

BTO 2018.014 | Januari 2018

BTO rapport

Het effect van
geochemische
bodemcondities op de
verwijdering van
virussen door
bodempassage

BTO

Het effect van geochemische bodemcondities op de verwijdering van virussen door bodempassage

BTO 2018.014 | Januari 2018

Opdrachtnummer

400554-150

Projectmanager

Luc Hornstra

Opdrachtgever

BTO - Thematisch onderzoek - Hygiëne en veiligheid

Kwaliteitsborger(s)

Gertjan Medema

Auteur(s)

Luc Hornstra, Yuki Fujita, Gijsbert Cirkel

Verzonden aan

Themagroep Hygiëne en Veiligheid

Jaar van publicatie
2018

Meer informatie

Dr. Luc Hornstra
T 0306069628
E luc.hornstra@kwrwater.nl

Keywords

Postbus 1072
3430 BB Nieuwegein
The Netherlands

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



BTO | Januari 2018 © KWR

Alle rechten voorbehouden.

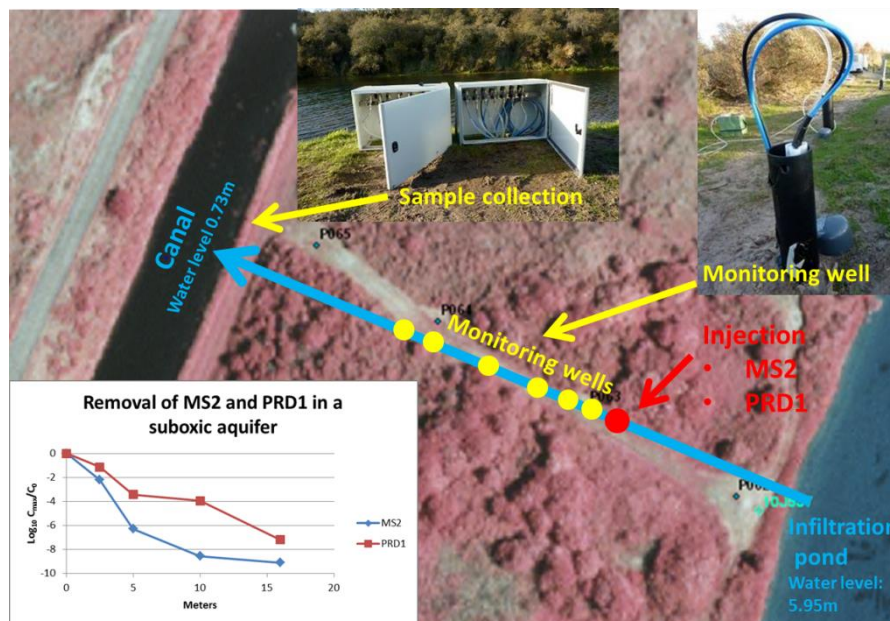
Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

BTO Managementsamenvatting

Het effect van geochemische bodemcondities op de verwijdering van virussen door bodempassage

Auteur(s) Dr. Luc Hornstra, Dr. Yuki Fujita en Dr. ir. Gijsbert Cirkel.

Bodempassage is een zeer effectief proces om micro-organismen uit vervuild water te verwijderen, het is de basis achter de 60 dagen veiligheidszone rondom winningen, en vormt een belangrijke zuiveringsstap bij de behandeling van oppervlaktewater door infiltratie in de duinen. Micro-organismen worden verwijderd door hechting aan bodemdeeltjes, maar hechting is afhankelijk van veel factoren. Door de geochemische informatie en verwijdering van virussen van 4 studies in Nederland te combineren en analyseren met behulp van bivariate en multivariate analyse, wordt bepaald welke geochemische factoren het meest belangrijk zijn bij de verwijdering van virussen. Het resultaat laat zien dat naast de redox condities de sorptiecapaciteit van de bodem, bepaald door de CEC als functie van klei en/of organische stof, voor een substantieel deel verantwoordelijk is voor de verwijdering onder praktijkcondities. Bepaling van deze bodemcomponenten geeft daarmee snel een beeld van de verwijderingspotentie van de bodem voor micro-organismen.



De experimentele locatie bij Waternet Leiduin, waar de verwijdering van bacteriofagen onder suboxische condities is onderzocht. De bodem is geochemisch gekarakteriseerd zodat de relatie tussen verwijdering van virussen en bodemeigenschappen kan worden vastgesteld.

Belang: Effectief verwijderen van ziekteverwekkers door bodempassage

Het zuiveren van water door bodempassage wordt in Nederland veel toegepast. De 60 dagen

veiligheidszone rondom winningen is gebaseerd op de kennis dat een reistijd van 60 dagen door de bodem resulteert in een dermate grote reductie van micro-organismen, dat er geen risico bestaat voor

de volksgezondheid. Hetzelfde principe wordt toegepast bij infiltratie van oppervlaktewater in de duinen. De vier veldstudies die zijn uitgevoerd in Nederland, hebben ten dele grove informatie opgeleverd over welke parameters van belang zijn bij de verwijdering van micro-organismen, maar er kan niet worden afgeleid welke specifieke geochemische bodemparameters belangrijk zijn. Deze informatie kan gebruikt worden om, door het meten van alleen de relevante parameters, snel een beeld te krijgen van de te verwachten virusverwijdering in elke bodem. De belangrijkste geochemische parameters kunnen dan worden gebruikt voor een eenvoudig generiek model. Dan kan door het gericht meten van de twee of drie meest relevante bodemparameters een voorspelling worden gedaan voor de potentie van de bodem om micro-organismen te verwijderen.

Aanpak: Analyse van gegevens met bivariate en multivariate analyse.

Door de geochemische en virusverwijderingsgegevens van de vier Nederlandse studies te analyseren met behulp van bivariate en multivariate analyse is vastgesteld of er binnen de set met geochemische bodemgegevens specifieke parameters zijn die een duidelijke relatie laten zien met de hechting van virussen. In kolomstudies zijn deze relaties wel onderzocht, maar meestal met slechts 1 component (bijvoorbeeld ijzerhydroxide). Door de resultaten van 4 veldstudies te combineren wordt de verwijderingspotentie van de bodem bepaald onder relevante veldcondities. De resultaten kunnen worden gebruikt als aanzet tot het modelleren van virusverwijdering op basis van de relevante bodemeigenschappen.

Resultaten: Sorptiecapaciteit van de bodem is belangrijkste factor.

Principle component analysis (PCA) helpt met het identificeren van de grote variatie in de geochemische bodemgegevens die vaak gecorreleerd zijn. Mixed-model regressie analyse van de geïdentificeerde geochemische bodemeigenschappen (PCA scores) en andere site factoren afkomstig van veldlocaties laat zien een combinatie van meerdere factoren een rol spelen bij de verwijdering van bacteriofagen. 56% van de

variatie van hechting wordt verklaard door 4 factoren: zuurstofconcentratie, sorptiecapaciteit van de bodem, afstand van het injectiepunt, en het type bacteriofaag. Redox condities hebben vooral een effect op de verwijdering bij een groot redox bereik, zoals een vergelijk tussen een oxische en een diep anoxische bodem. Daarnaast is de sorptiecapaciteit van de bodem, wat zich uit in een hoge CEC, aanwezigheid van klei, en een hoge concentratie organische stof een belangrijke parameter voor hechting. Een verhoogde hechting kon niet worden gerelateerd aan klei of metaal oxiden alleen, wat aangeeft dat het de combinatie van factoren is die zorgt voor de hechting en dus de verwijdering van virussen. Dit geeft tevens aan dat de kolomstudies onder laboratorium condities geen goede representatie geven van de verwijderingscapaciteit onder veldcondities. Gecombineerde factoren zijn van belang bij de verwijdering onder veldcondities, en om verwijdering onder veldcondities beter te kunnen begrijpen zal juist de combinatie van geochemische parameters beter moeten worden onderzocht.

Implementatie: Snelle voorspelling van capaciteit bodem voor verwijdering virussen.

Kennis van specifieke parameters die van belang zijn bij de hechting van micro-organismen onder veldcondities kan gericht worden ingezet om met weinig metingen de geschiktheid van de bodem te bepalen voor de verwijdering van micro-organismen. Verder kan dan met een beperkte hoeveelheid parameters een goed voorspellend model worden opgezet voor de verwijdering van virussen door bodempassage. Dit model kan door de drinkwaterbedrijven worden gebruikt om snel een schatting te kunnen maken naar de verwijderingscapaciteit van de bodem op locaties (bijv. duinen, of rondom winningen).

Rapport

Dit onderzoek is beschreven in rapport *Het effect van geochemische bodemcondities op de verwijdering van virussen door bodempassage* (BTO-2018.014).

Inhoud

Inhoud	2
1 Inleiding	3
1.1 Verwijdering van virussen door bodempassage	3
1.2 De studies die gegevens hebben aangeleverd voor de analyse	4
1.3 Doel van deze studie	10
2 Materiaal en Methodes	11
2.1 Ruwe gegevens	11
2.2 Data analysis	11
3 Results	13
3.1 Bivariate relationships between Sticking Efficiency (SE) and site characteristics	13
3.2 Dimensionality reduction of soil geochemical variables by PCA	14
3.3 Mixed model regression analysis of SE	16
4 Discussie	18
4.1 De invloed van de dataset op het resultaat van de multivariate regressie analyse.	18
4.2 Verschil tussen kolomstudies en veldstudies	18
5 Conclusie en aanbevelingen	20
5.1 Resultaten van de multivariate statistische analyses	20
5.2 Aanbevelingen	20
Bijlage I	22
Bijlage II. Statistical analyses excluding 4 anoxic sites	25
Referenties	28

1 Inleiding

1.1 Verwijdering van virussen door bodempassage

Er zijn in de afgelopen 20 jaar in Nederland verschillende goed gedocumenteerde studies uitgevoerd waarin de verwijdering van micro-organismen door bodemtransport is bepaald. Met name verwijdering van virussen door transport in oxische, anoxische als suboxische watervoerende pakketten is goed onderzocht. Er is met extra aandacht naar virussen gekeken, omdat virussen zich, in vergelijking met bacteriën en protozoa, het gemakkelijkst door een zandige bodem verplaatsen, en daarom maatgevend zijn voor het bepalen van veiligheidszones rondom drinkwaterwingebieden. Tijdens deze studies is de geochemische bodemsamenstelling van de experimentele locaties in kaart gebracht met vergelijkbare chemische analysemethoden.

De laatste veldstudie is uitgevoerd in een suboxisch watervoerend pakket in het duingebied van Waternet. Ook bij deze studie is de bodem geochemisch geanalyseerd. Tijdens het uitwerken van deze studie is samen met RIVM (Jack Schijven) het idee ontstaan te bepalen of de verwijdering van virussen valt te relateren aan bepaalde geochemische bodemcondities, zoals bijvoorbeeld de variatie in de concentratie ijzeroxiden, andere metalen of andere bodemeigenschappen.

De achtergrond van dit idee is dat de veldstudies in NL (DIZON (anoxisch naar oxisch), Castricum (oxisch), KWR tuin (anoxisch) en Leiduin (suboxisch), een grote hoeveelheid unieke gegevens hebben opgeleverd die, omdat ze op gelijke manier zijn uitgevoerd, onderling ook vergelijkbaar zijn (Medema et al, 1999, Schijven et al, 1999, van der Wielen et al, 2008, Hornstra et al, 2013). Door de geochemische bodemparameters en de verwijderingsinformatie van deze studies samen te voegen, is het mogelijk om met multivariate statistische analyses te bepalen of bepaalde gemeten bodemeigenschappen specifiek te relateren zijn aan verwijdering van virussen tijdens bodempassage.

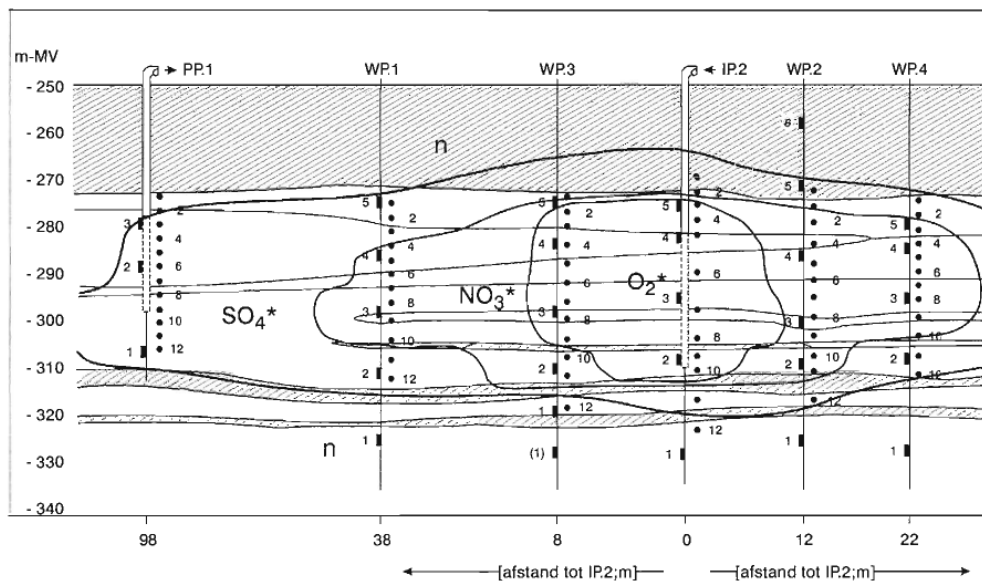
Een snelle eerste trial door het RIVM met een beperkte dataset liet zien dat dit inderdaad het geval lijkt te zijn. Bepaalde bodemeigenschappen lijken geen invloed te hebben op de verwijdering van virussen, terwijl andere eigenschappen in directe relatie lijken te staan met de verwijdering. Door de hele dataset op deze wijze te bekijken, kan inzicht worden verkregen in welke geochemische eigenschappen een belangrijke rol spelen bij de verwijdering van virussen.

