

BTO 2018.097 | November 2018

## **BTO** rapport

Temperatuurafhankelijke  
groei van *Aeromonas* in  
drinkwater



# BTO

## Temperatuurafhankelijke groei van *Aeromonas* in drinkwater

BTO 2018.097 | November 2018

### Opdrachtnummer

402045-046

### Projectmanager

Michiel Hootsmans

### Opdrachtgever

BTO - Bedrijfsonderzoek

### Kwaliteitsborger

Gertjan Medema

### Auteurs

Kimberly Learbuch, Nikki van Bel

### Verzonden aan

Dit rapport is verspreid onder BTO-participanten.

Een jaar na publicatie is het openbaar.

**Jaar van publicatie**  
2018

#### Meer informatie

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

#### Keywords

*Aeromonas*, temperatuur,  
groeiproeven

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](mailto:info@kwrwater.nl)  
I [www.kwrwater.nl](http://www.kwrwater.nl)



BTO 2018.097 | November 2018 © KWR

#### Alle rechten voorbehouden.

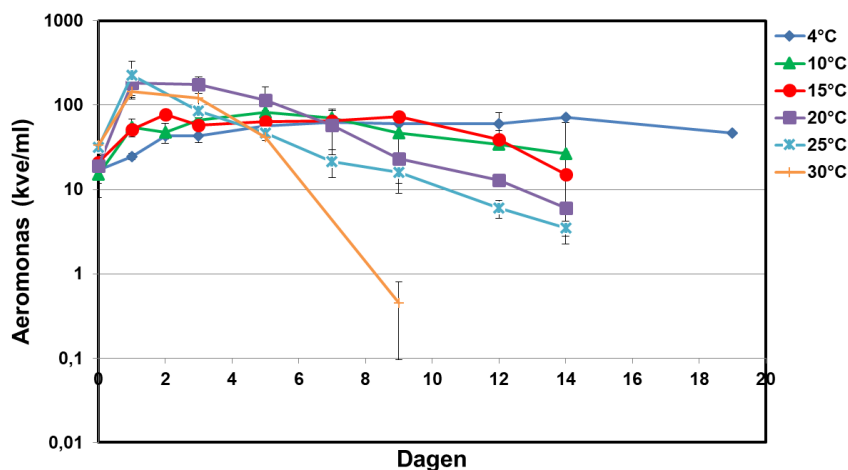
Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd, opgeslagen in een geautomatiseerd gegevensbestand, of openbaar gemaakt, in enige vorm of op enige wijze, hetzij elektronisch, mechanisch, door fotokopieën, opnamen, of enig andere manier, zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de uitgever.

## BTO Managementsamenvatting

### *Aeromonas* groeit sneller bij hogere temperaturen, maar de maximale aantallen blijven gelijk

**Auteurs** Kimberly Learbuch MSc., dr. ir. Nikki van Bel

Het is raadzaam om drinkwater te produceren met zo min mogelijk sediment en voedingsstoffen om zo de groei van *Aeromonas* in het distributienet te beperken. Laboratoriumproeven hebben laten zien dat een hogere watertemperatuur tot snellere *Aeromonas*-groei leidt, maar dat het maximale *Aeromonas*-aantal ook afhankelijk lijkt te zijn van waarschijnlijk de hoeveelheid en het type voedingsstoffen. Dit blijkt uit bedrijfsonderzoek naar de invloed van hogere drinkwatertemperaturen op de groei van *Aeromonas*, de wettelijke parameter voor nagroei. Door de klimaatverandering is de verwachting dat de drinkwatertemperatuur stijgt. Omdat de drinkwatertemperatuur niet beïnvloed kan worden en uit de praktijk bekend is dat groei van *Aeromonas* temperatuurafhankelijk is, is de vraag wat de invloed is van verhoogde watertemperatuur op groei van *Aeromonas*.



*Groei van Aeromonas in flessen met drinkwater en spuiwater bij verschillende temperaturen.*

#### Belang: invloed van stijgende watertemperatuur op groei van *Aeromonas*.

De bacterie *Aeromonas* is een indicator voor nagroei in het distributienet en moet onder de 1000 kve/100 ml blijven. In meerdere distributiegebieden wordt echter in de warme periode de wettelijke norm voor *Aeromonas* overschreden. Ondanks dat *Aeromonas* niet gevaarlijk is voor de volksgezondheid, zijn deze overschrijdingen ongewenst.

De invloed van de watertemperatuur op groei van *Aeromonas* is alleen bekend uit de praktijk.

Uit gegevens van drinkwaterbedrijven komt naar voren dat de toename van *Aeromonas* in het drinkwaterdistributienet start in het voorjaar/begin van de zomer wanneer de watertemperatuur in het distributiegebied boven ongeveer 8-10 graden uitkomt.

Door de klimaatverandering is de verwachting dat de watertemperatuur van het oppervlaktewater - dat wordt gebruikt voor de productie van drinkwater - stijgt, maar dat ook de bodem opwarmt en zo het drinkwater sterker verwarmt. Hierdoor kan de temperatuur van het

drinkwater boven de wettelijke norm van 25°C uitkomen, zonder dat maatregelen mogelijk zijn. Hogere temperaturen kunnen mogelijk leiden tot sterkere groei van *Aeromonas* in het distributienet. Wat de invloed is van verhoogde watertemperatuur op groei van *Aeromonas* is echter onbekend en is in dit rapport onderzocht.

#### Aanpak: *Aeromonas* groeiproeven bij verschillende temperaturen.

In mei 2018 is in de distributiegebieden van Driebruggen, Lekkerkerk, Braakman en Berenplaat drinkwater en spuiwater bemonsterd. Aan dit water is een mengsel van *Aeromonas*-stammen toegevoegd, waarna de groei van *Aeromonas* en de gehele microbiële populatie in het water bij temperaturen tussen de 4°C en 30°C gedurende 14 dagen is gemeten.

#### Resultaten: *Aeromonas* groeit sneller vanaf 20°C, maximum blijft gelijk.

*Aeromonas* groeit in het water van Driebruggen en IJzendijke en de groei is sneller bij hogere temperaturen (20-30°C), in vergelijking met de lagere temperaturen. De afsterving is echter ook sneller. Bij lagere temperaturen (4-15°C) is de groei van *Aeromonas* langzamer, maar worden wel dezelfde maximale aantallen bereikt en kan *Aeromonas* zich gedurende de 14 dagen handhaven in het water. In het water van Lekkerkerk en Berenplaat vindt geen groei van *Aeromonas* plaats, ongeacht de temperatuur. *Aeromonas* kon zich echter wel handhaven in beide watertypen en bij bijna alle temperaturen.

#### Implementatie: produceer drinkwater met zo min mogelijk voedingsstoffen en sediment.

Hogere watertemperaturen in het distributiesysteem kunnen mogelijk leiden tot een hogere groeisnelheid van *Aeromonas*. Of de *Aeromonas*-aantallen in het distributienet daadwerkelijk hoger worden, hangt naast de temperatuur onder meer af van de hoeveelheid en soort voedingsstoffen (waaronder sediment) die aangevoerd wordt via het drinkwater. Als er genoeg voedingsstoffen aangevoerd worden om de grotere *Aeromonas*-populatie in stand te houden, zou dit mogelijk kunnen leiden tot langere periodes met hogere *Aeromonas*-aantallen. Dit moet echter nader onderzocht worden.

In water met minder voedingsstoffen, waaronder sediment, zal *Aeromonas* minder goed kunnen groeien. Het is daarom raadzaam om drinkwater te produceren met zo min mogelijk sediment en voedingsstoffen om zo de groei van *Aeromonas* te beperken.

In deze experimenten is de groei van *Aeromonas* alleen onder statische condities onderzocht, waarbij alleen bij de start voedingsstoffen zijn toegevoegd. Daarom is het belangrijk om ook onder dynamische drinkwatercondities, waarbij continu nieuwe voedingsstoffen worden aangevoerd, te kijken naar de het effect van watertemperatuur op de groei van *Aeromonas*.

#### Rapport

Dit onderzoek is beschreven in rapport *Temperatuurafhankelijke groei van Aeromonas in drinkwater* (BTO-2018.097).

Andere relevante publicatie is:

- *Groei van Aeromonas op sediment en ongewervelde dieren uit het distributienet van de productielocaties Kralingen, Braakman en Berenplaat van Evides* (BTO 2018.037).

# Inhoud

<b>Inhoud</b>	<b>2</b>
<b>1 Inleiding</b>	<b>3</b>
1.1 Aanleiding	3
1.2 Onderzoeksvraag	4
<b>2 Materiaal en Methoden</b>	<b>5</b>
<b>3 Microbiologische en chemische analyse van het water</b>	<b>7</b>
<b>4 <i>Aeromonas</i> groeiproeven</b>	<b>9</b>
<b>5 Discussie</b>	<b>18</b>
5.1 <i>Aeromonas</i> -groei in water van verschillende locaties	18
5.2 Invloed van temperatuur op groei van <i>Aeromonas</i>	19
5.3 Invloed sediment op groei van <i>Aeromonas</i> defined.	Error! Bookmark not
5.4 Microbiële groei, BP7 en BPC14	20
<b>6 Conclusies en aanbevelingen</b>	<b>21</b>
6.1 Conclusies	21
6.2 Aanbevelingen	21
<b>7 Referenties</b>	<b>22</b>
<b>Bijlage I Troebelheidsmetingen</b>	<b>23</b>
<b>Bijlage II Groei van <i>Aeromonas</i> per temperatuur</b>	<b>24</b>
<b>Bijlage III ATP-gehalte in de <i>Aeromonas</i> groeiproef, per temperatuur</b>	<b>27</b>



# 1 Inleiding

## 1.1 Aanleiding

*Aeromonas* is een indicator voor nagroei in het distributienet en moet onder de 1000 kve/100 ml blijven. In meerdere distributiegebieden wordt echter in de warme periode de wettelijke norm voor *Aeromonas* overschreden. Ondanks dat *Aeromonas* niet gevaarlijk is voor de volksgezondheid, zijn deze overschrijdingen ongewenst.

Uit onderzoek en praktijkervaring van de afgelopen jaren is duidelijk geworden dat vermeerdering van *Aeromonas* in het drinkwaterdistributiesysteem verband houdt met meerdere factoren en een indicatie vormt voor het optreden van ongewenste drinkwater kwaliteitsproblemen gerelateerd aan microbiologische processen. Onder de belangrijkste factoren die de groei van *Aeromonas* beïnvloeden, zijn de watertemperatuur en de concentratie biodegradeerbaar organisch koolstof (BDOC), wat ook de aanwezigheid van waterpissebedden (*Asellus*) beïnvloedt. Beiden onderwerpen zijn deel van het bedrijfsonderzoek 'Waterpissebedden en *Aeromonas*; voeding en temperatuur' en worden apart gerapporteerd.

