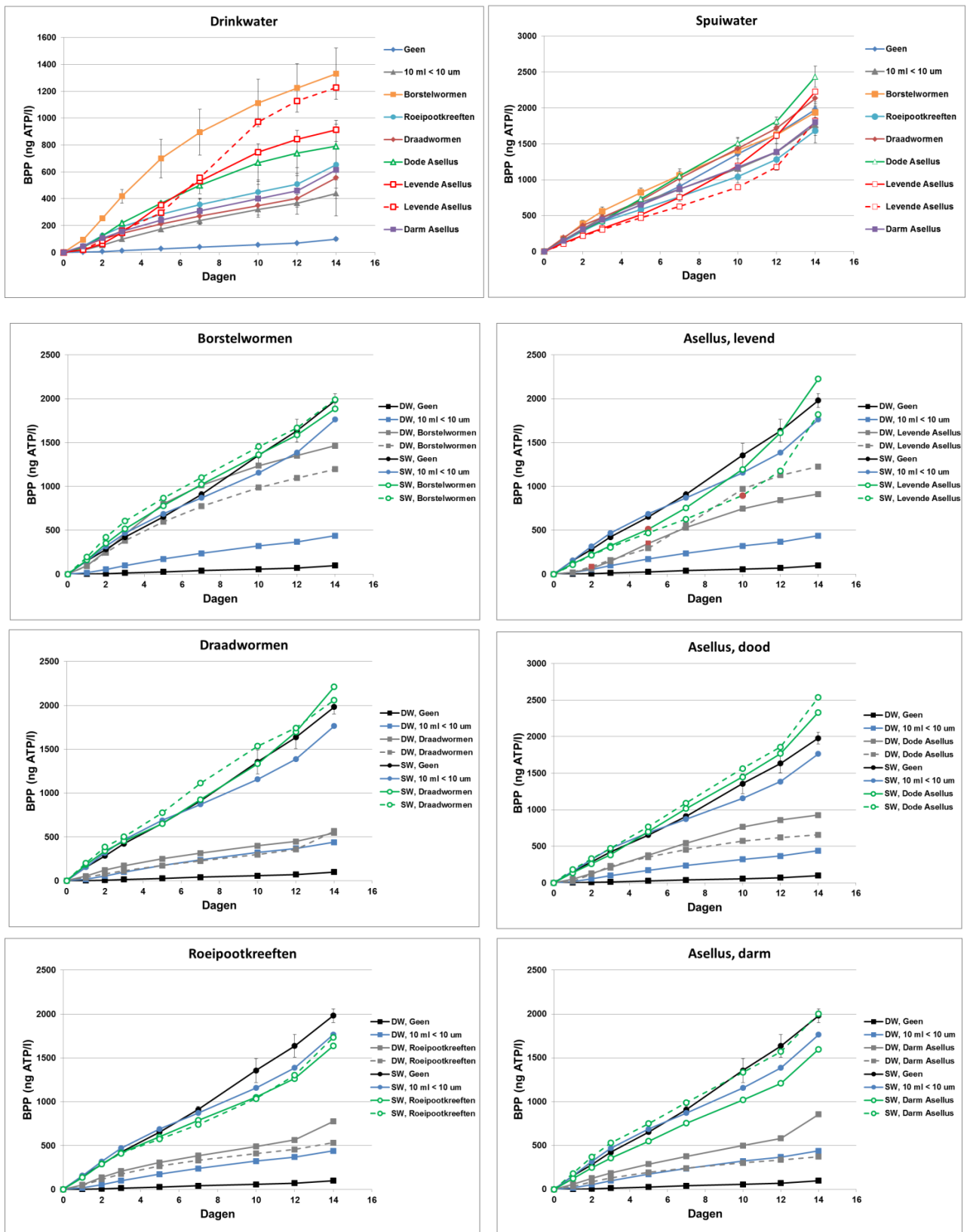
FIGUUR 22. ATP GEHALTE IN DE *AEROMONAS* GROEIPROEF MET ONGEWERVELDE DIEREN. WEERGEGEVEN IS HET GEMIDDELDE VAN TWEE GROEIPROEVEN MET DE STANDAARD DEVIATIE.

### 3.4.2.2 Ongewervelde dieren

In drinkwater leidt dosering van alle ongewervelde dieren tot meer microbiële groei dan de controles (Figuur 23). De borstelwormen resulteert in de meeste microbiële groei, gevolgd door de levende en dode *Asellus*. De microbiële groei in drinkwater met roeipootkreeften, de darm van een *Asellus* en, met name, draadwormen is niet veel hoger dan de microbiële groei in de controle. Van de roeipootkreeften, draadwormen en darm van *Asellus* is echter ook minder biomassa toegevoegd dan van borstelwormen en *Asellus*, wat waarschijnlijk invloed heeft op de groei. Na correctie voor de lagere hoeveelheid gedoseerde biomassa (Tabel 19), is de ATP-toename bij roeipootkreeften hoger dan een levende *Asellus* (832 vs 630 ng/l), maar bij draadwormen nog steeds lager (335 vs 630 ng/l).

In spuiwater zijn de verschillen kleiner. Een aantal ongewervelde dieren (dode *Asellus*, borstelwormen en draadwormen), die zijn toegevoegd aan spuiwater, leiden tot een licht hogere microbiële groei dan de controle (SW, geen). In de groeiproeven met een levende *Asellus*, roeipootkreeften of de darm van een *Asellus* is even veel of minder microbiële groei zichtbaar dan in de controles. Correctie voor de gedoseerde biomassa (Tabel 19) geeft een erg hoog ATP-gehalte op dag 14 voor draadwormen vergeleken met een levende *Asellus* (1077 vs 260 ng/l), maar een erg laag gehalte voor roeipootkreeften (-316 vs 260 ng/l).

Opvallend is dat de ongewervelde dieren die toegevoegd aan drinkwater tot veel microbiële groei leiden, dat niet altijd in spuiwater doen. Een levende *Asellus* zorgt bijvoorbeeld voor duidelijk hogere microbiële groei in drinkwater, maar in spuiwater is er nauwelijks verschil met de controle zonder *Asellus*. Roeipootkreeften toegevoegd aan drinkwater resulteert ook in hogere microbiële groei dan in de controle, maar in het spuiwater is de microbiële groei met roeipootkreeften iets lager dan in de controle. Dit verschil wordt mogelijk veroorzaakt door de hoge groeipotentie van het spuiwater ten opzichte van de groeipotentie van de ongewervelde dieren. Daardoor wordt de groeipotentie van het spuiwater niet veel verhoogd door toevoeging van ongewervelde dieren en is het effect op de microbiële groei beperkt.



FIGUUR 23. ATP GEHALTE IN DE *AEROMONAS* GROEIPROEF MET ONGEWERVELDE DIEREN. GEGEVEN IS HET GEMIDDELDE VAN TWEE GROEIPROEVEN VOOR DE CONTROLES (DW, GEEN; DW 10 ML < 10 UM; SW, GEEN; SW, 10 ML < 10 UM) MET DE STANDAARDDEVIATIE. VAN DE ANDERE GROEIPROEVEN ZIJN DE ATP-CURVES

VAN BEIDE GROEIPROEVEN WEERGEGEVEN. DE 10 ML < 10 UM CONTROLE VAN SPUIWATER (GRIJZE DRIEHOEK) LOOPT GELIJK OP MET DE DARM VAN *ASELLUS* (PAARSE VIERKANT) EN IS DAAROM MOEILIJK ZICHTBAAR.

TABEL 19. CORRECTIE VAN HET GEMIDDELDE ATP-GEHALTE OP DAG 14, TEN OPZICHTE VAN DE BLANCO (DOSERING VAN 10 ML SPUIWATER < 10 UM), VOOR HET VERSCHIL IN GEDOSEERDE BIOMASSA.

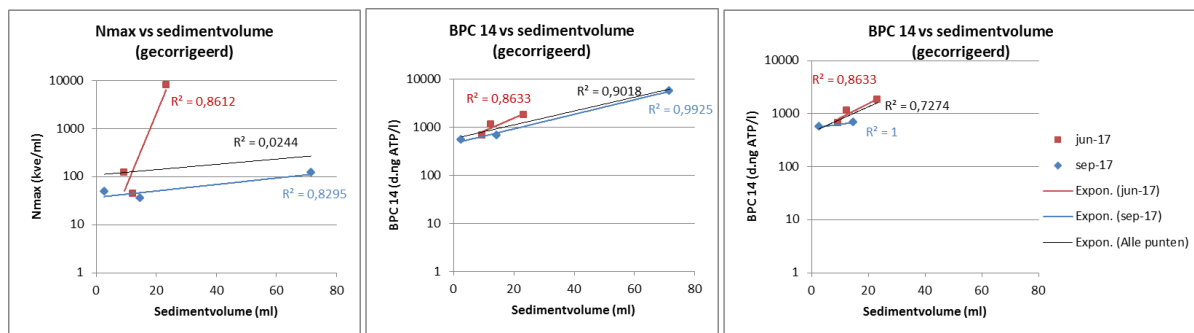
	fractie natgewicht van <i>Asellus</i>	ATP, dag 14 tov blanco		ATP, dag 14, gecorrigeerd voor biomassa	
		Drinkwater	Spuiwater	Drinkwater	Spuiwater
<b>Draadwormen</b>	0,34	115	370	335	1077
<b>Borstelwormen</b>	1,00	891	175	891	175
<b>Roeipootkreeften</b>	0,26	213	-81	832	-316
<i>Asellus</i> , dood	1,00	351	670	351	670
<i>Asellus</i> , levend	1,00	630	260	630	260
<i>Asellus</i> , darm	0,10	175	36	1747	358

## 4 Discussie

### 4.1 Relatie sedimentvolume en groei van *Aeromonas* in groeiproeven

In de groeiproeven met daaraan gedoseerd 1:1 ongefiltreerd spuiwater verschilt de groei van *Aeromonas* duidelijk tussen de drie locaties. In juni vindt de sterkste groei plaats op spuiwater afkomstig van Braakman, gevolgd door Kralingen en Berenplaat. In september is de groei ook het sterkst in het spuiwater van Braakman, terwijl in het spuiwater van Berenplaat en Kralingen geen groei plaats vindt. Dezelfde rangschikking geldt ook voor de ATP toename in de groeiproeven: in Braakman is in beide groeiproeven de ATP toename het grootst, in juni is de ATP toename groter in Kralingen dan in Berenplaat terwijl er in september geen duidelijk verschil is.