Indien bekend is welke geochemische parameters belangrijk zijn voor verwijdering van virussen dan is deze informatie te gebruiken om snel een beeld te krijgen van de te verwachten virusverwijdering in de bodem. Dit zal gelden voor zandbodems omdat de bovenstaande studies daar zijn uitgevoerd, maar mogelijk kunnen de inzichten ook op andere bodem types worden toegepast. Dan kan door het gericht meten van de twee of drie meest relevante bodemparameters een goede voorspelling worden gedaan voor de potentie van de bodem om micro-organismen te verwijderen. Deze informatie kan worden gebruikt voor de ontwikkeling van een eenvoudig generiek model, of aanscherping van de bestaande modellen.

1.2 De studies die gegevens hebben aangeleverd voor de analyse

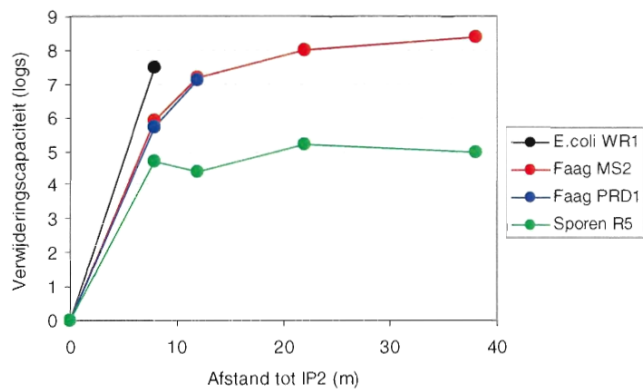
1.2.1 Someren, diepinfiltratie met wisselende redox condities

In Nederland zijn de afgelopen jaren 4 studies uitgevoerd, waarbij de verwijdering van virussen door bodempassage is bepaald, en waar de geochemische condities van de bodem zijn vastgelegd. De 1^e studie is in 1998 uitgevoerd bij Someren, waar middels diepinfiltratie virusverwijdering is onderzocht door virussen samen met oxisch water te injecteren in een anoxisch watervoerend pakket (Medema en Stuyfzand, 1999). Hier is water, waaraan de bacteriofagen PRD1 en MS2 en bacteriën *Clostridium bifermentans* (sporen) en *Escherichia coli* zijn toegevoegd, geïnfiltrerd op een diepte van 310 m beneden maaiveld.



Figuur 1.1. Een doorsnede van de experimentele locatie Someren, en de redox condities rondom het injectiepunt.

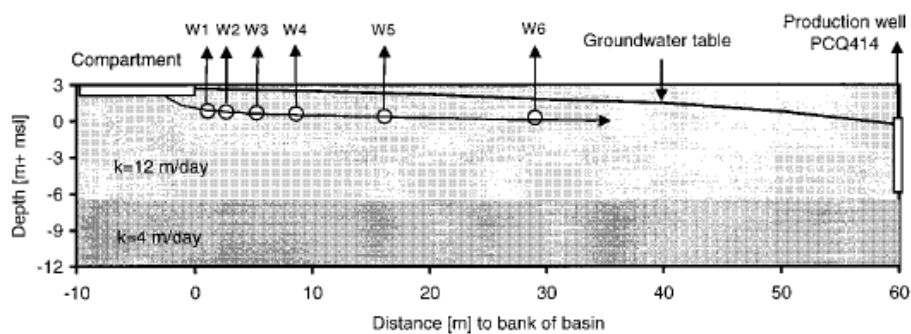
Op deze locatie zijn de redox condities nauwkeurig in kaart gebracht (Fig. 1.1). De bodemlaag waarin het water wordt geïnfiltrerd is rijk aan pyriet. Door het aanwezige zuurstof in het geïnfiltrerde water wordt het pyriet geoxideerd en slaat vrijkomend ijzer neer als ijzer(hydr)oxiden. Redoxbalansen rondom het infiltratiepunt laten zien dat het zuurstoffront zich ten tijde van de veldproef bevindt op 5 tot 6 meter van de infiltratiepunt. Figuur 1.2 laat zien dat de geïnjecteerde micro-organismen dicht bij het infiltratiepunt sterker worden gebonden aan de bodem, en er dus een grotere verwijdering is van micro-organismen. Na ongeveer 10 meter is er bijna geen verwijdering meer van micro-organismen, en kunnen ze gemakkelijk grote afstanden door de bodem afleggen. In deze publicatie wordt de verwijdering in de eerste 10 meter gerelateerd aan het hogere zuurstofgehalte in het geïnfiltrerde water, en de daarop volgende omzetting van pyriet naar ijzer(hydr)oxides, waardoor het positief geladen ijzerhydroxide-oppervlak een bindingsplaats vormt voor de micro-organismen. Voorbij het zuurstoffront zijn deze positief geladen ijzer(hydr)oxide-oppervlakken niet aanwezig, waardoor het aantal bindingsplaatsen in de bodem voor micro-organismen enorm afneemt, en ze dus veel verder kunnen reizen door de bodem. Redoxcondities zijn in deze studie bepalend voor de verwijdering van micro-organismen.



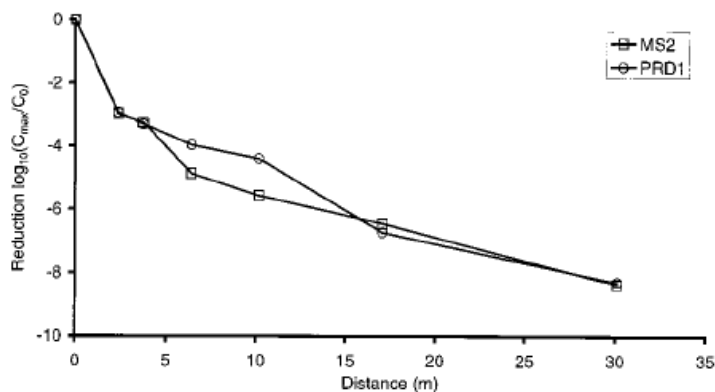
Figuur 1.2. De verwijdering van micro-organismen door bodempassage vanaf het infiltratiepunt.

1.2.2 Castricum, oxisch transport.

In Castricum is in het duingebied van PWN de verwijdering van de bacteriofagen MS2 en PRD1 bepaald door verzadigd transport door duinzand, onder oxidische condities (Schijven et al, 1999). Bacteriofagen zijn gedoseerd in een afgesloten compartiment, en van daaruit in de bodem geïnfilteerd. De verwijdering werd gemonitord door middel van de bemonstering van 6 waarnemingsputten.



Figuur 1.3. Een dwarsdoorsnede van de experimentele locatie bij Castricum waar bacteriofagen zijn gedoseerd in een compartiment, van waaruit ze in de bodem zijn geïnfilteerd.



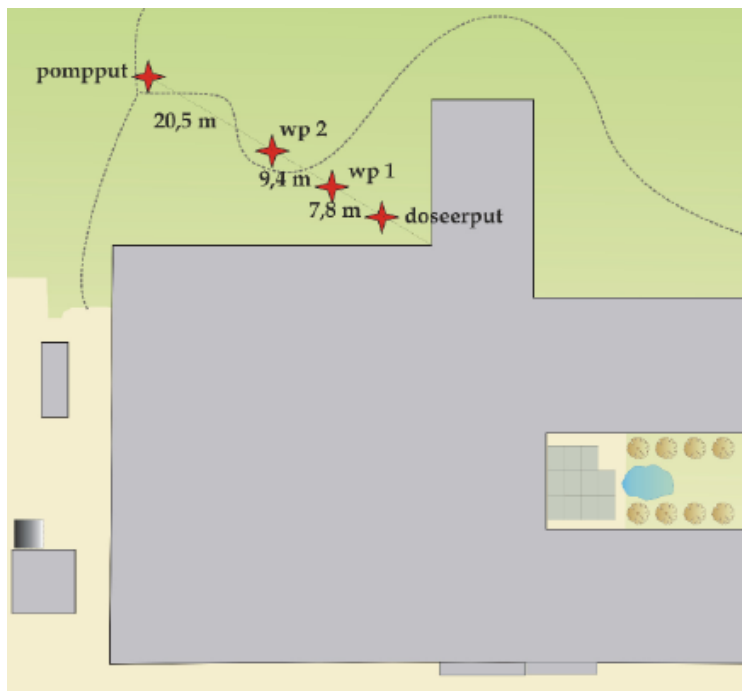
Figuur 1.4. De verwijdering van de bacteriofagen MS2 en PRD1 door duinzand onder oxische condities gedurende 30 meter.

Figuur 1.4 laat zien dat verwijdering onder oxische condities effectief verloopt. Na 30 meter transport gedurende 26 dagen is van beide bacteriofagen een verwijdering waargenomen van 8,1 logeenheden. Verwijdering verloopt sneller in de 1^e 2,4 meter, en gaat daarna langzamer. Hypothesen hiervoor in het artikel zijn: een andere geochemische bodemsamenstelling in de 1^e 2,4 meter, en heterogeniteit in de viruspopulatie, met name op het gebied van oppervlakte-eigenschappen van de bacteriofagen.

Deze twee studies lieten zien dat onder oxische condities in een zandige bodem de verwijdering van micro-organismen voldoende adequaat verloopt. De door de commissie Bescherming Waterwingebieden ingestelde richtlijn van minimaal 60 dagen verblijftijd, zorgt bij de 2 bovenstaande locaties voor voldoende verwijdering van ziekteverwekkende micro-organismen. Er waren echter wel twijfels of 60 dagen verblijftijd onder alle bodemcondities zou zorgen voor een voldoende verwijdering van micro-organismen, waarbij met name de verwijdering van virussen onder anoxische condities niet bekend was. Resultaten van Someren lieten al zien dat de verwijdering van virussen onder anoxische condities, achter het zuurstoffront, minder efficiënt verliep. Daarom is een 3^e experiment uitgevoerd in een anoxisch watervoerend pakket op het terrein van KWR.

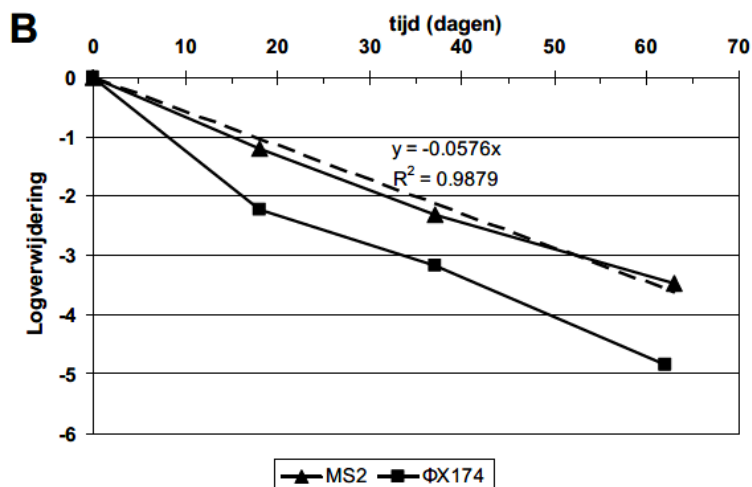
1.2.3 Nieuwegein, anoxisch transport.

In lijn met de grondwaterstroming is een doseerput, waarnemingsputten en een onttrekkingsput aangebracht en zijn de bacteriofagen MS2 en ϕ x174 geïnjecteerd op een diepte van 12 meter.



Figuur 1.5. De plaatsing van de putten voor de dosering en de waarnemingen van de bacteriofagen MS2 en ϕ x174 op 12 meter diepte onder anoxische condities.

