Inventarisatie waterkwaliteit op 6 locaties

Subtitel Analyse van water direct na ontsmetting en uit schoon drain en vuildrain silo.

Auteur(s) R.Kaarsemaker (SCFF), Marcelle van der Waals (KWR)

Rapport nr. S20220001-1

CONTROL IN FOOD & FLOWERS

Stichting Control in Food & Flowers
Distributieweg 1
2645 EG Delfgauw
T: +31(0) 15-2858124
E: info@stfoodandflowers.nl
KvK: 61916471

Auteur(s): Ruud Kaarsemaker
Projectnummer: S20220001
Datum: 25 april 2025
Titel Rapport: Inventarisatie waterkwaliteit op 6 locaties
Opdrachtgever: Glastuinbouw Nederland
Contactpersoon opdrachtgever: Margreet Schoenmakers
Kernwoorden**:** Waterkwaliteit**, ontwmetting, microbiologie, drainwater**

Deze activiteit is mede gefinancierd met PPS-financiering uit de Toeslag voor Topconsortia voor Kennis en Innovatie (TKI's) van het Ministerie van Economische Zaken en Klimaat en de resultaten zijn openbaar.
De Stichting Control in Food & Flowers aanvaardt geen aansprakelijkheid voor eventuele schade voortvloeiend uit het gebruik van de resultaten van dit onderzoek of de toepassing van de adviezen.

Niets uit deze uitgave mag worden verveelvoudigd en/of openbaar gemaakt worden door middel van druk, fotokopie, microfilm, elektronisch of op geluidsband of op welke andere wijze ook en evenmin in een retrieval systeem worden opgeslagen zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van de opdrachtgever.

Samenwerkingspartners

Inhoud

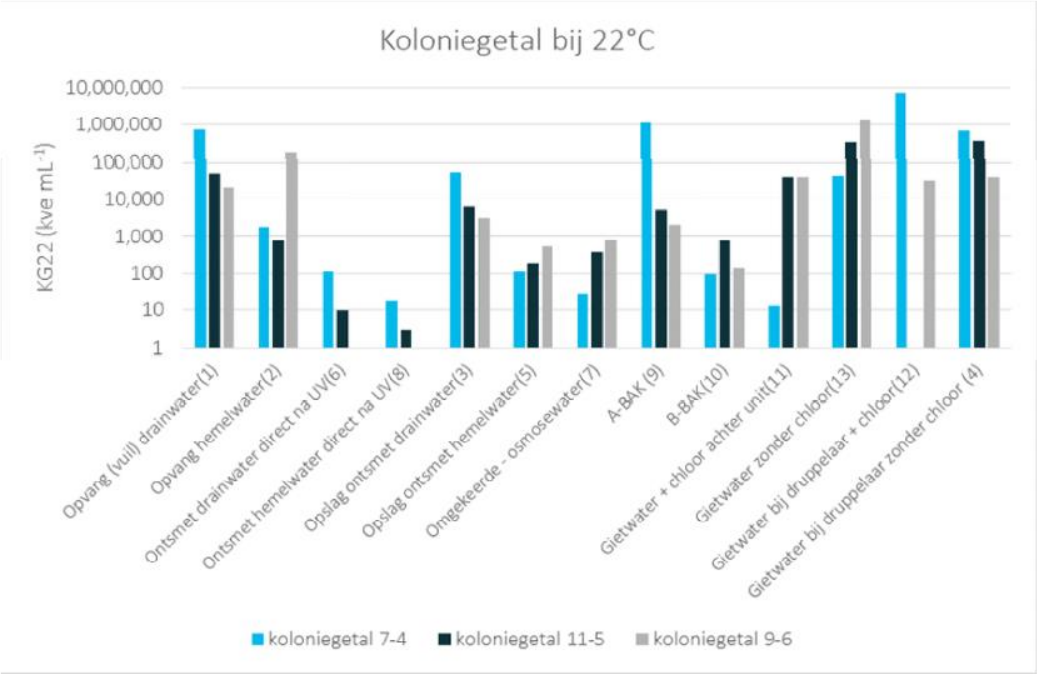
Samenvatting 5
1. Introductie 6
2. Methode 7
Locaties 7
Kolonievormende eenheden (CFU) van bacteriën 7
ATP 7
Desinfectie ratio 7
Stabiliserende monsters 7
3. Resultaten 8
Desinfectie ratio 8
Bacteriegetal en ATP 11
Bijlage 1: Interpretatie verhouding bacterieaantal/ATP 13
Bijlage 2: Analyseresultaten 14