De ATP toename en groei van *Aeromonas* komt overeen met de hoeveelheid sedimentvolume die in het spuiwater aanwezig was. In juni 2017 is in Braakman het totale sedimentvolume (per 1000 liter spuiwater) het hoogst (23,3 ml; Tabel 7), in Kralingen (12,3 ml) en Berenplaat (9,4 ml) is deze lager. Ook in september 2017 is het totale sedimentvolume in Braakman het hoogst (71,6 ml; Tabel 10) en is deze in Berenplaat (14,6 ml) en Kralingen (2,7 ml) lager. In Braakman wordt er door dosering van spuiwater aan de groeiproef dus ook meer sediment toegevoegd dan bij de andere locaties. Omdat het sediment nutriënten bevat voor microbiële groei, is de verwachting dat groei sterker is bij een groter sedimentvolume. Dit blijkt ook als de  $N_{\max}$  en BPC14-waarden worden uitgezet tegen het sedimentvolume (Figuur 24). Er is een duidelijke correlatie tussen de  $N_{\max}$  van *Aeromonas* en het sedimentvolume als de spuiacties op dezelfde dag zijn uitgevoerd. Er is geen correlatie als de resultaten van juni en september 2017 tegelijk met het sedimentvolume vergeleken worden. De BPC 14 waarden zijn ook sterk gecorreleerd aan het sedimentvolume.



FIGUUR 24. VERGELIJKING VAN  $N_{\max}$  (LINKS) EN BPC 14 (MIDDEN EN RECHTS) MET HET SEDIMENTVOLUME (GECORRIGEERD VOOR HET SPUIVOLUME). IN DE RECHTER GRAFIEK IS HET HOGE PUNT VAN SEPTEMBER 2017 VERWIJDERD OM OOK DE CORRELATIE BIJ LAGERE SEDIMENTVOLUMES TE BEREKENEN. DE GETALLEN VAN DE GROEIPROEVEN MET DRINKWATER EN 1:1 ONGEFILTREERD SPUIWATER ZIJN GEBRUIKT VOOR DEZE GRAFIEKEN.

De sterke correlatie van de  $N_{\max}$  en BPC14-waarden met het sedimentvolume laten zien dat de groei in de groeiproeven sterk beïnvloed wordt door het sedimentvolume dat in het spuiwater aanwezig is. Daardoor kunnen de resultaten van Braakman, Berenplaat en Kralingen onderling niet goed met elkaar vergeleken worden. Opgemerkt moet wel worden dat uit de troebelheidsmetingen van juni 2017 (Bijlage II) blijkt dat er tijdens het spuien af en toe sedimentpieken uit de brandkraan komen. Het is goed mogelijk dat bij Braakman een

dergelijke piek is meegenomen, maar bij de andere twee locaties niet. In september 2017 is in de eerste periode van het spuien de troebelheid vergelijkbaar groot tussen de drie locaties, maar het is mogelijk dat sommige monsters zijn genomen in de aflopende troebelheidsperiode waardoor er verschillen in de sedimentvolumes op kunnen treden. Het exacte moment van monsternamen, ten opzichte van de troebelheid is helaas niet te achterhalen. Wanneer dergelijke experimenten in de toekomst worden uitgevoerd is het dus van belang om het tijdstip van spuiwaterbemonstering te noteren.

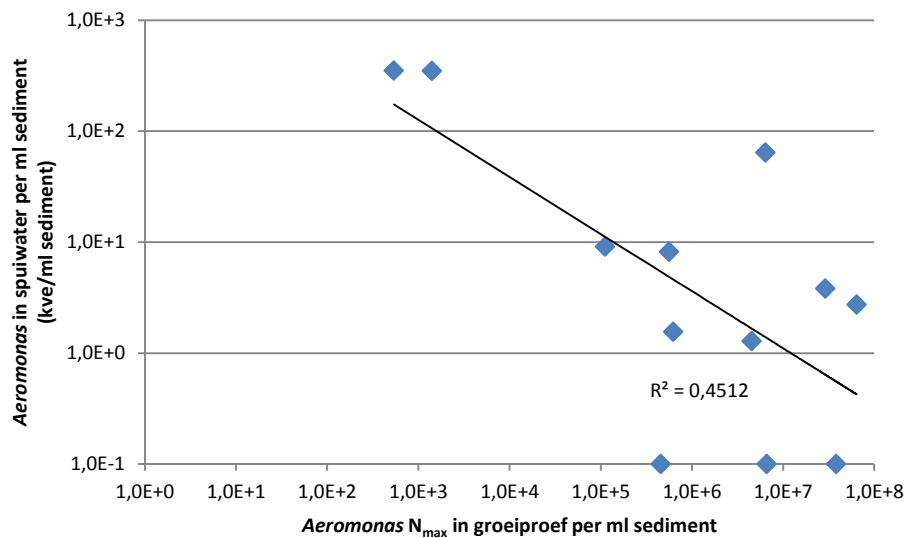
Binnen de groeiproeven van juni of september kan wel het effect van de twee spuiwaterfracties op groei met elkaar vergeleken worden. De groei van *Aeromonas* en de totale microbiële populatie verschilt tussen de twee spuiwaterfracties in de twee groeiproeven. In juni is groei van *Aeromonas* en de totale populatie het sterkst in de < 30 µm fractie, waarin dus de juiste soort en grootste hoeveelheid geschikte nutriënten aanwezig zijn. In september is groei het sterkst in het ongefiltreerde spuiwater. Dit laat zien dat het seizoen invloed heeft op het soort of de hoeveelheid substraat dat aanwezig is in het sediment en dat het daarnaast ook invloed heeft op in welke sedimentfractie deze nutriënten aanwezig zijn.

## 4.2 Groei van *Aeromonas* op sediment en ongewervelde dieren

### 4.2.1 Sediment

De sterke groei van *Aeromonas* op spuiwater van Braakman en Kralingen in juni 2017 laat zien dat sediment, met erg weinig biomassa van ongewervelde dieren, groei van *Aeromonas* kan stimuleren. Groei van *Aeromonas* kan dus optreden in (bijna) afwezigheid van ongewervelde dieren maar in aanwezigheid van sediment. De toename die hierbij wordt gemeten ( $3 \times 10^2 - 8,1 \times 10^3$  kve/ml stijging, gelijk aan  $3 \times 10^4 - 8,1 \times 10^5$  kve/100 ml) kan mogelijk de toename in het distributienet tot boven de wettelijke norm van 1000 kve/100 ml verklaren. Het sediment heeft dus, in principe, de groeipotentie om *Aeromonas*-overschrijdingen te veroorzaken.

Er lijkt een lichte correlatie ( $R^2 = 0,4512$ ) te zijn tussen het aantal *Aeromonas*-bacteriën in het totale spuivolume, uitgedrukt in *Aeromonas* kve/ml sediment in totale spuivolume, en de  $N_{\max}$  die in de groeiproeven met 1:1 verdund ongefiltreerd en < 30 µm spuiwater is bereikt. Als het *Aeromonas*-aantal hoog is in het spuiwater wordt een lagere  $N_{\max}$  bereikt in de groeiproeven dan wanneer het *Aeromonas*-aantal in het spuiwater lager is. Mogelijk wordt dit veroorzaakt doordat in alle typen water wel de groeistoffen voor *Aeromonas* aanwezig zijn, maar dat deze in sommige locaties (Berenplaat, Kralingen) al grotendeels zijn verbruikt door de toename van *Aeromonas* in het distributienet. In Braakman is het *Aeromonas* aantal laag in het spuiwater en zouden de voedingsstoffen nog aanwezig zijn, waardoor een hogere  $N_{\max}$  kan worden bereikt in de groeiproeven.



FIGUUR 25. VERBAND TUSSEN AEROMONAS-AANTALLEN IN SEDIMENT EN AEROMONAS-N<sub>MAX</sub> IN DE GROEIPROEVEN.

