
—

Undersökning av
biofilmstillväxten i snabb-
filtrat och långsamfiltrat
Etapp 1: Kallt vatten

—

Undersökning av biofilmstillväxten i snabbfiltrat och långsamfiltrat

Etapp 1: Kallt vatten

Johanna Blomberg, Stockholm Vatten AB
Barbara Lagerqvist, Stockholm Vatten AB

Rapport Nr 22, juni 1999

Innehållsförteckning

1. Inledning	3
2. Bakgrund	4
2.1 Biofilmsmetoden.....	4
2.2 Förstudie	4
2.3 Syfte.....	5
3. Material och metoder	6
3.1 Biofilmsmonitorn	6
3.1.1 Installation.....	6
3.2 Analyser	7
3.2.1 Analyschema	7
ATP-analysen.....	7
Reagenser.....	8
Biocounter	8
4. Resultat.....	9
4.1 Vattenkvalitet.....	9
4.2 Biofilm	10
4.3 Korrelationer mellan ATP och HPC	12
4.4 Kontrollparametrar för ATP-analysen.....	13
4.4.1 Sammanställning.....	13
4.4.2 Provblank	13
4.4.3 Kontroll av instrument och metod	14
4.4.4 Kalibrerkurvor	15
5. Diskussion av resultat	16
6. Slutsatser från Etapp 1: kall period.....	18
7. Referenser	19

Bilagor

- A: Skiss över installation av biofilmsmonitoren för snabbfiltrat
- B: Skiss över installation av biofilmsmonitoren för långsamfiltrat
- C: Vattenanalysdata

1. Inledning

Under distribution från vattenverket till konsumenten transporteras dricksvattnet genom ledningsnät med långa ledningar av olika material, skick och ålder. Från det att dricksvattnet lämnar vattenverket kan vattenkvaliteten förändras under transporten. Ursprunget och omfattningen av denna förändring beror på vattnets egen sammansättning, interaktionen med ledningarnas inneryta samt extern påverkan (exempelvis kontamination i samband med ledningsarbeten). Den mikrobiologiska kvaliteten hos dricksvattnet kan spela en betydelsefull roll för dessa förändringar. Därför brukar man ofta tala om vikten av att uppnå det *mikrobiologiskt stabila* dricksvattnet, förkortat det *biostabila* vattnet. Min tolkning på biostabilitet är att dricksvattnet är färdigbehandlat och balanserat när det lämnar vattenverket så att kvaliteten inte orsakar mikrobiologisk tillväxt i nätet. I litteraturen har man fokuserat mycket på organiskt kol som tillväxtbegränsande ämne vilket har lett till mått som assimilerbart organisk kol (AOC) (Van der Kooij & Hijnen, 1984, Kaplan et al., 1993, LeChevalier et al., 1993) och biologiskt nedbrytbart löst organisk kol (BDOC) (Servais et al., 1987, Joret & Levi, 1986). Det finns dock studier som visar att fosfor är tillväxtbegränsande och inte kol (Miettinen, et al., 1997, Sathasivan & Ohgaki, 1999). Vidare kan även ammonium och metan gynna mikrobiell tillväxt, vilket inte inkluderas i AOC och BDOC testen. Egentligen är det flera faktorer, i kombination med varandra, som påverkar biostabiliteten och därför kan det vara missvisande att endast studera en parameter.

Bakterier och mikroorganismer (inklusive patogener) föredrar att leva och föröka sig på fasta ytor, i biofilmen, jämfört med bulkvattnet. Biofilmen är en mycket komplex och geléartad maasa (matrix) bildad av mikroorganismerna som lever i den (De Rosa et al., 1998). Om det inte finns tillräckligt med näringsämnen, ex kol, fosfor, kväve, spårmetaller etc, i omgivningen så dämpas biofilmstillväxten. I litteraturen går att finna många olika biofilmsmetoder bl a:

- Biofilm Formation Rate (BFR) och Biofilm Formation Potential (BFP) (Van der Kooij & Veenendaal, 1992)
- Fluorescein Diacetate (FDA) (De Rosa et al., 1998)
- Bacterial Regrowth Potential (BRP) (Sathasivan, et al., 1997)
- Robbins Device och andra anordningar där biofilm kan växa till
- Attached Growth Rate Estimate (AGRE) (Hermanowicz, et al., 1991)

2. Bakgrund

2.1 Biofilmsmetoden

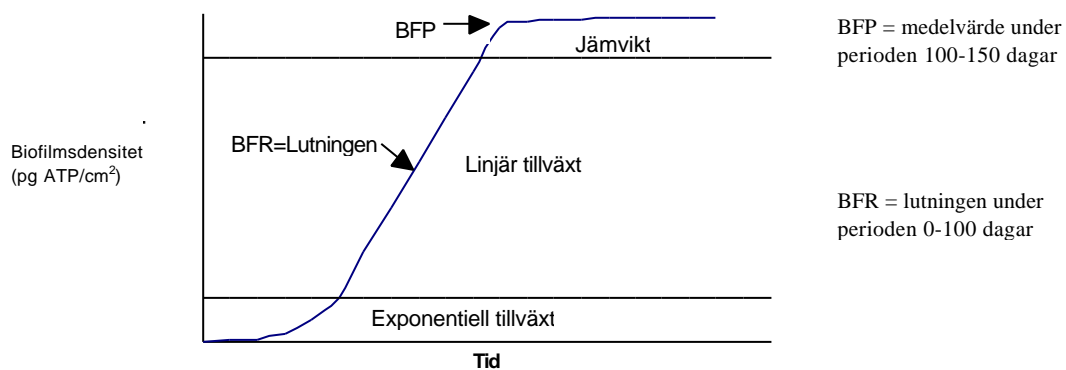
Metoden som används i denna undersökning är framtagen av Van der Kooij & Veenendaal (1992) och bygger på att mäta tillväxten av biofilm på glasingar som exponeras för strömmande vatten. Genom att mäta ATP-innehållet i biofilmen regelbundet under en längre tid (ca 150 dagar) kan vattnets biofilmbildningspotential (Biofilm Formation Potential=BFP) och biofilmbildningshastighet (Biofilm Potential Rate=BFR) beräknas. I Figur 1 visas hur tillväxtförloppet ser ut teoretiskt samt hur BFP och BFR definieras. Enligt Kiwa är ett vatten biostabilt om $AOC < 10 \mu\text{g/l}$ och $BFR < 5 \text{ pg/cm}^2 \times \text{dag}$ (muntlig ref., Vrouwenvelder, 1998). Ett biostabilt vatten som lämnar vattenverket är en förutsättning om klordosen ska kunna minskas.

Trots att sett de flesta i VA-branschen är eniga om behovet att kunna mäta och bedöma vattnets *biostabilitet* så är utbudet ganska begränsat, åtminstone när det gäller standardiserade och i praktiken fungerande metoder och analyser. Fördelarna med biofilmsmonitorn är

- enkel konstruktion och praktiskt användbar
- fastställda rutiner och förfarande för såväl metoden som ATP-analysen
- erfarenhet och resultat från många vattenverk (Holland, England, Tyskland)
- jämförbara mått: BFP (pg ATP/cm^2) och BFR ($\text{pg ATP/cm}^2 \times \text{d}$)

2.2 Förstudie

Två Biofilmmonitorer, utvecklade av Kiwa och Lumac i Holland, har varit i Stockholm Vattens ägo under ett antal år. En utvärdering av dessa påbörjades under 1994 men av olika skäl rann användningen av monitorerna ut i sanden. Under sommaren 1998 återupptogs arbetet och det genomfördes en utvärdering och framtagning av rutiner för biofilmsmätning med Kiwa/Lumacs biomonitor och Lumac biocounter (som mäter ATP). Till hjälp anlätades Hans Vrouwenvelder från Kiwa Research & Consultancy i Holland som tillämpar metoden sedan länge. Den intresserade hänvisas till rapporten "En metod för mätning av biofilmstillväxtpotential i dricksvatten - utvärdering och instruktioner" (Enskog & Blomberg, 1998).



