

# Biofilmdannelse i VAVs ledningsnett med nye Oset vannbehandlingsanlegg

Av Lars J. Hem, Aina C. Wennberg, Gøril Thorvaldsen og Ida Skaar

Lars J. Hem er sjefingeniør i VAV og professor II ved UMB, Aina C. Wennberg er forskningsassistent ved NIVA, Gøril Thorvaldsen er forskningsingeniør ved SINTEF, Ida Skaar er forsker (mykologi) ved Veterinærinstituttet.

## Summary

In 2012 qualitative and quantitative biofilm monitoring were performed in raw water, after NOM removal, final treated water and during distribution in Oslo. The aim was to study the effect of the water treatment on the biofilm formation during distribution. The results from the monitoring showed a 95-99 % reduction in the quantitative biofilm formation as a result of the NOM removal, a reduction considerably more significant than indicated by the change in biodegradable organic carbon in the water. The biofilm formation was fairly constant in the distribution system.

The mould in the biofilm changed from excess growth in biofilm grown in raw water to marginal or no growth in treated water or distributed water. The amount of bacteria in the biofilm was considerably reduced during the treatment, and particularly low in biofilm grown in water taken shortly after disinfection. Presumptive *Pseudomonas*, presumptive *Aeromonas*, coliform bacteria and *E. coli* was identified in biofilm grown in raw water, but not in biofilm grown in treated water or distributed water. Presumptive *Legionella* was identified in biofilm grown in raw water, in water after NOM removal and in distributed water, but not in recently disinfected water.

## Sammendrag

Det ble i 2012 gjennomført kvalitative og kvantitative målinger av biofilmdannelse i råvann, filtrert vann, rentvann og nettvann i Osets forsyningsområde i Oslo. Målet med biofilmmålingene var å undersøke/dokumentere effekten av vannbehandling på biofilmdannelsen i ledningsnettet. Målingene viste at biofilmdannelsen ble redusert med 95-99 % fra råvann til rentvann og nettvann, noe som var en vesentlig større reduksjon enn det endringen i vannets begroingspotensial skulle tilsi. Sistnevnte ble omtrent halvert fra råvann til rentvann og nettvann. Biofilmdannelsen var noenlunde konstant utover på nettet.

Mengden muggsopp i biofilmen varierte fra overvekst i biofilm fra råvann til minimal eller ingen vekst i biofilm fra filtrert vann, rentvann og nettvann. Mengden av bakterier i biofilmen var vesentlig høyere i råvann enn i filtrert vann og rentvann, noe som er i overensstemmelse med forskjellene i biofilmdannelsen. Mengden bakterier var spesielt lave i biofilm som vokste i rentvann fra Oset. Presumptiv *Pseudomonas*, presumpativ *Aeromonas*, koliforme bakterier og *E. coli* ble påvist i biofilm fra råvann, men ikke i biofilm fra filtrert vann, rentvann eller nettvann. Presumptiv *Legionella* ble påvist i biofilm fra alle prøvepunktene med unntak av i rentvann fra Oset.

## Innledning

Interessen for biologisk vekst i drikkevannsledninger er i hovedsak knyttet til dannelsen av biofilm på rørveggen. Biofilmen bidrar til å øke mulighetene for overlevelse av patogene mikroorganismer. Erfaringer fra USA viser at biofilmen i ledningene øker mulighetene for at sporer og cyster kan overleve selv ved relativt høye klor-doser (LeChevallier et al., 1987). Det er vist at både forekomsten av, og potensialet for, oppvekst av koliforme bakterier, øker når begroingspotensialet målt som assimilerbart organisk karbon (AOC) øker (Rice et al., 1991, LeChevallier et al., 1996). Biofilmen kan inneholde opportunistiske patogene organismer som *Aeromonas spp.*, *Flavobacterium spp.*, *Legionella pneumophila* og *Pseudomonas aeruginosa* (Gibbs og Hayes, 1989, Holmes og Nicholls, 1995, Juhna et al., 2007). Det er også vist at koliforme bakterier som *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca* og *Klebsiella pneumonia* kan overleve og vokse i biofilmen i vannledninger (LeChevallier, 1987, Mackerness et al., 1993, Keevil, 1994, Camper et al., 1996), selv om Winger og Flemming (2004) konkluderte med at patogene mikroorganismer og indikatorbakterier ikke var vanlig forekommende i slike biofilmer.

I 2008 og 2009 ble den mikrobiologiske sammensetningen i rentvann på Oset vannbehandlingsanlegg (vba) og nettvann (Herslebs gt. 5) undersøkt (Hem et al., 2011). Mengden muggsopp ble drastisk redusert som følge av ny vannbehandling. Den mikrobiologiske kvalitative sammensetningen ble ikke påvist å være vesentlig endret, og artene *Sphingomonas* og *Legionella* samt ordenen *Burkholderiales* ble påvist i alle prøvene både med gammel og ny vannbehandling.