Echter, bovenstaande experimenten zijn uitgevoerd in flessen, onder statische condities, wat afwijkt van de dynamische condities in het distributienet. Zo wordt aan de flessen nitraat en ammonium als stikstofbron gedoseerd, samen met een fosfaatbron. Daarnaast zijn de bacteriën, waaronder *Aeromonas*, gedurende 14 dagen aanwezig in de fles en hebben ze dus lange tijd om eventueel moeilijk afbreekbare stoffen af te breken. De verblijftijd van het drinkwater in het distributienet is over het algemeen maximaal 2 dagen, waardoor afbraak van deze stoffen in drinkwater moeilijker is. Het sediment op de bodem van de distributieleidingen heeft echter wel een lange verblijftijd in het distributiesysteem en in die niche zou *Aeromonas* dus in staat moeten zijn om dergelijke stoffen af te breken en zich te vermeerderen. Dit wordt verder bevestigd door studies die hebben laten zien dat *Aeromonas* zijn belangrijkste niche heeft in het sediment van het distributiesysteem (o.a. Liu et al., 2017).

Om vast te stellen of niet de nutriënten van het sediment maar dosering van de extra stikstof- of fosfaatbron verantwoordelijk is voor de groei van *Aeromonas*, zal de groeiproef herhaald moeten worden waarbij wel en geen extra stikstof en fosfaat wordt gedoseerd. Of de groeipotentie van het sediment daadwerkelijk verantwoordelijk kan zijn voor de toename van *Aeromonas* in het water onder dynamische condities, moet onderzocht worden in een pilot distributiesysteem waarin sediment ingebracht kan worden. Een voorbeeld hiervan is het KIVODIS systeem bij KWR waarbij de verblijftijd aangepast kan worden aan die van het distributienet. In deze opstelling stroomt het water continu door de opstelling, zonder dat het hierbij gecirculeerd wordt, en kan de stroomsnelheid en verblijftijd worden ingesteld.

In het distributienet kunnen hoge aantallen *Aeromonas*-bacteriën voorkomen waarbij de norm wordt overschreden. Metingen aan water, sediment en biofilm in het distributienet hebben echter laten zien dat, vergeleken met de buiswandbiofilm en het drinkwater, *Aeromonas* dominant is in het sediment (Liu et al., 2017). Uit dit en eerder onderzoek (KWR 2017.021) is ook gebleken dat *Aeromonas* zich niet in drinkwater kan vermeerderen in aanwezigheid van andere microflora en afwezigheid van bijvoorbeeld sediment,

ongewervelde dieren of spuiwater. Vermoedelijk vermeerdert *Aeromonas* zich in het sediment maar komt het in het distributienet in het drinkwater terecht door verschillen in de stroomsnelheid en opwerveling. Met name de kleine deeltjes van het opgewervelde sediment kunnen in de drinkwaterfase blijven en zouden zo groei van *Aeromonas* kunnen veroorzaken.

#### 4.2.2 Ongewervelde dieren

Groei van *Aeromonas* in het distributienet is dus mogelijk in afwezigheid van ongewervelde dieren omdat het sediment de juiste soort en hoeveelheden nutriënten bevat om groei van *Aeromonas* te stimuleren. Eerdere onderzoeken hebben echter laten zien dat ook ongewervelde dieren, een levende of dode *Asellus*, groei van *Aeromonas* kan bevorderen (KWR 2017.021; Hijnen et al., 1992).

Uit de *Aeromonas* groeiproeven met ongewervelde dieren blijkt dat naast sediment en *Asellus* ook andere ongewervelde dieren groei van *Aeromonas* kunnen stimuleren. Met name borstelwormen stimuleren de groei van *Aeromonas* in drinkwater, al is dit in iets mindere mate vergeleken met *Asellus*, terwijl de roeipootkreeften dit in nog mindere mate doen. Van de geteste ongewervelde dieren, lijken alleen borstelwormen en dode en levende waterpissebedden tot groei van *Aeromonas* in spuiwater te leiden, terwijl roeipootkreeften en draadwormen niet tot vermeerdering van *Aeromonas* leiden. Het verschil in groeirespons van *Aeromonas* op de verschillende ongewervelde dieren wordt gedeeltelijk veroorzaakt door verschillen in de hoeveelheid gedoseerde biomassa per ongewervelde diergroep. Van *Asellus* en borstelwormen is het grootste natgewicht gedoseerd, terwijl van draadwormen, roeipootkreeften en *Asellus*-darm minder natgewicht is gedoseerd. Echter, de *Aeromonas*-groeirespons van roeipootkreeften, draadwormen en de darm van een *Asellus* is, ook na correctie van de  $N_{\max}$  voor de hoeveelheid gedoseerde biomassa, beperkt vergeleken met *Asellus* (Tabel 18). Daarnaast vormen met name *Asellus*, en in mindere mate borstelwormen, samen in het distributienet de grootste biomassa waardoor ze dus het belangrijkste zijn voor groei van *Aeromonas* op ongewervelde dieren (BTO 2016.065).

#### 4.2.3 Praktijksituatie

De resultaten in de groeiproeven kunnen niet één-op-één vertaald worden naar de praktijksituatie in het distributienet. Op basis van de resultaten uit de in dit rapport beschreven studie is het aannemelijk dat *Aeromonas* zich waarschijnlijk kan vermeerderen op zowel sediment als sommige ongewervelde dieren, maar het is lastig te onderscheiden welke van de twee hierin het belangrijkste is. Daarnaast zijn de groeiproeven met ongewervelde dieren uitgevoerd in drinkwater en spuiwater. In het distributiesysteem zijn de ongewervelde dieren echter niet in het drinkwater aanwezig, maar leven ze bentisch, waarbij ze over de bodem en buiswand van de drinkwaterleidingen door het sediment lopen of bewegen (van Lieverloo, 2003). De groeiproeven met drinkwater zijn daarom niet geheel realistisch voor de praktijk, terwijl de groeiproeven met spuiwater beter weergeven wat kan optreden in de bentische zone van het distributiesysteem.

In de groeiproeven is een hoog aantal ongewervelde dieren gedoseerd (Tabel 20). Deze getallen liggen vele malen hoger dan wat in het reinwater en spuiwater van drinkwaterbedrijven, met oppervlaktewater als bron, wordt aangetroffen.

TABEL 20. AANTAL AANWEZIGE ONGEWERVELDE DIEREN IN DE GROEIPIOEVEN VERGELEKEN MET AANTALLEN ORGANISMEN DIE IN REINWATER EN SPIUWATER WORDEN AANGETROFFEN IN VOORZIENINGSGEBIEDEN WAAR DRINKWATER UIT OPPERVLAKTEWATER WORDT BEREID (BTO 2016.065).

	Groeiproef		Reinwater		Spuiwater	
	N/fles	N/m <sup>3</sup>	Mediaan (N/m <sup>3</sup> )	Maximaal (N/m <sup>3</sup> )	Mediaan (N/m <sup>3</sup> )	Maximaal (N/m <sup>3</sup> )
Waterpissebedden	1	1667	-	-	<1 - 10	<1 - 6300
Draadwormen	55	91667	4 - 505	90 - 8400	<10 - 250	66 - 85800
Roeipootkreeften	41	68333	<1 - 77	<1 - 4320	6 - 818	1200 - 38000
Borstelwormen	5	8333	<1	<1 - 256	<1 - 12	49 - 2000

Door gebruik te maken van de resultaten van de groeiproeven, in combinatie met gegevens uit het distributienet, kan een schatting worden gegeven van de invloed van sediment en ongewervelde dieren op de groei van *Aeromonas* in het distributienet. Hiervoor moeten wel een aantal aannames worden gedaan, waardoor de resultaten alleen indicatief zullen zijn. Er is uitgegaan van een drinkwaterleiding van 110 mm diameter met een volume van 9,5 liter per meter. Voor het sediment is aangenomen dat het totale sedimentvolume homogeen door het spuivolume verdeeld was. Voor de ongewervelde dieren in het algemene distributienet is de hoogste mediaanwaarde genomen van het aantal dieren in spuiwater van drinkwaterbedrijven die oppervlaktewater als bron gebruiken (Tabel 20). Omdat de aantallen ongewervelde dieren sterk verschillen tussen de drie voorzieningsgebieden Braakman, Berenplaat en Kralingen, is daarnaast de mediaanwaarde van deze gebieden (in de periode 2014 - 2017) gebruikt (Tabel 21). Er wordt vanuit gegaan dat tijdens regulier spuien alle aanwezige ongewervelde dieren worden verwijderd en opgevangen voor hydrobiologische tellingen.

