

BTO 2016.045 | Juni 2016

## **BTO** rapport

Verwijdering van biofilm met biociden van de buiswand uit het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum



# BTO

## Verwijdering van biofilm met biociden van de buiswand uit het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum

BTO 2016.045 | Juni 2016

### Opdrachtnummer

401210

### Projectmanager

Luc Hornstra

### Opdrachtgever

Geo Bakker (Vitens) – BTO Speerpuntonderzoek

### Kwaliteitsborger

Paul van der Wielen

### Auteurs

Nikki van Bel, Wim Hijnen

### Verzonden aan

Geo Bakker (Vitens)

**Jaar van publicatie**  
2016

**Meer informatie**  
dr. ir. Nikki van Bel  
T 030 606 9516  
E [nikki.van.bel@kwrwater.nl](mailto:nikki.van.bel@kwrwater.nl)

**Keywords**

PO Box 1072  
3430 BB Nieuwegein  
The Netherlands

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

**KWR** Watercycle  
Research  
Institute

BTO | Maart 2016 © KWR

Alle rechten voorbehouden.

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

# BTO Managementsamenvatting

BTO Managementsamenvatting

## *Chloor en chloordioxide meest effectief in afdoden buiswandbiofilm van distributiesysteem Noordbergum, biofilmmatrix blijft aanwezig*

**Auteurs:** Dr. Nikki van Bel, Dr. Wim Hijnen

Desinfectie met chloor of chloordioxide resulteert in de beste afdoding van de micro-organismen in de biofilm in een drinkwaterleiding uit het voorzieningsgebied van productiebedrijf Noordbergum, zo blijkt uit Speerpuntonderzoek dat in opdracht van Vitens is uitgevoerd. Het waterbedrijf kampt in sommige delen van het leidingnet met nagroei, wat nadelige gevolgen kan hebben voor handhaving van de wettelijke microbiologische kwaliteitsnormen en de klanttevredenheid en kan leiden tot technische klachten. De toegepaste concentraties en contacttijden blijken echter ongeschikt om biofilm op PVC-U leidingen af te breken en te verwijderen. De verschillen in de chemische parameters voor en na behandeling zijn dusdanig klein, dat de toegepaste methoden te ongevoelig zijn om dit verschil betrouwbaar te kunnen meten. De biofilmmatrix blijft aanwezig. Op grond van de resultaten bevelen we aan om eerst de zogenoemde 'hotspots' van nagroei in het leidingnet te lokaliseren en deze vervolgens te karakteriseren. Dan kan gericht onderzoek worden gedaan naar effectieve beheersmaatregelen die deze problemen voorkomen.



*Desinfectie van leidingsegmenten uit het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum.*

### **Belang: aantonen van de meest effectieve biocide voor verwijdering van de buiswandbiofilm**

Vitens heeft last van nagroei van micro-organismen en dierlijke organismen in sommige delen van het leidingnet. Dit kan leiden tot wettelijke overschrijdingen van *Aeromonas* of esthetische en technische klachten. Micro-organismen bevinden zich bij voorkeur in de biofilm op de buiswand of op het sediment. Sediment met biofilm kan in

principe worden verwijderd met spuien, maar een methode om de buiswand te ontdoen van biofilm is nog niet beschikbaar. In dit Speerpuntonderzoek is getest welke biocide die in drinkwater is toegestaan de biofilm het meest effectief verwijdert.

### Aanpak: testen van twaalf desinfectiemethoden op leidingsegmenten uit het distributiesysteem

Segmenten van een drinkwaterleiding uit het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum (Vitens) zijn ondergedompeld in verschillende desinfectieoplossingen. Hiervoor zijn waterstofperoxide, natriumhypochloriet (chloor) en chloordioxide gebruikt. De test is uitgevoerd met twee blootstellingstijden en twee concentraties per biocide. In totaal zijn twaalf desinfectiemethoden getest. Analyse van de mate waarin verwijdering van de biofilm succesvol was gebeurde aan de hand van de microbiologische parameters ATP en KG25 en chemische parameters ijzer, mangaan, TOC en koolhydraten. De resultaten na desinfectie zijn vergeleken met onbehandelde leidingsegmenten.

### Resultaten: afdoding van micro-organismen in biofilm, biofilmmatrix blijft aanwezig

De biofilmconcentratie op de geanalyseerde leiding was representatief voor PVC-U leidingen in het distributiesysteem.

Chloordioxide en chloor vervallen snel in het reinwater van productiebedrijf Noordbergum, wat te verwachten is door het hoge organisch stof (TOC) gehalte van het water geproduceerd op die locatie.

De biocides doden in meer of mindere mate de biofilm af, waarbij chloor en chloordioxide het meest effectief zijn. Uit de kleine verschillen in de chemische parameters voor en na de biocidebehandeling maken we op dat de hier gebruikte concentraties, contacttijden en

technieken niet of nauwelijks geschikt zijn voor verwijdering van de biofilmmatrix.

### Implementatie: biociden ongeschikt voor biofilm verwijdering in distributiesysteem Noordbergum

Dit onderzoek leidt tot de volgende aanbevelingen voor gebruik van desinfectiemiddelen voor verwijdering van de biofilm in het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum:

- Vanwege het snelle verval van chloor en chlooroxide als gevolg van het hoge TOC-gehalte van het reinwater is het gebruik van deze biociden om de biofilm te verwijderen in het distributiesysteem mogelijk minder wenselijk.
- Desinfectie van een PVC-U leiding met de hier gebruikte concentraties en contacttijden lijken weinig zinvol in de praktijk, omdat micro-organismen in de biofilm wel worden afgedood, maar de biofilmmatrix blijft gehandhaafd.
- Met een inventarisatie van 'hotspot'-gebieden in het distributiesysteem waar nagroei optreedt, kan gericht onderzoek worden gedaan naar effectieve beheersmaatregelen die deze problemen voorkomen en oplossen.

### Rapport

Dit Speerpuntonderzoek in opdracht van Vitens is beschreven in rapport *Verwijdering van biofilm met biociden van de buiswand uit het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum* (BTO 2016.045).





# Inhoud

<b>Inhoud</b>	<b>1</b>	
<b>1</b>	<b>Introductie</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>Experimentele procedure</b>	<b>4</b>
2.1	Leidinguitname	4
2.2	Biocidebehandelingen	5
2.3	Desinfectieprotocol	5
2.4	Microbiologische en chemische parameters	7
2.5	Data verwerking	7
<b>3</b>	<b>Resultaten</b>	<b>8</b>
3.1	Verval van biociden tijdens desinfectie	8
3.2	Biofilmconcentratie op de buiswand	12
3.3	Biofilmafdoxing en verwijdering	12
<b>4</b>	<b>Discussie</b>	<b>16</b>
<b>5</b>	<b>Conclusies en Aanbevelingen</b>	<b>18</b>
5.1	Conclusies	18
5.2	Aanbevelingen	18
<b>6</b>	<b>Referenties</b>	<b>19</b>
<b>Bijlage I</b>		<b>20</b>
•	<b>Kaart van het distributiegebied bij Hantum</b>	<b>20</b>

# 1 Introductie

Vitens heeft een lange historie met nagroei van micro-organismen en dierlijke organismen in sommige delen van het leidingnet, wat kan leiden tot wettelijke overschrijdingen (*Aeromonas* en *Legionella*) of esthetische/technische klachten (dierlijke organismen). Micro-organismen bevinden zich bij voorkeur in de biofilm op de buiswand of sediment. Na ingebruikname van de filtratie over een ionenwisselaar (IEX), ter verlaging van het organische stofgehalte en verbetering van de biologische stabiliteit op drie productiebedrijven, treden wettelijke overschrijdingen van *Aeromonas* nog steeds op. Dit wordt mogelijk veroorzaakt doordat de biofilm in sediment en op de buiswanden in het distributiesysteem aanwezig is vanuit de historie. Sediment met biofilm kan worden verwijderd door te spuien met een schoonwaterfront, maar een goede methode om biofilm van de buiswand te verwijderen is nog niet beschikbaar. Ice pigging wordt genoemd als mogelijkheid, maar dat is een erg dure methode. Een methode die ook aansluit bij de bestaande praktijk is het gebruik van in drinkwater toegestane biociden.