Oset vba får sitt råvann fra Maridalsvannet, en liten til middels stor innsjø. Råvannets innhold av naturlig organisk materiale (NOM) og farge er i norsk sammenheng moderat, med typisk 4 mg TOC/l og 25–30 mg Pt/l. Oset vba er bygget for å fjerne humus (som gir vannet en gulbrun farge), å gi vannet en behandling som reduserer korrosiviteten overfor sement- og metallbaserte materialer, og å etablere to hygieniske barrierer mot bakterier, virus og parasitter.

Vannbehandlingen ved Oset vba består i koagulering, sedimentering og filtrering for fjerning av NOM, UV-bestråling for desinfeksjon og tilsetning av kalk og karbondioksid for korrosjonskontroll. Som sikkerhet er det i tillegg opplegg for dosering av natrium hypokloritt og for å sikre at anlegget til en hver tid er operativt doseres små mengder natrium hypokloritt, typisk 0,1 mg Cl<sub>2</sub>/l, også når UV-anlegget fungerer tilfredsstillende.

Vannbehandlingsanlegget har vært i ordinær drift siden våren 2009.

## Materialer og metode

Målet med biofilmmålingene var å undersøke/ dokumentere effekten av vannbehandling på biofilmdannelsen i ledningsnettet, kvantitativt og kvalitativt.

### Prøvetaking

Biofilmdannelsen ble målt kvantitativt og kvalitativt i følgende prøvepunkter:

- Råvann på Oset
- Filtrert vann på Oset, dvs. før UV-desinfeksjon og avsluttende pH-justering
- Rentvann fra Oset
- Vann fra Furulund basseng, dvs. et punkt på nettet der vannets oppholdstid fra Oset er relativt kort (beregnet til 2,5 h)
- Vann fra Havnabakken pumpestasjon, dvs. et punkt på nettet der vannets oppholdstid fra Oset er relativt lang (anslått til et døgn)

Prøveuttak for måling av BDOC var i mars 2012, med islagt vann og råvannstemperatur ca. 3 °C. Biofilmdannelse ble målt over perioden august–desember 2012, med råvannstemperatur ca. 4–9 °C og med fullsirkulasjon i deler av perioden. Råvannskvaliteten med hensyn på organisk materiale er relativt stabil over året, men det kan ikke utelukkes at mengden biologisk nedbrytbart organisk materiale var høyere i perioden august–desember enn i mars.

Det ble installert glassrør med glassringer (heretter kalt kuponger) for bestemmelse av biofilmdannelse i hvert av de fem prøvepunktene. Dette er svært enkle oppsett der en liten vann-

mengde føres gjennom rørene og til avløp. Bruk av slike oppsett vil medføre at det er enklere og mer pålitelig å få tatt ut gode biofilmprøver sammenlignet med å bare ta utskrapprøver fra ledningsnett. Oppsettet er benyttet tidligere (Hem, 2003, Hem, 2009). Kommersiell glassrør med utvendig diameter 15 mm og veggtykkelse 1,2 mm ble kuttet i biter/kuponger med lengde 10 mm. Kupongene blir plassert i vertikale pleksiglassrør med innvendig diameter 20 mm. Både innsiden og utsiden av kupongene er dermed eksponert mot vannet og biofilmen både på utsiden og innsiden inngår i måling av biofilmdannelsen. Vannstrømmen er oppstrøms og konstant med en vannhastighet ca. 0,2 m/s. Vannhastigheten og skjærkreftene på utsiden og innsiden av kupongene antas å være noenlunde like siden det er 2,5 med mellom kupongene og pleksiglassrøret. Vannstrømmen ble kontrollert manuelt ved hver prøvetaking.

Ved avslutning av forsøkene, dvs. etter 4,5 måneders eksponering mot strømmende vann, ble det tatt biofilmprøver som ble analysert med hensyn på muggsopp og bakteriesammensetning.

## Analyser

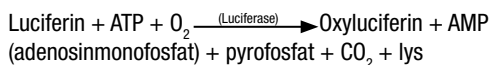
### BDOC

Måling av biologisk nedbrytbart organisk karbon ble utført i henhold til prosedyren beskrevet av Eikebrokk et al. (2007). DOC måles før og etter nedbrytning av organisk materiale i biofiltre. Dersom BDOC er mindre enn 0,1 mg/l anses mengden biotilgjengelig organisk materiale å være for lavt til å gi noen mikrobiologisk vekst av betydning for vannkvaliteten. Dersom BDOC er høyere enn ca. 0,2 mg/l kan det erfaringsmessig oppstå biologisk vekst som kan ha negativ påvirkning på vannkvaliteten i ledningsnett.