Figur 1. Teoretiskt utseende på en biofilmstillväxtkurva samt hur biofilmbildningspotentialen, BFP, respektive biofilmbildningshastigheten, BFR, definieras enligt upphovsmännen Van der Kooij & Veenendaal (1992).

2.3 Syfte

Syftet med denna studie är att mäta biofilmstillväxten och dess hastighet i vårt vatten enligt Van der Kooij & Veenendaals biofilmsmetod (1992). Genom att jämföra med andra vattenverk kan vi få ett värde på vår vattenkvalitet, utöver traditionella vattenkvalitetsparametrar. Om metoden fungerar och verkar tillförlitlig skulle den kunna utgöra en viktig parameter i arbetet med att uppnå det biostabila vattnet.

Studien är uppdelad i två etapper. Etapp 1 representerar vattnets kalla period (november 1998 - april 1999) och etapp 2 den varma (april 1999 - september/oktober 1999). I denna rapport redovisas resultaten från den första etappen som även fungerade som en inlärningsfas för Barbara Lagerqvist, som utfört analyserna.

3. Material och metoder

3.1 Biofilmsmonitorn

I Figur 2a visas ett fotografi av monitoren. En schematisk skiss av monitoren framgår av figur 2b.



Figur 2a. Fotografi på biofilmsmonitorns framsida.

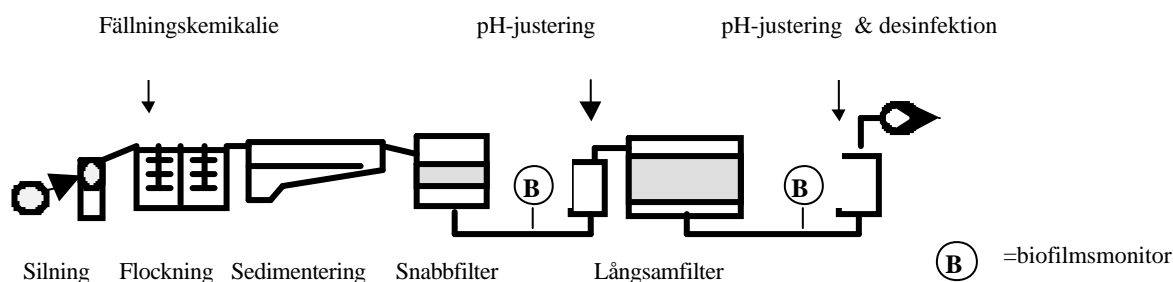
I: inkommande vatten
A: luftventil
C: kolonnhållare
E: ventil för utgående vatten
G: vattenmätare
h: ventil för provtagningskran H
k1-4: flödesventiler

Figur 2b. Schematisk skiss över biofilmsmonitoren.

B: glaskolonner fyllda med glasingar
D: kolonnhållare med luftningsventil
F: flödesmätare
H: provtagningskran
m: ventil för inkommande vatten

3.1.1 Installation

I november 1998 (24/11) startades den första etappen med de två biofilmsmonitoren på Norsborgs vattenverk. Den ena biofilmsmonitoren testades på okalkat snabbfiltrat (SV) och den andra på okalkat långsamfiltrat (LV), placeringen framgår av Figur 3. Båda var placerade på Västra Norsborgsverket. SV stod under det sk truckrummet och LV vid renvattentanken där långsamfiltratet kommer in. Snabbfiltratet togs direkt från ledningen med självfall (skiss över installationen återfinns i bilaga A). Vattenmätaren fick plockas bort för att uppnå rätt flöde på 275 l/h genom monitoren. Långsamfiltratet fick pumpas från en kanal till biofilmsmonitoren (skiss över installationen återfinns i bilaga B).



Figur 3. Placering av biofilmsmonitorerna i reningsprocessen på Västra Norsborgsverket.

3.2 Analyser

3.2.1 Analysschema

Analysschemat framgår av Tabell 1. Över dessa inhämtades uppgifter från labbets ordinarie analyser på temperatur, alkalinitet, pH, turbiditet och aluminium.

Tabell 1. Analysschema för Etapp 1.

Analys	Antal dagar efter försöksstart (1998-11-24)							
	14	28	49	70	91	112	133	154
ATP-biofilm	X	X	X	X	X	X	X	X
HPC-biofilm, 7 d (på R2A-agar)		X		X	X	X		X
ATP-vatten	X			X	X	X	X	
HPC-vatten, 7 d (på R2A-agar)	X				X	X		X
TOC	X				X		X	
PO4-P	X		X		X		X	
NO32-N	X		X		X		X	
AOC-vatten					X		X	

HPC=heterotrofa bakterier (heterotrophic plate count)

ATP-analysen

ATP kan mätas med hjälp av bioluminescens genom att energin i ATP omvandlas till ljus vid 562 nm. I denna metod tillsätts först NRM reagens (Nucleotide Releasing Reagent for Microbial ATP) som frigör ATP ur cellerna och sedan tillsätts enzym, luciferin-luciferas (Lumit-QM), som reagerar med ATP och bildar bl a ljus enligt reaktionsformeln (1) nedan. Ljusets intensitet mäts sedan med hjälp av en fotonräknare (se Biocounter) under en integrationstid av 10 sekunder och resultatet anges i RLU, Relative Light Units (=relativa ljusenheter).



RLU räknas sedan om till pg ATP utifrån en kalibreringskurva som måste göras. Formlerna för detta framgår av (2)-(4).

$$y = kx + m \quad \text{vilket motsvarar} \quad \text{RLU} = k \times \text{ATP}_{\text{volym}} + \text{intercept} \quad (2)$$

där k är linjens lutning. ATP-innehållet beräknas därför som följer:

$$\text{ATP}_{\text{volym}} = (\text{RLU} - \text{intercept}) / k\text{-värde} \quad [\text{pg/ml}] \quad (3)$$

där RLU-värdet är medelvärdet av de två analyserna. Detta räknas sedan om till biofilmsdensitet, pg ATP/cm^2 , med följande formel:

$$\text{ATP}_{\text{total}} = \text{ATP}_{\text{volym}} \times V_{\text{ml}} / A_{\text{ring}} \quad [\text{pg/cm}^2] \quad (4)$$

där V_{ml} är den totala volymen av suspensionen, d.v.s. 30 ml och A_{ring} är glasringens totala yta, d.v.s. $17,4 \text{ cm}^2$. Detta resultat kan sedan ritas upp mot tiden i ett diagram som då visar hastigheten på biofilmstillväxten. $\text{ATP}_{\text{total}}$ är således måttet på biofilmsdensiteten.

Reagenser

Kitet som inkluderar NRM och Lumit-QM heter Celsis Microbial Biomass Testkit och har artikel nr. CL93321. ATP-standard (twinpack) har art.nr. CL92638 och Lumit-buffert (twinpack) CL 92588. Samtliga kan beställas från Labdesign AB i Täby.

Biocounter

För analysen av provernas ATP-innehåll används Lumac Biocounter M 1500 P som med hjälp av bioluminiscens räknar antalet fotoner som träffar instrumentets fotonkatod under en integrationstid på 10 sekunder. Fotomultiplikatorn detekterar ljus i våglängderna 350-600 nm och är kalibrerad att ge ett värde på 7200 RLU då provet innehåller 200 pg ATP/ 0,1 ml Lumit buffert. Enligt tillverkaren är detektionsgränsen 0,1 pg ATP/0,1 ml Lumit buffert.

