

Gode resultater med ny hurtigmetode til måling af totalmikroorganismer i drikkevand

I 2005 valgte Københavns Energi, Vands laboratorium at afprøve en ny hurtigmetode med et fastlagt testprogram

Af Niels Erik Bjergaarde, Helle Hansen og Søren Lind, Københavns Energi, Vand og Morten Miller og Morten Reeslev, MycoMeter

I de senere år har der været en stigende interesse for nødvendigheden af og behovet for nye effektive mikrobiologiske hurtigmetoder til kontrol af vandforsyning. Ønsket er at nedsætte aktionstiden/responstiden ved vandkvalitets-problemer og at finde redskaber, der kan styrke arbejdet med sikring af vandkvaliteten i drikkevandsforsyningen.

BactiQuant (BQ) er en ny, danskudviklet hurtigmetode til måling af totalmikroorganismer i drikkevandssystemer [1]. Metoden er baseret på en velafprøvet og patenteret teknologi, som det danske iværksætterfirma MycoMeter allerede anvender til måling af skimmelsvampe i bygninger [2].

Metoden

Med BQ-metoden måles i vandprøven aktiviteten af et enzym, der er alment til stede i bakterier. Analysen er simpel og kan gennemføres med en samlet analysetid på typisk 20–40 minutter. Til sammenligning kræver nuværende standardmetoder en analysetid på 48–72 timer.

Analyseresultaterne (BactiQuant-tallet) beregnes på grundlag af standardbetingelser og er derfor umiddelbart sammenlignelige uanset hvem der har udført analysen, eller hvor den er udført. BQ-tallet er et mål for hvor stor enzymaktivitet, der er i vandprøven. Målekonceptet er simpelt; jo højere enzymaktivitet, jo større bakterieindhold. Enzymaktiviteten måles ved reaktion med et fluorogent enzymsubstratanalog, som efter hydrolysering producerer en fluorophor. Aktiviteten måles i FluorescensEnheder (FE). Typiske målinger i rent drikkevand giver under 100 FE. Anvendelsen af metoden forudsætter ikke, at man har labo-

ratoriefaciliteter, men personalet, som udfører analysen, skal gennemgå en kort uddannelse med efterfølgende certificering.

Prøvetagningen foregår ved filtrering af en vandprøve. Filtreringen kan ske fra en udtaget vandprøve i prøveflaske eller direkte fra prøvehane ved montering af en haneadapter, hvorved man opnår en yderligere fleksibilitet mht. prøvemængdens størrelse.

I denne afprøvning anvendtes ikke haneadapter. Alle prøver blev udtaget i prøveflasker.

BQ-udstyret findes i en stationær og i en kompakt transportabel udgave, der gør det muligt at foretage undersøgelser og analyser i felten direkte ved prøvetagningsstedet.



Afprøvning af BQ-udstyret (stationær udgave) i Københavns Energi, Vands akkrediterede driftslaboratorium. Laborant Helle Hansen gennemfører her en af de mange testmålinger.

Afprøvning af metoden

På basis af Københavns Energi, Vands hidtidige erfaringer med hurtigmetoder blev der i samarbejde med MycoMeter opstillet et antal succeskriterier for metodens anvendelighed.

Et praktisk og funktionelt overvågningssystem af ledningsvandets mikrobiologiske kvalitet forudsætter, at man kan opfatte afvigelser fra det normale og gennemføre korrigerende handlinger inden de gældende grænseværdier overskrides. Det var derfor afgørende, at data fra testprogrammet kunne bruges til at fastlægge operationelle aktionsgrænser.

Målekampagnen omfattede 25 lokaliteter og fem forskellige vandtyper, og den blev udført i perioden maj til september i 2005 (tabel 1).



Haneadapter med filter monteret på vandarmatur.