De biofilm is een complexe structuur die uit veel verschillende componenten bestaat. De structuur van de biofilm wordt bepaald door de bacteriële exopolymere substanties (EPS). De EPS bestaat voornamelijk uit polysacchariden (koolhydraten) en eiwitten, al zijn ook lipiden en humusstoffen aanwezig. Micro-organismen hechten zich ook aan de EPS en vormen zo samen de biofilm.

Het nadeel van het gebruik van de meeste desinfectiemiddelen voor biofilmverwijdering is dat, voor een goede werking, het middel door moet dringen in de gehele biofilm. Het meest gebruikte desinfectiemiddel, chloor, doodt bijvoorbeeld zeer effectief micro-organismen. Het is echter bekend dat chloor, toegepast onder drinkwatercondities, de biofilm niet volledig zal verwijderen, maar slechts de micro-organismen in de bovenste laag zal doden (Hijnen *et al.*, 2011; Chen and Stewart, 2000). De dode cellen in de biofilm kunnen vervolgens dienen als substraat voor micro-organismen in water en biofilm waardoor opnieuw groei van biofilm kan optreden.

Vitens heeft uit een literatuurstudie in 2014 geconcludeerd dat er nog relatief weinig bekend is over mogelijkheden om biofilm uit het drinkwaterdistributiesysteem te verwijderen met biociden (Bakker, 2014). Laboratoriumonderzoek gaat niet verder dan metingen aan koloniegetallen en celtellingen en er zijn enkele moleculaire studies gedaan die op populatieverschuivingen na gebruik van biociden ingaan. Daarom is Vitens een BTO speerpuntproject gestart waarin onderzoek wordt gedaan naar effectieve verwijdering van biofilms van de buiswand met biociden op geselecteerde locaties met relatief veel nagroei. Zogenaemde hotspots worden onder andere gedefinieerd op basis van het gehalte KG22, *Aeromonas*, ATP en dierlijke organismen.

In een eerder onderzoek heeft KWR vastgesteld dat met een hoge chloordosering (0,5%) bij hoge pH (NaOH-dosering) of hoge peroxidedosering (0,5%) in combinatie met een detergent (SDS) 70% van de koolhydratenconcentratie (EPS) van de biofilm kan worden verwijderd ((Hijnen, Castillo *et al.* 2012). In het huidige project wordt de effectiviteit van twaalf biocidebehandelingen geanalyseerd, waarbij van drie biocides twee concentraties en twee contacttijden worden getest. Biociden worden primair gebruikt om de biofilm af te doden. In dit onderzoek wordt bekeken in hoeverre er ook sprake is van verwijdering van de biofilm



onder statische condities. De verwijdering van de biofilm wordt geanalyseerd aan de hand van ATP, koloniegetal bij 25°C, ijzer, mangaan, TOC en koolhydraatgehaltes van de biofilm.

Het doel van dit speerpuntproject is om te bepalen wat de effectiviteit is van in drinkwater toegestane biociden om biofilms van uitgenomen PVC-U buiswanden uit een bestaand distributiesysteem (Noordbergum) te verwijderen.

## 2 Experimentele procedure

### 2.1 Leidinguitname

Op dinsdag 9 februari 2016 is door Vitens een 110 mm drinkwaterleiding bestaande uit PVC-U uit het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum gehaald (Figuur 1 en Bijlage I). Deze locatie ligt op 20 km vanaf het productiebedrijf, in het dorp Hantum, aan de straat De Terpen. Deze leiding is ter plekke in 10 cm lange segmenten gezaagd, individueel verpakt in steriele plastic zakken en gekoeld vervoerd naar KWR. Tevens is 200 liter reinwater van productiebedrijf Noordbergum meegeleverd, om de testen met omgevingseigen water te kunnen uitvoeren.



FIGUUR 1. LEIDINGUITNAME IN DE PLAATS HANTUM

## 2.2 Biocidebehandelingen

In overleg met Vitens is gekozen om drie verschillende biocides te testen die bij de drinkwaterbereiding zijn toegestaan. Waarbij per biocide twee concentraties en per concentratie twee contacttijden worden getest. In totaal zijn 12 desinfectiebehandelingen getest (Tabel 1). De hoogste concentratie natriumhypochloriet (20 mg/l) is opgenomen in de hygiëncode drinkwater. De concentraties chloordioxide en de laagste concentraties natriumhypochloriet en waterstofperoxide zijn ingeschat. De hoogste concentratie waterstofperoxide (400 mg/l) is afkomstig van PWN, die ervaring heeft met dit desinfectiemiddel.

TABEL 1. GETESTE BIOCIDEBEHANDELINGEN

Natriumhypochloriet	Chloordioxide	Waterstofperoxide
5 mg/l, 14 uur	1 mg/l, 1 uur	40 mg/l, 14 uur
5 mg/l, 24 uur	1 mg/l, 24 uur	40 mg/l, 24 uur
20 mg/l, 14 uur	10 mg/l, 1 uur	400 mg/l, 14 uur
20 mg/l, 24 uur	10 mg/l, 24 uur	400 mg/l, 24 uur

Om het verval van de biociden tijdens contact met de biofilm en de buiswand goed te kunnen bepalen, is op verschillende momenten tijdens de desinfectieperiode de concentratie van de biociden gemeten. Verval van de biociden is ook gemeten in een lege desinfectiecontainer zonder buissegment (blanco) om het biocideverval in aanwezigheid van het buissegment hiervoor te kunnen corrigeren.

Alle desinfectiemiddelen zijn verdund in reinwater van productiebedrijf Noordbergum tot de juiste concentratie. Bepaling van het vrij en totaal chloorgehalte (Sigma-Aldrich) in water vond plaats met behulp van titrimetrie (Metrohm, Dosimat 775). Voor bepaling van de chloordioxide (Dutric) concentratie in het water is de Hach-Lange cuvet test kit (Hach-Lange, DR2800) gebruikt. Het gehalte aan waterstofperoxide (Merck) in water is bepaald met behulp van spectrofotometrie (Thermo-Scientific, Unicam UV 500).

## 2.3 Desinfectieprotocol

Eén dag na leidinguitname zijn de desinfecties met chloordioxide en waterstofperoxide gestart volgens een aangepast protocol van de bekeerglas testmethode (Hijnen, Lahondes et al. 2010; Hijnen, Castillo et al. 2012). Twee dagen na leidinguitname zijn de chloordesinfecties gestart.

De statische desinfecties vonden plaats in op maat gemaakte, PVC-U containers (Figuur 2). Deze containers bevatten twee ontluuchtingskraantjes zodat de containers volledig kunnen worden gevuld met desinfectiemiddel en alle lucht verwijderd wordt. Voor aanvang van de desinfecties zijn de leidingsegmenten voorzichtig ondergedompeld in reinwater van productiebedrijf Noordbergum om het loszittende zaagsel van de buisuitname te verwijderen. Vervolgens is de container, met daarin het leidingsegment, voorzichtig gevuld met desinfectiemiddel en is de container luchtvrij gemaakt. Desinfectie vond plaats op kamertemperatuur en onder statische condities (geen menging) gedurende de tijd zoals aangegeven in Tabel 1. Na de desinfectie zijn de leidingsegmenten in de desinfectiecontainers drie maal gespoeld met reinwater van productiebedrijf Noordbergum, onder een lichte schudbeweging van 30 bewegingen per minuut.