4. Resultat

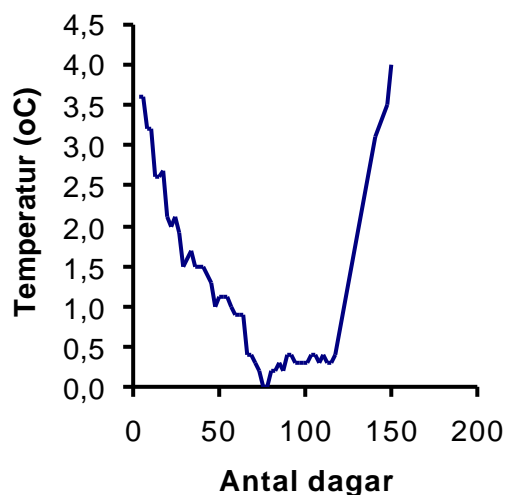
I Tabell 2 redovisas de viktigaste kemiska och mikrobiologiska parametrarna i vatten och biofilm.

Tabell 2. Kemiska och mikrobiologiska parametrar i vatten och biofilm under mätperioden december 1998 - april 1999 (medelvärden).

Parameter	Enhet	Snabbfiltrat (SF)	Långsamfiltrat (LF)
Temperatur	°C		
TOC	mg/l	4,4	4,3
ATP vatten	ng/l	15,6	12,5
AOC	µg/l	28,4	21,9
PO4-P	µg/l	0,7	0,8
NO32-N	µg/l	280	290
HPC-7 d (R2A-agar)	CFUx10 ² /ml		
	vatten	3,7	3,8
	biofilm	34	11
BFR ₀₋₁₅₄	pg ATP/cm ² x dag	0,48	0,07
BFP ₁₀₀₋₁₅₄	pg ATP/cm ²	80	14
ATP ₁₅₄	pg ATP/cm ²	111	13

4.1 Vattenkvalitet

Vattentemperaturen varierade mellan 0-3,6 °C (se Figur 4). Vattentemperaturen sjönk successivt under de första 75 dagarna för att sedan plana ut kring 0,5 °C.



Figur 4. Vattentemperatur i Mäljarvattnet.

Resultaten från mätningarna i snabbfiltrat (SF) och långsamfiltrat (LF) finns presenterade i Tabell 2 samt i bilaga C. ATP-innehållet i SF varierade i intervallet 6,6-27,1 ng/l och i LF 4,8-26,5 ng/l. Medelvärdet var något högre i SF än i LF (15,6 resp 12,5 ng/l) men med hänsyn till

den stora spridningen i värdena var skillnaden inte signifikant. Värdena överensstämde för övrigt ganska väl med värdena som Kiwa erhöll i augusti 1998 (14,5 resp 5,8 ng/l). Heterotrofa bakterier på R2A-agar (7 d) varierade mellan $1,4 \times 10^2$ och $8,8 \times 10^2$ CFU/ml i SF och mellan $2,8 \times 10^2$ och $4,5 \times 10^2$ CFU/ml i LF. Medelvärdet var ungefär densamma i både SF och LF; $3,7 \times 10^2$ resp $3,8 \times 10^2$ CFU/ml.

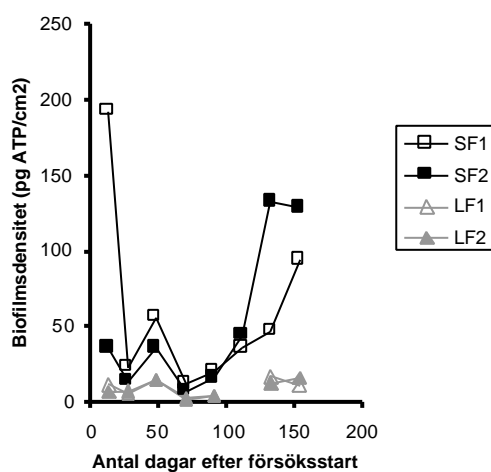
TOC-halten var ungefär densamma i SF som i LF vid de tre mätningarna (medelvärde: 4,4 resp 4,3 mg/l). AOC-halten var högre i SF än i LF vid de två mätningarna 1999-02-23 (23 resp 17 $\mu\text{g/l}$) och 1999-04-06 (34 resp 27 $\mu\text{g/l}$). Dessa värden får ur svenska mått betraktas som relativt låga, framförallt den första mätningen.

Kväve och fosfor analyserades också under försöksperioden. Liksom som övriga parametrar var det ingen större skillnad mellan SF och LF (Tabell 2).

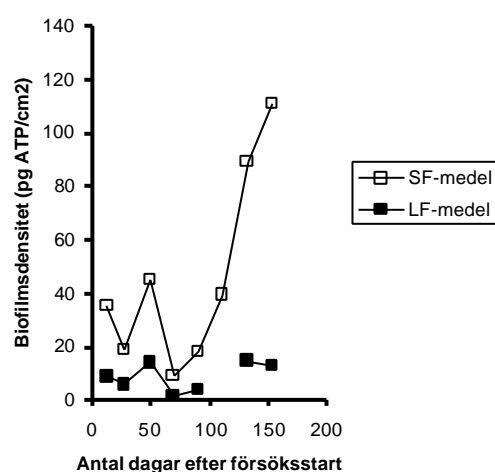
4.2 Biofilm

Det gick det inte att se någon biofilm eller annan beläggning på ringarna i LF-monitoren. På ringarna i SF-monitoren syntes däremot en tydlig gulbrunaktig beläggning. Troligtvis utgjordes beläggningen av restaluminiumflockar från fällningen.

ATP-halten i biofilmen från ringarna var ganska konstant i såväl SF som i LF under periodens första 100 dagar för att därefter börja öka (se Figur 5a). Vid den första mätningen efter 14 dagar erhölls ett markant avvikande värde på SF-ringen. Med tanke på efterföljande värden rörde det sig sannolikt om en felmätning och/eller kontaminering. Efter 133 dagar var det också ganska stor spridning mellan ring SF1 och SF2 men vid sista mätningen hade skillnaden minskat. Båda ringarna indikerade en uppåtgående trend snarare än en utplaning vilket man kunde skönja för LF på slutet. Spridningen mellan ring 1 och ring 2 för SF och LF var generellt ganska liten (med undantag för vad som nämnts ovan). Av Figur 5b visas därför medelvärdet för de två ringarna under hela mätperioden, exklusive det höga mätvärdet i SF dag 14.



Figur 5a. Biofilmstillväxten uttryckt som pg ATP/cm^2 i snabbfiltrat (SF) och långsamfiltrat (LF) under 154 dagar. Start

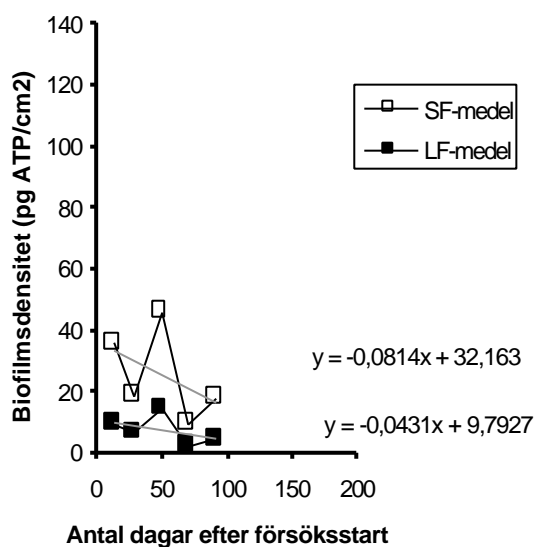


Figur 5b. Medelvärdet på biofilmstillväxten från Figur 5a. Ett avvikande mätvärde är borttaget (SF1, dag 14).