In figuur 1.6 is de waargenomen verwijdering weergegeven, na ongeveer 60 dagen transport. Na ongeveer 60 dagen transport was de afgelegde afstand 37,7 meter. De verwijdering van bacteriofaag ϕ x174 verliep iets efficiënter dan van MS2, maar beide bacteriofagen laten in vergelijking met de eerdere experiment bij Castricum maar een geringe verwijdering zien. Uit tabel 1.1 kan worden afgeleid dat 62 dagen transport onder anoxische condities, waarbij 37,7 meter is afgelegd heeft geresulteerd in een verwijdering van 4,9 en 3,5 logeenheden voor ϕ x174, respectievelijk MS2. Redoxcondities spelen dus een cruciale rol bij de verwijdering van micro-organismen door bodempassage.



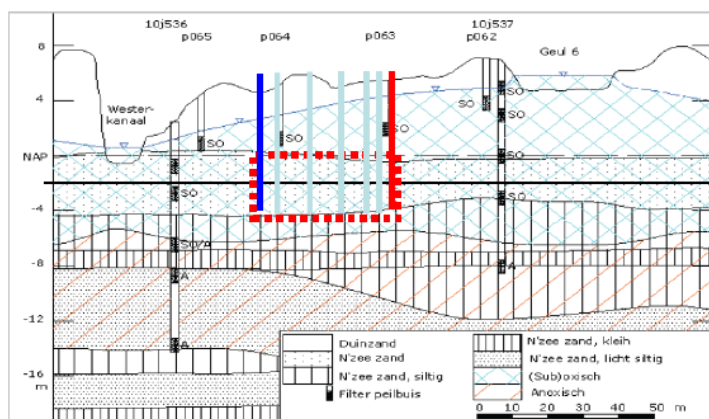
Figuur 1.6. De waargenomen verwijdering van de bacteriofagen MS2 en ϕ x174 bij bodempassage onder anoxische condities.

	Afstand (m)	Reistijd (d)	Verwijdering en verduunning (Log N)		Verwijdering (Log N)	
			$\Phi X174$	MS2	$\Phi X174$	MS2
WP 1	7,8	18	2,7	1,7	2,2	1,2
WP 2	17,2	37	4,0	3,1	3,2	2,3
Pompput	37,7	62	8,6	7,2	4,9	3,5

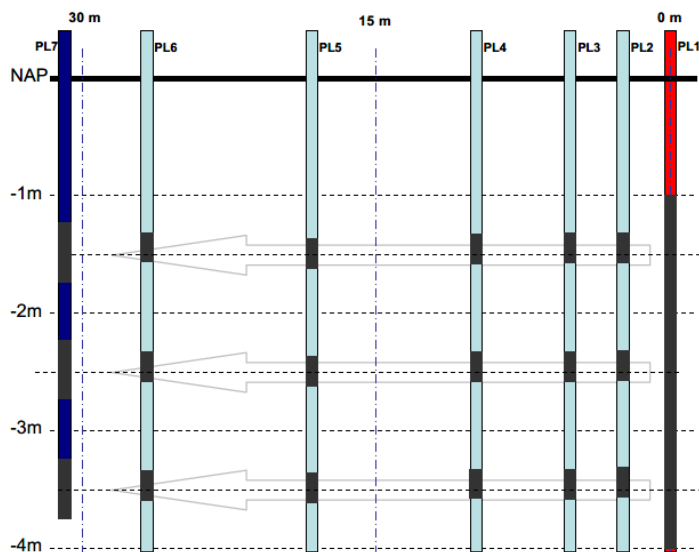
Tabel 1.1. Verwijdering van MS2 en $\phi x174$ onder anoxische condities.

1.2.4 Leiduin, suboxische condities.

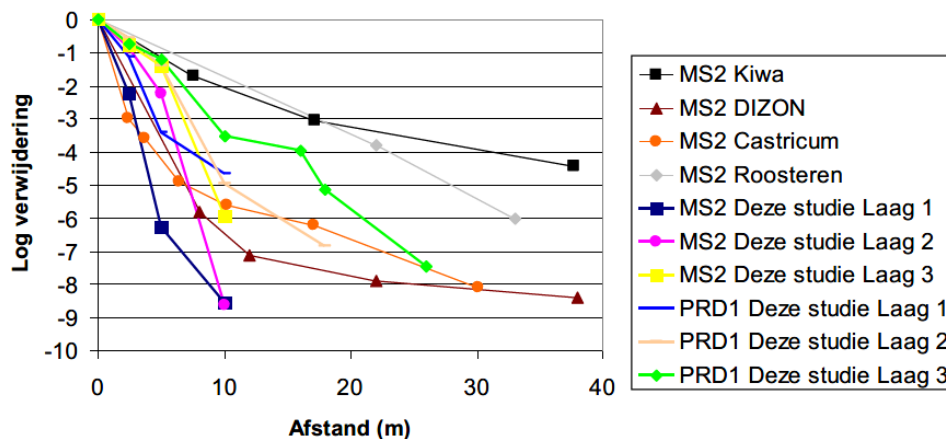
In het infiltratiegebied van Waternet bij Leiduin wordt water geïnfiltreerd in tientallen infiltratiepanden. Vanuit deze panden stroomt het water via bodempassage naar drainagekanalen en een centraal kanaal, waarna het in de drinkwaterproductielocatie verder wordt gezuiverd. In dit duingebied is de verwijdering van de bacteriofagen MS2 en PRD1 bepaald onder suboxische condities, $dwz < 1,0 \text{ mg/L O}_2$ en $> 0,5 \text{ mg/L NO}_3$. Omdat op voorhand niet exact kon worden voorspelt op welke diepte de juiste redoxcondities konden worden aangetroffen, is de bodempassage van virussen uitgevoerd op 3 verschillende dieptes.



Figuur 1.7. Een dwarsdoorsnede van de locatie, waar bodempassage van virussen onder suboxische condities is onderzocht. Het gebied in de rode rechthoek is weergegeven in figuur 1.8.



Figuur 1.8. De injectieput en de waarnemingsputten met de filters op drie verschillende dieptes.



Figuur 1.9. De verwijdering van MS2 bij de 4 hierboven gepresenteerde studies. De studie van Roosteren (oeverfiltratie) is hier niet besproken. MS2 Kiwa is de studie onder anoxische condities in Nieuwegein. "Deze studie" is de studie uitgevoerd bij Leiduin.

De verwijdering van PRD1 onder suboxische condities bleek ongeveer gelijk te zijn aan de verwijdering van bacteriofagen in Castricum onder oxische condities. MS2 werd nog beter verwijderd dan PRD1. Figuur 1.9 laat voor MS2 zien hoe de verwijdering was voor deze bacteriofaag bij de verschillende locaties en redoxcondities, aangevuld met de gegevens van PRD1 voor Leiduin (suboxische condities). Vergelijk van de informatie van MS2 onder oxische condities, waarbij de 1^e 10 meter transport bij de diepinfiltratie van Someren ook als oxisch wordt beschouwd, laat zien dat de verwijdering bij Someren, Castricum en Leiduin niet veel verschilt. Verwijdering onder anoxische condities (MS2 Kiwa) is duidelijk minder.

Tijdens de 4 studies die hierboven zijn beschreven zijn de bodemgegevens bepaald, waarbij gelijke methoden en analyses zijn ingezet.

1.3 Doel van deze studie

Van de bovenstaande 4 locaties zijn ten tijde van de studie de geochemische bodemeigenschappen bepaald, en is bepaald hoe effectief virussen zijn verwijderd door bodempassage door de desbetreffende bodem. Dit is gedaan door het aantal virussen te bepalen in het onttrokken water, en deze te vergelijken met het aantal gedoseerde virussen. Het aantal virussen neemt af door twee processen; afsterving en hechting. Afsterving is het gevolg van blootstelling van virussen aan omgevingscondities zoals temperatuur, pH, redoxcondities etc gedurende een bepaalde tijd, waardoor een deel van de populatie zal afsterven. Hechting beschrijft het aandeel virussen wat aan de bodemdeeltjes zal hechten.

De hechting kan worden weergegeven door het berekenen van de botsingsefficiëntie (α), die het aandeel van de botsingen tussen de virusdeeltjes en de bodemdeeltjes dat daadwerkelijk resulteert in hechting beschrijft. Deze botsingen zijn het resultaat van elektrostatische interacties tussen micro-organismen en het poreuze medium waarbij de parameters stroming en diffusie niet worden meegenomen in de berekening. De botsingsefficiëntie kan worden berekend met de colloid filtratie theorie van Yao (Yao et al 1971, Tufenkji and Elimelech, 2004), en wordt door de volgende formule beschreven:

$$\alpha = \frac{2}{3} \frac{d_c}{(1-n)} \frac{k_{a1}}{v} \frac{1}{\eta_0}$$

waarbij α de botsingsefficiëntie is, d_c de korreldiameter, n de porositeit, k_{a1} de hechtingsnelheids-coëfficiënt, v de stroomsnelheid en η de 'single collector efficiency'. De botsingsefficiëntie (α) is in de bovenstaande studies bepaald voor de gedoseerde virussen en in tabel 3 en 4, in de bijlage weergegeven als SE (sticking efficiency). Door middel van multivariate statistische analyses is een relatie gezocht tussen de SE en de geochemische bodemeigenschappen.

2 Materiaal en Methoden

2.1 Ruwe gegevens

De geochemische condities van de in hoofdstuk 2 beschreven studies zijn samengevat in een excel data file (tabel 3 en 4 in de Bijlage). De analyses van bodemparameters zijn bij deze studies op vergelijkbare manier uitgevoerd maar niet bij alle studies zijn dezelfde geochemische parameters bepaald. Desondanks is een unieke dataset beschikbaar met geochemische informatie en informatie over de verwijdering van virussen na passage door de bodem. De tabellen (tabel 3 en 4) met gebruikte geochemische gegevens zijn weergegeven in de bijlage. De secties die behoren bij de PCA zijn in het engels geschreven. De hoofdstukken 4 (discussie) en 5 (Conclusie en aanbevelingen) zijn in het Nederlands opgeschreven.

2.2 Data analysis

2.2.1 Bivariate analysis

First, bivariate relationships between Sticking Efficiency (SE) and site variables were tested. For contentious site variables, Spearman's rank correlation test was applied. For categorical variables (i.e. study site, redox category, type of phage), ANOVA was conducted on logit-transformed SE (i.e. $\ln(SE/(1-SE))$), followed by a multiple comparison test (Tukey's HSD) to examine which particular pairs of categories had significant difference.

2.2.2 Multivariate analysis

Results of above-mentioned bivariate analyses (i.e. correlation analysis, 1-way ANOVA) are subject to effects of other confounding factors. Therefore, we also apply multivariate statistical techniques in order to disentangle the effects of a number of site variables on SE. Since many of geochemical variables of soil are correlated, we first conducted principle component analysis (PCA) to reduce their dimensionality. We used six hydrogeochemical variables (NO₃, SO₄, organic matter (OM), CEC, oxalate-extractable Iron (Fe_{ox}), and Clay) which had a complete dataset for all 46 sites. Note that estimated values were also used for PCA for some sites (i.e. N=13 for NO₃, N=15 for SO₄, N=15 for OM, N=15 for CEC, N=24 for Fe_{ox}, and N=15 for Clay). CEC, Fe_{ox} and Clay were log-transformed prior to the PCA analysis to correct their highly right-skewed distribution. Subsequently the scores of each sampling site were computed for the first three axes extracted by the PCA. In addition, we tested the correlation between the PCA scores and the geochemical variables which were not used for the PCA analysis due to their incompleteness, in order to help interpretation of each axis.

Furthermore the effects of different site variables on SE were tested in the framework of linear mixed model. Here logit SE was regressed by fixed effects of a number of site characteristics as well as random effects of study locations (Someren/Castricum/Leiduin/Nieuwegein), using maximum likelihood method. The random effect accounts for the effects created by non-independence of SE in a study site. We selected the following site characteristics as fixed effects: the scores on the PCA axis (which represent major variation of hydrogeochemical characteristics of the soil), O₂, Distance, and type of Phage. The scores of PCA axis 2 was not included in the model as it is strongly correlated with O₂ ($\rho = -0.73$) and therefore may cause a collinearity problem. Prior to the

analysis, distance and O₂ (after adding 0.1) were log-transformed to correct their right-skewed distribution. The full model is written as:

$$\ln\left(\frac{SE_i}{1-SE_i}\right) = \beta_0 + \beta_1 \cdot PCA1_i + \beta_2 \cdot PCA3_i + \beta_3 \cdot \ln(O_{2_i} + 0.1) \\ + \beta_4 \cdot \ln(Distance_i) + \beta_5 \cdot Phage_i + b \cdot Study_i + \varepsilon_i$$

where $\beta_0 - \beta_5$ are the coefficients of fixed effects, b is the coefficient of random effect, ε is the error term. $PCA1$, $PCA3$ are the scores of PCA on axis 1, and 3 respectively, O_2 is the oxygen content in water (mg/l), $Distance$ is the distance from the injection point (m), and $Phage$ is the dummy variable representing whether the SE was measured for PRD1 (1) or MS2 (0). b and ε are assumed to follow distributions which have a mean value of 0. Note that estimated O_2 values were used for 6 sites.

