

AUTOMATISCHE ONLINE-ÜBERWACHUNG

BESTIMMUNG DER BAKTERIENZAHL IM ROH- UND TRINKWASSER: RESULTATE AUS DER PRAXIS

Während die kontinuierliche Online-Überwachung von chemischen und physikalischen Parametern in der Wasserversorgung seit Jahren Standard ist, stehen mikrobiologische Analysedaten methodenbedingt erst nach Tagen zu Verfügung. Mit der Durchflusszytometrie ist die Bestimmung der Totalzellzahl und weiterer mikrobiologischer Parameter heute jedoch innerhalb weniger Minuten möglich. Das neue Online-Durchflusszytometer BactoSense wurde in der Praxis erprobt. Ausgewählte Resultate aus Wasserfassungen und Aufbereitungsanlagen werden hier vorgestellt.

Thomas Egli, Microbes-in-Water GmbH; Stefan Zimmermann, Pascal Schärer, Sigrist-Photometer AG*
Jérémy Senouillet, Simon Künzi, bNovate Technologies SA; Oliver Köster, Jakob Helbing, Wasserversorgung Zürich
Paul-Etienne Montandon, La Chaux-de-Fonds; Jean-Félix Marguet, Viteos; Fereidoun Khajehnouri, Ville de Lausanne, Service de l'Eau

RÉSUMÉ

SURVEILLANCE AUTOMATIQUE EN LIGNE DU NOMBRE DE BACTÉRIES DANS L'EAU POTABLE: RÉSULTATS ISSUS DE LA PARTIQUE

La surveillance en temps réel des paramètre chimiques et physiques est une caractéristique standard depuis des années dans le traitement de l'eau potable; les informations microbiologiques ne sont en revanche disponibles qu'après quelques jours, compte tenu de la méthode utilisée. La cytométrie en flux (CMF) permet d'effectuer un suivi de la détermination du nombre total de cellules (NTC) ainsi que d'autres paramètres microbiologiques (par ex. la proportion de «petites» et «grandes» cellules) en quelques minutes et sans intervention humaine.

Les résultats montrent qu'une surveillance en continu et en ligne des paramètres CMF microbiens, soit le nombre total de cellules et les modifications de la flore bactérienne (taille des cellules) n'est plus utopique – au contraire, elle est simple et réalisable rapidement. La CMF en continu permet, pour la première fois, d'utiliser les paramètres microbiens dans un système d'alarme précoce, soit seule, soit associée à l'analyse d'autres paramètres physiques/chimiques en continu.

EINFÜHRUNG

KONTINUIERLICHE ÜBERWACHUNG – SITUATION HEUTE

In vielen Wasserversorgungen ist es in den letzten zwei Jahrzehnten zum Standard geworden – und ist nun nicht mehr wegzudenken –, verschiedene physikalische und chemische Parameter im Rohwasser und/oder bei der Aufbereitung, Speicherung oder Verteilung mithilfe von Online-Sonden kontinuierlich und in Echtzeit zu überwachen. Besonders pH-Wert, Temperatur, Leitfähigkeit, Trübung, Redox-Potential, Sauerstoffgehalt (pO_2), Partikelzahl, UV-Absorption oder freie Chlorkonzentration sind verlässliche und preisgünstige Online-Parameter geworden [1, 2]. Die gleichzeitigen Fortschritte in der Miniaturisierung und Datenübertragung machen es möglich, Messsonden auch an schwer zugänglichen Stellen zu platzieren und damit Trinkwassersysteme flächendeckend rund um die Uhr zu überwachen und zu steuern. Online-gemessene Parameter werden heute alleine oder in Kombination als Komponenten von Frühwarnsystemen eingesetzt [1, 2].

Aufgrund der Lebensmittelgesetzgebung in der Schweiz und vor allem der dazu vom SVGW erstellten Richtlinie W12 «Leitlinie für eine gute Verfahrenspraxis in Trinkwasserversorgungen»

** Kontakt: thomas.egli@microbes-in-water.ch*

[3] sind Online-Messmethoden für die Überwachung an kritischen Lenkungspunkten und darauf aufbauend für die Steuerung/Regelung der Wasserentnahme, der Aufbereitungsprozesse und der Verteilung von Trinkwasser von zentraler Bedeutung. Im Gegensatz zu physikalischen und chemischen Parametern waren allerdings bis vor Kurzem keine Methoden für die schnelle Bestimmung mikrobiologischer Parameter verfügbar, nicht zu sprechen von der Möglichkeit einer Online-Messung in der Praxis. Resultate der kultivierungsabhängigen Plattierungsmethoden für die hygienerelevanten Fäkalindikatorkeime *Escherichia coli* und Enterokokken sind frühestes nach 1–2 Tagen verfügbar; Resultate für die aerob mesophile Keimzahl (AMK), die ein Mass für die generelle mikrobiologische Wasserqualität ist, stehen – je nach Methodenvariante – sogar erst nach 3 bis 10 Tagen zu Verfügung [4]. Die frühzeitige Warnung vor biologischen Gefahren basiert deshalb auf physikalischen oder chemischen Parametern, die meist nur schwach mit den mikrobiologischen Daten korrelieren.

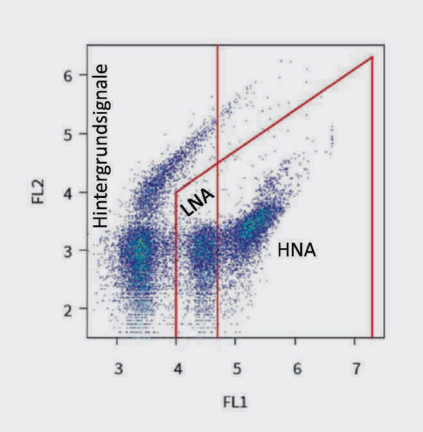
DURCHFLUSSZYTOMETRIE (DFZ) FÜR EINE SCHNELLE MIKROBIOLOGISCHE ANALYSE

In den letzten zehn Jahren hat jedoch die Entwicklung durchflusszytometrischer Methoden zur schnellen Detektion und partiellen Charakterisierung mikrobieller Zellen im Wasser völlig neue Möglichkeiten eröffnet [5–7]. Dabei werden die in der Wasserprobe vorhandenen Mikroorganismen (grösstenteils handelt es sich dabei um Bakterienzellen) mit einem an das Erbmaterial (DNA) bindenden Fluoreszenzfarbstoff kurz angefärbt. So kann die Anzahl der Zellen (Totalzellzahl, TZZ) innerhalb knapp 15 Minuten mit einem Durchflusszytometer ermittelt werden (das Prinzip der Methode wurde ausführlich in [5] beschrieben). Gleichzeitig können dabei auch die Anteile stark bzw. schwach fluoreszierender (vereinfacht gesagt, die Anteile grosser bzw. kleiner) Zellen bestimmt werden (siehe *Box 1*).