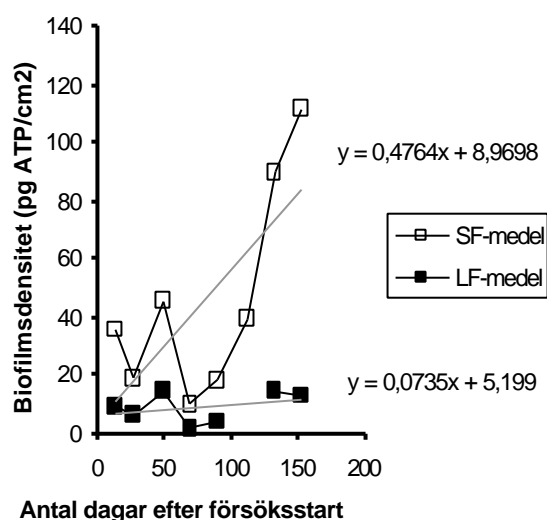
1998-11-24 och slut 1999-04-20.
Dubbelprov (två ringar per analystillfälle).

Biofilmbildningshastigheten, BFR, beräknas enligt metodbeskrivning av van der Kooij & Veenendaal (1992) från den linjära ökningen under perioden 0 och 100 dagar. BFP definieras som medelvärdet under perioden 100-150 dagar. Vanligtvis ökar biofilmdensiteten med tiden men i vårt fall hände inte speciellt mycket under de första 100 dagarna, vilket resulterade i negativa BFR-värden (Figur 6a): BFR₀₋₁₀₀ i SF uppgick till $-0,081 \text{ pg ATP/cm}^2 \times \text{dag}$ och i LF $-0,043 \text{ pg ATP/cm}^2 \times \text{dag}$. Istället beräknades BFR för hela försöksperioden (Figur 6b). BFR₀₋₁₅₄ blev $0,48 \text{ pg ATP/cm}^2 \times \text{dag}$ i SF och $0,07 \text{ pg ATP/cm}^2 \times \text{dag}$ i LF.

Per definition beräknas Biofilmbildningspotentialen, BFP, som ett medelvärde under perioden 100-150 dagar där biofilmstillväxtkurvan, i idealfallet (se Figur 1), nått sitt maximum och planat ut. Detta inträffade aldrig i detta försök vilket innebär att BFP borde ha varit högre, åtminstone i SF (se Figur 6b). I SF var BFP₁₀₀₋₁₅₄ 80 pg ATP/cm^2 vilket kan jämföras med ATP₁₅₄ 111 pg/cm^2 (dvs slutvärdet dag 154). I LF var BFP₁₀₀₋₁₅₄ 14 pg ATP/cm^2 och ATP₁₅₄ 13 pg/cm^2 , m a o var slutvärdet lägre än BFP vilket tyder på en utplaning i LF. I litteraturen finns flera fall redovisade där man aldrig nådde någon plattå (Kiwa rapport, 1997; Van der Kooij et al, 1995; Saftic m fl, 1998).

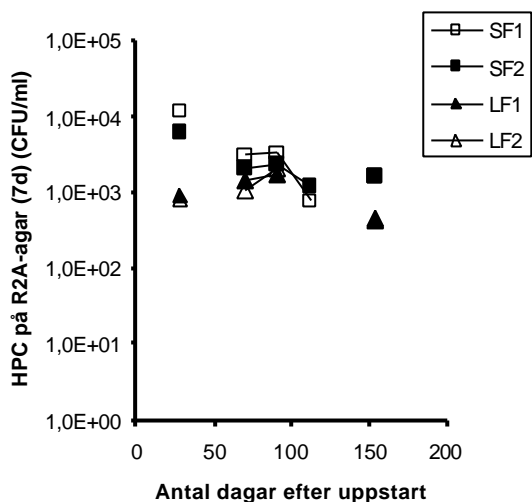


Figur 6a. Linjära sambandet för biofilmstillväxten i snabbfiltrat (SF) och långsamfiltrat (LF) under perioden 0-100 dagar.

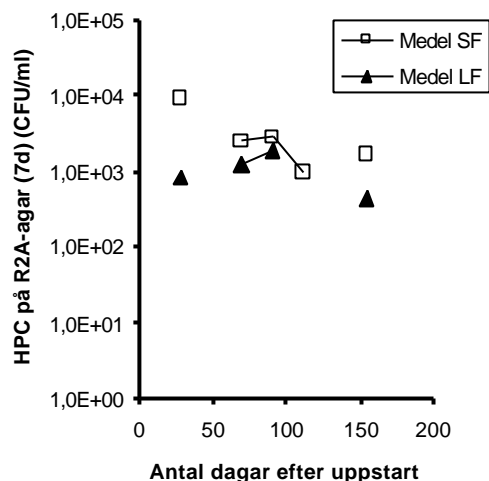


Figur 6b. Linjära sambandet för biofilmstillväxten i snabbfiltrat (SF) och långsamfiltrat (LF) under perioden 0-154 dagar.

Förutom ATP analyserades långsamväxande heterotrofa bakterier (7 d, R2A-agar), HPC, i biofilmen. Resultatet visas i Figur 7a samt i Tabell 2. Det var ingen större skillnad i HPC mellan SF och LF trots att ATP-innehållet var betydligt högre i den förra. Medelvärdet av dubbelproven, Figur 7b, låg dock en aningen högre i SF än i LF. Skillnaden var dock mindre än 1 log-enhet.



Figur 7a. 7 dygns heterotrofa bakterier (HPC) i biofilm för snabbfiltrat (SF) och långsamfiltrat (LF) under testperioden 1998-11-24 - 1999-04-20. Dubbelprov (två ringar per analystillfälle).

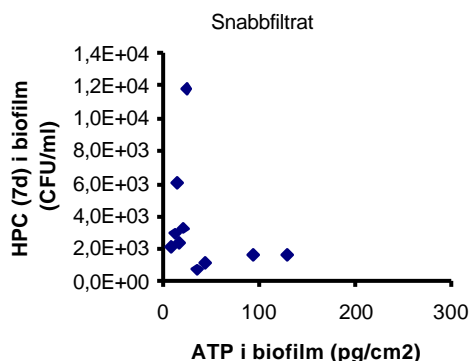


Figur 6b. Medelvärde på 7 dygns heterotrofa bakterier (HPC) i biofilm från Figur 7a.

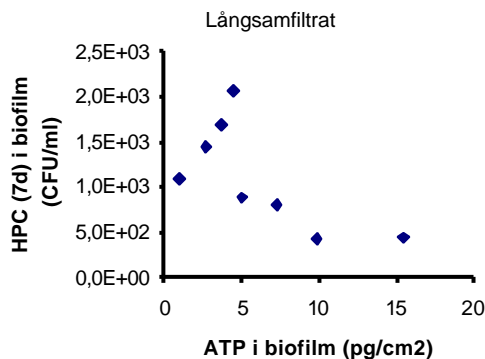
4.3 Korrelationer mellan ATP och HPC

I detta avsnitt redovisas kortfattat korrelationer mellan ATP och HPC i biofilmen och i vattnet samt korrelationen mellan ATP i biofilmen och ATP i vattnet. Eftersom ATP finns i alla levande celler finns det förutsättningar för en korrelation mellan ATP och bakteriehalten (HPC). I detta försök gick det dock inte att konstatera något sådant samband åtminstone inte i biofilmen, vilket framgår av Figur 8a och b. Däremot kunde en viss korrelation mellan dessa parametrar skönjas i vattnet, Figur 9a och b.