Although adding an explanatory variable to the model leads to a higher proportion of total variation explained by the model, the most appropriate model is the one which balances the goodness of fit and simplicity. We choose the best model to predict SE from competing models based on the Akaike information criterion (AIC) as the goodness of fit measure: the lower the AIC value, the better the model. In addition, the significance of each of fixed effects was assessed by likelihood ratio test between the model with and without the specific effect. Furthermore, in order to compare relative importance of each variable in the best model, standardized coefficient values were also computed by scaling each variable to an array with average zero and standard deviation (SD) 1. The standardized coefficient quantifies how much the response variable will increase in the unit of SD when the explanatory variable increases for 1 SD.

3 Results

3.1 Bivariate relationships between Sticking Efficiency (SE) and site characteristics

With bivariate Spearman's rank correlation analysis, SE is significantly correlated with 6 variables: Distance ($\rho = -0.29$, $p < 0.05$, $N=46$), pore water velocity ($\rho = 0.49$, $p < 0.001$, $N=46$), O₂ ($\rho = 0.33$, $p < 0.05$, $N=40$), CaCO₃ ($\rho = -0.50$, $p < 0.05$, $N=19$), OM ($\rho = 0.36$, $p < 0.05$, $N=31$) and CEC ($\rho = 0.36$, $p < 0.05$, $N=31$) (Figure 3.1, See also Figure 6 in Appendix for the shape of the relations as well as exact correlation coefficient and their p-values).

All categorical variables (Study area, type of phage, and redox category) had significant effects on SE (Table 1, Figure 3.2). Study area had significant effects on SE ($p < 0.001$): SE was significantly low in Nieuwegein compared to other three areas ($p < 0.001$). SE was significantly lower for MS2 than PRD1 ($p < 0.01$). Redox category also had significant effects on SE ($p < 0.001$): deeply anoxic sites had lower SE than NO₃-reducing, O₂-reducing, O₂/NO₃-reducing, and oxic sites, and anoxic sites had lower SE than O₂/NO₃-reducing sites.

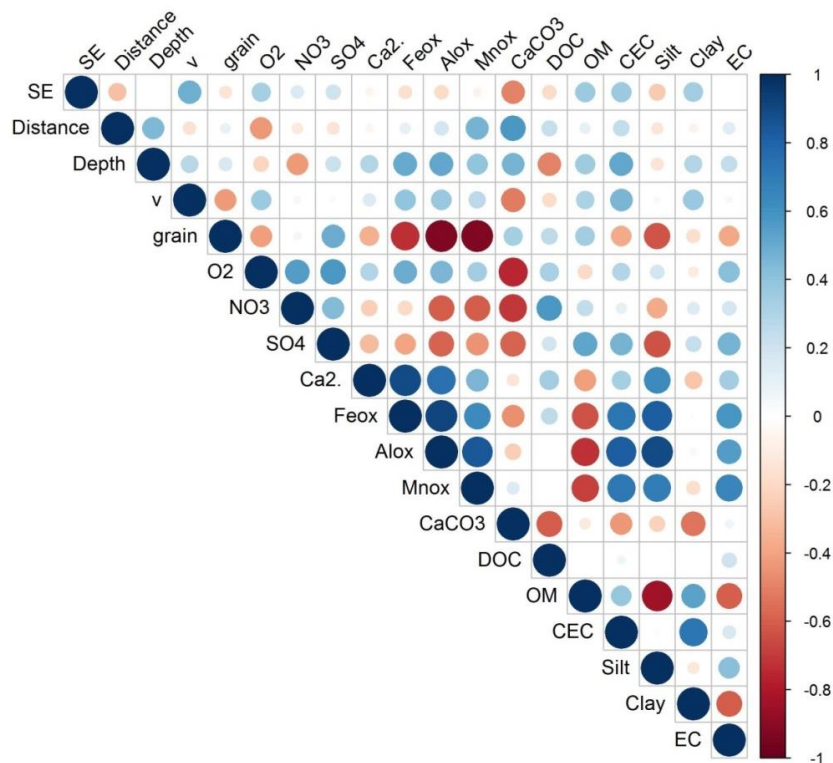


FIGURE 3.1. SPEARMAN'S CORRELATIONS BETWEEN CONTINUOUS SITE VARIABLES AND SE. LARGER CIRCLES INDICATE HIGHER CORRELATION. BLUE AND RED DEPICT POSITIVE AND NEGATIVE CORRELATIONS, RESPECTIVELY. ONLY MEASURED VALUES, NOT ESTIMATED VALUES, ARE USED. THE NUMBER OF SITES TESTED VARIES FOR EACH COMBINATION OF TWO VARIABLES DUE TO MISSING DATA, WITH MAXIMUM AS $N=46$. SEE FIGURE 2 IN APPENDIX FOR EXACT CORRELATION COEFFICIENT VALUES AND THEIR P-VALUES.

TABLE 1. RESULTS OF ANOVA, IN WHICH EFFECTS OF THREE CATEGORICAL SITE VARIABLES WERE TESTED SEPARATELY ON LOGIT-TRANSFORMED SE. N=46.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
Study	3	32.05	10.68	6.77	0.001	***
Redox	5	44.40	8.88	6.59	0.000	***
Phage	1	18.22	18.22	10.01	0.003	**

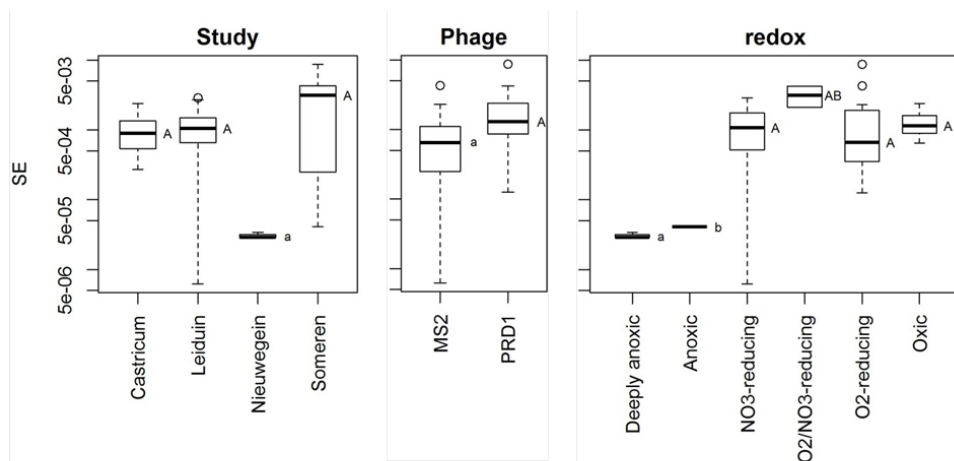


FIGURE 3.2. EFFECTS OF STUDY AREA, TYPE OF PHAGE, AND REDOX CATEGORY ON SE. SIGNIFICANT ($P < 0.05$) DIFFERENCE BETWEEN CATEGORIES, TESTED BY MULTIPLE COMPARISON TEST (TUKEY HSD), ARE SHOWN WITH ALPHABET (I.E. GROUPS MARKED WITH LOWER CASE AND UPPER CASE (SUCH AS 'A' AND 'A') ARE SIGNIFICANTLY DIFFERENT). THE LINES IN THE BOX REPRESENT MEDIAN VALUES; THE END OF THE BOX SHOWS THE UPPER AND LOWER QUANTILES; THE EXTREME LINES SHOW THE HIGHEST AND LOWEST VALUE EXCLUDING OUTLIERS (SMALL CIRCLES).

3.2 Dimensionality reduction of soil geochemical variables by PCA

The first axis of PCA explained 42.5 % of total variation of the six soil geochemical variables (CEC, OM, Clay, Fe_{ox}, SO₄, NO₃). CEC, OM, and Clay have high negative loading on the axis (Figure 1.3 left). Therefore this PCA axis can be interpreted as 'sorptivity of the soil'.

The second axis of PCA explained 27.5% of total variation. NO₃, SO₄, and Fe_{ox} have large negative loadings on the second axis (Figure 1.3 left). This axis is negatively correlated with O₂ ($\rho = -0.73$, $p < 0.001$; Figure). PCA axis 2 can thus be interpreted as 'Redox status of the water phase'.

The third axis of PCA explained only 12.4% of total variation. Fe_{ox} has negative loading on this axis, whereas NO₃ and OM have positive loadings on this axis.

SE was significantly and negatively correlated with PCA axis 1 ($\rho = -0.32$, $p < 0.05$), but not significantly correlated with PCA axis 2 nor axis 3 (Figure 3.3).

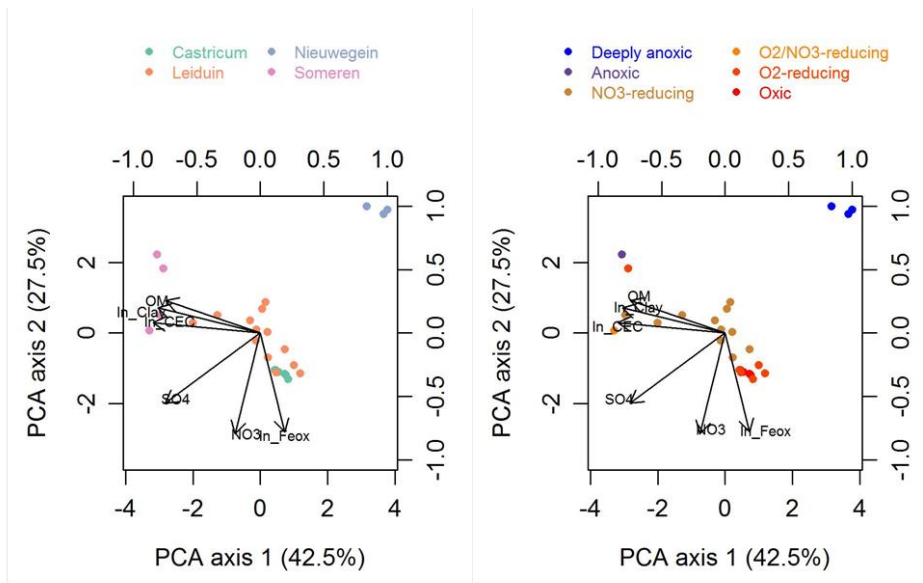


FIGURE 1.3. PCA RESULTS OF 6 SOIL GEOCHEMICAL VARIABLES X 46 SAMPLING POINTS, SHOWN FOR AXIS 1 AND 2. ARROWS DEPICT LOADINGS OF EACH GEOCHEMICAL VARIABLE. POINTS DEPICT PCA SCORES OF 46 SAMPLING POINTS ON PCA AXES. THE COLORS REPRESENT STUDY SITE (LEFT) OR REDOX CATEGORY (RIGHT).

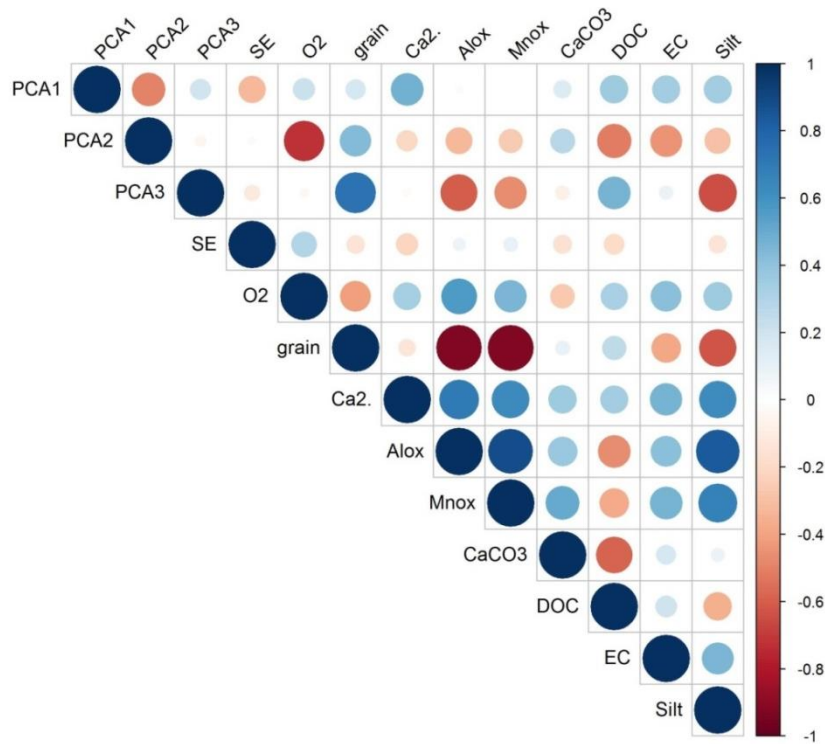


FIGURE 3.4. SPEARMAN'S CORRELATIONS BETWEEN SCORES OF PCA AXIS 1 - 3, SE, O2, AND THE SOIL GEOCHEMICAL VARIABLES WHICH WERE NOT INCLUDED IN THE PCA.