Samenvatting

Als vooronderzoek voor een proef met verschillende waterkwaliteiten is drain water is geanalyseerd van 6 verschillende locaties.
Op elke locatie is direct na desinfectie het water opgevangen uit de ontsmetter. Daarnaast zijn watermonsters genomen uit de schoon drain silo (opgeslagen ontsmet water) en de vuile drain silo (opgevangen drainwater voor ontsmetting). Voor elk monster zijn de ATP en het heterotrofe kiemgetal bepaald door KWR.
De locaties zijn onderverdeeld in twee opkweekbedrijven (diverse gewassen en Gerbera), twee tomaten en twee Phalaenopsis bedrijven.
De afname van het aantal bacteriën dat na desinfectie op de platen werd geteld, was voldoende voor vijf locaties. Op een van de locaties was de desinfectie onvoldoende en bleef 17% van de bacteriën achter.
De ATP-meting liet na ontsmetting gemiddeld minder afname zien dan de analyse van het bacteriekiemgetal.
Dit kan op twee manieren worden verklaard. Bacteriën zijn niet meegeteld op de platen vanwege doordat desinfectie de vitaliteit van de bacteriën heeft verminderd, zodat de bacteriën niet meer konden kiemen. Het gedode en gedeactiveerde deel van de bacteriën bevatte wel ATP, wat resulteerde in een relatief hoge hoeveelheid ATP en weinig kolonies op de platen.
Na desinfectie wordt het ontsmette water opgeslagen in de schoon drain silo. Het bacterie kiemgetal in de schoon drain silo was aanzienlijk hoger dan het ontsmette water. Dit betekend dat de bacteriën zich beginnen te ontwikkelen in het ontsmette drain water zodra deze in de schoon drain silo terecht komt. De vuil drain silo bevatte het hoogste aantal bacteriën.

1. Introductie

De microbiologische waterkwaliteit is niet altijd optimaal. Op verschillende punten van het watercircuit varieert het aantal heterotrofe platen (figuur 1).
Als de desinfectie-unit goed functioneert, is er weinig microbiologische activiteit. De hypothese is dat het gedesinfecteerde water rijk is aan organisch materiaal dat de groei van bacteriën in het watersysteem tussen de primaire waterbron, gemengd met gerecirculeerd water en het druppelwater dat op de plant wordt aangebracht, kan bevorderen.



Figuur 1 Kolonie vormende eenheden gemeten in het water bemonsterd op verschillende posities bij Levo-plant in 2020

De snelheid van de microbiologische ontwikkeling is afhankelijk van de verblijftijd, de organische samenstelling van het drainwater, de verhouding van het drainwater ten opzichte van het primaire water en de toevoeging van kunstmest.
In proeven met Phalaenopsis-, tomaten- en paprikaplanten worden verschillende waterkwaliteiten getest. Voor de start van de proeven zal gestart worden met pilotonderzoek om water van verschillende kwaliteit te produceren en relevante eigenschappen van goed en slecht water te bepalen.

2. Methode

Drain water is verzameld op de 6 verschillende locaties. Op elke locatie is direct na desinfectie het water opgevangen uit de ontsmetter. Daarnaast zijn watermonsters genomen uit de schoon drain silo (opgeslagen ontsmet water) en de vuile drain silo (opgevangen drainwater voor ontsmetting). Voor elk monster zijn de ATP en het heterotrofe kiemgetal bepaald door KWR.

Locaties

A. Opkweekbedrijf, verschillende gewassen, lage druk UV + H2O2
B. B. Opkweekbedrijf, gerbera, lage druk UV
C. Tomaat, locatie 1, hoge druk UV
D. Tomaat, locatie 2, hoge druk UV
E. Phalaenopsis, locatie 1, lage druk UV
F. Phalaenopsis, locatie 2, hoge druk UV

Kolonievormende eenheden (CFU) van bacteriën

Het aantal vitale bacteriën is vastgesteld volgens NEN-EN-ISO 6222. De geïncubeerde platen zijn bij 22°C geplaatst en het aantal kolonies zijn geteld. Dode bacteriën en beschadigde bacteriën worden met deze methode niet gedetecteerd, sommige soorten bacteriën worden niet gedetecteerd omdat ze niet op platen groeien. Soms kunnen bacteriën zich na desinfectie enige tijd herstellen.
Omdat de bemonsteringsprocedure van het gedesinfecteerde water op locatie niet correct was, werd LM CFU een tweede keer bepaald (methode GAC bij 30°C). Het desinfectiepercentage is gebaseerd op deze analyse. De ATP-waarde op de datum van de eerste bemonstering is buiten beschouwing gelaten.