Voor de ongewervelde dieren is het aantal dieren dat in de groeiproef is gebruikt (b.v. 1 *Asellus*), omgerekend naar het aantal dieren dat met een vergelijkbare proef aanwezig zou zijn in 1 meter leiding (= 9,5 liter, dus  $9500/600 \times 1 = \pm 16 \text{ Asellus}/9,5 \text{ liter}$ ; Tabel 21). Hetzelfde is gedaan voor de mediaanwaarde van dieren in het spuiwater van het distributienet, waarbij het aantal dieren per m<sup>3</sup> spuiwater (10 *Asellus*) is omgerekend naar hoeveel dieren er per meter leiding voorkomen ( $0,095 \text{ Asellus}/9,5 \text{ liter}$ ). De  $N_{\max}$  van *Aeromonas* die werd waargenomen in de groeiproef met *Asellus* ( $6,8 \times 10^3 \text{ kve/ml}$ ) is gecorrigeerd voor de  $N_{\max}$  van de controle ( $5,0 \times 10^2 \text{ kve/ml}$ ). Vervolgens is dit getal gecorrigeerd voor het aantal *Asellus* in 1 meter leiding ( $(5,0 \times 10^2 / 16) * 0,095 = 3,0 \times 10^0 \text{ kve/ml}$ ) om tot een *Aeromonas*-toename voor het drinkwater van het distributienet te komen. Dit getal is vervolgens omgerekend naar de stijging per 100 ml ( $3,0 \times 10^2 \text{ kve}/100 \text{ ml}$ ).

Voor het sediment is berekend hoeveel sedimentvolume er in 1 meter leiding zit ( $0,22 \text{ ml}/9,5 \text{ liter}$  voor Braakman in juni 2017; Tabel 22). Dit is omgerekend naar de hoeveelheid sediment dat aanwezig is in de groeiproeven ( $0,0070 \text{ ml}$  sediment in  $600 \text{ ml}$  water). De  $N_{\max}$  van *Aeromonas* die met dit sedimentvolume is behaald in groeiproeven, is gebruikt om de *Aeromonas*-toename in het distributienet te berekenen: sedimentvolume in 9,5 liter ( $0,22 \text{ ml}$ ) / sedimentvolume in  $600 \text{ ml}$  ( $0,0070 \text{ ml}$ ) \*  $N_{\max}$  per fles ( $4,9 \times 10^6 \text{ kve}$ ). Dit geeft in totaal  $1,5 \times 10^8 \text{ kve}$  in 1 meter leiding, wat overeen komt met een *Aeromonas*-toename van  $1,6 \times 10^4 \text{ kve/ml}$ , respectievelijk  $1,6 \times 10^6 \text{ kve}/100 \text{ ml}$ .

De op deze manier berekende toename van *Aeromonas* laat zien dat in het algemeen de ongewervelde dieren een *Aeromonas*-toename van ongeveer  $0,0 \times 10^0 - 2,8 \times 10^4 \text{ kve}/100 \text{ ml}$  kunnen veroorzaken, afhankelijk van het soort organisme en het voorzieningsgebied (Tabel



21). In de drie distributiegebieden (Braakman, Berenplaat, Kralingen) kunnen draadwormen de hoogste *Aeromonas* toename veroorzaken ( $1,7 - 2,8 \times 10^4$  kve/100 ml), mede veroorzaakt doordat deze dieren in hoge aantallen aanwezig waren in het spuiwater. Borstelwormen zijn vaak afwezig waardoor er in deze berekeningen geen *Aeromonas* toename is.

Het sediment van de drie locaties kan in het distributienet een *Aeromonas*-toename van  $7,0 \times 10^3 - 1,6 \times 10^6$  kve/100 ml veroorzaken, waarbij Braakman de grootste groeipotentie heeft (Tabel 22). Het sediment lijkt dus een grotere of vergelijkbare *Aeromonas*-toename te kunnen veroorzaken dan ongewervelde dieren, al hangt dit af van de locatie en het soort dier. Daarnaast is het belangrijk om nogmaals aan te geven dat vanwege het grote aantal aannames, deze berekende *Aeromonas*-toename alleen als een ruwe indicatie of schatting kan worden gezien.

TABEL 21. VERTALING VAN AEROMONAS-TOENAME IN GROEIPROEVEN, VEROORZAAKT DOOR ONGEWERVELDE DIEREN, NAAR DE SITUATIE IN HET DISTRIBUTIENET. GEGEVEN IS, VAN BOVEN NAAR BENEDEN, HET AANTAL DIEREN DAT IN DE GROEIPROEF IS GEBRUIKT (N/FLES); DE OMREKENING NAAR HET AANTAL IN 9,5 LITER (GELIJK AAN DE INHOUD VAN 1 METER 110 MM LEIDING); DE  $N_{MAX}$  DIE IN DE GROEIPROEF IS BEHAALD; EN DEZE  $N_{MAX}$  GECORRIGEERD VOOR DE  $N_{MAX}$  IN DE '10 ML < 10  $\mu$ M' - CONTROLE; DE MEDIAAN WAARDE DIE IN SPUIWATER IS AANGETROFFEN (AFKOMSTIG UIT TABEL 20, BTO 2016.065 EN GEGEVENS VAN EVIDES); DE MEDIAAN WAARDE OMGEREKEND NAAR HET AANTAL DIEREN IN 1 METER 110 MM LEIDING (9,5 LITER); DE AEROMONAS-TOENAME DIE DIT AANTAL DIEREN IN 1 METER LEIDING KAN VEROORZAKEN IN KVE/ML EN KVE/100 ML.

			Asellus	Draadwormen	Roeipootkreeften	Borstelwormen
Groeiproef	N/fles		1	55	41	5
	N/9,5 liter		16	871	649	79
	$N_{max}$	kve/ml	$6,8 \times 10^3$	$8,8 \times 10^3$	$8,2 \times 10^3$	$9,8 \times 10^4$
	Gecorrigeerde $N_{max}$	kve/ml	$5,0 \times 10^2$	$2,5 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$	$9,2 \times 10^4$
Algemeen	Hoogste mediaan ongewervelde dieren in spuiwater	N/m <sup>3</sup>	10	250	818	12
	Ongewervelde dieren/meter leiding	N/meter	0,095	2,375	7,771	0,114
	<i>Aeromonas</i> toename	kve/ml	$3,0 \times 10^0$	$6,8 \times 10^0$	$2,3 \times 10^1$	$1,3 \times 10^2$
	<i>Aeromonas</i> toename	kve/100ml	$3,0 \times 10^2$	$6,8 \times 10^2$	$2,3 \times 10^3$	$1,3 \times 10^4$
Braakman	Mediaan ongewervelde dieren in spuiwater	N/m <sup>3</sup>	0,000	7299	647	0,000
	Ongewervelde dieren/meter leiding	N/meter	0,000	69	6,1	0,000
	<i>Aeromonas</i> toename	kve/ml	$0,0 \times 10^0$	$2,0 \times 10^2$	$1,8 \times 10^1$	$0,0 \times 10^0$
	<i>Aeromonas</i> toename	kve/100ml	$0,0 \times 10^0$	$2,0 \times 10^4$	$1,8 \times 10^3$	$0,0 \times 10^0$
Berenplaat	Mediaan ongewervelde dieren in spuiwater	N/m <sup>3</sup>	3,9	10313	493	0,000
	Ongewervelde dieren/meter leiding	N/meter	0,037	98	4,7	0,000
	<i>Aeromonas</i> toename	kve/ml	$1,2 \times 10^0$	$2,8 \times 10^2$	$1,4 \times 10^1$	$0,0 \times 10^0$
	<i>Aeromonas</i> toename	kve/100ml	$1,2 \times 10^2$	$2,8 \times 10^4$	$1,4 \times 10^3$	$0,0 \times 10^0$
Kralingen	Mediaan ongewervelde dieren in spuiwater	N/m <sup>3</sup>	12	624	329	0,000
	Ongewervelde dieren/meter leiding	N/meter	0,114	5,9	3,1	0,000
	<i>Aeromonas</i> toename	kve/ml	$3,6 \times 10^0$	$1,7 \times 10^1$	$9,1 \times 10^0$	$0,0 \times 10^0$
	<i>Aeromonas</i> toename	kve/100ml	$3,6 \times 10^2$	$1,7 \times 10^3$	$9,1 \times 10^2$	$0,0 \times 10^0$

TABEL 22. VERTALING VAN *AEROMONAS*-TOENAME IN GROEIPIOEVEN, VEROORZAAKT DOOR SEDIMENT, NAAR DE SITUATIE IN HET DISTRIBUTIENET. GEGEVEN IS, VAN BOVEN NAAR BENEDEN, HET TOTALE SEDIMENT VOLUME DAT MET DE SPUIACTIE IS VERZAMELD; HET TOTALE SPUIVOLUME, DE OMREKENING NAAR HET VOLUME SEDIMENT DAT IN 1 METER 110 MM LEIDING (9,5 LITER) AANWEZIG IS; DE OMREKENING NAAR DE HOEVEELHEID SEDIMENT PER GROEIPIOEFFLES WAARAAN ONGEFILTEERD SPUIWATER 1:1 AAN IS GEDOSEERD; DE  $N_{\text{MAX}}$  MET CONCENTRATIE IN KVE/ML EN HET TOTAAL AANTAL *AEROMONAS*-BACTERIËN AANWEZIG IN DE FLES; DE TOTALE *AEROMONAS*-TOENAME DIE IN 1 METER LEIDING VEROORZAAKT WORDT DOOR DE AANWEZIGHEID VAN SEDIMENT; DE *AEROMONAS*-TOENAME OMGEREKEND NAAR KVE/ML EN NAAR KVE/100 ML.