De biofilm van de leidingsegmenten is verzameld in steriel leidingwater door de buis te swabben met steriele, elektrische tandenborstels, zoals ook beschreven in Hijnen et al.

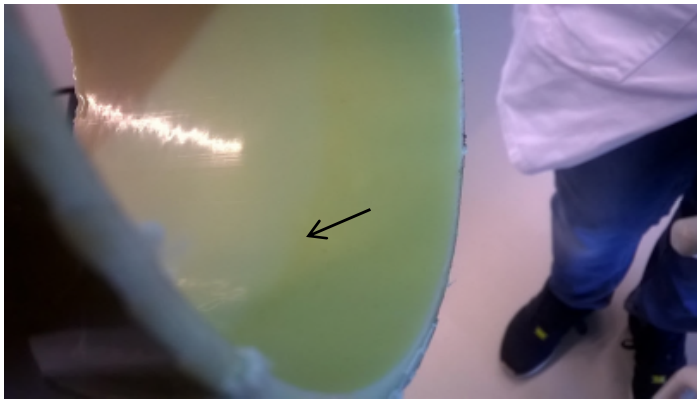
(2012). Van elk segment is in de lengte 8 cm van de buiswand, geheel rondom, de biofilm verzameld. Het totale oppervlak bedroeg 252 cm<sup>2</sup>. Per leidingsegment is er dus één biofilmmonster.

Voor elke behandelingsduur (1, 14 en twee maal 24 uur) is een leidingsegment ondergedompeld in reinwater van productiebedrijf Noordbergum. De resultaten van de biocidebehandelingen worden op twee manieren vergeleken met de resultaten van de onbehandelde leidingsegmenten: i). een leidingsegment dat voor dezelfde tijd is ondergedompeld in reinwater, en ii). het gemiddelde van deze blanco-waarden.



FIGUUR 2. DESINFECTIECONTAINERS VAN PVC-U. DOOR DE TWEE KRAANTJES IN DE DEKSEL KAN DE CONTAINER VOLLEDIG GEVULD WORDEN MET DESINFECTIEMIDDEL EN WORDT ALLE LUCHT VERWIJDERD.

Door middel van lage-energie sonicatie (LES, 4 maal 2 minuten trillen bij een frequentie van 40 kHz) is de biofilm van de tandenborstels los getrild in steriel leidingwater. Met deze biofilmmonsters zijn vervolgens de beschreven analyses uitgevoerd.



FIGUUR 3. VERWIJDERING VAN DE BIOFILM VAN HET LEIDINGSEGMENT DOOR TANDENBORSTELLEN. DE BUITENSTE RAND VAN HET LEIDINGSEGMENT IS NIET GESWABT, HIERDOOR IS EEN LICHT KLEURVERSCHIL ZICHTBAAR BIJ DE PIJL.

## 2.4 Microbiologische en chemische parameters

De volgende parameters zijn geanalyseerd per biofilmmonster.

Microbiologische analyses:

- KG25: Koloniegetal bij 25°C. Het totaal aantal kweekbare heterotrofe bacteriën op R2A medium.
- ATP: Actieve biomassameting van de biofilm (Knezev and van der Kooij, 2004; Hijnen, W., C. Castillo *et al.*, 2011) .

Anorganische analyses, gerelateerd aan de biomassa:

- IJzer (Fe): inorganisch component van de biofilm, gemeten 'totaal na destructie'
- Mangaan (Mn): inorganisch component van de biofilm, gemeten 'totaal na destructie'

Organische analyses, gerelateerd aan de biomassa:

- Koolhydraten (CH): indicator van hoeveelheid extracellulaire polymere substanties (EPS) aanwezig in de biofilm
- TOC: totaal organisch materiaal in de biofilm

Fe (totaal analyse, na destructie), Mn (totaal analyse, na destructie) en TOC analyses zijn uitgevoerd door Vitens. Het ATP gehalte per biofilmmonster is bepaald via een enzymatische bepaling en gedetecteerd met behulp van een luminometer conform huisvoorschrift LMB 002. Het koloniegetal bij 25°C is bepaald op R2A agar gedurende 10 dagen incubatie conform huisvoorschrift LMB 014. Koolhydraatbepalingen zijn uitgevoerd volgens de Dubois methode, waarbij glucose als referentie is gebruikt (Dubois, 1956).

## 2.5 Data verwerking

Het gemeten concentratieprofiel van het desinfectiemiddel wordt uitgedrukt in de concentratie (mg/l) tegen de tijd (uren). ATP en KG25 per biofilmmonster worden uitgedrukt in pg ATP/cm<sup>2</sup> en kve/cm<sup>2</sup>, respectievelijk. De Fe, Mn, TOC en CH waardes zijn omgerekend naar µg/cm<sup>2</sup>.

## 3 Resultaten

### 3.1 Verval van biociden tijdens desinfectie

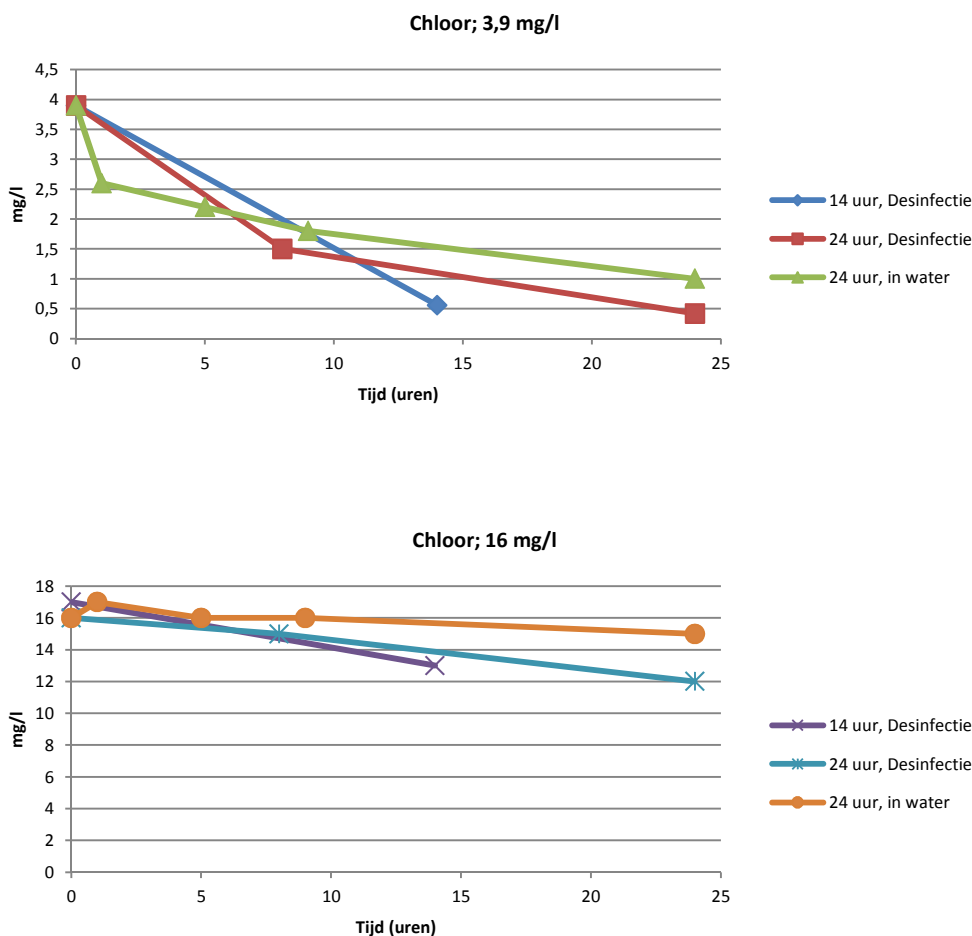
#### 3.1.1 Desinfectie met chloor

In de afwezigheid van een leidingsegment zijn bij startconcentraties van 3,9 en 16 mg/l chloor respectievelijk 74% en 6.3% van het chloor vervallen na 24 uur. Waarbij eindconcentraties van 1 mg/l en 15 mg/l worden bereikt. Na een contacttijd van 9 uur is het verval 55% en 0% respectievelijk (Figuur 4). Dit geeft aan dat het reinwater samen met de desinfectiecontainer een hoge chloorvraag heeft en er veel verval plaatsvindt.