3.3 Mixed model regression analysis of SE

The best model chosen based on AIC is shown in Table 2. The model explains approximately half of the total variation of SE ($R^2 = 56,4\%$). The chosen site variables are the scores on PCA axis 1 ($p < 0.001$), O_2 ($p < 0.01$), distance ($p < 0.05$) and type of phage ($p < 0.01$). The model indicates that SE is higher in soils with high sorptivity (=low PCA1 score) which are characterized with high CEC, high clay, and/or high OM; higher in aerobic conditions; higher at locations close to infiltration points; and high for PRD1 than for MS2. Standardized coefficients of the model imply that the SE is the most strongly influenced by sorptivity of the soil (i.e. PCA1 scores; $\beta = -0.396$), followed by soil oxidic conditions ($\beta = 0.326$), type of Phage ($\beta = 0.319$), and distance ($\beta = -0.235$) (**Error! Reference source not found.**). The best model is also graphically shown in Figure 3..

Since the anoxic sites had distinctly low SE and, at the same time, they had rather deviating geochemical conditions from other sites (as seen in their isolated positions in the PCA1-PCA2 plane), it is suspected that the results of the mixed-model regression is distorted by the these anoxic points. To check that, we also conducted the same sets of multivariate analyses for 42 sites which exclude four anoxic sites (Appendix II). It revealed that SE was still significantly influenced by soil sorptivity (which was associated with high clay, high CEC, and high OM) as well as type of phage (high for PRD1 than for MS2). These additional analyses provided two main implications: 1) the effects of soil sorptivity and type of phage on SE were robust (i.e., not an artifact caused by a few deviating observations in anoxic sites), and 2) the effects of redox status on SE are prominent when a wide range of anoxic-oxic gradient is concerned, but not when a narrow range of oxidic status is compared.

TABLE 2. RESULTS OF BEST MODEL SELECTED BASED ON AIC. COEFFICIENT VALUES (β) AND THEIR STANDARD ERROR ARE SHOWN. SIGNIFICANT LEVEL OF EACH PARAMETER WAS TESTED WITH WALD'S Z-SCORE (P_Z) AND WITH LIKLIHOOD RATIO TEST (P_{X^2}).

Variable	Coefficient (β)	SE (β)	p_z	p_{X^2}	standardized coefficient
(Intercept)	-6.915	0.465	0.000***		
PCA1	-0.363	0.090	0.000***	0.001**	-0.396
PCA3	<i>not selected</i>				
ln_O2	0.344	0.111	0.003**	0.003**	0.326
ln_Distance	-0.433	0.190	0.025*	0.033*	-0.235
Phage_dum	0.935	0.292	0.002**	0.002**	0.319
AIC	141.3				
variance explained (%)	56.4				
N	46				

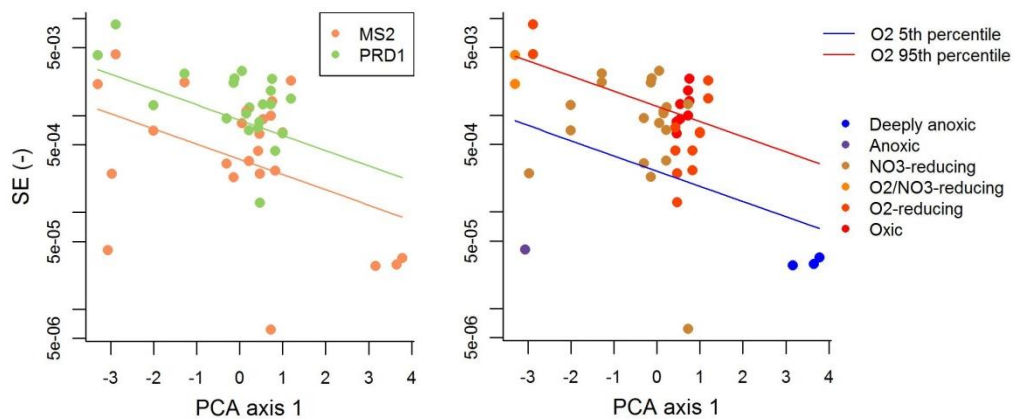


FIGURE 3.5. GRAPHICAL PRESENTATION OF THE BEST REGRESSION MODEL OF SE, WHICH WAS REGRESSED BY SCORES ON PCA AXIS 1, O₂, DISTANCE, AND TYPE OF PHAGE. HIGH SCORE ON PCA AXIS 1 MEANS HIGH SORPTIVITY OF SOILS. LEFT: SE IS PLOTTED AGAINST SCORES ON PCA AXIS 1, WITH REGRESSION LINES SHOWN FOR DIFFERENT TYPES OF PHAGE: PRD (GREEN LINE) AND MS2 (ORANGE LINE). EACH POINT DEPICTS A SAMPLING POINT, FOR WHICH SE WAS MEASURED FOR PRD (GREEN POINT) OR MS (ORANGE POINT). THE MEDIAN VALUE OF O₂ AND DISTANCE WAS USED TO COMPUTE THE REGRESSION LINES. RIGHT: SE IS PLOTTED AGAINST SCORES ON PCA AXIS 1, WITH REGRESSION LINES SHOWN FOR HIGH (SOLID RED LINE) AND LOW (DOTTED BLUE LINE) LEVELS OF O₂. EACH POINT DEPICTS A SAMPLING POINT, WITH COLORS REPRESENTING REDOX CATEGORIES. THE INTERMEDIATE VALUE OF THE DUMMY VARIABLE OF PHAGE (I.E. 0.5) AND MEDIAN VALUE OF DISTANCE WAS USED TO COMPUTE THE REGRESSION LINES.

4 Discussie

4.1 De invloed van de dataset op het resultaat van de multivariate regressie analyse.

Een belangrijke bevinding van de studie is dat met het beste regressie model 56% van de variatie van de hechting worden verklaard, en dat de sorptiecapaciteit van de bodem (welke een samenvoeging is van de componenten CEC, hoge aanwezigheid van klei en/of hoge concentratie organische stof) daarin de grootste factor is. Echter, de data sets afkomstig van de 4 locaties verschillen op een aantal parameters veel van elkaar. De locaties Nieuwegein en Leiduin zijn bewust geselecteerd om de daar aanwezige redoxcondities, omdat die afwijken van de redoxcondities bij Castricum. De locatie Someren is afwijkend van de overige locatie, omdat het diepinfiltratie is, omdat er zuurstofrijk water in een anoxisch watervoerend pakket is gebracht en omdat de geochemische situatie rondom de infiltratieput is gebaseerd op een redoxbalans, en niet alle punten daadwerkelijk zijn gemeten. Op de locatie Nieuwegein en Leiduin is voor de infiltratie van de micro-organismen water gebruikt dat afkomstig was uit het watervoerend pakket waar de virussen in zouden worden geïnjecteerd. Bij Castricum is het water met virussen vanuit een infiltratiepand in de bodem geïnfiltrteerd. Het verschil van locaties en proefopzet beïnvloeden de multivariate statistische analyses in bepaalde mate. Met name het verschil tussen de oxische en anoxische locaties is groot. Om te bepalen in hoeverre de meetpunten onder anoxische condities de totale analyse beïnvloeden is de multivariate analyse herhaald zonder de anoxische meetpunten. Deze analyse laat zien dat de gevonden correlatie van de SE met de sorptiecapaciteit van de bodem ook zonder de anoxische meetpunten blijft bestaan.

Twee studies, Someren en Castricum, laten een duidelijk betere verwijdering zien dicht bij het injectiepunt. Bij Someren zijn de bacteriofagen geïnjecteerd in de bodemlaag, samen met oxisch water, waardoor rondom het injectiepunt een zone van zuurstofrijk water werd gecreëerd. Dit had uiteraard invloed op de geochemische eigenschappen van de bodem, met name de omzetting van pyriet naar ijzerhydroxide. Het positief geladen ijzerhydroxide kan als bindingsplaats dienen voor de negatief geladen bacteriofagen. In Castricum zijn bacteriofagen niet geïnjecteerd in de bodem, maar in een infiltratiepand in de bodem geïnfiltrteerd. Vooral de 1^e paar centimeter (schmutzdecke) van de bodem van het infiltratiepand kan veel verwijderen. Nadat het water in de bodem is geïnfiltrteerd zal de zuurstofconcentratie in het water geleidelijk afnemen. Ook zuurstof is een belangrijke parameter volgens het regressiemodel, en door de afnamen van zuurstof in het water neemt vermoedelijk de hoeveelheid (hydr)oxides in de bodem en dus het totale hechtingsoppervlak af. Bij de studies in Nieuwegein en Leiduin is water geïnfiltrteerd wat afkomstig was van de bodemdiepte waar de bacteriofagen werden geïnjecteerd, en zijn de geochemische condities niet veranderd tijdens injectie of transport. Bij deze studies is de verwijdering lineair vanaf het injectiepunt.

4.2 Verschil tussen kolomstudies en veldstudies

Hechting van virussen aan bodemdeeltjes tijdens transport door poreuze media is veel onderzocht onder uiteenlopende condities, maar dit betreft vaak kolomstudies. Meestal worden kwarts of glasdeeltjes gecoat met de te onderzoeken parameter, zoals FeOH, of klei, waarna de hechting van virussen wordt vergeleken in kolommen die verschillen in de mate van coating, dus de beschikbaarheid van de te onderzoeken parameter. Zo is goethite, ijzer en aluminium onderzocht (Abudalo et al, 2005; Bradley et al, 2011, Attinti et al, 2010), klei (Tong et al, 2012), organische stof (Wong et al, 2013) etc. Op basis van de geochemische

condities bij de 4 veldstudies die hier zijn geanalyseerd is de hechting van virussen echter niet direct te relateren met 1 parameter. Dat geeft aan dat hechting onder veldcondities wordt bepaald door de gecombineerde eigenschappen van de bodem, en waarvan geochemische condities een belangrijke rol spelen. De belangrijkste geochemische parameter kan worden samengevat als het sorptievermogen van de bodem, wat een combinatie is van vooral de CEC, kleideeltjes, pH en organische stof en weergegeven in PCA as 1. In hoeverre elk van de componenten van het sorptievermogen van de bodem individueel bijdraagt naar de hechting van virussen in veldconditie is met de huidige dataset niet vast te stellen. Het is daarnaast ook beschreven dat een toename van twee waardige ionen (Ca^{2+} en Mg^{2+}) in het water een positieve invloed heeft op de binding van virussen aan de bodem (Wong et al, 2013). Hoewel kolomstudies veel inzicht geven in het gedrag van virussen op specifieke bodemcomponenten, blijkt onder veldcondities juist de combinatie van factoren te zorgen voor de meeste hechting. Indien inderdaad blijkt dat CEC, klei en organische stof belangrijk zijn, dan kunnen deze parameters in een bodemanalyse worden bepaald.

5 Conclusie en aanbevelingen

5.1 Resultaten van de multivariate statistische analyses

- Door middel van multivariate analyse is het mogelijk om uit de totaalsom van de componenten die van belang zijn bij de hechting van virussen aan de bodem, de componenten te identificeren die het meest bijdragen aan de hechting. Met het beste regressie model kan 56% van de variatie van de hechting worden verklaard, en dit liet zien dat vooral de aanwezigheid van zuurstof, de sorptiecapaciteit van de bodem (welke een samenvoeging is van de componenten CEC, hoge aanwezigheid van klei en/of hoge concentratie organische stof), de afstand van injectiepunt, en het type bacteriofaag van significante invloed zijn. Met andere woorden; hechting van bacteriofagen is sterker als de bodem meer oxisch is, een hoger sorptiecapaciteit heeft, en dicht bij het injectiepunt. Dit laatste punt kan worden gerelateerd aan de bodemeigenschappen op de locatie. Bij Someren is dat pyriet oxidatie vlak bij het injectiepunt, en bij Castricum de passage door de schmutzdecke. De sorptiecapaciteit heeft van de genoemde componenten het meeste invloed op de hechting van bacteriofagen, wat kan worden afgeleid van de hoge gestandaardiseerde regressiecoëfficiënt (-0,40).
- Dit resultaat wordt in een bepaalde mate beïnvloedt door de redoxeigenschappen van de locaties, waarbij met name de anoxische meetpunten erg afwijken van de overige meetpunten. Multivariate analyse zonder anoxische meetpunten laat echter zien dat de sorptiecapaciteit ook dan de belangrijkste parameter blijft. Het effect van sorptiecapaciteit van de bodem is dus robuust en geen artefact dat wordt veroorzaakt door afwijkende waarnemingen bij de anoxische locaties.
- Het effect van redox status op de SE is groot wanneer de range tussen oxisch en anoxisch groot is, maar veel kleiner als de oxische condities dicht bij elkaar liggen. Dan speelt de sorptiecapaciteit van de bodem een grotere rol.
- De vele gepubliceerde kolomstudies bestuderen vaak de verwijdering van virussen in poreuze media in combinatie met één specifieke component, zoals klei of metaal hydroxiden. Deze componenten laten een effect zien op de hechting van virussen. Uit de analyse van de geochemische gegevens van de veldlocaties komt naar voren dat niet één specifieke component van grote invloed is op de hechting van bacteriofagen, maar dat de combinatie van de bodem de totale hechting bepaald. Een combinatie van additionele factoren in de bodem onder veldcondities kan de bijdrage van een enkele component maskeren. Dit geeft duidelijk aan dat gegevens afkomstig van veldstudies noodzakelijk zijn om de verwijdering van virussen door bodempassage onder realistische condities vast te stellen.
- Ondanks de grote variatie in de datasets, afkomstig van erg verschillende veldlocaties, is duidelijk dat meer dan de helft van de hechting toe kan worden gewezen aan de 4 hierboven genoemde factoren. Verder zijn de waarnemingen in lijn met een aantal kolomstudies waar bijvoorbeeld het effect van kleideeltjes is onderzocht. Echter de relatieve bijdrage van de afzonderlijke factoren in de sorptiecapaciteit van de bodem, en de hechting van virussen is iets wat, zeker bij veldstudies niet duidelijk is, en beter zal moeten worden onderzocht.