4916 3388

*Ring – vi venter ved telefonerne
klar til at hjælpe dig, hvis du står og mangler nyt eller brugt udstyr*

 <p>Marianne Ingemann Omstilling Reception Debitorbogholderi Direkte: 4915 0046</p>	 <p>Lilian Watson Garler Sekretær, Kalibrerings- og kontraktplanlægning Direkte: 4915 0034</p>
 <p>Emil Damm Produktspecialist: LANCER laboratorieopvaskemaskiner Hirayama autoklaver m.m. Direkte: 4915 0033/2715 9506</p>	 <p>Nicolai Holmer Johansen Produktspecialist: Applikon fermenteringsudstyr MetOne partikeltællere Diverse softwareløsninger Direkte: 4915 0039/2715 9502</p>
 <p>Hans Peter Terp-Madsen Produktspecialist: Neodisher® lab. opvaskemidler Ekspedition Indkøb og meget mere Direkte: 4915 0031</p>	 <p>Otto Andersen Lager og ekspedition Direkte: 4915 0041/2715 9503</p>
 <p>Anders Buch Servicetekniker Tilkaldservice Kontraktservice Direkte: 2715 9507</p>	 <p>Hamdo Mujcic Servicetekniker Sporbar kalibrering af partikeltællere</p>
 <p>Vivi Damm Økonomi Personale Direkte: 4915 0040/2715 9501</p>	 <p>Claus Damm Direktør Produktspecialist: danLAF Alle serviceopkald Direkte: 4915 0030/2715 9500</p>

Med venlig hilsen

 CLAUS DAMM A/S
 Claus Damm

UDSTYR TIL STERIL PRODUKTION – BIOTEKNOLOGI - FORSKNING

Prøvetype	Ab vandværk	Ledningsvand (Stabilprøve)	Ledningsvand (Straksprøve)	Råvand	Vandværksfiltre	I alt
Antal	119	71	70	27	6	293
Lokaliteter	7	15*	15*	2	1	25

* samme lokalitet

Tabel 1. Oversigt over vandprøvetyper og antal gennemførte analyser.

Prøvetagningen blev foretaget af driftslaboratoriets akkrediterede prøvetagere iht. standardiseret prøveudtagningsmetode for mikrobiologiske vandprøver. Desuden blev der i Københavns Energi, Vands akkrediterede laboratorium udført sammenlignende kimtællinger ved 22°C og 37°C iht. DS/EN ISO 6222.

I praksis blev »straks-prøver« udtaget i samme prøveflaske til både BQ-analyse og totalkims-analyse i henhold til DS-metode. Det var af praktiske årsager ikke muligt for »stabil«-prøver, som blev udtaget i separat 250 ml prøveflaske.

Sammenfattende skulle testprogrammet demonstrere:

- At metoden er robust og giver reproducerbare resultater.
- At man på baggrund af data kan etablere et niveau for normaltilstand (»baseline«) og tilnærmet normalfordeling for Københavns Energi, Vands vand.
- At der på basis af »baseline« og normalfordeling kan etableres målekategorier og såkaldte aktionsgrænser, som kan bruges i den daglige driftskontrol og overvågning af vandkvaliteten.

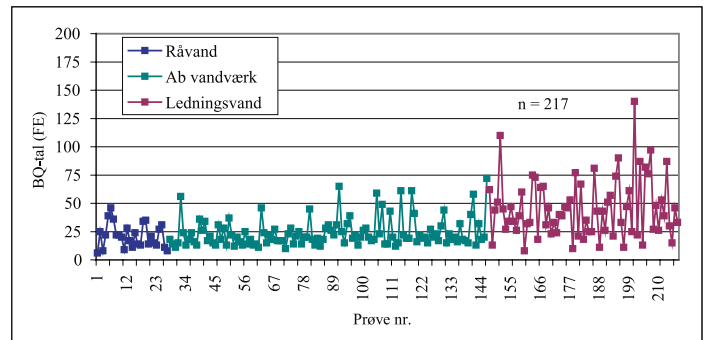
Resultater

BQ-niveau for forskellige vandprøvetyper

Figur 1 viser »baseline«-data baseret på resultaterne af BQ-analyser i tre vandtyper på såkaldte »stabil«-prøver, hvor prøvetagningen iht. almen praksis foretages, når det udtagne/løbende vands temperatur er blevet stabil. Det var forventet, at bakterieniveauet i disse vandtyper generelt ville være lavt med det lave-