ATP

De ATP-test is een proces van het snel meten van actief groeiende micro-organismen door detectie van adenosinetrifosfaat of ATP. Actieve en vitale bacteriën resulteerden in hogere ATP-waarden in vergelijking met inactieve bacteriën. Bij de ATP-meting wordt rekening gehouden met de ATP in alle bacteriën in het monster, maar ook met vrije ATP in het water. Hierdoor, en het feit dat de activiteit van bacteriën kan verschillen, is de relatie tussen ATP en het aantal bacteriën niet lineair.

Desinfectie ratio

De desinfectieverhouding van het aantal bacteriën en ATP is bepaald door de analyse resultaten van het gedesinfecteerde water te delen door de analyseresultaten van het water uit de vuile afvoertank, ervan uitgaande dat alle aanwezige bacteriën op dezelfde manier reageren op de desinfectie.

Stabiliserende monsters

De ATP- en CFU-monsters zijn gestabiliseerd met NTA. NTA neutraliseert schadelijke oxidanten in het water zodat schade aan de bacteriën wordt voorkomen.

3. Resultaten

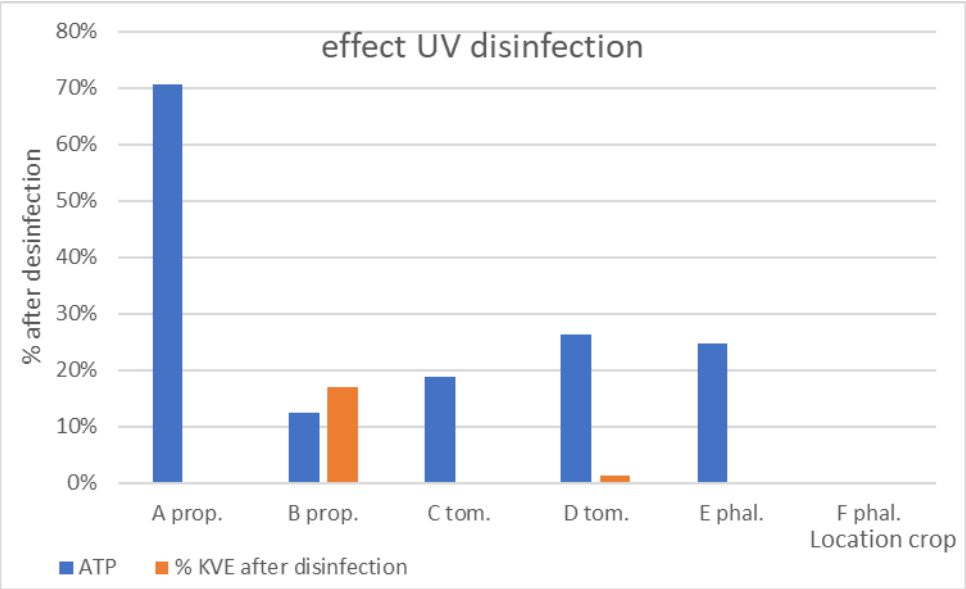
Alle analyseresultaten zijn gepresenteerd in bijlage 1.