5.2 Aanbevelingen

- De sorptiecapaciteit van de bodem is een belangrijke parameter voor de hechting van virussen aan de bodem, en het bepalen van de CEC kan hier snel informatie

over geven. De CEC van de bodem wordt meestal berekend op basis van de hoeveelheid organische stof, lutum en pH. Om snel een beeld te krijgen van de verwijderingscapaciteit van de bodem voor virussen is het berekenen van de CEC een goede strategie.

- Het meeste inzicht over hechting van virussen aan poreuze media is afkomstig van kolom experimenten onder laboratorium condities. Om goed te begrijpen hoe hechting van virussen plaatsvindt onder realistische veldcondities, is het van groot belang om experimenten op te zetten met als doel te begrijpen hoe hechting van virussen in bodem waarin alle componenten aanwezig zijn en zo in een gecombineerd complex de hechting van virussen beïnvloeden. Op deze wijze wordt meer inzichtelijk hoe geochemische bodemcondities elkaar onderling beïnvloeden, en op deze wijze een effect laten zien op de virusverwijdering.

Bijlage I

TABEL 3 GEOCHEMISCHE GEGEVENS VAN DE LOCATIES

Smulty	W/Well	Phase	m	m	m	m/d	mm	gram	redox	mg/l	mg/l	mg/l	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/l	%OC	meq/kg	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]	[]
			Distance	Depth	v					O2	NO3	SO4	Ca2+	Feox	Altox	Mnnox	CaCO3	DOC	OM	CEC	Silt	Clay	EC	pH	temp	OC	SE
Leiduin	P/L21	PRD1	2,5	1,5	1,1	0,281	O2-reducing	1,7	15,2	63	67	720	82	8,6	0,025	1,2	0,24	8	0,01	0,01			713	7,9	15,2	6,99E-04	
Leiduin	P/L31	PRD1	5	1,5	1,1	0,2964	O2-reducing	1,5	15,3	63	70	860	73	6,7	0,025	1,3	0,36	8	0,01	0,006			730	7,9	15,2	1,49E-03	
Leiduin	P/L41	PRD1	10	1,5	1,1		O2-reducing	1,1	15,5	64	67							1,4					736	7,9	15,2	1,26E-04	
Leiduin	P/D111	PRD1	16	1,5	1,1		NO3-reducing	0,6	15	58	85							1,4					702	7,9	15,2	1,31E-03	
Leiduin	P/L22	PRD1	2,5	2,5	1,1	0,2472	NO3-reducing	0,7	13,9	60	70	875	110	12	0,036	1,2	0,35	13	0,014	0,017			713	7,9	15,2	9,35E-04	
Leiduin	P/L32	PRD1	5	2,5	1,1	0,2383	NO3-reducing	0,7	13,9	62	69	875	115	15	0,025	1,2	0,34	18	0,033	0,028			729	7,9	15,2	2,70E-03	
Leiduin	P/L42	PRD1	10	2,5	1,1	0,2699	NO3-reducing	0,5	15,2	62	68	870	90	9,6	0,03	1,2	0,35	10	0,010	0,012			731	7,9	15,2	1,21E-03	
Leiduin	P/D112	PRD1	16	2,5	1,1		NO3-reducing	0,5	14,6	59	67							1,2					718	7,9	15,2	2,19E-03	
Leiduin	P/L23	PRD1	2,5	3,5	2,1	0,2552	NO3-reducing	0,8	14	61	71	900	94	0,24	0,025	1,2	0,36	11	0,015	0,012			719	7,9	15,2	7,03E-04	
Leiduin	P/L33	PRD1	5	3,5	2,1	0,2423	NO3-reducing	0,7	14,5	61	71	1120	160	15	0,023	1,3	0,34	23	0,034	0,038			728	7,9	15,2	1,28E-03	
Leiduin	P/L43	PRD1	10	3,5	2,1	0,2396	NO3-reducing	0,4	13,1	60	69	790	91	15	0,042	1,2	0,47	11	0,014	0,011			726	7,9	15,2	1,05E-03	
Leiduin	P/D113	PRD1	16	3,5	2,1		NO3-reducing	0,4	13,3	58	67							1,2					718	7,9	15,2	2,88E-03	
Leiduin	P/L21	MS2	2,5	1,5	1,1	0,281	O2-reducing	1,7	15,2	63	67	720	82	8,6	0,025	1,2	0,24	8	0,014	0,010			713	7,9	15,2	6,70E-04	
Leiduin	P/L31	MS2	5	1,5	1,1	0,2964	O2-reducing	1,5	15,3	63	70	860	73	6,7	0,025	1,3	0,36	8	0,007	0,006			730	7,9	15,2	2,30E-03	
Leiduin	P/L41	MS2	10	1,5	1,1		O2-reducing	1,1	15,5	64	67							1,4					736	7,9	15,2	2,50E-04	
Leiduin	P/D111	MS2	16	1,5	1,1		NO3-reducing	0,6	15	58	85							1,4					702	7,9	15,2	6,20E-06	
Leiduin	P/L22	MS2	2,5	2,5	1,1	0,2472	NO3-reducing	0,7	13,9	60	70	875	110	12	0,036	1,2	0,35	13	0,014	0,017			713	7,9	15,2	3,20E-04	
Leiduin	P/L32	MS2	5	2,5	1,1	0,2383	NO3-reducing	0,7	13,9	62	69	875	115	15	0,025	1,2	0,34	18	0,033	0,028			729	7,9	15,2	2,20E-03	
Leiduin	P/L42	MS2	10	2,5	1,1	0,2699	NO3-reducing	0,5	15,2	62	68	870	90	9,6	0,03	1,2	0,35	10	0,010	0,012			731	7,9	15,2	1,20E-03	
Leiduin	P/D112	MS2	16	2,5	1,1		NO3-reducing	0,5	14,6	59	67							1,2					718	7,9	15,2	2,30E-04	
Leiduin	P/L23	MS2	2,5	3,5	2,1	0,2552	NO3-reducing	0,8	14	61	71	900	94	0,24	0,025	1,2	0,36	11	0,015	0,012			719	7,9	15,2	3,40E-04	
Leiduin	P/L33	MS2	5	3,5	2,1	0,2423	NO3-reducing	0,7	14,5	61	71	1120	160	15	0,023	1,3	0,34	23	0,034	0,038			728	7,9	15,2	7,00E-04	
Leiduin	P/L43	MS2	10	3,5	2,1	0,2396	NO3-reducing	0,4	13,1	60	69	790	91	15	0,042	1,2	0,47	11	0,014	0,011			726	7,9	15,2	1,10E-03	
Leiduin	P/D113	MS2	16	3,5	2,1		NO3-reducing	0,4	13,3	58	67							1,2					718	7,9	15,2	8,30E-04	
Nieuwegein	W/1	MS2	7,8	12	0,3	0,405	Deeply anoxic	0	<0,5		ND	ND	ND	ND	0,0459	0,12	6,9	0,020	0,006					7,5	12,9	3,40E-05	
Nieuwegein	W/2	MS2	17,2	12	0,4	0,405	Deeply anoxic	0	0,05	0,1	105	ND	ND	ND	0,0499	0,15	6,9	0,020	0,006					885	7,5	12,9	2,90E-05
Nieuwegein	Abstr	MS2	37,7	12	0,6	0,405	Deeply anoxic	0	<0,5		ND	ND	ND	ND	0,0582	0,11	9,8	0,026	0,007					7,5	12,9	2,80E-05	
Castricum	W/1	MS2	2,4	2,15	1,4	0,209	Oxic	9			90	1200	320	19		0,0582	0,11	14	0,034	0,009			870	7,5	5	1,40E-03	
Castricum	W/2	MS2	6,4	3,8	1,6		Oxic	8			1100	270	20				0,2	15	0,021	0,008			870	7,5	5	6,50E-04	
Castricum	W/3	MS2	10,2	3,25	1,6	0,209	Oxic	8			1100	270	20				0,2	15	0,021	0,008			870	7,5	5	6,50E-04	
Castricum	W/4	MS2	17,1	6,25	1,5		O2-reducing	5			90	1770	410	20			0,079	14	0,043	0,009			870	7,5	5	4,30E-04	
Castricum	W/5	MS2	30,1	2,4	1,4	0,203	O2-reducing	9			90	1200	320	19			0,1	14	0,034	0,009			870	7,5	5	2,40E-04	
Castricum	W/1	PRD1	2,4	2,15	1,4	0,209	Oxic	9			90	1200	320	19				0,1	14	0,034	0,009			870	7,5	5	2,40E-04
Castricum	W/2	PRD1	3,8	1,6			Oxic	8			1100	270	20				0,2	15	0,021	0,008			870	7,5	5	1,80E-03	
Castricum	W/3	PRD1	6,4	1,6			Oxic	8			1100	270	20				0,2	15	0,021	0,008			870	7,5	5	1,30E-03	
Castricum	W/4	PRD1	10,2	3,25	1,6	0,209	Oxic	8			1100	270	20				0,2	15	0,021	0,008			870	7,5	5	8,60E-04	
Castricum	W/5	PRD1	17,1	1,5			O2-reducing	5			90	1770	410	20			0,079	14	0,043	0,009			870	7,5	5	7,50E-04	
Castricum	W/6	PRD1	30,1	6,25	1,2	0,203	O2-reducing	5			90	1770	410	20			0,079	14	0,043	0,009			870	7,5	5	4,30E-04	
Somerens	W/P3	MS2	8	295	3,3	0,272	O2-reducing	5	13,8	83,5							0,585	25,1	0,009	0,019			4,30E-03			4,30E-03	
Somerens	W/P1	MS2	38	295	2	0,272	Anoxic	0	0	96							0,585	25,1	0,009	0,019			4,10E-05			4,10E-05	
Somerens	W/P2	MS2	12	295	2	0,272	O2/NO3-reduct	5	7,44	86,4							0,585	25,1	0,009	0,019			2,10E-03			2,10E-03	
Somerens	W/P4	MS2	22	295	0,9	0,272	NO3-reducing	5	7,48	74,9							0,585	25,1	0,009	0,019			2,50E-04			2,50E-04	
Somerens	W/P3	PRD1	8	295	3,3	0,272	O2-reducing	5	13,8	83,5							0,585	25,1	0,009	0,019			8,70E-03			8,70E-03	
Somerens	W/P2	PRD1	12	295	2	0,272	O2/NO3-reduct	5	7,44	86,4							0,585	25,1	0,009	0,019			4,20E-03			4,20E-03	

Leiduin: Hornstra et al, 2013; Nieuwegein: van der Wielen et al, 2008; Castricum: Schijven et al, 1999; Someren: Medema, 1999, Stuyfzand et al, 2006,

TABEL 4, GEOCHEMISCHE GEGEVENS VAN DE LOCATIES, WAARBIJ DE GEGEVENS IN ZWART ZIJN GEMETEN, EN IN ROOD ZIJN GESCHAT OP BASIS VAN OMRINGENDE METINGEN.