ste niveau i »friskt« råvand og det højeste niveau i vandprøver fra ledningsnettet, hvor vandet har en relativ højere opholdstid. Den svagt stigende tendens i BQ-tallet fra råvand til ledningsvand var således i god overensstemmelse med forventningerne. BQ-tallet for disse vandtyper lå i intervallet fra under meto-

dens detektionsgrænse for fluorescensmålingen, dvs. den mindste fluorescensværdi som er signifikant forskellig fra nul på 8 FE (p < 0,05) og op til 140 FE.



Figur 1. »Baseline«-data. Illustration af BQ-niveau for tre forskellige vandprøvetyper.

Inddeling af BQ-værdier

For bedre at anskueliggøre data fra »baseline«-målingerne er resultatet af BQ-analyserne inddelt i intervaller. Herefter er antallet (frekvensen) af BQ-tal, der falder inden for hvert interval, opgjort. Resultatet er en tilnærmet normalfordelingskurve (figur 2). Figuren viser en typisk logaritmisk fordeling, som forventet i en undersøgelse af denne karakter. Senere anvendes »baseline«-data og tilnærmelsen til normalfordelingen, som basis for etablering af operative grænseværdier.

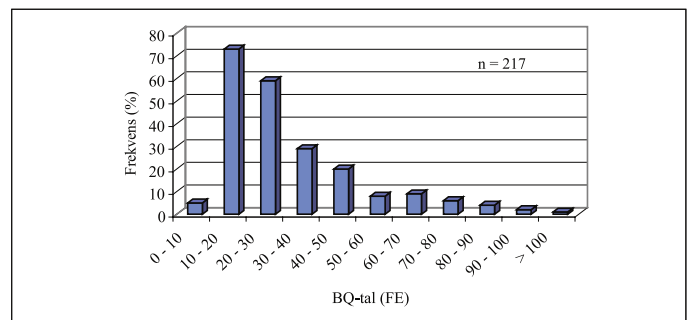
Metodens detektionsgrænse:

En stor styrke ved BactiQuant-metoden er, at den kan tilpasses til at måle på mange forskellige typer vand. Fra det meget rene næsten sterile til det meget forurenede. Denne styrke opnås ved at variere to faktorer; reaktionstiden og mængden af væske der filtreres.

En given mængde bakterier indeholder en bestemt mængde enzym. Denne mængde enzym vil danne mere produkt, hvis man øger reaktionstiden, altså den tid enzymet reagerer med substratet. Ønsker man at måle på væsker med et meget lavt indhold af bakterier, kan man derfor øge reaktionstiden. I princippet kan metoden detektere én bakterie, hvis blot reaktionstiden er lang nok. I de fleste situationer ønsker man så kort reaktionstid som muligt. En kortere reaktionstid kan opnås ved at øge den mængde vand, der filtreres. Øges vandmængden, øges mængden af bakterier der fanges på filteret og dermed mængden af enzym. En større mængde enzym producerer mere fluorescens pr. tidsenhed. I meget rene væsker med lav koncentration af bakterier kan man således filtrere store mængder (mange liter) og derved opnå en relativt lav reaktionstid.

Standardbetingelserne for bakteriologisk undersøgelse af drikkevand er fastsat til en reaktionstid på 30 minutter ved 23°C og filtrering af 250 ml vand.