Tests in der Praxis zeigten, dass die TZZ-Konzentration und das Verhältnis grosser zu kleinen Zellen ausserordentlich empfindlich gegenüber Verschmutzungen und Systemänderungen reagieren. Vom Rohwasser über die Aufbereitungsprozesse und die Verteilung in kommunalen Netzen bis in die Leitungssysteme von Gebäuden lassen sich die mikrobiologi-

BESTIMMUNG DER TOTALEN ZELLZAHL MITTELS DURCHFLUSSZYTOMETRIE

Die ursprünglich in der Medizin und marinen Mikrobiologie eingesetzte Methode der schnellen Auszählung von Zellen mithilfe eines Durchflusszytometers wurde vor etwas mehr als 10 Jahren erstmals in der Trinkwassermikrobiologie eingeführt [5, 8]. Nach Anfärben mit einem DNA-bindenden Fluoreszenzfarbstoff können alle Zellen (> 99%) in wenigen Minuten detektiert und ausgezählt werden. Die Methode erlaubt nicht nur die Bestimmung der Totalzellzahl (TZZ) sondern auch der Anteile grosser und kleiner Zellen (genauer: stark oder schwach fluoreszierender Zellen; im Fachjargon: HNA = *high nucleic acid content cells* und LNA = *low nucleic acid content cells*). In den meisten Wässern sind die beiden Zellgruppen als «Punktewolken» gut zu erkennen. Bei Änderungen der Umweltbedingungen, des Nährstoffangebots etc. ändert sich meist nicht nur die TZZ, sondern auch das Verhältnis von HNA- zu LNA-Zellen. So hat jedes Wasser seinen durchflusszytometrischen «Fingerabdruck» (manchmal auch mit mehr als zwei klar erkennbaren «Wolken»).



Punktediagramm der TZZ-Bestimmung mit DFZ. Dabei werden die Zellen mit einem DNA-bindenden fluoreszierenden Farbstoff kurz inkubiert und können nach Anregung mit Laserlicht mit einer Wellenlänge λ von 488 nm aufgrund ihres Fluoreszenz- (hier FL 1 und FL 2) und/oder Streulichtsignals detektiert werden. Jeder Punkt im Diagramm innerhalb des roten Feldes entspricht einer einzelnen Zelle. Klar erkennbar sind zwei Punktewolken von Zellen, nämlich solchen, die nur schwach fluoreszieren (LNA), und solchen, die stark fluoreszieren (HNA). Am linken Rand ausserhalb des roten Feldes sind Hintergrundsignale, z. B. aus elektronischem Rauschen, zu sehen. Quelle: [10].

Diagramme de dispersion des données cytométriques permettant de déterminer le NTC. Pour effectuer la CMF, les cellules sont brièvement mises en contact avec un colorant fluorescent qui se fixe à leur ADN. Les cellules sont ensuite détectées par un signal de fluorescence et/ou de lumière diffuse après stimulation avec un rayon laser d'une longueur d'onde λ de 488 nm. Chaque point du diagramme dans la zone rouge correspond à une cellule particulière. 2 nuages de points de cellules sont clairement identifiables: ceux qui ne sont que faiblement fluorescents (LNA) et ceux qui le sont fortement (HNA). Sur le bord gauche de la zone rouge on voit des signaux d'arrière-plan dus par exemple à un bruit de fond électronique. Source: [10].

Nach erfolgreichen Tests in der Praxis wurde die Methode der durchflusszytometrischen Bestimmung mikrobieller Zellen in Wasser (TZZ und Anteile HNA- resp. LNA-Zellen) im Rahmen einer Zusammenarbeit des SVGW, des BLV, der Eawag und Schweizer Wasserversorgern standardisiert, validiert und als Methode 333.1 in das damalige Schweizerische Lebensmittelbuch aufgenommen [9].

Seit 1. Mai 2017 ist die neue Lebensmittelgesetzgebung in Kraft (siehe dazu Artikel von *P. Studer, S. 30* in dieser Ausgabe). Für Trinkwasser besonders relevant ist die neue Trink-, Bade- und Duschwasserverordnung (TBDV; SR 817.022.11), die allerdings – in Anlehnung an die EU-Gesetzgebung – den Parameter TZZ nicht enthält. Wegen der Aufhebung des Schweizerischen Lebensmittelbuchs wird der Verbleib der darin enthaltenen spezifisch schweizerischen Methode(n) gegenwärtig abgeklärt. Das BLV und Interessenvertreter beabsichtigen, solche Methoden resp. eine Methodensammlung betreffend Trinkwasser an anderer Stelle öffentlich zugänglich zu machen, um unabhängig von der EU die Empfehlung innovativer Entwicklungen in der Schweiz weiterhin zu ermöglichen. Zur Diskussion steht auch, ob, ähnlich wie für die Plattierungsmethoden, aus den schon vorhandenen und in der nächsten Zeit sicher vermehrt anfallenden Resultaten Richt-, später vielleicht auch Höchstwerte für die TZZ abgeleitet und in den Anhängen 3 bzw. 1 der TBDV aufgenommen werden können.

Box 1

schen Vorgänge mithilfe dieser beiden durchflusszytometrischen Parameter nicht nur viel schneller verfolgen, sondern auch wirklichkeitsgetreuer und wesentlich reproduzierbarer als mit der AMK-Methode abbilden [8–13]. Die Bestimmung der TZZ und des Verhältnisses grosser/kleiner Zellen mittels DFZ wurde deshalb in der Schweiz standardisiert und validiert und wird offiziell von BLV und SVGW empfohlen (siehe dazu auch *Box 1*). Die durchflusszytometrische Bestimmung der TZZ ist heute eine wichtige Ergänzung (je nach Ansicht sogar Alternative) zur AMK-Bestimmung und wird in der Praxis schon von einigen grossen Wasserversorgern in der Schweiz routinemässig eingesetzt.

AUTOMATISCHE ONLINE-DFZ FÜR ROUTINEANWENDUNGEN

Kurz- und langfristige Veränderungen im Rohwasser und in Trinkwassersystemen sind durch Online-Messungen chemischer und/oder physikalischer Parameter gut belegt. Gründe für Schwankungen reichen von natürlichen Hochwasserereignissen über Verbraucherspitzen bis zu verstopften Filtern oder Stagnation in Leitungen. Dass dies auch für die mikrobielle Flora der Fall ist, sowohl hinsichtlich Konzentration als auch Zusammensetzung, legen viele Untersuchungen nahe, doch sind bis heute wenige aussagekräftige Daten verfügbar [14, 15].

ERSTE SCHRITTE

Die DFZ-Methode blieb trotz der offiziellen Empfehlung bis anhin auf Forschungslaboratorien und einige wenige grosse Wasserversorgungen beschränkt, da die käuflichen Geräte nicht für den Einsatz oder gar für einen Online-Betrieb im Feld geeignet sind: Wasserproben werden normalerweise von Hand gezogen, dann ins Labor transportiert, dort verarbeitet und schliesslich analysiert [14, 15]. Wünschenswert wäre jedoch eine automatische, kontinuierliche Online-Bestimmung der mikrobiologischen Parameter, denn Beispiele zeigen, dass mithilfe von DFZ-Methoden ganz neue und äusserst hilfreiche Informationen über zeitliche Abläufe der mikrobiologischen Zusammensetzung und des Zustands der mikrobiellen Flora in natürlichen und technischen Systemen gewonnen werden können [16, 17]. Vereinzelte Beispiele der DFZ-Automatisierung und Online-Analyse sind schon seit den 1990er Jahren in der Literatur zu finden; dazu gehören z. B. biotechnologische Untersuchungen an Hefe- und Bakterienreinkulturen oder ökologische Studien an autofluoreszierenden Algenpopulationen im Meer und in Seen und Flüssen [7]. Über die ersten Online-Messungen der mikrobiellen Flora in Trinkwassersystemen wurde dagegen erst vor Kurzem berichtet. Dabei wurde ein automatischer Probennehmer und Färbeautomat mit einem kommerziell erhältlichen Durchflusszytometer kombiniert [18, 19]. Mit einer optimierten Geräteversion wurden die Veränderungen der TZZ in Grund- und Oberflächenwasser sowie während einzelner Prozessschritte der Aufbereitung mit unterschiedlicher zeitlicher Auflösung untersucht [14, 20, 21].