Desinfectie ratio

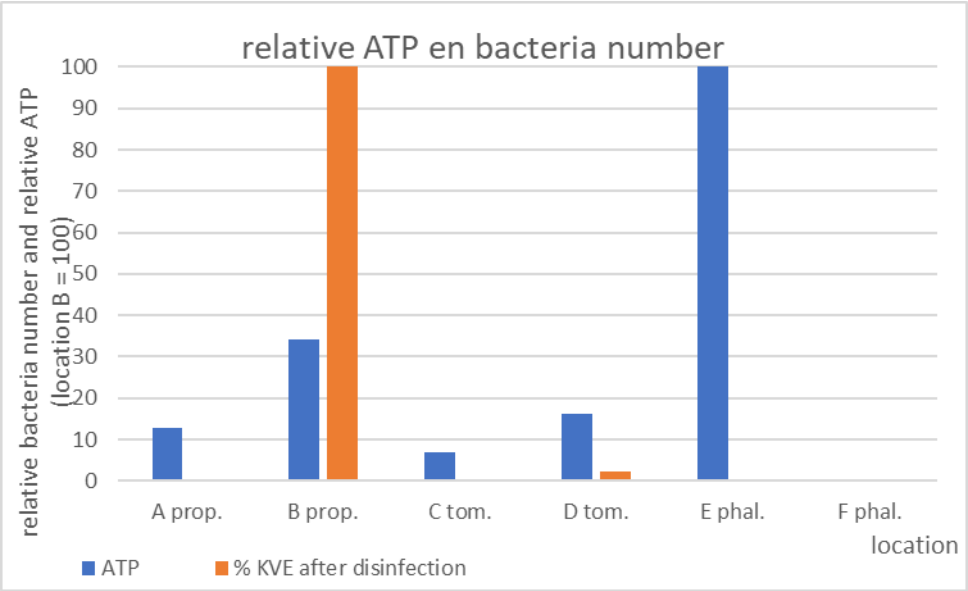
De afname van het aantal bacteriën dat na desinfectie op de platen werd geteld, was voldoende voor vijf locaties (
Figuur **2**). Op locatie B was de desinfectie onvoldoende en bleef 17% van de bacteriën achter.
De ATP-methode liet gemiddeld minder afname zien en liet een ander patroon zien dan het aantal bacteriën. Op locatie B, met een lage desinfectie efficientie van de bacteriën, daalde de ATP relatief meer dan de afname van de bacterieaantallen (
Figuur **2**). Op de andere locaties nam de ATP relatief minder af dan het aantal bacteriën. Op locatie A is de ATP zeer weinig afgenomen, maar de totale ATP is laag in vergelijking met de andere locaties (

Figuur 3). Op locatie E was de ATP-hoeveelheid in het gedesinfecteerde water relatief hoog (

Figuur 3), mogelijk veroorzaakt door het hoge aantal bacteriën van het vuile afvoerwater (
Figuur **4**). Dit kan op twee manieren worden verklaard. Bacteriën werden niet meegeteld op de platen vanwege schade, veroorzaakt door de desinfectie, maar bleven nog steeds in de oplossing, wat resulteerde in hogere ATP-waarden in vergelijking met de andere locaties. Het gedode deel van de bacteriën gaf ATP af in de oplossing, wat resulteerde in een relatief hoge hoeveelheid ATP en verminderde CFU op de platen.

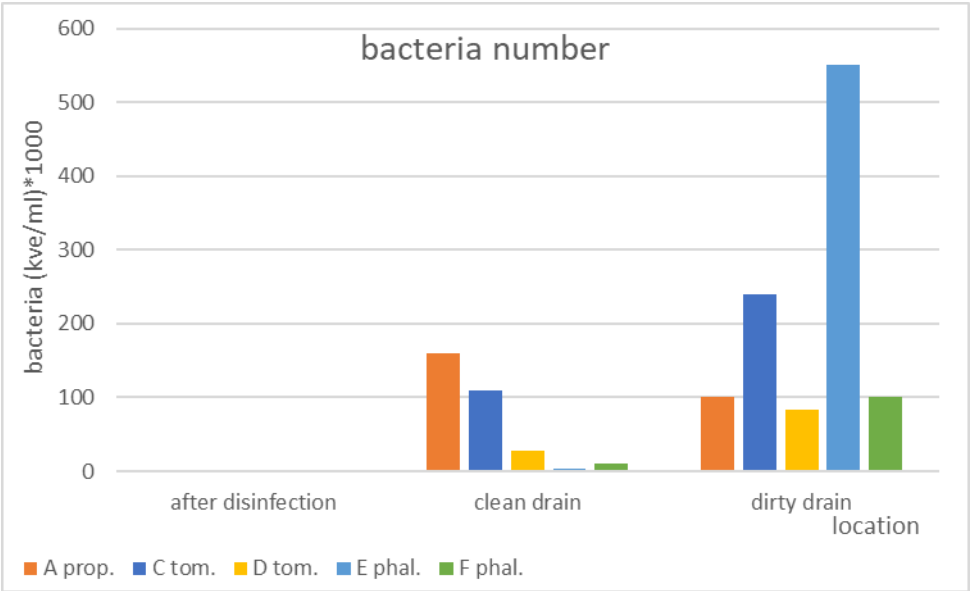


Figuur 2
% aantal bacteriën en ATP van het water uit de vuile afvoertank dat na desinfectie in het water achterblijft. Op locatie F worden de ATP-waarden niet bepaald.