### 1.1.1 *Asellus*

Vanuit voorgaand onderzoek van Evides bestaat het vermoeden dat de aanwezigheid van ongewervelde dieren (b.v. waterpissebedden [*Asellus*]) een factor is die de groei van *Aeromonas* in het distributienet beïnvloedt. Deze ongewervelde dieren zouden stoffen uitscheiden die door *Aeromonas* wordt benut bij de groei in drinkwater. Zo is bijvoorbeeld vermeerdering van *Aeromonas* in aanwezigheid van (dode) waterpissebedden waargenomen onder statistische (flessenproeven) en dynamische condities (de leidingsimulator van Evides) (SPO Evides 2017, KWR 2017.021, eigen onderzoek door Evides).

Over de levenscyclus en de voedselbron van *Asellus* in het distributienet is nog weinig bekend. Waarschijnlijk foerageren *Asellus* op het sediment en/of biofilm, waarbij ze organisch materiaal opnemen dat wordt omgezet tot CO<sub>2</sub> en H<sub>2</sub>O. Doel van het *Asellus*-onderzoek is om na te gaan of *Asellus* kunnen overleven op water met verschillende voedingsbronnen van natuurlijke herkomst en een selectie van voedingsstoffen van biologische herkomst (biopolymeren en biofilm) in het water. Het hierboven beschreven onderzoek naar *Asellus* wordt in een eigen rapport beschreven.

### 1.1.2 Temperatuur

De invloed van temperatuur op groei van *Aeromonas* is alleen bekend uit de praktijk. Uit gegevens van drinkwaterbedrijven komt naar voren dat de toename van *Aeromonas* in het drinkwaterdistributienet start in het voorjaar/begin van de zomer wanneer de watertemperatuur in het distributiegebied boven ongeveer 8-10 graden uitkomt, maar dat in het najaar de daling van *Aeromonas* inzet voordat de temperatuur daalt. Dit suggereert dat de temperatuur een rol speelt in het seizoenpatroon van de toename van *Aeromonas* in het drinkwater, maar dat er ook andere factoren een rol spelen.

Door de klimaatverandering is de verwachting dat de watertemperatuur van het oppervlaktewater - dat wordt gebruikt voor de productie van drinkwater - stijgt, maar dat ook de bodem opwarmt en zo het drinkwater sterker verwarmt. Hierdoor kan de

temperatuur van het drinkwater boven de wettelijke norm van 25°C uitkomen, zonder dat maatregelen mogelijk zijn. Hogere temperaturen kunnen echter mogelijk leiden tot sterkere groei van *Aeromonas* in het distributienet. Wat de invloed is van verhoogde watertemperatuur op groei van *Aeromonas* is echter onbekend en wordt in dit rapport onderzocht.

### 1.2 Onderzoeksvraag

Wat is de invloed van temperatuur, in combinatie met sediment, op de groei van *Aeromonas* in drinkwater?



## 2 Materiaal en Methoden

De *Aeromonas*-groeiproeven zijn uitgevoerd in het drinkwater en ongefiltreerd spuiwater van Oasen en Evides. Van beide bedrijven is water van twee voorzieningsgebieden gebruikt (productielocaties Rodenhuis, Lekkerkerk, Braakman en Berenplaat, Tabel 1), waarbij in één van de twee gebieden in de zomerperiode hoge *Aeromonas*-aantallen voorkomen. De spuiacties zijn uitgevoerd op 15 mei 2018, de groeiproeven zijn één dag later gestart. Het water is in deze periode bemonsterd omdat meestal het aantal natuurlijk aanwezige *Aeromonas*-bacteriën nog laag is, maar eventuele voedingsstoffen die *Aeromonas* gebruikt voor groei wel aanwezig zijn.

De *Aeromonas*-groeioproef is in tweevoud uitgevoerd in AOC-vrije kolven. Aan de kolven is 300 ml niet-gepasteuriseerd drinkwater en 300 ml niet-gepasteuriseerd, ongefiltreerd spuiwater toegevoegd. Hieraan is het volgende 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 ammonium-, nitraat- en fosfaatoplossingen zijn gesteriliseerd voor dosering aan de AOC-kolven.

De groeioproef is uitgevoerd bij verschillende temperaturen: 4, 10, 15, 20, 25 en 30°C. Op dag 0, 1, 2, 3, 5, 7, 9, 12 en 14 is het *Aeromonas*-aantal en ATP-gehalte in het water bepaald.

De *Aeromonas*-isolaten die voor deze groeioproeven zijn gebruikt (gegroeid in entflessen), zijn in eerder onderzoek geïsoleerd uit het drinkwaterdistributienet (van Bel et al., 2016; van der Wielen and Wullings, 2013).

Tabel 1. Overzicht spuilocaties waar drinkwater en spuiwater is verzameld voor de *Aeromonas*-groeioproeven. Aangegeven is of het een distributiegebied van die locatie regelmatig hoge aantallen *Aeromonas* heeft.

Drinkwater-bedrijf	Plaats	Straat	Pompstation	Brandkraan spuien	<i>Aeromonas</i> probleem
Oasen	Driebruggen	Meidoorlaan 17	Rodenhuis	B358	X
	Lekkerkerk	Jan Ligthartstraat 111	Lekkerkerk	B235	
Evides	IJzendinge	Papenmuts 18	Braakman	HYDR-0404	
	Hoek van Holland	Veulenstraat 2	Berenplaat	HYDR-5168	x

Op het drinkwater en spuiwater dat tijdens de spuiacties is bemonsterd, zijn de verschillende analyses uitgevoerd (Tabel 2).

Tabel 2. Karakterisatie van drinkwater en spuiwater dat is gebruikt voor de groeiproeven.

	Drinkwater	Spuiwater, ongefiltreerd	Spuiwater < 30 µm
ATP	X	X	X
<i>Aeromonas</i>	X	X	X
TOC	X	X	X
Ijzer	X	X	X
Mangaan	X	X	X
Ammonium	X	X	X
Sedimentvolume totaal (30µm, 100µm, 500µm fracties)	X	X	X

Het *Aeromonas*-aantal in het water is bepaald conform NEN-ISO 6263 en LMB-022. Hiervoor is het watermonster gefiltreerd of direct op Ampicilline Dextrine Agar (ADA)-medium geïncubeerd voor 24 uur bij 30°C.

Het ATP-gehalte is bepaald volgens protocol LMB-002. De bepaling is gebaseerd op de omzetting van luciferine door het enzym luciferase, dit vindt alleen plaats in de aanwezigheid van ATP. Het hierbij geproduceerde licht (in Relatieve Licht Eenheden) wordt omgerekend naar de concentratie ng/l ATP. Het ATP-gehalte is gebruikt om de BP7 (de maximale biomassa-productie in de eerste zeven dagen) en BPC14 (cumulatieve ATP-concentratie gedurende 14 dagen) waarden te berekenen. De BP7 geeft informatie over de concentratie gemakkelijk biologisch afbreekbare stoffen in het water. BPC14 geeft informatie over alle biologisch afbreekbare stoffen, zowel makkelijk als moeilijk afbreekbaar, in water.

Ammonium is bepaald volgens LAM-036. De ammoniumionen in een watermonster reageren met het natriumhypochloriet en natriumalicylaat waarbij een groen gekleurde verbinding wordt gevormd. De mate waarin dit gebeurt wordt in een spectrofotometer bij 660 nm bepaald. De detectiegrens van de bepaling is 0,03 mg N/l.

Het TOC-gehalte is bepaald volgens LAM-068 en conform ISO 8245 en NEN-EN 1484. Om alleen het totaal organisch koolstofgehalte te meten, wordt eerst het anorganisch koolstof verwijderd. Hiervoor wordt het monster aangezuurd waarna de hoeveelheid aanwezige koolstof wordt gemeten met behulp van NDIR (niet-dispersieve infrarood detector).

Het ijzer en mangaan gehalte is bepaald volgens LAM-074. Het monster wordt eerst aangezuurd met salpeterzuur waarna de vrije ionen worden gemeten in de massaspectrometer.

### 3 Microbiologische en chemische analyse van het water

Van alle vier de locaties in het distributiesysteem waar is gespuid, is het drinkwater, spuiwater <30 µm en het ongefiltreerde spuiwater microbiologisch en chemisch geanalyseerd (Tabel 3). Tijdens de spuiacties bij Oasen (Lekkerkerk en Driebruggen) is de troebelheid ook gemeten (Bijlage I). In Lekkerkerk zijn de *Aeromonas*-aantallen in spuiwater <30 µm beneden de detectielimiet. Hetzelfde geldt voor de *Aeromonas*-aantallen in het drinkwater van IJzendijke. In Lekkerkerk en IJzendijke is *Aeromonas* in lage aantallen aanwezig in drinkwater en spuiwater. In Driebruggen en Berenplaat zijn de *Aeromonas*-aantallen in spuiwater het hoogst en boven de 1000 kve/100 ml. Voor alle locaties is het *Aeromonas*-aantal in het spuiwater hoger dan in het drinkwater, voor alle locaties behalve Berenplaat bevat het ongefiltreerde spuiwater meer *Aeromonas* dan het spuiwater < 30 µm. Dit suggereert dat *Aeromonas* voornamelijk gehecht is aan deeltjes, zowel deeltjes met een grotere diameter (ongefiltreerd spuiwater) als deeltjes met een kleinere diameter (spuiwater < 30 µm).

De ATP concentratie varieerde van 2,9 – 220 ng/l (Tabel 3). In ongefiltreerd spuiwater (31 – 220 ng/l) en gefiltreerd spuiwater (2,3 – 96 ng/l) zijn de verschillen groter. Het spuiwater van Driebruggen en Berenplaat heeft een hogere ATP-concentratie dan de andere locaties. De concentratie in het drinkwater van Lekkerkerk is ongewoon hoog (27 ng/l), al is bekend dat uitschieters in het distributienet vaker voorkomen. In het algemeen is de ATP-concentratie in ongefiltreerd spuiwater het hoogst, gevolgd door het spuiwater < 30 µm en drinkwater. De actieve biomassa bevindt zich dus voornamelijk op kleinere deeltjes.

De verschillen in TOC-gehalten zijn groot binnen één locatie, maar ook tussen de locaties (0,74 – 5,3 mg C/l). Vooral bij Driebruggen en Berenplaat is het verschil in TOC tussen drinkwater en spuiwater hoog. Vooral het TOC-gehalte in het spuiwater is erg hoog. Voor Lekkerkerk en IJzendijke zijn de verschillen tussen de watertypen kleiner en is het TOC gehalte ook lager.