		Spuiactie			Groeiproef			Distributienet		
		Sediment-volume (ml)	Gespuit volume (l)	Sediment/9,5 liter (ml)	Sediment/fles (ml)	$N_{\text{max}}$ (kve/ml)	$N_{\text{max}}$ (kve/fles)	<i>Aeromonas</i> -toename in 9,5 liter		
							kve	kve/ml	kve/100 ml	
Juni 2017	Braakman	25,4	1091	0,22	0,0070	$8,1 \times 10^3$	$4,9 \times 10^6$	$1,5 \times 10^8$	$1,6 \times 10^4$	$1,6 \times 10^6$
	Berenplaat	9,5	1014	0,09	0,0028	$1,2 \times 10^2$	$7,2 \times 10^4$	$2,3 \times 10^6$	$2,4 \times 10^2$	$2,4 \times 10^4$
	Kralingen	17	1377	0,12	0,0037	$4,5 \times 10^1$	$2,7 \times 10^4$	$8,6 \times 10^5$	$9,0 \times 10^1$	$9,0 \times 10^3$
September 2017	Braakman	69,5	970	0,68	0,0215	$1,2 \times 10^2$	$7,1 \times 10^4$	$2,2 \times 10^6$	$2,4 \times 10^2$	$2,4 \times 10^4$
	Berenplaat	15	1026	0,14	0,0044	$3,5 \times 10^1$	$2,1 \times 10^4$	$6,7 \times 10^5$	$7,0 \times 10^1$	$7,0 \times 10^3$
	Kralingen	2,5	940	0,03	0,0008	$4,9 \times 10^1$	$2,9 \times 10^4$	$9,2 \times 10^5$	$9,7 \times 10^1$	$9,7 \times 10^3$

### 4.3 Groei van *Aeromonas* in Braakman, Berenplaat en Kralingen

Opvallend is dat in de groeiproeven met drinkwater en verdund spuiwater *Aeromonas* sterk groeit in het water van Braakman en veel minder in het water van Berenplaat en Kralingen. Hoewel dit deels wordt verklaard door het hogere sedimentvolume dat tijdens de spuiacties werd verkregen bij Braakman vergeleken met Kralingen en Berenplaat, is ook de berekende toename van *Aeromonas* door sediment hoger in Braakman dan de twee andere productielocaties (Tabel 23). Dit terwijl de *Aeromonas*-problematiek met name in de distributiegebieden van Berenplaat en Kralingen speelt en minder in het distributiegebied van Braakman.

Uit de groeiproeven in flessen blijkt dat de groeipotentie van het water Braakman voor *Aeromonas* hoog is, maar in het distributiegebied is dit nauwelijks terug te zien. Er zijn een aantal verschillen tussen de praktijksituatie en de groeiproeven in een fles die mogelijk de verschillen tussen de praktijksituatie en de groeiproeven kunnen verklaren. Deze worden eerst kort opgesomd en daarna verder beschreven.

1. Verschil in zuivering, en gebruik van aluminium tussen Braakman, Kralingen en Berenplaat.
2. Aanwezigheid van een nog onbekende remmende stof voor *Aeromonas* in het Braakmanwater;
3. De hogere temperatuur in de groeiproeven (25°C) dan in de praktijk zorgt voor versterkte groei;
4. Een essentiële voedingsstof is limiterend in Braakmanwater die wel aanwezig is in de groeiproeven (bijvoorbeeld fosfaat of ammonium);
5. De microbiële populatie van het drinkwater en spuiwater verandert tijdens monsternamen, transport en opslag bij 4°C, of omdat de bacteriën uit hun natuurlijke

- milieu worden gehaald, waardoor bacteriën die normaal gesproken met *Aeromonas* concurreren afwezig zijn of de concurrentiestrijd verliezen;
6. De hogere *Aeromonas*-aantallen in het distributiegebied van Kralingen en Berenplaat hebben stoffen die groei van *Aeromonas* bevorderen al omgezet, waardoor de concentratie van dergelijke stoffen in het gespuide sediment bij deze locaties lager is dan bij Braakman.
  7. De hoeveelheid sediment in het distributiesysteem en de groeiproef;

De zuivering van Braakman verschilt van die van Kralingen en Berenplaat onder andere in het gebruik van aluminium (poly-aluminium-chloride) als coagulans. Aangezien aluminium in het algemeen bacteriële groei remt, zou de aanwezigheid van aluminium in het water *Aeromonas* kunnen remmen. Echter, er is geen verschil in de aluminiumconcentratie van het drinkwater van Braakman, Berenplaat en Kralingen, evenals in de aluminium-accumulatiesnelheid en het gehalte deeltjesgebonden aluminium. De aanwezigheid van andere remmende stoffen in het water van Braakman is onwaarschijnlijk. Voor de start van de groeiproeven worden eventueel aanwezige remmende stoffen niet weggevangen en ook niet verdund waardoor het remmende effect minder zou kunnen worden. Als het gaat om een inhiberende stof, zou daarom ook in de flessen geen of weinig groei moeten optreden.

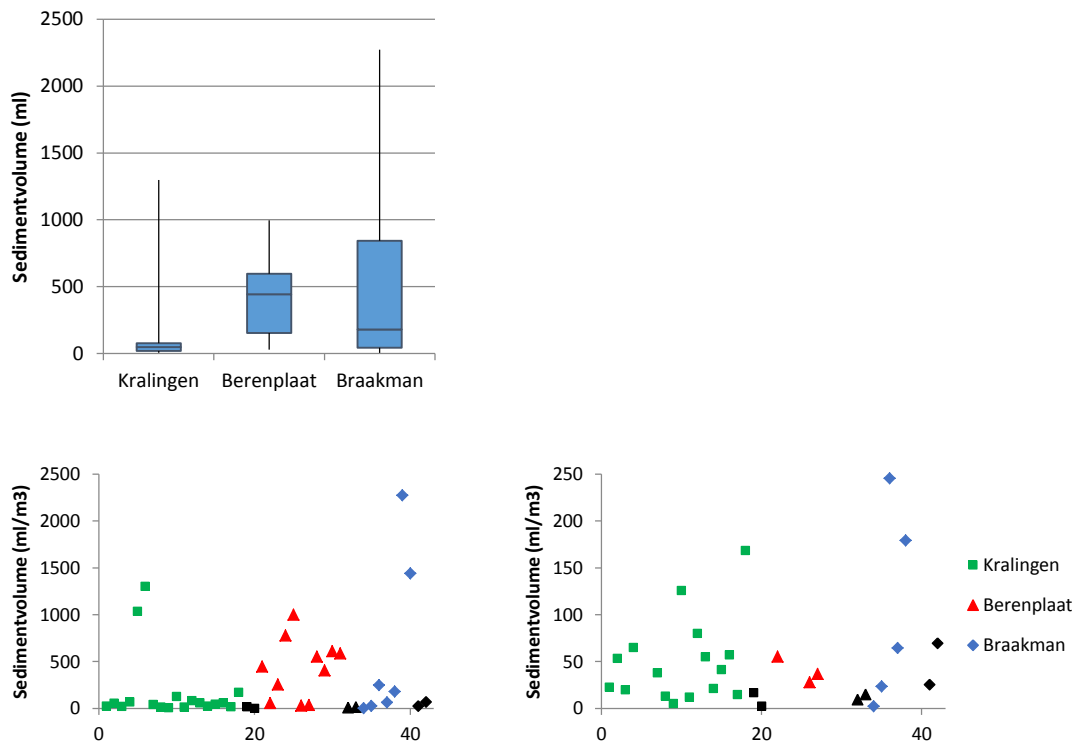
De temperatuur is in de groeiproef hoger dan de temperatuur in het distributiesysteem, maar omdat in de zomerperiode de watertemperatuur langdurig rond de 20°C ligt, is het temperatuurverschil relatief klein. Aangezien *Aeromonas* al bij lagere temperaturen dan 20°C groeit, speelt dit waarschijnlijk geen grote rol.

De enige stoffen die aan de groeiproeven worden gedoseerd, en dus een mogelijke limitering op kunnen heffen, zijn nitraat, ammonium en fosfaat. Drinkwater bevat voldoende nitraat en waarschijnlijk ook fosfaat, dus extra dosering van deze stoffen lijkt geen verklaring te zijn. Mogelijk kan de dosering van ammonium de verschillen gedeeltelijk verklaren. Ammonium wordt standaard toegevoegd aan de *Aeromonas*-groeiproeven omdat uit voorgaande experimenten is gebleken dat nitraat geen goede stikstofbron is voor *Aeromonas* en stikstof dan limiterend zou zijn. De ammoniumconcentratie is erg laag in het distributienet (<0,015 mg NH<sub>4</sub>-N/l) maar door dosering van 100 µg NH<sub>4</sub>-N/l aan de groeiproef kan *Aeromonas*-groei gestimuleerd worden. Deze hypothese is niet met zekerheid vast te stellen omdat, onder andere, de echte blanco (wel dosering van *Aeromonas*, niet van fosfaat en nitraat) niet is meegenomen in dit onderzoek.

Of er een verandering in de microbiële populatie van het water plaatsvindt, kan alleen met aanvullende experimenten vastgesteld worden. Het in kaart te brengen, met microbial profiling (door sequencing van het 16S rRNA gen van bacteriën en eventueel het ITS gen van schimmels), van de microbiële populatie van het water bij elke stap van de monsternamen, geeft hierover meer duidelijkheid.