Tijdens de desinfectieprocedure zorgt de aanwezigheid van het leidingsegment voor een hoger chloorverval: bij een startconcentratie van 3,9 mg/l is na 14 uur 86% en na 24 uur 89% van het chloor vervallen. Hierbij worden eindconcentraties van 0,56 mg/l (14 uur) en 0,42 mg/l (24 uur) bereikt. Bij een startconcentratie van 16 mg/l is dit respectievelijk 19% en 25%, met eindconcentraties van 13 mg/l (14 uur) en 12 mg/l (24 uur).

De chlooroplossingen zijn gemaakt door natriumhypochloriet te verdunnen tot 5 of 20 mg/l in reinwater. Echter, voor beide concentraties is 20% van het chloor vervallen in de korte tijd (5-10 minuten) tussen het maken van de chlooroplossing en de dosering aan het leidingsegment. Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt door de hoge chloorvraag van het reinwater en vraagt dus om een overdosering om voor het verval te corrigeren. In Tabel 1 worden de desinfectieconcentraties gegeven waar het leidingsegment op t=0 aan is blootgesteld.





FIGUUR 4. CONCENTRATIE VRIJ CHLOOR IN DE DESINFECTIECONTAINERS TIJDENS DE DESINFECTIEBEHANDELINGEN.

### 3.1.2 Desinfectie met chloordioxide

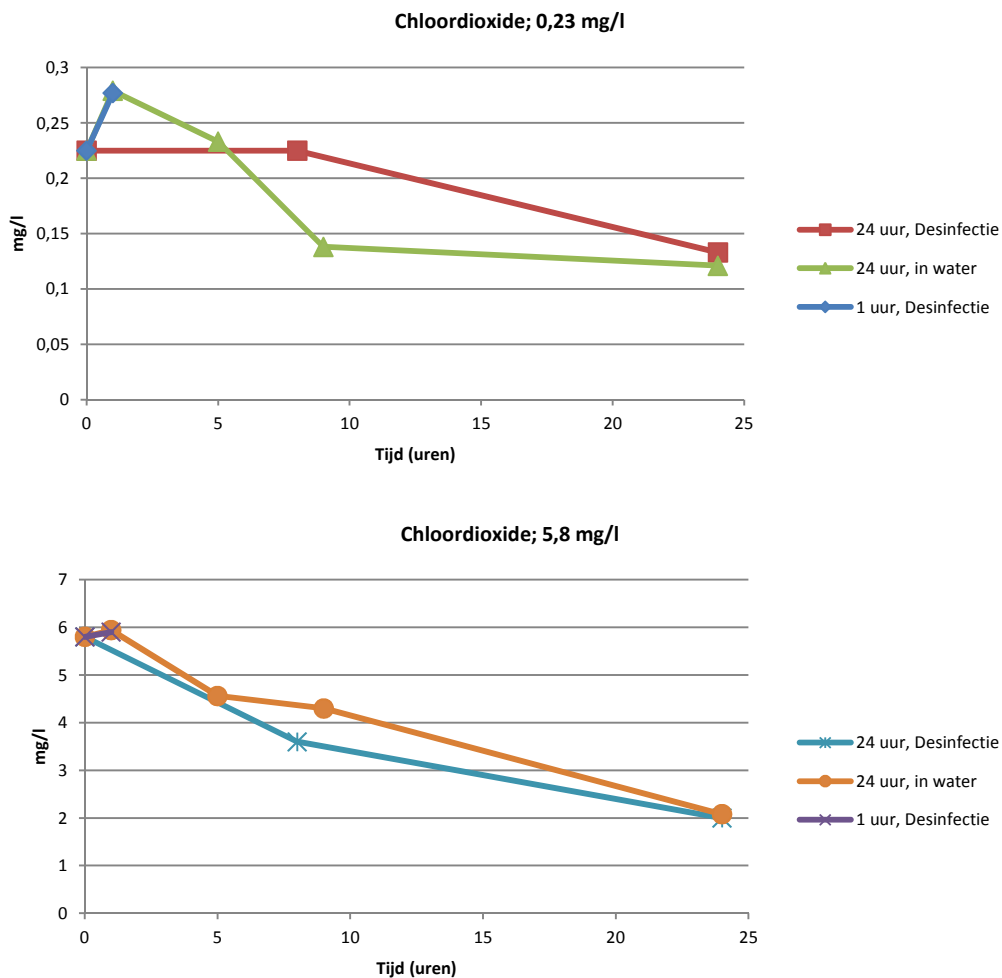
De chloordioxideoplossing in reinwater vervalt ook zeer snel. In de korte tijd (5-10 minuten) tussen het maken van de chloordioxideoplossing en dosering aan de desinfectiecontainer, is de concentratie gedaald van 1 mg/l tot 0,23 mg/l en van 10 mg/l tot 5,8 mg/l (Figuur 5). Dit betekent een verval van respectievelijk 75% en 42%.

In de desinfectiecontainer, zonder leidingsegment, vervalt in 24 uur 46% en 64% van de startconcentraties chloordioxide van respectievelijk 0,23 mg/l en 5,8 mg/l. Hierbij worden eindconcentraties van 0,12 mg/l en 2,1 mg/l bereikt. Het verval na 9 uur is respectievelijk 39% en 26%. Het chloordioxideverval bij 0,23 mg/l is langzamer vergeleken met het verval van chloor bij de lage 3,9 mg/l concentratie, maar sneller vergeleken met de hogere chloorconcentratie van 16 mg/l.

De aanwezigheid van een leidingsegment met biofilm tijdens de desinfectieprocedures heeft geen invloed op de eindconcentratie van de chloordioxideoplossing. In 24 uur vervalt 46% en 64% van de chloordioxide bij startconcentraties van 0,23 mg/l en 5,8 mg/l. Na 9 uur is er nog geen verval opgetreden bij een startconcentratie van 0,23 mg/l, bij een startconcentratie van 5,8 mg/l vervalt in de eerste 9 uur 38%. Het verval van de 0,23 mg/l chloordioxideoplossing gaat langzamer in aanwezigheid van een leidingsegment, terwijl het

verval van de 5,8 mg/l oplossing juist iets is versneld. De reden voor het snellere verval in de afwezigheid van een leidingsegment is niet duidelijk. De eindconcentraties na 24 uur zijn echter wel gelijk.

Het initiële verval van het chloordioxide in het reinwater vraagt om een overdosering zodat voor dit verval gecorrigeerd kan worden. In Tabel 2 worden de desinfectieconcentraties gegeven waar het leidingsegment op t=0 aan is blootgesteld.