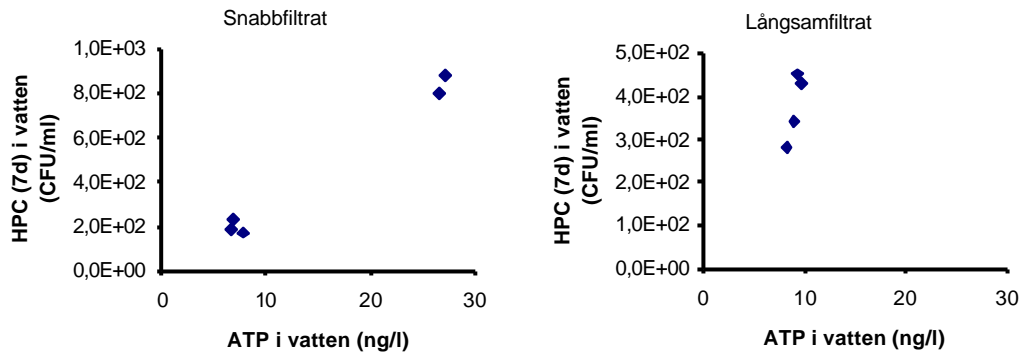
Mellan ATP i biofilmen och ATP i vattnet kunde ett visst samband konstateras för långsamfiltrat och med viss tveksamhet för snabbfiltrat, Figur 10a och b. Sambandet upphörde dock när man slog samman alla värden i en och samma graf (Figur 10c).



Figur 8a. Samband mellan ATP och HPC i biofilm för snabbfiltrat.

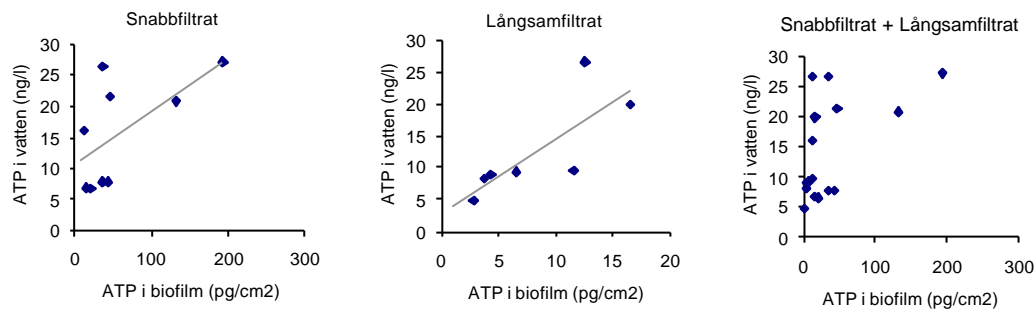


Figur 8b. Samband mellan ATP och HPC i biofilm för långsamfiltrat.



Figur 9a. Samband mellan ATP och HPC i vatten för snabbfiltrat.

Figur 9b. Samband mellan ATP och HPC i vatten för långsamfiltrat.



Figur 10a-c. Samband mellan ATP i biofilm och ATP i vatten för a) snabbfiltrat b) långsamfiltrat och c) snabbfiltrat + långsamfiltrat.

4.4 Kontrollparametrar för ATP-analysen

4.4.1 Sammanställning

I Tabell 3 redovisas samtliga kontrollparametrar i ATP-analysen.

Tabell 3. Sammanfattning av viktiga kontrollparametrar för M1500 Qm-kit under mätperioden december 1998 – april 1999.

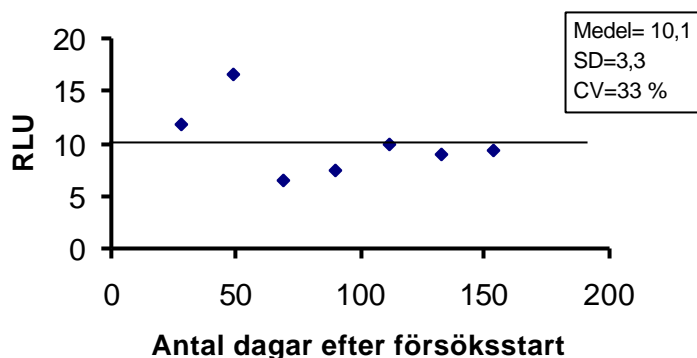
Parameter	N=antal	Enhet	Medelvärde
Nollprov (autoklaverat LF)	14	RLU	10,1
Standardkontroll 2 ng/l	4	ng/l	2
Standardkontroll 100 ng/l	4	ng/l	76
Enpunktskontroll 7200 RLU	8	RLU	5944
Intercept (skärning vid Y-axel)	6	RLU	9,43
K-värde (lutningskoefficient)	6	-	3,97

4.4.2 Provblank

Kontroll av nollprovsvatten (steriliserat långsamfiltrat). Enkelproven visas i Tabell 4 och medelvärdet av enkelproven visas grafiskt i Figur 11. Värdena var genomgående låga, <15 RLU.

Tabell 4. Blankprovskontroller

Datum	Nr 1	Nr 2
1998-12-08		
1998-12-22	11	13
1999-01-12	17	16
1999-02-02	7	6
1999-02-23	8	7
1999-03-16	11	9
1999-04-06	11	7
1999-04-20	8	11
medel	10,4	9,9
CV	32 %	37 %



Figur 11. Kontroll av nollprovsvatten (steriliserat långsamfiltrat).

4.4.3 Kontroll av instrument och metod

Enligt rekommendation från tillverkaren bör man kontrollera att mätinstrumentet detekterar rätt mängd ljus, RLU, vid en viss koncentration. 200 pg ATP/0,1 ml Lumit buffert skall ge 7200 RLU. Denna enpunktskontroll gjordes vid fyra tillfällen. Mellan 80-88% av angiven RLU (7200) mängd uppmättes (Tabell 5). I samband med metodutvärderingen sommaren 1998 erhöles också för låga värden, < 4000 RLU. Biocountern har sedan dess varit på service hos Lumac nere i Holland men uppenbarligen är instrumentet fortfarande intakt. Detta är dock av minde betydelse eftersom man räknar om RLU till ATP utifrån en standardkurva. Här nämns att Henrik Rydberg på Göteborgs VA-verk godtar en avvikelse på 10%, dvs värden mellan 6480 - 7920 RLU.

Tabell 5. Enpunktskontroller av värdet 7200 RLU

Datum	Nr1	Nr2	Medel	% av 7200
1998-12-08				
1998-12-22				
1999-01-12				
1999-02-02	6272	6401	6337	88 %
1999-02-23	5843	5753	5798	81 %
1999-03-16				
1999-04-06	5818	5923	5871	82 %
1999-04-20	5763	5777	5770	80 %

För att kontrollera reproducerbarheten i metoden analyserades två prov med kända halter, 2 och 100 ng ATP/l. Detta gjordes vid tre tillfällen och enligt Tabell 6 var spridningen stor. Vid det första mättillfället erhöles t o m negativa värden för 2 ng/l. I den sammanfattande tabellen, Tabell 4, har värdena från 1998-12-08 exkluderats. Med tanke på att halterna låg kring 10-15 ng/l borde kontrollpunkterna anpassas därefter. I etapp 2 kan förslagsvis 10 och 30 ng/l användas istället för 2 och 100 ng/l som i etapp 1.

Tabell 6. Standardkontroll med koncentrationerna 2 och 100 ng ATP/l.