Fig. 1 BactoSense integriert in die Online-Analysewand der Grundwasserpumpstation Köniz (mit freundlicher Genehmigung von Bruno Boss, Wasserversorgung Köniz)

Le BactoSense intégré dans le tableau d'analyses en ligne de la station de pompage de nappes phréatiques de Köniz (avec l'aimable autorisation de M. Boss, WV Köniz)

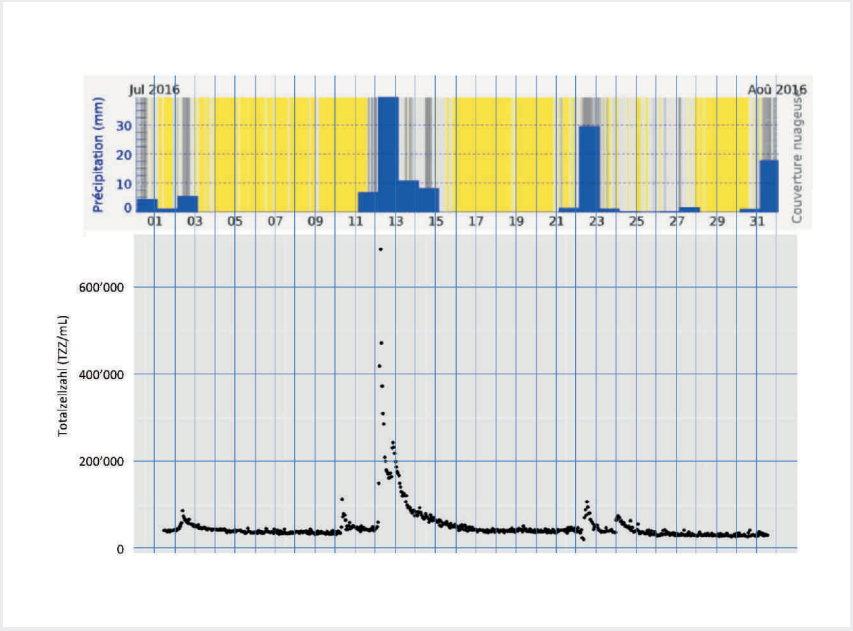


Fig. 2 Auswirkungen eines Regenereignisses auf die TZZ in einer Quellwasserfassung der Wasserwerke Lausanne. Die Daten für die Tagesregenmengen wurden von Meteoblue übernommen.

Effets d'une pluie sur le NTC d'un captage d'eau de source du service de l'eau de Lausanne. Reprise des données pluviométriques de Meteoblue.

PRAXISTAUGLICHE ONLINE-DFZ

Um die durchflusszytometrische Wasseranalyse in der Praxis breit zu etablieren, fehlten bisher auf dem Markt jedoch kleine, tragbare, aber dennoch robuste, einfach zu bedienende und preislich erschwingliche Geräte, die auch an schwer zugänglichen Stellen einen automatischen, kontinuierlichen Betrieb über Wochen und Monate erlauben. Weitere Voraussetzung dafür sind der volle elektronische Austausch der Messdaten, die Möglichkeit des Setzens von Grenz- und Alarmwerten und die Kontrolle derselben. BactoSense, ein Gerät, das diese Anforderungen erfüllt, wurde in den letzten Jahren durch die EPFL-Startup-Firma bNovate Technologies SA entwickelt, zusammen mit der Firma Sigrist-Photometer AG zur Marktreife gebracht und kürzlich im *Aqua & Gas* vorgestellt [100]. Im Verlauf des letzten halben Jahres wurde das Gerät im praktischen Einsatz erprobt *(Fig. 1)*. Nachfolgend werden ausgewählte Beispiele von verschiedenen Einsatzorten vorgestellt.

BEISPIELE AUS DER PRAXIS

BEISPIEL 1
ANALYSE EINES REGENEREIGNISSES

Während ca. eines Monats wurde im Halbstundentakt die Totalzellzahl im Wasser einer Quelle in der Region Lausanne, die Rohwasser für die Wasserversorgung der Stadt Lausanne liefert, mit BactoSense verfolgt. Auf diese Weise sollten bessere mikrobiologische Daten zum Einfluss von Regenereignissen auf die Qualität des Quellwassers gesammelt werden. In der Gegenüberstellung der Resultate mit der Niederschlagsmenge im Einzugsgebiet *(Fig. 2)* lässt sich erkennen, dass sich die TZZ in niederschlagsfreien Perioden auf einem konstanten Niveau von ca. 40 000 Zellen/ml einpendelte. Bei schwachen Niederschlägen stieg die TZZ innerhalb kurzer Zeit auf ca. 100 000 Zellen/ml an und stabilisierte sich innerhalb ca. eines Tages wieder auf dem Trockenwetterniveau. Die starken Niederschläge in der Periode vom 12./13. Juli 2016 führten zu einem sofortigen Anstieg der TZZ um fast das 20-Fache auf ca. 700 000 Zellen/ml. Die Konzentration der Zellen normalisierte sich jedoch nach 3 bis 4 Tagen wieder auf dem ursprünglichen Wert. Die Resultate lassen darauf schliessen, dass die Quelle bei Niederschlägen im Einzugsgebiet relativ schnell einen