De ammonium concentraties is in alle monsters onder de detectiegrens, behalve in het ongefiltreerde spuiwater van Driebruggen en Berenplaat. Deze concentraties zijn niet veel hoger dan de detectiegrens.

Ijzer en mangaan concentraties in het drinkwater zijn onder de detectielimiet, behalve in het drinkwater van Driebruggen waar ze net boven de detectiegrens uitkomen. Dit zijn normale waarden voor drinkwater. De ijzer en mangaan concentraties in het ongefiltreerde spuiwater en spuiwater < 30 µm zijn sterk hoger dan het drinkwater. Met name het water in Driebruggen en in mindere mate Berenplaat is sterk hoger dan bij de andere locaties. Aangezien er weinig gegevens bekend zijn over ijzer- en mangaanconcentraties in spuiwater, kan niet worden gezegd of de hier gemeten concentraties verhoogd zijn of binnen de normale variatie vallen.

Tabel 3. Microbiologische, chemische en hydrobiologische analyse van het drinkwater en spuiwater.

		<i>Aeromonas</i>	ATP	IJzer	Mangaan	Ammonium	TOC	Sedimentvolume in 1000 L spuiwater ml
		kve/100 ml	ng/l	mg /l	µg /l	mg NH4-N/l	mg C/l	
Driebruggen	Drinkwater	880	3,3 ± 0,44	0,02	0,7	<0.015	1,1	
	Spuiwater ongefiltreerd	4200	220 ± 21	11	425	0,017	5,3	128,75
	Spuiwater < 30 µm	2800	96 ± 5,8	1,4	62	<0.015	2,4	85,0
Lekkerkerk	Drinkwater	37	27 ± 2,2	<0.01	<0.6	<0.015	0,81	
	Spuiwater ongefiltreerd	90	31 ± 3,8	0,1	6	<0.015	0,74	6,75
	Spuiwater < 30 µm	<1	2,3 ± 0,44	0,14	5,3	<0.015	0,91	1,0
IJzendijke	Drinkwater	<1	2,9 ± 0,15	<0.01	<0.6	<0.015	1,6	
	Spuiwater ongefiltreerd	80	33 ± 3,8	0,02	7,2	<0.015	1,8	0,75
	Spuiwater < 30 µm	50	23 ± 1,6	0,01	5,7	<0.015	1,8	0,4
Berenplaat	Drinkwater	6	2,9 ± 0,15	<0.01	<0.6	<0.015	1,7	
	Spuiwater ongefiltreerd	1300	93 ± 1,8	2	49	0,017	3,3	8,8
	Spuiwater < 30 µm	1700	59 ± 2,4	0,51	25	<0.015	2,7	7,0

Om iets te zeggen over de invloed van de samenstelling van het sediment op de *Aeromonas*-toename is op basis van de analysegegevens van Tabel 3 de hoeveelheid *Aeromonas*, ATP, IJzer en TOC per ml sediment berekend voor de vier locaties (Tabel 4). Deze zijn berekend uit ((concentratie sediment - concentratie drinkwater)\*1000) gedeeld door het sediment volume (ml/1000 L). Voor *Aeromonas* is de concentratie vermenigvuldigd met een factor 10.000 aangezien de aantallen normaal per 100 ml worden gerapporteerd. Hieruit blijkt dat het sediment van de Evides locaties IJzendijke en Berenplaat (oppervlaktewater) per ml sediment de hoogste concentraties heeft t.o.v. de locaties van Oasen (grondwater). Daarnaast is het sediment van IJzendijke het meest biologisch actief (ATP en TOC). Echter IJzendijke heeft het minste sedimentvolume in vergelijking met de andere locaties, hetzelfde geldt voor de TOC concentratie.

Tabel 4. *Aeromonas*, ATP, IJzer en TOC per ml sediment

		<i>Aeromonas</i>	ATP	IJzer	TOC
		kve/ml	ng/ml	mg /l	mg C/l
Driebruggen	Spuiwater ongefiltreerd	2.6E+05	1.7E+03	85	33
	Spuiwater < 30 µm	2.3E+05	1.1E+03	16	15
Lekkerkerk	Spuiwater ongefiltreerd	7.8E+04	5.9E+02	147	0
	Spuiwater < 30 µm	0.0E+00	0.0E+00	0	0
IJzendijke	Spuiwater ongefiltreerd	1.0E+06	3.8E+04	250	250
	Spuiwater < 30 µm	1.3E+06	5.0E+04	250	500
Berenplaat	Spuiwater ongefiltreerd	1.5E+06	1.0E+04	2273	182
	Spuiwater < 30 µm	2.4E+06	8.0E+03	714	143

## 4 *Aeromonas* groeiproeven

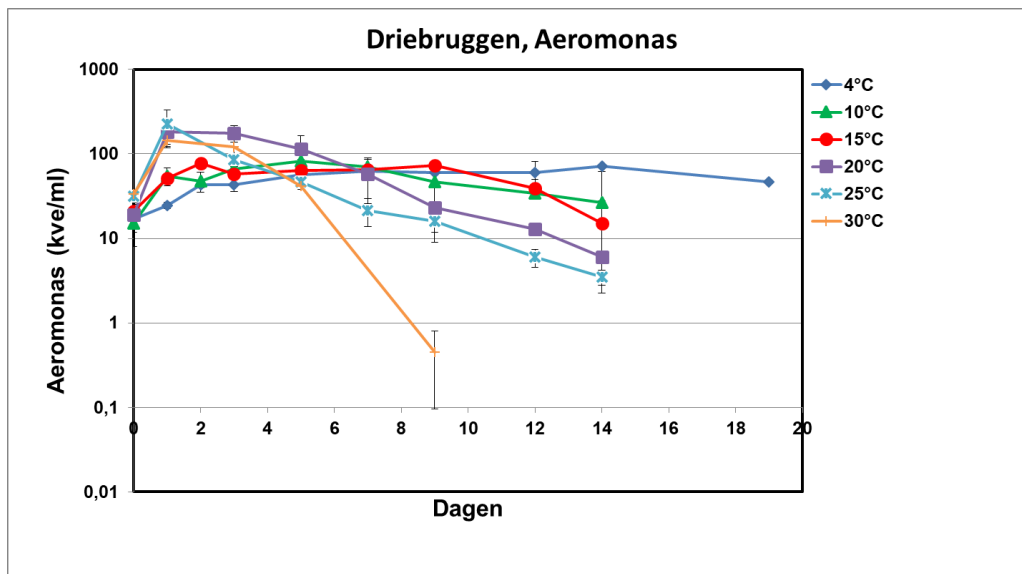
De groeiproeven met *Aeromonas* zijn uitgevoerd in drinkwater met daaraan gedoseerd 1:1 ongefiltreerd spuiwater, zie Tabel 1 voor de locaties. Aan dit mengsel is een mix van vier *Aeromonas*-soorten gedoseerd en de kolven zijn bij 4, 10, 15, 20, 25 en 30°C geïncubeerd. De resultaten staan in Figuur 1- Figuur 4 en Tabel 6. In Bijlage II is de groei van *Aeromonas* per temperatuur weergegeven.

Op grond van de hiervoor gegeven samenstelling van het sediment en de dosering van sediment als onderdeel van spuiwater aan de groeiproeven, is berekend welke concentraties *Aeromonas*, ATP, IJzer en TOC zijn toegevoegd aan de groeiproeven (Tabel 5). *Aeromonas* en ATP concentraties zijn op dag 0 (bij de start van de groeiproeven) gemeten om dit te verifiëren.

Tabel 5. Concentraties *Aeromonas*, ATP, IJzer en TOC in de groeiproeven.

	Sediment gedoseerd	<i>Aeromonas</i>	ATP	IJzer	TOC
	µl/L	kve/ml	ng/L	µg/L	µg/L
Driebruggen	64.4	0.3	108.4	5490	2100
Lekkerkerk	3.4	0.1	2.0	500	0
IJzendijke	0.4	1.0	15.1	100	100
Berenplaat	4.4	1.5	45.1	10000	800

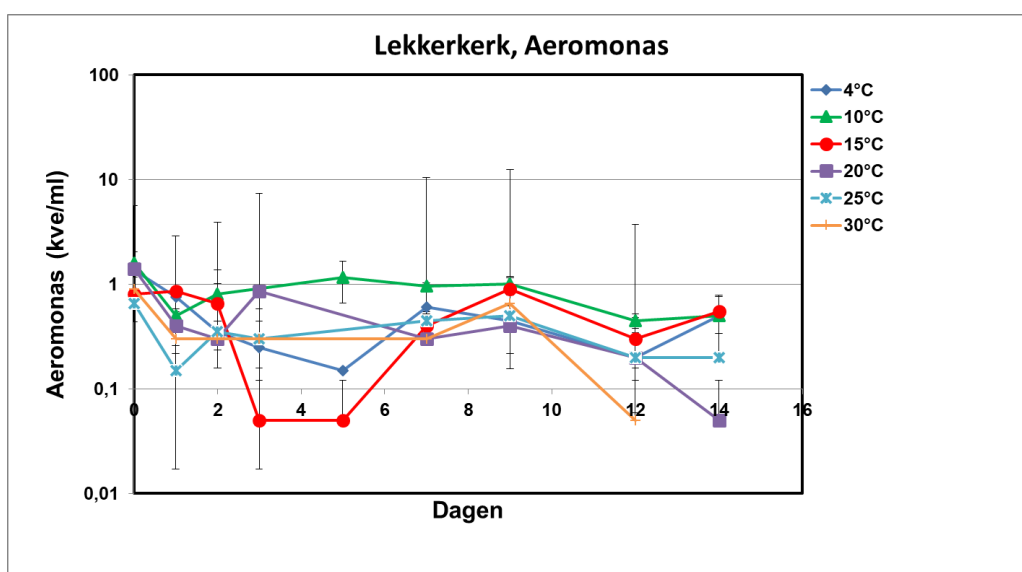
In het water uit Driebruggen is op dag 0 het *Aeromonas* -aantal hoger dan de ent en vindt er groei plaats van *Aeromonas*, maar de groei is beperkt (Figuur 1). Bij de incubatietemperaturen 20-30°C, zijn de *Aeromonas*-aantallen 1 dag na inoculatie 0,6 – 0,9 log hoger. Maar daarna nemen de *Aeromonas*-aantallen weer af, het snelst gebeurt dit bij 30°C. Bij een incubatietemperatuur van 4 – 15°C nemen de *Aeromonas*-aantallen licht toe na inoculatie en kunnen ze zich in de tijd handhaven. Bij 10°C wordt het maximum op dag 5 bereikt en daarna nemen de *Aeromonas*-aantallen langzaam af. Bij 15°C is de  $N_{max}$  op dag 2 (Tabel 6), maar de aantallen nemen pas weer echt af na 9 dagen. Bij 4°C wordt  $N_{max}$  pas bereikt op dag 14. Er lijkt een omslagpunt te zijn tussen 15°C en 20°C. Vanaf 20°C is de groei sterker en sneller, maar is ook de afsterving sneller dan bij 15°C of lager.