Eerdere berekeningen laten zien dat de N<sub>max</sub> en BPC14-waarden van de groeiproeven sterk gecorreleerd zijn aan het sedimentvolume. Gegevens van spuiacties die door Evides zijn uitgevoerd in de drie distributiegebieden in de periode 2014 – 2017 geven een beeld van het gemiddelde sedimentvolume dat hier aanwezig is (Figuur 26). In Braakman zijn de grootste sedimentvolumes aanwezig, maar de spreiding is erg groot. Bij Kralingen zijn er twee locaties met een groot sedimentvolume, maar is het volume op de andere punten laag. Het volume bij Berenplaat varieert tussen de spui locaties, zonder duidelijke uitschieters. De spui volumes die in dit onderzoek zijn behaald komen voor Braakman overeen met wat in het distributiegebied wordt gevonden (zwarte punten in Figuur 26). De sedimentvolumes voor Berenplaat en Kralingen zijn in dit onderzoek echter lager dan gemiddeld. De waarneming

uit dit onderzoek, dat bij Braakman de hoogste sedimentvolumes voorkomen, komt dus niet geheel overeen met de gegevens van het hele distributienet. Aangezien de sedimentvolumes in het distributiegebied van Braakman en Kralingen vergelijkbaar zijn, lijkt dit geen verklaring te zijn voor de lage *Aeromonas*-aantallen in het distributienet van Braakman, maar hoge aantallen in de groeiproeven. Bij Kralingen zou op basis van deze gegevens een laag *Aeromonas*-aantal in het distributienet worden verwacht, in tegenstelling tot wat in het distributienet wordt gevonden. Bij Berenplaat zijn de sedimentvolumes groter, wat wel de hoge *Aeromonas*-aantallen in het distributienet kan verklaren. De resultaten zijn dus niet eenduidig.



FIGUUR 26. SEDIMENTVOLUME BEPAALD NA SPUICACTIES IN DE DISTRIBUTIEGEBIEDEN VAN BERENPLAAT, KRALINGEN EN BRAAKMAN. BOVEN: BOX-PLOT VAN DE SEDIMENTVOLUMES PER DISTRIBUTIEGEBIED. ONDER: SEDIMENTVOLUME VAN ALLE INDIVIDUELE SPUICACTIES PER DISTRIBUTIEGEBIED. IN DE RECHTERGRAFIEK IS DE Y-AS AANGEPAST OM DE VARIATIE IN DE LAGE SEDIMENTVOLUMES ZICHTBAAR TE MAKEN. DATAPUNTEN IN HET ZWART ZIJN AFKOMSTIG VAN DE SPUICACTIES UITGEVOERD IN JUNI EN SEPTEMBER 2017 VOOR DE GROEIPROEVEN.

De mate van vervuiling van het distributienet, uitgedrukt in het sedimentvolume, lijkt het vóórkomen van *Aeromonas* in het distributienet wel te beïnvloeden maar niet geheel te verklaren. Groei van *Aeromonas* in het distributienet wordt echter door meerdere factoren gestimuleerd, waaronder ongewervelde dieren, zoals ook in deze studie is aangetoond. Het aantal ongewervelde dieren in het distributiesysteem is niet hetzelfde voor Braakman, Berenplaat en Kralingen (Tabel 7, Tabel 10, Bijlage I). In het distributiesysteem van Braakman worden de laagste aantallen van *Asellus* gevonden, terwijl deze in het distributiesysteem van Kralingen en Berenplaat hoger zijn. Op basis van de groeiproeven van *Aeromonas* met de ongewervelde dieren en het verschil in aantallen ongewervelde dieren tussen de drie distributiesystemen, zou het kunnen dat, naast het sediment, ook de ongewervelde dieren invloed hebben op de *Aeromonas*-aantallen in het distributiesysteem.

## 5 Conclusies en aanbevelingen

### 5.1 Conclusies

In de groeiproeven groeien *Aeromonas* en de microbiële populatie het sterkst in water uit het distributiesysteem van Braakman. In water van Berenplaat en Kralingen vindt alleen in juni groei van *Aeromonas* plaats, maar niet in september.

Drink- en spuiwater van Braakman heeft van de drie onderzochte locaties de grootste groeipotentie voor *Aeromonas*. Er lijkt een licht negatieve correlatie te zijn tussen de *Aeromonas*-N<sub>max</sub> in de groeiproeven en het aantal *Aeromonas*-bacteriën dat initieel aanwezig is in het spuiwater. In het sediment van de locaties Berenplaat en Kralingen is *Aeromonas* hoger in het spuiwater en heeft het de aanwezige groeibevorderende stoffen al benut in het distributienet. Bij Braakman is er mogelijk sprake van een limiterende factor, bijvoorbeeld ammonium uitgescheiden door *Asellus* (niet tot nauwelijks aanwezig in het distributienet van Braakman).

Het seizoen heeft invloed op de groeipotentie van het drinkwater of spuiwater voor *Aeromonas* en beïnvloedt ook in welke sedimentfractie deze nutriënten aanwezig zijn. Blijkbaar verandert de nutriëntensamenstelling en/of hoeveelheid in het distributiesysteem van Braakman, Berenplaat en Kralingen. In juni zijn er meer nutriënten aanwezig vergeleken met september, het seizoen en de locatie beïnvloeden ook de fractie van het spuiwater waar de nutriënten het meest in voor komen.

Dode en levende waterpissebedden zorgen voor de grootste *Aeromonas* vermeerdering in groeiproeven. Roeipootkreeften en borstelwormen hebben een beperkt effect op groei van *Aeromonas*.

Groei van *Aeromonas* kan optreden in afwezigheid van ongewervelde dieren maar in aanwezigheid van sediment. De toename die hierbij wordt gemeten kan mogelijk de toename in het distributienet tot boven de wettelijke norm van 1000 kve/100 ml verklaren.

Groei van *Aeromonas* kan optreden in afwezigheid van sediment maar in aanwezigheid van ongewervelde dieren, met name *Asellus* en borstelwormen. De toename die hierbij wordt gemeten kan mogelijk de toename in het distributienet tot boven de wettelijke norm van 1000 kve/100 ml verklaren.

De N<sub>max</sub> van *Aeromonas* en BPC14-waarden in de groeiproeven zijn sterk gecorreleerd met het sedimentvolume. Daardoor kunnen de resultaten van Braakman, Berenplaat en Kralingen onderling niet goed met elkaar worden vergeleken.

Het sediment resulteert in een grotere of vergelijkbare *Aeromonas*-toename in vergelijking met enkele ongewervelde dieren, al hangt dit af van de locatie en het soort dier.

De mate van vervuiling van het distributienet, uitgedrukt in het sedimentvolume, lijkt het vóórkomen van *Aeromonas* in het distributienet wel te beïnvloeden maar niet geheel te verklaren. Groei van *Aeromonas* in het distributienet wordt dus door meerdere factoren gestimuleerd, waarin in ieder geval sediment en ongewervelde dieren een rol spelen.

## 5.2 Aanbevelingen

Gezien de mogelijke rol die sediment speelt bij de vermeerdering van *Aeromonas* is het raadzaam om drinkwater te produceren waarin zo min mogelijk (sediment)deeltjes in aanwezig zijn en dat niet leidt tot sedimentvorming tijdens distributie.

Gezien de mogelijke rol die ongewervelde dieren spelen bij de vermeerdering van *Aeromonas* is het raadzaam om drinkwater te produceren met een zeer lage groeipotentie, zodat ongewervelde dieren zich niet kunnen vermeerderen en handhaven in het distributiesysteem.

Onderzoek de groeipotentie van het sediment voor *Aeromonas* onder dynamische drinkwatercondities, zodat kan worden achterhaald of sediment ook de groei van *Aeromonas* bevordert onder dynamische condities. Dergelijke experimenten dienen in een pilot distributiesysteem worden uitgevoerd, waarin de meeste condities kunnen worden gecontroleerd en waar sediment ingebracht kan worden. Een voorbeeld hiervan is het KIVODIS systeem bij KWR. In deze opstelling stroomt het water continu door de opstelling, zonder dat het hierbij gecirculeerd wordt, en kan de stroomsnelheid en verblijftijd worden ingesteld. Een andere mogelijkheid is de leidingsimulator bij Evides. Dit is echter een circulatiesysteem en niet een doorstroomsysteem met mogelijk verschillen in de experimentele condities.

Om vast te stellen of dosering van een extra stikstof- of fosfaatbron verantwoordelijk is voor de groei van *Aeromonas*, zal de groeiproef herhaald moeten worden waarbij wel en geen extra stikstof en fosfaat wordt gedoseerd.

## 6 Referenties

BTO 2013.228. Moleculaire methoden voor de kwantificatie en identificatie van *Aeromonas* in drinkwater.

BTO 2016.065. Landelijke inventarisatie ongewervelde dieren 2009-2013.

BTO 2018.031. Onderzoek naar de biologische condities in water, sediment en op de buiswand en de *Aeromonas* toename in een transportleiding als functie van het seizoen in 2016.

Hijnen WAM, Reijnen GK, Bos RHM, Veenendaal G, van der Kooij D. Lagere *Aeromonas*-aantallen in het drinkwater van pompstation Zuidwolde door verbeterde ontgassing en vernieuwen van het filtergrind. H2O, 1992, nr 14, pp 370-375.