### Måling av biofilmdannelse

Proseduren for måling av biofilmdannelse er en modifisert utgave av van der Kooij & Veenendaal (1993) sin prosedyre for bestemmelse av biofilmdannelseshastighet. Hver annen uke i ca. 4,5 måneder ble det tatt ut tre kuponger i hvert prøvepunkt. På dette tidspunktet hadde en hatt en

stabil biofilmmengde i flere uker i råvann. Biofilm ble fjernet i ultralydbad i 4,75 min, og analysert med hensyn på ATP (adenosintrifosfat). Målemetoden for ATP er basert på at energien i ATP omdannes til lys med bølglengde 562 nm ved hjelp av bioluminescens. Først tilsettes reagenset NRM (nucleotide releasing reagent for microbial ATP) som ekstraherer ATP ut av cellene. Deretter tilsettes enzymet luciferin-luciferase som reagerer med ATP og omdanner dette til lys som et av produktene etter reaksjonen;



Analyse av avgitt mengde lys, og dermed av ATP, ble gjennomført i en luminescensmåler.

Medianverdien fra måling av biofilm på de tre parallelle uttakene benyttes.

Mengden biofilm vil først (i en lag-fase) være tilnærmet null, deretter vokse eksponentielt inntil biofilmdannelsen er begrenset av vekstareal og tilgang på substrat. Deretter vil en ha en stabil vekst inntil biofilm begynner å løsne/avskalles, og deretter variere avhengig av hvor mye som avskalles. Biofilmdannelseshastigheten beregnes ut fra veksten i den stabile fasen.

### Muggsopp

Det ble tatt ut tre kuponger for muggsoppanalyse i hvert prøvepunkt. Kupongene ble lagt i glass med 10 ml destillert vann. Kupongene ble skrapet av for kvalitative og kvantitative analyser. Noe av prøvemateriale ble drysset direkte på overflaten av DG18-skåler for kvalitative analyser. Prøvematerialet ble også løst i sterilt saltvann i forholdet 1:10 i 20 min før fortykning og utsæd på duplikate DG18-skåler (Hocking and Pitt, 1980) fra  $10^{-2}$  til  $10^{-6}$ -fortynning. DG18 er et medium som ble utviklet til tørre matvarer, men som har vist seg godt egnet til analyser av mugg i vann (Hageskal, Lima et al. 2009). Skålene ble inkubert ved  $25 \pm 1$  °C i 7 dager plassert opp ned i ventilererte poser. Skålene ble så avlest og soppvekst gruppert og kvantifisert. Representative kolonier ble tatt ut sekundært for identifisering på gruppe-, slekt- eller artsnivå.

### Dyrking av bakterier

Biofilm fra tre glasskupper fra hvert prøvepunkt ble homogenisert i 10 ml destillert vann hver ved 4,75 minutters ultralyd. De homogeniserte prøvene ble filtrert (1 ml) eller sådd direkte ut (1ml eller 100 µl) på generelle eller selektive medier for å kvantifisere forskjellige grupper bakterier.

Kimtall (heterotrofe bakterier) ble analysert i henhold til NS-EN ISO 6222. Prøver ble sådd direkte ut på vannagar (water plate count agar (ISO), Oxoid CM1012) og inkubert ved 22°C i 3 til 7 døgn. I tillegg ble prøver sådd ut på en næringsfattig agar (R2A, Difco 218263) og inkubert ved 22°C i 3 til 7 døgn for å få med bakterier som ikke vil vokse på den næringsrike vannagaren.

*Pseudomonas* spp: *Pseudomonas* spp. ble analysert i henhold til NS-EN 12780, med unntak av videre konfirmasjon av kolonier utover fluorescens under UV. Prøvene ble filtrert (0,45 µm) og filtrene lagt på PS agar (*Pseudomonas* agar base, Oxoid CM0559, *Pseudomonas* C-N supplement Oxoid SR0102E) og inkubert ved 37°C. Kolonier ble telt etter 24 timer og 48 timer og sjekket for fluorescens under UV-lys. Fluoriserende kolonier ble rapportert som presumptive *Pseudomonas* spp.

*Aeromonas* spp.: Prøvene ble filtrert (0,45 µm) og filtrene lagt på *Aeromonas* agar (Oxoid CM0833 med Ampicilin selective supplement Oxoid SR0136E) og inkubert ved 37 °C i 24 timer. Grønne kolonier med mørkere sentrum ble rapportert som presumptiv positive *Aeromonas* spp kolonier i henhold til bruksanvisning fra produsenten.

*Legionella*: Prøvene ble analysert i henhold til ISO 11731-2 med unntak av bruk av syrebuffer. Prøvene ble filtrert (0,2 µm) og filtrene lagt på GVPC agarplater (Oxoid, produktnummer 5074) og inkubert ved 37 °C i 5-10 døgn. Presumptivt positive legionella kolonier ble videre konfirmert ved inkubering opptil 10 dager på BCYE agar (*Legionella* CYE agar base Oxoid CM0655) med/uten cystein (Supplement Oxoid SR0110C / Oxoid SR0175A). *Legionella* trenger cystein for å vokse. Kolonier som vokste på BCYE agar med cystein, men ikke på agar uten cystein, ble rapportert som konfirmerte *Legionella*.