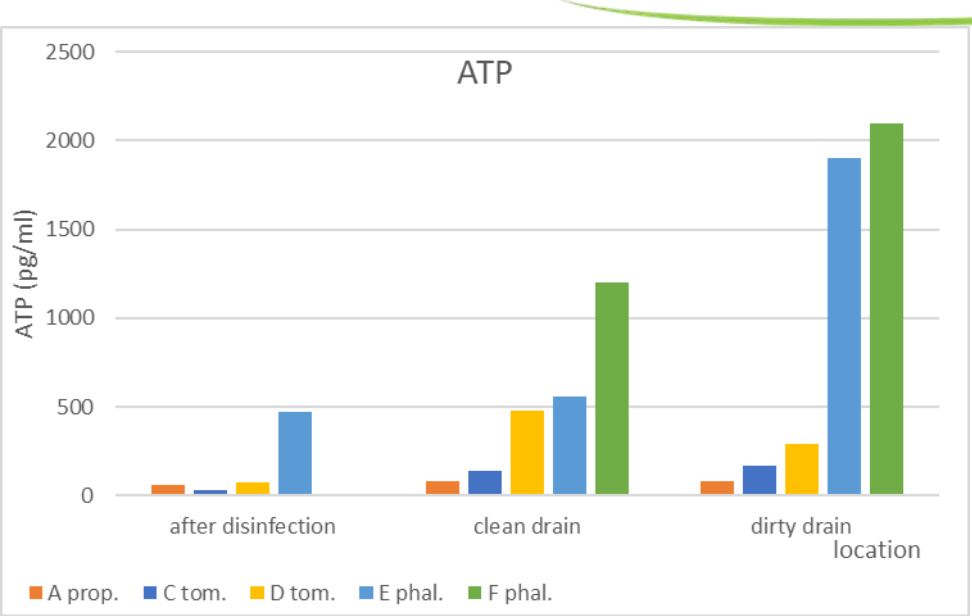


Figuur 3
Relatief aantal bacteriën (100 = 51000 kve/ml) en relatieve ATP (100 = 550 pg/ml) in het water van de schone afvoertank.
Op locatie F worden de ATP-waarden niet bepaald.

Op de locaties met een goede desinfectiegraad van het vuile drainwater is het aantal bacteriën na desinfectie laag (
Figuur **4**). De ATP-niveaus daalden minder en waren relatief hoog in vergelijking met het aantal bacteriën. De bacterieontwikkeling in de schone afvoer lijkt geen verband te houden met de metingen van het water na desinfectie of in de vuile afvoertank (
Figuur **4**).

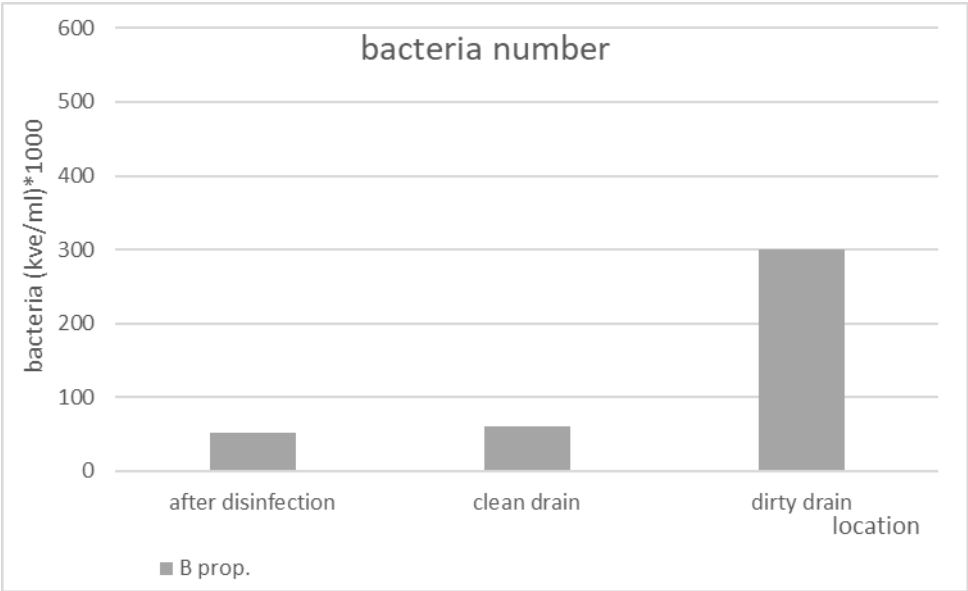


Figuur 4
Bacterie aantal van het water na desinfectie, de schone en vuile afvoertank van de locatie met voldoende desinfectie