KWR 2016.073. Isolatie en identificatie van *Aeromonas* stammen uit vijf DPWE voorzieningsgebieden en hun groeikarakteristieken.

KWR 2017.021. Verband tussen *Aeromonas* nagroei en de aanwezigheid van waterpissebedden.

Liu G, Tao Y, Zhang Y, Lut M, Knibbe W-J, van der Wielen P, Liu W, Medema G, van der Meer W. 2017. Hotspots for selected metal elements and microbes accumulation and the corresponding water quality deterioration potential in an unchlorinated drinking water distribution system. Water Research, 2017, vol 124, pp 435-445.

# Bijlage I Hydrobiologische analyses Aqualab Zuid spuimonsters

13 juni 2017

	µg natgewicht	Juni 2017								
		Berenplaat (Spijkenisse)			Braakman (IJzendijke)			Kralingen (Rotterdam)		
		N	µg	mg/m <sup>3</sup>	N	µg	mg/m <sup>3</sup>	N	µg	mg/m <sup>3</sup>
Naaktamoebe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Zonnedieren	0	0	0	0	0,0	0	0	0	0	0
Wimperdieren	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaalamoebe	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Raderdieren	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Buikharigen	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Beerdieren	1,08	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Platwormen	10,1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Draadwormen	0,14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Borstelwormen	16,7	3	50,1	0,036	2	33,4	0,031	0	0	0
Watervlooien	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mosselkreeften	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Roeipootkreeften	10	4	40	0,029	11	110	0,101	6	60	0,059
Naupli	1,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Watermijten	2,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Muggelarven	70,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slakken	300	6	1800	1,307	0	0	0	9	2700	2,663
Asellus levend	1680	0	0	0	0	0	0	4	6720	6,627
Asellus dood	1680	0	0	0	0	0	0	10	16800	16,568
Asellus delen	420	0	0	0	0	0	0	14	5880	5,799
Totaal				1,373			0,131			31,716



Datum		EVIDES 13-6-2017				
Bedrijf monstername		Amandelgaard 6, Spijkernisse				
Straat						
Materiaal	buis	PVC				
Diameter/volume	buis [mm]	110				
Volume/m	buis ([l])					
Opp/m	[m <sup>2</sup> ]					
Volumestroom	[m <sup>3</sup> /h]	30,3				
Snelheid	[mm/s]	500,5				
Volume	[l]	1377				
Lengte	[m]					
Temperatuur	[°C]	18,6				
	fractie	totaal	10%	10%		
Spui volume totaal	l	1377	143	143	143	143
AQZ	l	1377	143	143	143	143
	fractie	100%	90%	10%	10%	10%
		500 µm	500 µm	500 µm	100 µm	30 µm
Sediment	ml	4			0,5	5
	ml/m <sup>3</sup>					
	ml/m leiding					
Fecale pellets	%					
	ml					
	ml/m leiding					
Biologisch	%					
volume sediment	ml					
	KVE/m					
	KVE/l spuiwater					
Kalk	%	7			2	
Kiezels	%	3				
Kool	%					
Krullen kunstof	%	1				
Lege slakkenhuisjes	%	30				
Overige	%					
Plantaardig materiaal	%	1			1	
Plastic	%					
Propmateriaal	%					
Roest	%	38			55	2
Rubber/ bitumen	%					
Schaalamoeben	%					
Schildjes (carapaxen)	%					
Uitwerpselen roeipootkreeften	%					
Uitwerpselen waterpissebedden	%					
Vezels	%	10			2	1
Vlokvormig materiaal	%	10			35	96
Zand	%				5	1
Analyserapport AQZ						



Datum	Bedrijf monstername	EVIDES 13-6-2017				
	Straat	Schans 7A, Rotterdam				
Materiaal	buis	PVC				
Diameter/volume	buis [mm]	110				
Volume/m	buis ([l])					
Opp/m	[m <sup>2</sup> ]					
Volumestroom	[m <sup>3</sup> /h]	30				
Snelheid	[mm/s]	499,8				
Volume	[l]	1014				
Lengte	[m]					
Temperatuur	[°C]	18,4				
	fractie	totaal		10%	10%	
Spui volume totaal	l	1014		107	107	107
AQZ	l	1014		107	107	107
		100%	90%	10%	10%	10%
	fractie	500 µm	500 µm	500 µm	100 µm	30 µm
Sediment	ml	13			1	3
	ml/m <sup>3</sup>					
	ml/m leiding					
Fecale pellets	%					
	ml					
	ml/m leiding					
Biologisch	%					
volume sediment	ml					
	KVE/m					
	KVE/l spuiwater					
Kalk	%	3			2	
Kiezels	%	1				
Kool	%					
Krullen kunstof	%					
Lege slakkenhuisjes	%	5				
Overige	%					
Plantaardig materiaal	%	1			1	1
Plastic	%					
Propmateriaal	%					
Roest	%	88			74	5
Rubber/ bitumen	%					
Schaalamoeben	%					
Schildjes (carapaxen)	%					
Uitwerpselen roeipootkreeften	%					
Uitwerpselen waterpissebedden	%				2	
Vezels	%	2			1	1
Vlokvormig materiaal	%				15	92
Zand	%				5	1

21 september 2017

	µg natgewicht	September 2017								
		Kralingen (Delft)			Braakman (Oostburg)			Berenplaat (Hoek van Holland)		
		N	µg	mg/m <sup>3</sup>	N	µg	mg/m <sup>3</sup>	N	µg	mg/m <sup>3</sup>
Naaktamoebe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Zonnedieren	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Wimperdieren	0,3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Schaalamoebe	0,3	36500	10950	11,649	219000	65700	67,732	62800	18840	18,363
Raderdieren	1,0	3700	3700	3,936	3000	3000	3,093	0	0	0
Buikharigen	0	100	0	0	0	0	0	200	0	0
Beerdieren	1,08	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Platwormen	10,1	4	40,4	0,043	1000	10100	10,412	6	60,6	0,059
Draadwormen	0,14	300	42	0,045	10000	1400	1,443	1	0,14	0
Borstelwormen	16,7	0	0	0	3001	50117	51,667	0	0	0
Watervlooien	10	0	0	0	68	680	0,701	1	10	0,010
Mosselkreeften	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Roeipootkreeften	10	7	70	0,074	21	210	0,216	2	20	0,019
Naupli	1,5	4	6	0,006	10	15	0,015	1	1,5	0,001
Watermijten	2,5	4	10	0,011	4	10	0,010	2	5	0,005
Muggelarven	70,6	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Slakken	300	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Asellus levend	1680	7	11760	12,511	0	0	0	5	8400	8,187
Asellus dood	1680	32	53760	57,191	0	0	0	10	16800	16,374
Asellus delen	420	46	19320	20,553	0	0	0	8	3360	3,275
Totaal				106,020			135,290			46,294

Datum	Bedrijf monstername	EVIDES 21-9-2017				
	Straat	Burgenmeestersrand, Delft				
Materiaal	buis	PVC				
Diameter/volume	buis [mm]	110				
Volume/m	buis ([l])					
Opp/m	[m <sup>2</sup> ]					
Volumestroom	[m <sup>3</sup> /h]	30				
Snelheid	[mm/s]	505				
Volume	[l]	940				
Lengte	[m]					
Temperatuur	[°C]	15,9				
	fractie	totaal		10%	10%	
Spui volume totaal	l	940	840	100	100	100
AQZ	l	940	840	100	100	100
	fractie	100%	90%	10%	10%	10%
		500 µm	500 µm	500 µm	100 µm	30 µm
Sediment	ml	1			0,5	1
	ml/m <sup>3</sup>					
	ml/m leiding					
Fecale pellets	%					
	ml					
	ml/m leiding					
Biologisch	%					
volume sediment	ml					
	KVE/m					
	KVE/l spuiwater					
Kalk	%	10			2	
Kiezels	%	5				
Kool	%	46				
Krullen kunstof	%					
Lege slakkenhuisjes	%	15				
Overige	%	1			1	
Plantaardig materiaal	%				7	3
Plastic	%					
Propmateriaal	%					
Roest	%	20			10	2
Rubber/ bitumen	%					
Schaalamoeben	%					10
Schildjes (carapaxen)	%				5	
Uitwerpselen roeipootkreeften	%					
Uitwerpselen waterpissebedden	%				39	2
Vezels	%	3			1	2
Vlokvormig materiaal	%				30	78
Zand	%				5	3