Figuur 1. *Aeromonas* groeiproeven in drinkwater waaraan spuiwater 1:1 is toegevoegd van locatie Driebruggen. Spuiacties zijn uitgevoerd op 15 mei 2018. Gegeven is het gemiddelde van twee groeiproeven met de standaard deviatie.

In het water van Lekkerkerk is op dag 0 het *Aeromonas*-aantal lager dan de beoogde ent van 2-8 kve/ml en wordt nauwelijks tot geen groei waargenomen en de aantallen nemen direct licht af na inoculatie op dag 0 (Figuur 2). De *Aeromonas*-aantallen op dag 0 liggen ongeveer 1 log lager dan in Driebruggen omdat er in Driebruggen meer natuurlijke *Aeromonas* in het water aanwezig zijn. *Aeromonas* blijft echter aanwezig in het water gedurende de duur van het experiment. De afwezigheid van groei laat zien dat er geen voedingsstoffen in het water aanwezig zijn waarop *Aeromonas* kan groeien/concurreren met de overige micro-organismen.

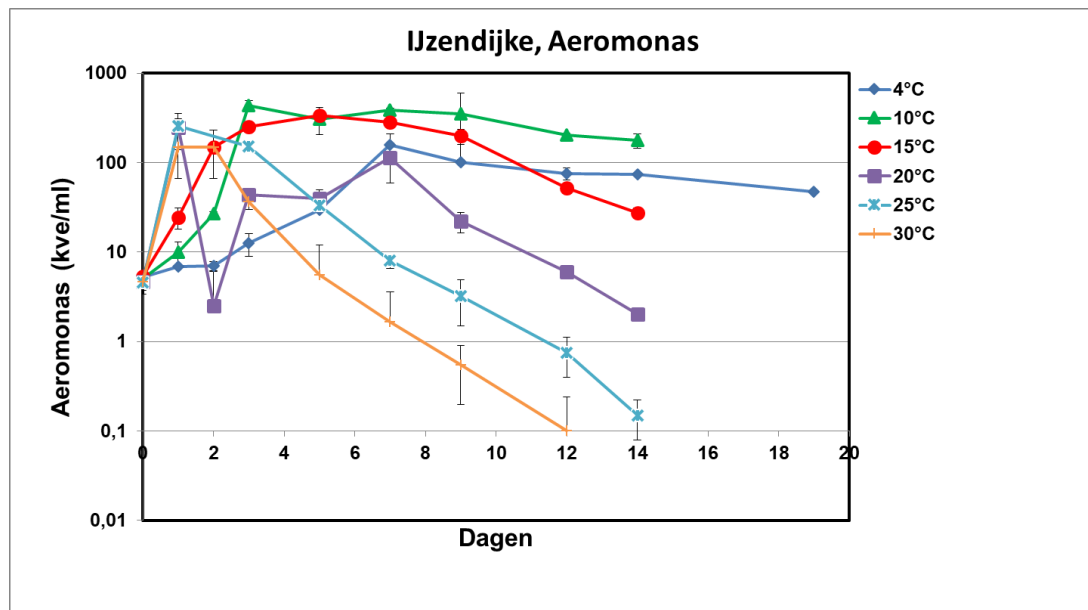
Door het gebrek aan groei is er geen verschil tussen de verschillende incubatietemperaturen zichtbaar.



Figuur 2. *Aeromonas* groeiproeven in drinkwater waaraan spuiwater 1:1 is toegevoegd van locatie Lekkerkerk. Spuiacties zijn uitgevoerd op 15 mei 2018. Gegeven is het gemiddelde van twee groeiproeven met de standaard deviatie.

In het water van IJzendijke wordt een sterke en snelle groei waargenomen bij alle temperaturen boven de 4°C. Bij 4°C vindt ook groei plaats, maar deze is langzamer dan bij de hogere temperaturen. Bij temperaturen onder de 20°C kan *Aeromonas* zich ook handhaven gedurende de 14 dagen van het experiment (Figuur 3). Bij een temperatuur van 20 – 30°C zijn de *Aeromonas* aantallen 1 dag na inoculatie 1,3 – 1,9 log hoger, maar nemen direct daarna ook weer snel af. De groei bij 20°C tot 30°C is dus sneller, maar er wordt een lagere  $N_{max}$  bereikt (Tabel 6) en de afsterving is sneller dan bij lagere temperaturen. Mogelijk wordt er wel een hogere  $N_{max}$  bereikt, maar is er niet frequent genoeg gemeten om deze te detecteren. Bij 4°C is de groei wat langzamer en op dag 7 wordt de  $N_{max}$  bereikt en vervolgens kan *Aeromonas* zich handhaven bij deze temperatuur. Bij 10°C word op dag 3  $N_{max}$  bereikt en bij 15°C is dit op dag 5.

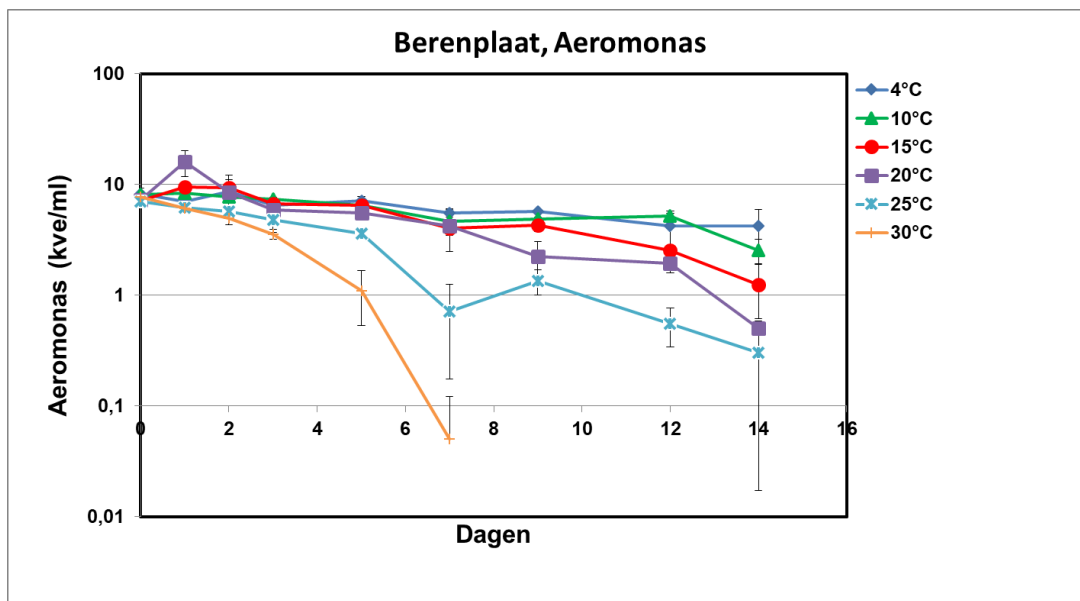
Ook bij IJzendijke lijkt er een omslagpunt in de watertemperatuur te zijn welke tussen de 15°C en 20°C ligt. Vanaf 20°C is de groei sneller, maar ook de afsterving sneller dan bij temperaturen van 15°C en lager.



Figuur 3. *Aeromonas* groeiproeven in drinkwater waaraan spuiwater 1:1 is toegevoegd van locatie IJzendijke. Spuiacties zijn uitgevoerd op 15 mei 2018. Gegeven is het gemiddelde van twee groeiproeven met de standaard deviatie.



In het water van Berenplaat komt de natuurlijke *Aeromonas* concentratie overeen met de ent en wordt alleen bij 20°C gedurende 1 dag lichte groei waargenomen (Figuur 4). De aantallen na inoculatie nemen alleen bij 20°C licht toe. Gedurende de looptijd kan *Aeromonas* zich wel handhaven bij een incubatietemperatuur van 4°C en 10°C waarbij weinig afsterving plaats vindt. Bij hogere temperaturen is de afsterving sneller en bij 30°C neemt de groei het snelst af waarbij *Aeromonas* na dag 7 niet meer detecteerbaar is in het water. Er lijkt geen duidelijk omslagpunt te zijn voor groei gerelateerd aan temperatuur, met name omdat er geen groei plaats vindt. Een hogere temperatuur leidt wel duidelijk tot snellere afsterving, zoals ook het geval is bij de andere locaties.



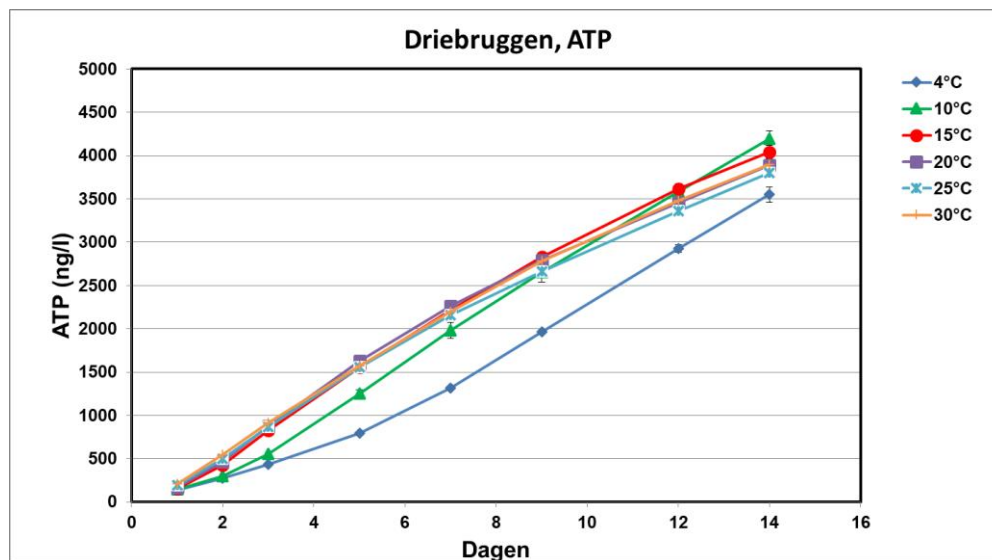
Figuur 4. *Aeromonas* groeiproeven in drinkwater waaraan spuiwater 1:1 is toegevoegd van locatie Hoek van Holland, Berenplaat. Spuiacties zijn uitgevoerd op 15 mei 2018. Gegeven is het gemiddelde van twee groeiproeven met de standaard deviatie.