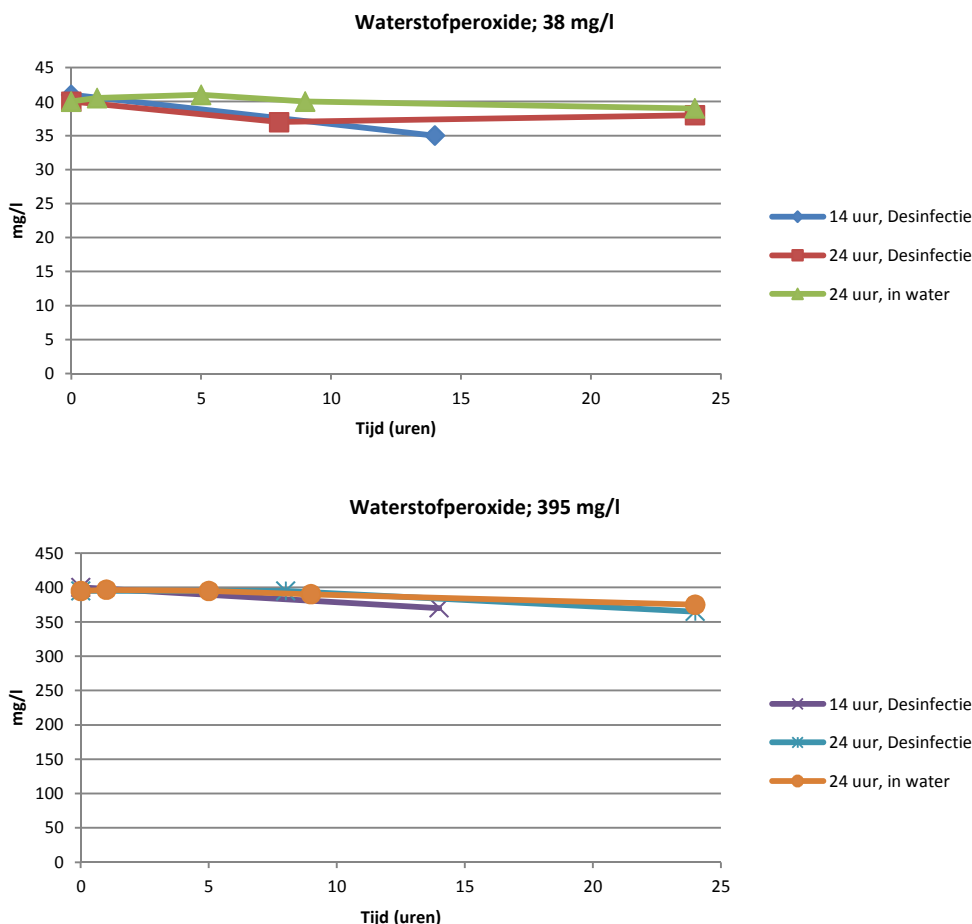


FIGUUR 5. CONCENTRATIE CHLOORDIOXIDE IN DE DESINFECTIECONTAINERS TIJDENS DE DESINFECTIEBEHANDELINGEN.

### 3.1.3 Desinfectie met waterstofperoxide

Waterstofperoxide is een zeer stabiele oplossing die nauwelijks vervalt in de tijd (Figuur 6). In afwezigheid van een leidingsegment vervalt 2,5% bij een startconcentratie van 38 mg/l en 5,0% bij een startconcentratie van 395 mg/l.

Tijdens de desinfectiebehandelingen in aanwezigheid van een leidingsegment, is het verval na 24 uur 2,5% en respectievelijk 7,5%. Bij de 14 uren desinfectie is dit 12,5% en 6,3% bij startconcentraties van 38 mg/l en 395 mg/l.



FIGUUR 6. CONCENTRATIE WATERSTOFPEROXIDE IN DE DESINFECTIECONTAINERS TIJDENS DE DESINFECTIEBEHANDELINGEN.

De chloor- en chloordioxideoplossingen vervallen snel na dosering aan het reinwater, terwijl waterstofperoxide minder snel vervalt. Hierdoor zijn voor de desinfectiebehandelingen andere startconcentraties gebruikt. Deze verschillen staan weergegeven in Tabel 2.

TABEL 2. GEWENSTE EN WERKELIJKE CONCENTRATIES VAN DE BIOCIDEBEHANDELINGEN

Natriumhypochloriet		Chloordioxide		Waterstofperoxide	
Gewenst	Werkelijk	Gewenst	Werkelijk	Gewenst	Werkelijk
5 mg/l	3,9 mg/l	1 mg/l	0,23 mg/l	40 mg/l	38 mg/l
20 mg/l	16 mg/l	10 mg/l	5,8 mg/l	400 mg/l	395 mg/l

### 3.2 Biofilmconcentratie op de buiswand

De biofilmconcentratie op de buiswand kan variëren. Omdat de buiswand rondom gewabt is, is de variatie tussen de bovenkant en onderkant van de buiswand uitgemiddeld. Echter, er moet wel rekening gehouden worden met variatie die samenhangt met de afstand tussen twee leidingsegmenten en eventuele verschillen in de biofilm. Dit is opgelost door een groter leidingoppervlakte (252 cm<sup>2</sup>) te behandelen. In dit onderzoek is er slechts één leidingsegment per conditie getest, dit bemoeilijkt het om betrouwbare, nauwkeurige conclusies te trekken over de mate van verwijdering. Het gaat hier daarom om een eerste indruk van het effect van de biociden op natuurlijke biofilms.

Uit de microbiologische en chemische analyses blijkt dat de biofilm van het uitgenomen leidingstuk niet sterk vervuild is. De microbiologische parameters ATP en KG25 vertonen veel variatie (Tabel 3). De biofilmconcentratie varieerde tussen 38 en 200 pg ATP/cm<sup>2</sup>, met een gemiddelde van 132,3 ± 81,2 pg ATP/cm<sup>2</sup>. Het koloniegetal bij 25°C varieerde tussen 120 en 11000 kve/cm<sup>2</sup>, met een gemiddelde van 3330 ± 5134 kve/cm<sup>2</sup>.

De hoeveelheid biofilm komt overeen met andere biofilms gevormd op PVC-U buizen 0,9 - 286 pg ATP/cm<sup>2</sup> (Bereschenko 2013), 22,5 - 69,7 ng ATP/cm<sup>2</sup> (van der Wielen 2013) en 90 - 160 pg ATP/cm<sup>2</sup> en 1,2-3,2 x 10<sup>5</sup> kve/cm<sup>2</sup> totaal aanwezige telbare bacteriën (Liu et al, 2014). De ATP-concentraties van de biofilm die zijn waargenomen in de biofilm op PVC-U in deze studie duiden dus op de aanwezigheid van een representatieve biofilm in het distributiesysteem. Er zijn echter ook locaties in andere distributiesystemen aangetroffen waar hogere ATP-concentraties (tot 1240 pg/cm<sup>2</sup> ATP) in de biofilm zijn waargenomen (Hijnen, niet gepubliceerde gegevens), maar op die locaties werd drinkwater bereid uit oppervlaktewater gedistribueerd.

TABEL 3. MICROBIOLOGISCHE EN CHEMISCHE WAARDE VAN DE ONBEHANDELDE BIOFILM

	ATP		KG25	Fe	Mn	TOC	CH
	(pg ATP/cm <sup>2</sup> )	(SD)	(kve/cm <sup>2</sup> )	(µg/cm <sup>2</sup> )	(µg/cm <sup>2</sup> )	(µg/cm <sup>2</sup> )	(µg/cm <sup>2</sup> )
Blanco, 1 uur	91	6,3	120	0,21	0,023	10	3,1
Blanco, 14 uur	200	5,9	1100	0,33	0,032	8,8	2,4
Blanco, 24 uur	38	2	11000	0,47	0,05	11	2,8
Blanco, 24 uur (2)	200	2	1100	0,37	0,043	9,5	2,4
Blanco, gemiddeld	132,3		3330	0,345	0,037	9,825	2,675
Blanco, gemiddeld (SD)	81,2		5134	0,108	0,012	0,925	0,340

### 3.3 Biofilmafdoeding en verwijdering

#### 3.3.1 Biofilm geanalyseerde leidingsegmenten

In Tabel 4 zijn per biocidebehandeling de resultaten weergegeven voor de verschillende geanalyseerde parameters. Voor elke contacttijd is een leidingsegment gedurende dezelfde tijd in contact gebracht met reinwater met biociden. Tevens is voor elke contacttijd een leidingsegment in contact gebracht met alleen reinwater. De resultaten van de behandelde leidingsegmenten worden hiermee vergeleken.