Datum	2:1	2:2	100:1	100:2
1998-12-08	-2,9	-4,5	141	148
1998-12-22				
1999-01-12				
1999-02-02				
1999-02-23	2,9	2,9	62	63,8
1999-03-16	1,1	1,1	88,4	89
1999-04-06				
1999-04-20				

4.4.4 Kalibrerkurvor

Vid sex av analystillfällena gjordes en kalibrerkurva. Resultatet, k-värdet (lutningskoefficienten) och interceptet (skärning vid y-axeln), redovisas i Tabell 7. K-värdet varierade mellan 3,26 och 4,86 och medelvärdet uppgick till 3,97 (CV 15 %). Så länge k-värdet sprider, uppskattningsvis > 10 %, bör en ny kalibrerkurva göras vid varje analystillfälle. På sikt, när k-värdet fastställts med acceptabel spridning, bör man dock kunna nyttja ett medelvärde på k.

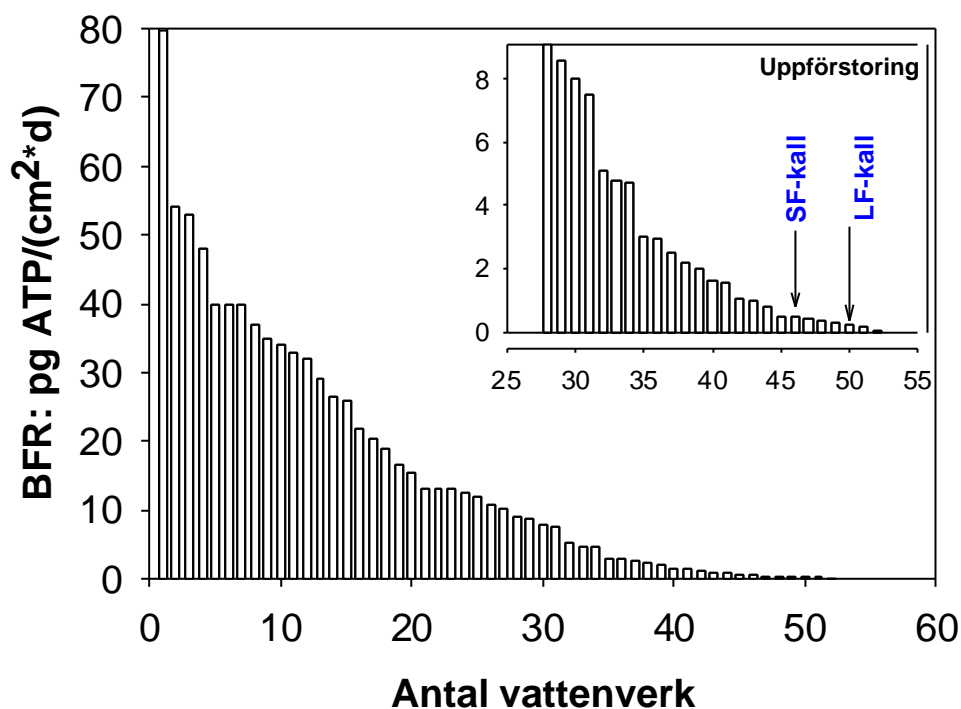
Tabell 7. K-värde (lutningskoefficient) och intercept (skärning vid y-axeln).

Datum	K-värde	Intercept
1998-12-08	3,26*	12,15*
1998-12-22	3,26*	12,15*
1999-01-12	3,26*	12,15*
1999-02-02	4,28	9,63
1999-02-23	4,86	5,98
1999-03-16	3,85	10,25
1999-04-06	3,36	10,14
1999-04-20	4,2	8,45
Medel	3,97	9,43
SD	0,61	2,07
CV	15%	22%

* Samma kalibrerkurva

5. Diskussion av resultat

ATP-innehållet i SF:s biofilm var genomgående högre än i LF, d v s snabbfiltrat gynnar biofilmstillväxt mer än långsamfiltrat vilket är logiskt (och tillfredsställande). Biofilmpotentialen, BFP, var närmare 6 gånger högre i SF än i LF och Biofilmshastigheten, BFR, närmare 7 ggr högre. Jämfört med olika dricksvatten i Holland var BFR-värdena för SF (0,48 pg ATP/cm² x dag) och LF (0,07 pg ATP/cm² x dag) mycket låga vilket framgår tydligt av Figur 12. Enligt uppgift från KIWA (Vrouwenvelder, 1998) är ett vatten biologiskt stabilt om AOC < 10 µg/l och BFR < 5 pg/cm² x dag. I en liknande studie från Dusseldorf uppgick BFR till 0,27 respektive 0,47 pg/cm² x dag i dricksvattnet från Holthausen respektive Hardt vattenverk (Vrouwenvelder m fl, 1997), d v s i samma storleksordning som vårt snabbfiltrat. Enligt studien bedömdes halterna som mycket låga. BFP uppgick till 42,5 respektive 69 pg/cm² vid de två verken vilket ska jämföras med 80 (SF) och 12 (LF) pg/cm². Här bör nämnas att vattentemperaturen i den tyska studien varierade mellan 9,5 och 16,5 °C vilket var betydligt högre än i denna studie (mellan 0-3,6 °C).



Figur 12. Histogram med Biofilmbildningshastigheter, BFR (pg ATP/cm², dag), i utgående dricksvatten från Holländska vattenverk som inte tillsätter desinfektionsmedel samt snabbfiltrat och långsamfiltrat från Västra Norsborgsverket (i kallt vatten) (Källa: Vrouwenvelder m fl, 1997).

Man kunde inte heller konstatera någon tydlig plattå på biofilmskurvan i Dusseldorfstudien trots att man studerade tillväxtförloppet under en längre period (250 dagar). BFP beräknades som medelvärde under perioden 100-250 dagar istället. BFR beräknades som

lutningskoefficienten under hela perioden, 250 dagar, trots att definitionen anger perioden 0-100 dagar som beräkningsintervall. Detta stärker vårt val att beräkna BFR under perioden 0-154 dagar.

Vad gynnade biofilmstillväxten i SF? Det var ingen signifikant skillnad i TOC, PO₄-P eller NO₃₂-N mellan SF och LF. Ammoniumhalten, som är en parameter av betydelse för exempelvis nitrifikationsbakterier, analyserades aldrig i försöket. Under vinterhalvåret brukar halterna vara mycket låga i Mälaren (ca 0,005 mg/l) och således även i SF och LF. Men under sommarhalvåret kan halterna öka 10 ggr, till 0,050 mg/l, vilket skulle kunna gynna den mikrobiologiska aktiviteten i SF. Efter långsamfiltren brukar nämligen ammoniumhalten minska till 0,005 mg/l oavsett inkommande halt. Det genomsnittliga värdet på ATP i vattnet var ca 20 % högre i SF än i LF men eftersom halterna varierade kraftigt mellan mätillfällena (CV=55 resp 73 %) så är det svårt att koppla biofilmstillväxten till vattnets ATP-halt. Samband mellan ATP-halt i vatten och ATP-halt i biofilm har inte heller gått att finna i litteraturen. AOC analyserades vid två tillfällen och båda gångerna var halten högre i SF (23 och 34 µg/l) än i LF (17 och 27 µg/l); 21-25 % högre. Ur svenska mått är dessa halter låga men höga ur Holländska mått. Provjämförelser har dock visat att Kiwa:s AOC-analys ger betydligt lägre värden än SMI:s varför jämförelser av absolutvärden bör undvikas (Kiwa, 1998). Kiwa och WRc (Water Research center) har undersökt effekten på BFP vid tillsats av AOC. I WRc:s fall ökade BFP ca 250 gånger vid en tillsats av 20 µg AOC/l (det framgår inte hur mycket referensvattnet innehöll) (WRc, 1994). I Kiwa:s studie ökade BFP ca 24 gånger vid en tillsats av 30 µg/l AOC (som acetat-C). Referensvattnet innehöll ca 55 µg/l. Om detta stämmer skulle AOC-halten kunna förklara den ökade biofilmstillväxten i SF.