Tabel 6. *Aeromonas*-aantallen op dag 0 ( $T_0$ ) en de groeimaxima ( $N_{max}$ ) van de *Aeromonas*-groeiproeven.

$T_0 - N_{max}$ (kve/ml)	Driebruggen		Lekkerkerk		Ijzendijke		Berenplaat	
	$T_0$	$N_{max}$	$T_0$	$N_{max}$	$T_0$	$N_{max}$	$T_0$	$N_{max}$
4°C	17	72	1	1	8	9	8	8
10°C	15	82	2	2	5	438	8	8
15°C	21	78	1	1	5	335	7	10
20°C	19	183	1	1	5	248	7	16
25°C	32	225	1	1	5	258	7	7
30°C	34	145	1	1	5	148	7	8

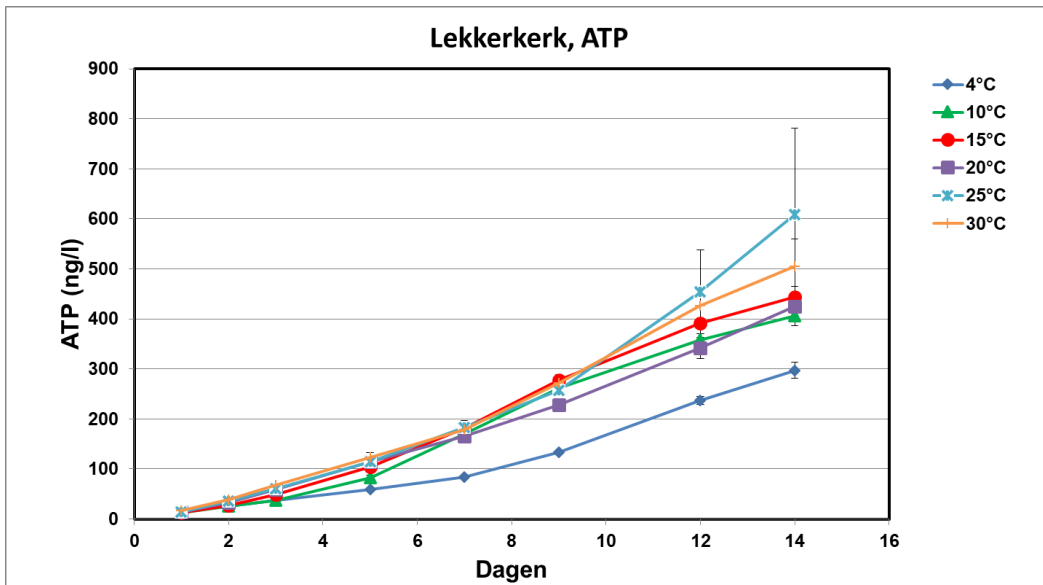
In de groeiproeven is naast *Aeromonas* ook de ATP concentratie bepaald in het water van de groeiproef (drinkwater gemengd met spuiwater), wat een maat is voor de gehele actieve biomassa (Figuur 5 - Figuur 8). In Bijlage III is de ATP-concentratie per temperatuur weergegeven.

De ATP concentraties in het water van Driebruggen zijn erg hoog, met hoge BP7 en BPC14 waarden (Tabel 7). De ATP concentratie neemt bij 4°C en 10°C minder snel toe in vergelijking met de andere temperaturen, met name in de eerste vijf dagen is er een duidelijk verschil (Figuur 5). De BPC14 waarde is het hoogst bij 10°C (4191,5 d.ng ATP/l). Er lijkt weinig verschil te zijn tussen de verschillende incubatietemperaturen. Het omslagpunt voor microbiële groei ligt tussen 10°C en 15°C, hierboven is geen extra groei zichtbaar.



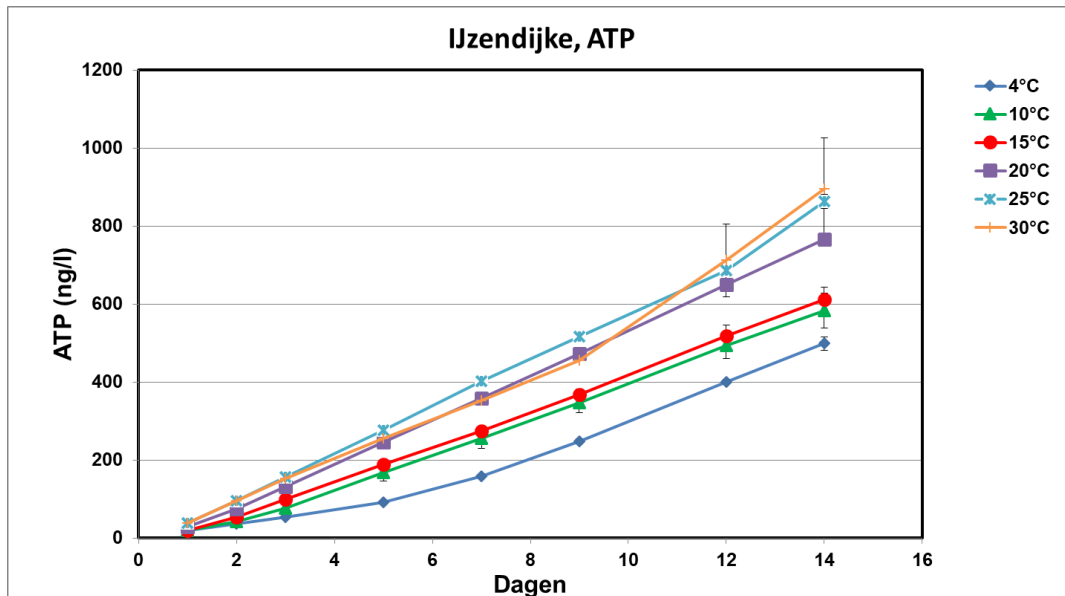
Figuur 5. ATP concentratie in de *Aeromonas*-groeiproef van locatie Driebruggen. Gegeven is het gemiddelde van twee groeiproeven met de standaarddeviatie. Spuiacties zijn uitgevoerd op 15 mei 2018.

In het water van Lekkerkerk worden, vergeleken met de andere locaties, de laagste ATP concentraties waargenomen. Ook hier geldt dat 4°C een lagere ATP concentratie heeft dan de andere temperaturen (Figuur 6), boven deze temperaturen is er weinig verschil in ATP-toename tussen de verschillende temperaturen. Vanaf dag 12 lijken de hogere temperaturen (25°C en 30°C) wat sterker te stijgen, maar door de grote standaarddeviatie is dit niet met zekerheid te zeggen. De hoogste BPC14 waarde wordt waargenomen bij 25°C (608,0 d.ng ATP/l).



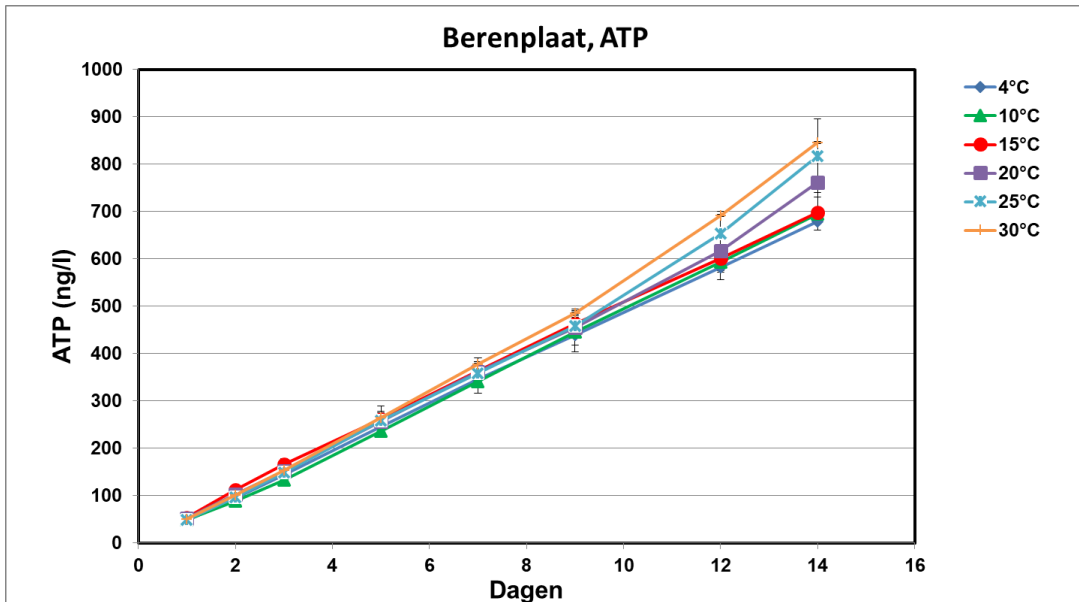
Figuur 6. ATP concentratie in de *Aeromonas*-groeioproef van locatie Lekkerkerk. Gegeven is het gemiddelde van twee groeioproeven met de standaarddeviatie. Spuiacties zijn uitgevoerd op 15 mei 2018.

In het water van IJzendijke verschilt de mate van microbiële groei tussen de afzonderlijke temperaturen (Figuur 7). Ook hier heeft 4°C de laagste ATP concentratie, gevolgd door 10 en 15°C. De hoogste BPC14 waarde wordt waargenomen bij 30°C (608 d.ng ATP/l). Er lijkt een omslagpunt voor microbiële groei te zijn tussen 4°C en 10°C en een tweede omslagpunt tussen 15°C en 20°C, boven de 20°C zijn de groeicurves vergelijkbaar met elkaar.



Figuur 7. ATP concentratie in de *Aeromonas*-groeiproef van locatie IJzendijke. Gegeven is het gemiddelde van twee groeiproeven met de standaarddeviatie. Spuiacties zijn uitgevoerd op 15 mei 2018.

In het water van Berenplaat zijn de afzonderlijke temperaturen, in het begin, niet van elkaar te onderscheiden (Figuur 8). Pas na dag 9 worden er kleine verschillen tussen de temperaturen zichtbaar, waarbij het ATP-gehalte bij temperaturen vanaf 20°C sterker toenemen dan van de andere temperaturen. De hoogste BPC14 waarde wordt waargenomen bij 30°C (845,7 d.ng ATP/l).