Mycometer arbejder p.t. med at fastlægge passende standardbetingelser for andre vandtyper og er derfor interesseret i at høre fra firmaer med specielle vandtyper eller problemstillinger. Metoden anvendes i dag, ud over i drikkevand, til bl.a. undersøgelser af recirkuleret vand fra røggrensningsprocesser, varmt brugsvand og industrielt procesvand m.m.



Figur 2. Fordelingen af »baseline«-data viser en tilnærmet normalfordelingskurve.

Prøvetyperne »straks«-prøve og »stabil«-prøve:

I forbindelse med alle prøvetagninger i ledningsnettet blev der udtaget »straks«-prøver. I modsætning til normal prøvetagningspraksis af vandprøver udtages »straks«-prøven umiddelbart (det første vand i hanen), dvs. uden en indledende stabilisering af prøvetemperaturen. Formålet med analyser af »straks«-prøver var at måle på vandprøver, hvor vi erfaringsmæssigt vidste, at der var et relativt højt indhold af bakterier. BQ-tallet for »straks«-prøver lå i intervallet 25 FE til over fluorometerets maksimale aflæsning på ca. 6000 FE.

For »straks«-prøverne fordelte analyseresultaterne sig sådan, at 75% af målingerne gav BQ-tal højere end 200 FE.

Kun i to tilfælde ud af 293 prøvetagninger var der en betydelig uoverensstemmelse mellem resultatet af BQ-målingen og totalkimtal. I de to tilfælde viste resultatet af BQ-analysen et lavt niveau af bakterier i en »stabil«-prøve, mens total-kimtallet var højere end 200 CFU/ml (ColonyFormingUnits/ml ≈ bakterier/ml).



Full dose of business

Analytica 2006

New Munich Trade Fair Centre, April 25 – 28

20th International Trade Fair and *Analytica Conference*

Full of power at the trade fair for solutions in analysis, laboratory technology and **BIO**technology/life sciences. Untainted and without alternatives: including the presence of market leaders, exhibits that depict the value-added chain in its entirety, and the foremost event for cutting-edge research in Europe, the *Analytica Conference*.

Experience your business world from its strongest side!

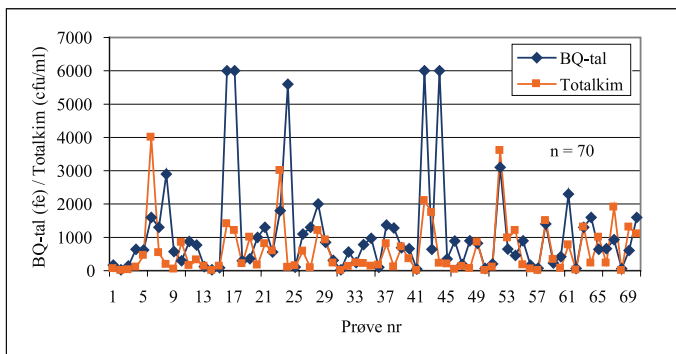
www.analytica-world.com

To optimize your preparations for the fair, request your visitor's brochure now:

Organizer:
Messe München GmbH
Information, catalogs, admission tickets:
Messe München i Danmark
Det Tysk-Danske Handelskammer
Ulrike Møgelvang, Børsen, 1217 København K
Phone: +45 33 41 10 39, um@tyskehandelskammer.dk

Buy your
ticket now:
www.analytica.de/tickets

Efter gennemgang og diskussion af resultaterne er der imidlertid opstået tvivl om de to målingers rigtighed. De efterfølgende »stabil«-prøver blev som tidligere nævnt udtaget til to flasker, en for hver analyse. En manglende stabilisering af den mikrobiologiske kvalitet i »stabil«-prøven kan være en forklaring på uoverensstemmelsen mellem prøveresultaterne. Efterfølgende omprøver viste i begge tilfælde normalt total-kimtal og forventelig overensstemmelse mellem BQ-tal og total-kims-analyse.