Koliforme bakterier og *E. coli* ble analysert i henhold til bruksanvisning for Colilert-18/Quantitray (IDEXX, USA) som er en MPN (Most probable number) metode som står som alternativ metode i drikkevannsforskriften (Mattilsynet, 2011). Prøvene ble tilsatt medium og inkubert i brønnplater (Quantitray 2000, IDEXX) ved 37 °C i 18-24 timer. Gule brønner er rapportert som koliforme bakterier, mens gule brønner som fluoriserer under UV-lys er rapportert som *E. coli*.

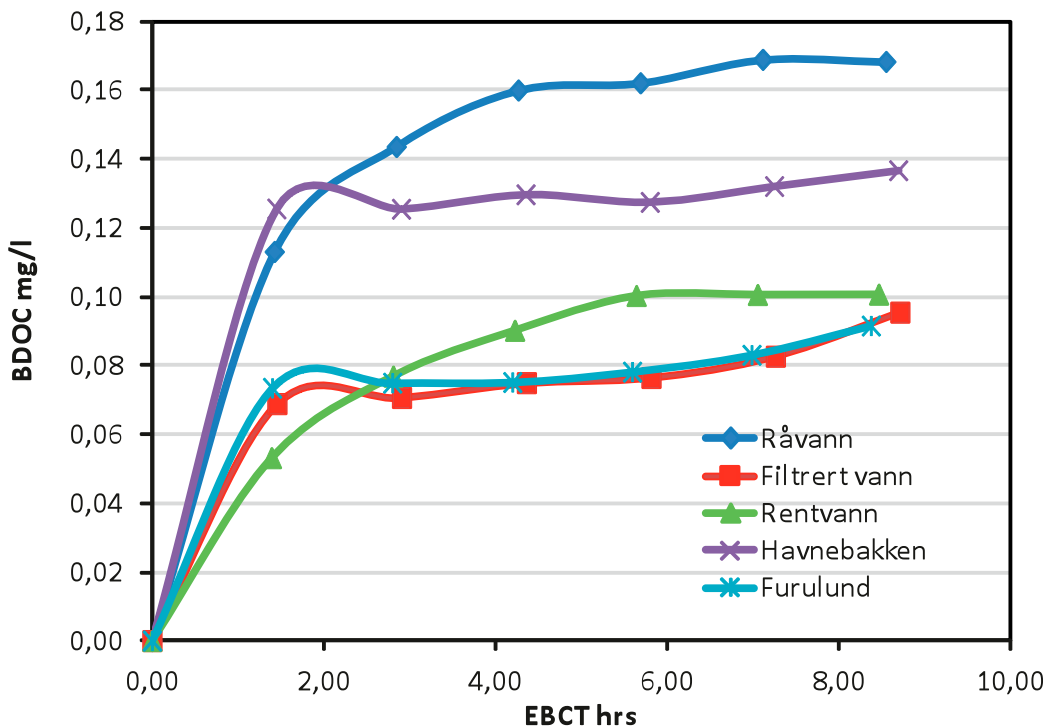
### Fluorescent in situ hybridisering (FISH)

Biofilmhomogenat ble fiksert med 3 % fersk paraformaldehydeløsning og hybridisert med proben EUB 338 (generell bakterieprobe) som beskrevet av Amann m.fl (1990) bestilt fra BioNordika ([www.bionordika.no](http://www.bionordika.no)). Proben var merket med det fluorescerende stoffet CY3. For alle hybridiseringene ble det også farget med DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole) for å få et inntrykk av generelt bakterietall opp mot FISH spesifikk probe. Hybridiseringen ble utført som beskrevet av Manz m.fl. (1995) ved at 10 µl av fiksert biofilmhomogenat ble tilsatt slides (objektglass med brønner) og lufttørket. Objektglassene ble så dehydrert i 3 minutter i 50 %, 80 % og 96 % etanol og lufttørket. Hybridiseringsvæske med probe (konsentrasjon 5 ng/µl) ble så tilsatt hver brønn, og slidene inkubert i et fukt-kammer på 46 °C i opp til 90 minutter. Hybridiseringen ble avsluttet ved å vaske slidene med vaskebuffer i 20 minutter på 46 °C. Lufttørkede slides ble så etterfarget med DAPI (1 µg/ml) i 5 minutter, vasket med PBS buffer og montert med antifading olje (Citiflour). Alle slides ble så analysert i fluorescensmikroskop med 100X forstørrelse.

## Resultater og diskusjon

### BDOC

Resultatene fra måling av BDOC er vist i figur 1 og tabell 1.