Study	Well	Phase	m	m	m/d	mm	See p56	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/l	%ac	meq/kg	g	g	microStic	pH	OC	g
Leidun	PL21	PRD1	2,5	1,5	1,1	0,281	O2-reducing	1,7	15,2	63	67	720	82	8,6	0,025	1,2	0,24	8	0,0142	0,0104	713	7,9	15,2	6,59E-04	
Leidun	PL31	PRD1	5	1,5	1,1	0,2964	O2-reducing	1,5	15,3	63	70	860	73	6,7	0,025	1,3	0,36	8	0,0074	0,0061	730	7,9	15,2	1,49E-03	
Leidun	PL41	PRD1	10	1,5	1,1 X		O2-reducing	1,1	15,5	64	67	850	80	7	0,025	1,4	0,4	8	0,01	0,01	736	7,9	15,2	1,26E-04	
Leidun	PD111	PRD1	16	1,5	1,1 X		O2-reducing	0,82	15	58	85	850	80	7	0,025	1,4	0,4	13	0,01	0,01	702	7,9	15,2	1,31E-03	
Leidun	PL22	PRD1	2,5	2,5	1,1	0,2472	NO3-reducing	0,7	13,9	62	70	875	110	12	0,036	1,2	0,35	18	0,0385	0,0275	729	7,9	15,2	2,70E-03	
Leidun	PL32	PRD1	5	2,5	1,1	0,2383	NO3-reducing	0,7	13,9	62	69	875	115	15	0,025	1,2	0,34	18	0,0325	0,0275	731	7,9	15,2	2,20E-03	
Leidun	PL42	PRD1	10	2,5	1,1	0,2699	NO3-reducing	0,5	15,2	62	68	870	90	9,6	0,03	1,2	0,35	10	0,0103	0,0121	731	7,9	15,2	1,20E-03	
Leidun	PD112	PRD1	16	2,5	2,1 X		NO3-reducing	0,5	14,6	59	67	870	100	10	0,03	1,2	0,4	15	0,01	0,01	718	7,9	15,2	2,30E-04	
Leidun	PL33	PRD1	5	3,5	2,1	0,2552	NO3-reducing	0,8	14,5	61	71	900	94	0,24	0,025	1,2	0,36	11	0,0145	0,0122	719	7,9	15,2	7,03E-04	
Leidun	PL23	PRD1	5	3,5	2,1	0,2423	NO3-reducing	0,7	14,5	61	71	1120	160	15	0,042	1,3	0,34	23	0,034	0,0383	728	7,9	15,2	1,28E-03	
Leidun	PL43	PRD1	10	3,5	2,1	0,2396	NO3-reducing	0,4	13,1	60	69	790	91	15	0,042	1,2	0,47	11	0,0135	0,0109	726	7,9	15,2	1,05E-03	
Leidun	PL33	PRD1	18	3,5	2,1 X		NO3-reducing	0,4	13,3	58	67	800	100	15	0,03	1,2	0,4	15	0,01	0,01 X	718	7,9	15,2	2,42E-03	
Leidun	PD113	PRD1	16	3,5	2,1 X		NO3-reducing	0,4	13,3	61	70	800	100	15	0,03	1,2	0,4	15	0,01	0,01	718	7,9	15,2	2,88E-03	
Leidun	PL21	MS2	2,5	1,5	1,1	0,281	O2-reducing	1,7	15,2	63	67	720	82	8,6	0,025	1,2	0,24	8	0,0142	0,0104	713	7,9	15,2	6,70E-04	
Leidun	PL31	MS2	5	1,5	1,1	0,2964	O2-reducing	1,5	15,3	63	70	860	73	6,7	0,025	1,3	0,36	8	0,0074	0,0061	730	7,9	15,2	2,30E-03	
Leidun	PL41	MS2	10	1,5	1,1 X		O2-reducing	1,1	15,5	64	67	850	80	7	0,025	1,4	0,4	8	0,01	0,01	736	7,9	15,2	2,50E-04	
Leidun	PD111	MS2	16	1,5	1,1 X		NO3-reducing	0,82	15	58	85	850	80	7	0,025	1,4	0,4	13	0,01	0,01	702	7,9	15,2	6,20E-06	
Leidun	PL22	MS2	2,5	2,5	1,1	0,2472	NO3-reducing	0,7	13,9	60	70	875	110	12	0,036	1,2	0,35	18	0,0385	0,0275	729	7,9	15,2	3,20E-04	
Leidun	PL32	MS2	5	2,5	1,1	0,2383	NO3-reducing	0,7	13,9	62	69	875	115	15	0,025	1,2	0,34	18	0,0325	0,0275	729	7,9	15,2	2,20E-03	
Leidun	PL42	MS2	10	2,5	1,1	0,2699	NO3-reducing	0,5	15,2	62	68	870	90	9,6	0,03	1,2	0,35	10	0,0103	0,0121	731	7,9	15,2	1,20E-03	
Leidun	PD112	MS2	16	2,5	2,1 X		NO3-reducing	0,5	14,6	59	67	870	100	10	0,03	1,2	0,4	15	0,01	0,01	718	7,9	15,2	2,30E-04	
Leidun	PL23	MS2	2,5	3,5	2,1	0,2552	NO3-reducing	0,8	14,5	61	71	900	94	0,24	0,025	1,2	0,36	11	0,0145	0,0122	719	7,9	15,2	3,40E-04	
Leidun	PL33	MS2	5	3,5	2,1	0,2423	NO3-reducing	0,7	14,5	61	71	1120	160	15	0,023	1,3	0,34	23	0,034	0,0383	728	7,9	15,2	7,00E-04	
Leidun	PL43	MS2	10	3,5	2,1	0,2396	NO3-reducing	0,4	13,1	60	69	790	91	15	0,042	1,2	0,47	11	0,0135	0,0109	726	7,9	15,2	1,10E-03	
Leidun	PL33	MS2	18	3,5	2,1 X		NO3-reducing	0,4	13,3	58	67	800	100	15	0,03	1,2	0,4	15	0,01	0,01	718	7,9	15,2	8,30E-04	
Leidun	PD113	MS2	16	3,5	2,1 X		NO3-reducing	0,4	13,3	61	70	800	100	15	0,03	1,2	0,4	15	0,01	0,01	718	7,9	15,2	3,40E-05	
Nieuwegein	W1	MS2	7,8	12	0,38	0,405	Deeply anoxic	0	<0,5	1	100	0 X	0 X	0 X	0,0489 X	1,2	0,12	6,9	0,02	0,006 X	885	7,5	12,9	3,40E-05	
Nieuwegein	W2	MS2	17,2	12	0,38	0,405	Deeply anoxic	0	0,046	0,96	105	0 X	0 X	0 X	0,0489 X	1,2	0,11	9,8	0,026	0,007 X	870	7,5	12,9	2,90E-05	
Nieuwegein	Abstr	MS2	37,7	12	0,56	0,209	anoxic	0	<0,5	1	100	0 X	0 X	0 X	0,0582 X	1,2	0,11	9,8	0,026	0,007 X	870	7,5	12,9	2,90E-05	
Castricum	W1	MS2	2,4	2,15	1,41	0,209	Oxic	9	15	70	90	1200	320	19	0,03 X	1,9	0,12	14	0,0342	0,0065	870	7,5	5	1,40E-03	
Castricum	W2	MS2	3,8	1,56	1,59	Oxic	8,8	15	70	90	1168	306	19	0,03 X	1,9	0,12	14	0,0342	0,0065	870	7,5	5	1,00E-03		
Castricum	W3	MS2	6,4	1,59	1,59	Oxic	8,5	15	70	90	1125	287	20	0,03 X	2,0	0,16	15	0,026	0,008	870	7,5	5	9,20E-04		
Castricum	W4	MS2	10,2	1,57	1,57	0,209	Oxic	8	15	70	90	1100	270	20	0,03 X	2,0	0,22	15	0,0214	0,0077	870	7,5	5	6,50E-04	
Castricum	W5	MS2	17,1	1,52	1,52	O2-reducing	7	15	70	90	1168	275	20	0,03 X	2,0	0,22	15	0,02	0,0075	870	7,5	5	4,30E-04		
Castricum	W6	MS2	30,1	6,25	1,19	0,203	O2-reducing	5	15	70	90	1170	410	20	0,03 X	2,0	0,079	14	0,0428	0,0066	870	7,5	5	2,40E-04	
Castricum	W1	PRD1	2,4	2,15	1,41	0,209	Oxic	9	15	70	90	1200	320	19	0,03 X	1,9	0,12	14	0,0342	0,0065	870	7,5	5	2,40E-03	
Castricum	W2	PRD1	3,8	1,56	1,59	Oxic	8,8	15	70	90	1168	306	19	0,03 X	1,9	0,12	14	0,0342	0,0065	870	7,5	5	1,80E-03		
Castricum	W3	PRD1	6,4	1,59	1,59	Oxic	8,5	15	70	90	1125	287	20	0,03 X	2,0	0,16	15	0,026	0,008	870	7,5	5	1,30E-03		
Castricum	W4	PRD1	10,2	1,57	1,57	0,209	Oxic	8	15	70	90	1100	270	20	0,03 X	2,0	0,22	15	0,0214	0,0077	870	7,5	5	8,60E-04	
Castricum	W5	PRD1	17,1	1,52	1,52	O2-reducing	7	15	70	90	1168	275	20	0,03 X	2,0	0,22	15	0,02	0,0075	870	7,5	5	7,80E-04		
Castricum	W6	PRD1	30,1	6,25	1,19	0,203	O2-reducing	5	15	70	90	1170	410	20	0,03 X	2,0	0,079	14	0,0428	0,0066	870	7,5	5	4,30E-04	
Someren	WP3	MS2	8	295	3,33	0,272	O2-reducing	5	13,826	83,52 X	90	1398,12 X	0 X	0 X	0,03 X	1,2	0,585	25,1	0,009	0,019	870	7,5	5	4,30E-03	
Someren	WP1	MS2	38	295	1,01	0,272	Anoxic	0	0	96 X	113,9612 X	0 X	0 X	0 X	0,03 X	1,2	0,585	25,1	0,009	0,019	870	7,5	12	4,10E-03	
Someren	WP2	MS2	12	295	1,98	0,272	O2/NO3-reduci	5	7,44	86,4 X	113,9612 X	0 X	0 X	0 X	0,03 X	1,2	0,585	25,1	0,009	0,019	870	7,5	12	2,10E-03	
Someren	WP4	MS2	22	295	0,897	0,272	NO3-reducing	0	2,48	74,88 X	113,9612 X	0 X	0 X	0 X	0,03 X	1,2	0,585	25,1	0,009	0,019	870	7,5	12	2,50E-04	
Someren	WP3	PRD1	8	295	3,33	0,272	O2-reducing	5	13,826	83,52 X	90	1398,12 X	0 X	0 X	0,03 X	1,2	0,585	25,1	0,009	0,019	870	7,5	12	8,70E-03	
Someren	WP2	PRD1	12	295	1,98	0,272	O2/NO3-reduci	5	7,44	86,4 X	113,9612 X	0 X	0 X	0 X	0,03 X	1,2	0,585	25,1	0,009	0,019	870	7,5	12	4,20E-03	

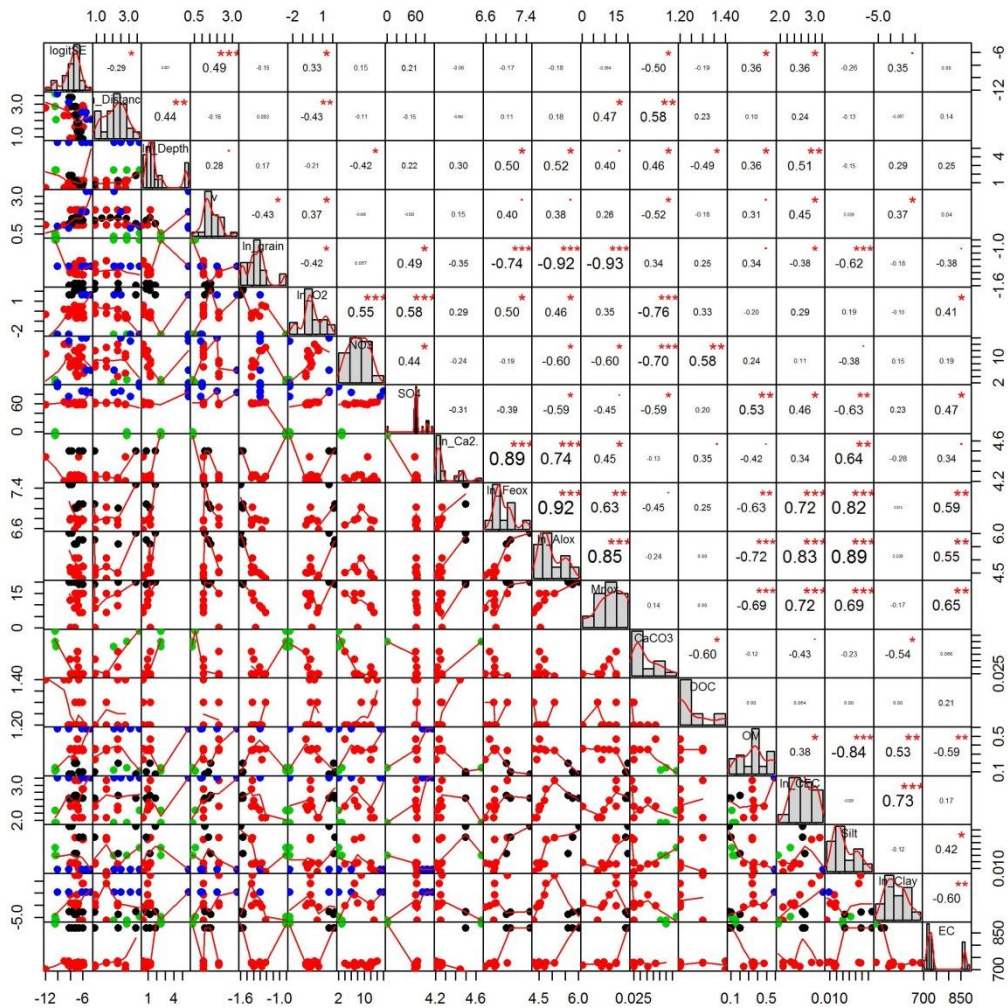


FIGURE 2. SPEARMAN'S CORRELATIONS BETWEEN CONTINUOUS SITE VARIABLES AND SE. NUMBER ON THE RIGHT-TOP TRIANGLES ARE CORRELATION COEFFICIENTS; RED STARS SHOWS THEIR P-VALUES; HISTOGRAMS ARE THE DISTRIBUTION OF THE VARIABLES; AND LEFT-BOTTOM TRIANGLE SHOW SCATTER PLOTS OF THE TWO VARIABLES. THE COLORS OF THE SCATTER PLOTS DEPICT STUDY SITES (RED: LEIDUIN, BLACK: CASTRICUM, BLUE: SOMEREN, GREEN: NIEUWEGEIN). FOR THE SAKE OF CLEAR PRESENTATION, THE RIGHT-SKEWED VARIABLES WERE LOGIT- OR LOG-TRANSFORMED (I.E. SE, DISTANCE, DEPTH, GRAIN, CA2, FEOX, ALOX, CEC, CLAY). THIS TRANSFORMATION DOES NOT AFFECT THE RESULTS OF CORRELATION ANALYSIS BECAUSE WE USED SPEARMAN'S RANK CORRELATION.