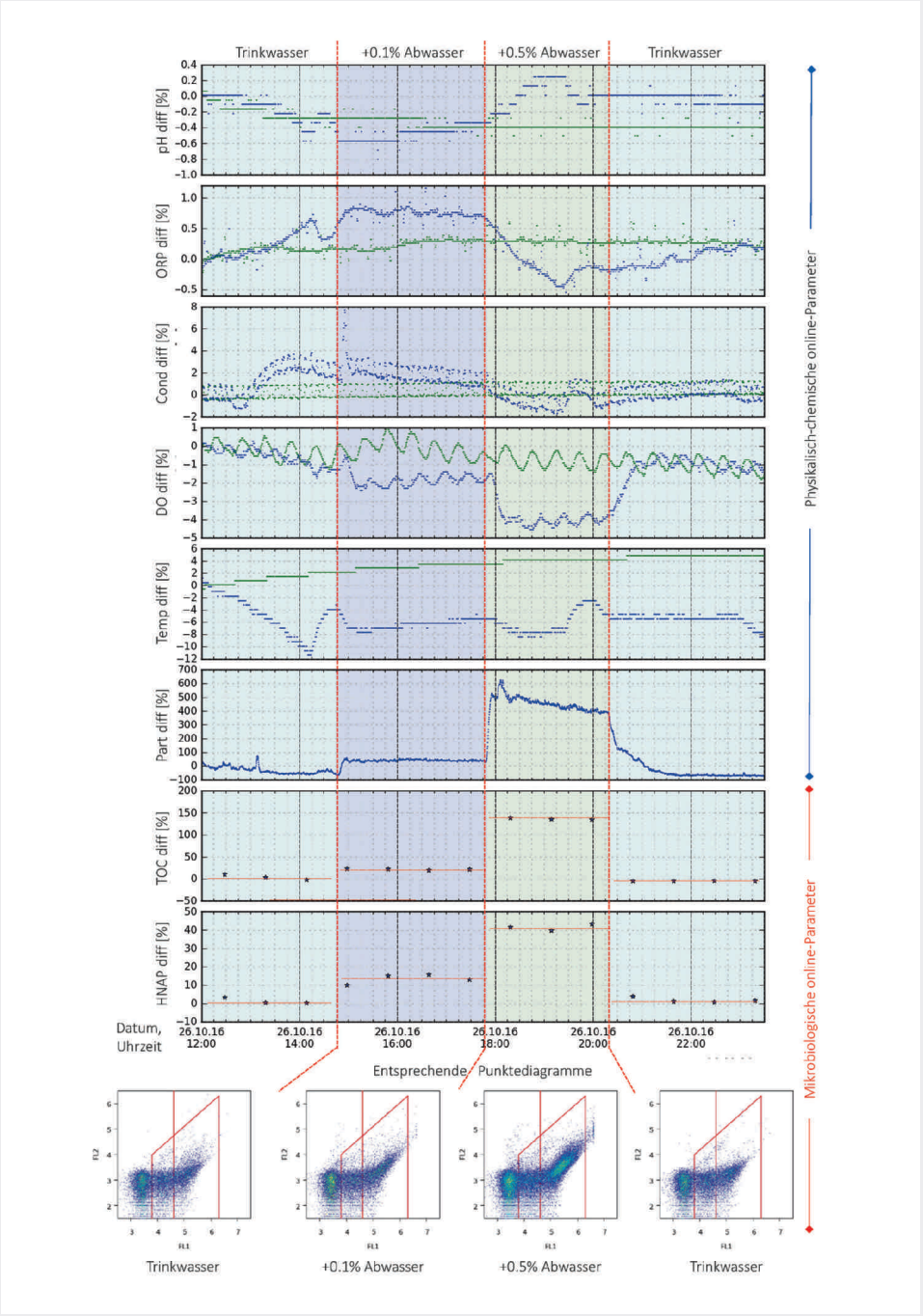


Fig. 3 Versuche zur Detektion einer Trinkwasserverschmutzung durch Abwasser in einem Testverteilnetz der Wasserversorgung Zürich mithilfe ausgewählter Online-Messgeräte. Im kontaminierten Strang (blau) der Testanlage wurden zuerst 0,1%, dann 0,5% gereinigtes Abwasser zugemischt; der Kontrollstrang (grün) wurde nur mit Trinkwasser betrieben. Die chemisch-physikalischen Parameter wurden mit einer Intellitec-Sonde bestimmt, die beiden mikrobiologischen Parameter mit BactoSense. Für alle Parameter ist die prozentuale Differenz (diff[%]) vom Anfangswert im Kontrollstrang aufgetragen. Abkürzungen: ORP, Redox-Potential; Cond, Leitfähigkeit; DO, gelöster Sauerstoff; Temp, Temperatur; Part; Summe aller Partikel ≥ 1 µm; TCC, Totalzellzahl; HNAP, HNA-Anteil (in %).

Essais visant à détecter une pollution de l'eau potable par des eaux usées à l'aide d'une sélection d'appareils de mesure en continu dans un réseau «pilote» de distribution, qui est alimenté par le système d'approvisionnement en eau potable de la ville de Zurich. Dans le tronçon contaminé (bleu) de l'installation test, on a mélangé dans un premier temps 0,1% puis 0,5% d'eaux usées nettoyées, alors que le tronçon de contrôle (vert) n'a été approvisionné qu'avec de l'eau potable. Les paramètres chimico-physiques ont été déterminés à l'aide de la sonde Intellitec. Pour tous les paramètres, on a indiqué l'écart en pourcentage (diff[%]) par rapport à la valeur du tronçon de contrôle. Abréviations: ORP, potentiel redox; Cond, conductivité; DO, oxygène dissous; Temp, température; Part; somme de toutes les particules ≥ 1 µm; NTC, nombre total de cellules; HNAP, proportion HNA (en %).

bedeutenden Anteil Oberflächenwasser enthält.

BEISPIEL 2
ABWASSEREINTRAG INS TRINKWASSER

Im Rahmen des internationalen Forschungsprojektes *Safewater* [22] wurde an der Wasserversorgung Zürich (WVZ) eine Testinstallation aufgebaut, um hydraulische Vorgänge in Leitungsnetzen besser zu verstehen und die bestehenden Modelle zu überprüfen. Sie repräsentiert ein einfaches Wasserverteilnetz, das vollkommen vom operativen Betrieb und Netz getrennt ist. Das ca. 140 m lange Testsystem wird über eine Pumpe gespeist, hat unterschiedliche Rohrverzweigungen und mehrere Entnahme- und Messstellen, an denen Multiparameter-Sonden platziert werden können. Das System besteht aus zwei parallelen Strängen und kann an ausgewählten Stellen mit Markern oder Verunreinigungen kontaminiert werden. Ausgehend vom Ereignis in Adliswil, einer versehentlichen Kontamination von Trinkwasser mit gereinigtem Abwasser [23], wurde am Testsystem untersucht, welche Anteile an Abwasser sich in Trinkwasser mithilfe von Online-Sonden nachweisen lassen. Dazu wurde dem Trinkwasser in einem Strang zunächst 1 ml/l und dann 5 ml/l vorgereinigtes Abwasser (TZZ ≈ 30 × 10^6 Zellen/ml) zugegeben. In einem zweiten Kontrollstrang floss sauberes Trinkwasser. Die chemisch-physikalischen Parameter wurden mit *Intellitec*-Multiparameter-Sonden überwacht, die eine Reihe von Parametern im Minutentakt messen können (z. B. Druck, pH-Wert, Redox-Potential, Leitfähigkeit, gelöster Sauerstoff, Temperatur). Die TZZ und der Anteil grosser Zellen (HNA-%) wurde mit BactoSense in halbstündigen Intervallen automatisch bestimmt.

Die Resultate zeigen klar, dass schon 0,1% gereinigtes Abwasser im Trinkwasser sowohl durch die ca. 25%ige Erhöhung der TZZ als auch über eine Zunahme des prozentualen Anteils grosser Zellen verlässlich festgestellt werden kann *(Fig. 3)*. Bei einem Abwasseranteil von 0,5% wurde ein Anstieg der TZZ auf ca. das 1,5-Fache beobachtet. Aus den erhaltenen Punktediagrammen liess sich ablesen, dass vor allem die Zahl der grossen, stark fluoreszierenden HNA-Zellen bei Abwasserzugabe zunimmt. Das Trinkwasser im Kontrollstrang enthielt etwa gleiche Anteile an grossen und kleinen Zellen.