Figur 3. Illustration af sammenhørende BQ-tal og total-kimtal i »straks«-prøverne.

Resultaterne af totalkims-analyserne i »stabil«-prøverne viste et gennemsnitligt indhold af bakterier på 10 CFU/ml modsvaret af et gennemsnitligt BQ-tal på 30 FE. I »straks«-prøverne var det gennemsnitlige indhold af bakterier derimod 600 CFU/ml modsvaret af et gennemsnitligt BQ-tal på 1124 Fe. Altså i begge re-

gimer en god overensstemmelse mellem BQ-analyser og resultatet af totalkims-analyser.

Figur 3 viser BQ-tal og total-kimtal i »straks«-prøverne. Som man kan se af figuren, var der en god overensstemmelse mellem resultaterne af de to analyser. Høje total-kimtal i »straks«-prøverne modsvarer altid af høje BQ-tal.

Operationelle grænseværdier

Testprogrammet udført af Københavns Energi, Vand viste, at BQ-metoden er velegnet til at differentiere mellem vandprøver med en normalt tilstand for vandforsyningens vandkvalitet og vandprøver med unormale høje bakterietal. Det har fra begyndelsen været en vigtig forudsætning for, at metoden kan bruges i den daglige driftskontrol hos Københavns Energi, Vands driftslaboratorium. På basis af »baseline«-målingerne og den tilnærmede normalfordeling af data (figur 2) er der etableret nogle operative grænseværdier, som gør det muligt hurtigt at opfange afvigelser og sætte ind med korrigerende handlinger.

Vi har med udgangspunkt i HACCP-principperne (Hazard Analysis Critical Control Points) valgt at operere med tre kvalitetskategorier for den mikrobiologiske kvalitet af vandforsyningens ledningsvand:

Grøn kategori: BQ-tal \leq 40; Bedste vandkvalitet

Gul kategori: $40 <$ BQ-tal \leq 200; Mellem vandkvalitet

Rød kategori: BQ-tal $>$ 200; Uacceptabel vandkvalitet

Grøn kategori kan på basis af data fra testprogrammet opnås i 75% vandprøver fra vand med forventet lavt bakterieindhold. Denne kategori er acceptabel uden forbehold. Ved ledningsreoveringer og større indgreb i vandforsyningens installationer vil denne målekategori kunne fungere som ac-



Specialister i

- Automatiseret Fastfaseoprensning Gilson ASPEC XL, ASPEC XLi, ASPEC XL4.
- Automatisering af væskehåndtering.
- HPLC, LC, SFC kromatografi.
- ERWEKA Dissolution systemer.
- Avancerede systemer til tabletkontrol.
- Salg og kalibrering af Gilson pipetter.



Biolab A/S · Sindalsvej 29 · DK-8240 Risskov
 Telefon 8621 2866 · Telefax 8621 2301
 E-mail: sales@biolab.dk

Ph.d.-projekt

Pneumatisk ventilering

Pneumatisk ventilering er tænkt som et alternativ til konventionel jordventilering, der bruges, når forureninger skal fjernes fra lavpermeable områder af lagdelt jord. Teknikken er baseret på, at den umættede jordzone påføres store, dynamiske fronter af undertryk. Fronterne påføres ved cyklisk at sænke trykket i jordens gasfase og derefter frigive trykket igen. Gennem studiet blev metoden testet ved laboratorieforsøg med en 2D-rende. Laboratoriarbejdet omfattede ventileringsforsøg på homogene og heterogene sandpakninger forurenet med trichlorethylen (TCE). Det viste sig, at når man skiftede fra konventionel ventilering til pneumatisk ventilering steg fjernelsesraten kraftigt. Forsøgene afslørede ikke årsagen til den forbedrede effekt af pneumatisk ventilering.