Figur 1. Resultater fra måling av BDOC (EBCT=empty bed contact time)

Prøvepunkt	BDOC (mg/l)
Råvann	0,17
Filtrert vann	0,10
Rentvann	0,10
Furulund	0,09
Havnabakken	0,14

Tabell 1. Oppsummering av resultater fra måling av BDOC.

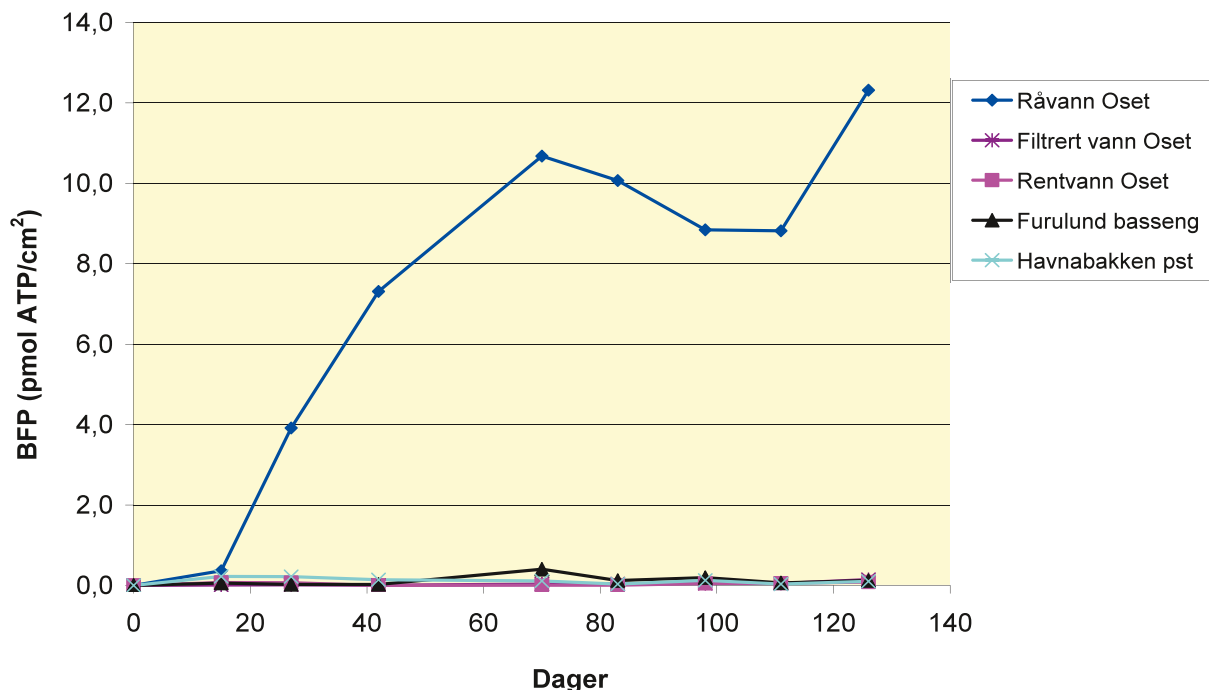
Målingene av BDOC viser at denne parameteren nær halveres som følge av vannbehandlingen og at desinfeksjonstrinnet har neglisjerbar innflytelse. BDOC ser ut til å stige noe i prøvepunktet Havnebakken, der vannet har hatt en relativt lang oppholdstid i distribusjonssystemet.

**Biofilmdannelse**

Biofilmdannelsen er vist i figur 2 og tabell 2.

Den maksimale mengden biofilm var 30-140 ganger høyere i råvann enn i de andre prøvepunktene. Maksimal biofilmvækst var 20-60 ganger høyere i råvann enn i de andre prøve-

punktene. I rentvann og nett vann var den maksimale mengden biofilm 0,09-0,4 pmol ATP/cm<sup>2</sup> og den maksimale biofilmvæksten 0,005-0,015 pmol ATP/cm<sup>2</sup>\*d. Til sammenligning ble den maksimale mengden biofilm i rentvann fra Larvik vannverk, med vannbehandlingsanlegget Gopledal, og Vestfold Interkommunale Vannverk, med Seierstad vannbehandlingsanlegg, målt til 0,1-0,4 pmol ATP/cm<sup>2</sup> og den høyeste veksthastigheten til 0,002-0,008 pmol ATP/cm<sup>2</sup>\*d (Hem, 2009). Resultatene fra Oslo var dermed på samme nivå som resultatene fra VIV og Larvik. Gopledal og Seierstad har behand-



Figur 2. Biofilmdannelsen i forsøksriggene

Prøvepunkt	Maksimal mengde biofilm (pmol ATP/cm <sup>2</sup> )	Maksimal biofilmvekst (pmol ATP/cm <sup>2</sup> *d)
Råvann	12,3	0,30
Filtrert vann	0,14	0,006
Rentvann	0,09	0,005
Furulund	0,40	0,013
Havnabakken	0,22	0,015

Tabell 2. Biofilmdannelse.

lingsanlegg som med hensyn på ytelse er sammenlignbare med Oset, med unntak av kloreringspraksisen. Både VIV og Larvik hadde klor som en av to hygieniske barrierer og VIV hadde i tillegg kloraminering. Innholdet av NOM i råvannet fra Farris, målt som farge og TOC, er sammenlignbart med innholdet i Maridalsvannet.