Als einziger physikalischer Parameter zeigte die Partikelzahl ein ähnliches Muster wie die durchflusszytometrischen Parameter. Es besteht aber keine Proportionalität zwischen TZZ und Partikelzahl. So pendelten sich die gemessenen Partikelkonzentrationen beim 0,5%-Abwasseranteil über längere Zeit nicht bei einem konstanten Wert ein, sondern sanken kontinuierlich ab. Durch ein langsames Absinken der Partikel im Dosierbehälter über die Versuchszeit hinweg könnten die Ergebnisse erklärt werden.

BEISPIEL 3
HORIZONTALFILTERBRUNNEN

Die WVZ nutzt im Hardhof ein Grundwasserfeld, das zusätzlich mit Anreicherungswasser aus unterschiedlichen Quellen gespeist wird. Mithilfe von Horizontalfilterbrunnen wird das angereicherte Grundwasser entnommen. Bei den Anreicherungswässern handelte es sich um unterschiedliche Kombinationen aus aufbereitetem Limmatwasser (aus dem Werk LIWA mit Vorozonung, Flockungssedimentation, Sandfiltration, Ozonung,

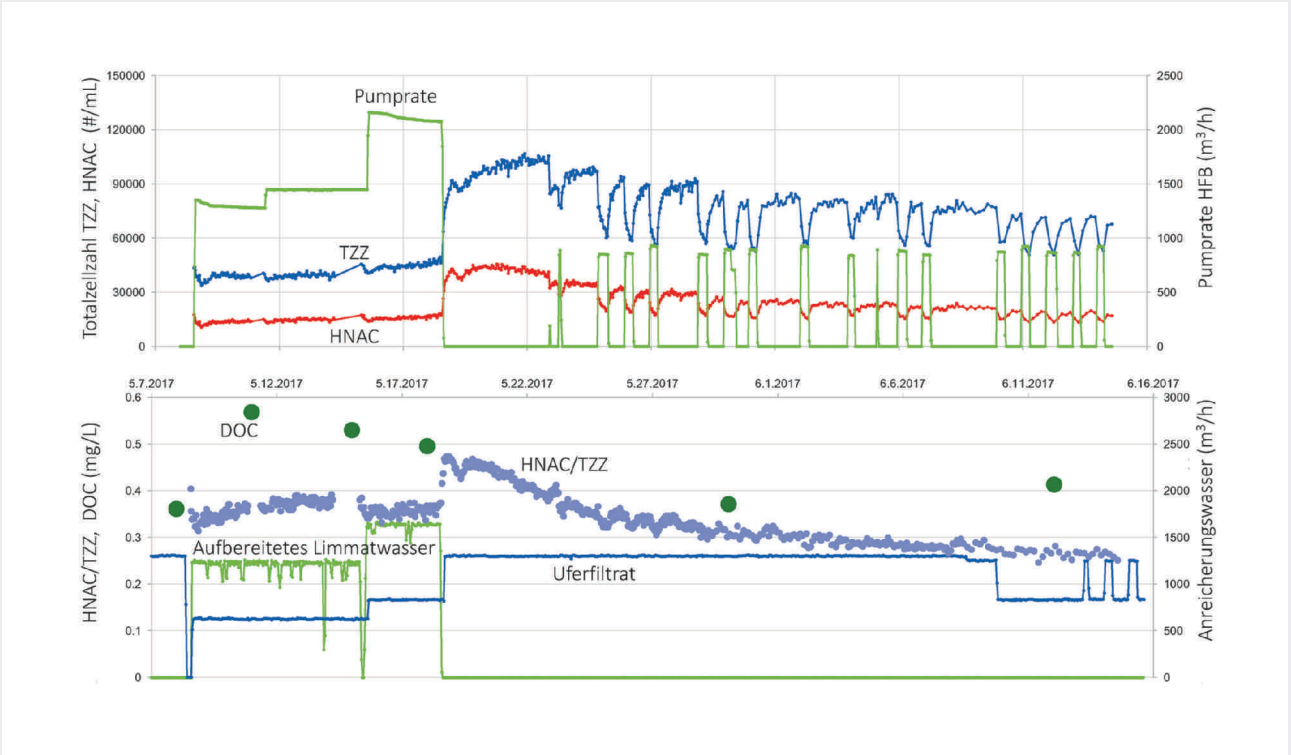


Fig. 4 Einfluss der Zusammensetzung des Anreicherungswassers und der Änderung der Pumprate auf die mikrobiologische Wasserqualität (TZZ und HNA/TZZ-Verhältnis) in einem Horizontalfilterbrunnen des Grundwasserfeldes Hardhof. In der ersten Phase wurde eine Mischung von aufbereitetem Limmatwasser plus Uferfiltrat als Anreicherungswasser eingesetzt, in der zweiten Phase nur noch Uferfiltrat.

Influence de la composition de l'eau enrichie et de la modification du débit de pompage sur la qualité microbiologique de l'eau (NTC et rapport HNA/NTC) dans un puits à filtre horizontal de la nappe phréatique Hardhof. Dans la première phase, on a utilisé comme eau enrichie un mélange d'eau traitée de la Limmat et de filtrat de rive; dans la deuxième phase, on n'a utilisé que le filtrat de rive.

Aktivkohle) und Wasser aus Uferfiltratbrunnen (UF). Ersteres weist ein höheres Verkeimungspotenzial (d. h. höhere DOC-Konzentrationen) auf als letzteres. Ziel der Untersuchung war, den Einfluss der Qualität des Anreicherungswassers und der Entnahmerate aus einem Horizontalfilterbrunnen auf die mikrobiologischen Parameter über längere Zeit kontinuierlich zu verfolgen. Die Resultate sind in *Figur 4* zusammengefasst. Während der ersten 10 Tage wurde eine Kombination aus LIWA und UF (ca. 1:1) als Anreicherungswasser verwendet. Der Anstieg der DOC-Werte im Horizontalfilterbrunnen führte zuerst zu einem leichten, aber kontinuierlichen Anstieg der TZZ bei ebenfalls leicht ansteigendem Verhältnis HNA/TZZ (von 0,33 auf 0,38). Die darauffolgende Erhöhung der Pumprate auf über 2000 m³/h verursachte eine Abnahme des DOC-Gehaltes und eine leichte Abnahme des HNA/TZZ-Verhältnisses (von 0,38 auf 0,35). Als die Wasserentnahme eingestellt wurde, stieg die TZZ im Horizontalfilterbrunnen wegen der Stagnation um mehr als das Doppelte auf ca. 100 000 Zellen/ml an. Gleichzeitig verschob sich das HNA/LNA-Verhältnis in kurzer Zeit zugunsten der grossen Zellen (das HNA/TZZ-Verhältnis stieg auf 0,46 an). Danach wurde die Pumpe intervallweise betrieben und nur Uferfiltrat als Anreicherungswasser eingesetzt. Diese Phase war gekennzeichnet durch ein konsistentes Muster: Bei Wasserentnahme sank die TZZ rasch auf ca. 60 000 Zellen/ml, um beim Abstellen der Pumpe schnell wieder anzusteigen. Gesamthaft sanken die erreichten Niveaus nach den Stagnationsphasen von zuerst ca. 100 000 Zellen/ml (nach Verwendung der LIWA/UF-Mischung) auf 70 000 Zellen/ml (nach Umstellen auf UF als Anreicherungswasser). Gleichzeitig sank auch das HNA/TZZ-Verhältnis von 0,46 auf 0,25. Die Resultate zeigen deutlich, dass sich über die automatische Online-Messung die mikrobiologischen Vorgänge im Horizontalfilterbrunnen sowohl anhand der TZZ als auch des Verhältnisses grosser/kleiner Zellen reproduzierbar und konsistent verfolgen lassen.