6. Slutsatser från Etapp 1: kall period

- Biofilmbildningshastigheten, BFR, och biofilmbildningspotentialen, BFP, var mycket låg i såväl snabbfiltrat (SF) som i långsamfiltrat (LF) jämfört med liknande studier med Kiwa/Lumacs biofilmsmonitor.
- BFP var 80 ATP/cm² i SF och 12 ATP/cm² i LF. Motsvarande värden på BFR var 0,48 respektive 0,07 pg/cm² x d. Enligt holländska (Kiwa:s) bedömningsmått är ett vatten biostabilt om BFR < 5 pg/cm² x dag.
- En högre AOC-halt torde vara förklaringen till den högre biofilmstillväxten i SF.
- Det fanns ingen påvisbar korrelation mellan ATP och HPC (7 d) i biofilmen.
- Metoden fungerade bra rent praktiskt med avseende på installation, drift och analys.
- Reproducerbarheten måste förbättras. Kontrollpunkterna bör ändras till 10 resp 30 ng/l. Spridningen i k-värdet var acceptabel under försöket (CV=15 %).
- Ammoniumhalten bör fortsättningsvis analyseras då den kan ha betydelse för bakterietillväxten.

Praktiska erfarenheter

- För att uppnå bra reproducerbarhet i analysen är det mycket viktigt att hålla tider, vara noggrann med temperering av reagenser och prover vid själva analysgenomförandet p g a att man arbetar med bioenzym.
- Spolningstiden vid vattenprovtagning i monitoren skall vara 2-3 minuter.

7. Referenser

De Rosa, S., Sconza, F. & Volterra, L., 1998. *Biofilm amount estimation by fluorescein diacetate*. *Wat. Res.*; 32:2621-2626.

Enskog, L. & Blomberg, J., 1998. *En metod för mätning av biofilmstillväxtpotential i dricksvatten - utvärdering och instruktioner*. Internrapport Stockholm Vatten, R nr 33 sept 1998.

Hermanowicz, S. W., Jolis, D., Price, M., 1991. *Growth attached bacteria in drinking water: A method for assessment of water biostability*. Proceedings at AWWA WQTC, November 1991, Orlando, Florida.

Joret, J.C. & Levi, Y., 1986. *Méthode rapide d'évaluation du carbone éliminable des eaux par voie biologique*. *Trib. Cebedeau*; 39: 3-9.

Kaplan, L.A., Bott, T.L. & Reasoner, D.J., 1993. *Evaluation and simplification of the assimilable organic carbon nutrient bioassay for bacterial growth in drinking water*. *Appl. Environ. Microbiol.*; 59:1532-1539.

KIWA, 1997. *Biofilm formation characteristics and biological stability of drinking water of the Waterworks Holthausen and Flehe*. KIWA-report, nr 96.199.

KIWA, 1998. *AOC concentrations in water during treatment and distribution - Stockholm Vatten: Norsborgs Waterworks*. KIWA-report, nr 98.185.

LeChevalier, M. W., Welch, N.J. & Smith, D.B., 1993. *Development of a rapid assimilable organic carbon method for water*. *Appl. Environ. Microbiol.*; 59:1526-1531.

Miettinen, I. T., Vartiainen, T. & Martikainen, P.J., 1997. *Phosphorus and bacterial growth in drinking water*. *Appl. Environ. Microbiol.*; 63:3242-3245.

Saftic, S., Vrouwenvelder, H., Heller, O., Schubert, J., Van der Kooij, D. & Rohms, H-P., 1998. *Biofilm-Untersuchungen im Trinkwasser-Versorgungssystem der Dusseldorfer Wasserwerke*. *Wasser - Abwasser*, 138, Nr. 10.

Sathasivan, A., Ohgaki, S. & Otaki, M., 1997. *Evaluation of water treatment processes in terms of bacterial regrowth control*. Proceedings at IAWQ:s 19:e biennial conference, Vancouver, Canada.

Sathasivan, A. & Ohgaki, S., 1999. *Application of new bacterial regrowth potential method for water distribution system – a clear evidence of phosphorus limitation*. *Wat. Res.*; 33: 137-144.

Servais, P., Billen, G. & Hascoet, M.C., 1987. *Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in water*. *Wat. Res.*; 21: 445-450.

van der Kooij, D., Visser, A. & Hijnen, W.A.M., 1982. *Determining the concentration of assimilable organic carbon in drinking water*. Journ. AWWA; 71: 504-545.

Van der Kooij, D., Veenendaal, H.R., Baars-Lorist, C., van der Klift, D.W. & Drost, Y.C., 1992. *Biofilm formation on surfaces of glass and teflon exposed to treated water*. Wat. Res.;29:1655-1662.

Van der Kooij, D. & Veenendaal, H. R., 1992. *Assessment of the formation characteristics of drinking water*. Proceedings at AWWA WQTC, November 15-19, 1992, i Toronto, Canada.

Muntliga referenser

Vrouwenvelder, H. 1998, Mikrobiolog på Kiwa Consultancy and Research i Holland.

HANDLÄGGARE/GRUPP

Björn R.