Biofilmen vil bestå av både mikroorganismer som vokser på rørveggen og frittlevende mikroorganismer som koloniserer denne. Koloniseringen skjer ved migrasjon fra vannmassene til rørveggen, herunder ved partikkeltransport med

eller uten forutgående koagulering. Målemetoden gjør det ikke mulig å angi hvor mye av biofilmdannelsen som skyldes kolonisering og hvor mye som skyldes vekst i biofilmen, men det som måles er den totale veksten.

### Muggsopp

Resultatet av muggsoppanalysen er vist i tabell 3.

Det var overvekst av muggsopp på prøvene tatt fra biofilm som vokste i råvann, det ble påvist én koloni i to av tre prøver av biofilm fra filtrert vann og i en av tre prøver av biofilm fra Havnabakken, mens det ikke var soppvekst på biofilm tatt fra

	Antall muggsoppkolonier		
	A	B	C
<b>Råvann</b>	Overvekst <i>Trichoderma</i> sp. + 1 Mucorales	Overvekst <i>Trichoderma</i> sp.	Overvekst <i>Trichoderma</i> sp.
<b>Filtrert vann</b>	1 <i>Cladosporium</i> sp.	1 <i>Trichoderma</i> sp.	Ingen soppvekst
<b>Rentvann</b>	Ingen soppvekst	Ingen soppvekst	Ingen soppvekst
<b>Furulund</b>	Ingen soppvekst	Ingen soppvekst	Ingen soppvekst
<b>Havnabakken</b>	Ingen soppvekst	1 <i>Cladosporium</i> sp.	Ingen soppvekst

Tabell 3. Muggsopp i biofilmprøver.

Furulund og rentvann fra Oset. Resultatene er i overensstemmelse med det en kunne forvente på bakgrunn av tidligere undersøkelser i rentvann og nettvann med henholdsvis det gamle og det nye Oset vba i drift (Hem et al., 2011). Imidlertid har tidligere studier vist at *Trichoderma* arter er blant de vanligste muggsoppene i norsk drikkevann, spesielt fra overflatevannkilder (Hageskal et al., 2006; Hageskal et al., 2008). *Trichoderma viride* ble påvist i 22 % av prøvene av norsk drikkevann fra overflatevannkilder (Hageskal et al., 2008). Det har tidligere vist seg vanskelig å fjerne *Trichoderma* fra råvann ved vannbehandling (Hageskal et al., 2008, Hageskal et al., 2012), og funnene som presenteres her er derfor overraskende.

### Bakteriesammensetning

Kupongene fra råvannet til Oset vannverk viste tydelig biofilmvekst, mens det ikke var noe synlig biofilm på kupongene fra de andre riggene. Det

var allikevel mer bakterier enn forventet i prøvene, og agarplatene for heterotroft kintall ble overgrodd. Mikroskopering med EUB proben viste at det var  $7,5 \times 10^6$  celler/cm<sup>2</sup> biofilm i prøven fra råvannsriggeren. På kupongene fra rentvannssiden var det flest bakterier i prøvene fra filtrert vann og færrest fra rentvann, henholdsvis  $2,4 \times 10^5$  celler/cm<sup>2</sup> biofilm og  $1,5 \times 10^4$  celler/cm<sup>2</sup> biofilm. Resultatene er vist i tabell 4.

Tabell 5 viser resultatet av dyrkingsmetodene for biofilmkupongene. Råvannsprøvene inneholdt både presumptive *Pseudomonas*, presumptive *Aeromonas* og koliforme bakterier, men disse ble ikke detektert i prøvene fra filtrert vann, rentvann eller nettvann. Presumptive *Legionella* ble funnet i alle prøvene med unntak av rentvannsprøven fra Oset. Kolonier med forskjellig morfologi ble strøket ut på BCYE med og uten cystein for konfirmering, mens skålen fra råvannsprøven var for gjengrodd til å skille ut enkeltkolonier. Det var ikke alle koloniene som ga vekst på BCYE med cystein fordi GVPC skålene