Bijlage II. Statistical analyses excluding 4 anoxic sites

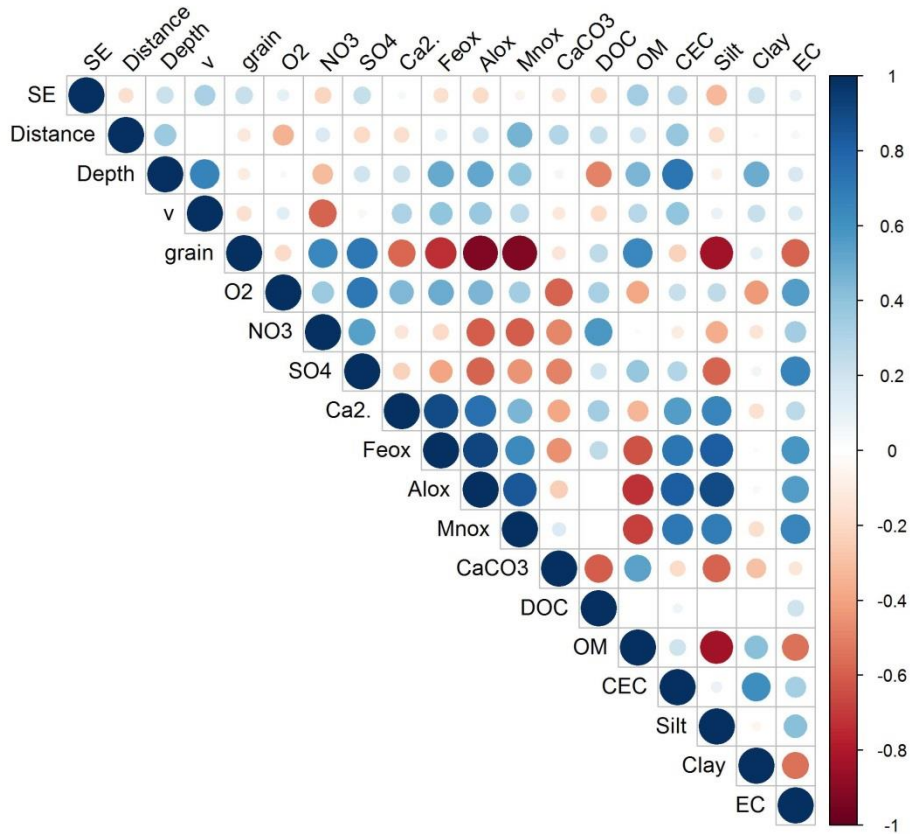
Since the anoxic sites had distinctly low SE and, at the same time, they had rather deviating geochemical conditions from other sites (as seen in their isolated positions in the PCA1-PCA2 plane), it is suspected that the results of the mixed-model regression is distorted by the these anoxic points. To check that, we also conducted the same sets of analyses for 42 sites which exclude four anoxic sites (i.e. 3 deeply anoxic sites and 1 anoxic site).

Spearman's rank correlation analysis indicated that SE was not significantly correlated with any of the soil geochemical variables (Figuur 5-1).

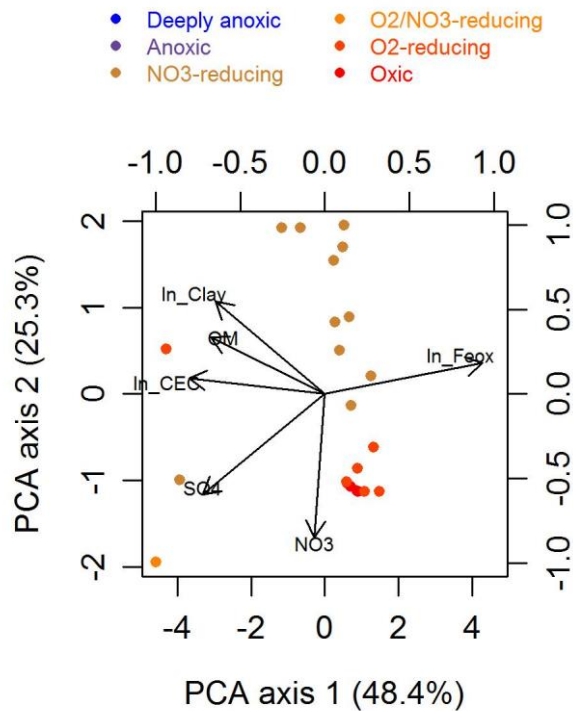
The first axis of PCA explained 48.4 % of variation of the dataset (). This axis was associated with negative loadings of CEC, clay, OM, and SO₄, and positive loadings of Fe_{ox}. This axis can thus be interpreted as sorptivity of soil. The second axis of PCA explained 25.3 % of variation, and was associated with negative loadings of NO₃ and SO₄. The scores of this axis was negatively correlated with O₂ ($\rho = -0.72$, $p < 0.001$). This axis can be interpreted to reflect redox condition. The third axis of PCA explained only 14.5 % of variation, and was associated with positive loading of CEC and negative loading of OM.

The best model of Mixed-model regression show that SE is high at high sorptivity of soil ($p < 0.01$), higher for PRD1 than for MS2 ($p < 0.01$), and higher at locations close to infiltration points ($p = 0.052$) (Tabel 5-1). The effect of O₂ was, unlike the model for all 46 sites, not included in the best model.

It revealed that SE was still significantly influenced by soil sorptivity (which was associated with high clay, high CEC, and high OM) as well as type of phage (high for PRD1 than for MS2). These additional analyses provided two main implications: 1) the effects of soil sorptivity and type of phage on SE were robust (i.e., not an artifact caused by a few deviating observations in anoxic sites), and 2) the effects of redox status on SE are prominent when a wide range of anoxic-oxic gradient is concerned, but not when a narrow range of oxic status is compared.



FIGUUR 5-1. SPEARMAN'S CORRELATIONS BETWEEN CONTINUOUS SITE VARIABLES AND SE FOR 42 SAMPLING POINTS (EXCLUDING ANOXIC SITES). LARGER CIRCLES INDICATE HIGHER CORRELATION. BLUE AND RED DEPICT POSITIVE AND NEGATIVE CORRELATIONS, RESPECTIVELY. ONLY MEASURED VALUES, NOT ESTIMATED VALUES, ARE USED. THE NUMBER OF SITES TESTED VARIES FOR EACH COMBINATION OF TWO VARIABLES DUE TO MISSING DATA,



FIGUUR 5-2. PCA RESULTS OF 6 SOIL GEOCHEMICAL VARIABLES X 42 SAMPLING POINTS (EXCLUDING ANOXIC SITES), SHOWN FOR AXIS 1 AND 2. ARROWS DEPICT LOADINGS OF EACH GEOCHEMICAL VARIABLE. POINTS DEPICT PCA SCORES OF 46 SAMPLING POINTS ON PCA AXES. THE COLORS REDOX CATEGORY.

TABEL 5-1. RESULTS OF BEST MODEL SELECTED BASED ON AIC FOR 42 SAMPLING POINTS (EXCLUDING ANOXIC SITES). COEFFICIENT VALUES (β) AND THEIR STANDARD ERROR ARE SHOWN. SIGNIFICANT LEVEL OF EACH PARAMETER WAS TESTED WITH WALD'S Z-SCORE (P_Z) AND WITH LIKLIHOOD RATIO TEST (P_X^2).

Variable	Coefficient (β)	SE (β)	p_z	p_X^2	standardized coefficient
(Intercept)	-6.63	0.460	0.000***		
PCA1	-0.30	0.088	0.001***	0.002**	-0.44
PCA3	<i>not selected</i>				
In_O ₂	<i>not selected</i>				
In_Distance	-0.40	0.200	0.054	0.052	-0.25
Phage_dum	0.85	0.297	0.006**	0.006**	0.36
AIC	127.8				
variance explained (%)	33.4				
N	42				

Referenties

Abudalo, R.A., Bogatsu, Y.G., Ryan, J.N., Harvey, R.W., Metge, D.W., and Elimelech, M. (2005). Effect of Ferric Oxyhydroxide Grain Coatings on the Transport of Bacteriophage PRD1 and *Cryptosporidium parvum* Oocysts in Saturated Porous Media. *Environ. Sci. Technol.* 2005, 39, 6412-6419

Attinti, R., Wei, J., Kniel, K., Sims, J.T., Jin, Y., (2010). Virus' (MS2, OX174, and Aichi) Attachment on Sand Measured by Atomic Force Microscopy and Their Transport through Sand Columns. *Environ. Sci. Technol.* 2010, 44, 2426-2432.

Bradley, I, Anthony Straub, Peter Maraccini¹, Sheila Markazi, Thanh H. Nguyen. (2011). Iron oxide amended biosand filters for virus removal. *Water Research* 45 (2011) 4501 e4510

Hornstra, L.M. (2013). Virusverwijdering door bodemtransport onder suboxische condities. KWR Rapport BTO 2013.001.

Medema GJ, Vogelaar AJ, Peters JH, Voogt R, Schijven JF. (1999). Verwijdering van micro-organismen bij diepinfiltratie. SWI_99.219.

Pang, L. (2009). Microbial Removal Rates in Subsurface Media Estimated From Published Studies of Field Experiments and Large Intact Soil Cores. *J. Environ. Qual.* 38:1531-1559 (2009)

Schijven J.F., Hoogenboezem, W., Hassanizadeh, S.M. Peters, J.H. (1999). Modeling removal of bacteriophages MS2 and PRD1 by dune recharge at Castricum, Netherlands. *WAT RES RESEARCH*, VOL. 35, NO. 4, p 1101-1111

Stuyfzand, P.J. (2006). Easy leacher modeling of water during deep well injection at Someren. Chapter 14, Water quality improvements during aquifer storage and recovery, Vol.1 Water quality improvement processes, P. Dillon & S. Toze (eds), AWWA report 14.1 Introduction 91056F, 197-213

Tong, M., Yun Shen, Haiyan Yang, Hyunjung Kim. (2012). Deposition kinetics of MS2 bacteriophages on clay mineral surfaces. *Colloids and Surfaces: Biointerfaces* 92 (2012) 340-347

Tufenkji, N. and M. Elimelech (2004). "Correlation Equation for Predicting Single-Collector Efficiency in Physicochemical Filtration in Saturated Porous Media." *Environ. Sci. Technol.* 38(2): 529-536.

Wielen van der, P.W.J.J., Senden, W.J.M.K., Medema, G. (2008). De microbiologische veiligheid van de 60 dagen zone rond grondwaterwinningen. KWR Rapport BTO 2008.004

Wielen van der, P.W.J.J., Senden, W.J.M.K., Medema, G. (2008). Removal of Bacteriophages MS2 and Φ X174 during Transport in a Sandy Anoxic Aquifer. *Environ. Sci. Technol.* 2008, 42, 4589-4594.

Wong, K., Thomas C. Voicea , Irene Xagorarakis (2013). Effect of organic carbon on sorption of human adenovirus to soil particles and laboratory containers. *water research* 47 (2013) 3339 -3346

Yao, K. M., M. T. Habibian, et al. (1971). "Water and waste water filtration: concepts and applications." *Environ. Sci. Technol.* 5: 1105-1112.