MOTTAGARE

Johanna, MEK

DATUM

1998 11 06

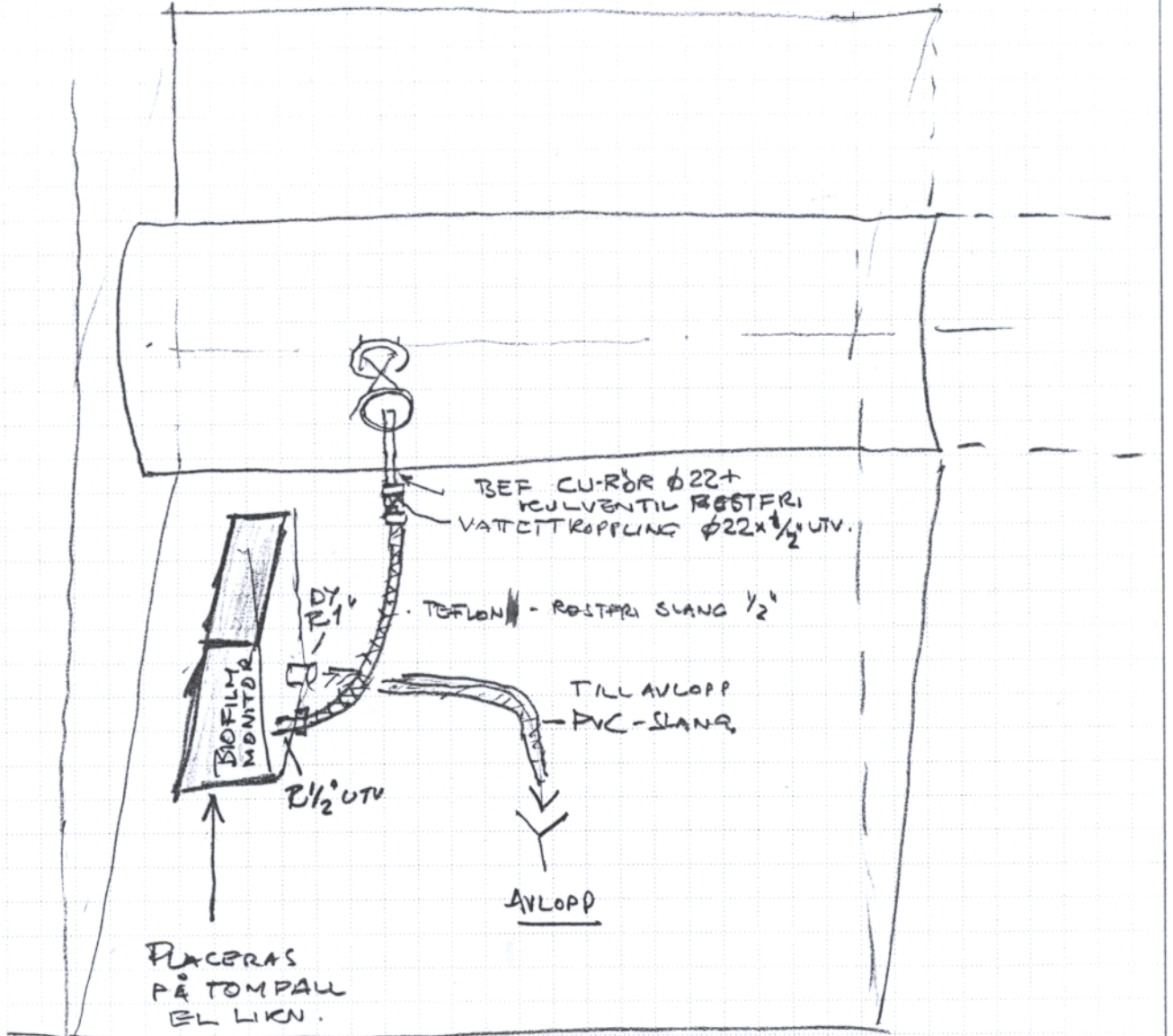
INNEHÅLL

PROVTAGNING SNABBFILTRET VIA

SIDA

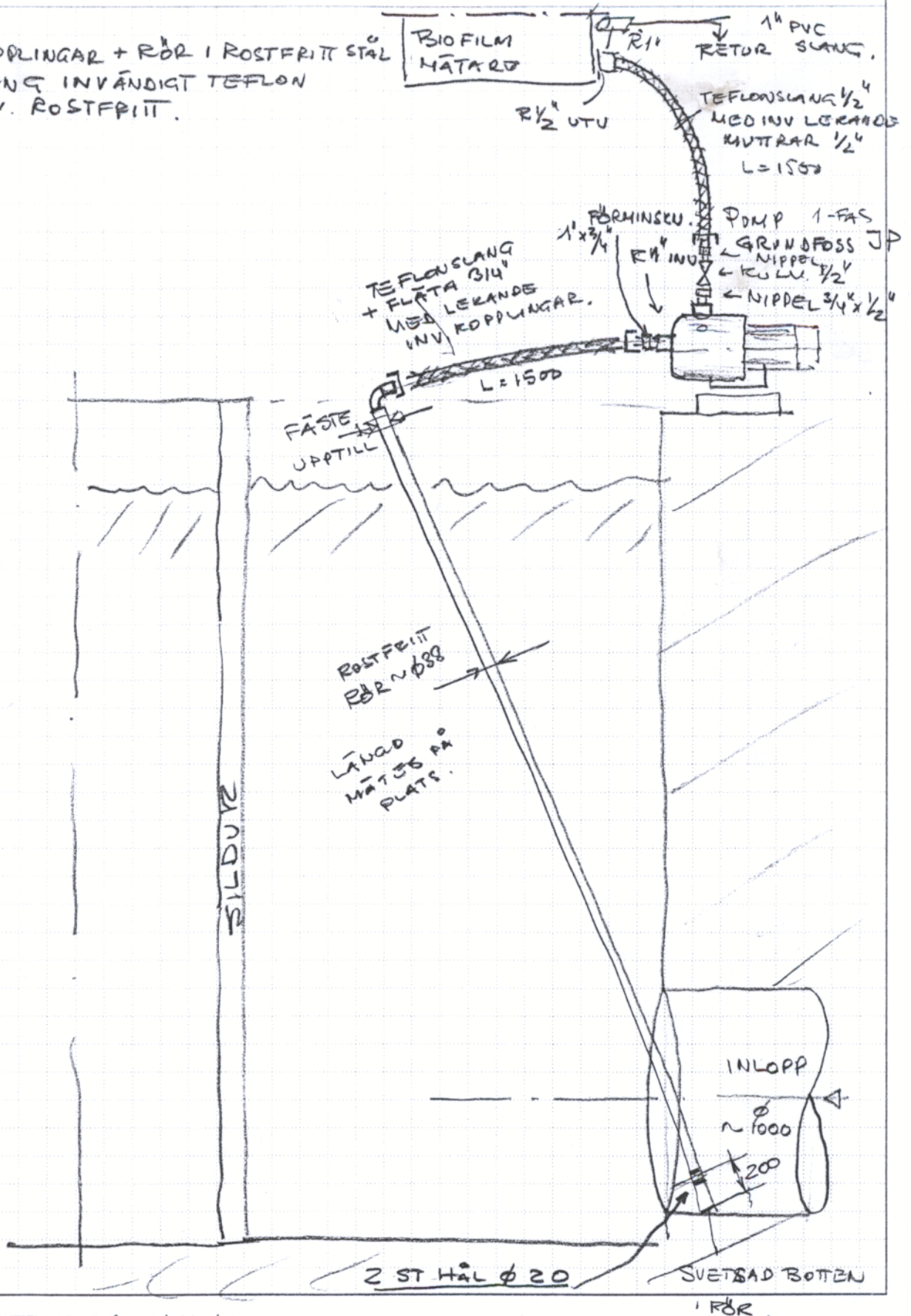
KOMPRESSORRUM

BRUSKAMMARE



HANDLÄGGARE/GRUPP: **BIBAN K.** MOTTAGARE: **JOHANNA, MEK** DATUM: **1998 11 06**
 INNEHÅLL: **PROVTAGNING LÅNGSAM FILTRAT VIA** SIDA:

KOPPLINGAR + RÖR I ROSTFRITT STÅL
 SLANG INVÄNDIGT TEFLON
 UTV. ROSTFRITT.



Vattenkvalitetsanalyser i snabbfiltrat och långsamfiltrat (under perioden december 1998 - april 1999)

Parameter	Enhet	Snabbfiltrat				Långsamfiltrat			
		Medel	CV	Max	Min	Medel	CV	Max	Min
Alkalinitet	mg HCO ₃ /l	31	2%	33	29	44	2%	47	42
pH		6,6	1%	6,8	6,4	8,0	3%	8,7	7,6
Turbiditet	FNU	0,06	26%	0,11	0,04				
Aluminium	mg/l	0,03	17%	0,04	0,02	0,03	20%	0,04	0,02
Ammonium	Mg/l					0,008	75%	0,21	0,005
TOC	mg/l	4,4	2 %	4,3	4,4	4,3	4 %	4,4	4,1
HPC-2d (svensk standard)	CFU/100ml	7	61%	20	1	2	75%	7	0
HPC-7 d (R2A-agar)	ml ⁻¹ x10 ²	3,7	89 %	8,8	1,4	3,8	21 %	4,5	2,8
ATP	ng/l	15,6	55 %	27,1	6,6	12,5	73 %	26,5	4,8
AOC ¹	µg/l	28,4	-	33,8	22,9	21,9	-	26,6	17,2
PO4-P	µg/l	0,7	40 %	1,0	0,4	0,8	34 %	1,0	0,4
NO32-N	µg/l	280	21 %	360	220	290	9 %	310	260

CV=relativ standardavvikelse ((standardavvikelse/medelvärde)*100)