	WPCA	R2A	FISH EUB	FISH Dapi	% EUB
<b>Råvann</b>	$3,5 \times 10^4$	$1,8 \times 10^5$	$7,5 \times 10^6$	$1,7 \times 10^7$	45
<b>Filtrert vann</b>	$> 10^4$	$> 10^4$	$2,4 \times 10^5$	$2,7 \times 10^5$	89
<b>Rentvann</b>	$> 10^4$	$> 10^4$	$1,5 \times 10^4$	$4,1 \times 10^4$	38
<b>Furulund</b>	$> 10^4$	$> 10^4$	$9,0 \times 10^4$	$1,4 \times 10^5$	65
<b>Havnabakken</b>	$> 10^4$	$> 10^4$	$2,7 \times 10^4$	$4,1 \times 10^4$	67

Tabell 4: Totaltall bakterier som celler/cm<sup>2</sup> biofilm på biofilmkupongene analysert på dyrkingsmedier (WPCA og R2A) og ved hjelp av mikroskopimetoder (FISH EUB og Dapi). Forholdet mellom celler farget med DAPI og FISH EUB er oppgitt som % EUB.

	Presumptiv <i>Pseudomonas</i>	Presumptiv <i>Legionella</i>	Konfirmert <i>Legionella</i>	Presumptiv <i>Aeromonas</i>	Koliforme bakterier	<i>E. coli</i>
Råvann	30	114	-	6	21	0,1
Filtrert vann	<1	43	15	<1	<0,1	<0,1
Rentvann	<1	<1	<1	<1	<0,1	<0,1
Furulund	<1	28	18	<1	<0,1	<0,1
Havnabakken	<1	47	27	<1	<0,1	<0,1

Tabell 5. Konsentrasjon av bakterier i biofilm detektert ved dyrkingsmetoder oppgitt som celler/cm<sup>2</sup> biofilm (celler/cm<sup>2</sup> biofilm).

hadde blitt litt uttørket under inkubering. Derfor er kolonier med lik morfologi til de som vokste på BCYE med cystein, og ikke uten cystein, karakterisert som konfirmerte *Legionella*.

Endringen i bakterietall i råvann og behandlet vann tilsier 97-99 % reduksjon fra råvann til filtrert vann og 99-99,8 % reduksjon fra råvann til rentvann og nettvann. Det sistnevnte er noe større reduksjon enn måling av biofilmdannelsen skulle tilsi.

Til sammenligning ble det i 2009, og da både før og kort tid etter at Nye Oset var i ordinær drift, påvist *Legionella* i rentvann og nettvann (Hem et al., 2011).

## Konklusjoner

Måling av biofilmdannelse i råvann, filtrert vann, rentvann og nettvann ble gjennomført for å klarlegge effekten av den nye vannbehandlingen på Oset på biofilmdannelsen. Målingene viste at biofilmdannelsen ble redusert med 95-99 % fra råvann til rentvann og nettvann, noe som var en vesentlig større reduksjon enn det endringen i vannets begroingspotensial skulle tilsi. Sistnevnte ble omtrent halvert fra råvann til rentvann og nettvann. Biofilmdannelsen var noenlunde uendret utover på nettet

Mengden muggsopp i biofilmen varierte fra overvekst i biofilm fra råvann til minimal eller ingen vekst i biofilm fra filtrert vann, rentvann og nettvann. Hva som ligger til grunn for en så stor effekt av vannbehandlingen er ikke klart.

Konsentrasjonen av bakterier var vesentlig høyere i råvann enn i filtrert vann og rentvann. Av de sistnevnte var konsentrasjonene spesielt

lave i biofilm som vokste i rentvann fra Oset. Presumptiv *Pseudomonas*, presumptiv *Aeromonas*, koliforme bakterier og *E. coli* ble påvist i biofilm fra råvann, men ikke i biofilm fra filtrert vann, rentvann eller nettvann. Presumptiv *Legionella* ble påvist i biofilm fra alle prøvepunktene med unntak av i rentvann fra Oset. Det ble bekreftet at *Legionella* forekom i biofilm som har vokst i filtrert vann og nettvann.

## Forslag til videre arbeider

Reduksjonen i biofilmdannelsen ble målt å være vesentlig større enn endringen i vannets begroingspotensial skulle tilsi. Årsaken til denne vesentlig større effekt av vannbehandlingen bør være et tema for et mer grunnleggende studium av biofilmdannelsen i drikkevannsledninger.

Betydningen av koagulering og sedimentering for den kvantitative koloniseringen av biofilmen bør studeres spesielt.