TABEL 4. MICROBIOLOGISCHE EN CHEMISCHE RESULTATEN VAN DE BIOFILM PER BIOCIDEBEHANDELING

	ATP		KG25 (kve/cm <sup>2</sup> )	Fe (µg/cm <sup>2</sup> )	Mn (µg/cm <sup>2</sup> )	TOC (µg/cm <sup>2</sup> )	CH (µg/cm <sup>2</sup> )
	(pg ATP/cm <sup>2</sup> )	(SD)					
Cl, 3,9 mg/l, 14 uur T=14	2,3	0,2	130	0,4	0,06	9,2	2,6
Cl, 16 mg/l, 14 uur T=14	<1	0,05	<2.1	0,43	0,056	9	3,2
Cl, 3,9 mg/l, 24 uur T=24	<1	-	2,6	0,55	0,061	11	3,1
Cl, 16 mg/l, 24 uur T=24	1,1	0,2	<2.3	0,54	0,07	11	2,5
ClO <sub>2</sub> , 0,23 mg/l, 1 uur T=1	210	4,4	52	0,26	0,028	12	2,8
ClO <sub>2</sub> , 5,8 mg/l, 1 uur T=1	190	2,7	970	0,34	0,036	9	2
ClO <sub>2</sub> , 0,23 mg/l, 24 uur T=24	5,1	0,2	29	0,23	0,031	9,2	4,2
ClO <sub>2</sub> , 5,8 mg/l, 24 uur T=24	<1	0,1	4,5	0,29	0,033	9,2	2,4
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 38 mg/l, 14 uur T=14	18	0,5	<26	0,38	0,051	12	2,6
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 395 mg/l, 14 uur T=14	13	0,8	<23	0,36	0,046	9,2	2,1
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 38 mg/l, 24 uur T=24	10	0,05	<23	0,32	0,04	12	2,3
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 395 mg/l, 24 uur T=24	6,7	0,2	24	0,44	0,006	11	2
Blanco, 1 uur	91	6,3	120	0,21	0,023	10	3,1
Blanco, 14 uur	200	5,9	1100	0,33	0,032	8,8	2,4
Blanco, 24 uur	38	2	11000	0,47	0,05	11	2,8
Blanco, 24 uur (2)	200	2	1100	0,37	0,043	9,5	2,4
Blanco, gemiddeld	132,3		3330	0,345	0,037	0,010	0,003
Blanco, gemiddeld (SD)	81,2		5134	0,108	0,012	0,001	0,000

### 3.3.2 Afdoding van de biofilm: ATP en KG25

Van elk biofilmmonster is het ATP gehalte bepaald als mate van de aanwezige actieve biomassa, het KG25 geeft het aantal in de biofilm aanwezige kweekbare heterotrofe bacteriën op een voedselarm agarmedium weer (Tabel 4). Een biocide is primair bedoeld om de biofilm af te doden. Bij desinfectie wordt het effect uitgedrukt in log verwijdering omdat het effect meestal groot is en daarmee de gegevens lognormaal verdeeld. De mate van afdoding van de biofilm is geen voorspellende factor voor verwijdering van de biofilm.

De logverwijdering ( $\log[\text{ATP}]_{\text{voor}} - \log[\text{ATP}]_{\text{na}}$ ) is op twee manieren berekend: (i) door het behandelde leidingsegment te vergelijken met het gemiddelde van de vier onbehandelde biofilmmonsters (logverwijdering; Tabel 5) en (ii) door het met desinfectiemiddel behandelde leidingsegment te vergelijken met het onbehandelde leidingsegment dat dezelfde periode in reinwater is geïncubeerd (Tabel 6).

TABEL 5. BIOFILMAFDODING (IN LOG VERWIJDERING) EN BIOFILMVERWIJDERING (IN PROCENTUELE VERWIJDERING) PER BIOCIDEBEHANDELING GEBASEERD OP VERGELIJKING MET DE GEMIDDELDE WAARDEN VAN DE VIER REFERENTIES

	Logverwijdering		Procentuele verwijdering (%)			
	ATP	KG25	Fe	Mn	TOC	CH
Cl, 3,9 mg, 14 uur T=14	1,76	1,41	-15,94	-62,16	6,36	2,80
Cl, 16 mg, 14 uur T=14	>2,12	>3,20	-24,64	-51,35	8,40	-19,63
Cl, 3,9 mg, 24 uur T=24	>2,12	3,11	-59,42	-64,86	-11,96	-15,89
Cl, 16 mg, 24 uur T=24	2,08	>3,16	-56,52	-89,19	-11,96	6,54
ClO <sub>2</sub> , 0,23 mg, 1 uur T=1	-0,20	1,81	24,64	24,32	-22,14	-4,67
ClO <sub>2</sub> , 5,8 mg, 1 uur T=1	-0,16	0,54	1,45	2,70	8,40	25,23
ClO <sub>2</sub> , 0,23 mg, 24 uur T=24	1,41	2,06	33,33	16,22	6,36	-57,01
ClO <sub>2</sub> , 5,8 mg, 24 uur T=24	>2,12	2,87	15,94	10,81	6,36	10,28
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 38 mg, 14 uur T=14	0,87	>2,11	-10,14	-37,84	-22,14	2,80
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 395 mg, 14 uur T=14	1,01	>2,16	-4,35	-24,32	6,36	21,50
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 38 mg, 24 uur T=24	1,12	>2,16	7,25	-8,11	-22,14	14,02
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 395 mg, 24 uur T=24	1,30	2,14	-27,54	-51,35	-11,96	25,23

TABEL 6. BIOFILMAFDODING (IN LOG VERWIJDERING) EN BIOFILMVERWIJDERING (IN PROCENTUELE VERWIJDERING) PER BIOCIDEBEHANDELING GEBASEERD OP DE VERGELIJKING MET DE TEST-REFERENTIES

	Logverwijdering		Procentuele verwijdering (%)			
	ATP	KG25	Fe	Mn	TOC	CH
Cl, 3,9 mg, 14 uur T=14	1,9	0,9	-21,2	-39,5	3,2	-8,3
Cl, 16 mg, 14 uur T=14	>2,3	>2,7	-30,3	-30,2	5,3	-33,3
Cl, 3,9 mg, 24 uur T=24	2,3	2,6	-48,6	-41,9	-15,8	-29,2
Cl, 16 mg, 24 uur T=24	>2,3	>2,7	-45,9	-62,8	-15,8	-4,2
ClO <sub>2</sub> , 0,23 mg, 1 uur T=1	0,0	0,4	-23,8	-21,7	-20,0	9,7
ClO <sub>2</sub> , 5,8 mg, 1 uur T=1	0,0	-0,9	-61,9	-56,5	10,0	35,5
ClO <sub>2</sub> , 0,23 mg, 24 uur T=24	0,9	2,6	51,1	38,0	16,4	-50,0
ClO <sub>2</sub> , 5,8 mg, 24 uur T=24	1,6	3,4	38,3	34,0	16,4	14,3
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 38 mg, 14 uur T=14	1,0	>1,6	-15,2	-59,4	-36,4	-8,3
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 395 mg, 14 uur T=14	1,2	>1,6	-9,1	-43,8	-4,5	12,5
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 38 mg, 24 uur T=24	>0,6	>2,7	31,9	20,0	-9,1	17,9
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 395 mg, 24 uur T=24	0,8	2,7	6,4	-12,0	0,0	28,6

Blootstelling aan chloor geeft een relatief hoge verwijdering van zowel de ATP-concentratie als KG25. Dit effect is het sterkste voor 3,9 en 16 mg/l gedurende 24 uur en voor 16 mg/l gedurende 14 uur incubatie (Tabel 5, Tabel 6). Incubatie met chloordioxide gedurende 1 uur heeft geen effect op de ATP-concentratie, KG25 wordt wel verlaagd in die periode. Na 24 uur incubatie wordt een relatief hoge logverwijdering waargenomen voor KG25 met 0,23 mg/l en 5,8 mg/l chloordioxide (Tabel 5, Tabel 6). De hoogste concentratie (5,8 mg/l chloordioxide) geeft hierbij ook een hoge logverwijdering van ATP (Tabel 5, Tabel 6). Voor de waterstofperoxidebehandelingen lijkt de gebruikte concentratie minder van belang dan de



incubatietijd voor de logverwijdering van ATP en KG25. Een incubatietijd van 24 uur geeft bij beide concentraties een iets hogere logverwijdering van ATP en KG25 dan met een kortere incubatietijd van 14 uur (Tabel 5, Tabel 6). Waterstofperoxide heeft hierbij een groter effect op KG25 dan op ATP.