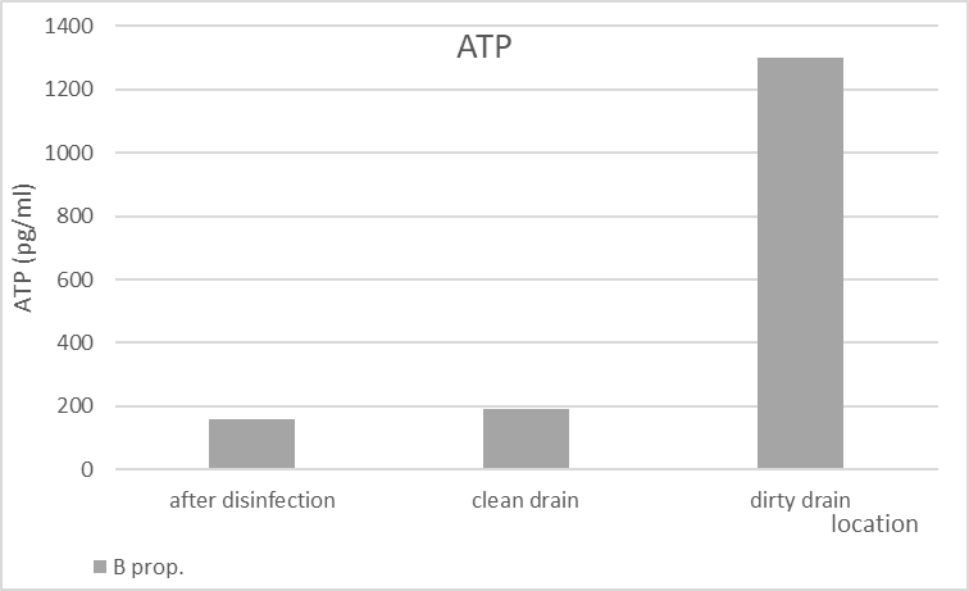


Figuur 5
ATP-inhoud van het water na desinfectie, de schone en vuile afvoertank van de locatie met voldoende desinfectie.Op locatie F worden de ATP-waarden na desinfectie niet bepaald.

Op locatie B met onvoldoende desinfectie was het aantal bacteriën (Figuur 6) en ATP (Figuur 7) na desinfectie vergelijkbaar met de schone afvoer met hogere waarden in de vuile afvoer.



Figuur 6
Bacteriegetal van het water na desinfectie, de schone en vuile afvoertank van de locatie met onvoldoende desinfectie