BEISPIEL 4
WASSERAUFBEREITUNG

In Le Locle wird zur Wasseraufbereitung *(Fig. 5a)* das Rohwasser zuerst durch eine erweiterte Oxidation (AOP) behandelt (mit O_3 und zusätzlich H_2O_2 in der dritten

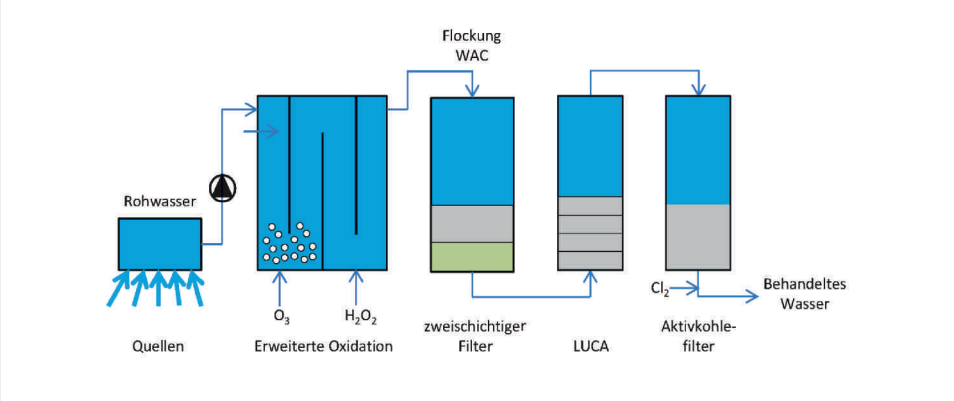


Fig. 5a Schema der Wasseraufbereitung in Le Locle (modifiziert nach [24]).
Schéma du traitement de l'eau au Locle (modifié selon [24]).

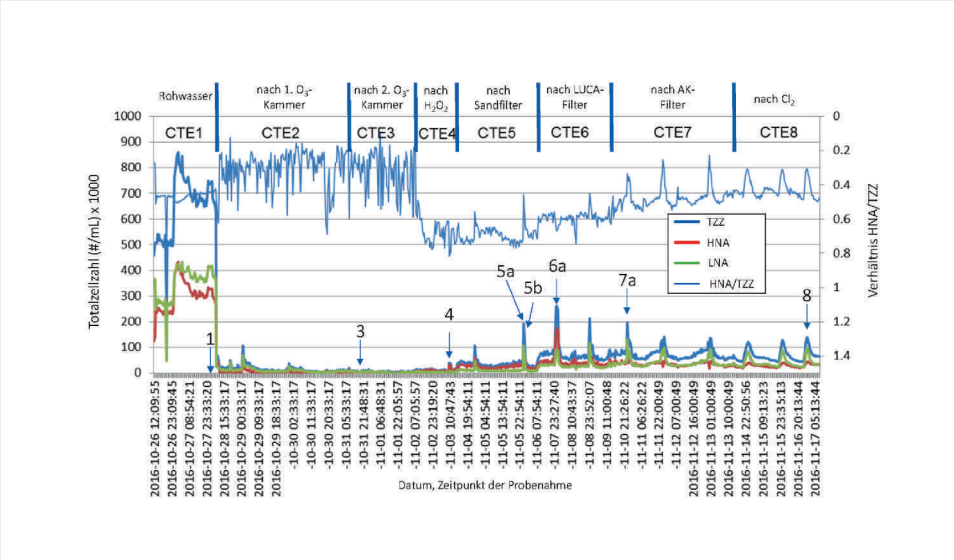


Fig. 5b TZZ und HNA/TZZ-Verhältnis (in %) während der Wasseraufbereitung in Le Locle. Die Zeitpunkte der Probenahmen sind in den Figuren 5b und 5c mit 1 und 3 bis 8 markiert.
NTC et rapport HNA/NTC (en %) pendant le traitement de l'eau au Locle. Les figures 5b et 5c indiquent les prélèvements numérotés 1 et 3 à 8 (voir fig. 5d).

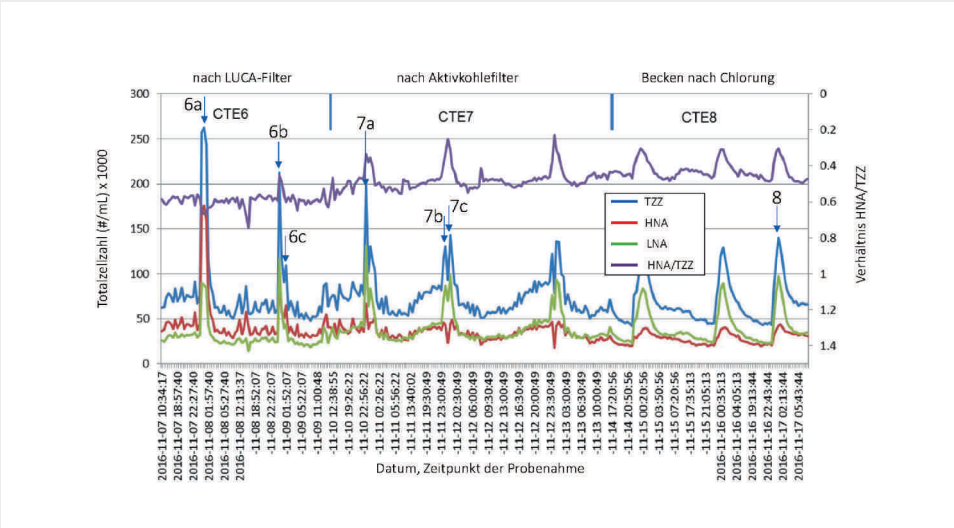


Fig. 5c TZZ und HNA/TZZ-Verhältnis (in %) während der Wasseraufbereitung in Le Locle. Zoom in die Aufbereitungsschritte LUCA-Filter, Aktivkohlefilter und Chlorung (Messstellen CTE6 bis CTE8).
NTC et rapport HNA/NTC (en %) pendant le traitement de l'eau au Locle. Zoom sur les étapes de traitement: filtre LUCA, filtre à charbon actif et chloration (points de mesure CTE6 à CTE8).