Deze gegevens laten zien dat 5,8 mg/l chloordioxide, 3,9 mg/l chloor en 16 mg/l chloor gedurende 24 uur en 16 mg/l chloor gedurende 14 uur de beste reductie van ATP (als maat voor actieve biomassa) en KG25 (als maat voor kweekbare heterotrofe micro-organismen) in de biofilm geven.

### **3.3.3 Verwijdering van de biofilm: TOC, koolhydraten, ijzer en mangaan**

In aanvulling op ATP en KG25, is ook de verwijdering van TOC, koolhydraten, ijzer en mangaan van de biofilm geanalyseerd na behandeling met de verschillende desinfectiemiddelen. Hierbij is de relatieve, procentuele verwijdering bepaald ten opzicht van een beginconcentratie. De resultaten van deze analyses kunnen worden gebruikt om te achterhalen of de biocides, naast het afdoden van micro-organismen in de biofilm, ook de biofilmmatrix verwijderen en/of afbreken.

De variatie tussen de blanco leidingsegmenten is voor de chemische analyses minder groot dan voor de microbiologische analyses (Tabel 4 Tabel 4). Uit de berekende verwijderingspercentages blijkt echter dat veel biocidebehandelingen leiden tot een negatieve verwijdering (in andere woorden de concentraties van TOC, koolhydraten, ijzer en mangaan nemen toe, Tabel 5 en 6). Dit wordt waarschijnlijk veroorzaakt doordat het verschil in TOC, koolhydraten, ijzer en mangaan voor en na behandeling dusdanig klein is, dat de toegepaste methoden te ongevoelig zijn om dit verschil betrouwbaar te kunnen meten. Deze resultaten laten zien dat de biocidebehandelingen weinig tot geen TOC, koolhydraten, ijzer en mangaan verwijderen onder deze statische condities met een leidingsegment met een normale biofilm. De bestanddelen van de biofilm worden niet afgebroken door de oxidatieve werking van de biociden.

## 4 Discussie

In dit onderzoek is het effect van verschillende biociden op de verwijdering van de biofilm in een PVC-U leiding getest. Hiervoor zijn chloor, chloordioxide en waterstofperoxide in verschillende concentraties en voor verschillende behandelingstijden getest op leidingsegmenten uit het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum.

Chloor en chloordioxide vervallen snel in het reinwater van productiebedrijf Noordbergum, wat te verwachten is door de relatief hoge TOC concentratie van het water. Dit snelle verval zal ook plaatsvinden in het distributiesysteem. Het is lastig hiervoor te compenseren, aangezien bij een hogere dosering de huishoudens van het water afgesloten moeten worden. De biocidebehandeling kan in de praktijk direct van invloed zijn op de kwaliteit van het drinkwater voor de consument en leiden tot geur- en/of smaakklachten. Hierdoor valt te overwegen of het mogelijk en wenselijk is om deze desinfectiemiddelen te gebruiken om de biofilm te verwijderen. Waterstofperoxide heeft deze problemen van snel verval en geur- en smaakklachten niet, maar is minder effectief.

De effectiviteit van de biociden op afdoding en verwijdering van de biofilm is geanalyseerd aan de hand van ATP, KG25, TOC, koolhydraten, ijzer en mangaan in de biofilm. Uit de ATP en KG25 resultaten van onbehandelde leidingsegmenten blijkt dat het uitgenomen leidingstuk representatief is voor distributiesystemen waarin relatief veel PVC-U leidingen worden. De resultaten van de desinfecties geven dus een beeld van de effectiviteit van deze biociden met representatieve biofilmconcentraties op PVC-U materiaal.

De geteste biociden doden, onder de hier geteste statische condities, in meer of mindere mate de micro-organismen in de biofilm af: 0 tot >2,3 log ATP verwijdering en 0,54 tot >3,2 log KG25 verwijdering. De waardes zoals die in de literatuur en in eerdere onderzoeken zijn gevonden liggen in dezelfde orde van grootte als hier is gevonden. Zo verwijdt een incubatie van 1 uur met 5000 mg/l (0,5%) chloor 2 log van het ATP-gehalte van een op PVC-P gegroeide artificiële biofilm (Hijnen *et al.*, 2011). Desinfectie van biofilms gevormd op roestvrij staal met 15 mg/l chloor gedurende 90 minuten verwijdt 2,5 log ATP (Chen and Stewart, 2000). 1 mg/l chloor reduceert binnen 40 minuten > 3 log eenheden ATP en > 6 log eenheden KG25 (Verhamme, 2005). Van dezelfde biofilm wordt na een incubatie van 30 minuten met 0,6 - 0,8 mg/l chloordioxide 6 log KG25 verwijderd, 135 minuten incubatie met 0,35 mg/l chloor verwijdt ongeveer 4 log KG25 (Verhamme, 2005).

Uit dit onderzoek blijkt dat chloor- en chloordioxidesinfectie gedurende 24 uur de beste desinfectiemiddelen zijn om de micro-organismen van de biofilm af te doden. Desinfectie met waterstofperoxide is ongeveer 1 log minder effectief, maar heeft wel als voordeel dat er geen neveneffecten zijn op de geur en smaak van het drinkwater. Door de waargenomen variatie en de ongevoeligheid van de chemische analysemethoden is het niet mogelijk om conclusies te trekken over de effectiviteit van deze middelen in het verwijderen van (in)organisch materiaal. Geen van de desinfectiemethoden laat een duidelijke verwijdering van de biofilmmatrix zien en de waargenomen verwijdering valt binnen de spreiding van de gegevens.

De mate van biofilmverwijdering, onder de hier geteste condities, is lager vergeleken met eerdere onderzoeken. Eén mogelijke verklaring hiervoor is dat in deze onderzoeken

specifieke fracties van organisch stof (koolhydraten en eiwitten) zijn bepaald, terwijl in de huidige studie de parameter TOC (waar koolhydraten en eiwitten een onderdeel van zijn) is bepaald. Een chloorincubatie van 1 uur met 5000 mg/l (0,5%) verwijdert 70% van het koolhydraatgehalte van een op PVC-P gegroeide artificiële biofilm (Hijnen *et al.*, 2011). Een eerder onderzoek geeft een verwijdering van 99% van het koolhydraatgehalte bij incubatie met 0,5% chloor voor 1 uur (West *et al.*, 2014). Desinfectie van biofilms gevormd op roestvrij staal met 15 mg/l chloor gedurende 90 minuten verwijdert 65% van de eiwitten in de biofilm (Chen and Stewart, 2000).