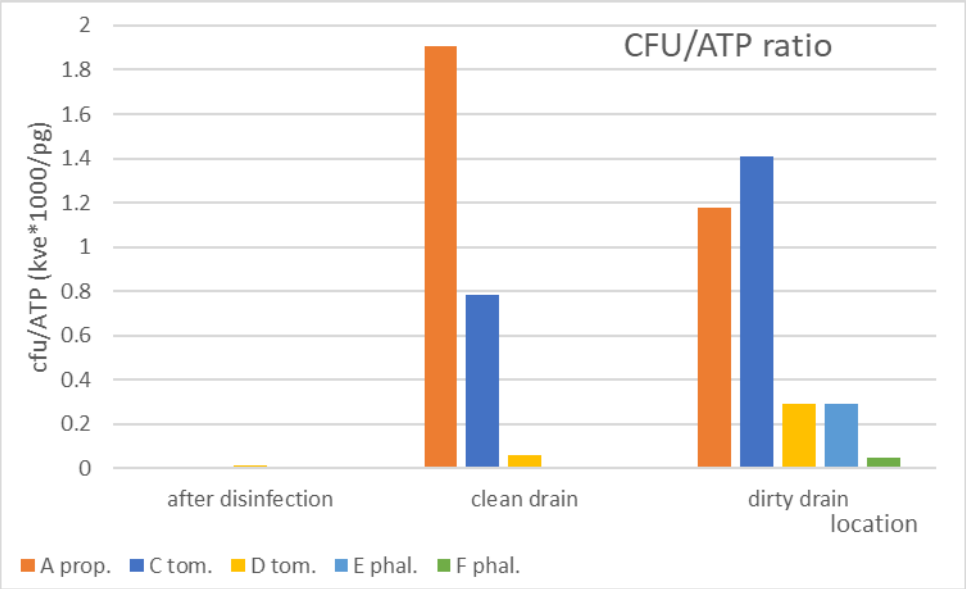


Figuur 7
ATP-gehalte van het water na desinfectie, de schone en vuile afvoertank van de locatie met onvoldoende desinfectie

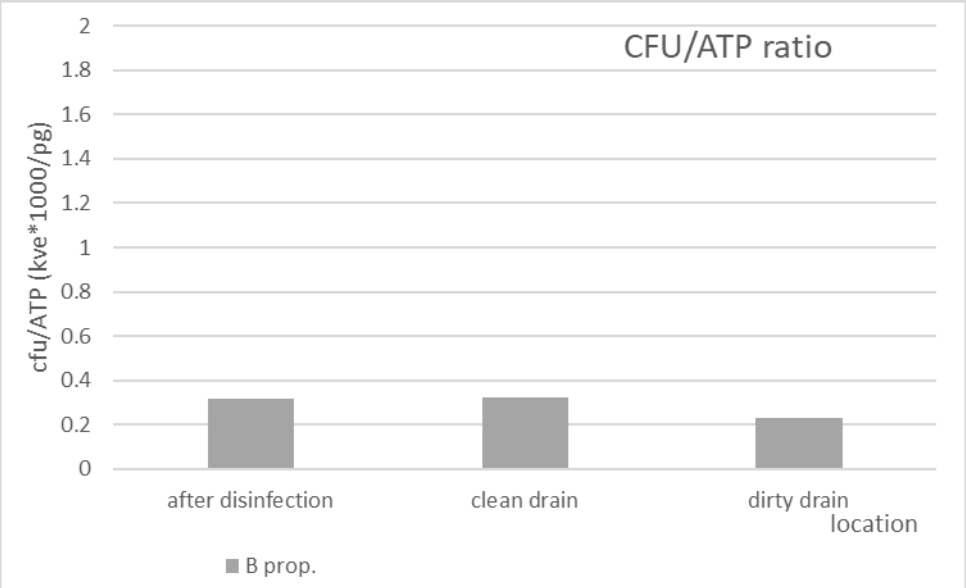
Bacteriegetal en ATP

De verhouding bacterieaantal/ATP wordt berekend om de verschillende watermonsters te karakteriseren. Adequate desinfectie resulteerde in een lage bacterie/ATP-verhouding in het gedesinfecteerde water (Figuur 8).

Op de locaties MV, ZV en LH nam de bacterieaantal/ATP-verhouding toe na desinfectie met de hoogste verhouding in de vuile afvoertank (Figuur 8). Deze verhouding neemt toe in de schone en vuile afvoertank bij goede desinfectie. Op locatie BP is deze verhouding in de schone afvoertank hoger dan in de vuile afvoer. Misschien komt dit omdat de teler van deze locatie "scrubwater" heeft bemonsterd dat normaal gesproken wordt gemengd met het normale drainwater van het eb/vloedsysteem. In dit water zijn mogelijk andere organische organismen zoals algen meer aanwezig dan in het reguliere drainwater.
Als de desinfectie onvoldoende is, is de bacterie/ATP-verhouding stabiel in alle waterbronnen (Figuur 9). Deze verhouding is erg laag op locatie MV, dit betekent dat er veel ATP is in vergelijking met de hoeveelheid bacteriën. Op locatie PG (Figuur 9) is de bacterie/ATP-ratio hoger in vergelijking met MV en vergelijkbaar met het vuile afvoerwater op locaties ZV en LH (Figuur 8).



Figuur 8
De hoeveelheid bacteriën (kve *1000) gerelateerd aan de ATP hoeveelheid (pg) na desinfectie, in de schone afvoertank en de vuile afvoertank op de locatie met een goed desinfectieresultaat.



Figuur 9
De hoeveelheid bacteriën (kve *1000) gerelateerd aan de ATP-hoeveelheid (pg) na desinfectie, in de schone afvoertank en de vuile afvoertank op de locatie met onvoldoende desinfectieresultaat.