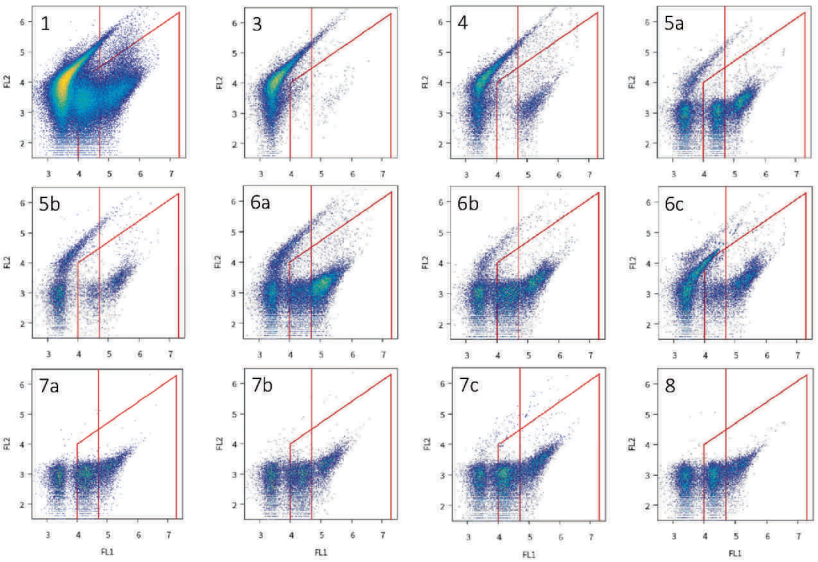


Fig. 5d Punktediagramme der Wasserproben ausgehend vom Rohwasser (CTE1) über die Aufbereitungsstufen CTE3 bis CTE8. Die Zeitpunkte der Probenahmen sind in Figuren 5b und 5c mit Pfeilen markiert und mit 1 und 3 bis 8 gekennzeichnet. Aufgetragen sind die Intensitäten der Fluoreszenzsignale eines detektierten Partikels bei 520 nm (FL1, grün) gegen diejenigen bei > 720 nm (FL2, rot). Das rot umrahmte Feld (gate) begrenzt das Gebiet der TZZ; die senkrechte Linie grenzt kleine Zellen (LNA; linkes Feld) von grossen Zellen (HNA) ab. Am linken Rand, ausserhalb des roten Feldes sind Hintergrundssignale zu sehen, die nicht von Zellen stammen. Das «gate» für die TZZ und die HNA- und LNA-Zellen wurde während der ganzen Versuchsdauer nicht verändert.

Diagrammes de dispersion des échantillons d'eau, de l'eau brute (CTE1) jusqu' aux étapes de traitement CTE3-CTE8. Les figures 5b et 5c indiquent par une flèche les prélèvements numérotés 1 et 3 à 8. Sont reportées les intensités des signaux de fluorescence d'une particule détectée à 520 nm (FL1, vert) par rapport à celle qui a été détectée à > 720 nm (FL2, rouge). La zone encadrée en rouge (gate) limite le domaine du NTC: la ligne verticale sépare les petites cellules (LNA; zone gauche) des grandes cellules (HNA). Sur le bord gauche en dehors de la zone rouge, on distingue des signaux d'arrière-plan qui ne proviennent pas des cellules. Le «gate» pour le NTC et les cellules HNA et LNA n'ont pas été modifiés pendant toute la durée de l'essai.

Oxidationskammer; [24]). Darauf folgen Flockung, Filtration über einen Hydroanthrazit-/Quarzsandfilter und zwei Aktivkohlefilter. Das behandelte Wasser wird vor Abgabe ins Netz zusätzlich gechlort [25]. Die Aufbereitung wird aus energetischen Gründen nachts betrieben (von ca. 23.00 Uhr bis ca. 6.00 Uhr). Ziel der Untersuchung war es, die mikrobielle Flora nach den individuellen Behandlungsschritten zu quantifizieren und auch den zeitlichen Verlauf der mikrobiellen DFZ-Parameter in den aufeinanderfolgenden Schritten während zwei bis drei Tageszyklen zu ermitteln.

Einen Überblick über die ganze Versuchszeit gibt *Figur 5b*. *Figur 5c* zeigt einen Zoom in die letzten 3 Aufbereitungsschritte. Die Fingerabdrücke (Punktediagramme) ausgewählter Proben sind in *Figur 5d* zu sehen. Die TZZ im Rohwasser (CTE1) schwankte stark zwischen 500 000 und 800 000 Zellen/ml. In den ersten beiden Oxidationskammern (CTE2, CTE3) sank die TZZ drastisch ab auf Werte zwischen 0 und 5000 Zellen/ml. Zwei Spitzen mit bis zu 100 000 Zellen/ml wurden während des Untersuchungszeitraums gemessen. Diese deuten auf eine kurzzeitige Erschöpfung des Oxidationsmittels hin. Die grossen Schwankungen des HNA/TZZ-Verhältnisses im Ozonungsreaktor lassen sich auf die niedrigen Zellkonzentrationen nahe der Bestimmungsgrenze zurückführen. Schon am Ausgang der AOP-Stufe (CTE4) ist eine aktive, planktonische mikrobielle Flora zu erkennen. Der hohe Anteil grosser Zellen weist auf die Anwesenheit schnell wachsender Mikroorganismen hin, welche die durch die Oxidation produzierten, gut verwertbaren Kohlenstoffverbindungen nutzen. Die nachfolgende Passage durch den kombinierten Sandfilter (CTE5) führte zu einem stabilen planktonischen Aufwuchs im behandelten Wasser mit einer Konzentration von 30 000 bis 40 000 Zellen/ml. An diesem Punkt lagen mehrheitlich grosse Zellen vor (HNA-Anteil zwischen 60 und 70%). Markant sind die TZZ-Spitzen mit bis zu 250 000 Zellen/ml (CTE6, nach LUCA-Filter), die jeweils kurz nach Inbetriebnahme der Anlage (ca. 23.00 Uhr) beobachtet wurden. Erklären lassen sich diese TZZ-Spitzen durch das Aufwachsen der Mikroorganismen auf den Partikeln des LUCA-Filters und in der freien Wasserphase während der Stagnationszeit und ihrem Ausschwemmen bei Betriebsbeginn. Auch in den nachfolgenden Behandlungsstufen sind diese Spitzen gut sichtbar. Der Zoom in die Daten der beiden Aktivkohlefilter (CTE6 und CTE7; *Fig. 5c*) zeigt weiter, dass der recht scharfe Peak, der an der Messstelle CTE6 gefunden wurde, auch an der nachfolgenden Messstelle CTE7 beobachtet wurde. Hier war er allerdings deutlich breiter. Verdünnung führte wahrscheinlich zu dieser Verbreiterung. Zusätzlich wurde die TZZ-Spitze wohl mit abgeschwemmten Zellen aus dieser Stufe supplementiert *(Fig. 5b* und *5c)*. Die weitere Verdünnung nach diesen Stufen führte zu einem breiten Peak mit einem Maximum von ca. 120 000 bis 140 000 Zellen/ml, der bis ins vollständig aufbereitete und gechlorte Trinkwasser verfolgt werden konnte. Bemerkenswert ist, dass es sich bei den abgeschwemmten Zellen zu einem grossen Teil um kleine LNA-Zellen handelte, während die Konzentration der grossen HNA-Zellen in dieser Zeit kaum zunahm (in Stufe CTE7 sogar vorübergehend abnahm). Das ist sowohl an den markanten Spitzen der LNA-Zellzahlen als auch am zeitlich damit korrelierenden, vorübergehenden Absinken des Anteils grosser Zellen erkennbar *(Fig. 5b* und *5c)*. Offenbar waren die Wachstumsbedingungen für die kleinen LNA-Zellen während der Stagnationszeiten äusserst vorteilhaft.