## Referanser

- Amann, R. I., Binder, B. J., Olson, R. J., Chisholm, S. W., Devereux, R. & Stahl, D.A. (1990). Combination of 16S rRNA-targeted oligonucleotide probes with flow cytometry for analyzing mixed microbial populations. *Appl Environ Microbiol*56, 191 9-1 925.
- Camper, A. K., Jones, W. J. and Hayes, J. T. (1996). Effect of growth conditions and substratum composition on the persistence of coliforms in mixed-population biofilms. *Appl. and Env. Microbiology*, 62:11:4014-4018.
- Eikebrokk, B., Juhna, T., Melin, E. and Osterhus, S.W. (2007). Water treatment by enhanced coagulation and ozonation-biofiltration. Technau-Report D5.3.2A, Dec. <http://www.techneau.eu>



- Gibbs, R. A. and Hayes, C. R. (1989). Characterization of non-enteric bacterial regrowth in the water supply distribution network from a eutrophic reservoir. *Water Science and Technology*, **21**:3:49-53.
- Hageskal, G., Knutsen, A. K. et al. (2006). "Diversity and significance of mold species in Norwegian drinking water." *Appl Environ Microbiol* **72**(12): 7586-7593.
- Hageskal, G., Lima, N. et al. (2009). "The study of fungi in drinking water." *Mycol Res* **113**(Pt 2): 165-172.
- Hageskal, G., Tryland, I. et al. (2012). "No simple solution to waterborne fungi: various responses to water disinfection methods." *Water Science & Technology: Water Supply* **12**(2): 220-226.
- Hageskal, G., Vralstad, T. et al. (2008). "Exploring the species diversity of Trichoderma in Norwegian drinking water systems by DNA barcoding." *Mol Ecol Resour* **8**(6): 1178-1188.
- Hocking, A. D. and Pitt, J. I. (1980). "Dichloran-glycerol medium for enumeration of xerophilic fungi from low-moisture foods." *Appl Environ Microbiol* **39**(3): 488-492.
- Hem, L. J. (2003). Biostabilitet i drikkevannsledninger. Aquateam-rapport 03-032.
- Hem, L. J. (2009). Effekt av kloramindosering på biofilmdannelse i drikkevannsledninger. Resultater fra full-skala studier i Larvik kommune og Vestfold Interkommunale Vannverk. SINTEF-rapport SBF IN F09319.
- Hem, L. J., Skaar, I. Lund og V.og Anderson-Glenna, M. (2011). Mikrobiologisk vannkvalitet på ledningsnettet i Oslo med nåværende og tidligere vannbehandling på Oset. SINTEF-rapport SBF 2011 F0103.
- Holmes, P. and Nicolls, L. M. (1995). Aeromonads in drinking-water supplies; their occurrence and significance. *J. CIWEM*, **9**:10:464-469.
- ISO 11731-2:2004. Water quality – Detection and enumeration of Legionella – Part 2: Direct membrane filtration method for waters with low bacterial counts. International standard.
- Juhna, T., Rubulis, J. and Hammes, F. (2007). Modeling bacterial regrowth in pipelines. Presentation at TECH-NEAU workshop, October.
- Keevil, C. W. (1994). Assessment of practical measures to predict bacteriological failures due to biofilms. Foundation for water research, GB.
- LeChevallier, M. W., Babock, T. M. and Lee, R. G. (1987). Examination and characterization of distribution system biofilm. *Applied and Environmental Microbiology*, **53**:2714-2724.
- LeChevallier, M. W., Welch, N. J. and Smith, D. B. (1996). Full-scale studies of factors related to coliform regrowth in drinking water. *Applied and Environmental Microbiology*, **62**:7:2201-2211.
- Mackerness, C. W., Colbourne, J. S., Dennis, P. L. J., Rachwal, T. and Keevil, C. W. (1993). Formation and control of coliform biofilms in drinking water distribution systems. In Denyer, S. P., Gorman, S. P. and Sussman, M. (Eds); *Microbial biofilms formation and control*. Blackwell scientific publications, Oxford, UK.
- Manz, W., Amann, R., Szewczyk, R., Szewczyk, U., Stenström, T.-A., Hutzler P., og Schleiferl, K.-H. (1995) *In situ* identification of *Legionellaceae* using 16s rRNA-targeted oligonucleotide probes and confocal laser scanning microscopy. *Microbiology*, **141**, 29-39
- Mattilsynet, 2011. Veileder til drikkevannsforskriften av 4. desember 2001 Versjon 3. Mars 2011
- NS-EN ISO 6222:1999. Vannundersøkelse - Bestemmelse av dyrkbare mikroorganismer (kimtall) - Kolonitelling ved innstøpning i næringsagarmedium (ISO 6222:1999). Norsk standard.
- NS-EN 12780:2008. Vannundersøkelse - Påvisning og telling av *Pseudomonas aeruginosa* - Membranfiltreringsmetode (ISO 16266:2006). Norsk standard
- Rice, E. U., Scarpino, P. V., Reasoner, D. J. Logsdon, G. S. and Wild, D. K. (1991). Correlation of coliform growth response with other water quality parameters. *Journal of AWWA*. **81**:7:98-102.
- van der Kooij, D. and Veenendaal, H. R. (1993). Assessment of the biofilm formation potential of synthetic materials in contact with drinking water during distribution. *AWWA WQTC, Nov. 7-11, 1993, Miami*.
- Wingender, J. and Flemming, H. C. (2004). Contamination potential of drinking water distribution network biofilms. *Water Science and Technology*, **49**:11-12:277-286.