Bijlage 1: Interpretatie verhouding bacterieaantal/ATP

De verschillen tussen de verhouding bacterieaantal/ATP kunnen op verschillende manieren worden veroorzaakt.

Hoge bacterie/ATP-verhouding

- Zwakke bacteriën, telbaar op borden, met weinig ATP
- Hoog percentage bacteriën geteld op platen

Lage bacterie/ATP-verhouding

- Vitale, actieve bacteriën, die veel ATP bevatten
- Beschadigde, niet functionele bacteriën, niet geteld op de plaat, maar bevatten nog wel wat ATP.
- Gestorven bacteriën met vrijgekomen ATP in het water

Hypothese:
1. Direct na desinfectie is de Bacteriën/ATP ratio relatief laag door dode of beschadigde bacteriën. De ATP van de dode bacteriën komt vrij in de oplossing en kan worden gebruikt door de resterende bacteriën.
2. Schone en vuile drain silo, het aantal bacteriën neemt toe met vitale en actieve bacteriën en ook de bacterie/ATP-verhouding neemt toe.

Selectie van locaties voor monstername

Gedesinfecteerd water wordt direct na desinfectie verzameld op 3 geselecteerde locaties. Elke waterbron wordt geënt met water uit de gedesinfecteerde wateropslagtank om het aantal bacteriën te controleren na inoculatie met bacteriën uit de schoonwatertank.
Mogelijke locatieselectie met verschillende waterkwaliteitstypes zijn:

1. Locatie BP, hoog aantal bacteriën in schone afvoertank, hoge bacterie/ATP-verhouding.
2. Locatie MV, hoog aantal bacteriën in de schone afvoertank, hoger aantal bacteriën in de vuile afvoertank, relatief hoge bacteriën/ATP-ratio.
3. LH, laag aantal bacteriën in schone afvoertank, zeer hoog in vuile afvoertank, lage bacterie/ATP-verhouding.

Wateropvang op geselecteerde locaties voor analyse

- Per locatie gedesinfecteerd water en water uit schone afvoertank
  - Voldoende water voor proeven
  - 2 liter om te bewaren voor eventuele bepaling van NGS achteraf
  - Tube van 50 ml stabiliseren met NTA voor ATP en bacterieanalyse
- Na bemonstering worden de monsters gekoeld en naar het KWR-lab getransporteerd en binnen 24 uur gefilterd. Afspraak van de opleverdatum wordt vooraf gemaakt.

Bijlage 2: Analyseresultaten

Tabel 1: Gemiddelde ATP met standaarddeviatie en de CFU op 6 locaties en verschillende gewassen.

location	crop	Monster-omschrijving	Datum	ATP	ATP st.dev.	colony forming units bij 22°C (Q)
				pg/ml	pg/ml	cfu/ml
BP	propagation	after disinfection	17-04-2023	60	1	150
BP	propagation	clean drain	17-04-2023	84	0	160000
BP	propagation	dirty drain	17-04-2023	85	3.1	100000
PG	propagation	after disinfection	17-04-2023	160	7.4	51000
PG	propagation	clean drain	17-04-2023	190	0.3	61000
PG	propagation	dirty drain	17-04-2023	1300	2.1	300000
LH	phalaenopsis	after disinfection	17-04-2023	470	22	12
LH	phalaenopsis	clean drain	17-04-2023	560	110	3400
LH	phalaenopsis	dirty drain	17-04-2023	1900	72	550000
LM[1]	phalaenopsis	after disinfection	17-04-2023	1500	71	86000
LM[2]	phalaenopsis	after disinfection	17-05-2023			<10
LM	phalaenopsis	clean drain	17-04-2023	1200	110	10000
LM	phalaenopsis	dirty drain	17-04-2023	2100	300	100000
MV	tomato	after disinfection	17-04-2023	32	1.8	33
MV	tomato	clean drain	17-04-2023	140	0.3	110000
MV	tomato	dirty drain	17-04-2023	170	0.89	240000
ZV	tomato	after disinfection	17-04-2023	76	0.59	1100
ZV	tomato	clean drain	17-04-2023	480	17	28000
ZV	tomato	dirty drain	17-04-2023	290	15	84000

[1] De looptijd van de desinfectie was te kort voor de bemonstering, de resultaten waren niet representatief

[2] CFU werd bepaald door GAC bij 30°C, desinfectiepercentage was 99,96%