Figuur 8. ATP concentratie in de *Aeromonas*-groeioproef van locatie Hoek van Holland, Berenplaat. Gegeven is het gemiddelde van twee groeioproeven met de standaarddeviatie. Spuiacties zijn uitgevoerd op 15 mei 2018.

Tabel 7. BP7 en BPC14 waarden van de *Aeromonas*-groeioproeven. Gegeven is de gemiddelde BP7 en BPC 14 van twee groeioproeven met de standaarddeviatie.

	Water-temperatuur	BP7		BPC14	
		ng ATP/l	SD	Σ14 (d.ng ATP/l)	SD
Driebruggen	4°C	342,4	4,8	3552	87,9
	10°C	367,9	24,9	4192	95,3
	15°C	412,5	19,7	4039	75,7
	20°C	419,4	11,8	3887	84,9
	25°C	370,7	3,2	3799	7,3
	30°C	382,0	7,8	3901	54,5
Lekkerkerk	4°C	15,0	1,2	297	16,2
	10°C	52,0	0,9	406	4,5
	15°C	48,6	0,6	445	0,8
	20°C	27,9	0,3	426	39,8
	25°C	38,7	1,7	608	173,1
	30°C	33,0	4,3	505	55,5
Ijzendijke	4°C	42,3	1,4	499	17,1
	10°C	47,1	5,1	583	45,0
	15°C	46,7	2,7	611	31,4
	20°C	59,7	3,8	766	12,4
	25°C	72,9	1,6	863	17,8
	30°C	58,7	1,6	894	132,2
Berenplaat	4°C	54,4	0,7	680	5,7
	10°C	64,5	11,8	695	35,4
	15°C	60,8	0,7	698	10,4
	20°C	56,1	1,2	762	54,5
	25°C	59,9	3,0	818	77,6
	30°C	59,1	3,1	846	2,0

## 5 Discussie

### 5.1 *Aeromonas*-groei in water van verschillende locaties

Door van der Kooij (1992) is gesteld dat *Aeromonas* niet kan groeien in drinkwater in aanwezigheid van de autochtone flora. In eerder onderzoek is aangetoond dat *Aeromonas* wel groeit in ongepasteuriseerd drinkwater wanneer daaraan sediment, invertebraten en nutriënten (aminozuren/vetzuren) worden toegevoegd (BTO 2016.073; BTO 2018.037). Dit wordt in het huidige onderzoek bevestigd. Er was echter een groot verschil in *Aeromonas*-groei tussen de vier geteste drinkwatermonsters. Geen groei trad op in het drinkwater van Berenplaat en Lekkerkerk en de sterkste groei is waargenomen in drinkwater met sediment uit IJzendijke gevolgd door Driebruggen (Tabel 8). Opvallend hierbij is dat de groei niet altijd overeenkomt met de mate waarin *Aeromonas* nagroei optreedt de leidingnetten.

In het spuibare sediment en drinkwater van Lekkerkerk zijn blijkaar geen voedingsstoffen aanwezig voor de groei (of concurrentie) van *Aeromonas*: in het distributiegebied is er geen *Aeromonas* probleem en ook in de groeiproef vindt er geen groei van *Aeromonas* plaats.

In het distributiegebied van Berenplaat, waaronder Berenplaat, zijn in de warme periode hoge aantallen *Aeromonas* aanwezig in het water. In de groeiproeven vindt geen *Aeromonas*-groei plaats, terwijl de toename in ATP wel laat zien dat er groei van (micro)organismen plaatsvindt. Bij de start van het experiment zijn al vrij hoge aantallen *Aeromonas* aanwezig in het spuiwater, en in mindere mate in het drinkwater. Mogelijk zijn hierdoor (bijna) alle voedingsstoffen voor *Aeromonas* groei al gebruikt door de natuurlijk aanwezige *Aeromonas* en zijn er geen voedingsstoffen over om groei te ondersteunen. In Driebruggen zijn nog hogere *Aeromonas*-aantallen aanwezig in het drinkwater en spuiwater, maar hier vindt wel groei van *Aeromonas* plaats. Deze resultaten komen dus niet overeen met bovenstaande hypothese en aanvullend onderzoek zou moeten uitwijzen waardoor de groei in Berenplaat-water veroorzaakt wordt.

In IJzendijke, in het distributiegebied van Braakman zijn de *Aeromonas*-aantallen altijd vrij laag. In de groeiproef is er wel sterke *Aeromonas*-groei in het water met sediment. Blijkbaar bevat het (spui)water wel voedingsstoffen voor *Aeromonas*-groei, maar kan in het distributienet geen groei plaats vinden. De relatief sterke *Aeromonas*-groei in groeiproeven met water en sediment van het leidingnet van Braakman, waar in drinkwater geen sprake was van een toename, is eerder gezien (BTO 2018.037). Hiervoor zijn in dit rapport meerdere mogelijke verklaringen gegeven, maar wat de oorzaak is voor deze verschillen is nog niet duidelijk. Wat mee kan spelen is dat IJzendijke de hoogste concentraties *Aeromonas* per ml sediment heeft en het meest biologische actief is (gebaseerd op ATP en TOC; Tabel 4). Echter, doordat er in het spuiwater van IJzendijke minder sediment aanwezig was, wordt er ook veel minder sediment toegevoegd aan de groeiproeven door de dosering van spuiwater: in IJzendijke wordt bijvoorbeeld 172x (2,2 log) minder sediment toegevoegd dan in Driebruggen terwijl het sediment slechts 0,6-0,8 log meer *Aeromonas*/ml sediment, 1,3-1,7 log meer ATP en 0,8-1,2 log meer TOC bevat. In absolute aantallen wordt er met het spuiwater van IJzendijke dus minder *Aeromonas*, ATP en TOC toegevoegd. Het



gaat hier dus zowel om de hoeveelheid toegevoegd sediment als de samenstelling ervan.

Tabel 8. ATP-toename en groei van *Aeromonas* in de groeiproeven, *Aeromonas*-groei in het distributienet en het sedimentvolume van het spuiwater

	Pompstation	ATP-toename	<i>Aeromonas</i> -groei		Sedimentvol. Spuiwater (ml/m <sup>3</sup> )	
		Groeiproef	Distributienet	Groeiproef	Ongefiltreerd	< 30 µm
Driebruggen	Rodenhuis	+++	X	X	128,75	85,0
Lekkerkerk	Lekkerkerk	+			6,75	1,0
IJzendijke	Braakman	++		X	0,75	0,4
Berenplaat	Berenplaat	++	X		8,8	7,0

In tegenstelling tot de resultaten uit een eerdere studie waar een sterke correlatie werd gevonden tussen de  $N_{\max}$  en BPC14-waarden met het sedimentvolume (BTO 2018.037), is er in de huidige experimenten geen correlatie gevonden. De conclusie uit voorgaand onderzoek was dat de groei in de groeiproeven sterk beïnvloed wordt door het sedimentvolume dat in het spuiwater aanwezig is. In het huidige onderzoek is er echter *Aeromonas*-groei in groeiproeven met spuiwater van de locatie met het meeste sediment (Driebruggen) en het minste sediment (IJzendijke; Tabel 8). Zoals hierboven beschreven heeft IJzendijke de hoogste aantallen *Aeromonas* per ml sediment en is het het meest biologische actief. Dit kan gedeeltelijk verklaren waarom er *Aeromonas*-groei is, maar naast de samenstelling van het sediment speelt ook de hoeveelheid sediment een rol.

De lichte correlatie die in eerder onderzoek werd gevonden 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 is bereikt (BTO 2018.037), werd in dit onderzoek niet bevestigd.

## 5.2 Invloed van temperatuur op groei van *Aeromonas*

Er lijkt een omslagpunt te liggen tussen de 15°C en 20°C voor groei van *Aeromonas*. Uit de groeiproeven blijkt dat *Aeromonas* sneller groeit bij een hogere temperatuur (20-30°C), dan bij lagere temperaturen. De afsterving is echter ook sneller bij hogere temperaturen. Bij lagere temperaturen (4-15°C) is de groei van *Aeromonas* langzamer, maar worden meestal wel vergelijkbare  $N_{\max}$ -waardes bereikt als bij hogere temperaturen. Daarbij kan *Aeromonas* zich bij lage temperaturen wel gedurende de 14 dagen van het experiment handhaven.

Het snel afsterven van *Aeromonas* bij hogere temperaturen heeft waarschijnlijk te maken met de opzet van het experiment in flessen waarbij na de start van het experiment geen extra voedingsstoffen worden gedoseerd. Als de aanwezige voedingsstoffen zijn opgebruikt, sterft *Aeromonas* af. Mogelijk kan dit ook veroorzaakt worden door de aanwezige microbiële populatie, zoals predatoren (protozoa) of competerende bacteriën. Op basis van dit onderzoek kan niet worden geconcludeerd wat de precieze verklaring is voor het afsterven van *Aeromonas*. Het distributienet is daarentegen een dynamische omgeving waarbij continu nieuwe voedingsstoffen worden aangevoerd. Uit deze experimenten blijkt dat het *Aeromonas*-aantal in het water vooral lijkt af te hangen van de hoeveel aanwezige voedingsstoffen, en niet van de temperatuur. Een hogere temperatuur zal wel tot een snellere *Aeromonas*-toename

zorgen, maar de maximale aantallen zijn afhankelijk van de hoeveelheid en het type voedingsstoffen.

Hogere watertemperaturen in het distributiesysteem kunnen daarom mogelijk leiden tot een hogere groeisnelheid van *Aeromonas*. Of de *Aeromonas*-aantallen in het distributienet daadwerkelijk hoger worden, hangt onder meer af van de hoeveelheid en soort voedingsstoffen die aangevoerd wordt. Als er genoeg voedingsstoffen aangevoerd worden om de grotere *Aeromonas*-populatie in stand te houden, zou dit mogelijk kunnen leiden tot langere periodes met hogere *Aeromonas*-aantallen. Dit moet echter nader onderzocht worden in bijvoorbeeld een pilot distributienet waarbij de temperatuur gereguleerd kan worden.