Datum	Bedrijf monstername	EVIDES 21-9-2017				
	Straat	Kreeft 7, Oostburg				
Materiaal	buis	PVC				
Diameter/volume	buis [mm]	110				
Volume/m	buis ([l]					
Opp/m	[m <sup>2</sup> ]					
Volumestroom	[m <sup>3</sup> /h]	30				
Snelheid	[mm/s]	494				
Volume	[l]	970				
Lengte	[m]					
Temperatuur	[°C]	15,9				
	fractie	totaal		10%	10%	
Spui volume totaal	l	970	860	110	110	110
AQZ	l	970	860	110	110	110
	fractie	100%	90%	10%	10%	10%
		500 µm	500 µm	500 µm	100 µm	30 µm
Sediment	ml	4			1,5	64
	ml/m <sup>3</sup>					
	ml/m leiding					
Fecale pellets	%					
	ml					
	ml/m leiding					
Biologisch	%					
volume sediment	ml					
	KVE/m					
	KVE/l spuiwater					
Kalk	%	42			25	
Kiezels	%	2				
Kool	%					
Krullen kunstof	%	10				
Lege slakkenhuisjes	%					
Overige	%	1			1	
Plantaardig materiaal	%	5			2	1
Plastic	%					
Propmateriaal	%	1				
Roest	%	20			12	1
Rubber/ bitumen	%	16				
Schaalmoeben	%					5
Schildjes (carapaxen)	%				40	1
Uitwerpselen roeipootkreeften	%					
Uitwerpselen waterpissebedden	%					
Vezels	%	3			3	2
Vlokvormig materiaal	%				10	88
Zand	%				7	2

Datum	Bedrijf monstername	EVIDES 21-9-2017				
		Veulenstraat 8-10, Hoek van Holland				
Materiaal	buis	PVC				
Diameter/volume	buis [mm]	110				
Volume/m	buis ([l]					
Opp/m	[m <sup>2</sup> ]					
Volumestroom	[m <sup>3</sup> /h]	30				
Snelheid	[mm/s]	493				
Volume	[l]	1026				
Lengte	[m]					
Temperatuur	[°C]	15,9				
	fractie	totaal		10%	10%	
Spui volume totaal	l	1026	911	115	115	115
AQZ	l	1026	911	115	115	115
		100%	90%	10%	10%	10%
	fractie	500 µm	500 µm	500 µm	100 µm	30 µm
Sediment	ml		11		1	3
	ml/m <sup>3</sup>					
	ml/m leiding					
Fecale pellets	%					
	ml					
	ml/m leiding					
Biologisch	%					
volume sediment	ml					
	KVE/m					
	KVE/l spuiwater					
Kalk	%		5		14	
Kiezels	%		2			
Kool	%					
Krullen kunststof	%		1			
Lege slakkenhuisjes	%		5			
Overige	%					
Plant aardig materiaal	%					3
Plastic	%					
Propmateriaal	%					
Roest	%		72		15	2
Rubber/ bitumen	%					
Schaalamoeben	%					10
Schildjes (carapaxen)	%				10	1
Uitwerpselen roeipootkreeften	%					
Uitwerpselen waterpissebedden	%				10	
Vezels	%		15		1	2
Vlokvormig materiaal	%				40	77
Zand	%				10	5

		Kreeft 7								
		Oostburg (Braakman)					Asellus, 5x in 1 ml			
		Drinkwater	Spuiwater		Sediment		Levend	Dood		
			ongefiltreerd	<30 µm	30 - 100 µm	100 - 500 µm				
<i>Aeromonas</i>	cfu/l	120	4,60E+04	3,10E+04	3,80E+06	2,70E+06				
ATP	pg/ml	1	1,30E+03	520	4,40E+04	2,30E+03				
ATP SD	pg/ml	-	2,2	2,4	110	5,5				
Ijzer	mg/l	0,03	9,9	3,9						
Mangaan	µg/l	1	955	385						
Ammonium	mg NH <sub>4</sub> -N/l	<0,015	0,076	0,039						
Koolhydraten	mg C/l	<0.8	8	3,56						
TOC	mg C/l	1,9	21	9,3						

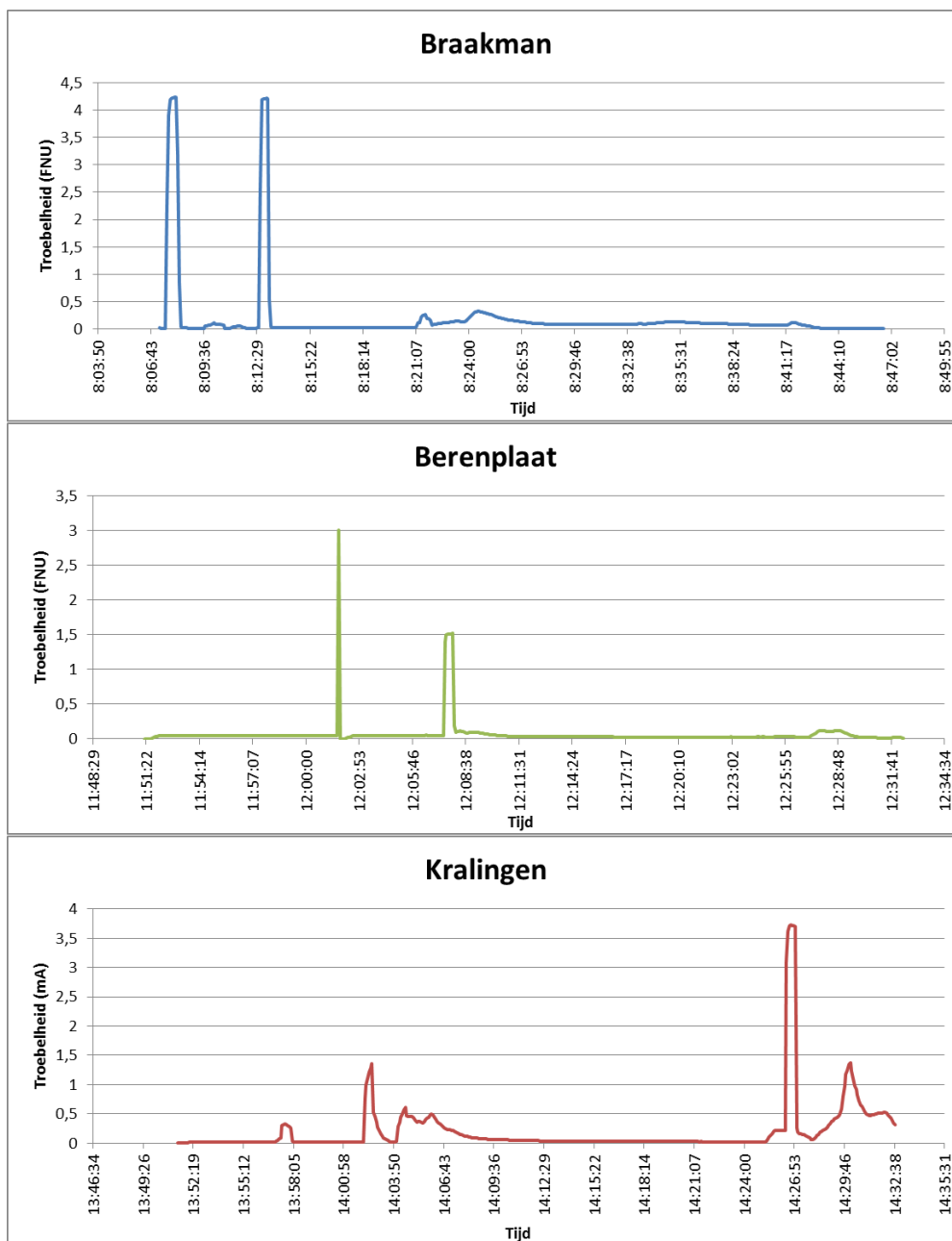
		Veulenstraat 8-10								
		Hoek van Holland (Berenplaat)					Asellus, 5x in 1 ml			
		Drinkwater	Spuiwater		Sediment		Levend	Dood		
			ongefiltreerd	<30 µm	30 - 100 µm	100 - 500 µm				
<i>Aeromonas</i>	cfu/l	740	9,40E+04	8,20E+04	3,40E+06	4,70E+06	1,90E+07	8,30E+08		
ATP	pg/ml	3,9	72	67	3,10E+03	1,40E+03				
ATP SD	pg/ml	1	7,4	5	7,8	1,2				
Ijzer	mg/l	0,02	1,4	0,58						
Mangaan	µg/l	7,5	55	27						
Ammonium	mg NH <sub>4</sub> -N/l	0,016	0,018	<0,015						
Koolhydraten	mg C/l	<0.8	1,04	1,32						
TOC	mg C/l	1,8	3,6	2,6						

		Burgermeestersrand 128								
		Delft (Kralingen)					Asellus, 5x in 1 ml			
		Drinkwater	Spuiwater		Sediment		levend	Dood		
			ongefiltreerd	<30 µm	30 - 100 µm	100 - 500 µm				
<i>Aeromonas</i>	cfu/l	2,90E+03	1,10E+05	7,50E+04	1,40E+08	4,40E+07	5,60E+07	1,00E+09		
ATP	pg/ml	3,3	34	38	2,20E+03	1,10E+03				
ATP SD	pg/ml	0,3	4	0,89	1,3	1,3				
Ijzer	mg/l	0,02	0,35	0,14						
Mangaan	µg/l	<0.6	15	5,5						
Ammonium	mg NH <sub>4</sub> -N/l	<0,015	<0,015	<0,015						
Koolhydraten	mg C/l	<0.8	<0.8	<0.8						
TOC	mg C/l	1,8	2,3	5,5						



## Bijlage II Troebelheidsmetingen

Troebelheid bij spuiacties op 13 juni 2017



## Troebelheid bij spuiacties op 21 september 2017