DANK

Die Autoren danken den Herren *Boss* (Wasserversorgung Köniz) und *Marquet* (Universität Neuenburg) für die fachtechnische Montage des Bacto-Sense-Gerätes. Unser Dank geht auch an *Cornelia Schöpfer* und *Claudia Maria Egli* für die sorgfältige Durchsicht des Manuskripts.

FAZIT

Ziel dieser Untersuchungen war, das für den kontinuierlichen Online-Einsatz entwickelte, vollautomatische Durchflusszytometer BactoSense [10] unter verschiedensten Praxisbedingungen auf seine Tauglichkeit zu testen. Sowohl eine Kontamination von Trinkwasser mit Abwasser, erhöhte Konzentrationen von Mikroorganismen in Quellwasser nach Regenfällen als auch das Reagieren verschiedener Prozessschritte bei Inbetriebnahme einer Wasseraufbereitungsanlage liessen sich mit einer halbstündlichen Auflösung beinahe in Echtzeit (hier meist mit einer Verzögerung von 30 Minuten) über einen Zeitraum von mehreren Wochen hinweg kontinuierlich und ohne menschliche Intervention verfolgen. Das automatische Online-Durchflusszytometer lieferte vergleichbare Informationen, wie sie in den letzten Jahren mithilfe von Online-Geräten gesammelt wurden, die für wissenschaftliche Untersuchungen konstruiert worden waren [14, 19–21].

Die Resultate zeigen, dass eine routinemässige kontinuierliche Online-Überwachung mikrobieller DFZ-Parameter (hier TZZ und Veränderungen der Flora bezüglich Zellgrössen) heute kein Wunschgedanke mehr, sondern einfach und schnell möglich ist. Die Online-DFZ erlaubt erstmals auch den Einsatz mikrobiologischer Parameter in Frühwarnsystemen, alleine oder in Kombination mit anderen physikalischen und/oder chemischen Online-Parametern.

BIBLIOGRAPHIE

[1] *Banna, M. H. et al. (2014): Online drinking water quality monitoring: review on available and emerging technologies. Critical Reviews in Environmental Science and Technology 44: 1370–1421*

[2] *Storey, M. V. et al. (2011): Advances in on-line drinking water quality monitoring and early warning systems. Water Research 45: 741–747*

[3] *SVGW (2017): Richtlinie W12 – Leitlinie für eine gute Verfahrenspraxis in Trinkwasserversorgungen*

[4] *Baumgartner, A. (2013): Bakteriologische Trinkwasserkontrolle. Ein historischer Rückblick. Aqua & Gas 11/2013: 28–34*

[5] *Egli, T. (2012): Mikrobiologische Trinkwasseranalyse – Entwicklung, Stand, Ausblick. Aqua & Gas 5/2012: 14–22*

[6] *Egli, T.; Bucheli, M. (2014): Wie viele Zellen sind im Trinkwasser – Durchflusszytometrie in der mikrobiologischen Trinkwasseranalyse: Wie weiter? Aqua & Gas 11/2014: 90–98*

[7] *Egli, T.; Kötzsch, S. (2015): Flow cytometry for rapid microbiological analysis of drinking water: from science to practice – an unfinished story. In: Flow Cytometry in Microbiology, Technology and Applications, pp. 175–216. Wilkinson, M. G. (Editor). Caister Academic Press, Norfolk UK*

[8] *Hammes, F. et al. (2008): Flow-cytometric total bacterial counts as a descriptive microbiological parameter for drinking water treatment processes. Water Research 42: 269–277*

[9] *Anonymus (2012): Bestimmung der Totalzellzahl und des quantitativen Verhältnisses der Zellen niedrigen bzw. hohen Nukleinsäuregehaltes in Wasser mittels Durchflusszytometrie. Schweizerisches Lebensmittelbuch, Methode 333.1. BLV, Bern*

[10] *Egli, T.; Zimmermann, S. (2017): Online-Überwachung der Bakterienzahl. Aqua & Gas 2/2017: 84–85*

[11] *Lautenschlager, K. et al. (2013): A microbiology-based multi-parametric approach towards assessing biological stability in drinking water distribution networks. Water Research 47: 3015–3025*

[12] *Nescerecka, A. et al. (2014): Biological instability in a chlorinated drinking water distribution network. PLoS ONE 9(5) e96354.*

[13] *Van Nevel, S. et al. (2017): Flow cytometric bacterial cell counts challenge conventional heterotrophic plate counts for routine microbiological drinking water monitoring. Water Research 113: 191–206*

[14] *Besmer, M. D. et al. (2017): Online flow cytometry reveals microbial dynamics influenced by concurrent natural and operational events in groundwater used for drinking water treatment. Scientific Reports 6: 38462*

[15] *Prest, E. I. et al. (2016): Long-term bacterial dynamics in a full-scale drinking water distribution system. PLoS ONE 11(10) e0164445*

[16] *Lautenschlager, K. et al. (2010): Overnight stagnation of drinking water in household taps induces microbial growth and changes in community composition. Water Research 44: 4868–4877*

[17] *Egli, T. et al. (2011): Flow cytometry-based methods for fast microbiological analysis of drinking water and their application in practice. International Journal of Water Management, Bluefacts2011, 70–77 (http://www.wvgw.de/dyn_pdf/bluefacts2011/)*

[18] *Hammes, F. et al. (2012): Development and laboratory-scale testing of a fully automated online flow cytometer for drinking water analysis. Cytometry Part A, 81A: 508–516*

[19] *Helbing, J. et al. (2012): Online-Flowzytometrie in der Praxis – von der Platte über die Zelle zur Clusteranalyse. Aqua & Gas 5/2012: 28-33*

[20] *Besmer, M. D. et al. (2016): Online-Durchflusszytometrie in der Praxis – Fenster in die Welt mikrobiologischer Dynamiken in Wasser – von der Quelle bis zum Wasserhahn. Aqua & Gas 7/8/2016: 73–77*

[21] *Besmer, M. D.; Hammes, F. (2016): Short-term microbial dynamics in a drinking water plant treating groundwater with occasional high microbial loads. Water Research 107: 11–18*

[22] *Rieder, A. et al. (2017): Abschluss des EU-Safewater-Projekts: Mehr Sicherheit für die Trinkwasserverteilung. Aqua & Gas 4/2017: 40–44*

[23] *Breitenmoser, A. et al. (2011): Outbreak of acute gastroenteritis due to a washwater-contaminated water supply, Switzerland, 2008. Journal of Water and Health 9: 569–576*

[24] *Enzmann, P. et al. (2014): AOP in der Schweiz – Abbau von Fremdstoffen im Trinkwasser durch erweiterte Oxidation. Aqua & Gas 9/2014: 24–32*

[25] *Montandon, P.-E. et al. (2016): Contamination de l'eau par des norovirus – réseau du Locle, juillet 2015: investigations et perspectives. Aqua & Gas 9/2016: 20–30*



SDR 11	Medium	Art. Nr.
25x2,3	Wasser	24960
32x3,0	Wasser & Gas	24961
40x3,7	Wasser & Gas	24962
50x4,6	Wasser & Gas	24963
63x5,8	Wasser & Gas	24964
SDR 17	**Medium**	**Art. Nr.**
25x2,3	Gas	24960