### 5.3 Algemene microbiële groei, BP7 en BPC14

Wat in het algemeen opvalt aan de ATP grafieken is dat bij de meeste locaties en temperaturen de ATP-toename constant is, zowel bij hogere als lagere temperaturen. In eerder onderzoek was er, afhankelijk van het seizoen waarin het water was bemonsterd, duidelijk een snelle ATP-toename in de eerste 9 dagen, of juist na dag 9 (BTO 2018.037). De huidige constante toename wijst er op dat er continu voedingsstoffen vrijkomen, zowel makkelijk als moeilijk afbreekbare verbindingen, die door de algemene microbiële populatie gebruikt worden voor groei. De afsterving van *Aeromonas* in het tweede deel van het experiment zorgt niet voor het vrijkomen van extra voedingsstoffen waarop de algemene micro-organismen (versterkt) kunnen groeien. Als dit zo was geweest, zou er een sterkere ATP-toename zichtbaar moeten zijn in het tweede deel van het experiment. *Aeromonas* groeit daarentegen voornamelijk in de beginfase van het experiment, wat suggereert dat groei voornamelijk plaats vindt op makkelijk afbreekbare verbindingen.

Mogelijk is er een verband tussen de hoeveelheid sediment en/of samenstelling van het sediment in het spuiwater en de ATP-toename in de groeiproeven (Tabel 8).. Door de kleine dataset is dit echter niet met zekerheid te zeggen.

De BP7 en BPC14-waarden van Driebruggen zijn erg hoog vergeleken met de andere drie locaties, maar ook vergeleken met bijvoorbeeld pompstation de Laak van Oasen, welke vergelijkbare *Aeromonas*-aantallen heeft. Hier is de BPC14 in water na UV desinfectie bepaald (45,6 en 42,7 d.ng ATP/l; BTO 2014.206(s)). Echter, ook voor IJzendijke en Berenplaat zijn de waardes hoger dan normaal in BPP-testen worden gemeten (Berenplaat 2015-2016: BP7 7,2 - 23,1 ng ATP/l; BTO 2018.031). Het verschil tussen de normale BPP-test en de hier uitgevoerde *Aeromonas*-groeiproef is voornamelijk dat er ammonium is gedoseerd wat niet in de BPP-test wordt gedaan. Hierdoor kunnen nitrificerende bacteriën gaan groeien. Of dit echter ook de oorzaak is, zou met specifieke qPCR testen voor deze bacteriesoort getest moeten worden. Een andere optie is om een groeiproef uit te voeren met een extra conditie zonder ammonium dosering. Echter, *Aeromonas* heeft ammonium nodig voor groei omdat deze nitraat niet goed als stikstofbron kan gebruiken. Beide condities zouden dan naast elkaar getest moeten worden.

## 6 Conclusies en aanbevelingen

### 6.1 Conclusies

In de groeiproeven groeit *Aeromonas* het sterkst in water uit het distributiesysteem van IJzendijke en Driebruggen. In het water van Lekkerkerk en Berenplaat wordt geen groei waargenomen.

- *Aeromonas* groeit in drinkwater verrijkt met sediment van de locaties Driebruggen en IJzendijke en zeer beperkt Berenplaat bij alle temperaturen (ook bij 4°C).
- In Driebruggen en IJzendijke is de toename vergelijkbaar en het snelst bij de hoge temperaturen (20, 25 en 30°C) en vindt deze in de eerste dag plaats.
- Bij lage temperaturen, <20°C, vindt de snelle toename plaats in de eerste 2-4 dagen en wordt een vergelijkbaar (Berenplaat), lager (Driebruggen) of een hoger (IJzendijke) maximum bereikt.
- Bij 4°C is de toename van *Aeromonas* duidelijk langzamer.
- Afname van het aantal *Aeromonas* is ook temperatuur gerelateerd; sneller bij hogere temperaturen, waarschijnlijk door activiteit van de aanwezige (micro) organismen.
- Er lijkt een verband te zijn tussen *Aeromonas* groei en de hoeveelheid en samenstelling van het sediment.

### 6.2 Aanbevelingen

In een dynamisch experiment, bijvoorbeeld in een pilot distributiesysteem met verversing en indien nodig beperkt recirculatie, het effect van watertemperatuur op groei van *Aeromonas* testen waarbij continu nieuwe voedingsstoffen worden gedoseerd.

Het *Aeromonas*-aantal in het distributienet hangt af van veel factoren, waaronder de hoeveelheid en type voedingsstoffen. Door biologisch stabiel water te produceren, met minder voedingsstoffen, kan *Aeromonas*-groei mogelijk worden beperkt.

Onderzoek de groeipotentie van het sediment voor *Aeromonas* onder dynamische drinkwatercondities en in combinatie met groeiproeven in flessen. Dergelijke dynamische experimenten dienen in een pilot distributiesysteem worden uitgevoerd, waarin de meeste condities kunnen worden gecontroleerd en waar sediment ingebracht kan worden.

## 7 Referenties

BTO 2014.206(s). Inventarisatie nagroeiproblematiek Oasen en oorzaak lagere biologische stabiliteit zs De Laak. Bereschenko, L.A. KWR Nieuwegein

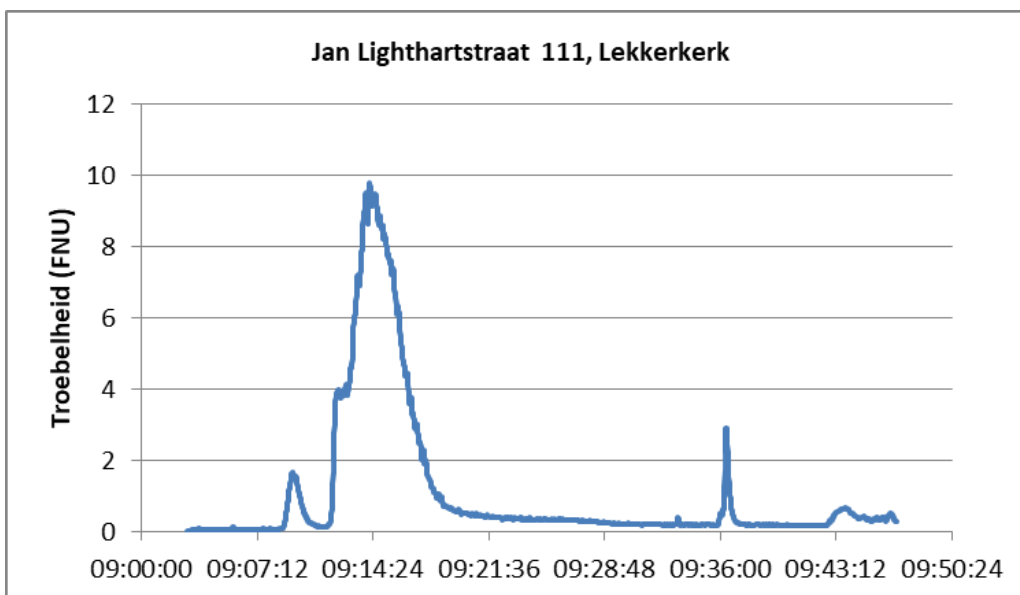
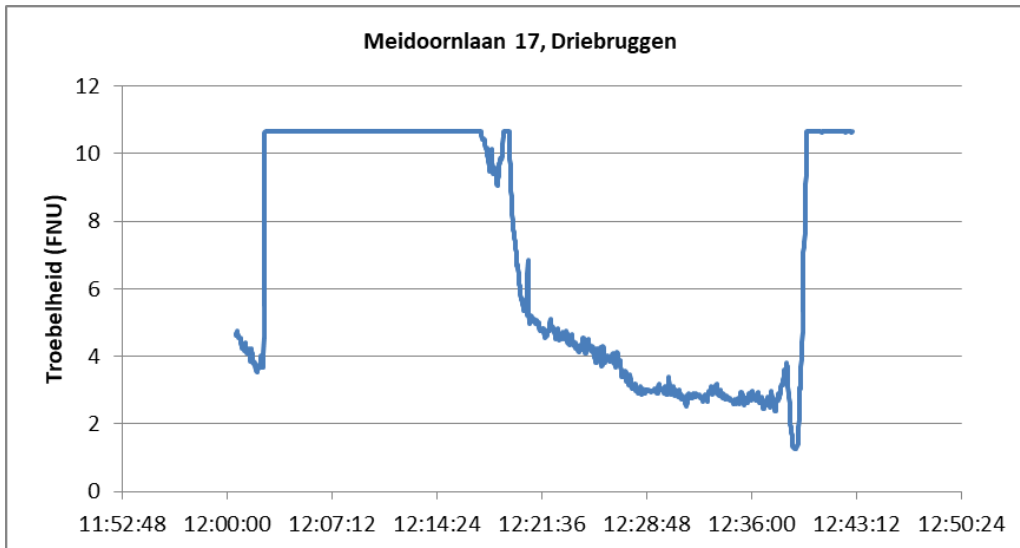
BTO 2018.031. Onderzoek naar de biologische condities in water, sediment en op de buiswand en de *Aeromonas* toename in een transportleiding als functie van het seizoen in 2016. Learbuch, K.L.G. & Hijnen, W. KWR Nieuwegein

BTO 2018.037. Groei van *Aeromonas* op sediment en ongewervelde dieren uit het distributienet van de productielocaties Kralingen, Braakman en Berenplaat van Evides. Van Bel, N. KWR Nieuwegein