Op basis van de resultaten in dit onderzoek zullen de geteste biocides niet succesvol kunnen worden ingezet om de biofilm in het distributiesysteem te verwijderen. De biociden doden wel de micro-organismen van de biofilm af, maar de biofilmmatrix zelf wordt niet of nauwelijks verwijderd. Na het stoppen van de desinfectiebehandeling zullen de afgedode micro-organismen waarschijnlijk als substraat dienen waardoor er tijdelijk een rijk voedselaanbod is en micro-organismen kunnen gaan groeien. In plaats van het nagroeiprobleem mogelijk op te lossen, zou het gebruik van deze biociden daardoor juist kunnen leiden tot (extra) nagroeiproblemen. Het kan hierbij gaan om een nieuwe populatie micro-organismen waarvan de gevolgen niet bekend zijn, maar wat mogelijk wel tot risico's zou kunnen leiden. Of dit ook daadwerkelijk gebeurt, zou verder onderzocht moeten worden in aanvullend onderzoek. Dit kan, zoals in het projectplan beschreven, in een dynamische opstelling met uitneembare PVC-U leidingsegmenten die continu worden doorstroomt in een biofilmopstelling en periodiek behandeld kan worden met biociden. Door op verschillende momenten de leidingsegmenten uit te nemen, kan zowel de afdodende als ook verwijderende werking op de biofilm via behandelingen worden bepaald. Bij onderzoek naar natuurlijke biofilms is van tevoren niet bekend of een leidingstuk met voldoende biofilm beschikbaar komt. Het zou daarom beter zijn als meerdere leidingsegmenten, van verschillende materialen, worden uitgenomen zodat een betrouwbaarder gemiddelde wordt verkregen.

Onduidelijk is welk effect de biocidebehandelingen hebben op de biofilm die aanwezig is in sediment. Dit effect zou kunnen worden onderzocht door met dit sediment, bemonsterd met spuiacties, experimenten uit te voeren. Naast de biofilm als mogelijke bron voor nagroeiproblemen, zijn er ook andere mogelijke oorzaken. Zo identificeert Vitens 'hotspots' van nagroei, een sterk vervuild leidingdeel dat stroomopwaarts ligt en dient als een continue vervuilingbron voor het achterliggende distributiesysteem. Een andere mogelijkheid is dat de problemen veroorzaakt worden door de aanwezigheid van sediment en de daaraan gehechte micro-organismen, andere verontreinigingen en voedingsstoffen. Als sediment inderdaad de grootste vervuilingbron is, zou vervolgonderzoek zich moeten richten op verwijdering van het sediment en het voorkómen dat sediment zich weer ophoopt.

## 5 Conclusies en Aanbevelingen

### 5.1 Conclusies

Door het hoge TOC-gehalte van het reinwater van productiebedrijf Noordbergum wordt het toepassen van oxidatieve biociden als chloor en chloordioxide belemmerd door een snel verval in het water. Dit maakt het lastig om gerichte dosering toe te passen en is er een hoger risico voor over- of onderdosering en consumentenklachten (geur en smaak). Hierdoor is het gebruik van deze desinfectiemiddelen om de biofilm te verwijderen in het betreffende distributiesysteem mogelijk minder wenselijk.

De biocides doden in meer of mindere mate de micro-organismen in de biofilm af, waarbij chloor en chloordioxide het meest effectief zijn. Er vindt echter nauwelijks tot geen verwijdering van de biofilmmatrix plaats. Op basis van deze resultaten, verkregen in deze studie met een statische laboratoriumtest, wordt geconcludeerd dat de geteste concentraties en contacttijden van de biocides chloor, chloordioxide en waterstofperoxide niet geschikt zijn om de algemeen voorkomende biofilm te verwijderen van PVC-U leidingmateriaal in het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum.

### 5.2 Aanbevelingen

Aangezien de micro-organismen in de biofilm op een PVC-U leiding uit het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum wel worden afgedood, maar de algemeen voorkomende biofilmmatrix niet wordt verwijderd, lijkt het weinig zinvol om deze desinfectiemethoden (concentraties en contacttijden) toe te passen in het distributiesysteem met PVC-U leidingen.

Vervolgonderzoek zou zich kunnen richten op het karakteriseren en in kaart brengen van de 'hotspot'-gebieden ten aanzien van nagroei in het distributiesysteem van productiebedrijf Noordbergum. Het gaat daarbij om de locatie van de hotspots, het leidingmateriaal dat op dergelijke locaties aanwezig is, de lokale hydraulica en de concentratie sediment. Na deze karakterisatie is het van belang om vast te stellen of nagroei op dergelijke 'hotspots' wordt veroorzaakt door biofilm en/of sediment. Met de resultaten van een dergelijke inventarisatie kan vervolgens gericht onderzoek worden gedaan naar beheersmaatregelen die mogelijk wel effectief zijn in het oplossen en voorkómen van nagroei problemen in het distributiesysteem.

Een optie voor vervolgonderzoek naar het effect van biociden is het uitvoeren van een dynamische desinfectie op uitgenomen leidingsegmenten in een biofilmmonitor, zoals staat beschreven in het initiële projectplan. Door de desinfectie dynamisch uit te voeren, is de behandeling mogelijk effectiever en kan ook het risico van herkolonisatie van de buiswand/biofilm door micro-organismen na stopzetting van de desinfectie worden gemonitord in de tijd.

Om de rol van sediment als mogelijke vervuiliingsbron duidelijk te krijgen, zou na een spuiactie zowel het spuiwater, het sediment als de leiding gedesinfecteerd kunnen worden. Hierbij wordt dan zichtbaar welke fractie het sterkst vervuild is en dus mogelijk de grootste vervuiliingsbron is.

## 6 Referenties

Bereschenko, L. A. (2013). Effect van leeftijd op de groeibevorderende eigenschappen van PVC-U en PE in contact met drinkwater. Nieuwegein, KWR. BTO 2013.037.

Bakker, G. (2014). Verwijderen van biofilm met behulp van biociden – projectplan, versie 2. 7 mei 2014.

Chen, X. and P.S. Stewart (2000). Biofilm removal caused by chemical treatments. Water Research 34(17): 4229-4233.

Dubois, M, K.A. Gilles *et al.* (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry 28: 350-356.

Hijnen, W., C. Castillo, *et al.* (2011). Assessment of the biofilm removal efficiency of cleaning agents and procedures for RO/NF membranes. Nieuwegein, KWR. BTO 2011.056.

Hijnen, W., S. Lahondes, *et al.* (2010). Ontwikkeling van een laboratoriumtest ter bepaling van de effectiviteit van reinigingsmiddelen en procedures om biofilms te verwijderen. Nieuwegein, KWR. BTO 2010.047.

Hijnen, W. A. M., C. Castillo, *et al.* (2012). "Quantitative assessment of the efficacy of spiral-wound membrane cleaning procedures to remove biofilms." Water Research 46(19): 6369-6381.

Knezev, A, D. van der Kooij (2004). Optimisation and significance of ATP analysis for measuring active biomass in granular activated carbon filters used in water treatment. Water Research 38(18):3971-3979.

Liu, G., G.L. Bakker, *et al.* (2014). Pyrosequencing reveals bacterial communities in unchlorinated drinking water distribution system: an integral study of bulk water, suspended solids, loose deposits, and pipe wall biofilm. Environmental Science & Technology. 48: 5467-5476.

van der Wielen, P. (2013). Micro-organismen in sedimentfracties en op de buiswand in het voorzieningsgebied van Kamerik. Nieuwegein, KWR. KWR 2013.019.

Verhamme, D.T. (2005). Effect van chloor, chloordioxide en monochlooramine op biofilms met *Legionella* bij continue doorstroming. Nieuwegein, KWR. BTO 2005.029.

West, S, H. Horn, W.A.M. Hijnen, C. Castillo, M. Wagner (2014). Confocal laser scanning microscopy as a tool to validate the efficiency of membrane cleaning procedures to remove biofilms. Separation and Purification Technology, 122: 402-411.

# Bijlage I

Kaart van het distributiegebied bij Hantum