For at fastlægge mekanismerne bag pneumatisk ventilering opstilledes en numerisk model med baggrund i forsøgsresultaterne. Den numeriske model viste, at den dominerende mekanisme i pneumatisk pumpning er gasudvidelse. Når trykket sænkes, udvides gasfasen, og der mobiliseres en stofflux i alle områder af forureningsfanen i det lavpermeable område.

Efter at have identificeret årsagen til effekten af pneumatisk

ceptgrænse i forbindelse med kvalitetskontrol og »normalisering« af vandkvaliteten. Vandprøver, der falder inden for gul kategori, har et øget indhold af bakterier ift. bedste kvalitet. I Københavns Energi, Vands forsyningsystem har målinger i denne kategori ikke givet anledning til overskridelser af grænseværdier for kimtal iht. standardmetode. Man må dog regne med en risiko for, at BQ-tal i gul målekategori kan føre til overskridelser af grænseværdier for kimtal. Rød kategori-målinger udgør den operationelle aktionsgrænse i vandforsynings ledningsnet. Målinger på normalprøver fra ledningsnettet, som falder inden for denne kategori, er uacceptable. I testprogrammet er det kun i »straks«-prøver, der er målt BQ-tal, som ligger i denne kategori. Målinger som ligger i rød kategori har i dette testprogram i 70% af tilfældene givet anledning til overskridelser af traditionelle grænseværdier for kimtal.

Københavns Energi, Vands laboratorium vil nu yderligere afprøve metoden og forventer at indføre rutiner/metodikker med metoden som værktøj til optimering af følgende vigtige driftskontrolopgaver:

- Rutine-monitorering med bedre mulighed for hurtigere identifikation af bakterielle vandkvalitetsproblemer.
- Hurtig kildeopsporing ved konstatering af forureninger/utætheder.
- Hurtigere klarmelding til idriftsættelse af ledningssystemer efter renoveringer.

E-mail-adresser

Morten Miller: mmiller@mycometer.dk
Niels Erik Bjergaarde: nebj@ke.dk

Referencer:

1. Miller, M og Reeslev, M. (2005). »Mikrobiologisk hurtigmetode«. Dansk Kemi, 86, nr. 1, 27-29.
2. Miller, M og Reeslev, M. (2004). »Skimmelsporer og skimmelvækst er ikke det samme«. Dansk Kemi, 85, nr. 1, 14-15.

ventilering blev det numeriske arbejde udvidet til at omfatte sensitivitsanalyser af sammenhængen mellem udvalgte parametre og metodens effektivitet. Disse parametre omfattede initial NAPL-fordeling, den absolutte permeabilitet af det lavpermeable område og endelig effekten af størrelsen af det påførte undertryk. Resultaterne af sensitivitsanalysen viste, at på trods af at metoden var sensitiv over for alle nævnte parametre, var pneumatisk ventilering at foretrække frem for konventionel ventilering i alle undersøgte scenarier. Oprensningstiden blev reduceret med faktorer i intervallet 2.2 til 4.8, når pneumatisk ventilering blev anvendt frem for konventionel ventilering. Den største fordel ved pneumatisk ventilering blev fundet for scenariet med lavest permeabilitet i det lavpermeable område.

Afslutningsvist blev det konkluderet, at pneumatisk ventilering virker som et attraktivt alternativ til konventionel ventilering. Men der skal foretages yderligere undersøgelser af teknikken, for at kunne fastslå om pneumatisk ventilering kan anvendes i felten.

Camilla Høier, Institut for Miljø & Ressourcer, DTU

Familien vokser

NYHED



Den nye bredhalsede DURAN® GLS 80 laboratorieglassflaske med 80 mm gevind-diameter.

Kontakt Deres normale forhandler af SCHOTT DURAN® for yderligere information og bestilling allerede i dag.

SCHOTT Scandinavia A/S
Tel.: 4348 0883
Fax: 4343 3566
E-mail: peter.ludvigsen@schott.com
www.schott-duran.com

**SCHOTT
DURAN®**