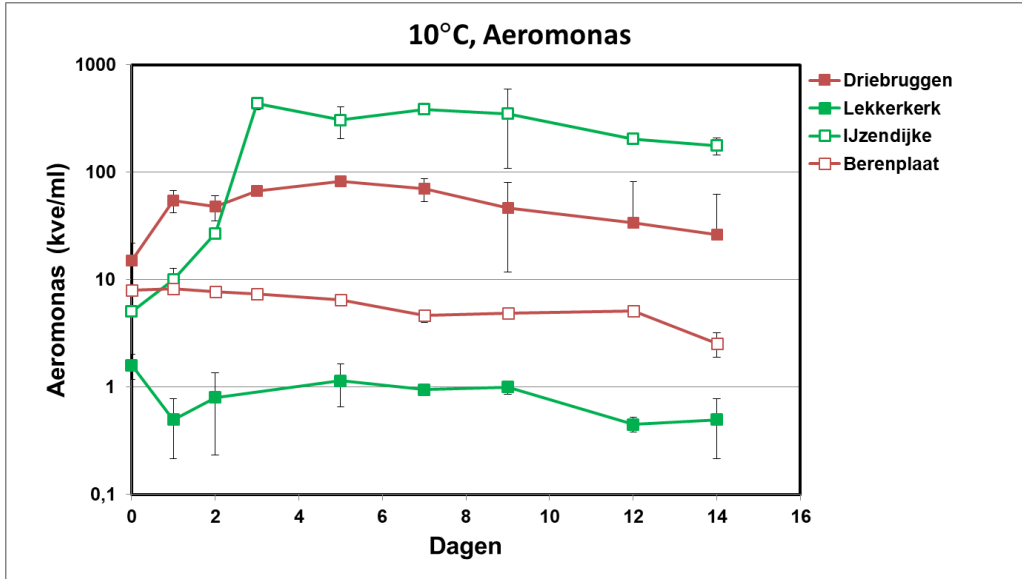
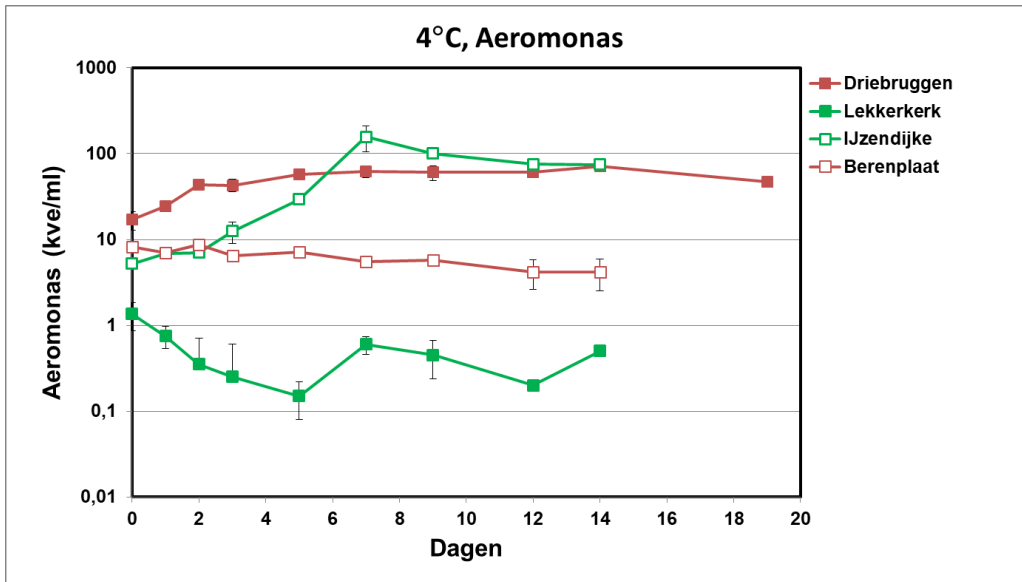
Van der Kooij, 1992. *Aeromonas* in drinkwater. Vóórkomen, bestrijding, betekenis. Kiwa N.V., Nieuwegein.

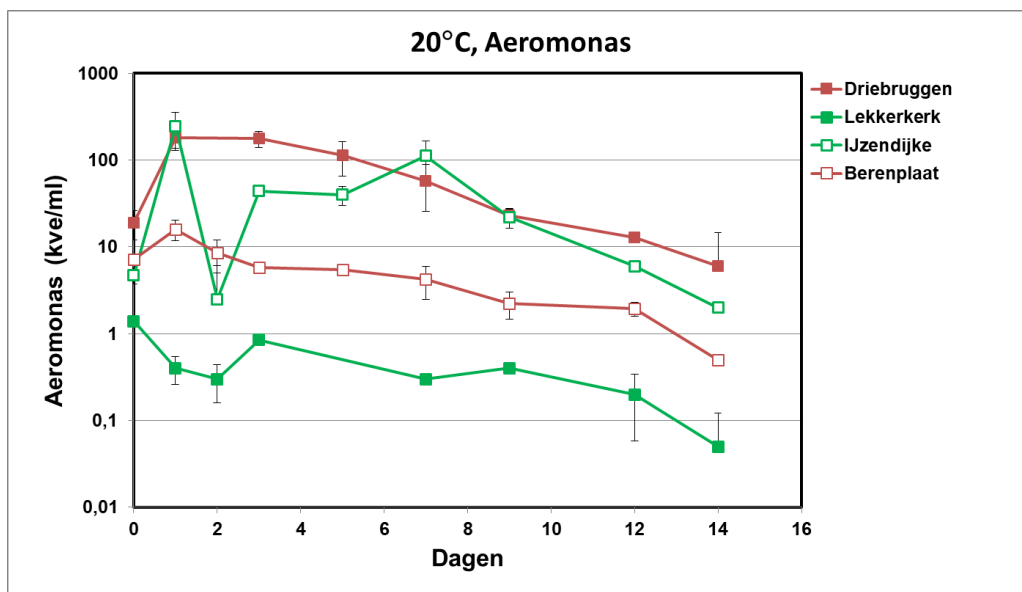
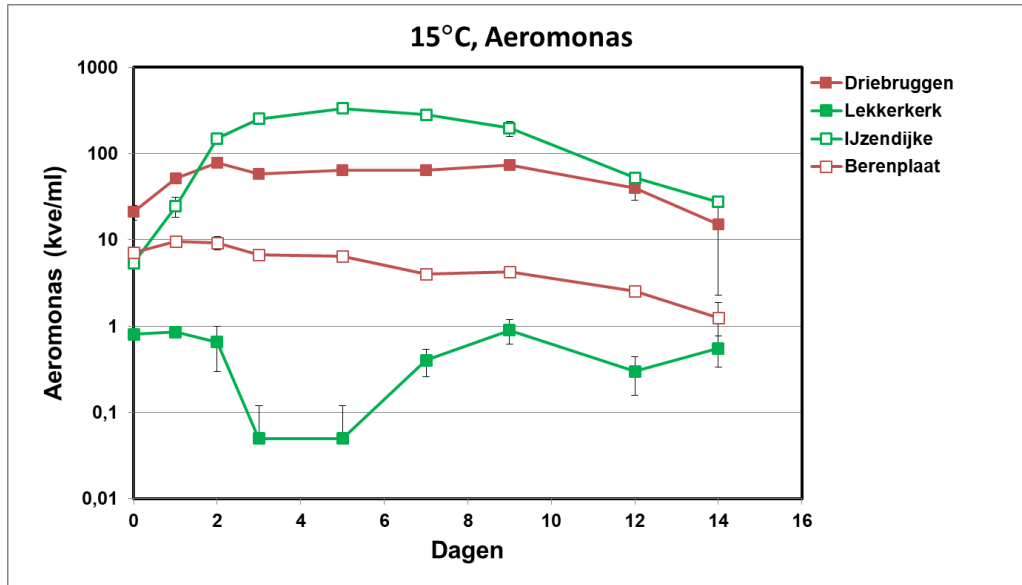
## Bijlage I Troebelheidsmetingen

Troebelheid bij spuiacties van Oasen 15 mei 2018

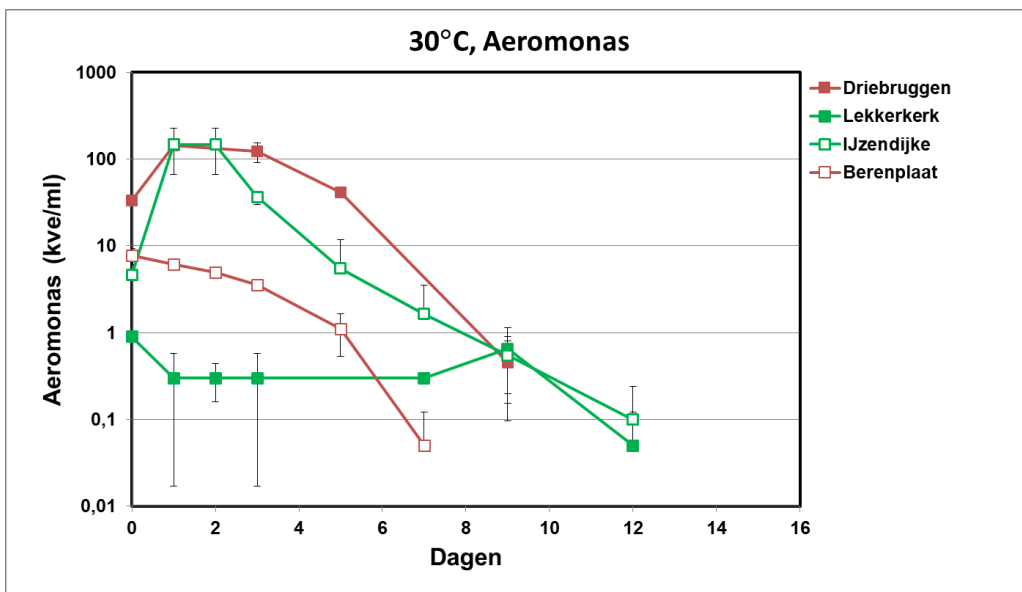
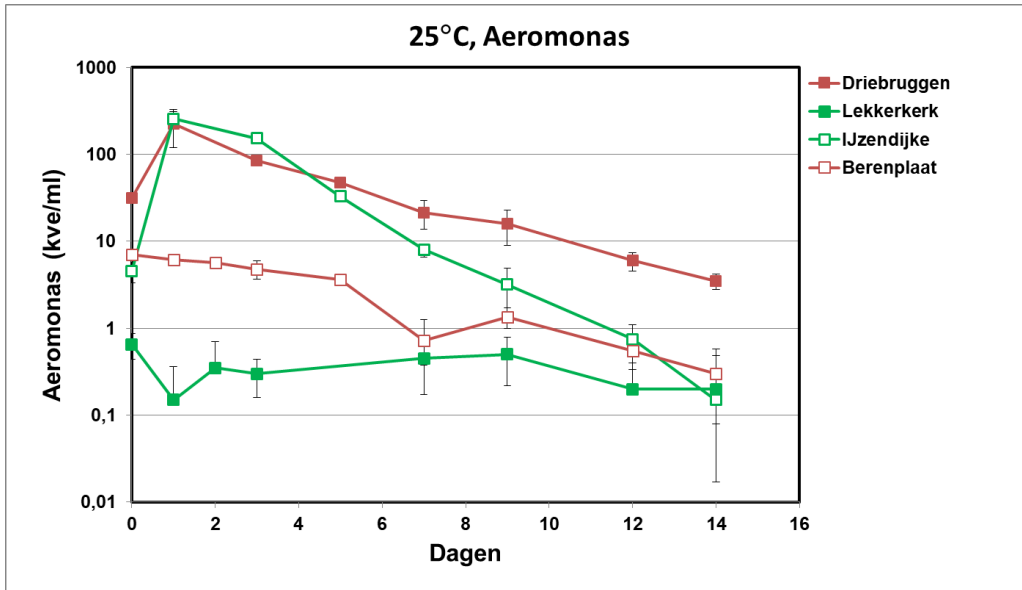


## Bijlage II Groei van *Aeromonas* per temperatuur









## Bijlage III ATP-gehalte in de *Aeromonas* groeiproef, per temperatuur

